

Jaborandi extract와 Sorbitol이 구강미생물 증식에 미치는 영향

장종화·유소연·오탈진¹

한서대학교대학원 치위생학과·¹선문대학교 제약공학과

Antimicrobial activity of jaborandi extract and sorbitol to oral microbes

Jong-Hwa Jang · So-Yeon You · Tae-Jin Oh¹

Department of Dental Hygiene Science, a Graduate School, Hanseo University · ¹Department of Pharmaceutical Engineering, Sunmoon University

Received : 22 May, 2013
Revised : 17 June, 2013
Accepted : 18 June, 2013

Corresponding Author

Tae-Jin Oh

Department of Pharmaceutical
Engineering

Sunmoon University, #100, Kalsan-ri
Tangjeong-myron Asansi, Chungnam
336-708, Korea.

Tel : +82-41-530-2677

+82-10-7499-6981

Fax : +82-530-2279

E-mail : tjoh3782@sunmoon.ac.kr

ABSTRACT

Objectives : The aim of the study is to investigate the antimicrobial activity of jaborandi and sorbitol to various oral microbes.

Methods : Jaborandi leaves contain pilocarpine. The conditions for extraction were optimized on the basis of substances, temperatures and pHs. Total pilocarpine content after extraction was analyzed by HPLC. The herbal antimicrobial activity of jaborandi and sorbitol were evaluated for oral microbes containing ATCC 25175 *S. mutans*, ATCC 13419 *S. salivarius*, ATCC 6249 *S. mitis*, ATCC 33398 *S. equi*, ATCC 29213 *S. aureus*, ATCC 14053 *C. albicans*.

Results : The optimum conditions for highest yielding extraction were pilocarpine content after boiling at 100°C for 1 hour at pH 3. The level of total pilocarpine content was analyzed at 833 mg/kg by HPLC. The most effective antimicrobial activity was obtained by combination of pilocarpine and sorbitol rather than pilocarpine, menthol and sorbitol, respectively.

Conclusions : This results supported the preventive oral health care using safe and convenient jaborandi herb.

Key Words : antimicrobial activity, *Candida albicans*, jaborandi, pilocarpine, sorbitol, *Streptococcus mutans*

색인 : 류탄스연쇄상구균, 솔비톨, 자보란디, 필로카르핀, 항균력, 캔디다 알비칸스

서론

질병의 대부분은 감염성질환이 차지하고 있으며, 이는 일차적으로 구강상기도를 통해 발생되므로 구강내 세균에 대한 항균력은 매우 중요하다. 따라서 점차적으로 항균물질에 대한 관심과 더불어 최근에는 천연물 소재에 대한 관심이 커지고 있다.

현재 구강질환을 예방하거나 치료하기 위한 물질로는 생리식염수, 중조수, 과산화수소수, 클로르헥시딘, 베타딘액, 니스타틴액 등을 이용하고 있으나, 비선호적인 맛, 치아와 혀의 착색, 희석 사용 시 유효기간 및 보관상 우려 등이 문제로 지적되고 있다¹⁾.

각종 식물은 오래전부터 풍미료, 색소, 의약품, 농약 등 2차 대사 산물의 중요한 급원으로 이용되어 왔는데, 최근 들어

Copyright©2013 by Journal of Korean Society of Dental Hygiene

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in medium, provided the original work is properly cited.

▶ 이 논문은 2011년도 한서대학교의 교내 연구지원사업에 의하여 연구되었음(11일대석 06).

생물공학 기술이 발전함에 따라 식물조직 배양을 이용하여 2차대사 산물을 생산하려는 연구가 활발히 진행되고 있다²⁾. 국내에서는 천연으로부터 기능성 물질을 찾고자 하는 연구들이 활발히 진행되고 있으며, 최근 이용도가 높아지고 있는 허브는 그 향기나 풍미가 탁월하고 독특하여 식품 소재로서 기호성을 증진시킬 수 있으며 피로회복, 진정효과, 항균작용, 노화방지 등의 효능이 알려져 생리활성 측면에 있어 가치 있는 소재라 할 수 있다³⁾. 그 중 페퍼민트(peppermint: *Mentha piperita*)는 동서양에서 주로 약용 또는 향신료 등으로 사용되어 왔으며 잎에 많은 유세포가 있어 다량의 정유를 함유하고 있다⁴⁾. 페퍼민트 정유의 구성성분은 mono-terpenoids로서, 70~90%가 멘톨이다^{4,5)}. 멘톨은 위에 언급된 특징에 따라 피부와 점막을 시원하게 해주고, 항균, 항산화와 통증 완화에 효과가 있으며 소화불량, 메스꺼움, 후두염, 설사, 두통, 치통, 복통 등의 다양한 증세에 약용과 치약, 잼, 사탕, 화장품, 담배 등의 청량제나 향료로 쓰이고 있다^{6,7)}.

자보란디 잎에서 추출되는 Pilocarpine은 인류의 건강문제에 중요한 약효성분이 있는 것으로 알려져 있으며 녹내장 치료에서 안압 감소를 위해 사용되며, 부교감 신경계에 작용하여 타액 분비 및 땀의 분비를 촉진한다. 최근에는 타액의 분비가 감소하는 구강건조증 치료에도 처방되고 있으며⁸⁻¹⁰⁾, 많은 학자들의 연구 결과 약 2-10배 정도의 타액분비촉진 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다¹¹⁻¹³⁾. 우리나라에서도 Pilocarpine의 타액 분비 촉진효과에 대한 일부 연구가 진행된 바 있다¹⁴⁻¹⁷⁾.

치아우식증은 인류에게서 가장 이환율이 높은 만성질환 중의 하나로 알려져 있다. 이 질환의 가장 쉬운 예방법 중의 하나는 치아우식 원인 중의 주요 요인인 자당(Sucrose)의 섭취를 줄이는 것이지만, 현대의 식생활에서 Sucrose의 섭취를 막는다는 것은 불가능하기 때문에 실효를 거두지 못하는 실정이다. Sorbitol은 천연적으로 마가목(rowan), 배, 자두 등의 다양한 식물체에 다량 포함되어 있는 6탄당 당알코올로서¹⁸⁾, Sorbitol의 감미도는 설탕의 60% 수준에 불과하나, 결정형의 경우 용해열이 -26.5 kcal/g로 낮아 입안에서 시원한 청량감을 부여하며, 구강세균 등에 의하여 이용되지 않아 산 생성에 의한 충치를 유발하지 않는 등의 우수한 특성을 지녔다. 이러한 특성으로 인하여 제과제품, 어육, 맥주, 아이스크림 등의 식품뿐만 아니라 최근에는 Sorbitol의 저우식성과 같은 물리화학적 특성들에 대한 장점을 고려하여 세치제 및 껌 성분으로 사용이 증가되고 있는 추세이다¹⁹⁾. 현재 Xylitol의 경우 치아를 보호하는 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, Sorbitol에서도 저우식 작용이 있다는 일부 연구가 있으나 식품첨가물 및 치약의 습윤제로 널리 이용되고 있는 Sorbitol의 구강내

항균력을 면밀하게 파악해 볼 필요가 있다¹⁹⁾.

상기에서 언급된 천연물 소재를 탐색하여 구강질환 예방 및 치료를 위한 구강용품 개발 등에 활용한다면 학문적, 경제적, 산업적으로 크게 이바지할 것으로 여겨진다. 즉, 현대인에게 흔히 발생되고 있는 치아우식병과 치주질환유발 세균뿐만 아니라 고령화에 의해 구내염으로 불편감을 겪고 있는 환자에게서 발견되고 있는 *Candida albicans*을 감소시킬 수 있는 천연물 소재를 첨가한 구강용품 개발은 임상학적으로 의의가 깊다고 판단된다. 이에 본 연구에서는 *Jaborandi leaves*을 이용하여 최적의 배합조건인 Pilocarpine 추출방법을 도출하고, *Jaborandi extract*인 Pilocarpine과 Menthol 및 Sorbitol이 구강미생물 증식에 미치는 영향을 파악하여 구강용품 개발에 활용할 수 있는 기초자료로 제시하기 위함이다.

연구방법

1. 연구설계

본 연구는 *Jaborandi leaves*에서 최적의 Pilocarpine 추출방법을 도출하고, 추출된 Pilocarpine과 Menthol 및 Sorbitol이 구강내 주요 세균 6종에 미치는 항균효과를 측정하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. Pilocarpine 추출

1) Pilocarpine 추출과정

분쇄된 *Jaborandi leaves*을 증류수와 함께 혼합한 뒤 황산 및 암모니아수를 이용하여 각각 pH 3, pH 7, pH 10으로 조정하였다. pH를 조정된 용액을 60°C, 100°C로 각각 1시간, 5시간씩 끓인 뒤 액체만을 걸러주고, pH를 10.5로 조절한 뒤 용액의 두 배의 클로로포름 용액을 넣어 섞어주었다. 4시간 후 하층액을 분리하여 2% 황산 수용액을 넣어주고, 다시 4시간 후 pH를 10.5로 조정하였다. 15분 후 용액의 두 배에 해당하는 클로로포름 용액을 넣어 shaking incubator에서 130 rpm으로 두 시간동안 섞어주었다. 다시 하층액을 분리하여 회전진공감압증발기를 이용, 완전히 농축시킨 뒤 아세톤 1 ml와 메탄올 4 ml를 첨가하여 잘 섞어주었다.

Table 1. For 10 gram of leaves boiling for 1 hour

Weight (g)	Hr of boiling(hr)	pH	Temp	Dilution	Area	Amount (mg/kg)	Quantity of solvent
10	1	7	100	50	1462298	135	dissolved in 3ml
10	1	7	60	100	471520	131	dissolved in 3ml
10	1	3	100	20	14949673	833	dissolved in 3ml
10	1	3	60	20	7463064	415	dissolved in 3ml
10	1	9	100	20	1816406	101	dissolved in 3ml
10	1	9	60	100	844902	165	dissolved in 2ml

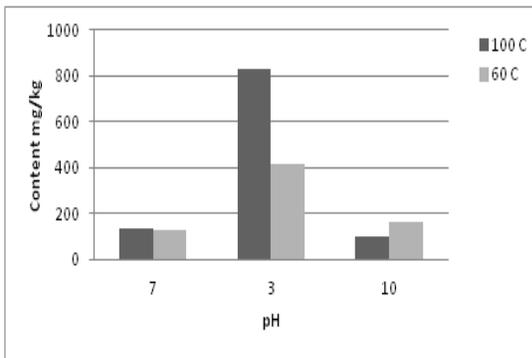


Fig. 1. Graph representing pilocarpine content after boiling at 60 °C and 100 °C for 1hour at different pH

2) Pilocarpine 측정방법

전체 Pilocarpine의 추출량은 HPLC(high-performance liquid chromatography, Alliance 2965/PDA 2996, Waters)를 이용하여 분석하였다. Column은 Mightysil RP-18 GP(5 μ m)를 사용하였으며, UV 212 nm 파장에서 측정하였다. 3차 증류수 850 ml과 13.5 ml의 인산, 3 ml의 트리에탄올아민을 넣은 용액을 수산화나트륨을 통해 pH 3으로 조정했고, 그 후 112 ml 에탄올을 첨가한 뒤, 이를 여과하여 완충용액으로 사용하였다. 유속은 1 ml/min, 시료 주입량은 20 ml이었다.

2.2. 항균력 측정

1) 사용균주

본 실험에 사용한 균주는 한국생명공학연구소에서 분양받아 치아우식과 구강내 치주질환을 유발하는 원인균으로 알려진 ATCC 25175 *S. mutans*, ATCC 13419 *S. salivarius*, ATCC 6249 *S. mitis*, ATCC 33398 *S. equi*, ATCC 29213 *S. aureus*, ATCC 14053 *C. albicans*을 사용하였다.

2) 항균력 측정

선택된 구강세균 6종을 대상으로 Jaborandi extract인 Pilocarpine과 Sorbitol의 항균력을 보고자 각 물질을 1 ~ 50% 수용액으로 제조하였다. 멸균된 실험관에 준비된 농도별 수

용액을 1 ml씩 분주하고 대상균주를 Vitek 2 DensiCheck (BioMerieux, Durham, North Carolina)로 0.5 McFarland가 되도록 탁도를 맞추었다. Mueller-Hinton 혈액우무배지에 대상균주가 부유된 수용액 10 μ l를 접종하고 나머지 수용액과 함께 35°C, 5% CO₂배양기에서 30분간 배양하였다. 30분 후 배양한 수용액을 잘 혼합하여 이미 Mueller-Hinton 혈액우무배지에 접종한 자리 옆으로 1cm 간격을 두고 10 μ l 접종하고 동일한 조건으로 배양하였다. 30분 주기로 4회 반복하여 10 μ l씩 접종하고 동일한 조건으로 배양하였고, 마지막 접종이 끝나면 35°C, 5% CO₂배양기에서 24시간 배양하였다. 사용된 균주를 대상으로 Jaborandi extract인 Pilocarpine의 최소억제농도(Minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하고자 각 물질의 수용액을 제조하여 판독기준에 따라서 집락형성유무를 등급으로 표기하였다.

연구성적

1. Jaborandi leaves에서 Pilocarpine 추출

Jaborandi leaves에 대해 다양한 조건으로 열수추출한 분석 결과는 <Table 1, 2>와 <Fig. 1, 2>와 같다.

Jaborandi leaves을 1시간동안 열수추출한 결과, pH 3과 100°C의 조건에서 최대의 Pilocarpine이 도출되어 833 mg/kg로 나타났다<Table 1>과<Fig. 1>.

Jaborandi leaves를 5시간 동안 열수추출한 결과, pH 7과 60°C의 조건에서 최대의 Pilocarpine이 도출되어 451 mg/kg이 얻어졌다<Table 2>과 <Fig. 2>. 이상의 결과에 의해 Jaborandi leaves에서 최적의 Pilocarpine 추출조건은 pH 3과 100°C에서 도출된다는 것을 파악할 수 있었다.

Jaborandi leaves에서 얻어진 천연물 Pilocarpine에 대한 HPLC 분석결과는 <Fig. 3>과 같다. pH 3과 100°C의 조건에서 Pilocarpine이 피크로 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

Table 2. For 5 gram of leaves boiling for 5 hours

Weight (g)	Hr of boiling(hr)	pH	Temp	Dilution	Area	Amount (mg/kg)	Quantity of solvent
5	5	7	60	20	24311785	451	dissolved in 1 ml
5	5	7	100	20	9607311	356	dissolved in 1 ml
5	5	3	60	50	2880555	276	dissolved in 1 ml
5	5	3	100	20	3052960	113	dissolved in 1 ml
5	5	9	60	20	10713192	398	dissolved in 1 ml
5	5	9	100	20	3052960	145	dissolved in 1 ml

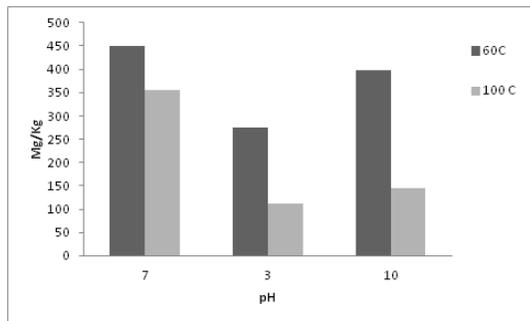


Fig. 2. Graph representing pilocarpine content after boiling at 60°C and 100°C for 5 hours at different pH

2. Jaborandi extract인 Pilocarpine과 Sorbitol의 항균력

Jaborandi extract인 Pilocarpine과 Sorbitol의 항균력을 측정하기 위해 CLSI guide line에서 제시한 MIC microbroth dilution method로 실험하였고, 사용된 균주 ATCC 25175 *S. mutans*, ATCC 13419 *S. salivarius*, ATCC 6249 *S. mitis*, ATCC 33398 *S. equi*, ATCC 29213 *S. aureus*, ATCC 14053 *C. albicans* 이었다.

각 물질에 대한 MIC를 분석한 결과, Sorbitol과 Menthol은 *Streptococcus* sp.에서 40%(40 mg/ml)이었고 *S. aureus*에서는 >40%이었다. 이들 물질이 단독으로 사용될 경우 항균력은 없었다. Pilocarpine의 MIC는 *Streptococcus* sp.에서 4%(40mg/ml)로 항균력은 미약하였다. Menthol과 Sorbitol은 단독으로 또는 두 물질을 혼합하여도 *S. aureus*와 *C. albicans*에 대한 항균력은 없었다. 다만 Menthol과 Sorbitol의 농도를 20%내외로 하여 혼합하였을 때 *Streptococci* sp.은 자라지 않았다(Table 3, 4).

각 물질은 배합조건에 따라 희석하였고, 표준균주는 0.5 McF로 10배 희석 후 10 μ l씩 접종하였다. Sorbitol과 Pilocarpine 혼합물과 Sorbitol과 Pilocarpine 및 Menthol 혼합물의 MIC 차이는 없었다. 즉, Menthol은 항균력이 없다는 것을 확인할 수 있었다.

*S. aureus*에 대한 항균력은 *S. aureus*의 Breakpoint가 *Streptococci* sp.보다 한 단계 낮게 나왔다. Pilocarpine 혼합액에서 Sorbitol(16~18%)은 Pilocarpine이 2%인 경우 *Streptococci* sp.만 자라지 않았다. Sorbitol 40%에서 Pilocarpine이 8%일 경우 *S. aureus*와 *C. albicans* 그리고 *Streptococci* sp. 모두 자라지 않았다(Table 5, 6).

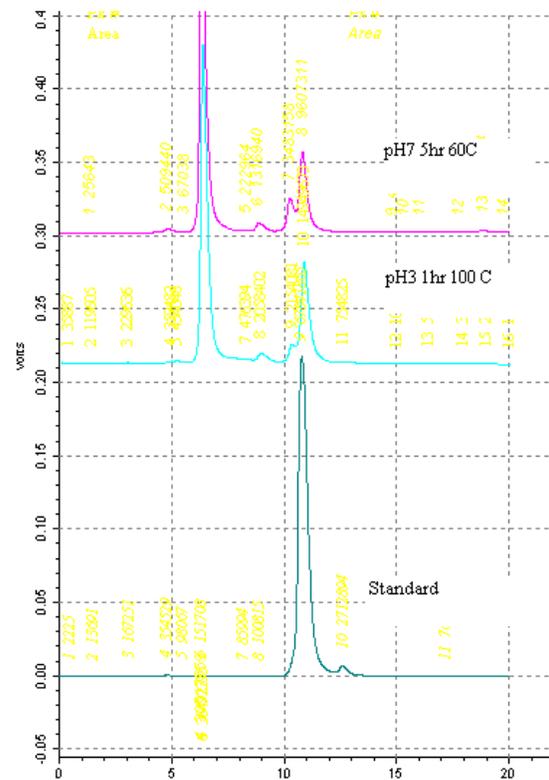


Fig. 3. HPLC profile of the best extract pH3 1hr for 100oC and 5hr for 60oC

Table 3. MIC microbroth dilution method in sorbitol, menthol and pilocarpine

Agents	Base (mL)	Dilution ratio						% conc.
		base	1x	2x	4x	8x	16x	
Sorbitol 40%	8	32	16	8	4	2	1	% conc.
Menthol 40%	1	4	2	1	0.5	0.25	0.125	% conc.
Pilocarpine 40%	1	4	2	1	0.5	0.25	0.125	% conc.

Table 4. Antimicrobial activity of sorbitol, menthol and pilocarpine in oral microbes

Microorganisms		Dilution ratio						Controls	
		base	1x	2x	4x	8x	16x	negative	positive
ATCC 25175	<i>S. mutans</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
ATCC 13419	<i>S. salivarius</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
ATCC 6249	<i>S. mitis</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
ATCC 33398	<i>S. equi</i>	-	-	+	+	+	+	-	+
ATCC 29213	<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	-	+
ATCC 14053	<i>C. albicans</i>	-	-	+	+	+	+	-	+

- No growth, + Growth

Table 5. MIC microbroth dilution method in sorbitol and pilocarpine

agents	Base	Dilution ratio						% conc.
		base	1x	2x	4x	8x	16x	
Sorbitol 40%	9	40	20	10	5	2.5	1.25	% conc.
Pilocarpine 8%	1	8	4	2	1	0.5	0.25	% conc.

Table 6. Antimicrobial activity of sorbitol and pilocarpine in oral microbes

Microorganisms		Dilution ratio							Controls	
		base	1x	2x	4x	8x	16x	32x	negative	positive
ATCC 29213	<i>S. aureus</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	+
ATCC 14053	<i>C. albicans</i>	-	+	+	+	+	+	+	-	+

- No growth, + Growth

총괄 및 고안

구강건강은 건강의 필수요소로서 전신건강을 유지하기 위해서는 구강건강을 합리적으로 관리하여야 할 필요성이 강조되고 있다²⁰. 특히 구강건강을 증진 및 유지하기 위해 이용되고 있는 구강용품에 대한 요구도가 높아지면서 부작용이 적고 생체친화적인 천연물 소재에 대한 관심이 증가하고 있다.

Jaborandi는 운향과의 *pilocarpus*속에 속하는 식물이다⁹. 운향과는 일반적으로 160속과 1900종이 포함되어 있고, 열대지방과 온대지방에 넓게 분포하고 있다²¹. *pilocarpus*는 신열대구의 교목 및 관목 식물로, 16종으로 이루어져 있으며 9개의 아종, 12개의 변종이 있으며, 멕시코 남부지방부터 중앙아메리카, 남아메리카 남부에 분포되어있다²². Joseph²³은 브라질에 약 18종이 있다고 하였으며, 이는 각각 *P. pennatifolius*, *P. grandiflorus*, *P. jaborandi*, *P. trachylophus*, *P. microphyllus*, *P. giganteus* Engler, *P. peruvianus*, *P. riedelianus*, *P. spicatus*, *P. pauciflorus*이다. Jaborandi는 브라질 인디언 투피족의 언어(ya-mbor-endi)에서 유래되었고 “침 흘리는 잡초”라는 의미가 있으며 1873년, Symphronio Coutinho가 브라질 페르남부쿠주에서 앞의 샘플을 유럽으로 가져오면서 서양의 학에서 소개되었다²⁴. Jaborandi는 관목이며, pre-Amazonian 우림의 하층 식물이고, 특히 마라냥주에 많이 존재하며, 앞에 알칼로이드 물질이 가장 많이 함유 되어 있다^{9,10}.

*Pilocarpus microphyllus*의 몇몇 알칼로이드는 동물에서 생리학적 효과가 있으며, 많은 경우에서 약리학적으로 효과가 있는 것으로 알려져 있다²⁵. Jaborandi leaves는 평균 0.5 %의 imidazole alkaloid pilocarpine을 포함하고 있고, isopilocarpine, jaborine, jaboridine, pilocarpidine과 같은 다른

알칼로이드가 같은 양으로 포함되어 있다⁸⁾. *Pilocarpus microphyllus*는 Pilocarpine의 유일한 원료이며⁹⁾, 녹내장 치료시 안압 감소를 위해 사용되며, 부교감 신경계에 작용하여 타액 분비 및 땀의 촉진, 그리고 최근에는 타액의 분비가 감소하는 구강건조증 치료 시에도 처방되고 있다⁸⁻¹⁰⁾.

이러한 Pilocarpine은 합성제재가 생산되어 구강건조증 치료를 위한 전문의약품 및 부외약품에 이용하고 있다. 본 연구에서는 선행연구에서²⁶⁾ 사용했던 방법으로 천연물 원료인 Jaborandi leaves에서 Pilocarpine을 최대로 추출할 수 있는 최적의 조건을 도출한 결과, 10g을 pH 3에서 1시간동안 10 0°C에서 열수추출했을 때 최대량은 833 mg/kg으로 나타났다. 한편 Jaborandi leaves 5g을 5시간동안 열수추출한 결과는 pH 7과 60°C에서 451 mg/kg이 최대량이었다. 전체 Pilocarpine은 HPLC를 이용하여 분석한 결과 pH 3과 100°C에서 1시간이 최적의 조건인 것으로 밝혀졌다.

또한 구강미생물에 대한 항균활성을 파악하기 위해 구강미생물 6종에 대해 In vitro 실험을 시도한 결과, Jaborandi extract인 Pilocarpine과 Sorbitol 및 Menthol 각각에 대한 항균력은 미비한 것으로 나타났다. 그러나 Sorbitol 40%에서 Pilocarpine이 8%일 경우 *S. aureus*와 *C. albicans* 그리고 *Streptococci* sp. 모두 자라지 않은 결과를 감안하면 이들 소재를 적절한 배합으로 껌이나 구강용품에 활용한다면 향후 타액분비촉진 및 구강내 항균활성 효과를 기대할 수 있을 것으로 여겨진다. 단, 본 연구결과를 이용하여 기능성 식품, 의약품 및 구강용품 개발에 활용하기 위해서는 실험실 연구뿐만 아니라 동물실험이나 인체실험 등의 임상시험을 시도하여 안전성과 유용성에 대한 검증이 필요하다.

종합하면 본 연구는 구강건조증 치료를 위해 사용하고 있는 Pilocarpine을 천연물에서 얻기 위해 Jaborandi leaves을 여러 가지 조건으로 열수추출하여 최적의 조건을 파악하였고, 이에 의해 얻어진 추출물을 이용하여 구강미생물에 대한 항균활성을 측정하여 구강용품개발에 활용할 수 있는 기초자료를 확보하였다는데 의의가 깊다. 추후 연구에서는 현재 새롭게 소개되고 있는 초임계유출추출법이나 효소를 활용한 추출법을 시도해보고, 추출된 Pilocarpine을 껌이나 구강용품 개발에 활용하여 임상시험을 시도한 후 타액의 유동학적 특성을 분석해 볼 필요가 있다고 제시한다.

결론

구강병 예방 및 치료에 유용하다고 알려져 있는 Jaborandi leaves에서 Pilocarpine에 대한 최적의 추출조건을 파악하고, 추출물인 Pilocarpine과, Menthol 및 Sorbitol이 구강세균에

대한 항균활성을 분석한 결과는 다음과 같다.

1. Jaborandi leaves을 1시간동안 pH 3과 100°C의 조건에서 열수추출하여 도출된 Pilocarpine은 833 mg/kg이 최대량 이었고, 5시간 동안 pH 7과 60°C의 조건에서 열수추출한 결과에서는 451 mg/kg이 최대량으로 나타났다.
2. Jaborandi leaves에서 얻어진 천연물 Pilocarpine에 대한 HPLC 분석결과, pH 3과 100 °C의 조건에서 Pilocarpine 이 피크로 나타났다.
3. Jaborandi extract인 Pilocarpine과 Menthol 및 Sorbitol에 대한 MIC 분석결과, Sorbitol과 Menthol은 *Streptococcus* sp.에서 40%(40 mg/ml)이었고 *S. aureus*에서는 >40%이었다.
4. Pilocarpine 혼합액에서 Sorbitol (16~18%)은 Pilocarpine 이 2%인 경우 *Streptococci* sp.만 자라지 않았다. Sorbitol 40%에서는 Pilocarpine이 8%일 경우 *S. aureus*와 *C. albicans* 그리고 *Streptococci* sp. 모두 자라지 않았다.

위의 연구결과, Jaborandi leaves에서 도출된 Pilocarpine은 Sorbitol과 함께 구강질환 예방 및 치료 차원에서 껌에 배합하거나 구강청정제 등의 구강용품 개발에 활용한다면 각종 구강상기도를 통한 감염을 방지하여 구강건강을 증진 및 유지 시키는데 유용할 것으로 제시된다.

References

1. Chung SH. The effects of essential oil mouthrinse on oral health in the community. *J Dent Res* 1986; 65: 162.
2. Berlin J. Biotechnology. Wikipedi: VCH; 1986: 629.
3. Chung HY, Kim HB. In vitro studies on the superoxide scavenging activities the cytotoxic and the immunomodulating effects of thirteen kinds of herbal extracts. *Korean J Food Sci Technol* 2000; 32(3): 699-705.
4. Masada Y. Peppermint oil. In *Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry*. Tokyo: Microkawa; 1975: 13.
5. Kim JH, Lee HJ. Production of monoterpenoid flavor compounds by suspension culture of peppermint cells. *J Korean Agric Chem Soc* 1992; 35(6): 443-8.
6. Sharafi SM, Rasooli I, Owlia P, Taghizadeh M, Astaneh SD. Chemical imposition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules* 2009; 14: 238-49.
7. Schmidt E, Bail S, Buchbauer G, Stoilova I, Atanasova T, Stoyanova A, et al. Chemical composition, olfactory evaluation

- and antioxidant effects of essential oil from *Mentha x piperita*, *Nat Prod Commun* 2009; 4(8): 1107-12.
8. Sandhu SS, Abreu IN, Colombo CA, Mazzafera P. Pilocarpine content and molecular diversity in jaborandi. *Sci Agric* 2006; 63(5): 478-82.
 9. Pinheiro CUB. Jaborandi (*Pilocarpus* sp., Rutaceae): a wild species and its rapid transformation into a crop. *Econ Bot* 1997; 51: 49-58.
 10. Davies AN, Broadly K, Beighton D. Xerostomia in patients with advanced cancer. *J Pain Symp Manag* 2001; 22: 820-5.
 11. Wiseman LR, Faulds D. Oral pilocarpine: a review of its pharmacological properties and clinical potential in xerostomia. *Drugs* 1985; 45: 143-55.
 12. O'Connell AC, Pearson SK, Bowen WH. Pilocarpine alters caries development in partially-desalivated rats. *J Dent Res* 1994; 73: 637-43.
 13. Davies AN, Daniels C, Pugh R, Sharma K. A comparison of artificial saliva and pilocarpine in radiation induced xerostomia. *J Laryngol Otol* 1994; 108: 663-5.
 14. Kim JH, Park JH, Kwon JS, Ahn HJ. Effect of pilocarpine mouthwash on xerostomia. *Korean J Oral Medicin* 2012; 36(1): 21-4.
 15. Park MH, Yoo YS. Pilocarpine mouth care for patients with terminal cancer. *J Korean Acad Fundam Nurs* 2006; 13(2): 217-24.
 16. Park MS, Lee SW, Chung SC, Kim YK, Yum KW. The effect of pilocarpine-containing chewing gum on anti-microbial components in whole saliva of xerostomic patients. *Korean J Oral Medicine* 1999; 24(4): 347-59.
 17. Lee SK, Hyun KY, Lee SW. Comparative study on the effectiveness of pilocarpine in xerostomia accounting to the method of administration. *Korean J Oral Medicin* 1999; 19(2): 29-45.
 18. Heaton K, Robinson F, Lewin M. Sorbitol. *Int J Food Sci Technol* 1980; 13: 157.
 19. Baik SH. The effects of xylitol and sorbitol on oral health and xerostomia in Korean elderly [Doctoral dissertation]. Seoul: Univ. of Ewha Womans; 2004.
 20. Cho GS, Jang JH. Clinical predictors related to oral health in elderly for visiting healthcare. *J Korean Soc Dent Hyg* 2010; 10(6): 983-90.
 21. Groppo M, Pirani JR, Salatino MLF, Blanco SR. Phylogeny of Rutaceae based on two noncoding regions from cpDNA. *Am J Bot* 2008; 95: 985-1005.
 22. Skorup LA. Revisão taxonoômica de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) [Doctoral dissertation]. Institute of Biosciences(Saõ Paulo): Univ. of Saõ Paulo, 1996.
 23. Joseph CJ. Revisao sistematica do genero pilocarpus (ssp. brasileiras). *Mecanica Popular*. Rio de Janeiro:Outubro; 1967; 1-9.
 24. Holmstedt B, Wassén SH, Schultes RE. Jaborandi: an interdisciplinary appraisal. *J Ethnopharmacol* 1979; 1(1): 3-21.
 25. Abreu IN de, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Mazzafera P. Production of pilocarpine in callus of jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf). *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 2005; 41(6): 806-11.
 26. Avancini G, Abreu IN, Saldana MDA, Mohamed RS, Mazzafera P. Induction of pilocarpine formation in Jaborandi leaves by salicylic acid and methyljasmonate. *Phytochemistry* 2003; 63: 171-5.

