소회향, 대회향 추출물과 정유의 *Candida albicans*에 대한 항진균 효과

고려대학교 의과대학 미생물학교실

박 성 호 · 성 인 화

= Abstract =

Antifungal Effects of the Extracts and Essential Oils from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*

Sung Ho Park and Inwha Seong

Department of Microbiology, College of Medicine, Korea University

Background: *Candida albicans* is a member of the normal flora of the skin, mucous membrane and gastrointestinal tract. Vaginal candidiasis remains a significant problem in women in childbearing age, Majority of the cases are caused by *C. albicans* and recurrence is common in spite of topical treatment.

Objective: The purpose of this study is to develop the antifungal agent from the medicinal herbs traditionally used in Korea.

Method: In this study, the extracts and essential oils from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* were examined for antifungal activities against *C. albicans*.

Result: Dichloromethane extracts and essential oils from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* showed antifungal activity against *C. albicans*. One fraction from *Illicium verum* with antifungal activity was founf out as 1-methoxy-4-(2-prophenyl) benzene.

Conclusion: Dichloromethane extract and 1-methoxy-4-(2-prophenyl) benzene with antifungal activity from *Illicium verum* could be the candidate for a new antifungal agent for candidiasis and other fungal diseases. **[Kor J Med Mycol 2010; 15(4): 157-164]**

Key Words: *Illicium verum*, Extract, Antifungal activity, *Candida albicans*

서 론

세균감염의 치료제로 등장한 항생제는 1940년대 초기부터 널리 사용되기 시작하여 현재까지 수많은 항생제들이 개발되어 사용되고 있지만 항진균제는 1949년에 등장하였는데 독성이 상당히 강하여 경구적으로 전신 진균증에 사용되지 못하고 피부나 점막에 발생하는 진균증의 치료에 사용되었다. Flucytisine은 1960년대에 개발되었는데 항균범위는 Candida와 Cryptococus에 제한되었다. 그 이후 polyene계 항진균제로 amphotericin B, flavidine, trichomycin, candicidin, tolnaftate 등의 항진균제들이 개발되었고 경구투여가 가능한 griseofulvin은 *Penicillium griseofulvin*과 *Penicillium janczewski*라는 2종의 곰팡이에서 분리되었으나 역시 독성이 강하여 간 기능 검사를 하면서 투여해야 했다. Terbinafine은 독성이 비교적 적은 항진균제로 알려져 현재까지 여러 가지 진균 질환

접 수 일: 2010년 10월 4일, 수정일: 2011년 1월 3일
최종승인일: 2011년 1월 4일
†별책 요청 저자: 성인화, 136-701 서울시 성북구 안암동 5가 1번지, 고려대학교 의과대학 미생물학교실
전화: (02) 920-6167, Fax: (02) 923-3645
e-mail: inwha@korea.ac.kr

에 사용되고 있으나 상당 수준의 간 독성을 나타내고 있음이 밝혀졌다. 진균 질환 효과적이며 독성이 없는 항진균제의 개발은 절실히 요구되고 있지만 새로운 항진균제를 개발하는 과정은 긴 시간과 많은 인력과 경비를 필요로 한다.

이 문제를 해결하기 위한 방법의 하나로 여러 나라에서 전통적으로 진균감염 질환에 사용되어 온 식물로부터 항진균 물질을 분리하기 위한 연구가 외국에서는 활발히 진행되고 있지만 국내에서는 이에 대한 연구가 매우 드물다.

본 연구는 식물로부터 항진균 물질을 찾아내기 위한 연구의 일환으로 우리 나라에서 오래 동안 사용하여 인체에 큰 해가 없는 것으로 알려진 한약 재료 중 소회향과 대회향을 여러 가지 용매로 추출하여 항진균 효과가 있는 추출물을 진균 질환의 치료에 사용할 수 있는 가능성 여부를 밝히고자 하였다.

외국에서는 이미 소회향과 대회향에서 추출한 정유나 추출물이 일부 진균에 대하여 항진균 효과가 있음을 밝혔으나 *Candida albicans*에 대한 연구가 없어 본 연구에서는 *Foeniculum vulgare*, *Illicium verum* 추출물, 정유 및 소회향과 대회향의 주된 성분으로 알려진 anethole이 특히 가임기 여성에 흔하게 올 수 있는 진균 질환인 재발성 질 캔디다증 환자에서 분리된 *Candida albicans*에 대하여 항진균 효과가 있는지 여부를 규명하기 위하여 시행되었다.

재료 및 방법

1. 재료

소회향과 대회향은 서울시 제기동에 있는 약

Table 1. Antifungal Activities of the Extracts from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*

Microoorganism	Growth inhibition and MIC / Extract							
	Foeniculum vulgare				*Illicium verum*			
	Hexane	DCM	Methanol	Water	Hexane	DCM	Methanol	Water
C. albicans-1	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-2	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-3	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-4	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-5	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-6	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-7	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-8	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-9	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-10	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-11	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-12	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-13	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-14	−	+	−	−	−	+	−	−
C. albicans-15	−	+	−	−	−	+	−	−
*C. albicans**	−	+	−	−	−	+	−	−

*: standard *C. albicans* strain, *DCM: dichloromethane

령시 내 한약제상(동명약재)에서 구입하여 분쇄기로 분쇄하였다. 소회향과 대회향의 정유는 국내 숍플러스사에서, anethole은 Sigma Aldrich에서 수입하였다.

2. 추출

소회향과 대회향 분말 각각 1 kg을 teflon stopper가 부착된 separatory funnel에 넣고 n-hexane, dichloromethane, methanol, 증류수의 순서로 각각 2리터의 용매에 넣어 추출하되, n-hexane, dichlorormethane과 methanol을 넣은 것은 실온에서 24시간 방치하였고, 증류수 추출은 80℃에서 2시간 동안 가온하여 추출하였다. 동일하게 2차 추출한 추출물을 합하여 각각 여과지로 여과한 다음 rotatory evaporator를 사용하여 40℃에서 가온감압 농축하였다.

3. 항진균 활성 검사

1) 배지

Sabouraud's dextrose agar와 broth를 사용하였다.

2) 균주

재발성 질 캔디다증 환자들에게서 분리된 *Candida albicans* 중 15주와 *Candida albicans* 표준 균주 (ATCC 10231)를 사용하였다.

3) 항진균 활성 검사와 Minimal inhibitory concentration (MIC) 결정

디스크 확산법을 사용하였는데 그 이유는 증류수를 제외한 모든 용매가 모두 그 자체 항진균 활성이 있어 일반적인 tube dilution이나 agar diffusion 방법으로 할 수 없기 때문이다. Hexane,

Table 2. MIC of Dichloromethane Extracts from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*

Microoorganism	Growth inhibition / μl/ml									
	Foeniculum vulgare					*Illicium verum*				
	50	25	12.5	6.25	3.125	50	25	12.5	6.25	3.125
C. albicans-1	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-2	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-3	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-4	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-5	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-6	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-7	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-8	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-9	+	+	−	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-10	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-11	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-12	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-13	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-14	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-15	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
*C. albicans**	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−

*: standard *C. albicans* strain, *DCM: dichloromethane

dichlorormethane, methanol 추출물들은 각각의 용해한 용액 (20 mg/ml)을 2배 계단 희석한 희석액 20 μl를 직경 6 mm의 여과지 (Advantec No. 26) 디스크에 가하고 음압에서 건조시켜 용매를 제거한 디스크를 사용하였고, 증류수 추출물은 증류수로 희석하고 다른 추출물과 같이 디스크 가하여 사용하였다.

균들은 Sabouraud's broth에 부유하여 37℃ 배양기에 24시간 배양한 후 Sabouraud's agar에 다시 배양한 다음 각 균의 집락을 하나씩 broth에 넣어 배양한 후 농도를 McFarland standard #0.5에 맞춘 균 부유액 0.1 ml를 agar 표면에 도말하고 디스크들을 오려놓고 37 ℃에서 48시간 방치한 후 형성된 성장 억지대의 직경을 측정하여 8 mm 이상을 성장 억지 양성으로 판단하였다.

Anethole은 hexane으로 용해하고 희석하여 추출물들과 같은 방법으로 측정하였다.

4. 추출물과 추출물 분획의 MIC

각 추출물의 항진균 활성 보유 여부를 검사하고 활성이 가장 높은 추출물을 silica column chromatography (직경 10 cm의 column에 Merck silica gel 60을 시료 100 ml 당 1 g 충전)하여 얻은 각 분획들의 항진균 활성을 검사한 다음 활성이 가장 높은 분획의 MIC를 결정하였다. 분획을 용매로 희석한 희석액을 항진균 활성 검사와 동일하게 디스크 확산법으로 MIC를 3회 측정하여 평균치를 구하였고 anethole은 hexane으로 용해하고 희석하여 추출물과 동일한 방법으로 측정하였다.

5. 가장 높은 활성을 보인 분획의 Mass spec-

Table 3. MIC of the Essential Oil from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*

Microoorganism	Growth inhibition / μl/ml									
	Foeniculum vulgare					*Illicium verum*				
	50	25	12.5	6.25	3.125	50	25	12.5	6.25	3.125
C. albicans-1	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-2	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-3	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−
C. albicans-4	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-5	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-6	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-7	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-8	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-9	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-10	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−
C. albicans-11	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-12	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-13	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-14	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
C. albicans-15	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−
*C. albicans**	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−

*: standard *C. albicans* strain, *DCM: dichloromethane

trometry 분석을 기초과학지원 연구소에 의뢰하였다.

결 과

1. 각 추출물들의 항진균 활성

Hexane, dichloromethane, methanol 및 증류수 추출물의 항진균 활성을 검사한 결과 소회향과 대회향 모두 dichloromethane 추출물만이 사용한 모든 *C. albicans* 모든 균주와 표준 균주에 대하여 항진균 활성을 나타내었고 용매만을 가한 디스크는 전부 항진균 효과가 없었다 (Table 1).

1) 소회향 dichloromethane 추출물의 MIC

검사한 *C. albicans* 15주 중 12주와 표준 균주의 MIC는 25 μl/ml이었고 3주 50 μl/ml이었다 (Table 2).

2) 대회향 dichloromethane 추출물의 MIC

검사한 15주 중 12주와 표준 균주의 MIC는 6.25 μl/ml이었고 2주는 12.5 μl/ml이었다 (Table 2).

2. 소회향과 대회향 정유의 MIC

1) 소회향 정유의 MIC

검사한 15주 중 11주와 표준 균주의 MIC는 6.25 μl/ml이었고 4주는 12.5 μl/ml이었다 (Table 3).

2) 대회향 정유의 MIC

검사한 15주 중 12주와 표준 균주의 MIC는 6.25 μl/ml이었고 3주는 12.5 μl/ml이었다 (Table 3).

3. Anethole의 항진균 활성

검사한 모든 균주에 대하여 50 μl/ml 농도에서 항진균 활성이 없었다 (Table 4).

4. 소회향 dichloromethane 추출물 분획의 항진균 활성

Chloroform으로 3회 추출하여 얻은 추출물을 전개용매 (ethyl acetate: chloroform 1:1)로 시작하여 methanol의 양을 점진적으로 늘려가면서 silica gel chromatography와 thin layer chromatography를 시행한 결과 얻은 3개의 분획의 항균 활성을 검사한 결과 항균 활성이 없었다 (Table 5).

Table 4. MIC of Anethole against *Candida albicans*

Microoorganism	Growth inhibition / μl/ml				
	50	25	12.5	6.25	3.125
C. albicans-1	+	+	+	−	−
C. albicans-2	+	+	+	−	−
C. albicans-4	+	+	+	−	−
C. albicans-5	+	+	−	−	−
C. albicans-6	+	+	+	−	−
C. albicans-7	+	+	+	−	−
C. albicans-8	+	+	+	−	−
C. albicans-9	+	+	−	−	−
C. albicans-10	+	+	+	−	−
C. albicans-11	+	+	+	−	−
C. albicans-12	+	+	+	−	−
C. albicans-13	+	+	+	−	−
C. albicans-14	+	+	+	−	−
C. albicans-15	+	+	+	−	−
*C. albicans**	+	+	+	−	−

*: standard *C. albicans* strain, *DCM: dichloromethane

5. 대회향 dichloromethane 추출물 분획의 항진균 활성

Chloroform으로 3회 추출하여 얻은 추출물을 전개용매 (ethyl acetate:chloroform 1:1)로 시작하여 methanol의 양을 점진적으로 늘려가면서 silica gel chromatography와 thin layer chromatography를 시행하여 얻은 4개의 분획 중 하나만이 항진균 활성을 나타내었다 (Table 5).

6. 질량분석 결과

대회향 dichloromethane 추출물의 분획 중 항진균 활성이 있는 분획의 질량분석을 기초과학연구소에 의뢰한 결과 이 물질의 분자량이 148 정도이었고 NIST (National Institute of Standards and Technology) library 검색 결과 1-methoxy-4-(2-prophrnyl)benzene인 것으로 보인다.

Table 5. Antifungal Activities of the fractions from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*

Microoorganism	Growth inhibition / μl/ml						
	Foeniculum vulgare			*Illicium verum*			
	f-1	f-2	f-3	f-1	f-2	f-3	f-4
C. albicans-1	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-2	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-4	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-5	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-6	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-7	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-8	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-9	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-10	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-11	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-12	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-13	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-14	−	−	−	−	−	−	+
C. albicans-15	−	−	−	−	−	−	+
*C. albicans**	−	−	−	−	−	−	+

*: standard *C. albicans* strain, *f: fraction

고 찰

항진균제의 새 시대는 azole 계통의 항진균제의 등장으로 시작되었고 독성이 전보다 감소하고 항진균 활성이 증가하였다. 그 첫째 약이 clotrimazole인데 간 독성 때문에 현재 점막 캔디다증과 백선균 감염증에 주로 사용된다. 두번째 약으로 1970년대 후반에 나온 ketoconazole은 항진균 범위가 넓고 경구 투여 시 amphotericn B나 flucytosine보다 독성이 약하고 중추신경계에의 침투성은 매우 낮았다. 그 후 allylamine 계통의 약인 terbinafine은 1974년에 발견되었으나 전신적으로, 국소적으로 두 가지 면에서 사용된 것은 1992년 영국에서 허가가 난 후[1] 독성이 없는 항진균제로 알려져 여러 가지의 진균 질환의 치료에 사용되었으나 오심, 설사, 복통, 미 후각 장애, 현훈, 간 기능 장애, 백혈구 수 감소, 피부에 색소 침착, 전신성 발진, 급성 간염 등 여러 가지 부작용이 보고되었다[2~5].

현재까지 개발된 항진균제들은 한 가지 이상의 한계성을 가지고 있는데 심한 부작용, 좁은 항진균 스펙트럼, 일부 조직에의 낮은 침투성, 내성 등이며 상당한 수준의 독성 때문에 간 기능 검사 등 여러 가지 검사를 하면서 조심스럽게 사용되고 있다.

진균들은 사람 세포와 같이 진정 핵 세포로 되어 있어 세포 수준과 분자 수준에서의 수 많은 상동성이 있기 때문에 진균에 대하서만 선택 독성을 가진 항진균제 개발이 쉽지 않다. 진균 질환의 치료에 효과적이고 독성이 없는 항진균제의 개발은 필수적이며 계속되고 있지만 새로운 항진균제를 개발하는 과정은 긴 시간과 많은 인력과 경비를 필요로 한다.

세계보건기구는 개발도상국에 살고 있는 사람의 80% 정도가 전통의학에 의지하고 있다고 추산하였으며[6] 그 대부분이 오래 전부터 효과가 있다고 알려진 식물들을 사용하며 감염 질환의 치료에도 이런 식물성 약재들이 사용되었고 지금도 널리 사용되고 있는데 가장 오래된 것은 마늘로 기원 전부터 감염 질환의 치료에 사용되었고[7], 식물에서 항진균 물질을 추출해 내고자 하는 전세계적으로 오래 전부터 진행되어 왔고 항진균제에 내성을 나타내는 진균들의 등장으로 새로운 항진균제의 개발요구가 증대됨에 따라 최근 이에 대한 연구는 더욱 활발하게 진행되고 있다.

소회향은 회향, 토회향, 곡회향이라고도 하며 영어 이름은 anise이며 *Foeniculum vulgare* Mill의 열매로 특이한 향이 있으며 진통작용과 건위작용이 있어 소화불량, 위염, 구토 등의 치료에 사용되었고 생선의 비린내를 제거해주므로 중국요리점에서 많이 사용되고 있으며, 대회향은 일명 팔각회향이라고도 하며 *Illium verum* Hook. F.의 성숙한 과실을 건조시킨 것으로 소회향보다 크고 star anise, star 또는 aniseed, Chine atar anise로 부르며[8,9], 소회향과 대회향의 구성 성분은 비슷한 것으로 알려져 있는데 현재까지 알려진 성분은 anethole, fenchone, lemonen, pinene, estragole, alpha-phellandrene 등으로 essential oil 내에 들어있으며 그 함량은 배양된 장소, 추출방법에 따라 많은 차이를 보이는데, 끓는 물에서 추출한 경우, 뜨거운 수증기를 사용하여 추출한 보고가 있고, microwave를 사용하여 추출한 경우, methanol이나 hexane으로 추출한 경우도 있다.

소회향과 대회향의 가장 많은 성분은 대개 anethole로 보고되었으나 어떤 보고에서는 estragole이 주성분이라고 하였는데 종류와 재배된 지역 또 성분을 추출하는 방법에 따라 차이가 있음이 알려졌다[11~20].

본 연구에서 소회향과 대회향을 n-hexane, dichloromethane, methanol과 섭씨80도의 증류수로 추출하였는데 소회향과 대회향 모두 항진균 활성을 가진 것은 dichloromethane 추출물이었으며 MIC를 측정한 결과 대회향의 *Candida albicans*에 대한 항진균 활성은 소회향보다 약간 낮았고, 소회향과 대회향의 dichloromethnae 추출물을 silica gel chromatography를 통해 분석한 결과 소회향 추출물의 세 분획들은 항진균 활성이 없었으며 대회향의 네 분획 중 한 분획은 항진균 활성이 있어 mass spectrometry 분석을 의뢰한 결과 분자량이 148 정도이며 1-methoxy-4-(2-prophenyl) benzene이라는 보고를 받았다. 이 물질이 어떤 물질이며 동물과 사람에게 부작용이나 독작용이 없는지 여부 등은 앞으로 규명해야 할 것이다.

결 론

소회향과 대회향을 hexane, dichloromethane, methanol과 물로 추출한 추출물, 정유 및 anethole의 *Candida albicans*에 대한 항진균 활성을 조사한 결과

1. 소회향과 대회향 모두 dichloromethane 추출물만이 사용한 *C. albicans* 모든 균주와 표준 균주에 대하여 항진균 활성이 있었으며 소회향의 MIC는 대회향보다 약간 높았다.
2. 소회향의 dichloromethane 추출물의 silica gel chromatography를 통해 얻은 세 개의 분획들은 항진균 효과가 없었으나 대회향 추출물은 네 개의 분획 중 한 분획이 항진균 활성이 있었다.
3. 대회향의 정유와 anethole의 MIC는 소회향 추출물의 MIC와 비슷하였다.
4. 대회향의 dichloromethane 추출물의 분획 중 항진균 효과 있는 주된 물질은 1-methoxy-4-(2-prophrny) benzene으로 보이며 이는 정유와 함께 새로운 항진균로서의 개발 가능성이 있을 것으로 판단된다.

REFERENCES

1. Smith EB. History of antifungals. J Am Acad Dermatol 1990;23(4 Pt2):776-778

2. Rubegni P, Mandate F, Sbano P, Fimiani M. Acute generalized erythematous pustulosis induced by terbinafine. Arch Dermatol 1996;132:123-125
3. Bennet ML, Jorizzo JL, White WL. General pustular eruption associated with oral terbinaine. Int J Dermatol 1999;38:596-600
4. Gupta AK, Kopstein JB, Shear NH. Hypersentivity reation to terbinafine. J Am Acad Dermatol 1997; 36:1018-1019
5. Gupta AK, Sibbald RG, Knowels SR, Lynde CW, Shear NH. Terbinafine therapy may be associated with development of psoriasis de novo or its exacerbation; four case reports and a review of drug-induced psoriasis. J Am Acad Dermatol 1997;36: 858-862
6. Cox PA. The ethnobotanical approach to drug discovery :Strengths and limitations. 1994; pp25-41 In: GT Prance. Ethnobotant and the search for new drugs. Wiley, Chichster (Ciba Foundation Symposium 185)
7. Adetumbi MA, Lau BH. *Allium sativum* (garlic)-a natural antibiotic. Mdical Hypothesis 1983;12:227 -237
8. Kim JK. *Foeniculum vulgare*. Illustrated national Drugs Encyclopedia (Clor edition). Ist ed. 1997;245, Seoul, Namsadang.
9. Kim JK. *Illicium vera*. Illustrated Natural Drugs Encyclopedia (Color edition) Chemother 1st ed. 2006;12:100-104
10. Barazani O, Fait A, Cohen Y, Diminshtein S, Ravid U, Putievsky E, et al. Chemical variation among indigenous populations of *Foeniculum vulgare var. vulgare* in Israel. Planta Med 1999;65:486-489
11. Itir Dadalioglu, Gulsun Akdemir Evrendilek. Chemical compositions and antimicrobial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay Laurel (*Laurus nobilis*), Apanish lavender (*Lavendula stoechas* L), and Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) on common foodborne pathogens J Agric Food Chem 2004;52:8255-8260
12. Mimica-Dukic N, Kujundzic S, Sokovic M, Coulais M. Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. oained by different conditions. Phytother Res 2003;17:368-371
13. Minakshi D, Amit K, Parimal S, Arun Barab B. Antimicrobial properties of Sta Anise (*Illicium verum* Hook f). Phytotherapy Resaerch 2002;16:94-95
14. Orave A, Raal Q, Arak E. Essential oil composition of Pimpinella anise L. fruit from various European countries. Nat Prod Res 2008;22:227-232
15. Ozcan MM, Chalchat JC, Arslan D, Ates A, Unver A. Comparative essential composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* sso. Piperitum) fruit oils obtained during different vegetation. J Med Food 2006;9:552-561
16. Ishikawa T, Fujimatu E, Kitajima J. Water-soluble constituents of anise: new glycosides of anethole glycol. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2002;50:1460 -1466
17. Minakshi D, Amit K, Parimal S, Arun Baran B. Antimicrobial properties of Star Anise (*Illicium vera* Hook f) Phytotherapy Research 2002;16:94-95
18. Rodrigues VM, Rosa PT, Marques MO, Petenate AJ, Meireles MA. Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO_2: solubility, kinetics and composition data. Agric Food Chem 2003;51:1518-1523
19. Ziming Wang, Lu Wang, Tiechun Li, Xin Zhou, Lan Ding, Yong Yu, et al. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook f. and Zingiber of officinale Rosc. By improved solvent-free microwave extraction. Analytical and Bioanalytical Chemidtry 2006;386:1863-1868
20. Chang K, Ahn Y. Fumignant activity of (E)-anithole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella gemanica*. Pest Manag Sci 2001;58:161-166