

اثر ضد قارچی عصاره تام متانولی، فراکسیون های متانولی، آبی و کلروفرمی سر شاخه‌های هوایی گیاه *Ephedra pachyclada* Boiss

پگاه مسلمی^۱، سید رضا حسینی دوست^۲، ژینوس عسگرپناه^۳، مهدی رزاقی ابیانه^۴

^۱ دانشجوی دکتری حرفه‌ای داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی

^۲ استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی

^۳ استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی

^۴ دانشیار، گروه قارچ شناسی، انیستیتو پاستور ایران

چکیده

سابقه و هدف: افزایش استفاده از داروهای ضد قارچ علیه عفونت های قارچی و عوارض جانبی جدی بعضی از این داروها و نیز بروز مقاومت نسبت به آنها، توجه محققین را به یافتن درمان های کمکی و جایگزین از جمله استفاده از گیاهان دارویی معطوف کرده است. در این مقاله اثر ضد قارچی عصاره تام متانولی و فراکسیون های اتیل استاتی، کلروفرمی، متانولی و آبی بخش های هوایی گیاه هوم بررسی شد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، از بخش های هوایی *Ephedra pachyclada* عصاره و فراکسیون های ذکر شده و به روش ماسراسیون تهیه گردید. جهت تعیین اثرات ضد قارچی غلظت های ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم/میلی لیتر از عصاره تام و فراکسیون های مختلف تهیه گردید و بر روی ۵ سوش قارچی، شامل کاندیدا آلبیکنس، فوزاریوم اکسیسپوریوم، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس فومیگاتوس، به روش *Disc diffusion* مورد بررسی قرار گرفت. **یافته ها:** عصاره تام متانولی، فراکسیون متانولی و آبی و کلروفرمی بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس اثر خوبی داشت، اما بر روی سایر سوش ها هیچ گونه اثر ضد قارچی نداشت. **نتیجه گیری:** نتایج نشان می دهد که این گیاه محتوی مواد ضد قارچ کاندیدا آلبیکنس است. ادامه تحقیقات در جهت شناسایی و جداسازی ماده موثره موجود در عصاره گیاه مورد نظر و تعیین اثر ضد قارچی آن پیش نیاز نتیجه گیری کاربردی تر نتایج این تحقیق است. **واژگان کلیدی:** اثر ضد قارچی، عصاره، اقدرا، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس فلاووس، فوزاریوم اکسیسپوریوم، کاندیدا آلبیکنس

مقدمه

مهم ترین و قدیمی ترین بیماری های عفونی هستند که درمان آنها مستلزم داروهای اختصاصی بوده و فرایند تولید و عرضه هریک نیازمند زمان و هزینه قابل توجه است. قارچ هایی نظیر آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس نیجر، آسپرژیلوس فومیگاتوس، فوزاریوم اکسیسپوریوم و کاندیدا آلبیکنس از جمله عوامل عفونی قارچی هستند و مقاومت های دارویی در مورد آنها به طور نگران کننده ای رو به افزایش است (۲).

امروزه بخش بزرگی از داروهای مصرفی در کارخانه های شیمیایی سنتز می شوند، تخمین زده می شود که دست کم

شیوع مقاومت دارویی در میان عوامل عفونی یک مشکل عمومی محسوب می گردد که سلامت مردم را در همه نقاط گیتی تحت تاثیر قرار می دهد. بروز و گسترش مقاومت های دارویی در بسیاری از عوامل عفونی مثل باکتری ها، قارچ ها، تک یاخته ها و ویروس ها دیده شده است (۱). عفونت های قارچی از جمله

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم دارویی، گروه میکروبیولوژی، دکتر سید

رضا حسینی دوست (email: rhdoust@iaups.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۳/۲/۳۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۳/۶/۲

کاندیدازیس به صورت حاد، تحت حاد یا مزمن و اسپورادیک بوده و ممکن است دهان، گلو، پوست، واژن، انگشتان، ناخن‌ها، نای، ریه یا دستگاه گوارش را در برگیرد (۱۱). البته کاندیدا البیکنس جزو فلور نرمال بدن محسوب می‌شود و در شرایطی منجر به بیماری‌های موضعی به خصوص در واژن و نواحی پوستی می‌گردد (۱۲). بیماری‌هایی که سیستم ایمنی طبیعی دارند نسبت به درمان موضعی با نیستاتین، آمفوتریسین B و یا ایمیدازول ها به خوبی پاسخ می‌دهند. عفونت‌های عمقی تر به درمان سیستمیک نیاز دارند و در بسیاری از موارد فلوکونازول خوراکی می‌تواند در درمان کاندیدازیس کاملاً موثر باشد (۱۱). با توجه به شیوع مقاومت دارویی در سویه‌های قارچی بیماری‌زا، امروزه تحقیق در مورد مواد و ترکیبات ضد قارچی موجود در گیاهان مورد حمایت و تشویق مراکز و مجامع پزشکی بوده و تاکنون داروهای متعددی در این راستا مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (۱۳). امروزه تعداد زیادی از داروهای ضد قارچی و ضد باکتریایی موثر برای درمان این عوامل عفونی به کار گرفته می‌شوند، اما با توجه به تنوع ژنتیکی ایجاد شده در عوامل بیماری‌زای قارچی و پیدایش سویه‌های مقاوم و همچنین عوارض جانبی ناشی از مصرف این داروها، جایگزین کردن آنها توسط داروهای ضد قارچی با منشأ گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد و انگیزه‌ای برای تحقیقات در زمینه یافتن داروهای گیاهی بدون عوارض جانبی شده است. با توجه به اثر ضد قارچی دیگر گونه‌های جنس افدرا، در این مقاله اثر ضد قارچی عصاره تام متانولی، فراکسیون متانولی، آبی و کلروفومی حاصل از بخش هوایی *Ephedra pachyclada* علیه اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فومیگاتوس، اسپرژیلوس فلاوس، فوزاریوم آکسیسپوریوم و کاندیدا بررسی شد.

مواد و روشها

در این پژوهش تجربی، اثر ضد قارچی عصاره تام متانولی و فراکشن های متانولی و آبی و کلروفومی روی قارچ‌های نامبرده بررسی شد و حداقل غلظت مهار کننده عصاره های موثر بر روی قارچ‌ها مطالعه شد.

گیاه افدرا در فصل تابستان از استان هرمزگان (کوه گنو) جمع آوری شد. سپس نمونه‌های گیاهی توسط آب مقطر شستشو داده شد و با پارچه تمیزی آب آنها گرفته شد و سپس داخل پارچه سفید رنگ تمیزی به مدت ۵-۴ روز در دمای محیط و در سایه و دور از نور و رطوبت خشک شد. در انتها توسط

۱/۳ فرآورده‌های دارویی، یا منشأ گیاهی دارند و یا پس از استخراج از گیاه تغییر شکل یافته اند و یا از روی ماده موثره گیاه تهیه شده اند. البته به نظر می‌رسد کارهای بیشتری در این زمینه نیاز باشد. به طور مثال، از ۳۵۰ هزار گونه گیاهی کشورمان، فقط در حدود ۱۰-۸ هزار گونه از نظر دارویی بررسی شده‌اند (۳). گیاه افدرا پاچیکلادا (*Ephedra pachyclada*) در تیره افدراسه به دلیل داشتن آلکالوئیدهایی همچون افدرین، سودوافدرین و نورسودوافدرین مورد توجه زیادی هستند. گیاه افدرا (ریش بز، ارمک) از خانواده افدراسه بوده و از جمله گیاهان دارویی مهم محسوب می‌گردد و از این جنس ۱۲ گونه در ایران گزارش گردیده است. این گیاه به نام-های محلی هوموخ، قاتورقویروقی و کچی سقلی نامیده می‌شود. این گیاه اثر بازکننده برونش، ضد سرفه، ضد آسم و ضد تب دارد (۴).

افدراها گیاهانی بوته‌ای، به ارتفاع ۰/۴ تا یک متر گاهی درختچه‌ای کوچک، دارای ساقه بند بند و برگ‌های کوچک و نازک در محل بند می‌باشند. گل‌های آنها عموماً به صورت شاتون‌های نر و ماده بر روی دو پایه جدا از هم ظاهر می‌شوند. قسمت مورد استفاده دارویی این گیاه قسمت‌های سبزی باشد (۵). ماده مؤثر آن افدرین و پسودوافدرین می‌باشد. فرم کلیدرات افدرین در درمان بیماری آسم استفاده می‌گردد و مقدار آن به تناسب محل رویش گیاه تغییر می‌نماید (۶، ۷).

گونه‌های مهم اسپرژیلوس از نظر پزشکی، اسپرژیلوس فومیگاتوس، اسپرژیلوس فلاوس و اسپرژیلوس نیجر هستند. این اسپرژیلوس‌ها از جمله قارچ‌های بیماری‌زا هستند که از طریق ورود اسپور به بدن انسان باعث آلودگی شده و عفونت آن به ویژه در افراد مبتلا به نقص سیستم ایمنی مهاجم و بسیار جدی است. حتی در افراد سالم نیز اسپرژیلوس می‌تواند عفونت موضعی در ریه، سینوس‌ها و سایر نقاط بدن ایجاد کند (۴). اسپرژیلوس مهاجم حاد ریوی، اسپرژیلوس انسداد برونشی و التهاب برونشی، اسپرژیلوس مغزی، اسپرژیلوس پوستی، اسپرژیلومای ریوی، اسپرژیلوس نکروز دهنده مزمن ریوی می‌باشد (۸). داروهای انتخابی برای درمان عفونت‌های اسپرژیلوس، آمفوتریسین B، وریکونازول و ایتراکونازول هستند (۸، ۹). فوزاریوم (فوزاریوم مونیلیفورم، فوزاریوم سولانی، فوزاریوم آکسی سپوروم) نیز می‌توانند عفونت‌های منتشره قارچی ایجاد کنند و عمدتاً به آمفوتریسین B مقاوم و به وریکونازول نسبتاً حساس هستند (۱۰). کاندیدا آلبیکنس از جمله کاندیداهای مهم است که در انسان عفونت‌های اولیه و ثانویه ایجاد می‌کند. سیر بالینی

شد و سپس تعداد اسپور قارچ‌ها با لام نئوبار شمارش شد و سوسپانسیون معادل 1×10^6 cfu/ml در هر میلی لیتر تهیه شد (۱۵).

برای سنجش قطر هاله رشد، بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت متراکم تهیه گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره یا فراکشن‌های آن به دیسک بلانک آنتی بیوتیک (۴ میلیمتری) وارد و اجازه داده شد تا تحت شرایط آسپتیک خشک شوند. این دیسک‌ها تا زمان استفاده در ظروف مخصوص و در دمای یخچال نگهداری شدند. غلظت نهایی عصاره تام و فراکسیون‌های مربوطه در هر دیسک به ترتیب ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵ و ۳۲/۲۵ میلی گرم بود. پلیت‌های محتوی کاندیدا آلبیکنس در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های محتوی سایر سوش‌ها در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. قطر هاله‌های عدم رشد در کاندیدا بعد از ۴۸ ساعت و در سایر سوش‌ها بعد از یک هفته قرائت و اندازه گیری گردید.

جهت تعیین MIC، غلظت‌هایی از عصاره تام یا فراکشن‌هایی که دارای قطر هاله عدم رشد بیش از ۱۰ میلیمتر بودند، انتخاب شدند. غلظت مورد نظر عصاره در درون چاهک‌های پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای به کمک RPMI از یک هشتم تا یک در هزار دوپست و هشتم رقیق شده و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون نیم مک فارلند به هر چاهک اضافه گردید. پس از گرمخانه گذاری چاهک‌هایی که هیچگونه رشدی از قارچ مربوطه در آن وجود نداشت، به عنوان MIC آن غلظت تعیین گردید. MFC عصاره‌های مورد نظر نیز به همین ترتیب تعیین گردید.

یافته‌ها

عصاره تام متانولی، فراکشن متانولی، آبی، کلروفرمی سر شاخه هوایی گیاه *Ephedra pachyclada* بر روی اسپرژیلوس نیجر، اسپرژیلوس فومیگاتوس، اسپرژیلوس فلاووس و فوزاریوم اکسیسپوریوم به روش دیسک دیفیوژن بی تاثیر بود و فقط بر روی کاندیدا آلبیکنس اثر خوبی نشان داد.

نتایج به دست آمده از بررسی اثرات ضد قارچی عصاره تام متانولی و فراکشن‌های متانولی، آبی، کلروفرمی سرشاخه هوایی گیاه *Ephedra pachyclada* بر روی کاندیدا آلبیکنس به روش disc diffusion و MIC در جدول ۱ و ۲ آمده است.

آسیاب برقی کاملاً پودر شده و در ظرف‌های شیشه‌ای تیره رنگ و در بسته و مقاوم در برابر نور و رطوبت نگهداری شدند. عصاره تام متانولی گیاه با روش ماسراسیون طی ۱۰ روز تهیه گردید. به این ترتیب که ابتدا یک تکه پنبه در انتهای دستگاه پرکولاتور قرار داده و سپس پودر گیاه را به طور یکنواخت در پرکولاتور ریخته و با وارد کردن فشار یکنواخت به سطح پرکولاتور دستگاه از پودر پر شد. سپس حلال متانولی بر روی پودر ریخته شد تا اندازه‌ای که روی سطح آن را بپوشاند. در این بررسی، از متانول جهت تهیه عصاره ی تام ۹ روز در ۳ مرحله ی ۳ روزه استفاده شد. برای تهیه فراکسیون‌ها از روش Liquid Liquid Fractionation استفاده شد. به این صورت که ۱۰ میلی لیتر حلال کلروفرم را بر روی عصاره تام متانولی خشک شده ریخته آنقدر هم زدیم و با کاغذ صافی صاف کردیم. پس از آنکه حلال بی رنگ شد، حلال بعدی یعنی اتیل استات را اضافه کردیم و پس از بی رنگ شدن از حلال‌های دیگر متانول و آب استفاده کردیم. جهت تهیه فراکسیون‌های مورد نظر از حلال‌هایی چون کلروفرم - اتیل استات، متانول و آب استفاده شد.

پس از جمع آوری عصاره تام و فراکسیون‌ها، آنها را توسط دستگاه Rotary evaporator در درجه حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد و ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ کرده و با قرار دادن عصاره‌های تغلیظ شده در هوای آزاد، عصاره‌ها بسته به میزان فرار بودن حلال بین ۱۰-۱ روز کاملاً حلال خود را از دست داده و خشک شدند. برای تغلیظ نمونه‌های آبی از بن ماری استفاده شد. لازم به ذکر است که به منظور ممانعت از کپک زدگی عصاره آبی از رها کردن آن در هوای آزاد به مدت طولانی خودداری شد. در زمان‌هایی که عصاره از بن ماری به جهت ادامه کار در روز آتی خارج می‌شد، عصاره‌ها را در یخچال قرار داده و تا روز بعد در همان جا نگه داری می‌شد. عصاره تام و فراکسیون‌های تهیه شده از گیاه درون ظرف پلاستیکی که از قبل توزین شده بود، ریخته شده و برای مرحله بعد یعنی بررسی اثر ضد قارچی در یخچال نگهداری شد (۱۴).

سوش‌های قارچی استاندارد از آزمایشگاه قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران تهیه و روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار، محیط مولر هینتون آگار و محیط RPMI (Qlab) کشت و نگهداری شدند. کشت ۴۸ ساعته جهت تهیه سوسپانسیون، استفاده شد. بدین صورت که مقداری آب مقطر استریل به لوله‌ها افزوده شد. سپس سطح کلنی‌ها توسط پیپت پاستور استریل خراشیده شد و مایع رویی در یک لوله استریل ریخته

ناچیز است. از این رو استفاده از این ماده موثر احتمالاً اثر مهار کنندگی به مراتب افزون تری خواهد داشت و در آن شرایط با اثر داروهایی مثل کتوکونازول قابل مقایسه خواهد بود.

تحقیقات مشابه نشان می‌دهند که عصاره سایر گونه‌های جنس افدرا از جمله *Ephedra major* قادر به مهار رشد قارچ اسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین از آن است (۱۸، ۱۹). یکی از گونه‌های جنس افدرا به نام *Ephedra alata* نیز اثرات بسیار خوبی را بر روی مهار رشد اسپرژیلوس و تولید آفلاتوکسین نشان داده است (۲۰، ۲۱). در پژوهشی دیگر در سال ۱۹۹۵ اثر ضد قارچ قابل توجهی از اسانس بخش هوایی *Ephedra sinica* مشاهده شد (۲۲). از این پژوهش‌ها و نیز مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که گیاهان جنس افدرا دارای مواد موثره ضد قارچ خوبی می‌باشند.

امروزه با توجه به تنوع ژنتیکی ایجاد شده در عوامل بیماری‌زای قارچی و پیدایش سویه‌های مقاوم (۲۳) و همچنین عوارض جانبی ناشی از مصرف این داروها، جایگزین کردن آنها توسط داروهای ضد قارچی با منشا گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به بررسی‌های انجام گرفته در خصوص اثر بازدارندگی عصاره تام متانولی و فراکشن‌های آبی متانولی و کلروفرمی *Ephedra pachyclada* مشخص گردید که تمام عصاره‌ها و فراکشن‌های مورد نظر بر روی اسپرژیلوس نیجر و اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس فومیگاتوس و فوزاریوم اکسیسپوریوم بی‌تاثیر می‌باشند. پژوهش حاضر مشخص کرد که عصاره آبی و متانولی نسبت به کلروفرمی اثر مهار کنندگی بیشتری بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس دارند. این نتایج نشان می‌دهد که حلال قطبی حلال مناسب‌تری است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کارشناسان محترم بخش قارچ شناسی انیستیتو پاستور ایران تشکر و قدردانی می‌شود

جدول ۱. نتایج اثر غلظت‌های مختلف عصاره تام متانولی، فراکشن متانولی، فراکشن آبی و فراکشن کلروفرمی گیاه *Ephedra pachyclada* بر روی کاندیدا آلبیکنس به روش دیسک دیفیوژن و مقایسه با اثر دیسک ۱۰ میکروگرم بر دیسک کتوکونازول (قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر میانگین سه مرتبه آزمایش)

عصاره	۵۰۰*	۲۵۰*	۱۲۵*	۶۲/۵*	۳۱/۲۵*	کتوکونازول †
عصاره تام متانولی	۱۷/۶	۱۵/۶	۱۵/۳	۱۲/۳	۱۰/۳	۵۵
فراکشن متانولی	۱۹/۶	۱۷/۶	۱۵/۶	۱۴/۶	۱۱/۳	۵۵
فراکشن آبی	۲۳	۲۱/۳	۱۸/۶	۱۷	۱۴/۶	۵۵
فراکشن کلروفرمی	۱۶/۶	۱۴/۶	۱۱/۳	۹/۶	۸/۶	۵۵

* ۱۰ µg/disk † mg/ml

جدول ۲. حداقل غلظت مهار کننده و کشنده عصاره‌های مختلف گیاه *Ephedra pachyclada* بر *Candida albicans* (میزان MIC و MFC برحسب mg/ml)

عصاره نام	فراکشن کلروفرمی	فراکشن آبی	فراکشن متانولی	عصاره تام متانولی
MIC	۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۲/۵
MFC	۲۰	۲۰	۱۰	۲۰

بحث

گزارش‌های متعددی مقاومت‌های دارویی را در گونه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها نشان می‌دهند. این امر اهمیت تجویز علمی داروهای ضد میکروبی و تحقیق در مورد خواص ضد میکروبی گیاهان بومی با هدف کاربردی کرن استفاده از آنها در درمان عفونت‌های میکروبی را نشان می‌دهد (۱۸). این تحقیق موثر بودن عصاره تام متانولی و فراکشن‌های متانولی آبی و کلروفرمی تهیه شده از بخش‌های هوایی گیاه بر کاندیدا آلبیکنس را نشان داد. البته با توجه به غلظت نسبتاً بالای عصاره‌ها و فراکشن‌های مربوطه، قطر هاله عدم رشد در مقایسه با داروهای ضد قارچی همچون کتوکونازول زیاد نیست. ولی باید توجه داشته باشیم که گرچه این مقدار باز دارنگی از رشد قارچ به ظاهر قابل توجه نیست، ولی نتیجه اثر غلظتی از عصاره گیاه می‌باشد که مقدار ماده موثر آن بسیار

REFERENCES

- Hosseini Doust R, Saberi M, Hosseini MJ, Mohabati Mobarez A. Surveillance of current antibiotic resistance among clinical isolates *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* collected from five Iranian cities. *Journal of Pharmaceutical and Health Sciences* 2012;1: 53- 62.
- Scheld WM, Craig WA, Hughes JM, eds. *Emerging infections*. Washington, D.C: ASM Press; 2001. P.229-72.
- Murray P, Rosental K, Phaller M, eds. *Medical mycology*. Translated by: Ghadjari A. Tehran: Aeej Publication; 2010. P.89-90. [In Persian]
- Teles F, Seixas J. The future of novel diagnostics in medical mycology. *J Med Microbiol* 2014 Nov 23. ahead of print

5. Skladny H, Buchheidt D, Baust C, Krieg Schneider F, Seifarth W, Leib Mosch C, et al. Specific detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples of immunocompromised patient by two-step PCR. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3865-71.
6. Emami M, ed. Medical mycology. Tehran: Tehran University Publication; 1998. P.96-97. [In Persian]
7. Zeini F, Mahbod A, Emami M, eds. Comprehensive medical mycology. Tehran: Tehran University Publications; 1999. P.318. [In Persian]
8. Shadzi S, ed. Medical mycology. Tehran: Tehran University Publication; 2007. P.54-60. [In Persian]
9. Sullivan DJ, Moran GP, Pinjon E, Al-Mosaied A, Stokes C, Vaughan C, Coleman DC. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res* 2004; 4:369-76.
10. Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA, eds. Clinical Mycology. New York: Churchill Living Stone; 2009. P.301-302.
11. Feyzi MT. Introduction of the *Stureja bakhtiarica* and its ecological characteristic in Isfahan province. Proceeding of National Iranian Congress of Medical Plants, Isfahan: Isfahan University of Medical Sciences; 2002. P.179.
12. Dassanayake RS, Ellepola AN, Samaranyake YH, Samaranyake LP. Molecular heterogeneity of fluconazole resistant and susceptible oral *Candida albicans* isolates within a single geographic locale. *APMIS* 2002; 110: 315-24.
13. Morshhauser J. The genetic basis of fluconazole resistance development in *Candida albicans*. *Biochimica Biophysica Acta* 2002; 1587: 240-48.
14. Ajello L, Hay JR, eds. Topley and Wilsons microbiology and microbial infection. Vol 14. 9th ed. Oxford: Oxford University Press, Inc; 1998. P.69-275.
15. Momeni T, ed. Plants extract. Tehran: Shahid Farhad Reza publication; 2000. P.10-20. [In Persian]
16. Asadi M, ed. Flora of Iran. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands; 1998. P.29-30. [In Persian]
17. Zargari A, ed. Medical plants. Tehran: Tehran University Publication; 1991. P.78. [In Persian]
18. Salehi MH, ed. Medical plants and phototherapy. Tehran: Tehran university publication; 2008. P.145-49. [In Persian]
19. Samsam Shariat SH, ed. Extraction of effective compounds from medical plants. Tehran: Mani Publication; 2007. P.10-20. [In Persian]
20. Furletti V, Teixeira I, Obando-pereda G, Mardegan R. Action of *Coriandrum sativum* L, essential oil upon oral *Candida albicans* biofilm formation. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 17: 903-909.
21. Bagheri G, Bigdeli M. Inhibitory effects of *Ephedra major* host on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Mycopathologia* 2009;168:249-55.
22. Al-Qarawi AA, Abd-Allah EF, Hashem A. *Ephedra alata* as biologically-based strategy inhibit aflatoxiogenic seed-borne mold. *Afr J Microbial Res* 2011; 5:2297-303.
23. Guozhen Z, Ding FY, Lizhen WX. A study on antifungal activity of essential oil from *Ephedra sinica* and *Asarum heterotropoides*. *J Plant Protez* 1995; 4:4-14.