

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: 10067

委托单位: NUTRUM BIOTECH INC.

报告日期: 2024 年 11 月 07 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：酒精性脂肪肝辅助保护功效.....	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）测定.....	2
2.2. 酒精性脂肪肝辅助保护功效评价（ADH 含量）.....	3
3. 检测结果.....	3
3.1. MTC.....	3
3.2 酒精性脂肪肝辅助保护功效评价（ADH 含量）.....	3
检测项目 2：非酒精性脂肪肝的辅助保护功效.....	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 对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效评价.....	6
3. 检测结果.....	6
3.1 MTC.....	6
3.2 对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效评价.....	6
检测人员及分工.....	8
检测单位信息.....	8

委托单位信息.....	8
-------------	---

样品信息

样品名称	护肝胶囊	颜色和物态	颗粒
样品规格及数量	1 瓶	收样日期	2024.09.23
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 NUTRUM BIOTECH INC.提供的护肝胶囊具有酒精性脂肪肝辅助保护功效和非酒精性脂肪肝的辅助保护功效。其中酒精性脂肪肝辅助保护功效具体表现为提高斑马鱼 ADH 含量。

（本检测报告仅对接收样品的测试结果负责）

检测项目 1：酒精性脂肪肝辅助保护功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

护肝胶囊，溶剂为标准稀释水。

阳性对照：RU21，黄色粉末，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 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-2024-10067-01。

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）；96 孔板（Nest Biotech, China）；超声波清洗机（JP-010T, 深圳市洁盟清洗设备有限公司, China）；多功能酶标仪（SPARK, TECAN, Austria）；全自动样品快速研磨仪（JXFSTPRP-24L, 上海净信实验设备科技部, China）；高速冷冻离心机（Heracus Fresco17, ThermoFisher, Germany）。

无水乙醇（批号 20230106, 国药集团化学试剂有限公司, China）；Zebrafish ADH Elisa Kit（批号 202407, 上海酶联生物科技有限公司, China）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（批号 AR1189, 博士德生物工程有限公司, 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。水浴给予样品（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。除正常对照组外，其余各实验组均水溶给予无水乙醇建立斑马鱼酒精性脂肪肝模型。28℃处理 30 h 后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2. 酒精性脂肪肝辅助保护功效评价（ADH 含量）

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。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酒精性脂肪肝模型。平行设置 3 次实验。28℃处理 30 h 后，采用 ADH 测定试剂盒，利用多功能酶标仪采集数据，分析斑马鱼体内 ADH 含量，以该指标的统计学分析结果评价样品的酒精性脂肪肝辅助保护功效。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，护肝胶囊对酒精性脂肪肝辅助保护功效斑马鱼 MTC 为 250 µg/mL。详见表 1-1。

表 1-1. 样品酒精性脂肪肝辅助保护功效浓度摸索实验结果（n = 30）

组别	浓度（µg/mL）	死亡数	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
护肝胶囊	62.5	0	0	与模型对照组状态相似
	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	30	100	-
	1000	30	100	-

3.2 酒精性脂肪肝辅助保护功效评价（ADH 含量）

在本实验条件下，护肝胶囊具有酒精性脂肪肝辅助保护功效，具体表现为提高斑马鱼 ADH 含量。详见表 1-2 和图 1-1。

表 1-2. 样品酒精性脂肪肝辅助保护功效 (ADH 含量) 评价实验结果 (n = 3)

组别	浓度 (μg/mL)	ADH 含量 (ng/mgprot, mean ± SE)
正常对照组	-	0.923 ± 0.012***
模型对照组	-	0.718 ± 0.016
RU21	100	0.799 ± 0.013*
护肝胶囊	250	0.811 ± 0.012*

与模型对照组比较, *p < 0.05, ***p < 0.001

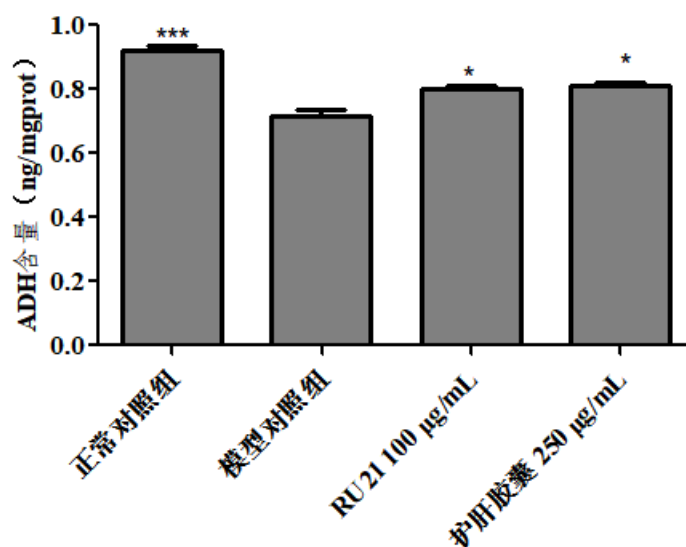


图 1-1. 样品处理后斑马鱼 ADH 含量

与模型对照组比较, *p < 0.05, ***p < 0.001

检测项目 2：非酒精性脂肪肝的辅助保护功效

1. 检测材料

1.1. 样品配制信息

护肝胶囊，溶剂为标准稀释水。

阳性对照：S-腺苷甲硫氨酸对甲苯磺酸盐（以下简称 SAM），白色粉末，批号 A1810036，上海阿拉丁生化科技股份有限公司，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-2024-10067-01。

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）。

油红 O（Oil Red O, 批号 SHBN4926, Sigma, USA）；1,2-丙二醇（批号 20220701, 国药集团化学试剂有限公司, China）；二甲基亚砜（DMSO, 批号 BCCD8942, Sigma, Switzerland）；硫代乙酰胺（TAA, 批号 D2129221, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；甲基纤维素（批号 C2004046, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, China）；4%组织细胞固定液（批号 20210828, 北京索莱宝有限公司, China）。

2. 检测方法

2.1 MTC 测定

随机选取 3 dpf 黑色素等位基因突变型 Albino 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 TAA 建立斑马鱼非酒精性脂肪肝模型。28℃处理 3 天后，测定样品对模型斑马鱼的 MTC。

2.2 对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效评价

随机选取 3 dpf 黑色素等位基因突变型 Albino 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 2-2），阳性对照 SAM 50.0 μ M 浓度组，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 TAA 建立斑马鱼非酒精性脂肪肝模型。28℃处理 3 天后，收样，油红 O 染色，每个实验组随机选取 10 尾斑马鱼置于解剖显微镜下拍照，用 NIS-Elements D 3.20 高级图像处理软件分析并采集数据，分析斑马鱼肝脏脂肪染色强度，以该指标的统计学分析结果评价样品对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效。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，护肝胶囊对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效斑马鱼 MTC 为 125 μ g/mL。详见表 2-1。

表 2-1. 样品对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效浓度摸索实验结果(n = 30)

组别	浓度 (μ 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
护肝胶囊	62.5	0	0	与模型对照组状态相似
	125	0	0	与模型对照组状态相似
	250	30	100	-
	500	30	100	-
	1000	30	100	-

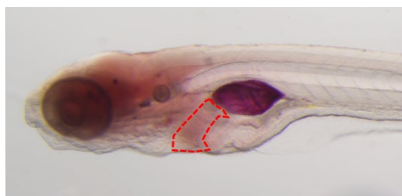
3.2 对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效评价

在本实验条件下，护肝胶囊具有非酒精性脂肪肝的辅助保护功效。详见表 2-2、图 2-1 和图 2-2。

表 2-2. 样品对非酒精性脂肪肝的辅助保护功效评价实验结果 (n = 10)

组别	浓度 (μg/mL)	肝脏脂肪染色强度 (像素, mean ± SE)
正常对照组	-	6024 ± 357***
模型对照组	-	11153 ± 398
SAM	50.0 μM	8708 ± 269***
护肝胶囊	125	9764 ± 325*

与模型对照组比较, *p < 0.05, ***p < 0.001



示意图

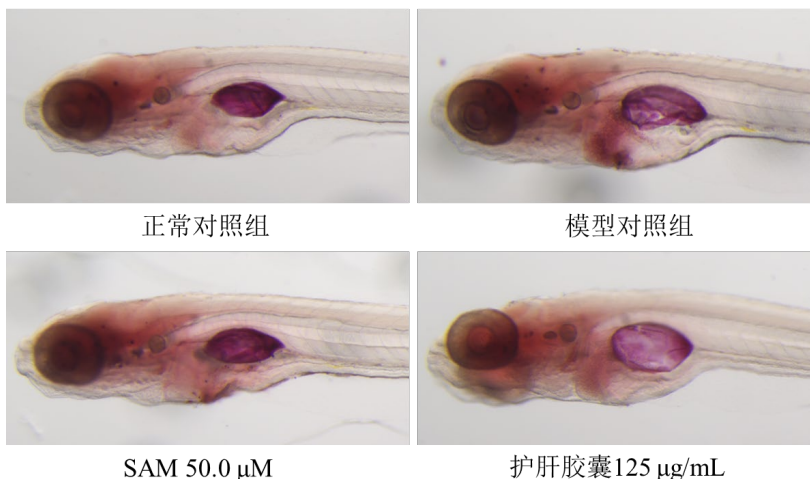


图 2-1. 样品处理后斑马鱼肝脏脂肪染色强度典型图

注: 红色虚线框为肝脏

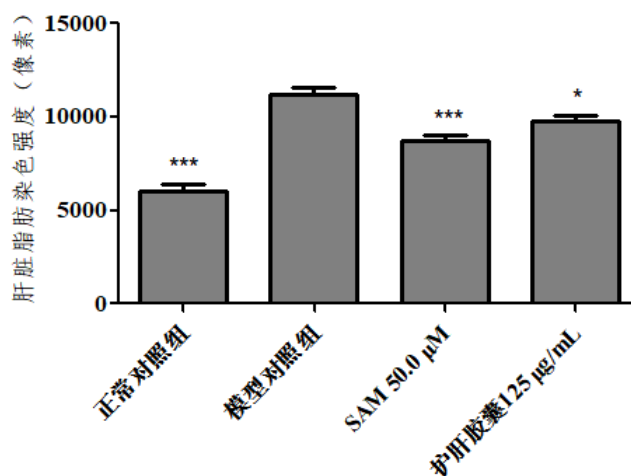


图 2-2 样品处理后斑马鱼肝脏脂肪染色强度

与模型对照组比较, *p < 0.05, ***p < 0.001

检测人员及分工

项目负责人：周佳丽（实验设计和数据复核）

项目参与人员：刘仁燕（实验操作、数据分析和报告撰写）

质量管理人員：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：叶榕

电话：13799378331

E-mail: yerong@zhunter.com

委托单位信息

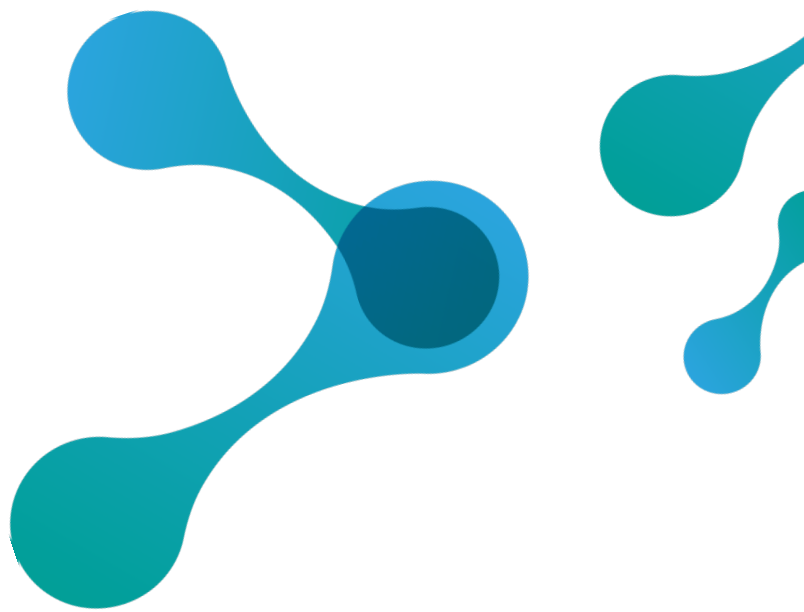
单位名称：NUTRUM BIOTECH INC.

单位地址：6877 S.Eastern Avenue, Las Vegas, NV 89119

联系人：张鑫

电话：15901557098

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.