

样品

解酒保肝功效检测报告

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: 9131

委托单位: 大熊物产株式会社

报告日期: 2024 年 06 月 03 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：解酒保肝功效	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	3
2.1. 最大检测浓度（MTC）测定	3
2.2. 解酒保肝（行为学）功效评价	3
2.3. 解酒保肝（病理切片）功效评价	3
3. 检测结果	3
3.1. MTC	3
3.2. 解酒保肝（行为学）功效评价	4
3.3. 解酒保肝（病理切片）功效评价	5
检测人员及分工	7
检测单位信息	7
委托单位信息	7

样品信息

样品名称	富山健康 解酒护肝养肝片	颜色和物态	黄色锭剂
样品规格及数量	180 粒/瓶 × 3 瓶	收样日期	2024.04.29
生产日期或批号	202401	储存条件	常温

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，由大熊物产株式会社提供的富山健康 解酒护肝养肝片具有解酒保肝功效，具体表现为对斑马鱼行为学和肝脏组织病理学的改善。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：解酒保肝功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

富山健康 解酒护肝养肝片，溶剂标准稀释水。

阳性对照：RU21，白色片剂，批号 25802，Spirit Sciences USA，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 1L 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-2024-9131-01。

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, America）；切片机（KD2258, 金华科迪医疗器械有限公司, China）；电子恒温不锈钢水浴锅（HHS-2S, 上海康路仪器设备有限公司, China）；智能型电热板（400X280, 天津市莱悦纳格实验室仪器销售有限公司, China）；生物显微镜（CX31, OLYMPUS, Japan）；行为分析仪（Zebra Lab 3.22.3.31, Viewpoint, France）；6 孔板（浙江贝兰伯生物技术有限公司, China）；96 孔板（Nest Biotech, China）。

无水乙醇（批号 20230329, 国药集团化学试剂有限公司, China）；4%组织细胞固定液（批号 20210828, 北京索莱宝科技有限公司, China）；二甲苯（批号 C14165111, 上海麦克林生化科技有限公司, China）；PBS 缓冲液（批号 70115000, Biosharp, China）；Mayer 苏木素染色液（批号 20220120, 上海依赫生物科技有限公司, China）；伊红染色液（批号 20220120, 上海依赫生物科技有限公司, China）；中性树胶（批号 330A021, Solarbio, China）；高效切片石蜡（熔点 54-56°C, 批号 20201020, 上海华永石蜡有限公司, China）；高效切片石蜡（熔点 62-64°C, 批号 20210828, 上海华永石蜡有限公司, 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 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。28℃处理 24 h 后，除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予无水乙醇建立斑马鱼兴奋期醉酒模型。28℃继续处理 1 h 后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2. 解酒保肝（行为学）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。水溶给予样品（浓度见表 1-2），阳性对照 RU21 100 µg/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。28℃处理 24 h 后，每组随机选取 10 尾斑马鱼置于 96 孔板中，每孔 1 尾，每孔容量为 200 µL，除正常对照组外，其余实验组均水溶给予无水乙醇建立斑马鱼兴奋期醉酒模型，用行为分析仪检测斑马鱼的总运动距离，以该指标的统计学分析结果评价样品的解酒功效。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。

2.3. 解酒保肝（病理切片）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。水溶给予样品（浓度见图 1-3），阳性对照 RU21 100 µg/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。28℃处理 24 h 后，除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予无水乙醇建立斑马鱼兴奋期醉酒模型。28℃继续处理 1 h 后，将各组斑马鱼经过固定、脱水、包埋、切片、H&E 染色等步骤，进行肝脏组织病理学分析观察。

3. 检测结果

3.1. MTC

在本实验条件下，富山健康 解酒护肝养肝片对解酒保肝功效斑马鱼 MTC 为 1000 µg/mL。详见表 1-1。

表 1-1. 样品解酒保肝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
富山健康 解酒护肝养肝片	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	30	100	-

3.2. 解酒保肝（行为学）功效评价

在本实验条件下，富山健康 解酒护肝养肝片具有解酒功效。详见表 1-2、图 1-1 和图 1-2。

表 1-2 样品解酒保肝（行为学）功效评价实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μg/mL)	总运动距离 (mm, mean ± SE)
正常对照组	-	2549 ± 143***
模型对照组	-	4330 ± 249
RU21	100	2870 ± 190***
富山健康 解酒护肝养肝片	250	3934 ± 306
	500	2957 ± 497
	1000	2425 ± 164**

与模型对照组比较，**p < 0.01，***p < 0.001

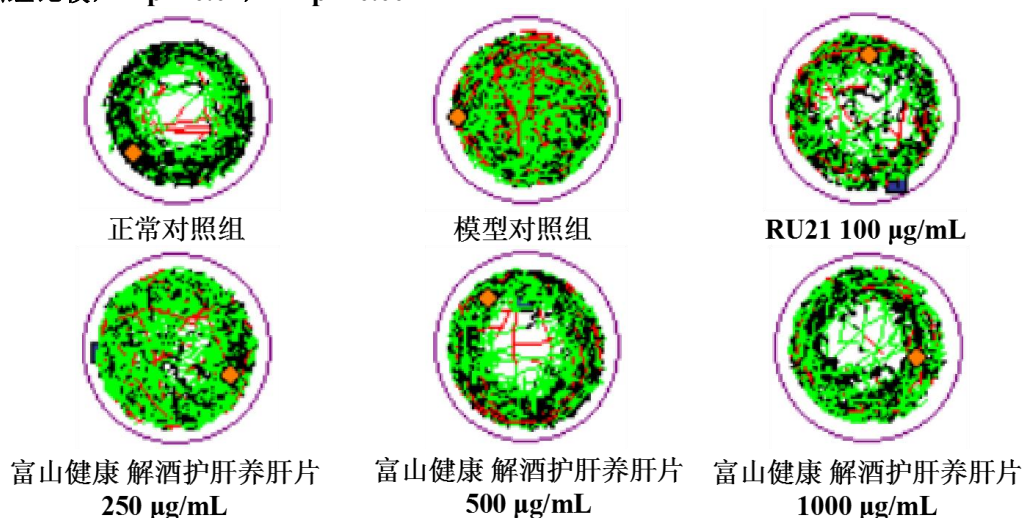


图 1-1. 样品处理后斑马鱼行为典型图

注：黑色线为慢速运动距离、绿色线为中速运动距离、红色线为快速运动距离

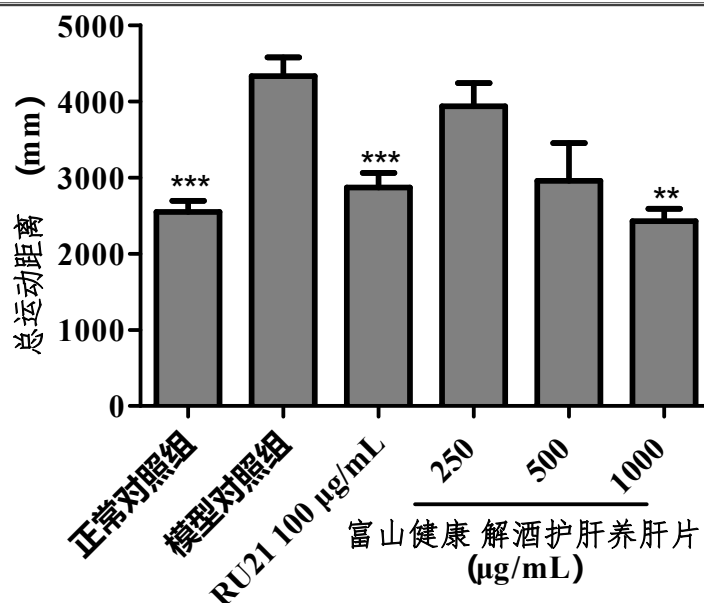


图 1-2. 样品处理后斑马鱼总运动距离
 与模型对照组比较, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

3.3. 解酒保肝（病理切片）功效评价

在本实验条件下，正常对照组斑马鱼肝脏病理组织学检查显示肝细胞核规则清晰，无可见肿大与空泡，肝细胞结构正常，边缘清晰；模型对照组斑马鱼肝脏病理组织学检查显示肝细胞结构模糊、肝组织出现脂肪空泡样变性（黑色箭头），表示模型建立成功。阳性对照 RU21 斑马鱼肝脏病理组织学检查显示肝细胞结构较模型对照组清晰，肝组织脂肪空泡样变性减少，表明 RU21 具有酒精性脂肪肝保护功效。富山健康 解酒护肝养肝片在 250 µg/mL 浓度组，斑马鱼肝脏病理组织学检查显示肝细胞结构模糊、肝组织出现脂肪空泡样变性；在 500 和 1000 µg/mL 浓度组，斑马鱼肝脏病理组织学检查显示肝细胞结构较模型对照组清晰，肝组织脂肪空泡样变性减少，表明富山健康 解酒护肝养肝片具有酒精性脂肪肝保护功效。详见图 1-3。

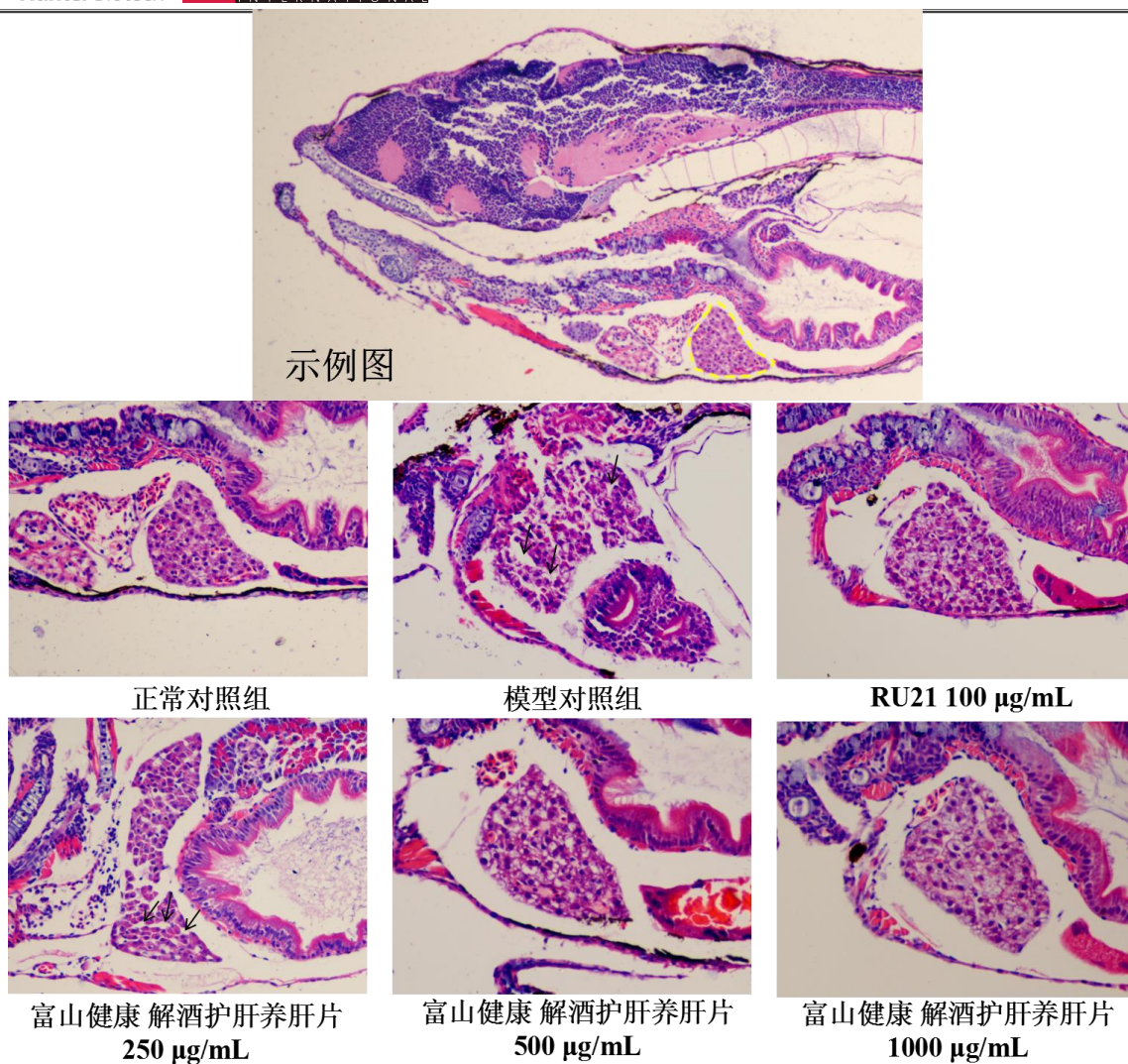


图 1-3. 样品处理后斑马鱼肝脏病理切片典型图

注：黄色虚线框为分析部位斑马鱼肝脏，黑箭头所指为脂肪空泡样变性

检测人员及分工

项目负责人：周佳丽（实验设计）

项目参与人员：夏波（实验操作、数据分析和实验报告撰写），陈怡璇（实验操作和数据分析）

质量管理人员：游佳玲、朱家乐

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 号楼 1-2 楼

联系人：吴珏

电话：18367501062

E-mail: wj@zhunter.com

委托单位信息

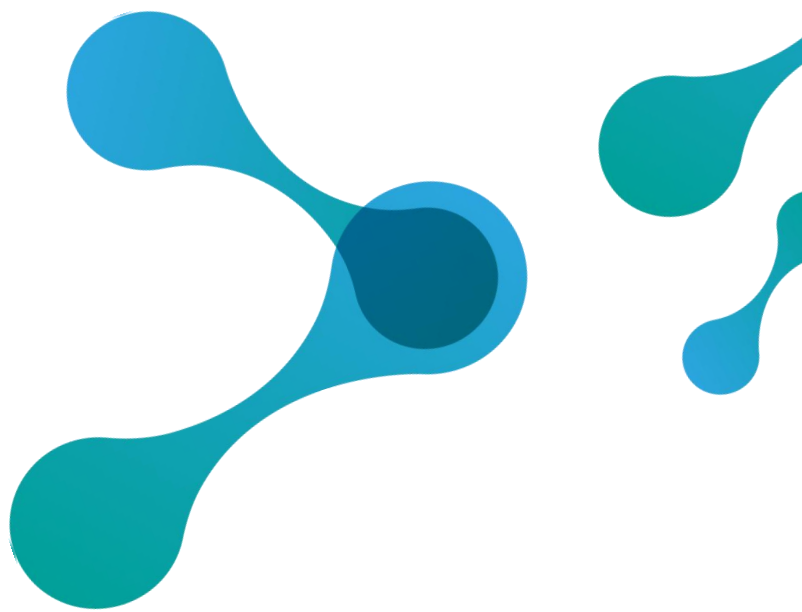
单位名称：大熊物产株式会社

单位地址：大阪市西淀川区柏里 2 丁目 1 番 8 号

联系人：何彬彬

电话：186012599410

E-mail: 398125312@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.