

样品

功效检测报告

由环特生物——AAALAC 国际实验动物认证的 CRO 机构权威出具



环特生物创新实验中心 | 杭州

本中心实验动物生产许可证编号 SCXK(浙)2022-0003

实验动物使用许可证编号 SYXK(浙)2022-0004

项目编号: 9886

委托单位: 杭州三摩羯品牌管理有限公司

报告日期: 2024 年 08 月 30 日

声 明

尊敬的客户：

感谢您对环特生物的信任。我单位基于“严谨、真实、保密”的科研服务原则，特对持续信赖我们的广大客户做出以下声明：

- 实验流程的质控声明

本单位对实验流程始终履行严格的质控体系要求。实验人员拥有专业的背景，且经过系统的培训考核，取得上岗资格。在实验室制度和标准操作规程的约束下，开展相关实验。实验过程采用多种内外部的监督手段，确保实验动物、人员、仪器、试剂及环境符合要求，将实验操作的随机误差和操作误差降到最低。

- 实验数据的真实声明

本单位保证实验的公正性、独立性和诚实性，实验结论对接收的委托样品负责，其样品所代表性、真实性和准确性由委托方负责。本单位保证实验数据的真实性、客观性，并提供原始的分析数据及图文素材供您查阅。同时，我们明令禁止对任何实验数据，进行无科学依据的凭空捏造或人为修改。

- 实验结果的保密声明

尊重客户知识产权、全力以赴创造价值，是所有环特人开展对外服务的纯粹信仰。我们保证严格遵守契约精神，不在客户未知的情况下，随意对实验的具体细节和结论进行曝光和传播。对委托方所提供的样品及在提供试验服务的活动中所获的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。

本报告未盖本单位公章无效，涂改、缺页、复印无效，复制报告未重新加盖本单位公章无效。委托方如对本报告有异议，须在收到本报告之日起 15 日内向本单位提出。

环特生物

目 录

样品信息	1
判定标准	1
检测结论	1
检测项目 1：改善气虚血瘀功效	2
1. 检测材料	2
1.1. 样品配制信息	2
1.2. 实验动物	2
1.3. 仪器、耗材与试剂	2
2. 检测方法	2
2.1. 最大检测浓度（MTC）	2
2.2. 改善气虚血瘀功效评价（血流速度和心输出量）	3
2.3. 改善气虚血瘀功效评价（总运动距离）	3
3. 检测结果	3
3.1. MTC	3
3.2. 改善气虚血瘀功效评价（血流速度和心输出量）	4
3.3. 改善气虚血瘀功效评价（总运动距离）	6
检测项目 2：副反应（诱导 ROS 升高）评价	7
1. 检测材料	7
1.1. 样品配制信息	7
1.2. 实验动物	7
1.3. 仪器、耗材与试剂	7
2. 检测方法	7
3. 检测结果	8
检测人员及分工	9
检测单位信息	9
委托单位信息	9

样品信息

样品名称	发酵人参膏	颜色和物态	棕色液体
样品规格及数量	5 支	收样日期	2024.07.28
生产日期或批号	/	储存条件	阴凉

判定标准

具有功效（ $p < 0.05$ 差异具有统计学意义）。

检测结论

在本实验条件下，由杭州三摩羯品牌管理有限公司提供的发酵人参膏具有改善气虚血瘀功效，具体表现为增加血流速度、增加心输出量和增加总运动距离；并且发酵人参膏不会诱导 ROS 显著升高。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：改善气虚血瘀功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

发酵人参膏，吸取原液使用。

阳性对照：脑心通胶囊，浅棕色粉末，批号 230651，陕西步长制药有限公司，溶剂为标准稀释水。

1.2. 实验动物

斑马鱼均饲养于 28°C 的养鱼用水中（水质：每 1 L 反渗透水中加入 200 mg 速溶海盐，电导率为 450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；pH 为 6.5~8.5；硬度为 50~100 mg/L CaCO_3 ），由本公司养鱼中心繁殖提供，实验动物使用许可证号为：SYXK（浙）2022-0004，饲养管理符合国际 AAALAC 认证（认证编号：001458）的要求，IACUC 伦理审查号：IACUC-2024-9886-01。

1.3. 仪器、耗材与试剂

解剖显微镜（SZX7, OLYMPUS, Japan）；CCD 相机（VertA1, 上海土森视觉科技有限公司, China）；精密电子天平（CP214, OHAUS, USA）；6 孔板（浙江贝兰伯生物技术有限公司, China）；斑马鱼行为分析系统（Zebra Lab 3.22.3.31, Viewpoint, France）；96 孔板（Nest Biotech, China）；心跳血流分析系统（ZebraBlood3.4, ViewPoint Life Sciences, France）；多功能酶标仪（SPARK, TECAN, Austria）。

甲基纤维素（批号 C2004046, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；异丙肾上腺素盐酸盐（批号 KIWNH-EG, 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司, China）；无水亚硫酸钠（批号 I1428128, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）。

2. 检测方法

2.1. 最大检测浓度（MTC）

随机选取受精后 4 天（4 dpf）野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中，每孔（实验组）均处理 30 尾斑马鱼。水溶给予样品（浓度见表 1-1），同时设置正常对照组和模型对照组，每孔容量

为 3 mL。除正常对照组之外，其余各实验组均水溶给予无水亚硫酸钠，28℃处理 24 h 后，给予异丙肾上腺素盐酸盐，联合诱导建立斑马鱼气虚血瘀模型，28℃再处理 16 h 后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2. 改善气虚血瘀功效评价（血流速度和心输出量）

随机选取 4 dpf 野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中，每孔（实验组）均处理 30 尾斑马鱼。分别水溶给予样品（浓度见表 1-2），阳性对照脑心通胶囊 31.2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度，同时设置正常对照组和模型对照组，每孔容量为 3 mL。除正常对照组之外，其余各实验组均水溶给予无水亚硫酸钠，28℃处理 24 h 后，给予异丙肾上腺素盐酸盐，联合诱导建立斑马鱼气虚血瘀模型，28℃再处理 16 h 后，每组随机选取 10 尾斑马鱼置于心跳血流分析系统中检测斑马鱼血流速度和心输出量，以上述指标统计学分析结果评价样品改善气虚血瘀功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析， $p < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2.3. 改善气虚血瘀功效评价（总运动距离）

随机选取 4 dpf 野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中，每孔（实验组）均处理 30 尾斑马鱼。分别水溶给予样品（浓度见表 1-3），阳性对照脑心通胶囊 31.2 $\mu\text{g/mL}$ 浓度，同时设置正常对照组和模型对照组，每孔容量为 3 mL。除正常对照组之外，其余各实验组均水溶给予无水亚硫酸钠，28℃处理 24 h 后，给予异丙肾上腺素盐酸盐，联合诱导建立斑马鱼气虚血瘀模型，28℃再处理 16 h 后，每组随机选取 10 尾斑马鱼置于斑马鱼行为分析系统中检测斑马鱼总运动距离，以上述指标统计学分析结果评价样品改善气虚血瘀功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析， $p < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

3. 检测结果

3.1. MTC

在本实验条件下，发酵人参膏改善气虚血瘀功效 MTC 为 1.95 $\mu\text{L/mL}$ 。详见表 1-1。

表 1-1. 样品改善气虚血瘀功效浓度摸索实验结果 (n = 30)

组别	浓度 (μL/mL)	死亡数 (尾)	死亡率 (%)	表型
正常对照组	-	0	0	未见明显异常
模型对照组	-	0	0	未见明显异常
发酵人参膏	1.95	0	0	与模型对照组状态相似
	3.91	20	67	-
	7.81	30	100	-
	15.6	30	100	-
	31.2	30	100	-

3.2. 改善气虚血瘀功效评价 (血流速度和心输出量)

在本实验条件下, 发酵人参膏具有改善气虚血瘀功效, 具体表现为增加血流速度和心输出量。详见表 1-2、图 1-1 和图 1-2。

表 1-2. 样品改善气虚血瘀功效评价 (血流速度和心输出量) 实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μL/mL)	血流速度 (μm/s, mean ± SE)	心输出量 (nL/s, mean ± SE)
正常对照组	-	1248 ± 61.3***	0.265 ± 0.013***
模型对照组	-	803 ± 26.9	0.170 ± 0.006
脑心通胶囊	31.2 μg/mL	1155 ± 39.6***	0.245 ± 0.008***
发酵人参膏	1.95	1076 ± 30.1***	0.228 ± 0.006***

与模型对照组比较, ***p < 0.001

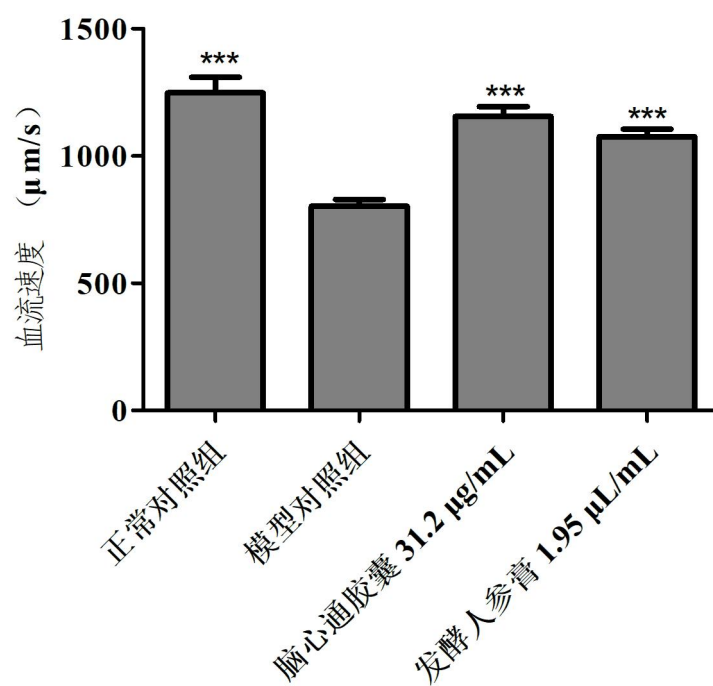


图 1-1. 样品处理后斑马鱼血流速度
 与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

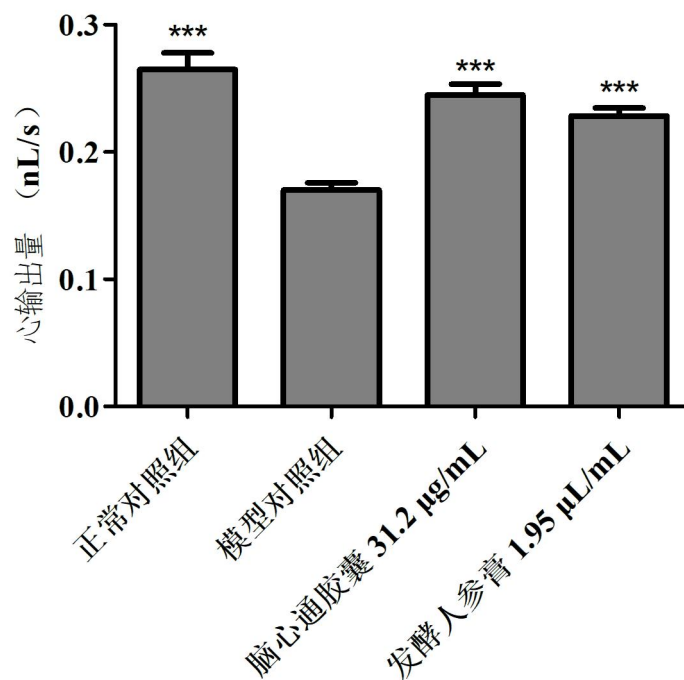


图 1-2. 样品处理后斑马鱼心输出量
 与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

3.3. 改善气虚血瘀功效评价（总运动距离）

在本实验条件下，发酵人参膏具有改善气虚血瘀功效，具体表现为增加总运动距离。详见表 1-3 和图 1-3。

表 1-3. 样品改善气虚血瘀功效评价（总运动距离）实验结果（n = 10）

组别	浓度（ $\mu\text{L/mL}$ ）	总运动距离（mm, mean $\pm$ SE）
正常对照组	-	3514 $\pm$ 202***
模型对照组	-	2029 $\pm$ 161
脑心通胶囊	31.2 $\mu\text{g/mL}$	3573 $\pm$ 265***
发酵人参膏	1.95	3076 $\pm$ 290*

与模型对照组比较，* $p < 0.05$ ，*** $p < 0.001$

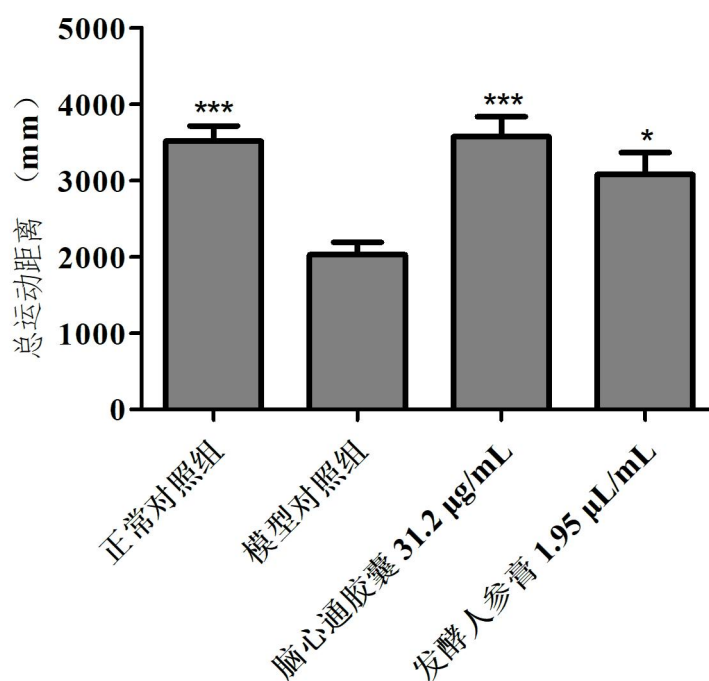


图 1-3. 样品处理后斑马鱼总运动距离

与模型对照组比较，* $p < 0.05$ ，*** $p < 0.001$

检测项目 2：副反应（诱导 ROS 升高）评价

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

发酵人参膏，吸取原液使用。

1.2. 实验动物

斑马鱼均饲养于 28°C 的养鱼用水中（水质：每 1 L 反渗透水中加入 200 mg 速溶海盐，电导率为 450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；pH 为 6.5~8.5；硬度为 50~100 mg/L CaCO_3 ），由本公司养鱼中心繁殖提供，实验动物使用许可证号为：SYXK（浙）2022-0004，饲养管理符合国际 AAALAC 认证（认证编号：001458）的要求，IACUC 伦理审查号：IACUC-2024-9886-01。

1.3. 仪器、耗材与试剂

解剖显微镜（SZX7, OLYMPUS, Japan）；CCD 相机（VertA1, 上海土森视觉科技有限公司, China）；精密电子天平（CP214, OHAUS, USA）；6 孔板（浙江贝兰伯生物技术有限公司, China）；多功能酶标仪（SPARK, TECAN, Austria）；96 孔酶标板（Costar, China）。

二甲基亚砜（DMSO, 批号 BCCD8942, Sigma, Switzerland）；CM-H₂DCFDA（批号 2652734, invitrogen, USA）。

2. 检测方法

随机选取 3 dpf 野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中，每孔（实验组）均处理 30 尾斑马鱼。水浴给予样品（浓度见表 2-1），同时设置正常对照组，用 ROS 荧光检测液定容，每孔容量为 3 mL。28°C 处理 24 h 后，将各实验组斑马鱼转移至黑色 96 孔酶标板中，2 尾/孔，每孔容量为 100 μL ，利用多功能酶标仪对各实验组斑马鱼进行 ROS 荧光值分析，以该指标的统计学分析结果评价样品副反应（诱导 ROS 升高）。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析， $p < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

3. 检测结果

在本实验条件下，发酵人参膏不会诱导 ROS 显著升高。详见表 2-1 和图 2-1。

表 2-1. 样品副反应（诱导 ROS 升高）评价实验结果（n = 10）

组别	浓度（ $\mu\text{L/mL}$ ）	ROS 荧光值
正常对照组	-	996 ± 1.40
发酵人参膏	1.95	1000 ± 2.08

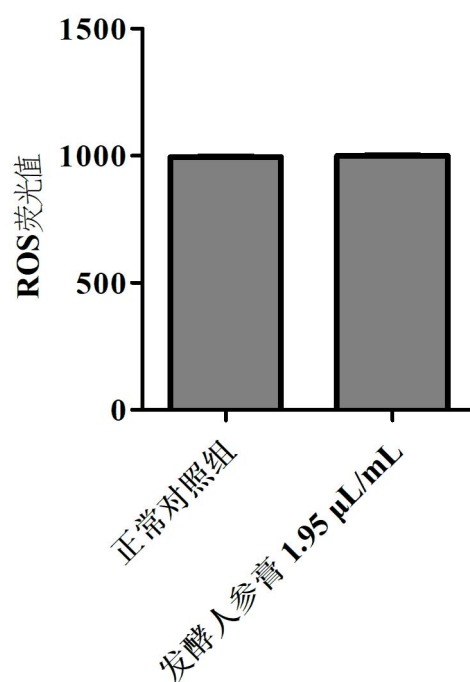


图 2-1. 样品处理后 ROS 荧光值

检测人员及分工

项目负责人：孔洁星（实验设计）

项目参与人员：单俊玮、孔洁星（实验操作、数据分析和报告撰写）

质量管理人员：夏雨洁

检测单位信息

单位名称：杭州环特生物科技股份有限公司

单位地址：浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 5 幢 A 区 1-2 楼

联系人：孙士杰

电话：18305065272

E-mail: ssj@zhunter.com

委托单位信息

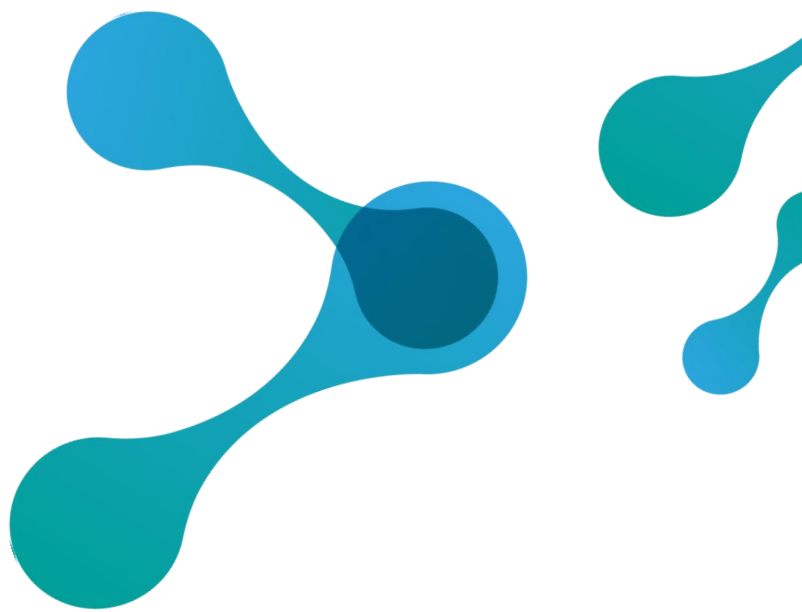
单位名称：杭州三摩羯品牌管理有限公司

单位地址：浙江省杭州市西湖区华星路 96 号 3 幢 1510 室

联系人：吴芳云

电话：13429665820

E-mail: /



健康美丽产业 CRO 服务开拓者与引领者



Web: www.zhunter.com

Email: info@zhunter.com

六大创新实验中心

杭 州：浙江省杭州市滨江区江陵路 88 号 5 幢 2 楼

南 京：江苏省南京市江宁区生命科技小镇

广 州：广州市白云区嘉禾街广云路 408 号 410 室

北 京：北京市北京经济技术开发区科创六街 2 号院 9 号楼 1 层 101 室

上 海：上海市奉贤区临港南桥科技绿洲 35 号楼一楼

Boston: 16192 Coastal Highway, Lewes, Delaware 19958, County of Sussex.