



我的小夜曲改善睡眠功效检测报告

项目编号：3029

委托单位：山西振东制药股份有限公司

报告日期：2021 年 09 月 26 日

声 明

- 1、本单位保证检测的公正性、独立性和诚实性，对检测结果负责，对委托方所提供的检测样品及在检测活动中获得的国家秘密、商业秘密、技术秘密保密。
- 2、本报告未盖本单位公章无效。
- 3、本报告涂改、缺页、部分复印无效，复制报告未重新加盖本单位公章无效。
- 4、委托方若对本报告有异议，须在检测报告收到之日起 15 日内向本单位提出。
- 5、本单位接收的委托送检样品，其代表性、真实性和准确性由委托方负责。本报告的检测数据和结果仅对接收的样品负责。



目 录

样品信息..... 1

判定标准..... 1

检测结论..... 1

检测项目 1：改善睡眠功效..... 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

 3. 检测结果..... 3

 3.1. MTC 3

 3.2. 改善睡眠功效评价..... 4

检测人员及分工..... 8

检测单位信息..... 8

委托单位信息..... 错误!未定义书签。

样品信息

样品名称	我的小夜曲	颜色和物态	褐色液体
样品规格及数量	20 mL/支*6 支	收样日期	2021.08.30
生产日期或批号	/	失效日期	/
储存条件	阴凉	检测完成日期	2021.09.18
检测项目	改善睡眠功效评价		

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，由山西振东制药股份有限公司提供的我的小夜曲具有明显的改善睡眠功效，主要表现为觉醒活动时间和觉醒活动量的减少。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：改善睡眠功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

我的小夜曲，原液添加，现配现用。

阳性对照：褪黑素，白色粉末，批号 F1804064，上海阿拉丁生化科技股份有限公司，阴凉避光储存。用 DMSO 配制成 12.5 mg/mL 母液，-20 °C 储存。

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 μ S/cm；pH 为 6.5 ~ 8.5；硬度为 50 ~ 100 mg/L CaCO_3 ），实验动物使用许可证号为：SYXK（浙）2012-0171。饲养管理符合国际 AAALAC 认证（认证编号：001458）的要求。

野生型 AB 品系斑马鱼，以自然成对交配繁殖方式进行。年龄为受精后 5 天（5 dpf）的斑马鱼用于我的小夜曲最大检测浓度（MTC）测定及改善睡眠功效评价。

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（Nest Biotech, China）；96 孔板（Nest Biotech, China）；行为分析仪（V3.11, ViewPoint Life Sciences, France）。

戊四唑（PTZ, 批号 YH0171126, 上海依赫生物科技有限公司, China）；二甲基亚砜（DMSO, 批号 BCCD8942, Sigma, Switzerland）。

2. 检测方法

随机选取 5 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。分别水溶给予我的小夜曲 6.25、12.5、25.0、50.0、100 μ L/mL 浓

度，阳性对照褪黑素 125 $\mu\text{g/mL}$ 浓度，同时设置正常对照组和模型对照组，每孔容量为 3 mL。除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予 PTZ 建立斑马鱼失眠模型。处理结束后：1) 观察统计各实验组斑马鱼的死亡数量和毒性反应情况，确定我的小夜曲的 MTC；2) 取 MTC 及以下共三个浓度组、阳性对照组、模型对照组和正常对照组，将斑马鱼转移至 96 孔板中，200 μL /尾，1 尾/孔，利用行为分析仪检测斑马鱼的觉醒活动时间 (T) 和觉醒活动量 (D)，以上指标的统计学分析结果评价我的小夜曲的改善睡眠功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。改善睡眠功效计算公式如下：

$$\text{改善睡眠功效 (\%)} = \frac{(\text{T}) \text{模型对照组} - (\text{T}) \text{样品组}}{(\text{T}) \text{模型对照组}} \times 100\%$$

$$\text{改善睡眠功效 (\%)} = \frac{(\text{D}) \text{模型对照组} - (\text{D}) \text{样品组}}{(\text{D}) \text{模型对照组}} \times 100\%$$

用方差分析和 Dunnett's T-检验进行统计学分析， $p < 0.05$ 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，我的小夜曲对改善睡眠功效评价的 MTC 为 25.0 $\mu\text{L/mL}$ 。详见表 1-1。

表 1-1. 我的小夜曲改善睡眠功效浓度摸索实验结果 (n = 30)

组别	浓度 ($\mu\text{L/mL}$)	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
我的小夜曲	6.25	0	0	未见明显异常
	12.5	0	0	未见明显异常
	25.0	0	0	未见明显异常
	50.0	0	0	较模型对照组状态差
	100	0	0	较模型对照组状态差

3.2. 改善睡眠功效评价

在本实验条件下，我的小夜曲具有明显的改善睡眠功效，主要表现为觉醒活动时间和觉醒活动量的减少。详见表 1-2、1-3 和图 1-1、1-2、1-3、1-4、1-5。

表 1-2. 我的小夜曲改善睡眠功效评价实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μL/mL)	觉醒活动时间 (s, mean ± SE)	改善睡眠功效 (%)
正常对照组	-	1.25 ± 0.569***	-
模型对照组	-	60.0 ± 9.61	-
褪黑素	125 μg/mL	20.0 ± 3.74**	67
我的小夜曲	6.25	22.3 ± 3.18***	63
	12.5	32.4 ± 4.55**	46
	25.0	33.7 ± 2.54**	44

与模型对照组比较, **p < 0.01, ***p < 0.001

表 1-3. 我的小夜曲改善睡眠功效评价实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μL/mL)	觉醒活动量 (mm, mean ± SE)	改善睡眠功效 (%)
正常对照组	-	29.9 ± 12.0***	-
模型对照组	-	2724 ± 401	-
褪黑素	125 μg/mL	1029 ± 166**	62
我的小夜曲	6.25	1212 ± 165***	55
	12.5	1646 ± 219*	40
	25.0	1613 ± 138*	41

与模型对照组比较, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

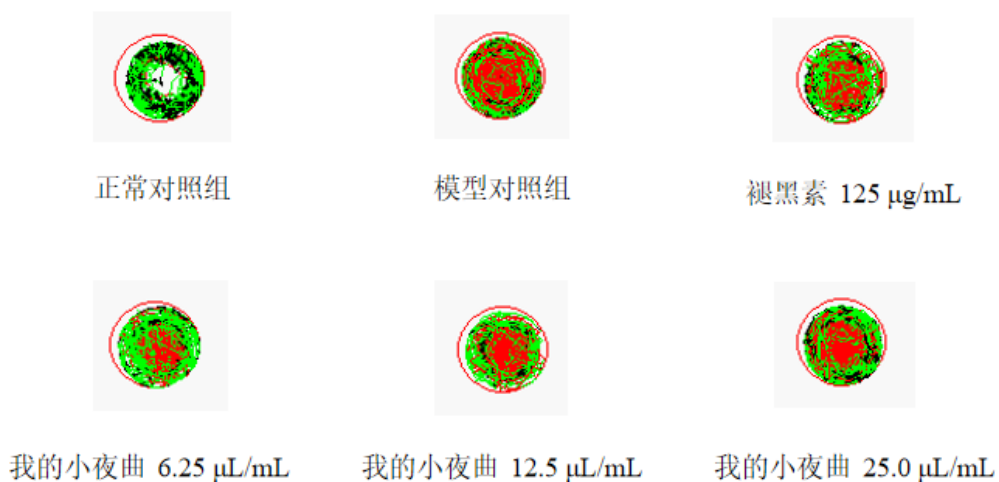


图 1-1. 我的小夜曲处理后斑马鱼行为典型图

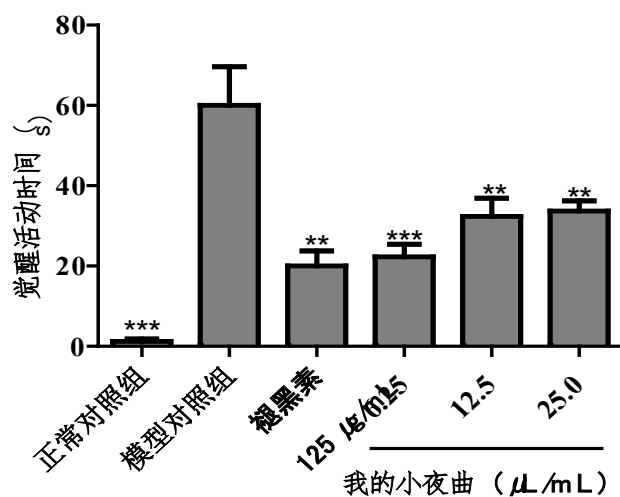


图 1-2. 我的小夜曲处理后斑马鱼觉醒活动时间

与模型对照组比较, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

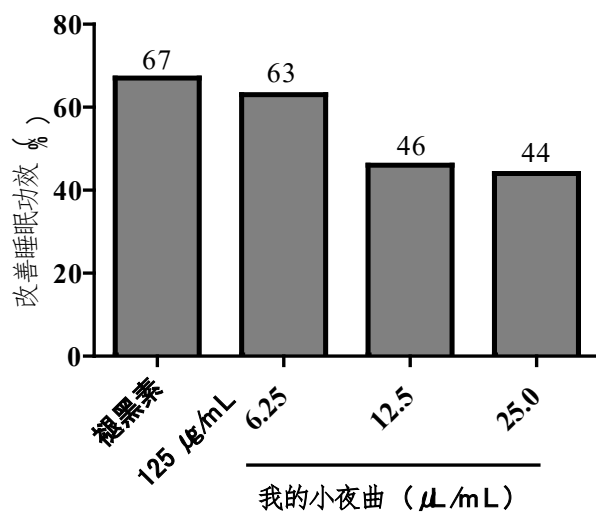


图 1-3. 我的小夜曲处理后斑马鱼改善睡眠功效（觉醒活动时间）

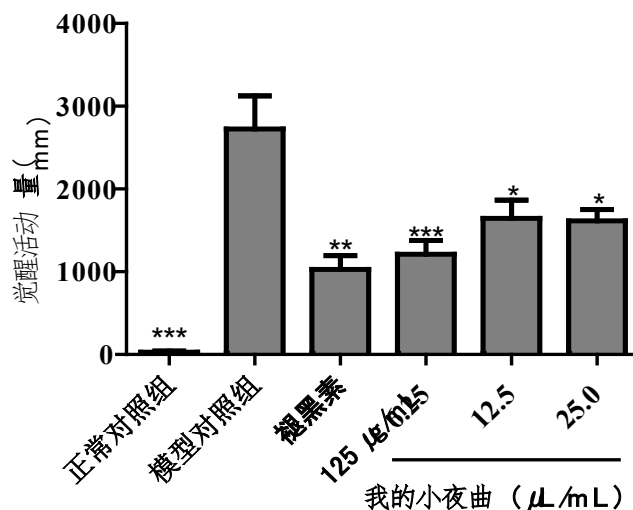


图 1-4. 我的小夜曲处理后斑马鱼觉醒活动量
与模型对照组比较, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

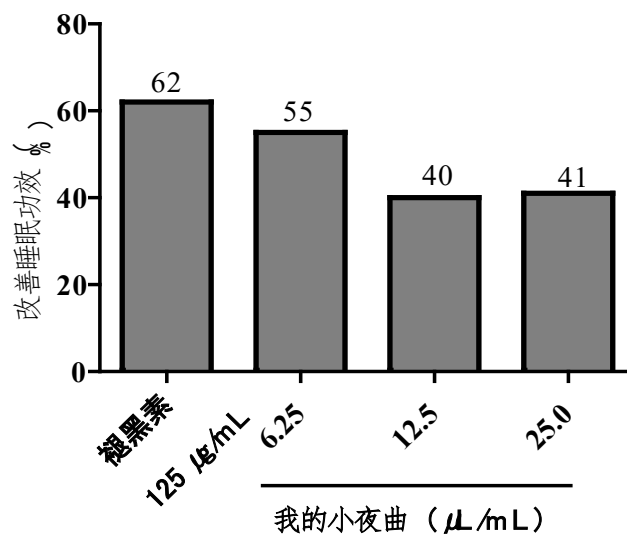


图 1-5. 我的小夜曲处理后斑马鱼改善睡眠功效（觉醒活动量）

检测人员及分工

项目负责人：郭胜亚（实验设计）

项目参与人员：张艺文（实验操作、数据分析和实验报告撰写）、陈星辉（实验操作和数据复核）

质量管理人员：俞航萍、张露娜、徐懿乔

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 1-2 楼

联系人：曹慧卓

电话：0571-87989308

E-mail: chz@zhunter.com

委托单位信息

单位名称：山西振东制药股份有限公司

单位地址：山西省长治市上党区光明南路振东科技园

联系人：李英

电话：17799990311

邮箱：343387265@qq.com