





دانشگاه علوم پزشکی اردبیل  
دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه‌ی دکترای حرفه‌ای دندانپزشکی

عنوان:

بررسی سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلبله‌ی زرد و  
عاقرقرحا در سلول‌های فیبروبلاست لثه‌ای

اساتید راهنما:

دکتر مهدی رهبر  
دکتر کاظم نجاتی

استاد مشاور:

دکتر عزیز کامران  
دکتر مهسا زبیاثراد

نگارش:

مهدی پایون

تقدیم

این پایان نامه را به پدر  
و مادر عزیزم تقدیم  
می کنم.

## تقدیر و سپاسگزاری

بدون شک جایگاه و منزلت استاد، اجل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه‌ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم. از استادان گرامی دکتر مهدی رهبر و دکتر کاظم نجاتی بسیار سپاسگزارم چرا که بدون راهنمایی‌های ایشان انجام این پایان‌نامه بسیار مشکل می‌نمود. از آقای دکتر عزیز کامران و خانم دکتر مهسا زیبائزاد به دلیل یاری‌ها و راهنمایی‌های بی چشمداشت که بسیاری از سختی‌ها را برایم آسان‌تر نمودند، تقدیر و تشکر می‌نمایم.

## بررسی سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای

### چکیده

**مقدمه:** پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی مزمن در جهان بوده و عامل اصلی آن، بیوفیلیم می‌باشد. روند پوسیدگی با فعالیت باکتریایی در امتداد سطح بین بیوفیلیم و مینای دندان اتفاق می‌افتد. امروزه تلاش‌های زیادی برای توسعه داروهای ضدقارچی و ضدباکتریایی با سمیت کمتر، اثربخشی بیشتر و مکانیسم عمل جدید انجام گرفته است، که در این میان استفاده از داروهایی با منشأ گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گیاهان دارویی در درمان طیف وسیعی از عفونت‌ها و بیماری‌ها استفاده می‌شوند. داروهای گیاهی، بی‌خطر و بدون عوارض جانبی هستند. به‌همین دلیل استفاده از آنها در سال‌های اخیر افزایش یافته است. در نهایت هدف از این تحقیق بررسی سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه عصاره‌های گیاهی به روش سوکسله جداسازی شدند و سلول‌های فیبروبلاست به تعداد  $1 \times 10^5$  در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه کشت داده شدند. غلظت‌های مختلفی از عصاره‌های گیاهی (خردل سیاه، هلپله‌ی زرد، عاقرقرا و ترکیب آن‌ها) تهیه شده و سلول‌های کشت داده شده با این غلظت‌ها تیمار شدند. در این مطالعه از عصاره‌ی تام گیاهان غلظت‌های مختلفی تهیه شد (۵ غلظت برای هر گروه). گروه کنترل نیز محیط کشت بدون عصاره بود. غلظت‌های در نظر گرفته شده به صورت سه بار تکرار تست شد. در ابتدا برای هر کدام از عصاره‌های گیاهی تست MTT انجام شده و  $IC_{50}$  محاسبه شد. در مرحله‌ی بعد سلول‌ها با ترکیب سه عصاره (با توجه به میزان  $IC_{50}$ ) به صورت هم‌زمان به مدت ۴۸ ساعت تیمار شد. در نهایت تأثیر هم‌افزایی (سینرژیسم) داروها مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** یافته‌های تحقیق حاکی از آن بودند  $IC_{50}$  برای عصاره‌ی خردل سیاه در طی ۴۸ ساعت ۴/۵ بود. برای هلپله‌ی زرد میزان  $IC_{50}$  ۲/۲ بود و برای عاقرقرا این میزان ۵/۸ بود. همچنین برای ترکیب این عصاره‌ها نتایج نشان داد که ترکیب خردل سیاه و هلپله‌ی زرد به صورت سینرژیسم باعث سمیت سلولی می‌شوند، درحالی که برای بقیه‌ی گروه‌های تأثیر سینرژیسم مشاهده نشد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل نشان داد که گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا و ترکیب آنها در غلظت‌های پایین تر از ۲ سمیت سلولی نداشته و می‌توان از آن در تولید دهانشویه استفاده کرد. (به جز ترکیب خردل سیاه و هلپله‌ی زرد)

**کلمات کلیدی:** سمیت سلولی، خردل سیاه، هلپله‌ی زرد، عاقرقرا، سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای

## فهرست مطالب

### عنوان

### صفحه

#### فصل اول: معرفی پژوهش

۱-۱. مقدمه .....	۱
۱-۲. بیان مسئله .....	۱
۱-۳. تعریف واژه‌های علمی و کاربردی .....	۳
۱-۴. اهداف و فرضیات .....	۵
۱-۴-۱. هدف کلی .....	۵
۱-۴-۲. اهداف اختصاصی .....	۵
۱-۴-۳. اهداف کاربردی .....	۵
۱-۵. فرضیات یا سؤالات تحقیق .....	۵

#### فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه‌ی پژوهش

۲-۱. پوسیدگی .....	۸
۲-۲. گیاه شناسی .....	۹
۲-۲-۱. تاریخچه .....	۱۰
۲-۳. گیاهان دارویی .....	۱۰
۲-۳-۱. تاریخچه .....	۱۱
۲-۳-۲. تفاوت بین گیاهان دارویی و داروی گیاهی .....	۱۴
۲-۴. عاقرقرا .....	۱۵
۲-۴-۱. ترکیبات شیمیایی .....	۱۶
۲-۵. هلیله‌ی زرد .....	۱۶
۲-۶. خردل سیاه .....	۱۷
۲-۶-۱. تاریخچه خردل سیاه .....	۱۸
۲-۶-۲. خواص خردل سیاه .....	۱۹
۲-۶-۳. داروشناختی و اثرات مهم خردل سیاه .....	۱۹
۲-۶-۴. سمیت و عوارض جانبی خردل سیاه .....	۲۰
۲-۷. عصاره .....	۲۰
۲-۷-۱. عصاره‌ی گیاهی .....	۲۰

- ۲۳-۲-۷-۲- عصاره‌های گیاهی و کاربردهایشان ..... ۲۳
- ۲۳-۲-۷-۳- عصاره‌های مایع گیاهی ..... ۲۳
- ۲۳-۲-۷-۴- عصاره‌های خشک گیاهی ..... ۲۳
- ۲۳-۲-۷-۵- تفاوت عصاره‌ی گیاهی با عرقیات گیاهی ..... ۲۳
- ۲۴-۲-۷-۶- عصاره‌گیری تنها روش استخراج همه‌ی مواد دارویی ..... ۲۴
- ۲۴-۲-۷-۷- عصاره‌گیری از گیاهان روشی به‌قدمت تاریخ ..... ۲۴
- ۲۴-۲-۷-۸- عصاره‌گیری به روش‌های جدید ..... ۲۴
- ۲۵-۲-۷-۹- کاربردهای عصاره‌های گیاهی در صنایع داروسازی ..... ۲۵
- ۲۵-۲-۸- فیبروبلاست ..... ۲۵
- ۲۶-۲-۸-۱- منشأ جنینی ..... ۲۶
- ۲۷-۲-۸-۲- ساختار و عملکرد ..... ۲۷
- ۲۸-۲-۸-۳- بافت همبند ..... ۲۸
- ۲۸-۲-۸-۴- انواع بافت پیوندی ..... ۲۸
- ۲۹-۲-۹- سمیت سلولی ..... ۲۹
- ۲۹-۲-۹-۱- تست سمیت سلولی ..... ۲۹
- ۳۰-۲-۹-۲- اساس روش برای تست MTT سمیت سلولی ..... ۳۰
- ۳۰-۲-۹-۳- روش انجام آزمون MTT برای تست سمیت سلولی ..... ۳۰
- ۳۱-۲-۹-۴- محاسبه درصد سلول‌های زنده در تست سمیت سلولی ..... ۳۱
- ۳۲-۲-۱۰- پیشینه‌ی تحقیق ..... ۳۲

#### فصل سوم: مواد و روش‌ها

- ۳۶-۳-۱- نوع پژوهش ..... ۳۶
- ۳۷-۳-۲- جامعه‌ی آماری، روش نمونه‌گیری و حجم نمونه ..... ۳۷
- ۳۷-۳-۳- روش تحقیق ..... ۳۷
- ۳۸-۳-۴- دستگاه استخراج سوکسله ..... ۳۸
- ۳۹-۳-۴-۱- استخراج مداوم به‌وسیله سوکسله ..... ۳۹
- ۴۰-۳-۵- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ..... ۴۰
- ۴۱-۳-۶- ملاحظات اخلاقی ..... ۴۱

#### فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

- ۴-۱- مقدمه ..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
- ۴۲-۴-۲- سوالات تحقیق ..... ۴۲

#### فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادهای پژوهش

۵-۱. نتیجه گیری .....	۵۹
۵-۲. محدودیت‌ها و پیشنهادهای پژوهش .....	۵۹
۵-۲-۱. محدودیت‌ها .....	۵۹
۵-۲-۳. پیشنهادهای پژوهش .....	۵۹
منابع و مأخذ .....	۶۱



## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۴-۱- سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه خردل سیاه در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۲
جدول ۴-۲- سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه هلپله‌ی زرد در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۳
جدول ۴-۳- سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه عاقرقرا در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۴
جدول ۴-۴- سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در ترکیب با یکدیگر در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۵
جدول ۴-۵- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در بدون غلظت سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۷
جدول ۴-۶- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در غلظت ۰/۶۲۵ سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۷
جدول ۴-۷- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در غلظت ۱/۲۵ سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۸
جدول ۴-۸- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در غلظت ۲/۵ سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۸
جدول ۴-۹- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در غلظت ۵ سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای	۴۸
جدول ۴-۱۰- آزمون تعقیبی LSD جهت بررسی اختلاف سه گروه در غلظت ۵	۴۹
جدول ۴-۱۱- مقایسه سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان	۵۰
جدول ۴-۱۲- آزمون تعقیبی LSD جهت بررسی اختلاف سه گروه در غلظت ۱۰	۵۰

## فهرست اشکال و نمودار

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲- توضیح خواص درمانی زیره و شوید در نسخه‌ی عربی .....	۱۱
شکل ۲-۲- عاقرقرا .....	۱۵
شکل ۳-۲- خردل سیاه .....	۱۹
شکل ۴-۲- فیبروبلاست .....	۲۶
شکل ۵-۲- اپیدیدیم بافت پوششی .....	۲۸
نمودار ۱-۴- نمودار سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه خردل سیاه در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای .....	۴۳
نمودار ۲-۴- نمودار سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه هلپله‌ی زرد در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای .....	۴۴
نمودار ۳-۴- نمودار سمیت سلولی عصاره‌ی گیاه عاقرقرا در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای .....	۴۵
نمودار ۴-۴- نمودار سمیت سلولی عصاره‌های گیاهان خردل سیاه، هلپله‌ی زرد و عاقرقرا در ترکیب بایکدیگر در سلول‌های فیبروبلاست لته‌ای .....	۴۶