

## 수종 허브정유의 *Candida* 속 진균에 대한 억제 활성 및 Ketoconazole 과의 병용효과

신승원<sup>#</sup>

덕성여자대학교 약학대학

(Received April 19, 2002; Revised May 16, 2002)

## Antifungal Activities of Herbal Essential Oils and Combination Effects with Ketoconazole against *Candida* spp.

Seung-Won Shin<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Ssangmoondong 419,  
Dobongku, Seoul 132-714, Korea

**Abstract** — The antifungal activities of the essential oils from *Anthemis nobilis*, *Ciderus atlantica*, *Juniperus communis*, *Lavandula angustifolia*, *Pelargonium graveolens*, *Pogostemon patchouli*, *Rosmarinus officinalis*, and *Styrax tonkinensis* which are recommended for the treatment of microbial infections in aromatherapy and complementary medicines were tested against *Candida* spp. The activities were measured by broth dilution method and disk diffusion assay. Most of the test oils inhibited growth of *Candida albicans*, *C. utilis* and *C. tropicalis*. Especially, the essential oil from *Pelargonium graveolens* and its main component, citronellol showed the strongest activity among the herbs except benzoic acid from *Styrax tonkinensis* which is well-known antimicrobial compound. As a result of checkerboard microtiter test, synergistic effect of citronellol, was shown when the component was combined with ketoconazole, displaying a fractional inhibiting concentration (FIC) index of 0.37 against *C. albicans*.

**Keywords** □ Essential oil, *Pelargonium graveolens*, *Candida*, combination, ketoconazole

전·구상 질환은 항진균제 사용 시 단시일 내에 치료되지 않아, 장기간 약을 투여해야 하는 경우가 많기 때문에 부작용, 독성의 문제가 따 약품에 비해 가중되어 부각되고 있으며, 특히 근래에 기화성진균 감염 환자의 높은 증가율과 함께 기존 합성항균제의 단점을 보완할 수 있는, 보다 안전한 천연항균제를 개발하려는 연구가 많이 진행되어 왔다.<sup>1-4)</sup> 천연 항진균성물질은 많은 식물의 다양한 화학구조성분에서 확인되었으나 전반적으로 합성약에 비해 작용이 약하여, 천연성분들 끼리의 병용 및 천연성분과 기존 합성 항진균제와의 병용에 의한 상승작용에 관심이 집중되고 있다.<sup>5-8)</sup>

스물의 essential oil은 항균력이 강한 성분군으로써 이미 thymol을 포함한 다수의 성분들이 항균제로 개발된 바 있고, 혼합물상태인 정유분획도 각종 감염증의 치료에 사용되고 있다.<sup>7-18)</sup> 정유의 혼성 진균증에 대한 치료작용에 대하여는 낮은 흡수율 등

으로 인한 수준 미달의 bioavailability 때문에 임상적 약효에 대한 부정적인 견해가 현재로써는 지배적이지만, 이러한 난점을 개선하려는 다양한 연구가 진행되고 있으며, oil의 특성으로 인하여 피부의 침투력 등에 있어서 유리한 점도 있어서 진균증 치료제 개발의 측면에서는 여전히 유망한 천연성분 계열에 속한다.<sup>6)</sup>

본 연구에서는 aromatherapy 등에서 감염증 치료에 주로 사용되나 그 효과에 대해서 별로 연구가 되지 않은 식물정유 수종을 선정하여, 피부, 점막, 생식기 국소감염과, 때로는 전신성 candidiasis를 유발하는 진균인 *Candida albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*에 대한 억제 효과를 실험하였다. Broth dilution method를 사용하여 minimal inhibitory concentration(MIC)과 minimal fungicidal concentration(MFC)을 측정하고, disk diffusion test로 균생장 저지 반경을 비교한 결과, *Pelargonium graveolens* 일의 정유와 그 주성분인 citronellol이 실험한 정유중 가장 탁월한 효과가 있음을 확인하였기에, 이들의 *Candida*에 대한 항균력의 농도 의존성과 시간에 따른 생균수의 변화를 측정하였다. *Pelargonium graveolens*의 정유분획보다 강한 효과를 나타낸 이 정유의 주성분 citronellol과 혼성 항진균제인 ketoconazole의 병

\*본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-901-8384 (팩스) 02-901-8386  
(E-mail) swshin@duksung.ac.kr

용 효과를 chekerboard microtiter test로 실험하여 synergistic effect가 있음을 확인하였기에 보고하는 바이다.

### 실험방법

**정유** - *Anthemis nobilis*(꽃), *Ciderus atlantica*(복부), *Juniperus communis*(열매), *Lavandula angustifolia*(꽃대), *Pelargonium graveolens*(잎), *Pogestemon patchouli*(잎), *Rosmarinus officinalis*(지상부 전초), *Styrax tonkinensis*(수지)의 정유는 식물의 각 부분에서 추출한 독일 Neumond 사의 제품을 구입하여 GC-MS로 조성을 확인한 후 사용하였다. 대조물질로 사용한 benzoic acid, 1,8-cineol, citronellol은 Sigma사로부터 구입하였다.

**사용균주 및 배양** - *Candida albicans* KCCM 11282, *C. utilis* KCCM 11356, *C. tropicalis* KCCM 12578을 한국미생물보존센터에서 분양받아서 malt extract agar(Blakeslee's Formular) 배지에 이식하여 24-27°C에서 배양한 후, 각각의 YM broth(Difco 0711)에 분주하여 3일간 배양하고, McFarland 0.5 Standard와 같은 탁도로 조정된 균액을 제조하여 균의 농도가 약  $1 \times 10^4$ - $10^5$  CFU/ml가 되게 만들어서 액체배지 희석법과 디스크법에 의한 항균력 실험에 사용하였다.

**액체배지 희석법에 의한 MIC 및 MFC 측정** - 위의 각 정유와 비교물질을 ethanol과 소량의 Tween80을 가하여 혼탁시킨 후 무균여과하여, 최고농도 50 mg/ml에서 최저농도가 0.78 mg/ml에 이르도록 단계적으로 희석하여 96 well plate의 각 well에 100 μl씩 주입한 후 균액을 100 μl씩 첨가하였다. 이것을 shaking incubator(100 rpm)에 넣고 25°C에서 3-7일간 배양한 후, 육안으로 관찰하여 균의 성장이 억제된 최저농도(MIC)를 판별하였다. ketoconazole(Sigma)은 ethanol을 용매로 하여 4,000 μg/ml부터 7.8 μg/ml 까지의 배수희석액을 제조하여, 각각 한 농도의 samle을 각 well마다 10 μl 씩을 주입하고, 균액 100 μl, 배지 90 μl를 첨가하고, 정유와 같은 조건에서 배양하였다. 사용한 용매와 Tween 80이 시료의 항균력에 영향을 미치지 않았음을 대조실험을 통해 확인하였다. 이어서 균의 생장이 저지된 각각의 well로부터 50 μl을 취하고 액체배지 150 μl를 기한 후 7일간 배양하여 균의 생장이 관찰되지 않은 최소 농도를 minimal fungicidal concentration(MFC)로 하였다.

**디스크법에 의한 항진균력 측정** - 각 정유와 대조성분을 위의 실험에서와 같은 방법으로 용매에 혼탁시켜 50 mg/ml 용액으로 제조한 후, 무균여과하여 각 시료마다 50 μl씩을 취하여 항생물질 측정용 paper disc(Advantec, Toyo Roxhi Kaisha, 8mm)에 흡수시켜서, 4 mm두께로 Petri dish에 부어 제조한 Sabouraud dextrose agar 배지(Difco 210950) 위에 붙이고, 25°C에서 3-5일간 배양한 후 균 저지원의 폭을 disk 가장자리로 부터 측정하였다. 정유 희석에 사용한 ethanol이 영향을 미치지 않았음을 대조

실험을 통해 확인하였다.

**정유의 시간별 농도별 항진균효과 비교** - *Candida albicans* KCCM 11282, *C. utilis* KCCM 11356, *C. tropicalis* KCCM의 균현탁액의 546 nm에서의 흡광도와 colony forming unit(CFU)와의 상관관계를 공식으로 산출하고, *Pelargonium graveolens* 정유와 citronellol을 각각 1%와 2%의 농도로 함유한 균의 현탁액을 제조하여 25°C에서 배양하였다. 배양 중 24시간 간격으로 배양액 10 μl씩을 취하여 100배수로 단계별로 희석하여, 각각의 희석액 200 μl씩을 Sabouraud 한천배지에 도말하고, 25°C에서 24-48시간 배양하여 형성된 colony를 세고, 희석배수로 환산하는 방법으로 CFU의 변화를 관찰하고 정유가 첨가되지 않은 균액을 control로 하여 비교하였다.

**Checkerboard microtiter plate testing**에 의한 병용효과 실험 - 96 well plate의 각 well의 가로 방향으로 최고농도 50 mg/ml에서 최저농도가 0.78 mg/ml에 이르도록 단계적으로 희석한 citronellol 50 μl를 넣고 세로방향으로는 4,000 μg/ml부터 7.8 μg/ml 까지의 배수희석액을 제조하여, 각각 한 농도의 samle을 각 well마다 10 μl씩을 첨가하였다. 여기에 Mcfarland 0.5의 탁도로 조절한 *C. albicans*의 현탁액 140 ml를 가한 후 위와 같은 조건으로 배양한 후 균이 억제된 최소농도의 배합비율을 관찰하였고, 가장 효율적으로 나타난 배합농도의 결과를 다음 공식에 대입하여 fractional inhibiting concentration(FIC)를 산출하여 FIC index가 ≤ 5 일 때 synergistic effect 가 있는 것으로, 0.5와 4 사이면 indifferent 또는 additive로, 4 < 일 때 antagonistic effect로 판정하였다.<sup>19)</sup>

$$\text{FIC index} = \frac{\text{MIC of ketoconazole combined with citronellol}}{\text{MIC of ketoconazole alone}} + \frac{\text{MIC of citronellol combined with ketoconazole}}{\text{MIC of citronellol alone}}$$

### 실험결과 및 고찰

각종 정유의 *Candida albicans* KCCM 11282, *C. utilis* KCCM 11356, *C. tropicalis* KCCM 12578에 대한 MIC와 MFC를 micro broth dilution test에 의해 실험한 결과는 Table I에 정리된 바와 같다. 실험한 대부분의 정유가 위 3종의 *Candida* 균의 생장을 억제하였으나, antibacterial activity 가 강한 것으로 알려져 있는 *Anthemis nobilis* 꽃의 정유와 1,8-cinol의 MIC가 12.5 mg/ml 이상, MFC는 25 mg/ml 이상으로 나타나 본 실험에서 사용한 정유중 가장 약한 균 억제 및 살균 작용을 보였다.

*Candida*에 대한 항균작용이 이미 알려진 benzoic acid<sup>20)</sup>를 제외하고, 본 실험에서 가장 강력한 작용을 보인 oil은 *Pelargonium graveolens* 잎의 정유와 이 정유를 GC-MS로 분석한 결과 이 정유의 주성분인 것으로 확인 된 citronellol(17.2%)과 정균 및 살

Table I – Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of essential oils against *Candida* spp.

Oils (mg/ml)	<i>C. albicans</i>		<i>C. utilis</i>		<i>C. tropicalis</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Anthemis nobilis</i>	>25.00	>25.00	>25.00	>25.00	12.50	>25.00
<i>Ciderus atlantica</i>	12.50	25.00	>25.00	>25.00	25.00	>25.00
<i>Juniperus communis</i>	1.56	>25.00	>25.00	>25.00	>25.00	>25.00
<i>Lavandula angustifolia</i>	1.56	25.00	12.50	25.00	12.50	25.00
<i>Pelargonium graveolens</i>	1.56	1.56	3.12	3.12	3.12	12.50
<i>Pogostemon patchouli</i>	1.56	1.56	>25.00	>25.00	25.00	>25.00
<i>Rosmarinus officinalis</i>	6.25	>25.00	25.00	>25.00	12.50	>25.00
<i>Styrax tonkinensis</i>	1.56	3.12	12.50	>25.00	3.12	12.50
benzoic acid	0.19	1.56	0.39<	6.25	3.12	3.12
1, 8-cineol	12.50	>25.00	12.50	25.00	12.50	>25.00
citronellol	1.56	3.12	1.56	1.56	0.78	1.56

균작용을 비교하여 보았다. 그 결과 citronellol은 *Pelargonium graveolens* 잎의 정유보다 작용이 강하며, 3종의 *Candida*에 대해서 모두 탁월한 작용을 나타내었는데(MIC=0.78-1.56 mg/ml), MFC 또한 3.12 mg/ml 이하로 나타나 강력한 살균작용이 있음을 알 수 있었다.

또한, 같은 조건에서 실험한 ketoconazole의 *Candida albicans*에 대한 항균 효과실험에서 MIC가 6.25 µg/ml로 나타나 정유에 비해 현저히 낮은 결과를 보였으나, 완전히 살균하지 못하고 소

위 trailing<sup>21</sup>을 남긴 반면, 실험한 정유는 대부분 *Candida*에 대한 MIC와 MFC가 큰 차이가 없어 비교적 강력한 살균작용이 있음을 보여 주었는데, 이 결과는 이들 정유가 ketoconazole의 이러한 단점을 병용에 의해 보완할 수 있을 것임을 시사하였다.

Table II에 정리된 Sabouraud 배지 상에서 정유에 의한 *Candida*균 생장저지효과를 실험한 disk diffusion test의 결과에서 보면 강력한 항균제로 이미 알려진 benzoic acid<sup>20</sup>과 benzoic acid를 주성분으로 함유하는 *Styrax tonkinensis*의 수지가 가장 큰 균 저지 폭을 나타냈으며, 그 다음으로는 지금까지 항진균효과가 별로 잘 알려져 있지 않은 *Pelargonium graveolens* 잎의 정유와 citronellol의 균 저지 효과가 강한 것이 확인 되었다. 그중 citronellol의 20% 용액 50 µ를 흡수시킨 disk로 실험한 결과에서 *C. albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*의 생장저지 영역의 폭이 각각 12 mm, 5 mm, 11 mm로 뛰어난 저지효과를 보였다. 다음으로는 *Lavandula angustifolia*(꽃대), *Rosmarinus officinalis*(자상부 전초), *Anthemis nobilis*(꽃)의 정유는 1-3 mm의 저지반경을 나타내었고, *Ciderus atlantica*(복부), *Juniperus communis*(열매), *Pogostemon patchouli*(잎)의 정유는 Sabouraud plate 상에서 균 생장저지가 전혀 관찰되지 않은 경우가 많았으며, 저지되는 경우라도 생장 저지환의 폭이 대부분이 1 mm이하로 나타나서, 다른 정유에 비해 높은 MIC 결과와 더불어 이들 정유가 *Candida*에 대한 억제작용이 아주 약함을 알 수 있었다. 또한 저지 반경으로 비교했을 때에도, 이들 식물 정유의 *Candida*에 대한 억제작용은 전반적으로 미약하였으며, *C. utilis*나 *C. tropicalis*에 대해서 보다 *C. albicans*에 대한 생장 저지대가 약간 넓게 나타났다.

앞에서 강한 항 *Candida* 효과를 보인 *Pelargonium graveolens* 잎의 정유는 산지와 제조사에 따라 조성 및 효력에 차이가 있는 것으로 알려져 있으므로 정유의 조성을 GC-MS로 분석하여 그 주성분으로인 citronellol의 항균작용의 시간대별 변화 및 농도 의존성을 확인, 비교하기 위하여 각각의 정유와 균을 96시간동안 공존 배양하여 생균수(CFU)를 측정한 결과를 Fig. 1~3에 표시하였다.

Table II – Inhibited zone (mm) of *Candida* spp. by essential oils

Essential oils	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i>	<i>C. tropicalis</i>
<i>Anthemis nobilis</i>	I II	2 1	2 1
<i>Ciderus atlantica</i>	I II	1 0.5	0.5 -
<i>Juniperus communis</i>	I II	1 0.5	- -
<i>Lavandula angustifolia</i>	I II	2 1	2 1
<i>Pelargonium graveolens</i>	I II	7 4	3 2
<i>Pogostemon patchouli</i>	I II	0.5 -	- -
<i>Rosmarinus officinalis</i>	I II	2 1	2 1
<i>Styrax tonkinensis</i>	I II	6 1	3 1
benzoic acid	I II	>38 30	>38 8
1, 8-cineol	I II	2 1	1 0.5
citronellol	I II	12 10	5 3

I: 20%, II: 10%

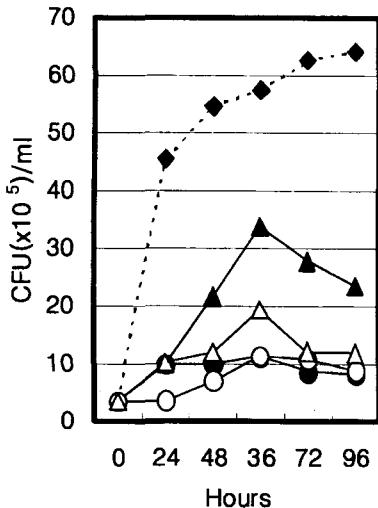


Fig. 1 – Growth-inhibiting effects of essential oil from leaves of *Pelargonium graveolens* and citronellol on *C. albicans* cultivated for 96 hours at 24°C. ◆, control; ▲, cultivated with essential oil (1%); △, essential oil (2%); ●, citronellol (1%); ○, citronellol (2%)

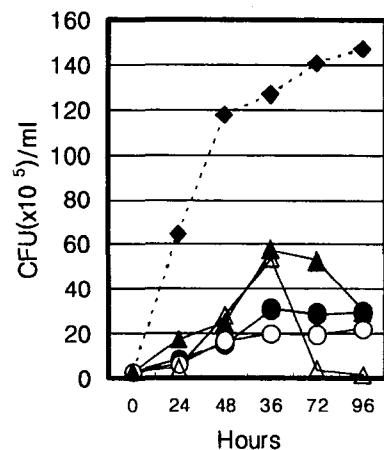


Fig. 2 – Growth-inhibiting effects of essential oil from leaves of *Pelargonium graveolens* and citronellol on *C. utilis* cultivated for 96 hours at 24°C. ◆, control; ▲, cultivated with essential oil (1%); △, essential oil (2%); ●, citronellol (1%); ○, citronellol (2%)

Fig. 1에 나타난 바와 같이 약  $3 \times 10^5$  CFU/ml로 배양을 시작한 *C. albicans*는 24시간 후에 측정했을 때, control은 CFU가  $5 \times 10^6$ 로 나타나 10배이상의 증가를 보이고 이후 계속 증가하여 96시간 후에 측정했을 때,  $6 \times 10^6$  CFU/ml를 나타냈다. 반면 *Pelargonium*의 정유 및 citronellol의 첨가된 배양액의 경우는 24시간 후에  $4-9 \times 10^5$  CFU/ml, 96시간 후에는  $8 \times 10^5$ 에서  $2 \times 10^5$  CFU/ml를 보여 control에 비해 균 생장이 현저히 억제되었음을 나타내었다. 또한 위와 같은 조건에서 실험한 *C. utilis*에 대해서도 *Pelargonium*의 정유 및 citronellol은 강한 억제작용을 보였는데, 특히 *Pelargonium*의 정유를 2% 첨가한 조건에서는 96시간 배

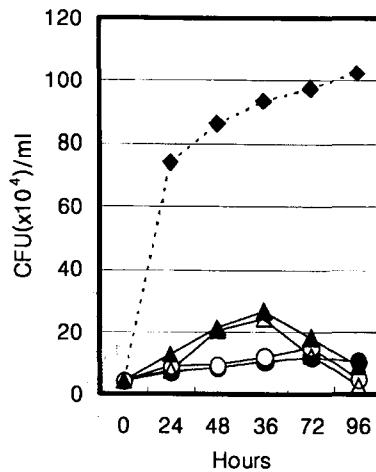


Fig. 3 – Growth-inhibiting effects of essential oil from leaves of *Pelargonium graveolens* and citronellol on *C. tropicalis* cultivated for 96 hours at 24°C. ◆, control; ▲, cultivated with essential oil (1%); △, essential oil (2%); ●, citronellol (1%); ○, citronellol (2%)

양 후 control에서 약  $1 \times 10^7$  인 CFU가  $1 \times 10^5$ 로 감소되었다 (Fig. 2). Fig. 3에 나타난 바와 같이 *Pelargonium*의 정유 및 citronellol은 *C. tropicalis*에 대해서도 앞에서 실험한 두 균의 경우와 유사한 억제효과를 보여주었는데, 96시간 배양 후 측정했을 때, CFU/ml가 약  $3-9 \times 10^4$ 로 나타나 control에 비해 현저히 적은 수치를 나타내었다.

이상의 경과를 종합해 보면, 균 현탁액 내에 정유를 2% 첨가 시 1%의 경우보다 강한 균 억제를 보여, 농도 의존성을 나타내었으며, 이들 정유에 의한 생균수 시간별 변화의 양상은 3종의 *Candida*에 있어서 모두 유사한 pattern을 나타내었는데, control의 생균수는 계속 상승하는 반면, *Pelargonium graveolens* 잎의 정유와 citronellol의 정유를 첨가한 경우는 배양 24시간 후에 측정했을 때 control에 비해 80%이상 감소된 결과를 나타내었고, 이후 36시간 까지 계속 완만한 상승을 보이다가 이후 감소되는 경향을 나타내었다. 특히 *C. utilis*와 *C. tropicalis*는 2%의 *Pelargonium graveolens*(잎) 정유를 첨가하고 배양 96시간 이후에 측정했을 때 현격한 생균수의 감소를 나타내어, 이 정유의 이 종의 *Candida* 균에 대한 강한 항균작용을 확인 할 수 있었다(Fig. 3).

또한 azole계 합성항생제인 ketoconazole과의 병용효과를 checkerboard microtiter test로 실험하기 위하여, well plate의 각 well의 가로 방향으로 최고농도 50 mg/ml에서 최저농도가 0.78 mg/ml에 이르도록 단계적으로 희석한 citronellol 50  $\mu$ l를 넣고 세로방향으로는 ketoconazole의 단계적 배수희석액을 사용하여 각 well내의 ketoconazole 농도가 50  $\mu$ g/ml부터 0.78  $\mu$ g/ml에 이르도록 하고. 여기에 Mcfarland 0.5의 탁도(약  $2 \times 10^5$  CFU/ml)로 조절한 *C. albicans*의 현탁액 140  $\mu$ l를 가하여 배양한 후, 균이 억제된 최소농도의 배합비율에서 보았을 때, 단독사

용시에  $6.25 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이던 ketoconazole의 MIC가  $0.78 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로, citronellol의 MIC는  $1.56 \text{ mg}/\text{ml}$ 에서  $0.39 \text{ mg}/\text{ml}$ 로 떨어졌다. 이 결과를 앞의 fractional inhibiting concentration(FIC) 계산공식에 도입했을 때 FIC가 약 0.37로 산출되어 두 물질 병용시 혼저항 상승효과를 기대할 수 있음을 확인하였다.

본 연구 결과를 종합해 보면 *Pelargonium graveolens*(잎)의 정유도- citronellol은 *C. albicans*, *C. utilis*, *C. tropicalis*에 대해 뿐만 아니라 억제작용을 나타내서, 식물 정유로부터의 항 *Candida*제 개발 가능성을 보여 주었다. 그러나 citronellol의 *Candida* 억제 효과가 정유로써는 탁월하였으나, 현재 사용되고 있는 합성 항진균제에 비하면 상대적으로 약하므로 기존 합성항생제와의 병용 사용에 의해 상승효과 및 상대적 독성감소 효과를 가져올 수 있는 풍향으로의 연구가 더욱 필요할 것으로 판단된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 2001학년도 덕성여자대학교 연구비지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다.

### 문 헌

- 1) Wayne R. B., Omaye, S. T., Meskin, M. S. and Topham, D. K. Phytochemicals as bioactive agents, Technomic publishing Company, Lancaster, pp. 106 (2000).
- 2) Cragg, G. M., Newman, D. J. and Snader, K. M. : Natural products in drug discovery and development. *J. Nat. Prod.* **60**, 52 (1997).
- 3) Shahi, S. K., Shukla, A. C., Bajaj, A. K., Medgely, G. and Dikshit, A. : Broad spectrum antimycotic drug for the control of fungal infection in human beings. *Curr. Sci.* **76**(6), 836 (1999).
- 4) Herreros, E., Martinez, C. M., Almela, M. J., Marriott, M. S., De las Heras, F., Gargallo-Viola, G. and Sordarins, D. : In vitro activities of new antifungal derivatives against pathogenic yeasts, *Pneumocystis carinii* and filamentous fungi. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **42**(11), 2863 (1998).
- 5) Lachowicz, Jones, G. P., Briggs, D. R., Blenvenu, F. E., Wan, J., Wiccock, A. and Coventry, M. J. : The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora. *Lett. Appl. Microbiol.* **26**, 209 (1996).
- 6) Rhee, G. J. and Kim, E. H. : Activities of ketonic fraction from *Leptospermum scoparium* alone and synergism in combination with some antibiotics against various combination with some antibiotics against various bacterial strains and fungi. *Yakhak Hoeji* **43**, 716 (1999).
- 7) Moretti, M. D. L., Peana, A. T., Franceschini, A. and Carta, C. In vivo activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*.

*J. Essent. Oil. Res.* **10**(2) 157 (1998).

- 8) Adams, S. and Weidenborner, M.: Mycelial deformations of *Cladosporium herbarum* due to the application of eugenol or carvacrol. *J. Essent. Oil. Res.* **8**(5) 535 (1996).
- 9) Bidlack, W. R., Omaye, S. T., Meskin, M. S. and Topham, D. W.: Phytochemicals as bioactive agents, Technomic publishing company, Lancaster, p. 106 (2000).
- 10) Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. : Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J. Agric. Food. Chem.* **46**(5), 1739 (1998).
- 11) Gundidza, M. : Antimicrobial of essential oil from *Schinus molle*. *Cent. Afr. J. Med.* **39**, 231 (1993).
- 12) Garg, S. C. and Siddiqui, N. : Antifungal activity of some essential oil isolates. *Pharmazie* **47**, 467 (1992).
- 13) Garg, S. C. and Dengre, S. I. : Antifungal efficacy of some essential oils. *Pharmazie* **43**, 141 (1988).
- 14) Dikshit, A., Naqvi, A. A. and Husain, A. : *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**, 1085 (1986).
- 15) Oliver-Bever, B. : Medicinal plants in tropical west Africa III, antifungal therapy with higherplants. *J. Ethnopharmacol.* **9**, 1 (1983).
- 16) Ayer, W. A., Muir, D. J. and Chakravarty, P. : Phenolic and other metabolites of *Phellinus pini*, a fungus pathogenic to pine. *Phytochemistry* **42**(5), 1321 (1996).
- 17) Bhaskara Reddy, M. V., Anagers, P., Gosselin, A. and Arul, J. : Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry* **47**(8), 1515 (1998).
- 18) Inouye, S., Uchida, K., Yamaguchi, H., Miyara, T., Gomi, S. and Amano, M. : Volatile aroma constituents of three Labiate herbs growing wild in the Karakoram Himalaya district and their antifungal activity by vapor contact. *J. Essent. Oil. Res.* **13**(1) 68 (2001).
- 19) Bajaksouzian S., Visalli, M. A., Jacobs, M. R. and Appelbaum, P. C. : Antipneumococcal activities of cefpirome and cefotaxime, alone and in combination with vancomycin and teicoplanin, determined by checkerboard and time-kill methods. *Antimicrob. Agents Chemother.* **40**, 1973 (1996).
- 20) Terreaux, C., Gupta, M. P. and Hostettmann, K. : Antifungal benzoic acid derivatives from *Piper dilatatum*. *Phytochemistry* **49**(2), 461 (1998).
- 21) Marchetti, O., Moreillon, P., Glauser, P. M., Bille, J. and Sanglard, D. : Potent synergism of the combination of fluconazole and cyclosporine in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **44**, 2373 (2000).