

Mogu li biljni pripravci propolisa i ginkga smanjiti hiperreaktivnost trombocita u bolesti COVID-19?

Antolić, Andrea; Maleš, Željko; Galović, Petra; Tomičić, Maja; Bojić, Mirza

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2021, 77, 125 - 134**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:754620>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Mogu li biljni pripravci propolisa i ginkga smanjiti hiperreaktivnost trombocita u bolesti COVID-19?

ANDREA ANTOLIĆ¹, ŽELJAN MALEŠ², PETRA GALOVIĆ³,
MAJA TOMIČIĆ⁴, MIRZA BOJIĆ⁵

¹Zdravstvena ustanova Ljekarne Švaljek, Ulica Josipa Broza Tita 2/a,
49 210 Zabok

²Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku botaniku, Schrottova 39, 10 000 Zagreb

³PIP d.o.o., Karlovačka 8d, 10 451 Pisarovina

⁴Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu, Petrova 3, 10 000 Zagreb

⁵Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku kemiju, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb

3-4
2021

Can plant propolis and ginkgo extracts reduce hyperreactivity of thrombocytes in COVID-19?

Abstract *Propolis is flavonoid rich source that has shown numerous beneficial biological effects such as antibacterial, antiviral, antitumoral, antiaggregatory, and hepatoprotective. Ginkgo has been used as a dietary supplement for enhancement of cognitive functions. The aim of this study was assessment of the effect of propolis and ginkgo extracts on primary hemostasis and verify whether the use of a combination of propolis and ginkgo extracts in the prevention of cardiovascular diseases is justified. Commercially available extracts were assessed by impedance aggregometry on the whole blood samples of healthy subjects collected at the Croatian Institute of Transfusion Medicine. Two aggregation inducers were used: ADP (adenosine diphosphate, weak agonist of platelet aggregation) and TRAP (hexapeptide surrogate of thrombin, strong inducer of platelet aggregation). In an*

ADP induced aggregation assay, propolis showed an antiaggregatory effect at a concentration of 10 μ M. In the same test, the antiplatelet effect of ginkgo extract was absent. In the hexapeptide-induced thrombin mimetic (TRAP) aggregation test, propolis showed an antiplatelet effect at a concentration of 20 μ M as well as ginkgo extract. Combinations of propolis and ginkgo in a ratio of 1:25 and 1:50 showed an antiplatelet effect at 20 μ M concentrations of extracts. Combination of propolis and ginkgo is justified from a pharmacodynamic aspect, as propolis and ginkgo have different mechanisms of action because they act on different signaling pathways of aggregation.

¹Health Institution Pharmacy Švaljek, Ulica Josipa Broza Tita 2/a, 49 210 Zabok, ²University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Pharmaceutical Botany, Schrottova 39, 10 000 Zagreb, ³PIP Ltd., Karlovačka 8d, 10 451 Pisarovina, ⁴Croatian Institute of Transfusion Medicine, Petrova 3, 10 000 Zagreb, ⁵Croatia University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Pharmaceutical Chemistry, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Croatia)

Uvod

U razvijenim zemljama najčešći su uzrok smrtnosti kardiovaskularne bolesti. Prevalencija kardiovaskularnih bolesti (hipertenzija, koronarne srčane bolesti, infarkt miokarda i moždani udar) u SAD-u 2010. godine iznosila je 37 %, rezultirajući s 272 milijarde dolara direktnih i 172 milijarde dolara indirektnih troškova (1). Prevalencija krvožilnih bolesti u Europi 2015. godine iznosila je 31,5 % (2). Prema podacima iz 2012. godine ukupni trošak liječenja iznosio je 196 milijardi eura godišnje pri čemu 54 % sredstava odlazi na zdravstvenu zaštitu, 24 % sredstava na smanjenje produktivnosti te 22 % sredstava na prevenciju krvožilnih bolesti u vidu edukacija (3).

Trombociti su uključeni u hemostazu, trombozu i upalne procese, a kardiovaskularne bolesti mogu biti upravo posljedica patološke aktivacije trombocita (4). Najčešće primjenjivani lijek u prevenciji kardiovaskularnih bolesti je acetylsalicylic acid, no zbog brojnih ozbiljnih nuspojava, pa i smrtnih ishoda, velika se pažnja posvećuje istraživanju lijekova koji će inhibirati agregaciju trombocita na sigurniji način (5). Rezultat je takvih istraživanja i klopidoogrel, sintetički lijek koji svoje djelovanje temelji na inhibiciji receptora adenosindifosfata (ADP), koji također pokazuje rjeđe, ali ozbiljne nuspojave poput trombotične trombotične purpore (5). Od izoliranih prirodnih spojeva takvo djelovanje pokazuju polifenoli, prvenstveno flavonoidi i prirodni izvori bogati polifenolima, kao što su vino (francuski paradoks), zeleni čaj (azijski paradoks), tamna čokolada, ginkgo i propolis (6).

S obzirom na trenutnu pandemiju COVID-19 i činjenicu da se uz respiratorne mogu pojaviti i druge sistemske komplikacije, utjecaj SARS-CoV-2 na trombozu i hemostazu se intenzivno proučava. Pacijenti s povećanim kardiovaskularnim rizikom (gojaznost, šećerna bolest, hipertenzija) imaju povećan rizik poremećaja hemostaze i nastanka tromba koji se javlja kod 20–30 % pacijenata u kritičnom stanju (7–9).

Propolis je najistraživaniji pčelinji proizvod. To je smolasta smjesa koju pčele prikupljaju s pupoljaka stabala, biljnih sokova te drugih biljnih izvora. Sastoji se od biljne smole, pčelinjeg voska i peludi. Propolis pokazuje protuupalni, antibakterijski, antivirusni te antioksidativni učinak stoga se koristi kao nutraceutik. Kemijskom karakterizacijom propolisa pronađeno je više od 150 različitih spojeva, a najbrojniji među njima su flavonoidi (10).

Vrsta *Ginkgo biloba* L. je stablo podrijetlom iz Kine i Japana, čiji se listovi koriste za pripravu biljnih preparata standardiziranih na sadržaj flavonolskih heterozida, ginsenzozida ili terpenskih laktona ginkolida i bilobalida (11). Ovi pripravci primjenjuju se kod smetnji prokrvljenosti mozga, uzrokovanih degenerativnim promjenama i smetnjama cerebralne cirkulacije (11).

Svrha ovog rada je ispitivanje utjecaja ekstrakata propolisa i ginkga na primarnu hemostazu s ciljem provjere opravdanosti primjene kombinacije ekstrakata propolisa i ginkga u prevenciji kardiovaskularnih bolesti. U tu svrhu primijenjena je impedancijska agregometrija s jakim (trombin) i slabim (adenozindifosfat) induktorom agregacije, te su određene minimalne antiagregacijske koncentracije ekstrakata i kombinacija.

Eksperimentalni dio

Uzorci propolisa i ginkga

Uzorci propolisa ekstrahirani su u 80 % etanolu, a ginkga u metanolu. Ekstrakti su upareni, te su resuspendirani u dimetilsulfoksidu za potrebe određivanja antiagregacijskog učinka. Temeljem deklariranih sadržaja polifenola, molarna koncentracija ekstrakata iskazana je kao ekvivalent kvercetina.

Uzorci krvi

Uzorci svježe citratne krvi zdravih dobrovoljaca sakupljeni su u vakuum epruvete od 4,5 mL (Vacutainer BD, SAD). U istraživanju za procjenu antiagregacijskog učinka sudjelovalo je 20 ispitanika. Svi su ispitanici dali pisani pristanak za sudjelovanje u istraživanju. Ovaj je rad odobren od etičkih povjerenstava Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u sklopu disertacije Andree Antolić, mag. pharm, univ. mag. pharm., te je proveden u skladu s Helsinškom deklaracijom.

Kemikalije i instrumentacija za određivanje agregacije trombocita

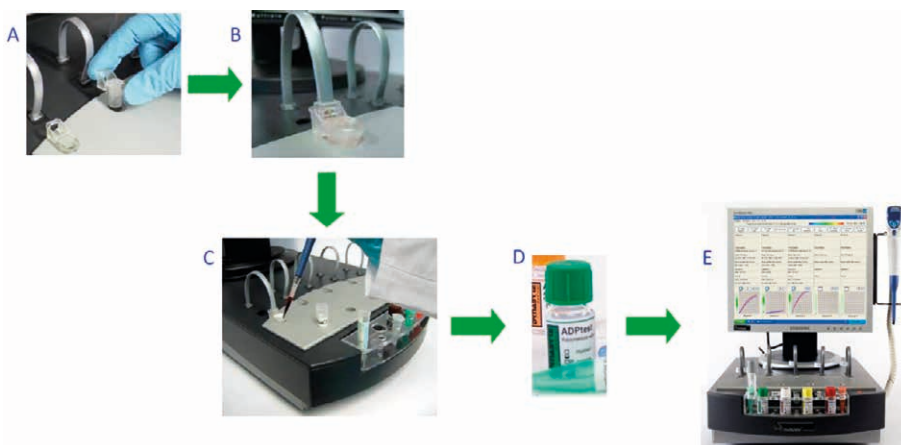
Korišteni su sljedeći induktori agregacije (Roche, Švicarska): 0,2 mM ADP (ATPtest) i 1 mM TRAP-6 (TRAPtest). Fiziološke otopine pripremljene su standardiziranim postupcima u Hrvatskom zavodu za transfuzijsku medicinu, Zagreb, Hrvatska: fiziološka otopina natrijeva klorida (0,9 % NaCl) te fiziološka otopina s kalcijevim kloridom (0,003 M CaCl₂ u 0,9 %-tnom NaCl). Određivanje agregacije provedeno je mjerenjem impedancije u kivetama s dvostrukim parom srebrnih elektroda na Multiplate® uređaju (Roche, Švicarska).

Impedancijska agregometrija

Određivanje agregacije trombocita provedeno je impedancijskom metodom u punoj krvi. Mjerenje se provodi u kiveti s dva nezavisna para elektroda što osigurava kvalitetu mjerenja. Impedancijska se agregometrija temelji na činjenici da trombociti u mirovanju nemaju sklonost stvaranja ugruška, no ukoliko dođe do aktivacije, trombociti se pričvršćuju u fiziološkim uvjetima na krvnu žilu, a u laboratorijskom testu na umjetnu površinu, odnosno elektrodu. Pri tome jača električni otpor koji se snima, te se rezultat iskazuje kao površina ispod krivulje (12).

Određivanje minimalne antiagregacijske koncentracije

Agregacija trombocita je analizirana na Multiplate® uređaju (slika 1.). Korištena je generička procedura proizvođača instrumenta: 300 µL krvi inkubirano je tijekom 3 minute s 20 µL otopine ekstrakta i 300 µL fiziološke otopine s CaCl₂ na temperaturi



Slika 1. ► Provedba agregacijskog testa. A – postavljanje kiveta s magnetskim mješaćem u inkubacijski blok Multiplate® analizatora, B – spajanje mjernih elektroda na instrument, C – dodavanje krvi i reagensa, D – inicijacija agregacije dodatkom induktora, E – iskazivanje rezultata (površina ispod krivulje)

od 37°C. Za negativnu je kontrolu korišteno otapalo – dimetilsulfoksid (konačna koncentracija DMSO-a 3 %). Agregacijska je kaskada potaknuta dodatkom 20 µL reagensa s odabranim agonistom agregacije. Agregacija je mjerena tijekom 6 minuta i izražena je kao površina ispod krivulje u arbitrarnim jedinicama (13).

Ukoliko je uočen antiagregacijski učinak, rezultat je iskazan u obliku minimalne antiagregacijske koncentracije flavonoida (*MINaAC*). *MINaAC* je najmanja koncentracija flavonoida koja statistički značajno smanjuje agregaciju u odnosu na negativnu kontrolu istog ispitanika. Prvo je potrebno izmjeriti agregaciju kontrolnog uzorka (bez dodatka ekstrakta, A_0) i uzorka flavonoida (A). Ukoliko je razlika agregacija veća od 5 %, potrebno je napraviti dva dodatna mjerenja na novim uzorcima citratne krvi. Ako ekstrakt u analiziranoj koncentraciji pokazuje statistički značajno smanjenje agregacije trombocita, u odnosu na kontrolni uzorak, tada analizirana koncentracija odgovara minimalnoj antiagregacijskoj koncentraciji (*MINaAC*). Ukoliko ne postoji statistički značajna razlika, koncentracija se udvostručuje i analiza se ponavlja od prvog koraka. Prethodno navedeno vrijedi, ukoliko analizirana koncentracija nije prva analizirana ($n > 1$) jer analizu treba ponoviti od početka, uz dvostruko manju koncentraciju. Statistička je analiza provedena primjenom Studentova *t*-test (13).

Rezultati i rasprava

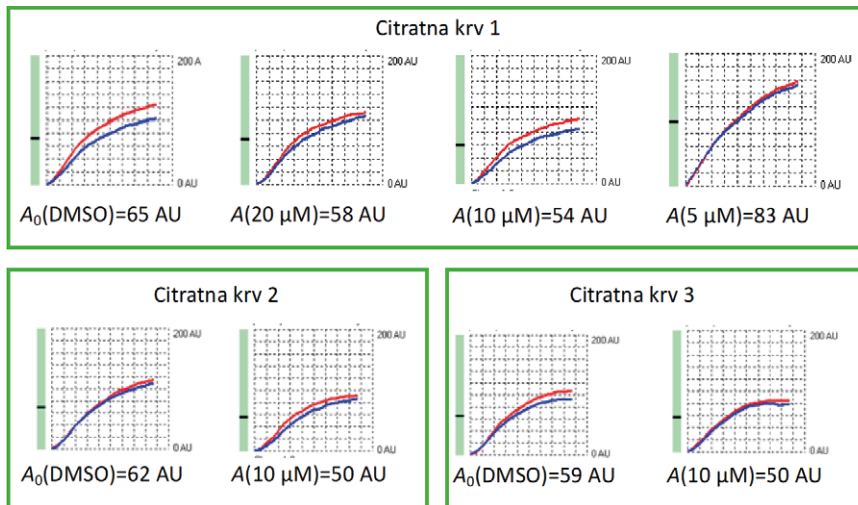
Utjecaj ekstrakta propolisa na agregaciju trombocita potaknutu ADP-om i TRAP-om

Postupak određivanja *MINaAC* je slikovito prikazan na primjeru propolisa u testu agregacije koja je potaknuta ADP-om (slika 2.). Razlika agregacija analizirane koncentracije propolisa koja prva pokazuje smanjenje agregacije trombocita (10 µM) u prvom uzorku citratne krvi u odnosu na kontrolnu (DMSO) je veća od 5 % (54 AU vs. 65 AU). Stoga se provode dva dodatna mjerenja na dva nova uzorka citratne krvi (krv druga dva dobrovoljca). Analizirana koncentracija propolisa statistički značajno smanjuje agregaciju u odnosu na kontrolni uzorak ($p = 0,011$) te je *MINaAC* = 10 µM.

Ekstrakt propolisa pokazao je antiagregacijski učinak u testu agregacije trombocita potaknutom TRAP-om pri minimalnoj antiagregacijskog koncentraciji od 20 µM ($p = 0,001$).

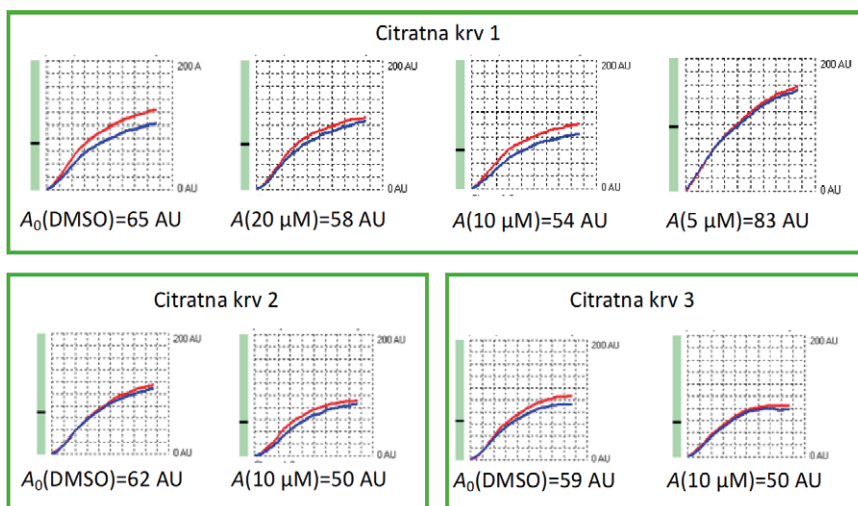
Utjecaj ekstrakta ginkga na agregaciju trombocita potaknutu ADP-om i TRAP-om

Ekstrakt ginkga nije pokazao antiagregacijski učinak u testu agregacije trombocita potaknutom ADP-om. Međutim, ekstrakt ginkga pokazao je antiagregacijski



Slika 2. ► Rezultati impedancijskih mjerenja za određivanje *MINaAC* propolisa u testu agregacije koja je potaknuta ADP-om

učinak u testu agregacije trombocita potaknutom TRAP-om pri minimalnoj antiagregacijskog koncentraciji od $20 \mu\text{M}$ uz statističku značajnost $p = 0,002$ (slika 3.).



Slika 3. ► Rezultati impedancijskih mjerenja za određivanje *ginkga* u testu agregacije koja je potaknuta TRAP-om

Utjecaj kombinacija ekstrakta propolisa i ginkga na agregaciju trombocita potaknutu ADP-om

Ekstrakt propolisa pokazao je antiagregacijski učinak u testovima agregacije koja je potaknuta ADP-om i TRAP-om, dok je ginkgo pokazao antiagregacijski učinak samo u testu agregacije trombocita koja je potaknuta TRAP-om. Stoga je ispitan antiagregacijski učinak kombinacije ekstrakata propolisa i ginkga u testu agregacije koja je potaknuta ADP-om pri čemu je omjer ekstrakata bio 1:25 i 1:50. U oba slučaja određena minimalna antiagregacijska koncentracija je iznosila 20 μM uz statističku značajnost $p = 0,012$ (omjer 1:25), odnosno $p = 0,002$ (omjer 1:50).

Utjecaj biljnih ekstrakata na primarnu hemostazu

Hemostaza (grč. αιμόστασις, αίμα – krv i στάσις – staza) je složen slijed procesa koji u fiziološkim uvjetima dovode do sprječavanja, odnosno prekida krvarenja. Glavni su događaji u hemostazi: vaskularna faza, adhezija trombocita, agregacija trombocita, degranulacija trombocita, stvaranje ugruška i fibrinoliza. Primarnu hemostazu karakteriziraju faze inicijacije (aktivacija trombocita kolagenom), ekstenzije (trombin, ADP, TxA₂) i perpetuacije (nastanak primarnog hemostatičkog čepa). Sekundarna hemostaza obuhvaća stanično bazirano zgrušavanje i nastanak sekundarnog hemostatičkog čepa (tromba), nakon čega slijedi fibrinoliza (razgradnja ugruška i zarastanje ozljede) (14).

Aktivacija i agregacija trombocita ključni su događaji u stvaranju tromba koji može prouzročiti bolesti kao što su duboka venska tromboza, plućna embolija, infarkt miokarda, moždani udar. Novija istraživanja pokazuju da se u pozadini nastanka tromba kod pacijenata s dijagnozom COVID-19, između ostalih, nalazi i hiperaktivacija trombocita (15). U testu agregacije trombocita potaknute analogom ADP-a, TRAP-om i kolagenom, pokazano je da su bolnički pacijenti s dijagnozom COVID-19 imali povećanu agregaciju trombocita u odnosu na kontrolu (zdrave dobrovoljce) (15). 16 % bolničkih pacijenata s dijagnozom COVID-19 liječenih u New Yorku razvilo je komplikacije vezane uz nastanak tromba (16). Tromboza je učestala i kod drugih akutnih infekcija, ali je rizik izraženiji kod COVID-19 (17). Iako je patofiziologija COVID-19 složena, primjena antagonista ADP-receptora se preporučuje nakon koronarografije pacijenata pozitivnih na SARS-CoV-2 (18).

Ekstrakti biljnih vrsta bogatih polifenolima kao što su vrste roda kadulja (*Salvia* sp.), gorska metvica (*Calamintha nepeta* L.), lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), matičnjak (*Melissa officinalis* L.), paprena metvica (*Mentha × piperita* L.), bosiljak (*Ocimum basilicum* L.), mravinac (*Origanum vulgare* L.) i

ružmarin (*Rosmarinus officinalis* L.), pokazali su pozitivan učinak smanjenjem agregacije trombocita u testovima agregacija koja je potaknuta ADP-om (19). Djelovanje ekstrakta matičnjaka povezano je sa sadržajem ružmarinske kiseline (20), dok je učinak ekstrakata vrsta kadulja povezan s antioksidacijskim kapacitetom ekstrakata (21). Uzorci propolisa pokazali su da antiagregacijski učinak ovisi o pojedinim fenolnim sastavnicama: što je niži sadržaj luteolina i viši sadržaj pinocembrin-7-metiletera izraženiji je antiagregacijski učinak ekstrakta propolisa (22).

Ispitivanja se najčešće provode na ekstraktima pojedinih biljnih vrsta. Međutim, kombinacije biljnih ekstrakata mogle bi pokazati pozitivno zajedničko djelovanje (sinergizam). U ovom radu je pokazano da pojedinačni ekstrakt propolisa pokazuje antiagregacijski učinak u testu agregacije koja je potaknuta ADP-om ($MINaAC = 10 \mu M$) i TRAP-om ($MINaAC = 20 \mu M$), dok ekstrakt ginkga pokazuje antiagregacijski učinak samo u testu agregacije koja je potaknuta TRAP-om ($MINaAC = 20 \mu M$). Međutim, ekstrakt ginkga u kombinaciji s propolisom pokazuje antiagregacijski učinak i u testu agregacije koja je potaknuta ADP-om ($MINaAC = 20 \mu M$).

Zaključak

Ekstrakt propolisa pokazao je antiagregacijski učinak u testu agregacije trombocita potaknut ADP-om pri koncentraciji od $10 \mu M$ dok ekstrakt ginkga nije pokazao antiagregacijski učinak u istom testu agregacije. I ekstrakt propolisa i ekstrakt ginkga pokazali su antiagregacijski učinak u testu agregacije trombocita potaknutom TRAP-om pri koncentraciji od $20 \mu M$. TRAP i ADP postižu svoje učinke različitim signalnim putevima, te se može zaključiti da ekstrakti propolisa i ginkga imaju različite zahvatne točke u sprječavanju agregacije trombocita. Stoga je kombinacija ekstrakata propolisa i ginkga opravdana s farmakodinamskog aspekta. Kombinacija ekstrakata pokazala je antiagregacijski učinak u testu agregacije trombocita potaknutom ADP-om pri minimalnim antiagregacijskim koncentracijama sastavnica u omjerima 1:25 i 1:50. Ekstrakt propolisa, samostalno ili u kombinaciji s ginkgom, može smanjiti agregaciju trombocita, te tako pozitivno djelovati na bolesti i stanja koja mogu rezultirati nastankom tromba (npr. srčani udar, moždani udar, COVID-19).

1. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Das SR, Delling FN, Djousse L, Elkind MSV, Ferguson JF, Fornage M, Jordan LC, Khan SS, Kissela BM, Knutson KL, Kwan TW, Lackland DT, Lewis TT, Lichtman JH, Longenecker CT, Loop MS, Lutsey PL, Martin SS, Matsushita K, Moran AE, Mussolino ME, O'Flaherty M, Pandey A., Perak AM, Rosamond WD, Roth GA, Sampson UKA, Satou GM, Schroeder EB, Shah SH, Spartano NL, Stokes A, Tirschwell DL, Tsao CW, Turakhia MP, VanWagner LB, Wilkins JT, Wong SS, Virani SS. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019; 139:e56–e528.
2. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016; 37:3232–3245.
3. Wilkins E, Wilson L, Wickramasinghe K, Bhatnagar P, Leal J, Luengo-Fernandez R, Burns R, Rayner M, Townsend N. *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. Brussels: European Heart Network, 2017.
4. Gresele P, Fuster V, López JA, Page CP, Vermynen J. *Platelets in hematologic and cardiovascular disorders*. Cambridge: Cambridge University Press, 2008:37–52.
5. Francetić I, i sur. *Farmakoterapijski priručnik*, 7. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada, 2015.
6. Medić-Šarić M, Rastija V, Bojić M, Maleš Ž. From functional food to medicinal product: systematic approach in analysis of polyphenolics from propolis and wine. *Nutr J*. 2009; 8:33.
7. Lax SF, Skok K, Zechner P, Kessler HH, Kaufmann N, Koelblinger C, Vander K, Bargfrieder U, Trauner M. Pulmonary Arterial Thrombosis in COVID-19 With Fatal Outcome: Results From a Prospective, Single-Center, Clinicopathologic Case Series. *Ann Intern Med*. 2020, 173:350–361.
8. Stefan N, Birkenfeld AL, Schulze MB, Ludwig DS. Obesity and impaired metabolic health in patients with COVID-19. *Nat Rev Endocrinol*. 2020; 16:341–342.
9. Poissy J, Goutay J, Caplan M, Parmentier E, Duburcq T, Lassalle F, Jeanpierre E, Rauch A, Labreuche J, Susen S. Pulmonary Embolism in Patients With COVID-19: Awareness of an Increased Prevalence. *Circulation*. 2020; 142:184–186.
10. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*. 1998; 36:347–363.
11. Kuštrak D, Maleš Ž, Sever A. Farmakobotaničko istraživanje Ginkgo folium. *Farm glas*. 1995; 51:291–302.
12. Calatzis A, Loreth RM, Spannagl M. *Multiplate® platelet function analysis—application and interpretation*. Munich: Dynabyte GmbH, 2006.
13. Bojić M, Debeljak Z, Tomičić M, Medić-Šarić M, Tomić S. Evaluation of antiaggregatory activity of flavonoid aglycone series. *Nutr J*. 2011; 10:73.
14. McKenzie SB, Williams JL. *Clinical Laboratory Hematology*, 2. izdanje. New York: Pearson, 2010.

15. Manne BK, Denorme F, Middleton EA, Portier I, Rowley JW, Stubben CJ, Petrey AC, Tolley ND, Guo L, Cody MJ, Weyrich AS, Yost CC, Rondina MT, Campbell RA. Platelet Gene Expression and Function in COVID-19 Patients. *Blood*. 2020; u tisku.
16. Bilaloglu S, Aphinyanaphongs Y, Jones S, Iturrate E, Hochman J, Berger JS. Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in a New York City Health System. *JAMA*. 2020; 324:799–801.
17. Grimnes G, Isaksen T, Tichelaar YIGV, Brækkan SK, Hansen JB. Acute infection as a trigger for incident venous thromboembolism: Results from a population-based case-crossover study. *Res Pract Thromb Haemost*. 2017; 2:85–92.
18. Zhou X, Li Y, Yang Q. Antiplatelet Therapy After Percutaneous Coronary Intervention in Patients With COVID-19: Implications from Clinical Features to Pathologic Findings. *Circulation*. 2020; 141:1736–1738.
19. Bojić M, Maleš Ž, Antolić A, Babić I, Tomičić M. Antithrombotic activity of flavonoids and polyphenols rich plant species. *Acta Pharm*. 2019; 69:483–495.
20. Maleš Ž, Antolić A, Babić I, Jurić S, Bojić M. Quantitative analysis of phenolic acids and antiplatelet activity of *Melissa officinalis* leaf extracts. *Nat Prod Commun*. 2017; 12:93–94.
21. Antolić A, Maleš Ž, Tomičić M, Bojić M. The Effect of Short-Toothed and Dalmatian Sage Extracts on Platelet Aggregation. *Food Technol Biotechnol*. 2018; 56:265–269.
22. Bojić M, Antolić A, Tomičić M, Debeljak Ž, Maleš Ž. Propolis ethanolic extracts reduce adenosine diphosphate induced platelet aggregation determined on whole blood. *Nutr J*. 2018; 17:52.

Primljeno 4. rujna 2020.