Investigation of Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Effects of *Colchicum speciosum* Collected from the Mazandaran Region

Pages 87-103

P. Partovimoghaddam[1*] and A. Dehpour[2]

1 & 2) Department of Biology Qaemshahr Branch, Islamic Azad University Qaemshahr. Iran.

*Corresponding author**: p.partovimoghaddam@gmail.com**

Received date: 2024.06.30 **Accepted date: 2024.10.05**

Abstract

***Colchicum speciosum*, a monocotyledonous plant belonging to the Liliaceae family, was the subject of the present study. In recent years, the excessive and prolonged use of antibiotics has led to the emergence of antimicrobial resistance in many bacterial strains. This study aimed to evaluate the antimicrobial, antifungal, and antioxidant properties of *Colchicum speciosum* to investigate its potential therapeutic applications in combating microbial resistance. For this purpose, plant samples were first collected and air-dried. Extraction was then performed using ethanol and *n*-hexane solvents. Antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method, along with determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Additionally, antioxidant capacity was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. The results demonstrated that *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* exhibited the highest susceptibility to the ethanol extract. Among the two solvents tested, ethanol showed greater effectiveness, particularly against *S. aureus* and *B. cereus*, with the lowest microbial growth observed at a concentration of 50 mg/L of the ethanol extract. The DPPH radical scavenging activity was measured at concentrations of 50, 100, 200, 400, and 800 µg/mL. The IC_{50} values were found to be 289.81 ± 0.04 µg/mL for the ethanol extract and 540.22 ± 0.04 µg/mL for the *n*-hexane extract. These findings indicate that *Colchicum speciosum* possesses significant antimicrobial and antioxidant properties, suggesting its potential as a natural alternative to synthetic antibiotics.**

Keywords: Antioxidant activity, Antibacterial, *Colchicum speciosum* and Antifungal.

بررسی اثرات ضد باکتریایی، ضد قارچی و اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه سورنجان *(Colchicum speciosum)* جمع آوری شده از منطقه مازندران

شماره صفحات
۸۷-۱۰۷

پانیذ پرتویی‌مقدم[1*] و عباسعلی دهپور[2]

۱ و ۲) گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر، قائم‌شهر، ایران.

*. نویسنده مسئول: **p.partovimoghaddam@gmail.com**

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۴

چکیده

گیاه سورنجان جز گیاهان تک لپه ای و از خانواده سوسنیان با نام علمی *Colchicum speciosum* (گل حسرت بهار) می‌باشد. امروزه استفاده بی رویه و طولانی مدت از آنتی بیوتیک‌ها موجب پیدایش مقاومت در باکتری‌ها نسبت به این داروها گردیده است. در این بررسی اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی و بررسی آنتی‌اکسیدانی این گیاه مورد مطالعه قرار گرفته است تا توانایی‌های درمانی و کاربردی آن در مقابله با مقاومت میکروبی ارزیابی شود. برای انجام این پژوهش ابتدا،گیاهان را جمع آوری و خشک شد و سپس با استفاده از حلال‌های N_هگزان و اتانول عصاره‌گیری صورت گرفت.جهت بررسی فعالیت ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک و MIC و MBC مورد آزمون قرار گرفت. همچنین برای شناسایی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ،از روش DPPH استفاده گردید. نتایج حاصل از بررسی نشان داد که باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس* نسبت به عصاره‌های اتانل بیشترین اثرات بازدارندگی را از خود نشان می‌دهند. بین دو حلال اتانول و N_هگزان، اتانول موثرترین حلال در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس* بود که در حلال اتانول در غلظت ۵۰ میلی لیتر در لیتر کمترین رشد میکروارگانیسم مشاهده شد. میزان به دام اندازی DPPH در غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت که مقدار IC_{50} در عصاره اتانول ۰/۰۴ ± ۲۸۹/۸۱ و در عصاره N_هگزان ۰/۰۴ ± ۵۴۰/۲۲ میکروگرم در میلی لیتر بدست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه *Colchicum speciosum* خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد که می‌تواند به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک‌های مصنوعی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی و *Colchicum speciosum*

مقدمه

گل حسرت بهار یا سورنجان با نام علمی *''Colchicum speciosum''* گیاهی تک لپه ای و از خانواده سوسن سانان است. این گیاه دارای بنه منحصر بفرد و تخمدان زیر زمینی بوده و به صورت اندمیک در مناطق مختلف دنیا مخصوصاً ایران، ترکیه و اروپا رویش دارد (Bayrak *et al*.,2018; Karhraman *et al*.,2010). سورنجان،گیاهی علفی، پایا با پیازی مطبق و زمینی است. این جنس در ایران ۱۵ گونه بنه دار دارد. گونه‌های انحصاری آن در ایران متعددند (Aynehchi, 1991). گیاهان سرده‌ی Colchicum بیش از ۲۰۰۰ سال است که به دلیل ویژگی‌های دارویی و زیستی برجسته شان مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته اند. در حال حاضر، کلشی سین، آلکالوئید اصلی این گیاه، هنوز هم داروی انتخابی برای درمان حملات حاد نقرس و حملات تب مدیترانه ای خانوادگی (Famillial Mediterranean Fever) به شمار میرود. کلشی سین و آنالوگ‌های طبیعی آن در مطالعات زیستی و اصلاح نژادی برای تولید پلی پلوئیدی یا افزایش تعداد کروموزوم‌ها در هسته ی سلول به کار رفته اند (Ahmad, 2010). علاوه بر این، ساختارهای ریخت شناسی منحصر به فرد این سرده شامل کورم‌های پیاز مانند و تخمدان‌های زیرزمینی هستند (Alali *et al*.,2006; Gulsoy-Toplan *et al*., 2018). امروزه بیماری‌های عفونی به عنوان یکی از مهم ترین دلالیل مرگ و میر در جهان شناخته شده اند (Bennett *et al*.,2014). استفاده از گیاهان و داروهای گیاهی به عنوان آنتی اکسیدان در غذاهای فرآوری شده به عنوان یک جایگزین برای آنتی اکسیدان‌های مصنوعی در صنعت غذا اهمیت فزاینده ای پیدا کرده است (Yesiloglu *et al*., 2013). باتوجه به افزایش بیش از حد مصرف آنتی بیوتیک‌ها، افزایش مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها، بروز اثرات جانبی متعدد آنتی بیوتیک‌های موجود و بروز بیماری‌های غیر معمول عفونی، مطالعات زیادی برای بررسی گیاهان دارای خواص ضد میکروبی برای تهیه آنتی بیوتیک‌های جدید از ترکیبات طبیعی جهت کاهش عوارض ذکر شده انجام می‌شود (Nascimento *et al*.,2000). گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه‌ای با فعالیت‌های زیستی متنوع از جمله خواص ضدالتهابی، ضدسرطانی و ضد میکروبی هستند و نقش مهمی در تولید داروهایی با اثربخشی بالا و عوارض جانبی کمتر ایفا می‌کنند (Kooti *et al*., 2017). عصاره‌های گیاهی به دلیل دارا بودن اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، در سال‌های اخیر توجه زیادی در جامعه علمی به خود جلب کرده‌اند (Araujo *et al*.,2022).

همچنین، این گیاهان معمولاً در طب سنتی به عنوان عوامل ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند و متابولیت‌های ثانویه موجود در آن‌ها اثراتی مشابه با آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان داده‌اند (Mozaffarian, 1998). اکنون برخی از این گیاهان در سراسر جهان برای اهداف درمانی، از جمله درمان بیماری‌هایی مانند نقرس، تب مدیترانه‌ای خانوادگی و سیروز صفراوی اولیه، و نیز در مطالعات پرورش مورد استفاده قرار می‌گیرند (Gowada et al.,2014;Terencio *et al*.,1993). گونه‌های Colchicum که با نام سورنجان نیز شناخته میشوند، گیاهان دارویی مهمی هستند که در جوامع مختلف برای درمان بیماری‌هایی نظیر استئو آرتریت، نقرس، سرطان، التهاب، زردی و ناتوانی جنسی مورد استفاده قرار گرفته اند. گونه‌های Colchicum و سایر گیاهان

خانواده ی Colchicaceae دارای ترکیبات زیست فعال مهمی از جمله آلکالوئیدها به ویژه آلکالوئیدها تروپولون و ایزوکوئینولین، ترکیبات فنولی، تانن‌ها، فلاونوئیدها و کربوهیدرات‌ها هستند که مقدار آن‌ها به چرخه‌های رشد و ففصل‌ها بستگی دارد. (Alali *et al*., 2007; Gulsoy-Toplan *et al*.,2018). گیاه سورنجان دارای ترکیبات فعال زیستی متعددی از جمله آلکالوئیدهای تروپولونی و ایزوکینولینی، ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی، گلیکوزیدها و کربوهیدرات‌ها است که این ترکیبات علاوه بر داشتن اثرات بیولوژیکی ارزشمند، در مواردی نیز با سمیت بالا و شاخص درمانی باریک همراه‌اند (Al-Snafi ,2016; Gulsoy-Toplan *et al*.,2018). آلکالوئیدهای تروپولن که از مهم ترین ترکیبات زیست فعال جدا شده از گونه‌های Colchicum هستند، برای درمان بیماری‌هایی مانند نقرس و سرطان استفاده میشوند. علاوه بر این، کلشی سین، دمکو لسین و کلشیکوزید از آلکالوئیدهای اصلی تروپولون در Colchicum به شمار میروند که دارای فعالیت ضد توبولینی و اثر مهارکنندگی در پلی مریزاسیون توبولین هستند. با این حال، کورم‌های برخی گونه‌ها به‌دلیل دارا بودن میزان بالای نشاسته و مقادیر کم آلکالوئید، از ارزش غذایی نیز برخوردارند (Al-Fayyad *et al*., 2002). بر اساس مطالعات صورت گرفته، خواص ضد صرع، ضد میکروبی، حشره کشی و ضد قارچی در سایر گونه‌های این جنس گزارش شده است (Atta-ur-Rahman *et al*.,1997; Raza *et al*.,2001).

ارزیابی‌های فیتوشیمیایی، فیزیکو شیمیایی و زیستی گیاهان دارویی، مرحله ای حیاتی برای اعتبار سنجی کیفیت این گیاهان هستند. علاوه بر آن، یافته‌های دقیق از ترکیب‌های فیتو شیمیایی می‌توانند در برآورد فعالیت‌های زیستی و شاخص‌های درمانی موثر واقع شوند (Davoodi *et al*., 2018; Shafiee *et al*., 2018).

مواد و روش‌ها

در این پژوهش پس از جمع آوری و عصاره‌گیری گیاه گل حسرت(*Colchicum speciosum*) با حلال‌های مختلف اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن با روش‌های متداول مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه نمونه

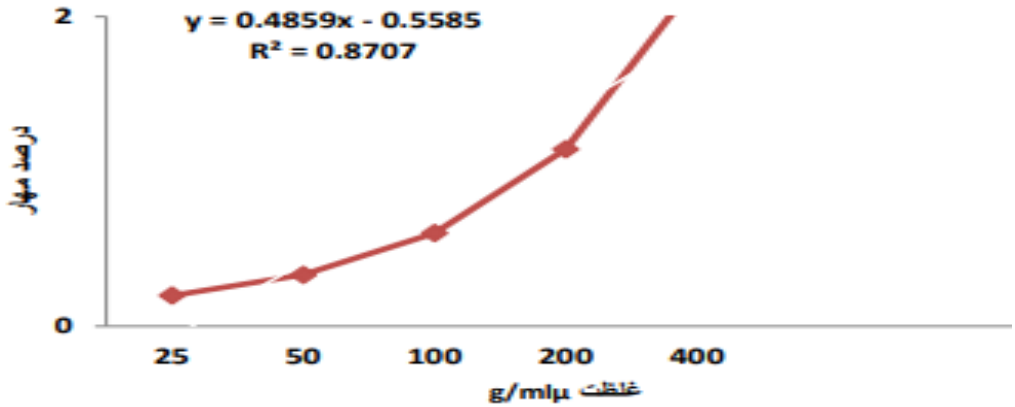
گیاه سورنجان یا گل حسرت" *Colchicum speciosum*" در آبان ماه سال ۱۴۰۳ از منطقه شمال ایران (از شهرستان قائم شهر) تهیه و جمع آوری شد.سپس نمونه‌ها توسط آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشگاه آزاد واحد قائم شهر مورد شناسایی قرار گرفت و یک نمونه هر باریومی از این گیاه تهیه گردید. نمونه‌ها در دمای محیط ۲۵ درجه سانتی گراد و در معرض نور غیر مستقیم خورشید به مدت یک هفته خشک و سپس پودر گردید(Mammadov *et al*., 2009)، سپس از ۱۰۰ گرم پودر گیاه را با روش خواباندن و با استفاده از حلال‌های N_هگزان و اتانول عصاره‌گیری انجام شد و پس از ۷۲ ساعت، ۴۰۰ میلی لیتر عصاره گیاهی استخراج گردید (Zargar *et al*., 2011). برای اندازه‌گیری محتوای تام فلاونوئیدی و تام فنولی به ترتیب از روش‌های آلومینیوم کلرید(Jafari *et al*., 2015) و فولین-سیوکالتیو (Dashti-Zadeh *et al*., 2022) استفاده شد و مقادیر

این ترکیبات در طول موج‌های ۷۶۰ و ۵۱۰ نانومتر با اسپکتوفتومتر (مدل UV-1800 ،شرکت Shimadzu ،ژاپن) اندازه‌گیری شد (تمام ترکیبات فوق از شرکت Merck تهیه گردید). نتایج با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرو گرم بر میلی لیتر گزارش گردید. برای تهیه محلول‌های استاندارد اسید گالیک با استفاده از روش‌های ذکر شده جدول زیر تهیه گردیده است.

جدول شماره ۱- غلظت‌های مختلف به کار رفته و جذب‌های خوانده شده از گالیک اسید به منظور رسم منحنی

Table 1- The different concentrations and the absorbance values obtained from gallic acid were used to plot the calibration curve

غلظت گالیک اسید(µg/ml) Gallic Acid Concentration(µg/ml)	جذب Absorption
400	2.2228
200	1.1438
100	0.6018
50	0.3328
25	0.1988



شکل ۱: نمودار منحنی استاندارد گالیک اسید جهت تعیین محتوای تام فنلی

Figure 1: The standard curve of gallic acid for determining the total phenolic content.

معادله به دست آمده از منحنی استاندارد:

$Y=0.485\ X - 0.558 (R^2 = 0.870)$

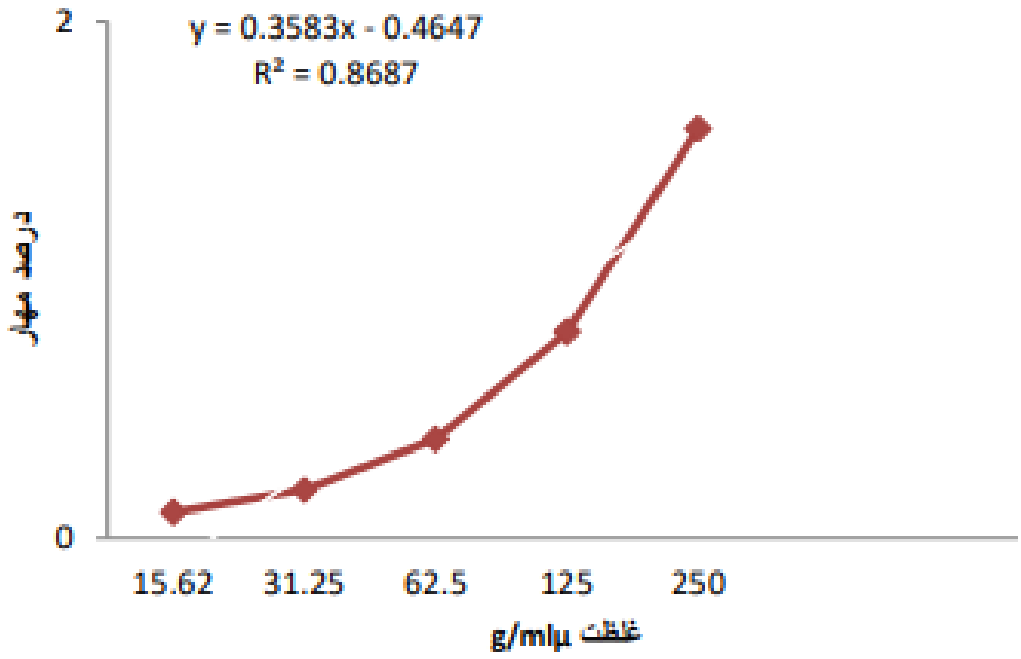
X:total Phenols[µg of galic acid equivalents(GAE) per g of extract]

Y:Absorbance

جدول شماره ۲: غلظت‌های مختلف به کار رفته و جذب‌های خوانده شده از کوئرستین به منظور رسم منحنی

Table 2: Different concentrations used and absorbances measured from quercetin to plot the curve.

غلظت کوئرستین (µg/ml) Quercetin Concentration(µg/ml)	جذب Absorption
250	1.585
125	0.798
62.5	0.383
31.25	0.186
15.62	0.0994



شکل ۲: منحنی استاندارد کوئرستین جهت تعیین محتوای تام فلاوونوئیدی

Figure 2: The standard curve of quercetin for determining the total flavonoid content.

معادله به دست آمده از منحنی استاندارد:

$Y=0.358X - 0.464 (R^2 = 0.868)$

X: total Flavonoids [µg of quercetin equivalents (QUE) per g of extract]

Y:Absorbance

آزمون آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از DPPH و در حضور کنترل مثبت ویتامین ث مورد ارزیابی قرار گرفت، بدین منظور میزان ۲/۵ میلی لیتر از غلظت‌های ۵۰, ۱۰۰, ۲۰۰, ۴۰۰, ۸۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر هر عصاره مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه نگه داری در انکوباتور و در طول موج ۵۱۷ نانومتر، جذب نوری آن توسط دو استاندارد آسکوربیک و BHA اندازه‌گیری شد. در نهایت، میزان IC_{50} فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای هر عصاره بر حسب درصد تعیین شدند (Baghbadorani *et al.*,2017; Khalili *et al.*,2016).

آزمون ضد میکروبی

جهت مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره این گیاه از روش انتشار دیسک (Disc diffusion) مورد استفاده قرار گرفت، و روی هر محیط کشت سه عدد دیسک مختلف قرار گرفت که یکی از دیسک‌ها آغشته به حلال است و یکی دیگر دیسک، آنتی بیوتیک

است که در این آزمایش از کلرومفنیکل و جنتامایسین برای هر میکروارگانیسم استفاده و بر روی سطح محیط کشت مولر هینتون آگار قرار داده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه (Memmert, Germany) شدند. سپس قطرهاله عدم رشد با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد. هر آزمایش سه بار تکرار شده است.

باکتری‌های مورد آزمایش شامل:

Bacillus cereus(ATCC14579), *Escherichia coli*(ATCC25922),*Staphylo coccus aureus*(ATCC25923),*Pseudomonas aeruginosa*(ATCC27853)

جهت تعیین اثر ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک و همچنین اثر ضد قارچی از روش Pure Plate صورت گرفت. از هر یک از عصاره‌ها با غلظت نهایی ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر استفاده شد. دیسک‌های بلانک استریل در عصاره مورد نظر به مدت ۱۰ دقیقه گذاشته شد تا عصاره به خوبی جذب دیسک‌ها شود. سپس دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا خشک شوند. برای بررسی اثر ضد قارچی این عصاره از قارچ *Candida albicans* (عامل بیماری واژینال-آفت دهانی) و همچنین برای بررسی اثر ضد باکتریایی از باکتری‌هایی شامل: . *Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* مورد بررسی قرار گرفت. در پلیت استریل حاوی محیط کشت مولر-هینتون آگار کشت و دیسک‌های آغشته شده به عصاره همراه شاهد(آب مقطر استریل) به آن منتقل شد. سپس در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. سپس نکثیر و رشد قارچ و باکتری‌ها را در قالب "قطرهاله عدم رشد" اندازه‌گیری میکنیم.

آزمون MIC و MBC

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد از روش MIC و حداقل غلظت کشندگی باکتری‌ها از روش MBC صورت گرفت که بر روی باکتری‌هایی شامل: *باسیلوس سرئوس، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیای کلی، سودموناس* مورد بررسی قرار گرفت. در ۱۲ لوله آزمایش حاوی یک میلی لیتر آب مقطر داخل هر یک، یک میلی لیتر آب مقطر ریخته و در داخل اتوکلاو نگه داری شد و سپس از نمونه‌های تهیه شده رقت سازی سریالی و با ضریب دو در ۱۲ لوله رقیق شدند،سپس لوله به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند همچنین از هر لوله نمونه گیری شد و روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت خطی داده شده است و حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی باکتریایی با بررسی رشد باکتری‌ها با اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد صورت گرفت. هر یک از آزمایشات سه بار تکرار شدند (Vitko *et al*.,2013). همچنین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری قطرهاله عدم رشد با استفاده از نرم‌افزار Office Excel تحلیل آماری شدند، برای بررسی اختلاف بین گروه‌ها از روش آمای تی استیودنت استفاده شد و سطح معنادار برای کلیه تحلیل‌های آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

آنالیز داده‌های حاصل با نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت و نمودارهای حاصل نیز با استفاده از نرم افزار Excle ارائه گردید.

نتایج

به منظور بررسی فعالیت‌های ضد باکتریایی عصاره‌های N _هگزان و اتانول، این عصاره‌ها با روش MIC و MBC مورد سنجش قرار گرفتند. با توجه به نتایج بدست آمده، عصاره اتانولی در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر موجب مهار رشد باکتری‌های *باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی* شد. در حالی که عصاره N_هگزان اثر مهار کنندگی و کشندگی کمتری نسبت به اتانولی نشان داد. هرکدام از این عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد و حداقل کشندگی باکتری نشان داد که عصاره اتانول نسبت به عصاره N_هگزان این گیاه، بیشترین اثر را بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس* داشت، در حالی که اثر کمتری بر روی باکتری‌های *اشرشیاکلی و سودوموناس* داشت.همچنین بررسی‌های ضد قارچ ،عصاره کمترین اثر را نشان داده است. برای بررسی حساسیت باکتری‌های مورد آزمایش به آنتی بیوتیک‌ها در این مطالعه دو آنتی بیوتیک کلرومفنیکل و جنتامایسین بر روی باکتری‌ها با استفاده از آزمون دیسک آنتی بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان دهنده تفاوت در قطرهاله‌های عدم رشد بین این دو آنتی بیوتیک بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد اثر بخشی آنتی بیوتیک‌ها به نوع باکتری بستگی دارد به طور کلی، جنتامایسین اثر بخشی بهتری به نسبت کلرومفنیکل در مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی* بود، در حالی که کلرومفنیکل برای *باسیلوس سرئوس و سودوموناس* اثر بخش بهتری داشت.

جدول شماره۳ : میزان محتوای تام فنل و فلاوونوئیدی

Table 3: The total phenolic and flavonoid content.

عصاره Extract	محتوای تام فلاوونوئیدی Total Flavonoid Content mg/ml (Mean±SD)	محتوای تام فنلی Total Phenolic Content mg/ml (Mean±SD)
N-هگزان N-hexane	10.38±0.28	107.2±0.33
اتانول Ethanol	24.4±0.14	231±0.36

جدول شماره۴ : نتایج آنتی بیوگرام

Table 4: Antibiogram results.

میکروارگانیسم Microorganism	جنتامایسین Gentamicin	کلرومفنیکل Chloramphenicol
***Bacillus cereus*(ATCC14579)**	18-20-12	22-21-22
***Staphylococcus aureus*(ATCC25923)**	37-38-36	28-25-28
***Escherichia coli*(ATCC25922)**	30-32-30	23-22-23
***Pseudomonas*(ATCC27853)**	8-10-8	10-12-12

جدول شماره۵: میزان به دام اندازی DPPH توسط استاندارد آسکوربیک

Table 5: The DPPH scavenging activity by ascorbic acid standard.

Concentration µg/ml	درصد به دام اندازی Trapping Percentage
800	96.4±0.7
400	71.2±0.2
200	55.1±0.1
100	44.8±0.4
50	38.7±0.2

هر یک از مقادیر جدول میانگین به دست آمده از سه تکرار مختلف± انحراف استاندارد می‌باشد. میزان IC_{50} معادل ۱۸۹/۰۴±۰/۰۲میکروگرم در میلی لیتر بدست آمد.

جدول شماره۶ : میزان به دام اندازی DPPH توسط استاندارد BHA

Table 6: The DPPH scavenging activity by BHA standard.

Concentration µg/ml	درصد به دام اندازی Trapping Percentage
800	95.5±0.1
400	93.2±0.2
200	72.8±0.4
100	43.7±0.4
50	28.2±0.2

هر یک از مقادیر جدول میانگین به دست آمده از سه تکرار مختلف± انحراف استاندارد می‌باشد. میزان IC_{50} معادل ۱۰۶/۸۲±۰/۴میکروگرم در میلی لیتر بدست آمد.

جدول شماره۷ : میزان قدرت احیا کنندگی آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد

Table 7: The reducing power of ascorbic acid as a standard.

غلظت(میکروگرم در میلی لیتر) Concentration(µg\ml)	میانگین جذب(Mean±SD) Mean Absorbance
800	1.94±0.02
400	1.45±0.06
200	1.03±0.06
100	0.41±0.09
50	0.27±0.12

هر یک از مقادیر جدول میانگین به دست آمده از سه تکرار مختلف ± انحراف استاندارد می‌باشد.

جدول شماره۸ : میزان قدرت احیا کنندگی عصاره N_ هگزان

Table 8: The reducing power of N-hexane extract.

غلظت(میکروگرم در میلی لیتر) Concentration(µg\ml)	میانگین جذب(Mean±SD) Mean Absorbance
800	0.653±0.017
400	0.540±0.14
200	0.432±0.13
100	0.380±0.04
50	0.261±0.01

هر یک از مقادیر جدول میانگین به دست آمده از سه تکرار مختلف ± انحراف استاندارد می‌باشد.

جدول۹ : نتایج ضد قارچ

Table 9: Antifungal results.

	12.5	25	50	100
عصاره اتانولی Ethanolic extract	6-6-6	6-6-6	6-6-6	6-6-6
عصاره N- هگزانی N-hexane extract	6-6-6	6-6-6	6-6-6	6-6-6

*هر یک از مقادیر جدول قطرهاله عدم رشد به دست آمده از سه آزمایش مختلف بر حسب میلی متر می‌باشد.

جدول۱۰ : نتایج آنتی باکتریال باکتری *استافیلو کوکوس اورئوس*(ATCC 25923)

Table 10: Antibacterial results of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

	12.5	25	50	100
عصاره اتانولی Ethanolic extract	8-6-6	8-8-8	15-13-15	17-21-19
عصاره N- هگزانی N-hexane extract	6-6-6	6-6-8	12-12-14	15-15-18

جدول ۱۱ : نتایج آنتی باکتریال باکتری *باسیلوس سرئوس* (ATCC 14579)

Table 11: Antibacterial results of *Bacillus cereus* (ATCC 14579).

	12.5	25	50	100
عصاره اتانولی Ethanolic extract	6-6-6	6-8-6	11-12-12	16-18-18
عصاره N- هگزانی N-hexane extract	6-6-6	6-6-8	10-12-11	15-15-15

جدول۱۲ : نتایج آنتی باکتریال باکتری *اشرشیا کلی* (ATCC 25922)

Table 12: Antibacterial results of *Escherichia coli* (ATCC 25922).

	12.5	25	50	100
عصاره اتانولی Ethanolic extract	6-6-6	6-8-6	10-9-10	15-14-15
عصاره N- هگزانی N-hexane extract	6-6-6	6-6-6	8-8-8	12-13-13

جدول۱۳ : نتایج آنتی باکتریال باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853)

Table 13: Antibacterial results of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

	12.5	25	50	100
عصاره اتانولی Ethanolic extract	6-6-6	6-6-6	8-6-6	8-8-9
عصاره N- هگزانی N-hexane extract	6-6-6	6-6-6	6-6-8	6-8-8

*واحد غلظت‌ها بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر عصاره می‌باشد.

جدول۱۴ : نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بر روی باکتری‌ها

Table 14: The results of different concentrations of ethanolic extract on bacteria.

غلظت‌های عصاره (میلی گرم بر میلی لیتر) Extract concentration(mg/ml)								میکرو ارگانیسم Microorganism
MBC	MIC	6.25	12.5	25	50	75	100	
50	25	+	+	-	-	-	-	*Bacillus cereus*
50	25	+	+	-	-	-	-	*Staphylococcus aureus*
75	50	+	+	+	-	-	-	*Escherichia coli*
100	75	+	+	+	+	-	-	*Pseudomonas*

(-) مشاهده عدم رشد میکرو ارگانیسم (+) مشاهده رشد میکرو ارگانیسم

جدول۱۵ : نتایج تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره N-هگزان بر روی باکتری‌ها

Table 15: The results of different concentrations of N-hexane extract on bacteria.

MBC	MIC	غلظت‌های عصاره (میلی گرم بر میلی لیتر) Extract concentration(mg/ml) 6.25	12.5	25	50	75	100	میکرو ارگانیسم Microorganism
50	25	+	+	-	-	-	-	*Bacillus cereus*
50	25	+	+	-	-	-	-	*Staphylococcus aureus*
75	50	+	+	+	+	-	-	*Escherichia coli*
100	75	+	+	+	+	+	-	*Pseudomonas*

(-) مشاهده عدم رشد میکرو ارگانیسم (+) مشاهده رشد میکرو ارگانیسم

جدول۱۶: تحلیل آماری مقدارP-value

Table 16: Statistical analysis of the P-value

Microorganism	p-value overall	Concentration			
		12.5	25	50	100
Staphylococcus aureus	0.415021336	0.422649731	0.183503416	0.151834543	0.122448428
Bacillus cereus	0.67755305	-	1	0.386808754	0.07282735
Escherichia coli	0.424949495	-	0.422649731	0.0377495851	0.0132356
Pseudomonas	0.557773162	-	-	۱	0.273892756

همچنین نتایج تحلیل آماری مقادیر قطرهاله ممانعت از رشد نشان داد که در مورد باکتری اشرشیا کلی در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، در هر دو حالت عصاره اتانولی و عصاره-N هگزان، اختلاف معناداری مشاهده شد ($P<0.05$). با این حال، در سایر باکتری‌های مورد بررسی و در غلظت‌های مختلف، اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P>0.05$).

استفاده بیش از حد و طولانی مدت از آنتی بیوتیک‌ها منجر به مقاومت باکتری‌ها در برابر این داروها می‌شود. اخیرا، گیاهان دارویی به عنوان داروهای ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی توجه زیادی به خود جلب کرده اند (Araujo *et al.,2022;* *Nascimento et al.*,2000) این گیاهان با استفاده از متابولیت‌های ثانویه خود ترکیباتی تولید میکنند که برخی از آنها خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند. چرا که بررسی اثرات باکتریال و آنتی‌اکسیدانی در این نوع گیاه دو عصاره N-هگزان و اتانول را با روش‌های به ترتیب انتشار دیسک و DPPH مورد آزمایش قرار گرفت. که کمترین اثر مهارکنندگی از عصاره N-هگزان بر روی میکرو ارگانیسم‌های مورد آزمایش مشاهده شد.گیاه *Colchicum speciosum* به دلیل داشتن محتوای تام فنولی ، فلانوئیدی و همچنین کوئرستین اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بر روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش نشان داده است. همچنین محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی در عصاره N-هگزان به ترتیب ۰/۳۳±۱۰۷/۲، ۰/۲۸ ± ۱۰/۳ بود و در عصاره اتانول ۰/۳۶±۲۳۱، ۰/۱۴ ±۲۴/۴ بود که بیشترین مقدار مربوط به عصاره اتانول بود. در این مطالعه، محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی عصاره‌های گیاه *Colchicum speciosum* با استفاده از روش‌های فولین-سیوکالتیو و آلومینیوم کلرید به ترتیب اندازه‌گیری شد. مقادیر به‌دست‌آمده برای عصاره‌ی اتانولی برابر با ۲۳۱ mg/ml (معادل ۹۲۴ µg)

GAE/mg و ۲۴/۴ mg/ml (معادل ۹۷.۶ µg QE/mg) بودند. این مقادیر به‌طور قابل توجهی بالاتر از مقادیری هستند که در مطالعه‌ای برای گونه‌ی *Colchicum autumnale L.* گزارش شده بود، که در آن بیشترین محتوای تام فنولی و فلاونوئیدی برای عصاره‌ی کلرومتانی به ترتیب ۲۶/۶µg GAE/mg و ۲۵/۵µg QE/mg بود (Hailu *et al*.,2021). این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه‌ی گیاهی، نوع حلال و روش عصاره‌گیری باشد. مقایسه نتایج این تحقیق با داده‌های تحقیق دیگری نشان می‌دهد که عصاره‌های به‌دست‌آمده از گونه‌های مختلف *Colchicum* در این مطالعه، فعالیت مهاری بسیار قوی‌تری علیه آنزیم‌های AChE و BChE داشته‌اند (Sevim *et al*.,2010). در حالی که در مقاله‌ی مذکور، بسیاری از نمونه‌ها فاقد فعالیت مهاری یا دارای درصدهای مهار بسیار پایین بودند. عصاره‌ی *Colchicum speciosum* در غلظت ۸۰۰ µg/ml ، در استاندارد آسکوربیک ۰/۷ ± ۹۶/۴٪ و در استاندارد BHA، ۰/۱± ۹۵/۵٪مهار آنزیم ایجاد کرد. همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های ما به‌طور قابل توجهی بیشتر از نتایج آن مطالعه بوده است. این تفاوت‌ها احتمالاً ناشی از تفاوت در گونه، روش استخراج و ترکیب شیمیایی عصاره‌ها می‌تواند باشد. در این مطالعه، عصاره‌ی گیاه *Colchicum speciosum* فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان داد؛ به‌طوری‌که مقدار IC_{50} آن بسیار پایین‌تر از مقادیر گزارش‌شده بود (Davoodi *et al*., 2020)، در حالی که در آن تحقیق، بالاترین IC_{50} حدود ۵۴/۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد، در پژوهش حاضر IC_{50} بین ۱۰۶/۸۲ تا ۱۸۹/۰۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، که نشان‌دهنده‌ی قدرت مهار رادیکال بالا در غلظت بسیار کمتر است. این تفاوت می‌تواند به دلیل گونه ی گیاهی، روش استخراج و عصاره‌گیری باشد. مطالعه ای، آزمایشاتی بر گونه‌های مختلف *Colchicum* انجام دادن نیز نشان داد که بالاترین مقدار خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مربوط به گل *C.speciosum* است که این گزارشات همسو با نتایج ما بوده است (Baltaci *et al*., 2022). از سوی دیگر، در گونه مورد بررسی اثرات ضد قارچی در هر دو عصاره N-هگزان و اتانول در غلظت‌های مختلف مشاهده نشد.که با مطالعات همسو بودند (Baltaci *et al*., 2022). عصاره اتانولی بیشترین تاثیر را بر روی باکتری‌های *باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس* داشته است . در مطالعه ای دیگر نیز نشان داد که گونه‌های مختلف این گیاه، از جمله *Colchicum Speciosum* دارای خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Kaushik *et al*.,2022). در مقابل، تحقیق بر روی گونه دیگری از این گیاه به نام *Delphinium speciosum M.B* نتیجه گیری متفاوتی داشته است بر خلاف آزمایش ما که نشان داد عصاره N-هگزان کمترین اثر را بر روی گونه ما داشته است (Asgharian *et al*., 2020). همچنین ممکن است به دلیل تفاوت در روش استخراج عصاره، غلظت عصاره‌ها یا گونه‌های مختلف از این گیاه، نتایج متفاوتی نشان داده شده است. در این مطالعه، محتوای تام فنولی و تام فلاونوئیدی عصاره‌ی *Colchicum speciosum* با روش‌های فولین-سیوکالتیو و آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. عصاره‌ها با استفاده از اتانول وN-هگزان تهیه شدند، در حالی که مطالعه ای تنها از عصاره‌ی متانولی استفاده کرده است (Alper, 2022). نتایج نشان داد که عصاره‌ی *Colchicum speciosum* فعالیت‌های فنولی و فلاونوئیدی قابل توجه‌تری نسبت به گونه‌های*Colchicum boissieri* و *Colchicum balansae*دارد.

همچنین، در مطالعه ای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های DPPH و ABTS انجام شده و نتایج قابل توجهی به‌دست آمده بود، در حالی که در تحقیق حاضر تنها از روش DPPH استفاده شده است (Alper, 2022). در نهایت، *Colchicum speciosum* می‌تواند پتانسیل بالاتری در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی نسبت به سایر گونه‌ها داشته باشد. مقایسه‌ی محتوای فنلی و فلاونوئیدی بین عصاره‌های گیاه *Colchicum speciosum* و *Colchicum kurdicum* نشان‌دهنده‌ی تفاوت‌های بارز در ترکیبات فعال این گیاهان است. در حالی که عصاره‌ی اتانولی *Colchicum speciosum* مقادیر بالاتری از ترکیبات فنولی (۲۳۱±۰.۳۶ mg/ml) و فلاونوئیدی (۲۴.۴±۰.۱۴ mg/ml) را نشان می‌دهد، *Colchicum kurdicum* مقادیر کمتری از این ترکیبات را داراست. از سوی دیگر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی متانولی *Colchicum kurdicum* برابر با ۱/۸ ± ۹۴/۸ درصد در آزمون DPPH با IC_{50} معادل ۱۸۹/۰۴ µg/ml گزارش شده است. این نتایج نشان می‌دهند که *Colchicum kurdicum* نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد، هرچند که به‌طور کلی *Colchicum speciosum* در تولید ترکیبات زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عملکرد بهتری داشته است (Azadbakht *et al*.,2020). نتایج به دست‌آمده در این مطالعه مبنی بر وجود مقادیر قابل‌توجهی ترکیبات تام فنولی و تام فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ی گیاه *Colchicum speciosum* با یافته‌های مطالعه‌ی (Davoodi *et al*.,2021) درباره‌ی گونه‌های مختلف این گیاه (*C. autumnale*, *C. speciosum*, *C. robustum*) مطابقت دارد و بر پتانسیل بالای این جنس گیاهی در کاربردهای دارویی تأکید می‌کند.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه *Colchicum speciosum* خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارد. به ویژه عصاره اتانولی این گیاه اثرات بیشتری نسبت به عصاره N-هگزان در مهار رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها از خود نشان داد. با این حال، در برخی مطالعات، نتایج متفاوتی در مورد اثرات این گیاه گزارش شده است که ممکن است ناشی از تفاوت‌های در روش‌های استخراج، غلظت عصاره‌ها، یا گونه‌های گیاهی و باکتریایی مورد استفاده باشد. بنابراین، توصیه می‌شود که تحقیقات آینده بر روی تاثیر دوزهای مختلف عصاره‌ها و روش‌های استخراج متفاوت تمرکز داشته داشته باشند. به طور کلی، می‌توان از این گیاه به عنوان یک گزینه طبیعی برای درمان بیماری‌ها به جای استفاده طولانی مدت از آنتی بیوتیک‌ها استفاده کرد.

منابع

Aynehchi, Y. (1991). *Mofradat-e Pezeshki va Giyahan-e Daruyi-ye Iran* [Medical Simples and Medicinal Plants of Iran]. University of Tehran Press. (pp. 1046–1047).

Atta-ur-Rahman, Nasreen, A., Akhtar, F., Shekhani, M. S., Clardy, J., Parvez, M., et al. (1997). Antifungal diterpenoid alkaloids from *Delphinium denudatum*. *Journal of Natural Products, 60*(5), 472–474.

Al-Fayyad, M., Alali, F., Alkofahi, A., & Tell, A. (2002). Determination of colchicine content in *Colchicum hierosolymitanum* and *Colchicum tunicatum* under cultivation. *Natural Product Letters, 16*(6), 395–400. https://doi.org/10.1080/10575630290033178

Alali, F. Q., El-Alali, A., Tawaha, K., & El-Elimat, T. (2006). Seasonal variation of colchicine content in *Colchicum brachyphyllum* and *Colchicum tunicatum* (Colchicaceae). *Natural Product Research, 20*(12), 1121–1128.

Alali, F. Q., Tawaha, K., El-Elimat, T., Syouf, M., El-Fayad, M., Abulaila, K., et al. (2007). Seasonal variation of colchicine content in *Colchicum brachyphyllum* and *Colchicum tunicatum* (Colchicaceae). *Natural Product Research, 21*(12), 1121–1131. https://doi.org/10.1080/14786410600857504

Ahmad, B. (2010). Antioxidant activity and phenolic compounds from *Colchicum luteum* Baker (Liliaceae). *African Journal of Biotechnology, 9*(35), 5762–5766.

Al-Snafi, A. E. (2016). Medicinal importance of *Colchicum candidum*—A review. *The Pharmaceutical and Chemical Journal, 3*(2), 111–117.

Azadbakht, M., Davoodi, A., Hosseinimehr, S. J., Emami, S., Azadbakht, M., Mirzaee, F., & Bakhshi Jouybari, H. (2020). Phytochemical, physicochemical and biological evaluation of *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef.: A study on materia medica of Persian medicine. *Journal of Medicinal Plants*, *19*(76), 36–45.

Asgharian, P., Afshar, F., Mohammadzadeh, M., Mahmoodzadeh, E., & Hallaj-Nezhadi, S. (2020). *Antibacterial activity of different extracts of aerial parts of Chondrilla juncea L, Ajuga commata Stapf, Nepeta ucrainica L, and Delphinium speciosum M.B. Mazandaran University of Medical Sciences Journal*, *29*(180), 24–35. (In Persian)

Araujo, A. R. T. S., Rodrigues, M., Mascarenhas-Melo, F., Peixoto, D., Guerra, C., Cabral, C., Veiga, F., & Paiva-Santos, A. C. (2022). New-generation nanotechnology for development of cosmetics using plant extracts. In *Nanotechnology for the preparation of cosmetics using plant-based extracts* (pp. 301–325). Elsevier.

Alper, M. (2022). Antiproliferative and antioxidant potential of methanol extracts of aerial parts of *Colchicum boissieri* and *Colchicum balansae*. *International Journal of Secondary Metabolite*, *9*(2), 149–157.

Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2014). *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases* (8th ed., Vols. 1-2). Elsevier Inc.

Baghbadorani, S. T., Ehsani, M. R., Mirlohi, M., Ezzatpanah, H., Azadbakht, L., & Babashahi, M. (2017). Antioxidant capability of ultra-high temperature milk and ultra-high temperature soy milk and their fermented products determined by four distinct spectrophotometric methods. *Advanced Biomedical Research, 6*, 62. https://doi.org/10.4103/2277-9175.205286

Bayrak, S., Sökmen, M., Aytaç, E., & Sökmen, A. (2018). Conventional and supercritical fluid extraction (SFE) of colchicine from *Colchicum speciosum*. *Industrial Crops and Products, 128*, 80–84.

Baltacı, C., Fidan, M., Üçüncü, O., & Karataş, Ş. (2022). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Colchicum speciosum* Steven growing in Türkiye. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, *59*(5), 729–736.

Davoodi, A., Jouybari, H. B., Fathi, H., & Ebrahimnejad, P. (2018). Formulation and physicochemical evaluation of medlar (*Mespilus germanica* L.) and oak (*Quercus castaneifolia* C.A. Mey.) effervescent tablet. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *9*(9), 3870–3875.

Davoodi, A., Hosseinimehr, S., Emami, S., Azadbakht, M., & Azadbakht, M. (2020). Optimization of colchicine extraction from *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef. corm and evaluating anti-inflammatory and antioxidant activities of the plant extract. *Mazandaran University of Medical Sciences Journal*, *30*(184), 126–135. (In Persian)

Davoodi, A., Azadbakht, M., Hosseinimehr, S. J., Emami, S., & Azadbakht, M. (2021). Phytochemical profiles, physicochemical analysis, and biological activity of three *Colchicum* species. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, *16*(2), e98868. https://doi.org/10.5812/jjnpp.98868.

Dashtizadeh, Z., Ebrahimabadi, A., Monfared, A., Mirshakoraie, A., & Heydari, S. (2022). Quantitative and qualitative study of phenolic compounds and evaluation of antioxidant effect of *Echium italicum* L. leaf and flower extracts. *Semiannual Organic Chemistry Journal*, *1*(1), 97–118. (In Persian)

Gowda, B. G. (2014). High-performance liquid chromatographic determination of colchicine in pharmaceutical formulations and biological fluids. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *6*(6).

Gulsoy-Toplan, G., Goger, F., Yildiz-Pekoz, A., Gibbons, S., Sariyar, G., & Mat, A. (2018). Chemical constituents of the different parts of *Colchicum micranthum* and *C. chalcedonicum* and their cytotoxic activities. *Natural Product Communications*, *13*(5), 535–538.

Hailu, T., Sharma, R., Mann, S., Gupta, P., Gupta, R. K., & Rani, A. (2021). Determination of bioactive phytochemicals, antioxidant and anti-inflammatory activity of *Colchicum autumnale* L. (*Suranjanshireen*). *Indian Journal of Natural Products and Resources*, *12*(1), 52–60.

Jafari, N., Naderi, P., & Ebrahimzadeh, M. A. (2015). Determination of total phenolic and flavonoid contents and evaluation of antioxidant activity of fig (*Ficus carica*) and alder (*Pterocarya fraxinifolia*) leaf extracts using spectrophotometry and high-performance liquid chromatography (HPLC). *Iranian Journal of Plant Biology*, *7*(25), 1–16. (In Persian)

Kahraman, A., & Celep, F. (2010). Anatomical properties of *Colchicum kurdicum* (Bornm.) Stef. (Colchicaceae). *Australian Journal of Crop Science*, *4*(5), 369–371.

Khalili, M., Fathi, H., & Ebrahimzadeh, M. A. (2016). Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of *Crocus caspius*: Impact of extraction methods. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *29*(3), 773–777.

Kooti, W., Servatyari, K., Behzadifar, M., Asadi-Samani, M., Sadeghi, F., Nouri, B., & Zare Marzouni, H. (2017). Effective Medicinal Plant in Cancer Treatment, Part 2: Review Study. Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine, 22(4), 982-995. https://doi.org/10.1177/2156587217696927.

Kaushik, N., Kim, J., Nguyen, L., Kaushik, N., & Choi, K. (2022). Characterization of bioactive compounds having antioxidant and anti-inflammatory effects of *Liliaceae* family flower petal extracts. *Journal of Functional Biomaterials*, *13*(284), 1–12.

Mozaffarian, V. (1998). *Farhang-e namhā-ye giyāhān-e Irāni* [Dictionary of Iranian Plant Names] (2nd ed.). Nowbahar Publishing. (pp. 137–138).

Mammadov, R., Düşen, O., Uysal, D., & Köse, E. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from tuber and leaves of *Colchicum balansae* Planchon. *Journal of Medicinal Plants Research, 3*(10), 767–770.

Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology, 31*(4), 247–256.

Raza, M., Shaheen, F., Choudhary, M., Sombati, S., Rafiq, A., Suria, A., et al. (2001). Anticonvulsant activities of ethanolic extract and aqueous fraction isolated from *Delphinium denudatum*. *Journal of Ethnopharmacology, 78*(1), 73–78.

Sevim, D., Senol, F. S., Budakoglu, E., Orhan, I. E., Sener, B., & Kaya, E. (2010). Studies on anticholinesterase and antioxidant effects of samples from *Colchicum* L. genus of Turkish origin. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, *35*, 195–201.

Shafiee, F., Khoshvishkaie, E., Davoodi, A., Dashti Kalantar, A., Bakhshi Jouybari, H., & Ataee, R. (2018). The determination of blood glucose lowering and metabolic effects of *Mespilus germanica* L. hydroacetonic extract on streptozocin-induced diabetic Balb/c mice. *Medicines (Basel), 5*(1). https://doi.org/10.3390/medicines5010001

Terencio, M. C., Giner, R. M., Sanz, M. J., Manez, S., & Rios, J. (1993). On the occurrence of caffeoyltartronic acid and other phenolics in *Chondrilla juncea*. *Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences, 48*(5-6), 417–419.

Vitko, N. P., & Richardson, A. R. (2013). *Laboratory maintenance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA).* In **Current protocols in microbiology** (Chapter 9, Unit 9C.2, pp. 200–302). Wiley.

Yesiloglu, Y., Aydin, H., & Kilic, I. (2013). In vitro antioxidant activity of various extracts of ginger (*Zingiber officinale* L.) seed. *Asian Journal of Chemistry*, *25*(7), 3573–3578.

Zargar, B., Masoodi, M., Ahmed, B., & Ganie, S. (2011). Phytoconstituents and therapeutic uses of *Rheum emodi* Wall. ex Meissn. *Food Chemistry*, *128*, 585–589.