ORIGINAL ARTICLE

Comparing the Effect of Herbal Mouthwash Containing Hydroalcoholic Extracts of Cyperus rotundus L. and Thymus vulgaris L. and Chlorhexidine Mouthwash on Common Periodontal Pathogens

Ali Pezeshkian[1],
Mohammadreza Abbaspour[2],
Seyed Ahamad Emami[3],
Vahid Soheili[4]

[1] PhD Candidate in Pharmacoeconomics and Pharmaceutical Administration, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Associate Professor, Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[3] Professor, Department of Traditional Pharmacy, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Control, School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

(Received November 27, 2022 ; Accepted May 23, 2023)

Abstract

Background and purpose: Gingivitis is an inflammatory disease of the gums caused by accumulation of dental plaque. It can become a chronic periodontal disease if plaque spread below the gum line. The most common pathogens that contribute to periodontal disease include *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pyogenes*, and *Candida albicans*. Due to the side effects of common treatment by chlorhexidine mouthwash, novel treatments to fight such microbes are much of interest. This study aimed at comparing the antimicrobial effect of herbal mouthwash containing the extracts of nut-grass and thyme and chlorhexidine mouthwash on common periodontal pathogens.

Materials and methods: First, *Cyperus rotundus* and *Thymus vulgaris* were collected, powdered, and the hydro alcoholic extract of the mixture of two plants and the methanol extract of each plant were taken. Then, a mouthwash containing combined extract of the two plants was prepared using different exipients. To evaluate the antimicrobial effect of the extracts, *S. mutans*, *S. pyogenes*, and *C. albicans* were used. After determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC), the effect of mouthwash on *S. mutans* biofilm formation and degradation was investigated.

Results: The MIC of the mouthwash formulation against *S. mutans*, *S. pyogenes*, and *C. albicans* were 0.625, 0.039, and 2.5 mg/ml, respectively. The MBC of the mouthwash for each microorganism was 1.25, 0.078, and 10 mg/ml, respectively. The herbal mouthwash significantly inhibited biofilm formation compared to the positive control ($P<0.05$) which showed no significant difference compared to the negative control ($P>0.05$). Findings showed no significant difference in biofilm destruction between the herbal mouthwash and the positive control ($P>0.05$).

Conclusion: The prepared herbal mouthwash showed significant antimicrobial and anti-biofilm effects, and was much more effective in preventing biofilm formation than the standard treatment by chlorhexidine.

Keywords: *Cyperus rotundus*, Cyperaceae, *Thymus vulgaris*, Lamiaceae, gingivitis, biofilm, *Streptococcus mutans*

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (222): 31-43 (Persian).

Corresponding Author: Vahid Soheili - School of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran. (E-mail: Soheiliv@mums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره 222 تیر سال 1402 (43-31)

مقایسه تأثیر دهانشویه گیاهی حاوی عصاره هیدروالکلی سعدکوفی و آویشن با کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های شایع پریودنتال

علی پزشکیان[1]
محمدرضا عباسپور[2]
سید احمد امامی[3]
وحید سهیلی[4]

چکیده

سابقه و هدف: ژنژیویت بیماری التهاب لثه است که ناشی از تجمع پلاک‌های دندانی می‌باشد. در صورتی که پلاک و جرم به زیر خط لثه گسترش پیدا کند، می‌تواند به بیماری مزمن پریودنتال تبدیل شود. شایع‌ترین میکروب‌هایی که در ایجاد بیماری پریودنتال نقش دارند، شامل *Streptococcus mutans*، *Streptococcus pyogenes* و *Candida albicans* است. با توجه به عوارض درمان رایج با دهانشویه کلرهگزیدین، به منظور مبارزه با این میکروب‌ها، دستیابی به درمان‌های جایگزین، امری مطلوب می‌باشد. لذا این مطالعه به مقایسه اثر ضدمیکروبی دهانشویه گیاهی حاوی عصاره هیدروالکلی سعدکوفی و آویشن با دهانشویه کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های شایع پریودنتال پرداخت.

مواد و روش‌ها: ابتدا گیاهان سعدکوفی و آویشن جمع‌آوری و خرد شدند و عصاره هیدروالکلی مخلوط دو گیاه و عصاره متانولی هرگیاه، به صورت جداگانه، گرفته شد. سپس با استفاده از اکسپیان‌های مختلف، محلول دهانشویه ترکیبی ساخته شد. برای ارزیابی اثر ضد میکروب، از میکروارگانیسم‌های *S. mutans*، *S. pyogenes* و *C. albicans* استفاده و پس از تعیین MIC/MBC، اثر دهانشویه بر تشکیل و تخریب بیوفیلم *S. mutans* بررسی شد.

یافته‌ها: مقادیر MIC دهانشویه علیه *S. mutans*، *S. pyogenes* و *C. albicans* به ترتیب معادل 0/625، 0/039 و 2/5mg/mL حاصل شد. هم‌چنین، میزان MBC دهانشویه برای هر یک از میکروارگانیسم‌ها به ترتیب 1/25، 0/078 و 10mg/mL به‌دست آمد. از سوی دیگر، تشکیل بیوفیلم توسط فرمولاسیون دهانشویه به‌طور معناداری کم‌تر از کنترل مثبت گردید($P<0/05$) و هیچ تفاوت معناداری با کنترل منفی مشاهده نشد($P>0/05$). اما در مورد تخریب بیوفیلم از لحاظ آماری تفاوت معناداری بین گروه دهانشویه و کنترل مثبت وجود نداشت($P>0/05$).

استنتاج: براساس نتایج این مطالعه، دهانشویه گیاهی مورد استفاده می‌تواند به‌صورت قابل توجهی اثرات ضدمیکروب و ضد بیوفیلم داشته باشد، به گونه‌ای که در پیشگیری از تشکیل بیوفیلم حتی نسبت به درمان استاندارد کلرهگزیدین، بسیار مؤثرتر عمل کرد.

واژه های کلیدی: سعد کوفی، Cyperaceae، آویشن، Lamiaceae، ژنژیویت، بیوفیلم، *Streptococcus mutans*

مقدمه

پوسیدگی دندان آسیب موضعی و مزمن بافت سخت دندان (مینای دندان، عاج و سیمان) است، که محصولات اسیدی ناشی از متابولیسم باکتریایی کربوهیدرات‌های غذایی اغلب باعث ایجاد آن می‌شود. بیماری پریودنتال

مولف مسئول: وحید سهیلی - مشهد: ابتدای بلوار وکیل آباد، پردیس دانشگاه فردوسی، دانشکده داروسازی E-mail: Soheiliv@mums.ac.ir
1. دستیار دکترای تخصصی اقتصاد و مدیریت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
2. دانشیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
3. استاد، گروه داروسازی سنتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
4. استادیار، گروه کنترل دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
تاریخ دریافت : 1401/9/6 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1401/10/13 تاریخ تصویب : 1402/3/2

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

التهاب پریودنتیوم (لثه‌ها، رباط‌های پریودنتال و استخوان آلوئولی اطراف دندان) است. هر دوی این بیماری‌ها با میکروب‌ها در ارتباط هستند. به‌طور کلی بین کلونیزاسیون میکروفلورال و میکروبی از یک سو و ریزمحیط دهان از سوی دیگر، تعادل وجود دارد. مشکل زمانی رخ می‌دهد که این تعادل به‌هم بخورد(1). بیماری پریودنتال خود به دو نوع ژنژیویت و پریودنتیت تقسیم می‌شود. در بیماری پریودنتال ساختارهای بافتی حمایت‌کننده دندان درگیر می‌شوند. وجه افتراق دو وضعیت ژنژیویت و پریودنتیت وجود درگیری استخوان آلوئولار در پریودنتیت می‌باشد و در واقع دو مرحله از یک روند می‌باشند که بایستی در مراحل ابتدایی یعنی ژنژیویت کنترل شود(2).

ژنژیویت شایع‌ترین فرم بیماری پریودنتال است. این بیماری فرآیند التهابی است که با درگیری بافت لثه همراه می‌شود و سبب به‌وجود آمدن علایمی نظیر افزایش حجم لثه، تغییر در رنگ لثه و خونریزی هنگام پروب‌کردن می‌گردد(2). ژنژیویت عموما می‌تواند به صورت ناگهانی با دوره‌ای کوتاه، بدون درد و یا توأم با درد باشد. هم‌چنین این بیماری می‌تواند به‌صورت مزمن یا حاد ظهور پیدا کند(3). پیشرفت در علم آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت می‌تواند به تشخیص و درک بهتر آسیب ناشی از بیماری‌ها، و نیز شناخت راه‌های درمان مؤثر کمک نماید(4).

در حفره دهان، شایع‌ترین عوامل بیماری‌زا عبارتند از: *Streptococcus mutans*، *Streptococcus sanguis*، *Actinomyces viscosus*، *Staphylococcus aureus*، *Streptococcus pyogenes* و *S.mutans.Candida albicans* به‌عنوان مهم‌ترین باکتری برای شروع پوسیدگی دندان در نظر گرفته شده است(5) که با تولید اسیدهای آلی سطح pH دهان را کاهش می‌دهد و منجر به دمینرالیزه شدن سطح بافت سخت دندان می‌شود(1). از سوی دیگر مطالعات نشان می‌دهد که *C. albicans* قارچ فرصت طلب اصلی در فلور میکروبی دهان است(6) که باعث افزایش پوسیدگی دندان می‌شود و به‌عنوان پلی برای باکتری‌ها عمل کرده و به آن‌ها اجازه می‌دهد به سطوح مخاطی بچسبند(7).

باتوجه به این‌که پلاک‌های دندانی، مهم‌ترین و اصلی‌ترین عامل ایجادکننده بیماری‌های لثه می‌باشند، روش‌های فیزیکی و شیمیایی متعددی جهت کنترل پلاک طراحی شده‌اند. ازمهم‌ترین روش‌های فیزیکی کنترل پلاک می‌توان به مسواک زدن و استفاده کردن از نخ دندان اشاره نمود. از روش‌های شیمیایی کنترل پلاک، استفاده از دهانشویه کلرهگزیدین دیگلوکونات و فرآورده‌های حاوی اسانس می‌باشند. دهانشویه کلرهگزیدین تا به امروز دارای بهترین نتایج در درمان ژنژیویت بوده است و در صورت مصرف محلول 0/2 درصد به میزان روزانه 10 mL و دوبار در روز، تقریبا از تشکیل پلاک میکروبی و جرم گیری جلوگیری کرده و مانع وقوع ژنژیویت می‌شود. با این وجود، به دلیل عوارض جانبی موضعی شامل احساس سوزش، تغییر رنگ دندان‌ها، ایجاد تروما و آلرژی در بافت نرم و اختلال گذرا در حس چشایی، مصرف این فرآورده توسط بیماران نامطلوب تلقی می‌گردد(10-8).

گیاهان از آغاز تمدن بشری برای اهداف دارویی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با توجه به مقبولیت فرهنگی بالا، سازگاری با بدن انسان و عوارض کم‌تر، گیاه درمانی همچنان پایه اصلی درمان در تقریبا 75 تا 80 درصد مردم در بسیاری از کشورهای توسعه نیافته به منظور مراقبت‌های بهداشتی اولیه است(11). به‌نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی در دندانپزشکی در سراسر جهان یک گزینه مقرون به صرفه برای بیماران باشد، چرا که مراقبت‌های پیشگیرانه ضروری در سطح جهانی یکسان نیست و دسترسی به فلوراید برای پیشگیری از پوسیدگی دندان هم‌چنان یک مشکل در کشورهای پردرآمد و کم درآمد است. عصاره‌های گیاهی دارای فعالیت ضدمیکروبی، به‌عنوان آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف شناخته می‌شوند، بنابراین گسترش مقاومت میکروبی را به حداقل می‌رسانند، رشد میکروبی را مهار می‌کنند،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

تولید فاکتورهای سمی را کاهش می‌دهند و فعالیت ضدبیوفیلمی دارند(12). گرچه تاکنون دهانشویه‌های گیاهی حاوی تیمول، اکالیپتول، کارواکرول، منتول و متیل سالیسیلات در کاهش پلاک و ژنژیویت تاثیر به سزایی داشته‌اند، اما شواهد بدست آمده نشان می‌دهد که قابلیت ضدمیکروب و ضدپلاک این ترکیبات به اندازه محلول‌های کلرهگزیدین و فرآورده‌های گیاهی نمی‌باشد(13،8). بنابراین یافتن فرآورده‌های گیاهی با اثرات مشابه کلرهگزیدین می‌تواند دریچه‌ای جدید در درمان ژنژیویت بگشاید.

آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) از خانواده Lamiaceae که به نام‌های رایج Common Thyme، Garden Thyme و Rubbed Thyme نیز شناخته می‌شود، گیاهی ضد اسپاسم برونش و خلط‌آور است. به‌علاوه ضد باکتری، ضد قارچ، ضد ویروس، ضد پروتوزوآ و آنتی‌اکسیدان نیز می‌باشد. به گفته ابن سینا گیاه مذکور که در زبان عربی به نام سَعتَر خوانده می‌شود ضد دندان درد بوده و در درمان سستی لثه موثر می‌باشد(14). آزمایش‌های حیوانی صورت گرفته روی گیاه مزبور حاکی از اثر ضد اسپاسم آن بوده که ناشی از ترکیبات فلاونی موجود در گیاه است. به علاوه، ترپن‌های موجود در گیاه مزبور دارای نوعی اثر خلط‌آور روی مژک‌های تنفسی می‌باشند. گیاه مزبور جهت مصارف موضعی به صورت محلول غرغره برای درمان التهاب دهان و گلو، خارش و درماتوز به کار برده می‌شود. این گیاه هم‌چنین به‌صورت موضعی برای درمان ورم لوزه‌ها و زخم‌های دیرجوش استفاده می‌گردد(20-15).

سُعد کوفی (*Cyperus rotundus* L.) از خانواده Cyperaceae یکی ازقدیمی‌ترین گیاهان دارویی شناخته شده است که در طب سنتی کشورهای مختلف برای اسپاسم‌های دستگاه گوارش، اختلالات معده، تهوع، استفراغ، انگل‌های روده‌ای، مسمومیت غذایی، سوء هاضمه و تحریک روده استفاده شده است. هم‌چنین اثرات فارماکولوژیکی متعددی در سعد کوفی شناسایی شده است که می‌توان به اثرات ضدمیکروب، ضد انگلی، حشره کش، دافع حشرات، نوروپروتکتیو، ضدالتهاب، ضد درد، ضد سرطان، آنتی‌اکسیدان، کنترل‌کننده وزن، ضد پلاکت، ضد زخم معده، محافظت کبد، آنتی‌دیس‌منوره و ... اشاره کرد(30-21). به گفته ابن‌سینا این گیاه در بهبود عفونت‌های دهان، سستی لثه، آفت و برفک مفید است(14).

لذا این مطالعه در راستای مقایسه اثر ضد میکروبی دهانشویه گیاهی حاوی عصاره هیدروالکلی سعد کوفی و آویشن با دهانشویه کلرهگزیدین بر پاتوژن‌های شایع پریودنتال شامل *Streptococcus mutans*، *Streptococcus pyogenes* و *Candida albicans* انجام شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه پیش بالینی ابتدا گیاهان سعد کوفی و آویشن عصاره‌گیری شدند و پس از فرمولاسیون دهانشویه ترکیبی، اثرات ضدمیکروبی آن روی میکروب‌های شایع در بیماری پریودنتال بررسی گردید.

عصاره‌گیری

نخست 300 گرم از مخلوط پودر ریشه سعد کوفی و اندام‌های هوایی آویشن باغی (از هر گیاه 150 گرم) با استفاده از روش پرکولاسیون توسط اتانول 70 درجه عصاره‌گیری شد. هم‌چنین عصاره متانولی هرگیاه نیز جداگانه تهیه گردید. عصاره‌ها توسط دستگاه Rotary evaporator در دمای 45-50°C و با سرعت چرخش بین 90 تا 110 دور در دقیقه تحت شرایط خلأ تغلیظ گردید. سپس جهت به‌دست آوردن پودر خشک از عصاره‌های تغلیظ شده، از دستگاه Freeze dryer استفاده شد.

تهیه فرمولاسیون دهانشویه

برای تهیه فرمولاسیون دهانشویه، مطالعات پیش فرمولاسیون و آزمایشات اولیه با هدف دستیابی به فرمولاسیون پایدار حاوی بالاترین میزان عصاره

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

(دهانشویه غلیظ) و طعم و حس مناسب انجام شد. در نهایت جهت تهیه 100 mL فرمولاسیون دهانشویه غلیظ، 2 گرم از پودر خشک عصاره اتانولی ترکیبی بدست آمده در مرحله قبل، حل گردید. اجزای مورد استفاده در فرمولاسیون در جدول شماره 1 ذکر شده است.

جدول شماره 1: اجزای مورد استفاده در فرمولاسیون دهانشویه تهیه شده

اجزای فرمولاسیون	علت استفاده
پودر عصاره خشک	ماده موثره
اتانول	کمک حلال
گلیسرین	کمک حلال
ساخارین	شیرین کننده
سوربیتول	شیرین کننده
منتول	خنک کننده
روغن کرچک هیدروژنه اتوکسیله	پایدار کننده
پودر اسانس لیمو	طعم دهنده
سیتریک اسید	تنظیم pH
سیترات سدیم	تنظیم pH
آب	حلال

به پودر خشک عصاره ترکیبی دو گیاه، مواد ذکر شده افزوده گردید و سپس برای به‌دست آوردن حداکثر یکنواختی و پایداری، مدت زمان کافی با استفاده از دستگاه سونیکاتور در دمای 50 °C سونیکه گشت. سوسپانسیون به‌دست آمده کاملا پایدار بوده و به رنگ سبز - قهوه‌ای تبدیل گردید.

تهیه غلظت های مختلف از عصاره‌ها و دهانشویه‌ها

الف - عصاره متانولی آویشن و سعد کوفی: ابتدا 320 mg از پودرهای خشک عصاره سعد کوفی و آویشن به صورت جداگانه توزین و هر کدام در 400 µL دی متیل سولفوکسید (DMSO) و 3/6 mL محیط کشت Brain heart infusion (BHI) حل شد (غلظت استوک معادل 80 mg/mL). سپس غلظت‌های 40 mg/mL، 20، 10، 5، 2/5، 1/25، 0/625 و 0/312 به روش رقیق‌سازی متوالی دو برابری تهیه گردید.

ب - محلول استاندارد کلرهگزیدین: 2 mL از دهانشویه 0/2 درصد کلرهگزیدین با 2 mL از محیط کشت (BHI) مخلوط و ورتکس شد.

ج - محلول دهانشویه: برای تهیه غلظت‌های مختلف از دهانشویه حاوی عصاره ترکیبی اتانولی سعد کوفی و آویشن، 4 mL از دهانشویه غلیظ به 4 mL از محیط کشت (BHI) اضافه شد. به این ترتیب غلظت 10 mg/mL از هر عصاره حاصل شد. سپس غلظت‌های 5 mg/mL، 2/5، 1/25، 0/625، 0/312، 0/156 و 0/078 به روش رقیق‌سازی متوالی دو برابری تهیه گردید.

تعیین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) و حداقل غلظت کشنده (MBC) عصاره‌های منفرد و دهانشویه

ابتدا از کشت یک شبه هر کدام از میکروب‌های *S. mutans*، *S. pyogenes* و *C. albicans* غلظت 10^8CFU/mL (معادل 0/5 مکفارلند) در نرمال سالین استریل تهیه شد. سپس برای تعیین MIC نمونه‌ها از پلیت‌های 96 خانه استفاده شد، به این صورت که 180 µL از هر کدام از غلظت‌های تهیه شده از هر عصاره و نیز مخلوط عصاره‌ها، به‌صورت جداگانه در داخل چاهک‌های پلیت 96 خانه اضافه شد. سپس به هر یک از چاهک‌ها، 20µL از سوسپانسیون میکروبی 10^6 CFU/mL اضافه شد. این کار برای هر میکروارگانیسم به‌صورت جداگانه انجام شد و برای هر غلظت سه مرتبه تکرار در نظر گرفته شد.

برای کنترل مثبت، 180 µL محیط کشت حاوی 5 درصد DMSO (جهت اطمینان از عدم تاثیر حلال مذکور بر رشد میکروارگانیسم‌ها) و 20 µL از سوسپانسیون میکروبی در نظر گرفته شد. به منظور استریل بودن محیط کشت (کنترل منفی) نیز از محیط کشت تنها استفاده شد. هم‌چنین جهت بررسی صحت نتایج، 180 µL از محلول استاندارد کلرهگزیدین که پیش‌تر تهیه شده بود در چاهک‌ها ریخته شد و 20 µL از سوسپانسیون میکروبی به آن افزوده شد. برای کلیه کنترل‌ها نیز سه مرتبه تکرار درنظر گرفته شد. سپس، پلیت‌ها به‌مدت 48 ساعت در دمای 37 °C انکوبه شدند.

بعد از گذشت مدت زمان لازم برای انکوباسیون، به هر یک از چاهک‌های پلیت‌ها، مقدار 20 µL از

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

نمک 2و3و5-تری فنیل تترازولیوم کلراید حل شده در آب (با غلظت 5 mg/mL) افزوده شد و مجددا پلیت‌ها به‌مدت 2 ساعت در انکوباتور 37°C قرار داده شدند. پس از گذشت این مدت، به‌منظور تعیین MIC تغییر رنگ چاهک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. MIC نخستین غلظتی است که در آن تغییر رنگی اتفاق نیفتاده است.

پس از تعیین MIC، از هر کدام از چاهک‌هایی که در آن تغییر رنگ اتفاق نیفتاده بود با استفاده از لوپ روی محیط کشت SCDA خوندار کشت داده شد و به مدت 48 ساعت در انکوباتور قرار گرفت. کم‌ترین غلظتی از ماده که باعث از بین رفتن و عدم رشد میکروب‌ها شده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

بررسی اثر فرمولاسیون دهانشویه علیه بیوفیلم S. mutans

بررسی توانایی فرمولاسیون دهانشویه در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم *S.mutans*: به این منظور 180 µL از دهانشویه تهیه شده با غلظت MIC $\frac{1}{2}$ در محیط کشت BHI غنی شده با 2 درصد سوکروز، همراه با 20 µL سوسپانسیون میکروبی با غلظت 10^6 CFU/mL از کشت تازه *S. mutans* به چاهک‌های پلیت 96 خانه اضافه گردید. در گروه کنترل نیز از محلول استاندارد دهانشویه کلرهگزیدین (تهیه شده در مرحله قبل) استفاده شد. 180 µL از محلول مذکور به همراه 20 µL سوسپانسیون میکروبی در چاهک‌ها ریخته شد. در چاهک‌های کنترل مثبت، 180 µL محیط کشت BHI غنی شده با سوکروز و 20 µL سوسپانسیون میکروبی افزوده گردید. برای اطمینان از استریل بودن محیط کشت BHI غنی شده با سوکروز، 200µL از آن در چاهک‌های اختصاص یافته ریخته شد (کنترل منفی). برای کلیه گروه‌ها سه تکرار (سه چاهک) در نظر گرفته شد. سپس پلیت در دمای 37°C به مدت 48 ساعت انکوبه گردید. پس از این مدت، محیط کشت هر چاهک حذف و پس از دو مرتبه شستشوی هر چاهک با 200 µL نرمال سالین استریل، 100 µL محلول 0/03 درصد کریستال ویوله به هر چاهک افزوده شد. پس از 15 دقیقه مجدداً هر چاهک دو مرتبه با نرمال سالین شستشو داده شد.

آنالیز کمی بیوفیلم با افزودن 200 µL اتانول 96 درجه به داخل هر چاهک و انکوباسیون در دمای اتاق به مدت 5 دقیقه صورت گرفت. به عبارت دیگر، پس از انجام این کار جذب کریستال ویوله موجود در محلول اتانول به عنوان معیاری از میزان بیوفیلم تشکیل شده، به کمک دستگاه ELISA reader در طول موج 590 nm خوانده شد. نتایج با کنترل کلرهگزیدین، کنترل منفی و کنترل مثبت مقایسه شد.

بررسی توانایی فرمولاسیون دهانشویه در از بین بردن بیوفیلم *S.mutans*: در چاهک‌های گروه‌های دهانشویه فرموله شده، کنترل کلرهگزیدین و کنترل مثبت، ابتدا 180 µL از محیط کشت BHI غنی شده با سوکروز ریخته و پس از آن 20 µL سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه *S. mutans* افزوده گردید. در چاهک‌های گروه کنترل منفی نیز تنها 200 µL از محیط کشت مذکور اضافه شد. سپس پلیت حاصل در دمای 37°C به مدت 48 ساعت انکوبه گردید. پس از این مدت محیط کشت چاهک‌ها تخلیه شد. به گروه‌های نمونه و کنترل کلرهگزیدین به‌ترتیب 200 µL از محیط کشت BHI غنی‌شده با سوکروز واجد غلظتی معادل MIC $\frac{1}{2}$ فرمولاسیون دهانشویه و 200 µL محلول استاندارد کلرهگزیدین اضافه شد. به گروه‌های کنترل منفی و محیط کشت نیز 200 µL محیط کشت BHI غنی شده با سوکروز اضافه شد. برای کلیه گروه‌ها سه تکرار (سه چاهک) در نظر گرفته شد. سپس پلیت مجددا به گرمخانه منتقل و پس از 24 ساعت مایع هر چاهک حذف شد. بعد از دو مرتبه شستشوی هر چاهک با 200 µL نرمال‌سالین استریل، 100 µL از محلول کریستال ویوله 0/03 درصد به هر چاهک افزوده شد. پس از مدت 15 دقیقه، چاهک‌ها مجددا دو مرتبه با نرمال سالین شستشو داده شدند. آنالیز کمی بیوفیلم با افزودن 200 µL اتانول 96 درجه به داخل هر چاهک و انکوباسیون در دمای

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

اتاق (به‌مدت 5 دقیقه) و در ادامه خواندن جذب شدت رنگ محلول حاصل در طول موج 590 nm (به‌عنوان معیاری از بیوفیلم باقی مانده) صورت گرفت. نتایج با کنترل کلرهگزیدین، کنترل منفی و کنترل مثبت مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصل در قسمت جلوگیری از تشکیل و نیز از بین بردن بیوفیلم توسط نرم‌افزار SPSS (نسخه 26) با استفاده از آزمون برابری میانگین‌های چند گروه مستقل (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، پس از آزمون Levene به جهت بررسی همگنی واریانس داده‌ها، بسته به همگنی یا غیرهمگنی واریانس‌ها به‌ترتیب از یکی از تست‌های Tukey یا Tamhane's T2، در سطح خطای 0/05 (P=0/05) استفاده شد.

یافته‌ها

عصاره‌های استخراج شده

بازده عصاره‌های به‌دست آمده از آویشن و سعد کوفی به ترتیب تقریباً 32 و 27 درصد بود. به لحاظ ظاهری، هر دو عصاره پس از لیوفیلیزه شدن، به شکل متخلخل بودند با این تفاوت که عصاره آویشن پودری خشک به رنگ سبز مایل به مشکی و عصاره سعد کوفی، پودری چسبناک به رنگ اخرایی بود. همچنین عصاره ترکیب دو گیاه نیز پودری با کمی چسبندگی و به رنگ تیره بود.

MIC و MBC

نتایج به‌دست آمده از MIC عصاره‌های آویشن و سعد کوفی و دهانشویه ترکیبی در جدول شماره 2 خلاصه شده است. نتایج مطالعه حاضر حاکی از اثر ضدمیکروب مناسب عصاره آویشن باغی روی *S. mutans* با MIC معادل 0/625 mg/mL و *S. pyogenes* با MIC معادل 0/156 mg/mL و اثر ضعیف آن بر روی *C. albicans* با MIC معادل 10mg/mL می‌باشد. ازطرف دیگر، در مورد عصاره سعد کوفی، هر چند که نتایج MIC به‌دست آمده روی باکتری *S. pyogenes* مناسب بود (0/078 mg/mL) اما در مورد سایر میکروب‌ها MIC مطلوبی مشاهده نشد (2/5 mg/mL روی *S. mutans* و 20 mg/mL روی *C. albicans*). اما در مقابل دهانشویه ترکیبی نتایج بهتری به‌دست داد.

مشابه همین روند در مورد MBC به‌دست آمده هم مشاهده شد (جدول شماره 3).

جدول شماره 2: نتایج MIC عصاره‌ها و دهانشویه فرموله شده روی میکروارگانیسم‌های منتخب

میکروارگانیسم	MIC عصاره آویشن	MIC عصاره سعد کوفی	MIC دهانشویه ترکیبی
S. mutans	0/625 mg/mL	2/5 mg/mL	0/625 mg/mL
C albicans	10 mg/mL	20 mg/mL	2/5 mg/mL
S. pyogenes	0/156 mg/mL	0/078 mg/mL	0/039 mg/mL

*MIC: Minimum Inhibitory Concentration

جدول شماره 3: نتایج MBC عصاره‌ها و دهانشویه فرموله شده روی میکروارگانیسم‌های منتخب

میکروارگانیسم	MIC عصاره آویشن	MIC عصاره سعد کوفی	MIC دهانشویه ترکیبی
S. mutans	1/25 mg/mL	5 mg/mL	1/25 mg/mL
C albicans	20 mg/mL	—	10 mg/mL
S. pyogenes	0/312 mg/mL	0/156 mg/mL	0/078 mg/mL

*MBC: Minimum Bactericidal Concentration

بررسی توانایی دهانشویه حاوی سعد کوفی و آویشن روی بیوفیلم S. mutans

جلوگیری از تشکیل بیوفیلم *S. mutans*: ابتدا همگنی جذب‌های خوانده شده در این آزمایش با تست Levene بررسی شد و ارزش P بر مبنای میانگین داده‌ها کم‌تر از 0/05 به‌دست آمد. با توجه به آن‌که، داده‌های حاصل همگن نبود در ادامه برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از تست Tamhane's T2 استفاده شد. نتایج به‌دست آمده در نمودار شماره 1 مشاهده می‌شود.

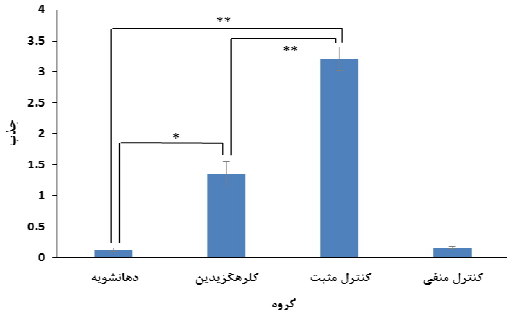
همان طورکه در نمودار شماره 1 مشاهده می‌شود میان دو گروه کنترل مثبت و کنترل منفی تفاوت معنادار وجود دارد که نشان از تشکیل بیوفیلم در گروه کنترل مثبت می‌باشد. در مقایسه بین دو گروه دهانشویه فرموله

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

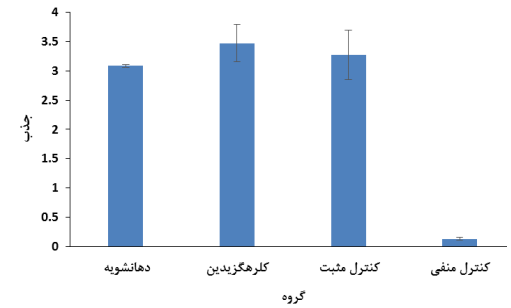
شده و کنترل مثبت، تفاوت معناداری به‌دست آمد (P<0/01). همچنین میان دو گروه کلرهگزیدین و کنترل مثبت نیز تفاوت معناداری وجود داشت(P<0/01). از سوی دیگر میان دو گروه فرمولاسیون دهانشویه گیاهی و کلرهگزیدین نیز تفاوت معناداری وجود داشت (P<0/05).

اثر از بین برندگی بیوفیلم *S. mutans*: به مانند قسمت قبل ارزش P در تست Levene کم‌تر از 0/05 به‌دست آمد و بنابراین برای مقایسه گروه‌ها از تست Tamehane's T2 استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده در نمودار شماره 2 قابل مشاهده است.

در این تست نیز تفاوت معنادار میان کنترل مثبت و منفی نشانه تشکیل بیوفیلم در کنترل مثبت می‌باشد. از سوی دیگر، میان هر یک از گروه‌های فرمولاسیون دهانشویه ترکیبی و کلرهگزیدین تفاوت معناداری با کنترل منفی مشاهده شد حال آن که میان این گروه‌ها و کنترل مثبت تفاوت معناداری وجود نداشت (P>0/05).



نمودار شماره 1: نمودار میانگین جذب کریستال ویوله در آزمایش جلوگیری از تشکیل بیوفیلم



نمودار شماره 2: نمودار میانگین جذب کریستال ویوله در آزمایش از بین بردن بیوفیلم

بحث

به‌طور کلی بیوفیلم‌ها زمانی که میکروارگانیسم‌ها گرد هم می‌آیند و به سطوح می‌چسبند، تشکیل می‌شوند(31). به‌صورت دقیق‌تر، آن‌ها به‌عنوان عامل نگهدارنده تجمعات میکروبی پیچیده روی سطوح جاندار و بیجان هستند. این تجمع میکروبی ممکن است از یک یا تعدادی میکروب یا میکروکلونی تشکیل شده باشد. سلول‌ها در ماتریکسی خارج سلولی قرار می‌گیرند و در آن‌جا با یکدیگر و با محیط، برهمکنش انجام می‌دهند. این اکوسیستم مینیاتوری محیط امنی برای اعضای این جامعه فراهم می‌آورد و آن‌ها را از دسترس مکانیسم‌های دفاعی و پاسخ‌های سیستم ایمنی میزبان، فاگوسیتوز و درمان‌های آنتی‌بیوتیکی دور نگه‌می‌دارد(32). بیوفیلم‌های میکروبی، که اغلب توسط ارگانیسم‌های مقاوم به عوامل ضد میکروبی تشکیل می‌شوند، مسئول 65 درصد از عفونت‌های نیازمند درمان در کشورهای توسعه یافته می‌باشند(33).

درصد بالایی از عفونت‌های انسانی ناشی از این حقیقت است که میکروارگانیسم‌های موجود در بیوفیلم به از بین رفتن توسط عوامل ضدمیکروبی مقاومند(33). مشخص شده است که باکتری‌های موجود در بیوفیلم، نسبت به سلول‌های پلانکتونیک اغلب تا 1000 برابر به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم ترند(34). علت اصلی التهاب لثه و بیماری پریودنتال نیز پلاک است، یک بیوفیلم باکتریایی که اگر به‌طور دائمی و صحیح حذف نشود، مخزنی برای باکتری‌ها ایجاد می‌کند(35). پاتوفیزیولوژی بیماری‌های پریودنتال شامل مراحل مختلف از اتصال میکروارگانیسم‌ها و تشکیل پلاک‌های دندانی تا فعال شدن سیستم ایمنی و تشکیل التهاب و آماس لثه و نهایتا درد و خونریزی است. ژنژیویت که شایع‌ترین فرم بیماری پریودنتال می‌باشد، عموما به‌صورت ناگهانی با دوره‌ای کوتاه، بدون درد و یا توام با درد می‌تواند باشد. این بیماری می‌تواند به‌صورت مزمن یا حاد ظهور پیدا کند. ژنژیویت مزمن شایع‌ترین فرم ژنژیویت

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

است که عموما بسیار آهسته، تدریجی به‌مدت طولانی و بدون درد است(3).

انتخاب عصاره‌ها و اندازه‌گیری MIC و MBC

در پژوهش de Oliveira و همکاران که برای بررسی اثر ضدمیکروب و ضدالتهاب عصاره آویشن باغی انجام شده بود، نشان داده شد که این عصاره در غلظت‌های 50 mg/mL برای *C. albicans* و در غلظت 1 mg/mL برای *S. mutans* واجد MIC می‌باشد. هم‌چنین این عصاره دارای اثر ضدالتهابی و فاقد سمیت سلولی و سمیت ژنی بود(36).

از سوی دیگر در مطالعه Yu و همکاران، اثرات عصاره اتانولی سعدکوفی بر رشد، تولید اسید، چسبندگی و سنتز گلوکان نامحلول درآب *S. mutans* بررسی شد. نتایج نشان داد که رشد باکتری و تولید اسید کاهش یافت به نحوی که میزان MIC برای این عصاره 4 mg/mL به ثبت رسید. در این مطالعه نشان داده شد عصاره اتانولی سعد کوفی در غلظت 0/5 mg/mL به میزان 50 درصد و در غلظت 4 mg/mL به‌طور کامل مانع از اتصال *S. mutans* به دانه‌های هیدروکسی آپاتیت آغشته به بزاق می‌شوند. هم‌چنین نشان داده شد که این عصاره در غلظت 2mg/mL فعالیت آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز (GTFase)- عامل سنتز گلوکان نامحلول در آب از ساکاروز- را مهار می‌کند(37).

در مطالعه دیگری که توسط خجسته و همکاران برای مقایسه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی، آبی و اسانس سعد کوفی بر پاتوژن‌های دهان (*S.mutans*، *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* و *C. albicans*) انجام شد مشخص گردید که بیش‌ترین اثر به ترتیب مربوط به عصاره اتانولی، اسانس و عصاره آبی می‌باشد. هم‌چنین میزان سیپرول موجود در عصاره‌ها و اسانس اندازه‌گیری شد که به‌ترتیب بیش‌ترین میزان سیپرول در عصاره اتانولی، اسانس و عصاره آبی مشاهده شد، از این رو سیپرول می‌تواند به عنوان مبنایی برای استانداردسازی عصاره سعد کوفی و یکی از مواد جهت استانداردسازی فرمولاسیون دهانشویه ترکیبی بکار رود(38). هم‌چنین Sharma و همکاران نیز در پژوهش دیگری که در آن به بررسی اثر ضدمیکروبی غلظت‌های برابر از عصاره‌های مختلف سعد کوفی پرداخته بودند، برتری عصاره اتانولی در برابر سایر عصاره‌ها را نشان دادند(39). نتایج این پژوهش‌ها ما را به ساخت دهانشویه ترکیبی با استفاده از عصاره این دو گیاه ترغیب نمود.

از بررسی نتایج MIC فرمولاسیون دهانشویه و مقایسه آن با عصاره‌های منفرد مشخص می‌شود که MIC دهانشویه فرموله شده برای *S. mutans* برابر با عصاره منفرد آویشن و کم‌تر از عصاره منفرد سعد کوفی شده است. در مورد *C. albicans* هم افزایی مشاهده می‌شود به گونه‌ای که میزان حداقل غلظت مهاری فرمولاسیون دهانشویه در برابر *C. albicans* از MIC عصاره منفرد دو گیاه پایین‌تر بوده است. هم‌چنین از بررسی و مقایسه نتایج MIC فرمولاسیون دهانشویه و عصاره‌های منفرد علیه *S. pyogenes* نیز می‌توان هم افزایی میان اجزای مختلف فرمولاسیون را برداشت کرد (جدول شماره 2).

از طرف دیگر، در مورد عصاره آویشن، MBC در مورد تمامی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی معادل MIC × 2 به‌دست آمد. این نتیجه در مورد عصاره سعد کوفی بر روی گونه‌های استرپتوکوکی هم مشاهده شد. اما در برابر *C. albicans* مقدار MBC در غلظت‌های مورد مطالعه به‌دست نیامد(MBC > 40 mg/mL). در مورد فرمولاسیون دهانشویه پس از بررسی مقدار MBC آن علیه گونه‌های استرپتوکوکی مشخص می‌شود که مقدار MBC برای فرمولاسیون دهانشویه MIC × 2 آن می‌باشد. هم‌چنین همانند MIC، مقادیر MBC در مقایسه با عصاره‌های منفرد نسبت به تمامی میکروب‌ها به میزان قابل توجهی کاهش یافته است (جدول شماره 3).

اثر دهانشویه فرموله شده بر تشکیل/تخریب بیوفیلم S. mutans

با توجه به آن که پاتوژن‌های پریودنتال از رهگذر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

تشکیل بیوفیلم، پلاک‌های دندانی را ایجاد می‌کنند و در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های پریودنتال نقش دارند، در این مطالعه به بررسی اثرات جلوگیری و از بین بردن بیوفیلم‌های ناشی از *S. mutans* به‌عنوان عامل عمده تشکیل پلاک‌های دندانی پرداخته شد.

مهار تشکیل بیوفیلم *S. mutans* : همان‌طورکه پیش‌تر اشاره شد در مقایسه بین گروه‌های دهانشویه فرموله شده و کلرهگزیدین با کنترل مثبت، تفاوت معناداری گزارش شد که حاکی از توان این دو دهانشویه در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم *S. mutans* می‌باشد. اما آن‌چه مهم می‌باشد تفاوت معنادار میان فرمولاسیون دهانشویه گیاهی و کلرهگزیدین در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم *S. mutans*، بود ($P<0/05$)، که در این مورد دهانشویه گیاهی نسبت به کلرهگزیدین به مراتب بهتر عمل کرده است. جالب این که بین دهانشویه فرموله شده و کنترل منفی تفاوت معناداری وجود نداشت که نشان می‌دهد فرمولاسیون دهانشویه گیاهی به‌طور کامل مانع از تشکیل بیوفیلم شده است. پیش‌تر در مطالعه‌ای که توسط Hammad و همکاران انجام شد اثر عصاره آبی آویشن بر رشد *S. mutans* و چسبندگی این باکتری به سلول‌های اپی تلیال دهانی بررسی شد. طی این مطالعه مشخص شد که بهترین اثر علیه *S. mutans* با عصاره 20 درصد آویشن و طی یک دوره تیمار 48 ساعته اتفاق می‌افتد. هم‌چنین میزان چسبندگی این باکتری نیز پس از 1 دقیقه شستشوی سلول‌های اپی تلیال دهان با عصاره 20 درصد آویشن، به میزان قابل توجهی در مقایسه با کلرهگزیدین کاهش می‌یابد(40).

تخریب بیوفیلم *S. mutans*: همان‌طورکه پیش‌تر نیز اشاره شد میان هر یک از گروه‌های فرمولاسیون دهانشویه ترکیبی و کلرهگزیدین تفاوت معناداری با کنترل مثبت وجود نداشت ($P>0/05$). این نتایج نشان دهنده آن است که ساختار بیوفیلم، پس از تشکیل، تخریب نشده، اما با توجه به نتایج مطالعه de Oliveira و همکاران که حاکی از کاهش معنادار تعداد میکروب‌های موجود در بیوفیلم‌های یک یا چندمیکروبی *S.mutans* و *C. albicans* در حضور عصاره آویشن است(36)، می‌توان پیش‌بینی نمود که این اثر برای فرمولاسیون دهانشویه تهیه شده نیز تحقق یافته باشد و تنها ساختار پلی‌ساکاریدی بیوفیلم‌های *S. mutans* برجا مانده باشد که با جذب رنگ کریستال ویوله این تصور را ایجاد می‌کند که تفاوتی میان این گروه با گروه کنترل مثبت وجود ندارد.

به‌طور کلی، با توجه به شیوع بالای بیماری‌های پریودنتال در جامعه، لزوم درمان این بیماری در مراحل اولیه، لزوم جلوگیری از پیشروی بیماری به مراحل خطرناک‌تر و عوارض ناشی از درمان رایج کلرهگزیدین، نیاز به درمان‌های جدید وجود دارد. در این مطالعه نشان داده شد که دهانشویه گیاهی حاوی عصاره سعد کوفی و آویشن، دارای اثرات ضدمیکروب علیه میکروارگانیسم‌های *S. mutans*، *C. albicans* و *S. pyogenes* به‌عنوان برخی از پاتوژن‌های موثر در اولین مرحله از پاتوفیزیولوژی بیماری‌های پریودنتال یعنی تشکیل پلاک می‌باشد. هم‌چنین دهانشویه مذکور، توان قابل توجهی در جلوگیری از تشکیل بیوفیلم ناشی از *S. mutans* دارد به‌طوری‌که به‌طور کامل از تشکیل بیوفیلم‌های ناشی از *S. mutans*، شایع‌ترین عامل تشکیل پلاک دندانی، جلوگیری نمود. در عین حال مهم‌ترین محدودیت این پژوهش عدم بررسی آن بر فلور طبیعی و میکروب‌های مفید دهانی نظیر *Streptococcus sanguinis* و *Streptococcus gordonii* است چرا که در صورت از بین رفتن این میکروب‌ها، عفونت‌های فرصت طلب بروز خواهند کرد. همچنین از آن جا که عصاره ها حاوی ترکیبات مختلفی می باشند، باید به منظور یکنواختی در ساخت، ترکیبات مؤثره اصلی موجود در دهانشویه و مقادیر هرکدام تعیین گردد. در نهایت جهت تجاری سازی محصول می‌بایست اثرات ضد پلاک آن روی افراد داوطلب نیز بررسی گردد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

سپاسگزاری

این پژوهش برگرفته از پایان نامه دکتری حرفه‌ای داروسازی آقای علی پزشکیان است. بدینوسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در قالب طرح تحقیقاتی با کد اخلاق مصوب شماره IR.MUMS.REC.1398.002 تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Nizami MZI, Yin IX, Lung CYK, Niu JY, Mei ML, Chu CH. In Vitro Studies of Graphene for Management of Dental Caries and Periodontal Disease: A Concise Review. Pharmaceutics 2022; 14(10): 1997.
2. Williams RC. Periodontal disease. New Engl J Med 1990; 322(6): 373-382.
3. Hoover DR, Lefkowitz W. Fluctuation in marginal gingivitis. J Periodontol 1965; 36(4): 310-314.
4. Shiva A, Sobouti F. Comparative Study of Histopathological Reports and Clinical Diagnosis of Oral Biopsies. J Mazandaran Uni Med Sci 2017; 26(144): 57-64 (Persian).
5. Sabiha Shaheen S, ReddY P, Reddy S, Doshi D, Kulkarni S, Kumar M,et al. Antimicrobial efficacy of ten commercially available herbal dentifrices against specific oral microflora-in vitro study. J Clin Diagn Res 2015; 9(4): 42-46.
6. Gholami L, Shahabi S, Jazaeri M, Hadilou M, Fekrazad R. Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry. Front Microbiol 2023; 13: 1020995.
7. Morrison AG, Sarkar S, Umar S, Lee STM, Thomas SM. The Contribution of the Human Oral Microbiome to Oral Disease: A Review. Microorganisms 2023; 11(2): 318.
8. Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed. Missouri: Elsevier Inc; 2011.
9. Abullais SS, Patel SI, Asiri EA, Jathmi AAA, Alkhayri AH, Mousa YM, et al. Comparative Evaluation of 3 Commercial Mouthwash Formulations on Clinical Parameters of Chronic Gingivitis. Med Sci Monit 2022; 28: e937111.
10. Ferrés-Amat E, Al Madhoun A, Ferrés-Amat E, Carrió N, Barajas M, Al-Madhoun AS, et al. Comparison of 0.12% Chlorhexidine and a New Bone Bioactive Liquid, BBL, in Mouthwash for Oral Wound Healing: A Randomized, Double Blind Clinical Human Trial. J Person Med 2022; 12(10): 1-10.
11. Garapati B, Ramamurthy J, Rajeshkumar S. Formulation, Development and Evaluation of Anti-Inflammatory and Anti-Microbial Effects of a Novel Polyherbal Mouthwash-an In Vitro Study. J Popul Ther Clin Pharmacol 2022; 29(3): e94-e103.
12. dos Santos Cardoso VF, Roppa RHA, Antunes C, Moraes ANS, Santi L, Konrath EL. Efficacy of medicinal plant extracts as dental and periodontal antibiofilm agents: A systematic review of randomized clinical trials. J Ethnopharmacol 202; 281: 114541.
13. González-Corrales D, Monge-Quirós T, Chavarría-Rojas M, Rojas-Campos N, Cruz-Sibaja W, Madrigal-Redondo G. Formulation and antimicrobial activity evaluation of a 0.2% chlorhexidine canine mouthwash with essential oils. Vitae 2021; 28(1): 1-14.
14. Ibn Sina H. Al-Qanun fi'l-Tibb (Canon of Medicine). Rashad MA, Mahmoud MT, (eds.). Vol. 2. Cairo Egypt University of Sciences and Technology; 2013. p. 406, 419.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

15. Ernst E, März R, Sieder C. A controlled multi-centre study of herbal versus synthetic secretolytic drugs for acute bronchitis. Phytomedicine 1997; 4(4): 287-293.
16. Haraguchi H, Saito T, Ishikawa H, Date H, Kataoka S, Tamura Y, et al. Antiperoxidative components in Thymus vulgaris. Planta Med 1996; 62(03): 217-221.
17. Mossa JS, Al-yahya MA, Hassan MM. Physicochemical characteristics and spectroscopy of the volatile oil of Thymus vulgaris growing in Saudi Arabia. Int J Crude Drug Res 1987; 25(1): 26-34.
18. Van Den Broucke C, Lemli J. Pharmacological and chemical investigation of thyme liquid extracts. Planta Med 1981; 41(02): 129-135.
19. Van Den Broucke C, Lemli J. Spasmolytic activity of the flavonoids from Thymus vulgaris. Pharm Weekbl Sci 1983; 5(1): 9-14.
20. Van Den Broucke CO, Dommisse RA, Esmans EL, Lemli JA. Three methylated flavones from Thymus vulgaris. Phytochemistry 1982; 21(10): 2581-2583.
21. Badgujar SB, Bandivdekar AH. Evaluation of a lactogenic activity of an aqueous extract of Cyperus rotundus Linn. J Ethnopharmacol 2015; 163: 39-42.
22. Bown D. Encyclopaedia of Herbs and their Uses. London: Dorling Kindersley Publishing; 2002. p. 390.
23. Chandratre R, Chandarana S, Mengi S. Lipid lowering activity of alcoholic extract of Cyperus rotundus. Int J Res Pharm Chem 2011; 1(4): 1042-1045.
24. Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian medicinal plants. New Delhi: Publications & Information Directorate; 1956.
25. Emelugo B, Umerie S, Okonkwo I, Achufusi J. Evaluation of the tubers and oil of Cyperus rotundus Linn (CYPERACEAE). Pak J Nutr 2011; 10(2): 147-150.
26. Ghannadi A, Rabbani M, Ghaemmaghami L, Malekian N. Phytochemical screening and essential oil analysis of one of the Persian sedges; Cyperus rotundus L. Int J Pharm Sci Res 2012; 3(2): 424-427.
27. Sharma SK, Singh AP. Morphological, microscopical and physico-chemical investigations on the rhizomes of Cyperus rotundus Linn. Res J Pharm Biol Chem Sci 2011; 2(3): 798-806.
28. Sivapalan SR, Jeyadevan P. Physico-chemical and phyto-chemical study of rhizome of Cyperus rotundus Linn. Int J Pharmacol Pharm Technol 2012; 1(2): 42-46.
29. Talukdar AD, Tarafdar RG, Choudhury MD, Nath D, Choudhury S. A review on pteridophyte antioxidants and their potential role in discovery of new drugs. Assam Uni J Sci Technol 2011; 7(1): 151-155.
30. Abbas HA, Alsaade KAS, AlMAshhdan HAY, editors .Study the effect of cyperus rotundus extracted as mouthwash on the corrosion of dental amalgam. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering; 2019: 571(1): 012074.
31. Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance. ASAIO J 2000; 46(6): S47-S52.
32. Sawhney R, Berry V. Bacterial biofilm formation, pathogenicity, diagnostics and control: An overview. Ind J Med Sci 2009; 63(7): 313-321.
33. Prasanna S, Doble M. Medical biofilms–Its formation and prevention using organic molecules. J Indian I Sci 2008; 88(1): 27-35.
34. Zeng Z, Qian L, Cao L, Tan H, Huang Y, Xue X, et al. Virtual screening for novel quorum sensing inhibitors to eradicate biofilm

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]

formation of Pseudomonas aeruginosa. Appl Microbiol Biot 2008; 79(1): 119-126.

35. Schönknecht K, Surdacka A, Rudenko L. Effectiveness of Composed Herbal Extract in the Treatment of Gingivitis and Oral and Pharyngeal Mucosa–Review of Studies. Wiad Lek 2021; 74(7): 1737-1749.
36. de Oliveira JR, de Jesus Viegas D, Martins APR, Carvalho CAT, Soares CP, Camargo SEA, et al. Thymus vulgaris L. extract has antimicrobial and anti-inflammatory effects in the absence of cytotoxicity and genotoxicity. Arch Oral Biol 2017; 82: 271-279.
37. Yu H-H, Lee D-H, Seo S-J, You Y-O. Anticariogenic properties of the extract of Cyperus rotundus. Am J of Chinese Med 2007; 35(03): 497-505.
38. Khojaste M, Yazdanian M, Tahmasebi E, Shokri M, Houshmand B, Shahbazi R. Cell toxicity and inhibitory effects of Cyperus rotundus extract on Streptococcus mutans, Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Candida albicans. Eur J Transl Myol 2018; 28(4): 362-369.
39. Sharma SK, Singh AP. Antimicrobial investigations on rhizomes of Cyperus rotundus Linn. Der Pharm Lett 2011; 3(3): 427-431.
40. Hammad M, Sallal AK, Darmani H. Inhibition of Streptococcus mutans adhesion to buccal epithelial cells by an aqueous extract of Thymus vulgaris. Int J Dent Hyg 2007; 5(4): 232-235.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-13]