

沙棘叶粉片

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: 7747

委托单位: 常州燕和堂商贸有限公司

报告日期: 2023 年 12 月 05 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，并可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：辅助降血糖功效评价.....	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）测定.....	2
2.2. 辅助降血糖功效评价.....	3
3. 检测结果.....	3
3.1. MTC.....	3
3.2. 辅助降血糖功效评价.....	3
检测项目 2：血管内皮损伤改善功效评价.....	5
1. 检测材料.....	5
1.1. 样品配制信息.....	5
1.2. 实验动物.....	5
1.3. 仪器、耗材与试剂.....	5
2. 检测方法.....	5
2.1. MTC 测定.....	5
2.2. 血管内皮损伤改善功效评价.....	6
3. 检测结果.....	6
3.1. MTC.....	6
3.2. 躯干血栓发生率评价.....	6
3.3. 血管内皮损伤改善功效（表型）评价.....	8
检测人员及分工.....	11

检测单位信息.....	11
委托单位信息.....	11

样品信息

样品名称	沙棘叶粉片	颜色和物态	灰色片剂
样品规格及数量	35 g/瓶 × 4 瓶	收样日期	2023.11.13
生产日期或批号	/	储存条件	阴凉、干燥、避光

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，由常州燕和堂商贸有限公司提供的沙棘叶粉片具有辅助降血糖功效；具有血管内皮损伤改善功效，具体表现为降低躯干血栓发生率和增加心脏红细胞染色强度。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：辅助降血糖功效评价

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

沙棘叶粉片，溶剂为标准稀释水。

阳性对照：盐酸二甲双胍片（简称二甲双胍），白色片剂，批号 ACL1077，中美上海施贵宝有限公司，溶剂为超纯水。

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-2023-7747-01。

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）；超声波清洗机（JP-010T, 深圳市洁盟清洗设备有限公司, China）；全自动样品快速研磨仪（JXFSTPRP-24L, 上海净信实验设备科技部, China）；血糖仪（ACCU-CHEK Performa, 罗氏诊断产品（上海）有限公司, China）。

鸡蛋蛋黄粉（批号 20230203, 浙江艾格生物科技股份有限公司, China）；无水葡萄糖（批号 C15778026, 上海麦克林生化科技有限公司, China）；无水乙醇（批号 20220414, 国药集团化学试剂有限公司, China）；血糖仪试纸（批号 478829, 罗氏诊断产品（上海）有限公司, China）。

2. 检测方法

2.1. 最大检测浓度（MTC）测定

随机选取受精后 5 天（5 dpf）野生型 AB 品系斑马鱼于烧杯中，每烧杯（实验组）均处理 30 尾斑马鱼。水溶给予沙棘叶粉片（浓度见表 1-1），同时设置正常对照组和模型对照组，每

烧杯容量为 25 mL。除正常对照组外，其余各实验组白天水溶给予 0.15%的蛋黄粉溶液，晚上水溶给予 3%的葡萄糖溶液，建立斑马鱼高血糖模型。样品处理期间，每天统计各实验组的斑马鱼死亡数量并及时移除死亡斑马鱼。28℃处理 48 h 后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2. 辅助降血糖功效评价

随机选取5 dpf野生型AB品系斑马鱼于烧杯中，每烧杯（实验组）均处理30尾斑马鱼。水溶给予样品（浓度见表1-2），阳性对照二甲双胍400 µg/mL浓度，同时设置正常对照组和模型对照组，每烧杯容量为25 mL。除正常对照组外，其余各实验组白天水溶给予0.15%的蛋黄粉溶液，晚上水溶给予3%的葡萄糖溶液，建立斑马鱼高血糖模型。28℃处理48 h后，用标准稀释水将斑马鱼清洗3遍，用血糖仪检测斑马鱼整体葡萄糖水平，分析统计斑马鱼葡萄糖水平，以该指标的统计学分析结果评价沙棘叶粉片辅助降血糖功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用SPSS26.0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，沙棘叶粉片对模型斑马鱼的 MTC 为 2000 µg/mL。详见表 1-1。

表 1-1. 样品辅助降血糖功效浓度摸索实验结果 (n = 30)

组别	浓度 (µg/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
沙棘叶粉片	125	0	0	与模型对照组状态相似
	250	0	0	与模型对照组状态相似
	500	0	0	与模型对照组状态相似
	1000	0	0	与模型对照组状态相似
	2000	0	0	与模型对照组状态相似

3.2. 辅助降血糖功效评价

在本实验条件下，沙棘叶粉片具有辅助降血糖功效。详见表 1-2 和图 1-1。

表 1-2. 样品辅助降血糖功效评价实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μg/mL)	葡萄糖水平 (mmol/L, mean ± SE)
正常对照组	-	0.800 ± 0.021***
模型对照组	-	2.71 ± 0.129
二甲双胍	400	2.17 ± 0.084**
沙棘叶粉片	500	2.36 ± 0.121
	1000	2.12 ± 0.126
	2000	1.80 ± 0.122***

与模型对照组比较, **p < 0.01, ***p < 0.001

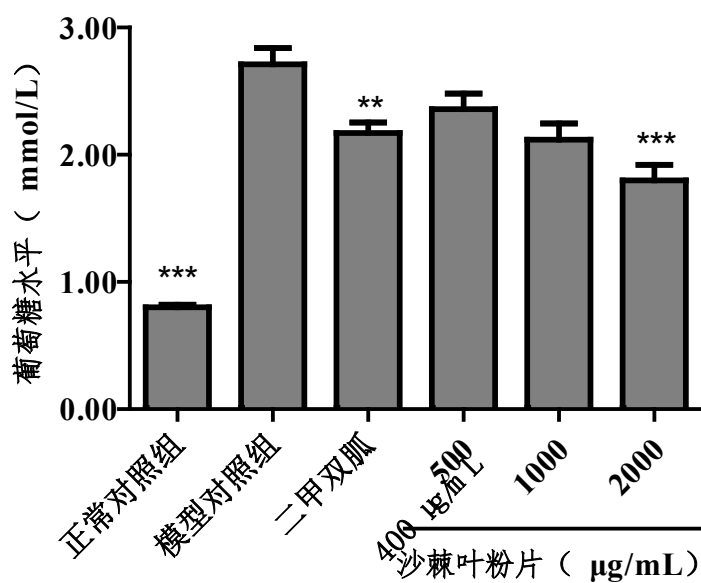


图 1-1. 样品处理后斑马鱼葡萄糖水平
与模型对照组比较, **p < 0.01, ***p < 0.001

检测项目 2：血管内皮损伤改善功效评价

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

沙棘叶粉片，溶剂为标准稀释水。

阳性对照：阿司匹林肠溶片（简称阿司匹林），批号为 BJ72163，拜耳医药保健有限公司，溶剂为 DMSO。

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-2023-7747-01。

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）；超声波清洗机（JP-010T, 深圳市洁盟清洗设备有限公司, China）；全自动样品快速研磨仪（JXFSTPRP-24L, 上海净信实验设备科技部, China）。

普纳替尼（批号 F1511088, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；邻联茴香胺（批号 MKBX3619V, Sigma, USA）；二甲基亚砜（DMSO, 批号 I2229063, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；无水乙醇（批号 20220414, 国药集团化学试剂有限公司, China）；30% H_2O_2 溶液（批号 H2206859, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；无水乙酸钠（批号 F20090306, 国药集团化学试剂有限公司, China）。

2. 检测方法

2.1. MTC 测定

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。

水溶给予沙棘叶粉片（浓度见表 2-1），同时设置正常对照组和模型对照组，每孔容量为 3 mL。除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予普纳替尼建立斑马鱼血管内皮损伤模型。28℃处理 18 h 后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2. 血管内皮损伤改善功效评价

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。分别水溶给予沙棘叶粉片（浓度见表 2-2），阳性对照阿司匹林 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 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普纳替尼建立斑马鱼血管内皮损伤模型，28℃处理 18 h 后，用邻联茴香胺进行染色，染色结束后，1）统计各实验组斑马鱼的躯干血栓发生率，并采集典型照片；2）每个实验组随机选取 10 尾斑马鱼，用 NIS-Elements D 3.20 高级图像处理软件分析并采集数据，分析统计斑马鱼心脏红细胞染色强度，以上述指标的统计学分析结果评价沙棘叶粉片血管内皮损伤改善功效。统计学处理结果采用 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 表示。用 SPSS26.0 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，沙棘叶粉片对模型斑马鱼的 MTC 为 2000 $\mu\text{g/mL}$ 。详见表 2-1。

表 2-1. 样品血管内皮损伤改善功效浓度摸索实验结果（ $n = 30$ ）

组别	浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	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
沙棘叶粉片	125	0	0	与模型对照组状态相似
	250	0	0	与模型对照组状态相似
	500	0	0	与模型对照组状态相似
	1000	0	0	与模型对照组状态相似
	2000	0	0	与模型对照组状态相似

3.2. 躯干血栓发生率评价

在本实验条件下，沙棘叶粉片具有血管内皮损伤改善功效，具体表现为减少斑马鱼躯干血栓发生率。详见表 2-2、图 2-1~图 2-3。

表 2-2. 样品血管内皮损伤改善功效（躯干血栓发生率）评价实验结果（n = 30）

组别	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	总数 (尾)	躯干血栓发生尾数 (尾)	躯干血栓发生率 (%)
正常对照组	-	30	0***	0
模型对照组	-	30	13	43
阿司匹林	50.0	30	5*	17
沙棘叶粉片	500	30	1***	3
	1000	30	0***	0
	2000	30	0***	0

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

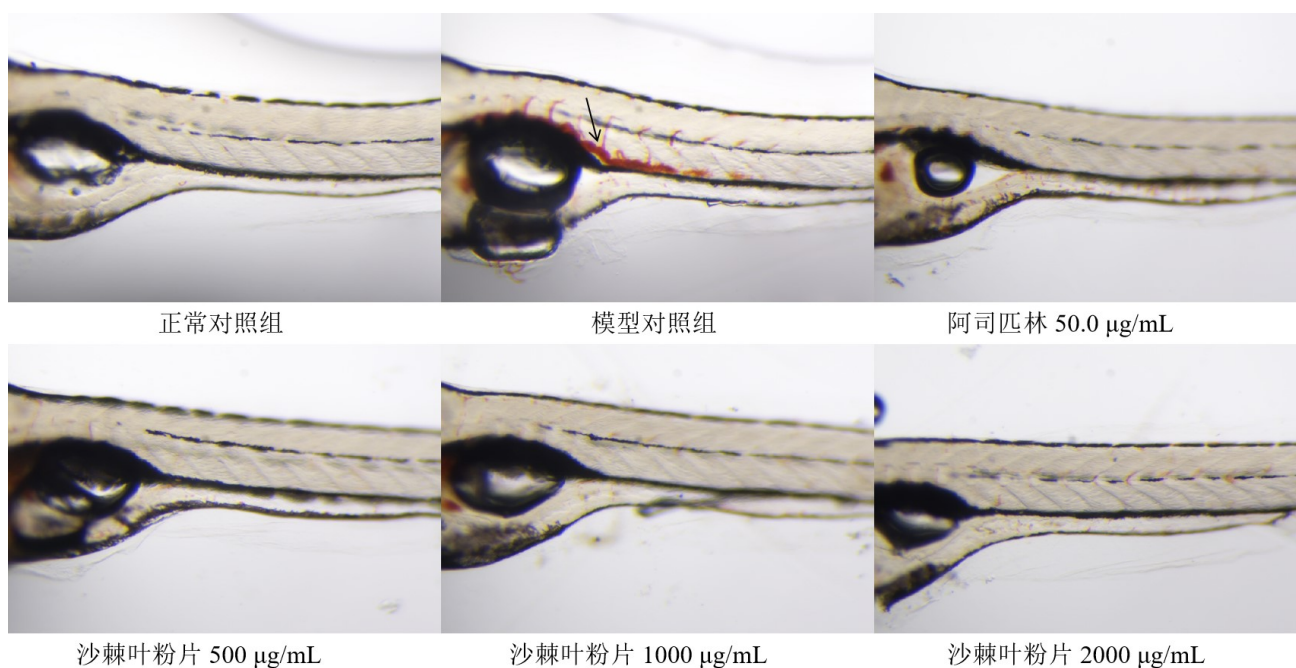


图 2-1. 样品处理后斑马鱼躯干血栓典型图

注：黑色箭头所示为斑马鱼躯干血栓

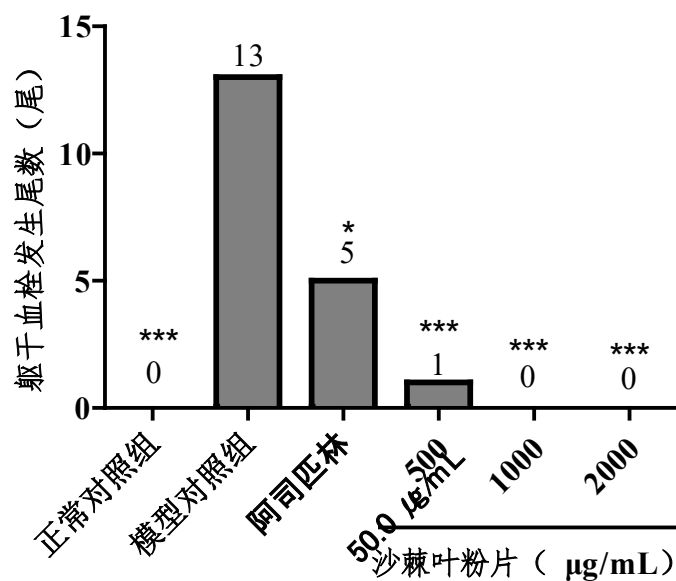


图 2-2. 样品处理后斑马鱼躯干血栓发生尾数

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

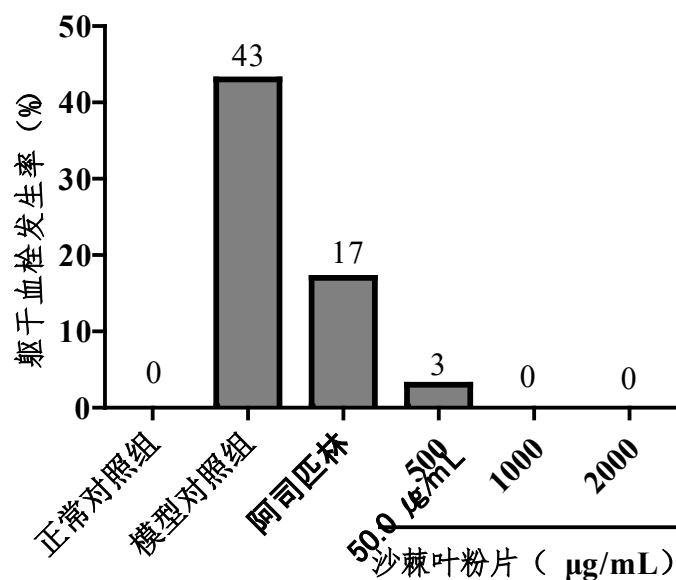


图 2-3. 样品处理后斑马鱼躯干血栓发生率

3.3. 血管内皮损伤改善功效（表型）评价

在本实验条件下，沙棘叶粉片具有血管内皮损伤改善功效，具体表现为增加斑马鱼心脏红细胞染色强度。详见表 2-3、图 2-4 和图 2-5。

表 2-3. 样品血管内皮损伤改善功效（表型）评价实验结果（n = 10）

组别	浓度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	心脏红细胞染色强度 （像素，mean $\pm$ SE）
正常对照组	-	11552 $\pm$ 692***
模型对照组	-	5453 $\pm$ 227
阿司匹林	50.0	8814 $\pm$ 681***
沙棘叶粉片	500	11072 $\pm$ 614**
	1000	11836 $\pm$ 652***
	2000	12033 $\pm$ 397***

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



斑马鱼心脏红细胞染色强度分析区域示例图

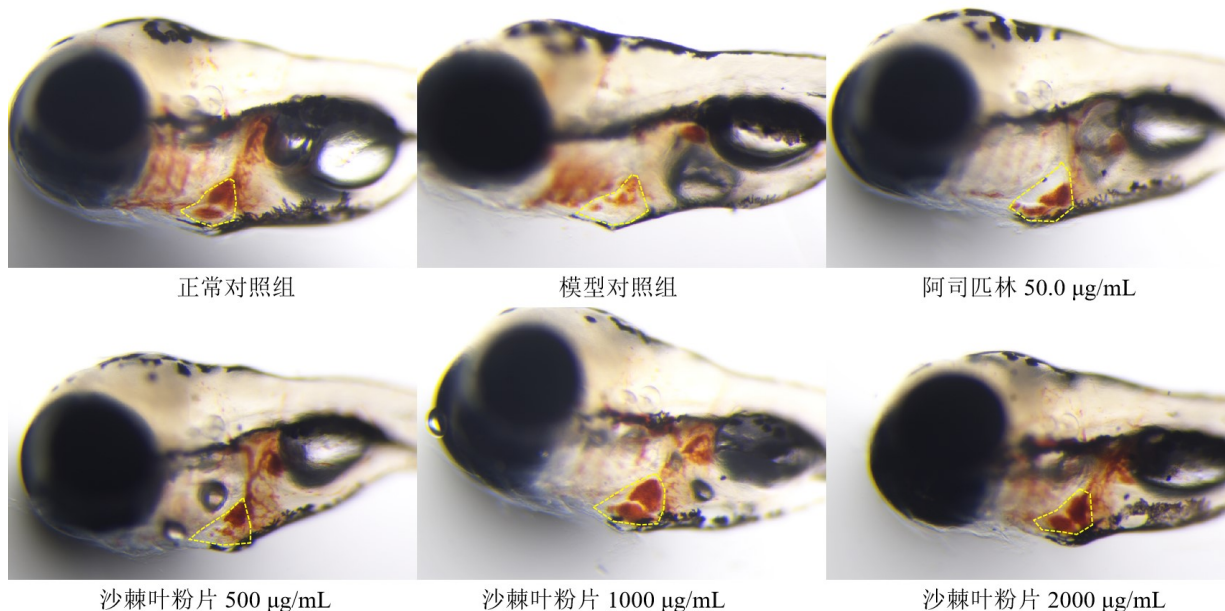


图 2-4. 样品处理后斑马鱼心脏红细胞染色强度典型图

注：黄色虚线框内为斑马鱼心脏分析区域

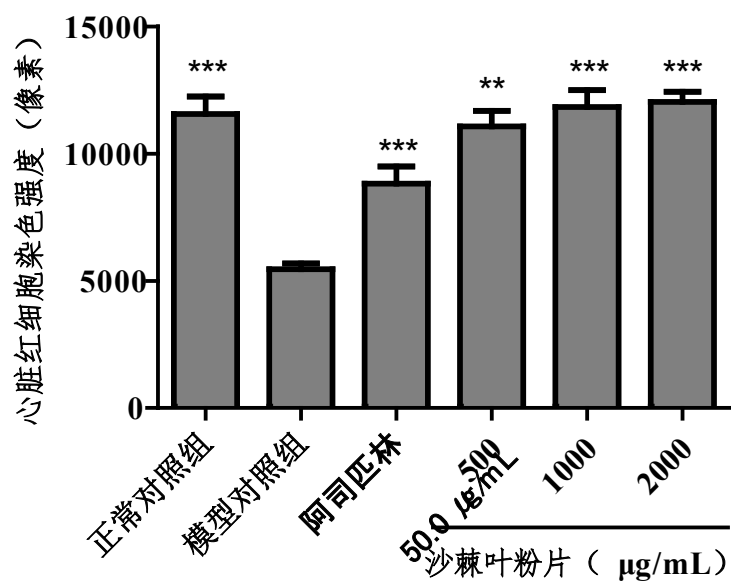


图 2-5. 样品处理后斑马鱼心脏红细胞染色强度
 与模型对照组比较, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

检测人员及分工

项目负责人：戴明珠（实验设计）

项目参与人员：冯洁（实验操作、数据分析和报告撰写）、李方梅（实验操作和数据复核）

质量管理人员：朱家乐、张露娜

检测单位信息

单位名称：北京环特智鱼优检生物科技有限公司

单位地址：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

联系人：孟佳

电话：18500873553

E-mail: mengjia@zhunter.com

委托单位信息

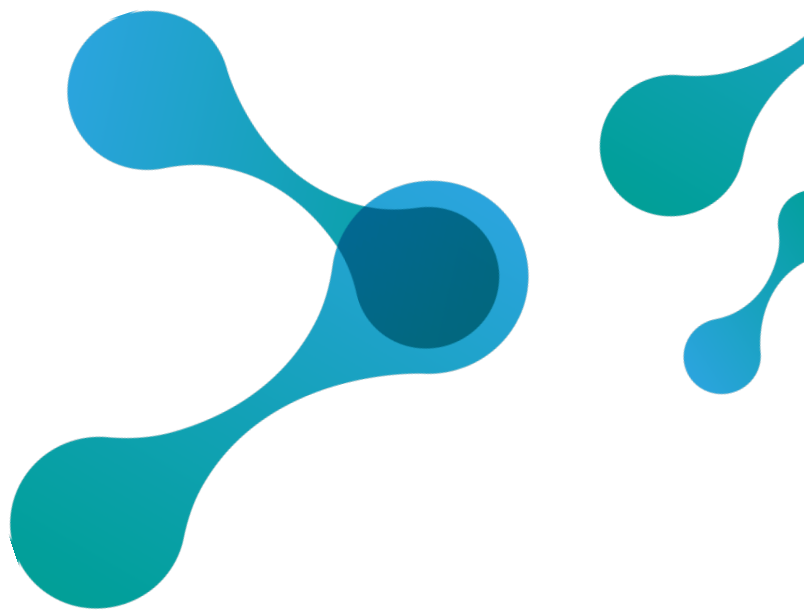
单位名称：常州燕和堂商贸有限公司

单位地址：江苏省常州市钟楼区南大街街道河景花园 45 号

联系人：朱梦娅

电话：13515267758

E-mail: 441748375@qq.com



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.