

无患子纯化皂苷冲洗液对根管玷污层清除效果及牙本质显微硬度的影响

对照组：0.9%的生理盐水；5mg/ml 皂苷；10mg/ml 皂苷；15mg/ml 皂苷；20mg/ml 皂苷；17%EDTA
(scanning electron microscopy, SEM) 对照组
对照组
。 (3) 15mg/ml 无患子皂苷在根尖 1/3 去除玷污层效果明显优于 17%EDTA，

根管治疗；

[Abstract] Objective To investigate the effects of different concentrations of Sapindus saponin irrigating solutions on the removal of root canal smear layer and dentin microhardness. **Methods** Ninety extracted single-rooted premolars were collected and instrumented using ProTaper rotary nickel-titanium files. Divided randomly into 6 groups according to different final irrigation protocols: **Control group: 0.9% normal saline**; Group A: 5 mg/mL saponin solution; Group B: 10 mg/mL saponin solution; Group C: 15 mg/mL saponin solution; Group D: 20 mg/mL saponin solution; Group E: 17% EDTA. Scanning electron microscopy (SEM) was used to observe the removal effect of the smear layer and the microhardness of the dentin before and after irrigation was measured by Vickers microhardness tester. **Results** (1) Smear layer removal in the coronal and middle thirds: **Control group** had higher smear layer scores than the other groups ($P<0.05$), and Group E had lower scores than Groups A and B ($P<0.05$). (2) Smear layer removal in the apical third: **Control group** had higher smear layer scores than the other groups ($P<0.05$); Group E had lower scores than Group A ($P<0.05$) but higher scores than Groups C and D ($P<0.05$), while no statistically significant difference was observed between Groups C and D ($P>0.05$). (3) The magnitude of microhardness reduction was greater in Group E than in the other groups ($P<0.05$), whereas no statistically significant differences were observed among the remaining groups ($P>0.05$). **Conclusion** The 15mg/mL Sapindus saponin irrigating solution demonstrates significantly superior smear layer removal in the apical third compared with 17% EDTA, with no significant effect on dentin microhardness, suggesting its potential as a final root canal irrigant. **[Key words]** sapindus mukorossi; saponin; **root canal therapy**; root canal irrigation; smear layer; microhardness

根管治疗术是通过机械和化学预备等措施清除根管系统内的感染，治疗牙髓病和根尖周病最有效、最常用的方法。临床上常联合使用次氯酸钠 (sodium hypochlorite, NaClO) 和 17% 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 来清除根管机械预备过程中产生的牙本质碎屑和玷污层。近年来天然植物提取物因具有容易获得、毒性小和成本低廉、具有抗菌性能等特点，而作为具有潜力的候选根管冲洗剂受到关注。无患子 (sapindus mukorossi, SM) 是具有良好螯合作用的天然提取物，其果实外壳主要成分是皂苷，具有良好表面活性剂性能及抗菌性能而有望用

通讯作者：卢志山，电子邮箱：dentlzs@163.com

于根管冲洗。本研究探讨无患子纯化皂苷冲洗液对根管玷污层清除效果及牙本质显微硬度的影响，以期在无患子皂苷冲洗液用于根管冲洗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

无患子果（北京同仁堂）；无水乙醇（天津市富宇精细化工有限公司）；ProTaper 机用镍钛锉（美国 Dentsply 公司）；X-Smart 机扩马达（美国 Dentsply 公司）；新型密封式粉碎机（青岛聚创环保集团有限公司）；扫描电子显微镜（德国 Carl Zeiss 公司）；HV-1000A 硬度计（上海精密仪器仪表有限公司）。

1.2 无患子皂苷纯化及溶液的配制

无患子果皮经干燥粉碎后于 80℃ 下加热回流提取 3.5h，浓缩得粗提物。采用正丁醇萃取法初步分离皂苷，随后通过 D101 型大孔树脂柱层析进行精制，50%乙醇解吸，收集洗脱液并真空干燥（70℃）至恒重，获得皂苷精粉末。采用傅里叶变换红外光谱进行定性鉴定，并通过紫外-可见分光光度法（540nm）进行纯度定量。以齐墩果酸为标准品建立标准曲线，最终获得的无患子皂苷精粉末纯度约为 89.25%。使用电子天平分别精确称取 0.50g、1.00g、1.50g、2.00g 无患子皂苷精粉末，加入 100ml 容量瓶中，去离子水加满定容至刻度线，形成浓度分别为 5mg/ml、10mg/ml、15mg/ml、20mg/ml 的无患子皂苷冲洗液。

1.3 实验方法

1.3.1 样本的收集及纳入标准

2023 年 6 月-12 月收集山东医药大学附属烟台市口腔医院因正畸需要而新鲜拔除的 90 颗单根前磨牙（该人体标本符合烟台市口腔医院科研伦理委员会标准，伦理审批号：KYLL-2022-121，所有患者均签署知情同意书，年龄范围为 14-28 岁，其中男性 42 例，女性 48 例。将离体牙样本储存于浓度为 0.9% 的生理盐水中。

纳入标准：下颌单根前磨牙、根管弯曲度小于 10°、根尖孔发育成熟、无牙根内外吸收、无根管内钙化、既往未接受过牙髓相关治疗。排除标准：牙根未发育完全、牙齿发育缺陷、患者不同意者。

1.3.2 根管预备

高速涡轮手机去除离体牙牙冠，制得约 14mm 统一牙根标本。开髓拔除牙髓，10 号 K 锉疏通根管，记录标准根管工作长度。采用机用 ProTaper 镍钛锉以冠向下法对根管逐步成形预备，所有样本最终均扩大至 F3 型号。根管预备过程中，每更换一次器械，均使用 2.5%NaClO 溶液 2ml 冲洗根管 1min。

1.3.3 样本的分组与处理

将所有预备好的样本随机分为 6 组，每组 15 个样本。对照组为 0.9% 的生理盐水组，A 组为 5mg/ml 皂苷冲洗液组，B 组为 10mg/ml 皂苷冲洗液组，C 组为 15mg/ml 皂苷组，D 组为 20mg/ml 皂苷组，E 组为 17%EDTA 组，使用 5ml 上述冲洗液进行根管终末冲洗，冲洗时间为 1min。

1.4 样本评价

1.4.1 根管内牙本质玷污层评价

从每组随机抽取 10 个样本，使用 5ml 相对应实验溶液缓慢冲洗根管 1min，采用金刚砂车针于牙根的近中面和远中面制备一条纵向凹槽，将牙挺置于纵沟内将牙根劈开两半后浸泡于 2.5%戊二醛溶液中进行 24 小时固定，使用梯度浓度乙醇依次逐级脱水，样本完全干燥后进行喷金处理。在 SEM 下以 1000 倍放大倍数观察各样本的根尖段、根中段及根上段根管壁表面玷污层的清除情况，评估牙本质小管开放状态。由三名经过评分体系训练的实验人员，采用双盲法对全部扫描电镜图片按照 Peters 提出的根管玷污层评分标准逐一评分，取每张图像三次评分均值作为最终分值。

1.4.2 显微硬度测试

将其余样本牙根纵向分成两半后包埋于丙烯酸树脂中，依次使用 800#、1500#、2000# 金相砂纸打磨去除表面划痕。在根上、根中、根尖 1/3 区距离根管壁 500μm 处各取 3 个点，施加载荷 300g，维持 15s 进行维氏硬度测试，记录初始显微硬度平均数值（SMH1）。放入 20mL 的 A、B、C、D、E、对照组中浸泡 5min，分别用蒸馏水彻底冲洗 2min，防止牙本质表面连续脱矿。再次测试浸泡后显微硬度值（SMH2），计算记录显微硬度差值（ΔSMH）。

1.5 统计学分析

采用 SPSS27.0 统计软件处理数据，对玷污层评分数据采用 Kruskal-Wallis 和 Mann-Whitney 统计方法进行非参数比较。对显微硬度差值采用配对 t 检验对组内数据进行比较，组间比较采用单因素方差分析。以 P<0.05 为差异有显著性意义，检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 扫描电镜结果

各组根管冲洗液冲洗根管后根管壁扫描电镜（ $\times 1000$ ）图片分别见图 1-图 6，各组根管壁玷污层 *Peters* 评分比较见表 1。6 组组内比较，除 E 组外其他各组根上 1/3 评分均低于根尖 1/3，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。根上 1/3 和根中 1/3，**对照组**玷污层评分明显高于其余 5 组（ $P<0.05$ ），E 组玷污层评分明显低于 A、B 组（ $P<0.05$ ）。根尖 1/3，**对照组**玷污层评分明显高于其余 5 组（ $P<0.05$ ），E 组玷污层评分明显低于 A 组（ $P<0.05$ ），明显高于 C、D 组（ $P<0.05$ ）。

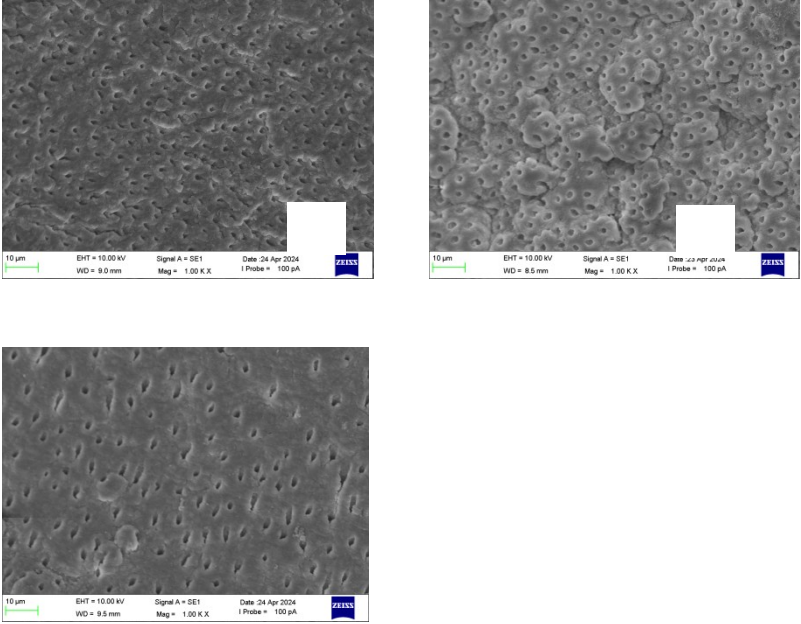


图 1 5mg/ml 皂苷冲洗液组根管冲洗后根管壁 SEM 图片（ $\times 1000$ ）
A. 根上 1/3; B. 根中 1/3; C. 根尖 1/3

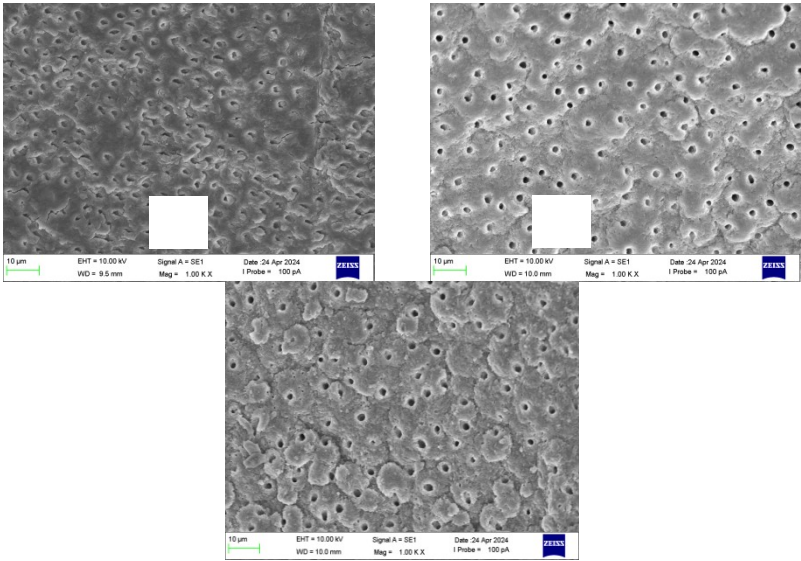
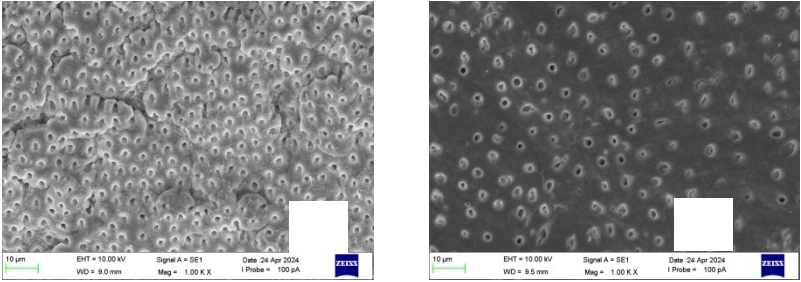


图 2 10mg/ml 皂苷冲洗液组根管冲洗后根管壁 SEM 图片（ $\times 1000$ ）
A. 根上 1/3; B. 根中 1/3; C. 根尖 1/3



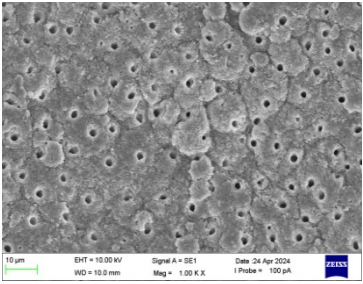


图 3 15mg/ml 皂苷冲洗液组根管冲洗后根管壁 SEM 图片 (×1000)

A. 根上 1/3;B.根中 1/3;C.根尖 1/3

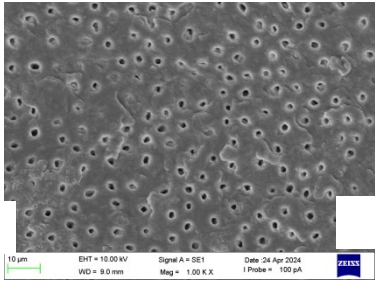
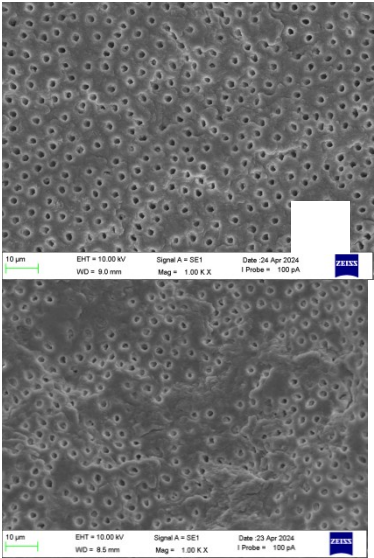


图 4 20mg/ml 皂苷冲洗液组根管冲洗后根管壁 SEM 图片 (×1000)

A. 根上 1/3;B.根中 1/3;C.根尖 1/3

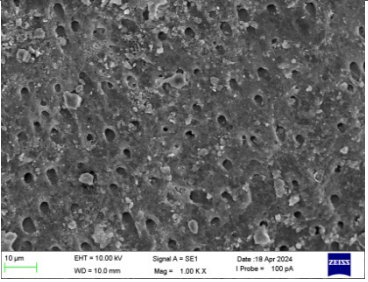
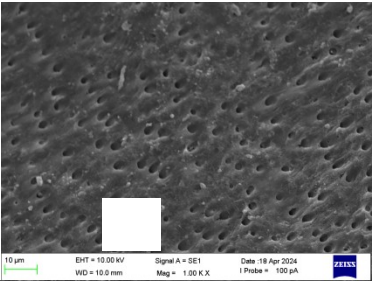
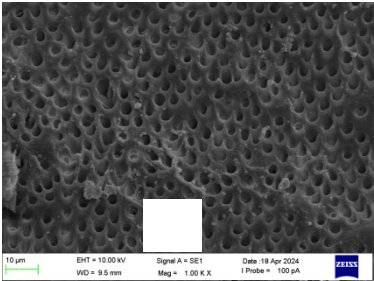


图 5 17%EDTA 组根管冲洗后根管壁 SEM 图片 (×1000)

A. 根上 1/3;B.根中 1/3;C.根尖 1/3

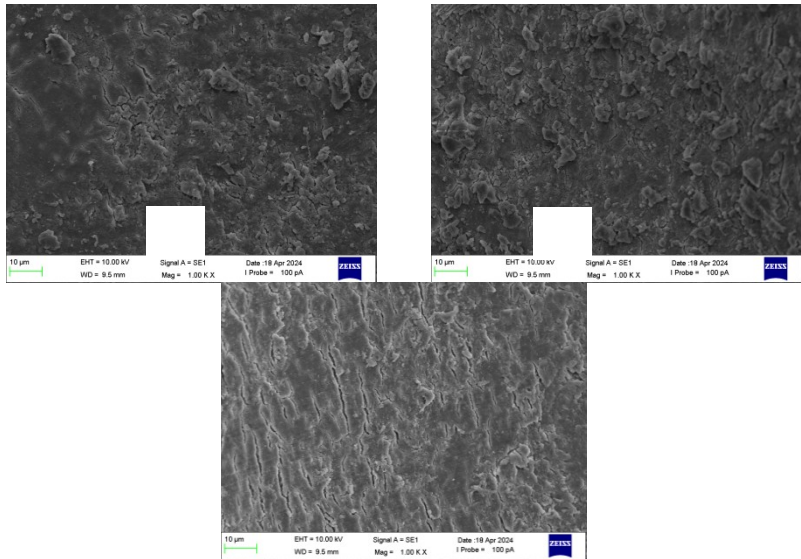


图 6 0.9%的生理盐水组根管冲洗后根管壁SEM 图片 (×1000)
A.根上 1/3;B.根中 1/3;C.根尖 1/3

表 1 各组样本根管玷污层评分 (±s, n=10)

部位	对照组	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组
根上 1/3	4.55±0.21*	2.39±0.53*#△	2.16±0.28*#△	1.76±0.19#△	1.67±0.16#△	1.62±0.55#△
根中 1/3	4.50±0.43*	2.72±0.06*#	2.45±0.54*#	1.84±0.11#	1.78±0.12#	1.73±0.29#
根尖 1/3	4.81±0.17*	2.93±0.72*#	2.35±0.15#	1.97±0.05*#	1.86±0.33*#	2.69±0.75#

注：与 E 组比较，* $P<0.05$ ；与对照组比较，# $P<0.05$ ；与根尖 1/3 比较，△ $P<0.05$

2.2 显微硬度测试结果

各组显微硬度测试结果见表 2。各组组间单因素方差分析显示△SMH 总体差异显著 ($P<0.05$)，A、B、C、D 组间两两相比，均无显著性差异 ($P>0.05$)，A、B、C、D 组分别与对照组两两相比，均有显著性差异 ($P<0.05$)。组内配对 t 检验分析显示 A、B、C、D、对照组浸泡后显微硬度值 (SMH₂) 均较浸泡前显微硬度值 (SMH₁) 无显著下降 ($P>0.05$)，E 组有显著下降 ($P<0.05$)。

表 2 各组冲洗液浸泡前后 SMH 测量结果 (n=10, VHN, ±s)

对照组	10	64.33±5.13	61.14±6.32 ^a	3.19±0.59 ^a
A 组	10	64.51±2.23	60.13±6.25 ^a	4.38±0.54 ^a
B 组	10	61.31±12.91	60.32±6.02 ^a	0.99±0.26 ^a
C 组	10	69.37±4.31	66.21±5.25 ^a	3.16±1.13 ^a
D 组	10	68.83±5.62	66.24±4.79 ^a	2.59±0.59 ^a
E 组	10	70.72±10.13	54.65±5.22 ^b	16.07±3.75 ^b

注：与 E 组比较，^a $P<0.05$ ；与对照组比较，^b $P<0.05$ 。

3 讨论

根管治疗术的成功依赖于彻底清除感染根管系统中的微生物，通过根管清理、成形，借助各种冲洗剂和冲洗技术对根管冲洗消毒，最终三维严密根管充填从而达到“控制感染”的核心目标。然而，机械预备的过程中会产生大量的玷污层，如何有效清理根管壁玷污层是根管治疗术成功的关键步骤。临床上常联合使用次氯酸钠和 17%EDTA 进行根管冲洗等去除根管系统中的玷污层，然而 17%EDTA 能够与羟基磷灰石晶体中的钙离子发生螯合作用去除玷污层，从而引起牙本质理化特性的改变，降低牙本质的显微硬度，增强 NaClO 对牙本质超微结构和机械性能有害影响，增加了根管治疗后牙本质裂发生的可能。因此，寻找具有清除玷污层效果，又能避免影响牙本质机械性能的根管冲洗剂有助于提高根管治疗的成功率。

无患子又名木患子、肥皂树，为无患子科无患子属落叶乔木，其提取物在口腔领域有着广泛的应用。研究表明，无患子果皮提取物对变形链球菌和粪肠杆菌均有抑制作用，能够有效治疗龋病和牙髓炎，显著降低牙槽骨的丧失。有学者使用无患子果皮乙醇提取物进行根管冲洗，结果发现其具有一定去除玷污层能力，对

通常含约 30%-50%的多糖，以及蛋白质、单宁和黄酮等杂质，导致其表面活性不足，而且粗提物体系中的皂苷、单宁与多糖极易产生协同毒性，且所含杂质具有潜在的致敏和促炎等不良作用。本研究分离纯化的无患子皂苷成分单一且稳定，主要为三萜皂苷类化合物（占比达

80%-90%)，以齐墩果酸型为主。纯化无患子皂苷作为优质的天然非离子表面活性剂，保留完整的两亲结构，具备强表面活性，显著降低冲洗液的表面张力，并高效渗透至玷污层与牙本质壁的微间隙中，从而发挥更强大且稳定的冲洗与清洁作用。因此，本研究将无患子的主要表面活性成分纯化皂苷作为根管冲洗剂，进一步探讨其去除玷污层的效果以及对牙本质显微硬度的影响。

本研究使用 SEM 分析了不同浓度无患子皂苷冲洗液

结果表明在根尖 1/3 区域，15mg/ml 和 20mg/ml 无患子皂苷冲洗液在根尖 1/3 去除玷污层效果优于 17%EDTA。研究表明，17%EDTA 溶液表面张力较高，且分子量较大，低流量冲洗条件下不易渗透到根尖 1/3 牙本质小管中，难以形成有效流体剪切力，导致溶液滞留于冠部区域，无法有效抵达根尖区。无患子皂苷为天然非离子型表面活性剂，其两亲性分子结构可显著降低溶液表面张力，使得对牙本质小管的润湿性和渗透性增加。此外，17%EDTA 长时间作用会导致牙本质过度脱矿，导致钙离子流失，使原本被矿物晶体保护的 I 型胶原纤维网完全暴露，引起胶原结构塌陷断裂，而纯化皂苷性质温和，其弱脱矿特性仅移除表层玷污层，不破坏深层骨架，从而保留牙本质内胶原纤维网的完整性与天然交联结构。本研究结果还显示，C、D 两组之间无明显统计学差异

($P>0.05$)，即浓度大于 15mg/ml 后，随浓度增加无患子皂苷冲洗液去除玷污层效果提升并不显著。当无患子皂苷达到临界胶束浓度后，增加皂苷的浓度并不会继续增加水-牙本质界面的皂苷活性单分子层，而在液体内部凝聚成皂苷胶束，使溶液的表面张力趋于稳定，从而并不能进一步提升其去除玷污层的能力。

不同的牙齿具有不同的初始理化特性，因此直接比较不同浓度冲洗液进行根管冲洗后的牙本质显微硬度结果并不准确。本研究通过记录浸泡前后显微硬度差值，排除不同牙齿可能存在的差异，比较了初始牙本质显微硬度和终末冲洗浸泡后牙本质显微硬度的变化，从而更客观地评价无患子皂苷冲洗液的效果。SMH 检测结果显示，各组无患子皂苷牙根样本浸泡前、浸泡后显微硬度值 (Δ SMH) 与生理盐水组相比无显著性差异 ($P>0.05$)，

本实验探讨了单一无患子皂苷冲洗液的初步作用，结果表明 15mg/ml 无患子皂苷冲洗液在根尖 1/3 去除玷污层效果明显优于 17%EDTA，对牙本质显微硬度无明显影响，然而皂苷冲洗液与 NaClO 联合应用的化学相容性、协同去污能力、对牙本质理化特性的影响以及纯化皂苷的细胞毒性和抗菌性能评价仍有待于进一步研究，以为临床转化提供进一步的依据。

综上，本研究结果显示 15mg/ml 的无患子皂苷冲洗液表现出良好的去除玷污层能力，且在根尖 1/3 处去除玷污层的效果明显优于 17%EDTA，显示其作为根管冲洗剂具有替代化学根管冲洗剂的潜力。由于其生物相容性好，利于牙本质显微硬度等机械性能保存，是良好的天然植物提取物根管冲洗剂的潜在候选。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] ALEYANI AA.Evaluation of smear layer removal and antimicrobial efficacy of intracanal herbal irrigants [J]. J Pharm Bioallied Sci,2024,16(Suppl 4):S3139-S3141.
- [2] DARDA S, MADRIA K, JAMENIS R, et al. An in-vitro evaluation of effect of EDTAC on root dentin with respect to time[J]. J Int Oral Health, 2014, 6(2): 22-27.
- [3] MAYER B E, PETERS O A, BARBAKOW F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: A scanning electron microscopic study[J]. Int Endod J, 2002, 35(7): 582-589.
- [4] DAVE AG, MALLYA PL, BALLAL NV, et al. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid, maleic acid, and fumaric acid on postendodontic treatment root fracture toughness-An in vitro study[J]. J Conserv Dent Endod, 2023, 26(4): 453-457.
- [5] EREN M,DIKMEN B,VATANSEVER C,et al.Antimicrobial activity of Sapindus mukorossi and Saponaria officinalis extracts on Streptococcus mutans and enterococcus faecalis[J]. Ann Med Res, 2021, 28(3): 516.
- [6] LIN SK, WU YE, CHANG WJ, et al.The treatment efficiency and microbiota analysis of Sapindus mukorossiseed oil on the ligature-induced periodontitis rat model[J]. Int J Mol Sci,2022,23(15):8560.
- [7] TAHIR A,UR-REHMAN QAZI F,CHOUDHRY Z,et al.Influence of Sapindus mukorossi extract in comparison to 17% EDTA as final root canal irrigant on the sealer penetration and microleakage of dentinal tubules[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(7): 2724-2732.
- [8] SINGH R, SHARMA R, MAL G, et al. A comparative analysis of saponin-enriched fraction from Silene vulgaris (Moench) Garcke, Sapindus mukorossi (Gaertn) and Chlorophytum borivilianum (Santapau and Fernandes): An in vitro hemolytic and cytotoxicity evaluation[J]. Anim Biotechnol, 2022, 33(1): 193-199.
- [9] WEI MP, QIU JD, LI L, et al. Saponin fraction from Sapindus mukorossi Gaertn as a novel cosmetic additive: Extraction, biological evaluation, analysis of anti-acne mechanism and toxicity prediction[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 268: 113552.
- [10] GRZYWACZYK A, SMULEK W, OLEJNIK A, et al. Co-interaction of nitrofurantoin antibiotics and the saponin-rich extract on gram-negative bacteria and colon epithelial cells[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2023, 39(8): 221.
- [11] SOCHACKI M, VOGT O. Triterpenoid saponins from washnut (Sapindus mukorossi Gaertn.)-A source of natural surfactants and other active components[J]. Plants, 2022, 11(18): 2355.

[12]

FAROOQ A, RAHMAN QAZI F U, SIDDIQUI J, et al. Comparison of an experimental root canal irrigant (sapindus mukorossi) and ethylenediaminetetraacetic acid on microhardness of human dentin [J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2022, 34(4): 766-770.