

Antibakterijski učinak tvari prirodnog podrijetla u kombinaciji s antibioticima

Hršan, Nikolina; Barbarić, Monika

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2021, 77, 333 - 352**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:929531>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**



Repository / Repozitorij:

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



Antibakterijski učinak tvari prirodnog podrijetla u kombinaciji s antibioticima

NIKOLINA HRŠAN¹, MONIKA BARBARIĆ²

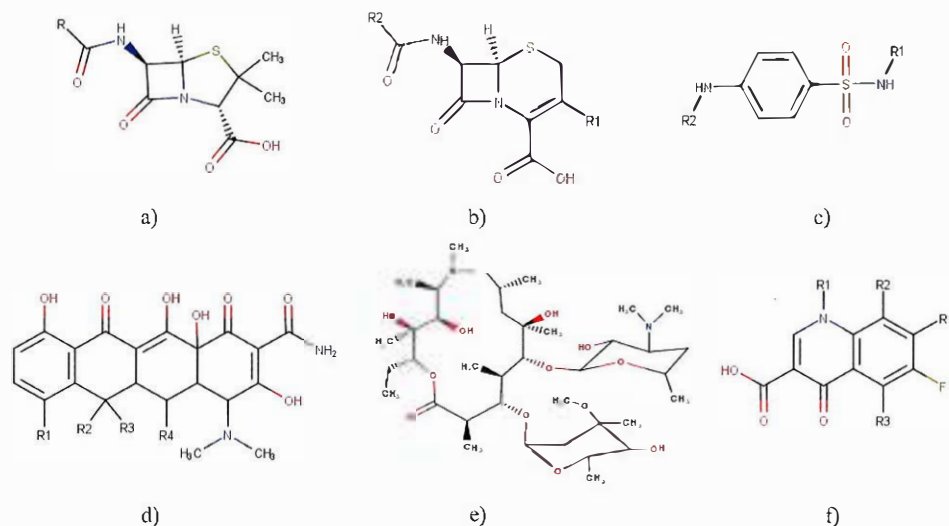
¹Studentica 5. godine studija farmacije, Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb

²Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet,
Zavod za farmaceutsku kemiju, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb

Uvod

Antibiotici su sekundarni metaboliti gljivica i bakterija, a proizvode se i sintetskim i polusintetskim postupcima. Zahvaljujući selektivnom toksičnom učinku usmjerenom na bakterije, a neškodljivost ili umjerenu škodljivost za ljude koriste se kao lijekovi za liječenje bakterijskih infekcija. Antibiotici djeluju na osnovne metaboličke procese u bakterijskoj stanici i onemogućavaju njezin normalan rast i funkcioniranje. Prema mehanizmu djelovanja možemo ih podijeliti na četiri skupine: inhibitori sinteze stanične stijenke, agensi oštećenja citoplazmatske membrane, inhibitori sinteze proteina i inhibitori sinteze nukleinske kiseline. Moguća je i podjela prema kemijskoj strukturi na peniciline, cefalosporine, sulfonamide, tetracikline, makrolide i derivate kinolona (slika 1.) (1).

Bakterije su mikroorganizmi vrlo kratkog evolucijskog ciklusa. Nekim vrstama je potrebno svega 20 minuta da bi se diobom razvila posve nova generacija bakterija pa se zbog toga mogu jako brzo prilagoditi novim životnim uvjetima u okolišu. Rezistencija na antibiotike je veliki globalni problem koji značajno umanjuje efikasnost antibiotika zbog čega se pristupa racionalnijem propisivanju antibiotika i pravilnom uzimanju u ispravnoj dozi (2). Jedan od načina smanjenja rezistencije i pojačavanja antibiotskog učinka je kombinacija dva ili više antibiotika, a u novije vrijeme antibiotici se kombiniraju sa prirodnim bioaktivnim tvarima. Kombiniranje lijekova rezultira različitim interakcijama koje se očituju kao sinergizam, aditivni učinak ili antagonizam. Antagonistički učinak javlja se



Slika 1. ► ●pća strukturna formula (a) penicilina; (b) cefalosporina (c) sulfonamida; (d) tetraciklina; (e) azitromicina (predstavnik makrolida); (f) kinolona.

kada kombinacija lijekova pokazuje učinak manji od zbroja pojedinačnih učinaka, a može doći i do poništavanja djelovanja jednog ili oba lijeka. Aditivni učinak je zbrajanje pojedinačnih učinaka lijekova bez međusobnog utjecaja jednog na drugi, odnosno djelovanje bez interakcije dok sinergistički učinak predstavlja snažnije djelovanje, odnosno veće od zbroja pojedinačnih učinaka samih lijekova. Sinergistički učinak dvaju ili više lijekova važan je dio različitih kliničkih situacija, npr. kombiniraju se različiti antitumorski lijekovi u manjim dozama kako bi se povećala učinkovitost ili pak smanjila učestalost razvoja ili intenzitet nuspojava (3). Vrijednost učinka kombinacije dvaju antibiotika ili antibiotika i neke druge antimikrobne tvari u odnosu na pojedinačnu aktivnost antibiotika može se iskazati indeksom razlomljene inhibitorne koncentracije (engl. *Fractional Inhibitory Concentration*, FIK). Za izračun indeksa FIK koristi se jednadžba:

$$\frac{A}{\text{MIK}_A} + \frac{A}{\text{MIK}_B} = \text{FIK}_A + \text{FIK}_B = \text{FIK}$$

gdje su A i B minimalne inhibitorne koncentracije dva različita antibiotika ili antibiotika i druge bioaktivne tvari u kombinaciji, a MIK_A i MIK_B njihove pojedinačne minimalne inhibitorne koncentracije. Učinak kombinacije prema FIK vrijednosti može se okarakterizirati kao sinergistički, aditivni ili antagonistički učinak (tablica 1.) (4).

Tablica 1. ► Učinak kombinacije antibiotika i bioaktivne tvari prema vrijednosti indeksa razlomljene inhibitorne koncentracije (FIK)

FIK vrijednost	učinak
<0.5	sinergizam
0,5-4	aditivno
>4	antagonistički

Sinergistički učinak antibiotika može se odvijati različitim mehanizmima. Kombiniranjem dva antibiotika mogu se blokirati različiti koraci u metaboličkom putu bakterije. Primjer je kombinacija sulfonamida i trimetoprima u točno određenom omjeru. Sulfonamidi inhibiraju sintezu *para*-amino-benzojeve kiseline, koja je prethodnik folne kiseline, a trimetoprim inhibira pretvorbu folne u tetrahidrofolnu kiselinu. Na taj način blokirana su dva koraka metaboličkog puta; sinteza purinskih baza i nukleinskih kiselina u bakterija. Antibiotici koji inhibiraju sintezu stanične stijenke bakterija (npr. penicilin) kombiniraju se s aminoglikozidima. Penicilin na taj način povećava koncentraciju aminoglikozida u bakterijskoj stanici. Postoje i kombinacije antibiotika koji narušavaju konzistenciju citoplazmatske membrane s antibioticima drugačijih mehanizama djelovanja kako bi se povećala njihova učinkovitost (5).

Osim kombinacije dva antibiotika u terapiji oboljelih postoje i kombinacije sa spojevima koji sami nemaju antibiotski učinak. Jedan od takvih primjera je poznata kombinacija penicilina s inhibitorima beta-laktamaze poput klavulanske kiseline, sulbaktama i tazobaktama koji nemaju antibiotski učinak, ali one mogući razgradnju penicilina koji djeluje na staničnu stjenku bakterija (6).

U novije vrijeme, sve se više ispituju kombinacije antibiotika s prirodnim bioaktivnim spojevima podrijetlom iz biljaka, životinja ili gljiva koji imaju antimikrobno djelovanje. Biljke se posebno smatraju vrijednim izvorom prirodnih spojeva koji pokazuju antidijabetički, protuupalni, antitumorski i antimikrobni učinak (7).

Antibakterijski učinak tvari podrijetlom iz biljaka u kombinaciji s antibioticima

Cimetovac, mravinac, paprena metvica i timijan

Rosato i suradnici u svojoj studiji (8) kombiniraju eterično ulje cimetovca (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, Lauraceae), origana (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae), paprene metvice (*Mentha x piperita* L., Lamiaceae) i timijana (*Thymus vulgaris* L., Lamiaceae) s oksaciklinom, norfloksacinom i gentamicinom (tablica 2.). Istraživanje je provedeno na 4 vrste gram pozitivnih bakterija: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*. Bakterije su najprije tretirane samo s antibioticima, a zatim eteričnim uljima biljaka u koncentracijama koje su rezultirale sličnom zonom inhibicije rasta bakterija kao

Tablica 2. ► Učinkak bioaktivnih tvari iz biljaka, životinja i viših gljiva u kombinaciji s antibioticima na inhibiciju rasta različitih vrsta bakterija

izvor	bioaktivna tvar	antibiotik	bakterija	učinak	literatura
cimetovac	eterično ulje	gentamicin, oksacilin, norfloksacin	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	smanjenje doze antibiotika/ sinergizam	Rosato i sur, 2020.
		amoksicilin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Tannerella forsythia</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
	etanolni ekstrakt	azitromicin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i>	sinergizam	Saquib i sur, 2019.
		metronidazol, tetraciklin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
arak	etanolni ekstrakt	amoksicilin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i>		
		tetraciklin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Tannerella forsythia</i>		
		metronidazol, tetraciklin	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
mravinac, paprena metvica, timijan	eterično ulje	gentamicin, oksacilin, norfloksacin	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	smanjenje doze antibiotika/ sinergizam	Rosato i sur, 2020.
penjačice iz porodice Bignoniaceae	ekstrakt biljke (apigenin, krizin i luteolin)	oksacilin, gentamicin, ampicilin	multirezistentni sojevi <i>Staphylococcus</i> , gram negativne bakterije	sinergizam	Torres i sur, 2017.
ljepljivi oman, žuti anaciklus	metanolni ekstrakt, eterično ulje	oksaciklin, gentamicin	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	sinergizam	Side Larbi i sur, 2016.
	metanolni ekstrakt	oksaciklin, gentamicin	<i>Staphylococcus aureus</i>	aditivni/ nema učinka	

Tablica 2. ► nastavak

izvor	bioaktivna tvar	antibiotik	bakterija	učinak	literatura
ečeverija	metanolni ekstrakt biljke	karbenicilin, meticilin	<i>Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Ahumada-Santos i sur, 201 6
mageljanova bobica	metanolni ekstrakt biljke (alkaloidi)	ampicilin, cefalotin	<i>Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilisi</i>	sinergizam	Manosalva i sur, 201 6.
			<i>Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Listeria monocytogenes, Enterobacter aerogenes</i>	nema učinka	
kurkuma	kurkumin	ampicilin, amoksicilin/klavulanska kiselina, ceftriakson, cefotaksim, ceftazidim, cefazolin, aztreonam, imipenem, ciprofloksacin, tetraciklin, trimetoprim	<i>Escherichia coli</i>	sinergizam	Rangel-Castaneda i sur, 201 9
		ampicilin/sulbaktam		nema učinka	
	ksantorizol	polimiksin B nonapeptid + nisin, polimiksin B, nonapeptid + karvakol, polimiksin B nonapeptid + timol	<i>Shigella spp., Yersinia enterocolitica, Acinetobacter baumannii, Escherichia coli, Salmonella typhi, Vibrio cholerae</i>	sinergizam	Ki i sur, 201 9
lovor	eterično ulje (eukaliptol, α-terpinil acetat i metil eugenol)	flukonazol	<i>Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Candida albicans, Candida glabrata, Candida krusei, Candida parapsilosis</i>	sinergizam	Nafis i sur, 2020.

Tablica 2. ► nastavak

izvor	bioaktivna tvar	antibiotik	bakterija	učinak	literatura
marelica	eterično ulje (Z)-fitol, pentakozan, nonakozan, banzaldehid)	flukonazol	<i>Candida albicans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i>	sinergizam	Nafis i sur, 2 02 0.
		ciprofloksacin	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>		
		vankomicin	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	parcijalni sinergizam	
bodljikavi lisnati jasen	felopterin izopimpinelin 5-geraniloksi-7- metoksikumarin	kloramfenikol	meticilin rezistentni <i>Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Zuo i sur, 201 6.
		gentamicin			
		minociklin		5-geraniloksi-7-metoksi- kumarin, 5,7-dimetoksi- 8- preniloksikumarin, izopimpinelin i felopterin	
palma babassu	fiksirano ulje (laurinska, miristinska, palmitinska, oleinska kiselina)	amikacin, gentamicin	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Nobre i sur, 201 8. , Machado i sur, 2 019.
			<i>Escherichia coli</i>	antagonizam	Machado i sur, 201 9
<i>Spatholobus suberectus</i> , Fabaceae	ekstrakt	streptomycin sulfat	<i>Streptococcus agalacticae</i>	sinergizam	Guo i sur, 201 8.

Tablica 2. ► nastavak

izvor	bioaktivna tvar	antibiotik	bakterija	učinak	literatura
ružmarin	ružmarinska kiselina	amoksisilin, ofloksacin, vankomicin	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>meticilin rezistentni Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Ekambaram i sur, 2016.
arak	etanolni ekstrakt	tetraciklin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Tannerella forsythia</i>	sinergizam	Saqib i sur, 2019.
		amoksisilin	<i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Tannerella forsythia</i>		
		metronidazol, azitromicin	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
barbadoški oraščić	ulje, metanolni, vodeni i <i>n</i> -heksanski ekstrakt sjemenki	ciprofloksacin, cefotaksim, rifampicin, moksifloksacin, ofloksacin	<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas monteilii</i> , <i>Pseudomonas chlororaphis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>meticilin rezistentni Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Haq i sur, 2019.
mali puž	7, 8-dideoksigriseor-hodin C	oksacilin	<i>meticilin rezistentni Staphylococcus aureus</i>	smanjenje doze/ sinergizam	Miller i sur, 2020.
pčela medarica	metanolni ekstrakt propolisa (polifenoli, kumarini, aminokiseline, vitamini i minerali u tragovima)	gentamicin, vankomicin, amikacin, tetraciklin, tigeciklin	<i>Staphylococcus sojevi</i>	smanjenje doze/ sinergizam	Okinczyc i sur, 2020.
više gljive	metanolni ekstrakt	cefuroksim	<i>meticilin rezistentni Staphylococcus aureus</i>	sinergizam	Lictor-Busa i sur, 2016.

kod antibiotika. Zatim su bakterije tretirane kombinacijama koje su sadržavale 40, 20, 10 i 5 % vrijednosti MIK za eterična ulja i 25, 12,5, 6,25 i 3,12 vrijednosti MIK za antibiotike. U rezultatima studije uočen je značajan sinergistički učinak uz primjenu značajno manje količine antibiotika (tablica 2.). Tako je za antibakterijski učinak oksacilina potrebno 64 µg, a u kombinaciji s eteričnim uljima dovoljno je 2 µg oksacilina, odnosno za isti učinak oksacilina potrebna je do 32 puta manja doza. Ista vrijednost dobivena je i za gentamicin i norfloksacin. Vrijednost indeksa FIK za kombinacije oksacilina i norfloksacina s eteričnim uljima iznosio je 0,08-0,23, a za gentamicin 0,08-0,16.

Penjačice iz porodice Bignoniaceae

Torres i suradnici opisali su još jedan primjer uspješnog sinergizma antibiotika s prirodnim bioaktivnim tvarima (9). U studiji na multirezistentnim sojevima bakterija roda *Staphylococcus* te gram negativnim bakterijama koristili su oksacilin, gentamicin i ampicilin u kombinaciji s ekstraktima penjačica iz porodice katalpovki (Bignoniaceae): *Adenocalymma marginatum* (Cham.) DC., *Amphiphium vauthier* DC., *Cuspidaria convoluta* Vell. i 20-tak drugih vrsta. Svi ekstrakti pokazali su sinergistički učinak s antibioticima, a najbolji učinak inhibicije rasta bakterija postignut je u kombinaciji antibiotika i ekstrakta biljke *Friedericia caudigera* (S. Moore) A.H. Gentry (tablica 2.). Daljnjom analizom pronađeno je da su spojevi apigenin, krizin i luteolin odgovorni za antimikrobni učinak biljnih ekstrakata korištenih u studiji (9).

Ljepljivi oman i žuti anaciklus

Side Larbi i suradnici u svom radu također opisuju kombinacije oksacilina i gentamicina s prirodnim tvarima biljnog porijekla (10). U studiji su tretirane tri bakterijske vrste *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Bacillus subtilis* kombinacijom antibiotika gentamicina i oksacilina s metanolnim ekstraktima i eteričnim uljima biljaka ljepljivi oman (*Inula viscosa* L., Asteraceae) i žuti anaciklus (*Anacyclus valentinus* L., Asteraceae). Vrijednosti MIK iznosile su za metanolne ekstrakte 6,25-50 mg/mL, eterična ulja 12,5-125 µL/mL, gentamicin 62,5-250 µL/mL i oksaciklin 250 µL/mL. Istraživane su kombinacije s antibioticima ali i međusobna kombinacija ekstrakata, odnosno eteričnih ulja biljaka u količinama od po 20 µL svakog uzorka. Za točnu procjenu sinergističkih učinaka određene su vrijednosti FIK indeksa za pojedine kombinacije. Vrijednosti FIK indeksa za kombinacije antibiotika s eteričnim uljem ljepljivog omara iznose 0,06 (*E. coli*) – 0,09 (*B. subtilis*) dok za eterično ulje žutog anaciklusa iznosi 0,067 (*E. coli*) – 0,09 (*B. subtilis*). Za kombinacije antibiotika s ekstraktima vrijednost indeksa

FIK iznosi 0,15 (*E. coli*) – 0,3 (*B. subtilis*) za ljepljivi oman te 0,08 (*E. coli*) – 0,36 (*B. subtilis*) za žuti anaciklus. Učinak kombinacije antibiotika i ekstrakata obje biljke na soj bakterija *S. aureus* je aditivni do bez međusobnog učinka (FIK= 0,6-2,007). Međusobna kombinacija eteričnih ulja biljaka pokazuje sinergistički učinak inhibicije vrsta bakterija *E. coli* i *S. aureus* (FIK= 0,09), a antagonistički na bakteriju *B. subtilis* (FIK= 8,24), dok kombinacije ekstrakata pokazuju antagonistički učinak protiv bakterija *E. coli* (FIK= 6) i *S. aureus* (FIK= 9) te bez učinka na *B. subtilis* (FIK= 2,5) (tablica 2.).

Ečeverija

Ahumada-Santos i suradnici proučavali su sinergistički učinak beta-laktamskih antibiotika s prirodnim tvarima. U studiji je istraživan metanolni ekstrakt biljke ečeverija (*Echeveria subrigida*, Crassulaceae) u kombinaciji s različitim antibioticima na inhibiciju rasta multirezistentnih sojeva bakterija *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus*. Sojevi bakterija najprije su tretirani samo ekstraktom i antibioticima, a zatim njihovom kombinacijom. Ekstrakt biljke pokazao je zadovoljavajuću aktivnost (MIK=250-1000 µg/mL) a u kombinaciji ekstrakta biljke i antibiotika karbenicilina i metecilina pronađen je sinergistički učinak protiv bakterije *Staphylococcus aureus* (FIK= 0,28-0,5) (tablica 2.) (7).

Mageljanova bobica

Bakteriostatski učinak metanolnih ekstrakata alkaloida ekstrahiranih iz lišća, stabljike i korijena biljke mageljanova bobica (*Berberis microphylla* G. Forst, Berberidaceae) u kombinaciji s ampicilinom i cefalotinom istraživan je na gram pozitivnim (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* i *Bacillus subtilis*) i gram negativnim bakterijama (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Enterobacter aerogenes*) (11). Određene su vrijednosti MIK za ekstrakte alkaloida i antibiotika te FIK indeks za vrednovanje učinka kombinacije ekstrakta i antibiotika. Ekstrakt alkaloida biljke mageljanova bobica djeluje samo na sojeve gram pozitivnih bakterija (MIK= 83-333 µg/mL), ovisno o dijelu biljke iz koje je izoliran alkaloid. Ekstrakti izolirani iz stabljike i korijena biljke imaju manju vrijednost MIK na bakteriju *S. epidermidis* (83 µg/mL) dok ekstrakt alkaloida iz lišća veću vrijednost MIK (125 µg/mL). Kombinacije ekstrakata alkaloida i ampicilina ili cefalotina djelotvorne su samo na gram pozitivnim bakterijama. Ampicilin je djelovao sinergistički u kombinaciji s ekstraktom iz stabljike na *S. aureus* i *B. subtilis* (FIK= 0,5), dok je u kombinaciji s ekstraktom iz lišća djelovao na bakterije *B. cereus*, *S. epidermidis* i *B. subtilis* (FIK= 0,5), a s ekstraktom iz korijena samo na bakteriju *B. subtilis* (FIK= 0,5) dok

u ostalim slučajevima nema učinka (FIK= 1-2). Kombinacija cefalotina ima sinergistički učinak u kombinaciji s ekstraktom iz lišća na bakterije *S. aureus*, *B. cereus* i *S. epidermidis* (FIK= 0,5), s ekstraktom stabljike protiv *S. aureus*, i *B. subtilis* (FIK= 0,5), a s ekstraktom korijena samo na *B. cereus* i *S. epidermidis* (FIK= 0,5) (tablica 2.) dok na ostale vrste bakterija sinergističkog učinka nije bilo (FIK=1).

Kurkuma

Kombiniranje različitih antibiotika s prirodnim bioaktivnim tvarima biljnog podrijetla istraživano je na enterotoksigenim sojevima bakterija *Escherichia coli* koja je glavni uzročnik akutne dijareje, važnog globalnog zdravstvenog problema (12). Od prirodnih bioaktivnih tvari koristili su kurkumin; kurkuminoid izoliran iz kurkume, *Curcuma longa* L., Zingiberaceae. Kurkumin posjeduje različite biološke učinke poput antioksidativnog, antiinflamatornog, antitumorskog, antiproliferativnog te antibakterijskog učinka. Antibiotici korišteni u studiji su ampicilin, amoksicilin/klavulanska kiselina, ampicilin/sulbaktam, ceftriakson, cefotaksim, ceftazidim, cefazolin, aztreonam, imipenem, ciprofloksacin, tetraciklin i trimetoprim. Bakterija *Escherichia coli* pokazala se rezistentnom na djelovanje antibiotika ampicilina, ampicilin/sulbaktama, amoksicilin/klavulanske kiseline i cefazolina, dok je na ostale antibiotike bila osjetljiva. Primijenjen pojedinačno kurkumin nije utjecao na rast gram negativnih bakterija, dok je u kombinaciji sa svim ispitanim antibioticima došlo do pojačavanja njihovog učinka, a najdjelotvornijom se pokazala kombinacije pri koncentraciji kurkumina 330 µg/mL. Sinergistički učinak iskazan je kao postotak povećanja promjera zone inhibicije rasta ispitivanih bakterija. Pri tome je najjači sinergistički učinak uočen u kombinaciji kurkumina s ceftazidimom (74,2 %) , dok je povećanje promjera zone inhibicije rasta bakterija bilo nešto manje izraženo u kombinaciji kurkumina s cefotaksimom, ampicilinom kao i u kombinaciji kurkumina s amoksicilinom i klavulanskom kiselinom (tablica 2.). U kombinaciji kurkumina s aztreonamom, trimetoprimom, ciprofloksacinom, ceftriaksonom, cefazolinom, tetraciklinom i imipenemom osjetljivost bakterije *Escherichia coli* se statistički značajno povećala dok je na djelovanje kombinacije kurkumina s ampicilinom i sulbaktamom bakterija *Escherichia coli* bila rezistentna.

Još jedna skupina znanstvenika istraživala je antimikrobne učinke bioaktivnog spoja izoliranog iz kurkume: ksantorizola koji ima snažno protugljivično i antibakterijsko djelovanje prema gram pozitivnim bakterijama, kao što su *Streptococcus mutans* i *Staphylococcus aureus* (13). Antibakterijsko djelovanje protiv gram negativnih bakterija nije pronađeno. U istraživanju je ispitan učinak ksantorizola s antibioticima i drugim tvarima a u svrhu širenja antimikrobnog spektra

ksantorizola protiv gram negativnih bakterija. Polimiksin B nonapeptid (PMBN), koji je manje toksičan od polimiksina B, odabran je kao permeabilizator vanjske membrane bakterija. Antibakterijska aktivnost različitih dvostrukih ili trostrukih kombinacija sa ili bez ksantorizola ispitivana je *in vitro* na četiri vrste gram negativnih bakterija (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica serovar Typhi*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium* i *Vibrio cholerae*). Jak sinergistički učinak pokazale su kombinacije ksantorizol + PMBN + nisin, ksantorizol + PMBN + karvakrol i ksantorizol + PMBN + timol. Snažno antimikrobno djelovanje kombinacija ostvareno je i protiv *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica* i *Acinetobacter baumannii*. Tri od navedenih kombinacija postigle su baktericidni učinak na *E. coli* unutar 2 sata, te *Salmonella typhi* i *V. cholerae* u roku od 15 minuta (tablica 2.).

Lovor i marelica

Antimikrobni učinak eteričnoga ulja lista lovora (*Laurus nobilis* L., Lauraceae) i lista marelice (*Prunus armeniaca* L., Rosaceae) istraživano je u kombinaciji s antibioticima flukonazolom, ciprofloksacinom i vankomicinom (14). Ispitan je i sastav eteričnih ulja te je utvrđeno da eterično ulje lovora pretežno sadrži eukaliptol, α -terpinil acetat i metil eugenol, dok u ulju marelice dominiraju (Z)-fitol, pentakozan, nonakozan i banzaldehid. U studiji su korištene bakterije *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* te gljivice *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* i *Candida parapsilosis*. Oba eterična ulja sama inhibirala su rast svih mikroorganizama. Eterično ulje lovora imalo je veću antimikrobnu aktivnost s vrijednostima MIK= 1,39-23,4 mg/mL za djelovanje na bakterijama i MIK= 2,77-11,7 mg/mL za djelovanje na gljivicama. U istraživanju kombinacija eteričnog ulja lovora i marelice i antibiotika od ukupno 32 kombinacije, 23 su pokazale totalni sinergizam (FIK < 0,5), a njih 9 parcijalni (FIK= 0,5-0,75). Eterično ulje lovora pokazalo je najveći sinergistički učinak u kombinaciji sa svim antibioticima s vrijednostima FIK= 0,266-0,75 za bakterije i FIK= 0,258 i 0,266 za gljivice.

Bodljikavi lisnati jasen

Još jedna skupina prirodnih bioaktivnih tvari koja se pokazala obećavajućom u kombiniranju s antibakterijskim lijekovima je skupina od četiri prirodna kumarina (5-geraniloksi-7-metoksikumarin, 5,7-dimetoksi-8-preniloksikumarin, izopimpinelin i felopterin) dobivena ekstrakcijom iz biljke bodljikavi lisnati jasen (*Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. Rutaceae). GY Zuo i suradnici u svom radu ispitali su njihov sinergistički učinak s antibakterijskim lijekovima kloramfenikolom, gentamicinom, fosfomicinom, levofloksacinom, minociklinom,

piperaciklinom/tazobaktamom, teikoplaninom i vankomicinom (15). Vrijednosti MIK samih kumarina iznosile su 8-64 µg/mL za inhibiciju rasta meticilin rezistantnog *Staphylococcus aureus* (MRSA) i 256-≥1024 µg/mL za gram negativne bakterije i gljivice. Sinergistički učinak određen je na temelju indeksa FIK od 0,19-1,13, a najboljima su se pokazale kombinacije gentamicina i izopiminelina, kloramfenikola i felopterina te minociklina i 5-geraniloksi-7-metoksikumarina u bakteristatskom učinku protiv MRSA. Uočeno je da je za isti učinak antibiotika u kombinaciji s ekstraktom kumarina potrebna puno manja doza a najveće smanjenje doze antibiotika uočeno je za vankomicin (tablica 2.).

Brazilske palme

Sinergistički učinak fiksiranih ulja (ulja životinjskog ili biljnog podrijetla koja nemaju svojstvo isparavanja) dviju brazilskih palmi, babassu (*Orbignya speciosa*, Arecaceae) i buriti (*Mauritia flexuosa*, Arecaceae) istraživan je u kombinaciji s aminoglikozidima (16). Bakteriostatski i sinergistički učinak ulja babassu palme ispitan je na bakterijama *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* pri čemu su izmjerene MIK od 32 µg/mL za *E.coli*, 256 µg/mL za *S. aureus* i 512 µg/mL za *E. coli*. Sinergistički učinak utvrđen je u kombinaciji ulja palme babassu i amikacina (tablica 2.).

Godinu dana kasnije provedeno je slično istraživanje. fiksiranoga ulja babassu palme (*Orbignya speciosa*, Arecaceae) u kombinaciji s aminoglikozidima amikacinom i gentamicinom (17). Antibakterijska aktivnost ispitana je na nizu bakterijskih sojeva vrsta *Staphylococcus aureus* SA-ATCC 6538, *Bacillus cereus* BC-ATCC 33018, *Escherichia coli* EC-ATCC10536, *Pseudomonas aeruginosa* PA-ATCC 9027, *Klebsiella pneumoniae* KP-ATCC 10031, *Shigella flexneri* EC-ATCC 12022 i *Proteus vulgaris* PV-ATCC 13315 te na multirezistentnim sojevima *S. aureus* SA-10 i *E. coli* EC-06. Određene su MIK vrijednosti ulja biljaka te one iznose 406,37 µg/mL za *K. pneumoniae*, 812,75 µg/mL za *S. aureus*, dok je za ostale sojeve, uključujući i multirezistentne, MIK > 1024 µg/mL. Uočen je značajan sinergistički učinak ulja babassu palme i antibiotika amikacina i gentamicina u bakteriostatskom djelovanju na *S. aureus* SA-10 i značajan antagonistički učinak iste kombinacije protiv *E. coli* EC-06 (tablica 2.). U radu je određen i sastav fiksiranog ulja u kojem prevladavaju zasićene masne kiseline, laurinska, miristinska i palmitinska (76,90 %) a ostatak sastava čini nezasićena oleinska kiselina. Smatra se da je antibakterijsko djelovanje ulja rezultat djelovanja masnih kiselina koje djeluju kao deterdženti na amfipatsku strukturu stanične stjenke bakterija te narušavaju njezinu primarnu funkciju.

Spatholobus suberectus Dunn, Fabaceae

Infekcija bakterijom *Streptococcus agalacticae* uzrokuje ozbiljne probleme u uzgoju ribe tilapije (*Oreochromis niloticus*) u rijeci Nil. Skupina kineskih znanstvenika odlučila je istražiti antibakterijski sinergistički učinak ekstrakta biljke *Spatholobus suberectus* Dunn, Fabaceae i antibiotika streptomycin sulfata na sojevima bakterije *Streptococcus agalacticae* (18). Ekstrakt biljke i streptomicina primijenjeni su najprije zasebno, a zatim i njihova kombinacija. U kombinaciji je ostvaren značajan sinergistički učinak ekstrakta i antibiotika, s optimalnim omjerom 42,5:1 (tablica 2.). Vrijednost koncentracije MIK za ekstrakt biljke nakon primjene u kombinaciji sa streptomycinom smanjena je sa 27,84 na 5,95 mg/mL, a MIK za streptomycin sulfat u kombinaciji s ekstraktom biljke je bio niži oko pet puta (0,66 mg/mL). Pokusi *in vitro* potvrđeni su i istraživanjem *in vivo* na način da je u hranu za ribe umiješano 0,52 % ekstrakta biljke ili 0,013 % streptomycin sulfata ili njihove kombinacije. Postotak preživljavanja zaražene ribe iznosio je 52,6 % u slučaju dodatka čistog ekstrakta biljke, 13,9 % kod dodatka antibiotika i 80,5 % kod primjene kombinacije ekstrakta biljke i antibiotika.

Ružmarin

Sljedeći primjer uspješnog kombiniranja prirodnih bioaktivnih tvari i antibiotika donose Ekambaram i suradnici (19) u svom radu gdje kombiniraju ružmarinsku kiselinu (90 % čistoće) sa standardnim antibioticima amoksicilinom, ofloksacinom i vankomicinom na bakterijskim sojevima *Staphylococcus aureus* i meticilin rezistantnom *S. aureus* (MRSA). Vrijednosti MIK ružmarinske kiseline kod bakteriostatskog djelovanja na MRSA soj bakterije *S. aureus* iznosile su 0,8 mg/mL odnosno 10 mg/mL. Na identičan način određene su MIK vrijednosti antibiotika koje protiv *S. aureus* iznose 20 µg/mL za vankomicin i ofloksacin te 30 µg/mL za amoksicilin. Vrijednost MIK za bakteriostatsko djelovanje vankomicina na MRSA iznosi 40 µg/mL dok za ofloksacin i amoksicilin MIK vrijednost nije određena jer kod koncentracije 80 µg/mL nije primijećen učinak, a daljnja određivanja nisu provedena. Vrijednost FIK indeksa za sve kombinacije ružmarinske kiseline i antibiotika iznosi 0,5 što potvrđuje sinergističko djelovanje kombinacija (tablica 2.).

Arak i cejlonski cimetovac

Saquib i suradnici u svom radu (20) donose potencijalno rješenje za problem sve veće rezistencije na antibiotike. U istraživanju kombiniraju etanolne ekstrakte osušenih dijelova biljaka arak (*Salvadora persica*, Salvadoraceae) i cejlonskog

cimetovca (*Cinnamomum zeylanicum*, Lauraceae) s komercijalnim antibioticima azitromicinom, tetraciklinom, metronidazolom i amoksicilinom. Istraživanje je provedeno na bakterijama *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* i *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* koje uzrokuju periodontitis, ozbiljnu upalu desni koja uništava mekana tkiva i kosti koje podupiru zube. Spomenuti mikroorganizmi su izolirani iz plaka prikupljenog oko zuba pacijenata s aktivnim periodontitisom. MIK vrijednost za ekstrakt cejlonskog cimetovca iznosi 1,56-12,5 mg/mL pri čemu ekstrakt cimetovca najbolje djeluje bakteriostatski na *T. forsythia*, a najslabije na *A. actinomycetemcomitans*. Kombinacija ekstrakta cimeta i azitromicina rezultirala je snažnim sinergističkim učinkom na *P. gingivalis* i *T. denticola*, a kombinacija ekstrakta s metronidazolom i tetraciklinom pokazala se najučinkovitijom u inhibiciji porasta bakterija *A. actinomycetemcomitans* i *P. gingivalis*. Najizraženiji sinergistički učinak imale su kombinacije s amoksicilinom budući da takve kombinacije nisu rezultirale antagonističkim učinkom ni kod jedne bakterije. Etanolni ekstrakt biljke arak pokazao je sinergistički učinak s tetraciklinom na inhibiciju rasta bakterija *P. gingivalis*, *T. denticola* i *T. forsythia*, s amoksicilinom na bakterije *P. gingivalis* i *T. forsythia* dok su kombinacije s metronidazolom i azitromicinom pokazale sinergistički učinak na inhibiciju rasta samo protiv *A. actinomycetemcomitans* (tablica 2.).

Barbadoški oraščić

Haq i suradnici u svojoj studiji (21) koriste ulje i metanolni, vodeni i *n*-heksanski ekstrakt sjemenki biljke barbadoški oraščić (*Jatropha curcas* L., Euphorbiaceae) te antibiotike ciprofloksacin, cefotaksim, rifampicin, moksifloksacin i ofloksacin. Ispitivanje je provedeno na nizu gram pozitivnih (*Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*) i gram negativnih (*Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*) bakterija, uključujući i višestruko rezistentne (MDR) sojeve vrsta *Pseudomonas monteilii*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter baumannii*, te MRSA. Najbolji bakteriostatski učinak postignut je s metanolnim ekstraktom biljke barbadoški oraščić na MRSA i *S. aureus* ATCC25923 (MIK= 50 mg/mL). Ulje sjemenki nije pokazalo antibakterijsku aktivnost protiv MDR sojeva, a protiv *P. monteilii* niti jedan ekstrakt niti ulje nije pokazalo antibakterijsku aktivnost. Najučinkovitijim antibiotikom protiv *P. aeruginosa* pokazao se moksifloksacin, a vrlo dobar antibakterijski učinak imao je i na ostale kliničke sojeve osim na vrste *P. vulgaris* i *A. baumannii*. Rifampicin i cefotaksim pokazali su najmanji potencijal djelovanja protiv većine kliničkih sojeva bakterija osim na vrste *A.*

baumannii i *P. vulgaris* dok je na MDR sojeve najjače je djelovao moksifloksacin, a najslabije cefotaksim.

Slične vrijednosti dobivene su i s uljem sjemenki barbadoškog oraščića u bakteriostatskom učinku na MRSA soj (MIK~50mg/ml), dok ulje sjemenki i vodeni ekstrakti nisu pokazali antibakterijsku aktivnost niti protiv jednog soja. Vrijednosti MIK biljnih ekstrakata i ulja nalazile su se u rasponu između 50 i 200 mg/mL. Najizraženiji učinak na inhibiciju rasta kliničkih izolata, uključujući i *A. baumannii* i *P. vulgaris*, imao je antibiotik cefotaksim (MIK= 0,195 µg/mL), dok je utjecaj rifampicina na inhibiciju rasta bakterija bio nešto slabiji (MIK= 3,125 µg/mL). Međutim, primjenom metanolnog ekstrakta sjemenki biljke barbadoški oraščić s rifampicinom rezultiralo je maksimalnim sinergističkim učinkom u 15,29 % slučajeva (FIK≤0,5) na inhibiciju rasta niza ispitanih bakterija uključujući *A. baumannii*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, divlji i MRSA soj *S. aureus*, MDR soj *A. baumannii*, *P. chlororaphis* i *E. coli*. Kombinacija metanolnog ekstrakta s ciprofloksacinom na svim u istraživanju korištenim bakterijama pokazala je sinergistički učinak u 11,76 % mogućih kombinacija, zatim kombinacije metanolnog ekstrakta/ulja s ofloksacinom i *n*-heksanskog ekstrakta s cefotaksimom 8,24 % te kombinacije metanolnog ekstrakta s moksifloksacinom u 2,35 %. Metanolni biljni ekstrakt djeluje sinergistički u 44,71 % kombinacija, *n*-heksanski ekstrakt u 32,94 %, vodeni u 9,41 % te ulje sjemenki u 25,88 % kombinacija s antibioticima na u istraživanju korištenim bakterijama (tablica 2.).

Antibakterijski učinak tvari podrijetlom iz životinja u kombinaciji s antibioticima

7,8-dideoksigriseorhodin C iz malog puža

Nedavno je ispitano djelovanje prirodnog spoja 7,8-dideoksigriseorhodin C koji je produkt metabolizma bakterije *Streptomyces* spp izolirane iz homogenata tkiva tijela malog puža (*Truncatella guerinii*) čije je stanište ispod biljnih ostataka u blizini zone zapljuskivanja mora (22). Ispitivanjem je obuhvaćen MRSA soj bakterije *Staphylococcus aureus* koji je tretiran sa 7,8-dideoksigriseorhodinom C (0,01-0,02 µg/mL) i oksacilinom (0,02-0,0298 µg/mL), pojedinačno i u kombinaciji. Svi primijenjeni agensi pokazali su bakteriostatski učinak. Određene su vrijednosti MIK koje su za 7,8-dideoksigriseorhodinu iznosile 0,08-0,12 µg/mL, a za oksicilin 1,59-6,24 µg/mL. Primjenom kombinacije postignute su niže MIK vrijednosti (8 puta za 7,8-dideoksigriseorhodinom i 80 puta za oksicilin), a na temelju FIK indeksa koji je iznosio 0,12-0,24 možemo zaključiti da se radi o sinergističkom učinku kombinacije (tablica 2.).

istraživanjima kombinacije prirodnih bioaktivnih tvari i antibiotika mogla primijeniti u terapiji.

7-8
2021

Antibacterial effect of substances of natural origin in combination with antibiotics

N. Hršan, M. Barbarić

Abstract Antibiotic resistance is a well-recognised global health problem. One way to address it is to rationally prescribe medications to reduce the frequency of resistance and side effects or toxic effects. In recent times the subject of research is also the combination of different drugs and/or drugs with natural bioactive substances. This paper summarizes several studies of the antibacterial effect of bioactive substances of plant, animal or fungal origin applied alone or in combination with antibiotics used in therapy. The results of these studies show mostly positive synergistic effects. It can be concluded that, given the promising positive results, with further research, this type of medication could be applied in therapy.

Literatura – References

1. Ahumada-Santos YP, Soto-Sotomayor ME, Baez-Flores ME, Diaz-Camacho SP, Lopez-Angulo G, Eslava-Campos CA, Delgado-Vargas F. Antibacterial synergism of *Echeveria subrigida* (B. L. Rob & Seaton) and commercial antibiotics against multidrug resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Integr. Med.* 2016; 8(5):638–644.
2. <https://www.synlab.hr/antibiotici-i-rezistencija-kao-globalni-problem/>, datum pristupa: 05.11.2020.
3. <https://www.intechopen.com/books/toxicity-and-drug-testing/drug-synergy-mechanisms-and-methods-of-analysis>, datum pristupa: 03.02.2021.
4. <https://emerypharma.com/biology/antimicrobial-synergy-study-checkerboard-assay/>, datum pristupa: 01.12.2020.
5. Uzunović-Kamberović, S. *Medicinska mikrobiologija*. Zenica: Štamparija Fojnica d.o.o, 2009.
6. Silverman, RB, Holladay, MW. *The organic chemistry of drug design and drug action*. 3.ed. New York: Academic Press, 2014.
7. Ahumada-Santos YP, Soto-Sotomayor ME, Baez-Flores ME, Diaz-Camacho SP, Lopez-Angulo G, Eslava-Campos CA, Delgado-Vargas F. Antibacterial synergism of *Echeveria subrigida* (B. L. Rob & Seaton) and commercial antibiotics against multidrug resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Integr. Med.* 2016; 8(5):638–644.

8. Rosato A, Sblano S, Salvagno L, Carocci A, Clodoveo ML, Corbo F, Fracchiolla G. Anti-Biofilm Inhibitory Synergistic Effects of Combinations of Essential Oils and Antibiotics. *Antibiotics*. 2020; 9(10):637.
9. Torres CA, Nunez MB, Isla MI, Castro MP, Gonzales AM, Zampini IC. Antibacterial synergism of extracts from climbers belonging to Bignoniaceae family and commercial antibiotics against multi-resistant bacteria. *J. Herb. Med.* 2016; 8:24–30.
10. Side Larbi K, Meddah B, Tir Touil A, Sonnet P. The antibacterial effect of two medicinal plants *Inula viscosa*, *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. *J. Fundam. Appl. Sci.* 2016; 8(2):244–255.
11. Manosalva L, Mutis A, Urzua A, Fajardo V, Quiroz A. Antibacterial Activity of Alkaloid Fractions from *Berberis microphylla* G. Forst and Study of Synergism with Ampicillin and Cephalothin. *Molecules*. 2016; 21:76.
12. Rangel-Castaneda IA, Cruz-Lozano JR, Zermeno-Ruiz M, Cortes-Zarate R, Hernandez-Hernandez L, Tapia-Pastrana G, Castillo-Romero A. Drug Susceptibility Testing and Synergistic Antibacterial Activity of Curcumin with Antibiotics against Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Antibiotics*. 2019; 8:43.
13. Kim MS, Kim HR, Kim H, Choi SK, Kim CH, Hwang JK, Park SH. Expansion of antibacterial spectrum of xanthorrhizol against Gram-negatives in combination with PMBN and food-grade antimicrobials. *J. Microbiol.* 2019; 57:405–412.
14. Nafis A, Kasrati A, Jamali CA, Custodio L, Vitalini S, Iriti M, Hassani L. A Comparative Study of the in Vitro Antimicrobial and Synergistic Effect of Essential Oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with Antimicrobial Drugs: New Approach for Health Promoting Products. *Antibiotics*. 2020; 9(4):140.
15. Zuo GY, Wang CJ, Han J, Li YQ, Wang GC. Synergism of coumarins from the Chinese drug *Zanthoxylum nitidum* with antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*. 2016; 23:1814–1820.
16. Nobre CB, de Sousa EO, Silva JMFD, Coutinho HDM, da Costa JGM. Chemical composition and antibacterial activity of fixed oils of *Mauritia flexuosa* and *Orbignya speciosa* associated with aminoglycosides. *Eur. J. Integr. Med.* 2018; 23:84–89.
17. Machado JF, do Socorro Costa M, Tintino SR, Rodrigues FFG, Nobre CB, Coutinho HDM, da Costa JGM, de Menezes IRA, de Sousa EO. Antibiotic Activity Potentiation and Physicochemical Characterization of the Fixed *Orbignya speciosa* Almond Oil against MDR *Staphylococcus aureus* and Other Bacteria. *Antibiotics*. 2019; 8(1):28.
18. Guo WL, Wang WH, Hu WT, Xie ZY, Wang SF, Sun Y, Zhou YC. Antibacterial Synergisms of *Ji Xue Teng*, *Spatholobus suberectus*, Extract and Selected Antibiotics against *Streptococcus agalactiae* from Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), In Vitro and In Vivo. *J. World. Aquac. Soc.* 2018; 49:1002–1013.
19. Ekambaram SP, Perumal SS, Balakrishnan A, Marappan N, Gajendran SS, Viswanathan V. Antibacterial synergy between rosmarinic acid and antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Intercult. Ethnopharmacol.* 2016; 5:358–363.

20. Saquib SA, AlQahtani NA, Ahmad I, Kader MA, Al Shahrani SS, Asiri EA. Evaluation and Comparison of Antibacterial Efficacy of Herbal Extracts in Combination with Antibiotics on Periodontal pathobionts: An in vitro Microbiological Study. *Antibiotics*. 2019; 8:89.
21. Haq A, Siddiqi M, Batool SZ, Islam A, Khan A, Khan D, Khan S, Khan H, Shah A, Hasan F, Ahmed S, Badshah M. Comprehensive investigation on the synergistic antibacterial activities of *Jatropha curcas* pressed cake and seed oil in combination with antibiotics. *AMB Expr*. 2019; 9:6.
22. Miller BW, Torres JP, Tun JO, Flores MS, Forteza I, Rosenberg G, Haygood MG, Schmidt EW, Concepcion, GP. Synergistic anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity and absolute stereochemistry of 7,8-dideoxygriseorhodin C. *J. Antibiot*. 2020; 73:290–298.
23. Okinczyc P, Paluch E, Franciczek R, Widelski J, Wojtanowski KK, Mroczek T, Krzyzanowska B, Skalicka-Wozniak K, Sroka Z. Antimicrobial activity of *Apis mellifera* L. and *Trigona* sp. propolis from Nepal and its phytochemical analysis. *Biomed. Pharmacother*. 2020; 129: 110435.
24. Liktör-Busa E, Kovacs B, Urban E, Hohmann J, Vanyolos A. Investigation of Hungarian mushrooms for antibacterial activity and synergistic effects with standard antibiotics against resistant bacterial strains. *Lett. Appl. Microbiol*. 2016; 62:437–443.

Primljeno 3. veljače 2021.