



研究报告

Research Report

圣罗勒和刺罌粟叶的热水提取物在鸡模型中的免疫调节影响

Puneet Varshney, Sandeep Kumar Dash, Anjana Goel, Ashok Kumar Bhatia

Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Science and Animal Husbandry, DUVASU, Mathura - 281001, UP, India

✉ 通讯作者: sandeepkumar.dash@gmail.com; ✉ 作者

植物药与药理学杂志, 2013 年, 第 2 卷, 第 10 篇 doi: [10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010)

收稿日期: 2013 年 05 月 15 日

接受日期: 2013 年 05 月 23 日

发表日期: 2013 年 05 月 27 日

本文首次发表在《Medicinal Plant Research》(2013, Vol. 3, No. 8)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

Puneet 等, 2012, 圣罗勒和刺罌粟叶的热水提取物在鸡模型中的免疫调节影响, 植物药与药理学杂志(online) Vol.2 No.10 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010))

引用格式(英文):

Arvind et al., 2012, Modulatory Effects of Hot Aqueous Extract of Ocimum sanctum and Argemone mexicana Leaves in Chicken Model, Zhiwuyao Yu Yaolixue Zazhi (online) Vol.2 No.10 pp.1-5 (doi: [10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010](https://doi.org/10.5376/jpmpp.cn.2013.02.0010))

摘要 本研究的目的是研究圣罗勒和刺罌粟叶的提取物在鸡模型中的免疫调节影响。用 250 毫克/公斤口服剂量的圣罗勒和刺罌粟叶对无毒的鸡和实验鸡饲做对比试验。S.鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原的体液免疫应答通过定量免疫鸡血清抗体水平通过 ELISA 试验测定。在对照组比较中喂养的鸡在 OS 抗体滴度显著升高。抗体滴度在有操作系统的血清样品和喂养的鸡 (5 333.33±674.62)和(4 266.67±674.62), 而对照组为(3 733.33±533.33)。这项研究表明在这两种植物的提取物能增强抗体水平, 可以作为一种体液免疫刺激。细胞介导的免疫反应(CMI)是由微淋巴细胞计数检测(DLC)和 DNCB 森西敏过敏试验。DLC 透露增加淋巴细胞计数在圣罗勒喂养组和降低淋巴细胞计数是刺罌粟叶喂养组与对照组相比。DNCB 试验表明在 24 小时的间隔组控制内圣罗勒喂养组和刺罌粟叶喂养组分别为皮肤厚度减少 34.02%, 皮肤厚度增加 29.89%相比。本研究表明, 圣罗勒和刺罌粟叶的热水提取物对细胞抑制的影响具有刺激作用。

关键词 刺罌粟叶, 圣罗勒, 热水提取物, 体液免疫, 细胞免疫, CMI, DNCB

Immuno Modulatory Effects of Hot Aqueous Extract of Ocimum sanctum and Argemone mexicana Leaves in Chicken Model

Puneet Varshney, Sandeep Kumar Dash, Anjana Goel, Ashok Kumar Bhatia

Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Science and Animal Husbandry, DUVASU, Mathura - 281001, UP, India

✉ Corresponding author, sandeepkumar.dash@gmail.com; ✉ Authors

Abstract The present study was undertaken to study the immuno modulatory effects of leaves of Ocimum santum (OS) and Argemone mexicana (AM) plants in chicken model. 250 mg/kg body weight oral dose of OS and AM was found ideal and nontoxic in chickens and experimental chickens were fed this dose. Humoral immune response to S. enterica serovar Typhimurium 'O' antigen was measured by quantitating the serum antibody level of immunized chickens by ELISA test. There was a significant rise in antibody titre of OS and AM fed chickens in comparison to control group. The antibody titre in the serum samples of HAE of OS and AM fed chickens were (5333.33±674.62) and (4266.67±674.62) respectively, whereas in control group it was 3733.33±533.33. This study indicated that the extract of both plants enhanced the antibody level and acted as a humoral immuno stimulant. Cell mediated immune response (CMI) was assayed by differential lymphocyte count (DLC) and DNCB sensitized hypersensitivity test. DLC revealed increase in lymphocyte count in OS fed group and decrease in lymphocyte count in AM fed group as compared to control group. DNCB test demonstrated 29.89% increase in skin thickness in OS fed group and 34.02% decrease in skin thickness in AM fed group as compared to control group at 24 hour interval. Present study indicated the T cell suppressive impact of hot aqueous extract of AM and stimulator effect of OS.

Keywords Argemone mexicana, Ocimum sanctum, Hot aqueous extract; Humoral, CMI, DNCB

有几种疾病, 这是由于无论是体液或细胞介导的或这两种类型的反应的免疫抑制。往往在这种情况下, 化学药物不能恢复正常功能 NS。在这种情况下, 由药用植物或他们的产品的免疫系统的调制可能是一种可能的替代治疗方法。世界卫生组织(WHO)已开始给予强调发展和使用草药产品的世界人口的利益, 在观看化学药物的局限性和不良影响(李, 2004)。环保型和非危险性对人类和动物的草药, 没有残留的影响, 最低的耐药性和副作用的情况下, 进一步灌输草药的兴趣。

这些植物圣罗勒在许多亚洲本土的医学体系中占有重要地位, 非洲和南美洲国家。在印度, 我的传统制度的实践者药用于治疗各种疾病和圣地。从过去的二十年中, 证明圣罗勒在现代医学治疗的科学依据, 一些研究人员(苏德 et al., 2006; 印度 et al., 2006; Goel 等人, 2010)已经开始探索这种植物的药理作用, 发现这些提取物对免疫应答的调节的调节作用因子。

除了这些行之有效的药材, 有一些杂草如墨西哥众所周知的毒性可能有生物活动有益于动物王国包括



鸟类(库马尔, 2006)。刺罌粟叶可以归结为各种疾病, 疥疮, 皮肤瘙痒, 湿疹和牛皮癣, 疾病受损或有缺陷的细胞介导的免疫和用于白内障的治疗和 opthal 米娅(oudhia Gupta, 2004, 2001, , 库马尔, 2006, Goel 等人, 2008)。

1 结果

1.1 无毒剂量的测定

众所周知, 刺罌粟叶的种子, 含有有毒物质, 叫做血根碱在人类和动物消费产生水肿。然而, 在我们的研究中, 水提取物的制备 M A 刺罌粟叶墨西哥叶、GC-MS、HPTLC 叶粉透露血根碱化合物的情况下。所有三个剂量的操作系统是安全无毒无不良临床表现观察任何鸟类。所有的鸟显然是正常和健康的。没有对血液学参数的不利影响被发现(数据未显示)。

Table 1 Humoral immune response in chicken against *S. enterica* serovar Typhimurium "O" antigen

	Antibody titer		
	Control group	<i>O. sanctum</i> fed group	<i>A. mexicana</i> fed group
At 0 day (pre vaccination)	933.33±133.33	933.33±458.12	933.33±223.11
After 7 days of vaccination	2133.33±337.31	2800.00±400.00	2266.67±434.10
After 14 days of vaccination	3733.33±533.33	5333.33±674.62	4266.67±674.62

Note: All values are mean ± S.E. of 6 birds

图 1 线图呈现的体液免疫应答, 使用鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原在美联储和饥饿组

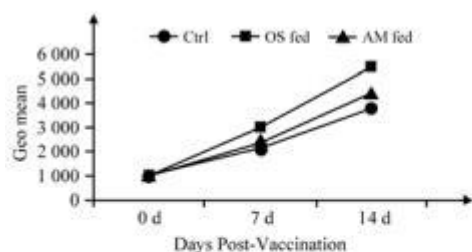


Figure 1 Line diagram showing Humoral Immune response using *S. enterica* serovar Typhimurium "O" antigen in fed and unfed groups

表 2 控制、操作系统和不同时间间隔的鸡的皮肤厚度平均值

Table 2 Mean values of skin thickness in chickens of control, OS and AM fed groups at different time intervals

Group	Mean thickness (mm) at 0 h	Mean thickness (mm)			Difference in thickness (mm)			Percent change in thickness			Percent change compared to control		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Control	1.25	2.22	2.12	1.62	0.97	0.87	0.37	77.6	69.6	29.6	-	-	-
OS	1.33	2.59	2.40	1.73	1.26	1.07	0.4	94.73	80.45	30.07	29.89	22.98	8.1
AM	1.30	1.94	2.05	1.66	0.64	0.75	0.36	49.23	57.69	27.69	-34.02	-13.79	-2.7

2 探讨

免疫反应有 OS 是叶片通过测定体液和细胞介导的免疫反应评价。许多工人(godhwani et al., 1988 和梅迪拉塔 et al., 2002)也研究操作系统的影响, 发现免疫细胞刺激免疫细胞。巴布等人, (2001)报道, 免

体液和 CMI 系统是剂量反应研究 250 毫克/公斤, 被使用, 因为它是理想的。

1.2 体液免疫反应对 S.鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原

在实验和控制对 *S.鼠伤寒沙门氏菌 O* 抗原组采用间接伊莉莎估计鸡抗体滴度。免疫前抗体滴度在所有三 EE 组类似, 从 933.33 ± 133.33 到 933.33 ± 458.12。第一免疫后第七天血清圣罗勒和刺罌粟叶提取收集显示抗体效价上升到 2800 ± 400 和分别为 434.1 和 2266.67。抗体效价进一步上升至 5333.33 ± 674.62 和 4266.67 ± 674.62 分别在圣罗勒和刺罌粟叶喂养组测量时, 在第七天之后第二免疫化。在抗体滴度显着上升在圣罗勒和刺罌粟叶鸡与对照组相比。抗体滴度的平均值在表 1 和图 1 中给出。表 1 体液免疫鸡对沙门氏菌血清型鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原

1.3 细胞免疫(CMI)鸡用 DNCB 反应

研究操作系统的作用是有叶细胞介导的免疫反应, 在体内试验来评估迟发型超敏反应(DTH)采用 DNCB 作为鸡的反应过敏原。意味着鸡实验皮肤厚度值(OS, 是美联储组和对照组在 24 h、48 h 和 72 h 后挑战 DNCB 在表 2 和图 2 给出了。在关系对照组饲喂 24 h 时, 对照组的皮肤厚度明显高于对照组的 29.89%, 而对照组的 34.02%的抑制率为 24 皮肤厚度测量时, 在 48 小时和 72 小时, 操作系统喂养的鸡群保持较高的 22.98%和 8.10%的比较, 以控制。在我喂养组情况有全面抑制 SK 在厚度。有明显的细胞介导的免疫反应, 但显示抑制细胞介导的免疫反应。

疫调节作用主要是关注与造血细胞的参与和 lymphoid 组织。体液免疫反应进行定量测定抗体的间接 ELISA 方法 *S.鼠伤寒沙门氏菌 O* 抗原, 结果与对照组相比(无鸡)。据观察, 在有操作系统的血清抗体滴度和我喂养的鸡均较高(5333.33 ± 674.62)和



(4266.67±分别 674.62)，而对照组有 3733.33±饥饿 533.33 抗体滴度(表 1 和图 1)。这表明，与对照组相比，系统的抗体水平分别提高了 14.28%和 42.85%，作为体液免疫有效的兴奋剂。这些结果是可重复的和一致的。早些时候，库马尔(2006)也观察到类似的结果，使用鼠伤寒沙门氏菌抗原在兔。sadekar 等人(1998)也表明提高 OS 的抗体反应叶喂养的鸟有 IBD 病毒感染。真理(2004)报道的有效作用，操作系统在提高对细菌和病毒感染的免疫系统功能。lombal 等人(2004)观察到的特异性和非特异性的基于 OS 的免疫反应，发现叶提取物刺激抗体反应。我们的研究结果与他们的发现相似 sinister(Latin=left)(拉丁语)左边的(的)，左派的(的)；

发现有这些植物的叶片的影响对细胞介导的免疫反应过敏性皮肤反应采用 DNCB 为过敏原。Ocimum 圣地组有 94.73%皱纹皮肤的厚度而在 Argemone 墨西哥治疗 49.23%组与对照组相比均增加 77.6%增加 24 小时。分析显示增加(29.82%，22.98%和 8.10%)在操作系统美联储(- 2.70%，- 13.79%和- 34.02%)在上午喂鸡相比，对照组分别为 24，48 和 72 小时后(表 2 和图 2)。总体结果了：目前的研究表明，有操作系统有刺激影响，是研究鸡的抑制作用。研究表明大水提取物抑制 T 淋巴细胞增殖的影响墨西哥的钱。最近 Goel 等人(2010)观察罗勒油对体液免疫和细胞介导的免疫刺激作用。通过增加抗体滴度 AGA 观察体液免疫应答研究院美国鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原和免疫过敏测试皮肤厚度显著增加。Argemone 墨西哥对体液免疫反应和抑制的刺激作用在 CMI 抑菌效果也 Goel 等人报道(2008)。

梅迪拉塔等人(2002)研究了 OS 籽油对应激和非应激动物发现 OS 调制的体液免疫和细胞介导的免疫反应，并认为这马的影响 Y 是由于 GABA 能通路调解。在我们的研究中，发现有对免疫系统的两个武器的刺激作用，而有抗体刺激的反应，但引起的在 CMI 反应的抑制。这项研究表明，操作系统可用于对细菌，病毒感染，以及鸡具有免疫抑制。虽然有我的可用于治疗疾病 E 异常升高的细胞介导的免疫反应(Gupta, 2004；库马尔, 2006；Goel 等人, 2008)。穆克吉等人(2005)报道，操作系统具有一定的生物活性的免疫刺激玉米叶美联储操作系统对实验大鼠的实验研究。

这项研究得出的结论是，在目前的时间，当我们面对现代医学的局限性在应对病鸡因免疫失调，植物疗法提供 BY 的阿育吠陀医学和其他传统医学系统似乎是解决方案的潜力。结果表明：罗勒油、薊粟调节免疫反应和显示有前途的治疗价值。

图 2 示出了在操作系统和上午喂养组的皮肤厚度(mm)的差异线图

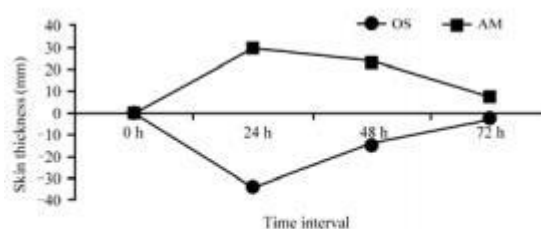


Figure 2 Line diagram showing difference in skin thickness (mm) in OS and AM fed groups

3 材料和方法

3.1 热水提取物(有)的制备

HAE OS /是用索氏提取器按协议通过 Goel 等人描述的准备(2008)。悬浮液过滤棉布然后什么人 1 号滤纸和 DRIED 在冻干机在真空下。百分比率为 14% ~ 16%(W / W)为 OS 和 16% ~ 19%(W / W)为 AM 在干燥的起始物料。

3.2 实验鸟

标准病原体免费一日龄雏鸡(av. 重量 30 ~ 35 GM)是由 Uday 孵化场购买和饲养在农场, Mathura, DUVASU, Mathura。所有的鸟都被安置在标准的控制之下条件。采取了预防措施，以防止环境污染。在每个实验心理组，个别鸟类识别采用翼标签。七日龄雏鸡被用于实验。所有这些实验是通过“实验动物伦理委员会”(原子能委员会)，并在他们的指导下进行的研究。每实验组 6 只/对照组用。

3.4 体液免疫应答

3.4.1 serovartyphimurium 沙门氏菌 O 抗原的制备

S.鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原的制备由 Bhatia 等人(2003)描述。沙门氏菌血清型鼠伤寒沙门氏菌光滑菌落在脑心浸液琼脂培养基上生长(BHI)同时接种于 BHI 肉汤。接种肉汤培养 6 ~ 8 小时在 37 °C 于 3000 rpm 离心 20 分钟，弃去上清液，用生理盐水冲洗煮 100 °C 2.30 小时热灭活的沙门氏菌血清型鼠伤寒沙门氏菌培养为 O 抗原的体液免疫反应(HIR)测定鸡。

3.4.2 免疫鸡

三组即；控制，圣罗勒和刺薊粟叶已经喂养，每组 6 只鸡龄 7 天了。操作系统和上午组鸡口服 250 毫克/公斤体重的有操作系统/上午分别为 21 天。对照组给予口服三组蒸馏水(安慰剂组)21 天。在第二十二天和七天第一个剂量间隔第二剂量的沙门氏菌血清型鼠伤寒沙门氏菌 O 抗原皮下给所有群体如表 3 所示的鸡。在接种前第七天，接种疫苗后，从各鸡群中采集血清样本第二免疫间接 ELISA 试验测定对沙门氏菌的 O 抗原抗体滴度首次免疫后 7 天。



表 3 免疫计划

Table 3 Immunization schedule

Days of immunization	Control group		<i>O. sanctum</i> fed group		<i>A. mexicana</i> fed group	
	Dose (mL)	Route	Dose (mL)	Route	Dose (mL)	Route
28 th day of age (I st dose)	0.5	s/c	0.5	s/c	0.5	s/c
35 th day of age (II nd dose)	0.25	s/c	0.25	s/c	0.25	s/c

3.4.3 体液免疫反应的抗体效价用间接伊莉莎测量:

沙门氏菌 O 抗原包被聚苯乙烯微量滴定板(威尔斯 Nunc)在 4^h,f 孵育过夜。三洗涤用 PBS(PBS pH 7.2、0.01)含 0.05%吐温-20(pBS-T), 阻断了 1%牛血清白蛋白溶于 PBS, 1 个小时 37^h,f^{1/2}。连续稀释的血清样品(1:100 至 1:10240)从 1 到 11 的第十二孔微量滴定板分别作为阴性对照。兔抗鸡免疫球蛋白-Y(IgY)结合 HRP(辣根过氧化物酶, 1:4000)和底物 TMB(1:20)连续添加到所有的威尔斯啊 F 微板, 显色后, 加入 50 μ l 1M 硫酸每 15 分钟停止。的光密度测定在 450 到 570 纳米, 并与对照组相比。

3.5 细胞介导的免疫反应在鸡用 DNCB

本研究的目的是进行评估有操作系统的效果, 是叶 2, 4-二硝基氯苯(DNCB)致敏鸡的方法是由蒂瓦里和戈尔描述(1985)。我本实验模型作为抗原。每组 6 只鸡(7 日龄), 每组三只。第二组和第三组口服 250 毫克/公斤体重的操作系统和上午离开 S 提取物分别为 21 天。I 组作为对照组和安慰剂(TDW)口服 21 天。

在后第二十二天喂 0.25 毫升的二等分(10 毫克/毫升)应用下降对腹部羽毛的地区联合国左侧下降到个别鸟每组干吹。车辆的乐(丙酮)单独应用于腹部右侧。经过 7 天的挑战剂量(1 毫克/毫升)对 DNCB 于相同的测试方和车辆本身对腹部右侧(Renu et al., 2003)。通过 vernier 卡尺的挑战前, 24 h、48 h 测定皮肤厚度, 72 小时后的挑战。在 C 之前减去测量厚度的厚度的差异计算从那后挑战挑战。

作者贡献

所有作者对这项研究都做出了同样的贡献。所有的作者阅读并批准了最终版本的手稿。

致谢

作者感谢大学当局提供必要的设施, 开展这项研究工作。

参考文献

Babu R.M., Rao K.R.V., Annapuruna A., and Babu D.R.K., 2001, Immunostimulation profile of aqueous polyherbal formulation RV08, Indian journal of pharmacology, 33:454-455

Bhartiya U.S., Raut Y.S., and Joseph L.J., 2006, Protective effect of *Ocimum sanctum* Linn. after high-dose 131 iodine exposure in mice: an in vivo study, Indian J Exp Biol, 44(8):647-52

Bhatia A.K., Sharma S.K., and Kumar H., 2003, Laboratory

Manual for detection of Enterotoxigenic E. coli (ETEC), NATP Project, ICAR, New Delhi

Godhwani S., Godhwani J.L., and Vyas D.S., 1987 *Ocimum sanctum*: an experimental study evaluating its anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity in animals, J Ethnopharmacol., 21(2):153-63

Goel A., Kumar D., and BhatiaA.K., 2008, Modulation of immune response by Aqueous extract of *Argemone mexicana* leaves, J. of immunol and immunopathol, 10(1): 65-69

Goel A., Singh D.K., and BhatiaA.K., 2010, Effect of *Ocimum sanctum* extract on the induction of IFN- γ and IL-10 Cytokines and their m-RNA expression, J. Immunol. and Immunopathol, 12(1):29-41

Gupta L.K., 2004, Studies on the immunoregulatory mechanism of substances present in the leaves of *Argemone mexicana* in auto immuno disease of cutaneous origin, Ph.D Thesis in Dept. of Microbiology and Immunology, Veterinary University, DUVASU, Mathura

Kumar D., 2006, Studies on antibacterial and immunomodulatory properties of *Ocimum sanctum* and *Argemone mexicana* leaves in reference to cytokines (IL-2 and IL-10) induction, M.V.Sc. Thesis in Dept. of Microbiology and Immunology, Veterinary University, DUVASU, Mathura

Lee J.S., 2004, Medicinal plants: A powerful health Aid, Science creative quarterly. <http://www.scq.ubc.ca/medicinal-plants-a-powerful-health-aid/>, Retrieved on 05-14-2013

Logambal S.M., Vankatalakshmi S. and Michael, D.R. 2004, Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. in *Oreochromis mossambicus*. Hydrobiologica. 430:113-120

Maimes S., 2004, Maimes report on holy basil, <http://www.holy-basil.com/MaimesReportHolyBasil-1.pdf>, Retrieved on 05-14-2013

Mediratta P.K., Dewan V., Bhattacharya S.K., Gupta V.S., Maiti P.C. and Sen P. 1988, Effect of *Ocimum sanctum* Linn. on humoral immune responses, Indian J Med Res, 87:384-6.

Mediratta P.K., Sharma K.K., and Singh S., 2002, Evaluation of immunomodulatory potential of *Ocimum sanctum* seed oil and its possible mechanism of action, J.



- Ethnopharmacol., 80(1):15-20
- Mukherjee R., Dash P.K., and Ram G.C., 2005, Immunotherapeutic potential of *Ocimum sanctum* (L) in bovine subclinical mastitis, *Res Vet Sci.*, 79(1):37-43
- Oudhia P., 2001, Satyanashi (*Argemone mexicana*: family-Papaveraceae) as medicinal herb in Chattishgarh, India, the result of ethobotanical survey, 1-4
- Renu S., Rakha N.K., Gera S., and Mishra S.K., 2003, Effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract administration on immune responses of broiler chickens, *J. Immunol. immunopathol*, 5(1): 47-50
- Sadekar R.O., Pimprikar N.M., Bhandarkar A.G. and Barmase B.S., 1998, Immunomodulating effect of *Ocimum sanctum* Linn, dry leaf powder on humoral immune response in poultry naturally infected with IBD virus, *Indian, Vet. J.*, 75(1): 73-74
- Sood S., Narang D., Thomas M.K., Gupta Y.K., and Maulik S.K., 2006, Effect of *Ocimum sanctum* Linn. on cardiac changes in rats subjected to chronic restraint stress, *J Ethnopharmacol.*, 108(3):423-7
- Tiwari B.K., and Goel M.C., 1985, Contact sensitivity to DNCB in normal and cell-mediated immunity deficient chickens: In vivo detection and correlation with lymphocytes transformation and graft versus host reaction, *Veterinary Immunology and Pathology*, 8:329-339