

欣研检测报告

Xin Yan Test Report

报告编号: XYJCR241011-012-1

样品名称: 黄花蒿叶提取物

检测项目: 抗炎

委托单位: 西安洛迦生物技术有限公司

签发日期: 2025.02.18

广东欣研检验检测有限公司

检验检测专用章

Inspection & Testing Service

GUANGDONG XINYAN INSPECTING & TESTING CO., LTD.

声明

- 一、本检测报告仅对接收样品负责。
- 二、本检测报告涂改增删无效，未加盖检验检测专用章无效，复印件无效，纸质版多页报告无骑缝章无效（PDF 电子版报告除外）。
- 三、本机构对委托单位所提供的样品和技术资料保密。
- 四、除全文复制外，未经本机构同意不得部分复制本报告。
- 五、对本报告若有异议，应于收报告之日起十五日内向本机构提出，逾期不予受理。
- 六、对检测报告的修改，原报告编号为 XYJCR241011-012，新报告编号为 XYJCR241011-012-1，新报告编号代替原报告编号，原报告作废，以新报告为准。

检测机构：广东欣研检验检测有限公司

联系地址：佛山市三水区大塘镇工业园区大塘园清盈路 2 号 F4 2 楼、3 楼、4 楼（住所申报）

联系电话：0757-87271826

邮政编码：528143

(.....本页结束.....)

一、检测及样品信息

委托人 (单位)	西安洛迦生物技术有限公司	地 址	西安市高新区高新二路 14 号联创智 荟 A-108-30 号
联 系 人	/	联 系 电 话	/
商 标	/	邮 箱	/
样品名称 (中文)	黄花蒿叶提取物	样品名称 (英文)	/
生产商	西安洛迦生物技术有限公司	生产商地址	西安市高新区高新二路 14 号联创智 荟 A-108-30 号
样品规格及数量	10g/瓶、共 2 瓶	生产日期或批号	P20240613
样品颜色及性状	油状液体	有效期或限用日期	2 年
接 样 日 期	2024.10.11	试验开始日期	2024.10.11
		试验完成日期	2024.10.24
检 测 项 目	抗炎测试	检 测 依 据	实验方法 (XYJC-SOP-CE-045 体外炎症因 子含量测试方法)
检测结论	<p>按照实验方法 (XYJC-SOP-CE-045 体外炎症因子含量测试方法), 在满足试验系统有效的基础上, 选取试验样品浓度在 0.1 % 时, 细胞活性较高, 其 IL-6 抑制率为 26.40 %, 样品组的炎症因子含量低于阴性对照组的炎症因子含量, 样品组与阴性对照相比, 具有显著性差异 ($P < 0.05$), 即试验样品在 0.1 % 的浓度下, 有明显抑制细胞 IL-6 炎症因子含量的能力, 表明样品具有抗炎效果。</p>		
备注	/		

编制人签字:



2025 年 02 月 18 日

校核人签字:

2025 年 02 月 18 日

授权签字人签字:

2025 年 02 月 18 日

(.....本页结束.....)

二、原理和方法

1. 测试原理

细菌脂多糖(LPS)与巨噬细胞表面抗原识别受体相结合,诱导巨噬细胞,分泌IL-6等多种细胞因子。IL-6可以激活Caspase蛋白酶、JNK和转录因子NF- κ B三条信号通路,实现其细胞毒性,抗病毒,免疫调节和细胞凋亡等生物学功能,是重要的炎症因子之一。

IL-6含量的测定采用酶联免疫方法(ELISA),具体原理为:IL-6与包被在酶标板上的IL-6抗体特异性结合后,与带有底物标记的抗IL-6抗体结合,底物被酶催化后,生成有色产物,IL-6含量与有色产物颜色的深浅呈正相关。

本试验方法为体外法,提供一种巨噬细胞IL-6炎症因子含量的检测方法,可作为化妆品原料抗炎称谓的证据支持之一。

2. 主要仪器设备与试剂

2.1 主要仪器设备:

Yamato/HQIP610 二氧化碳培养箱;
HQ/HQICX 倒置荧光显微镜;
DL-6000B 低速冷冻离心机;
SYNERGY-H1 全波长多功能酶标仪。

2.2 主要试剂耗材:

巨噬细胞(RAW 264.7 细胞);
DMEM 高糖培养基;
胎牛血清;
青霉素-链霉素混合溶液(100 \times 双抗);
细菌脂多糖(LPS);
地塞米松。

(.....本页结束.....)

2.3 受试物:

空白对照组: 基础培养液 (细胞活性试验及含量测定);

阴性对照组: 含 LPS 的基础培养基 (含量测定);

阳性对照组: 100 μ g/mL 地塞米松+含 LPS 的基础培养基 (含量测定);

样品组: 样品+基础培养基 (细胞活性试验); 样品+含 LPS 的基础培养基 (含量测定)。

3. 测试方法

3.1 细胞培养:

取冷冻保存的细胞培养物以一个合适的密度接种到常规培养基中用于试验。

3.2 细胞活性检测:

取 RAW264.7 细胞铺 96 孔板, 24 h 后吸弃培养基, 加入含有不同浓度试验样品的基础培养基, 24 h 后 MTT 法检测 OD490nm, 并通过计算分析得出试验样品对 RAW264.7 细胞活性的影响。

3.3 IL-6 炎症因子含量测定:

取 RAW264.7 细胞铺 96 孔板, 培养 24 h 后, 更换为含有不同浓度试验样品的基础培养基, 24 h 后, 收集细胞上清, 离心。吸取上清, 用 ELISA 试剂盒测定细胞培养上清中的 IL-6 含量, 得出试验样品对巨噬细胞 IL-6 含量的影响。

4. 分析

4.1 计算公式:

4.1.1 各浓度药物干预后的细胞存活率:

$$\text{存活率}(\%) = \frac{A_{\text{样品}}}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

4.1.2 IL-6 抑制率:

$$\text{抑制率}(\%) = \left(1 - \frac{T}{C}\right) \times 100\%$$

(.....本页结束.....)

4.2 数据分析:

经统计学软件分析可知,受试物在所选取的浓度时,样品组和阴性对照之间的比较采用双尾检验,显著性水平为 $\alpha=0.05$ 。 $P>0.05$,表示两组之间无显著性差异; $P<0.05$,表示两组之间具有显著性差异。

4.3 试验系统有效性:

阴性对照组的 IL-6 含量高于空白对照组,且两者具有显著性差异;阳性对照的 IL-6 含量抑制率 $\geq 25\%$,则认为试验系统有效。

5. 结果分析

①当样品对应浓度的细胞存活率 $>90\%$,且样品组细胞与阴性组细胞的形态无明显差异时,则说明样品在该浓度下无明显细胞毒性,则选用该浓度进行试验。

②阳性对照与阴性对照相比,IL-6 含量抑制率 $\geq 25\%$,则认为试验系统有效。统计酶标仪测得的各组平行孔间吸光度的标准差 (Standard Deviation, SD),并计算变异系数 (Coefficient of Variation, C.V),C.V 值须 $\leq 20\%$,则认为试验平行性有效。

三、试验结果

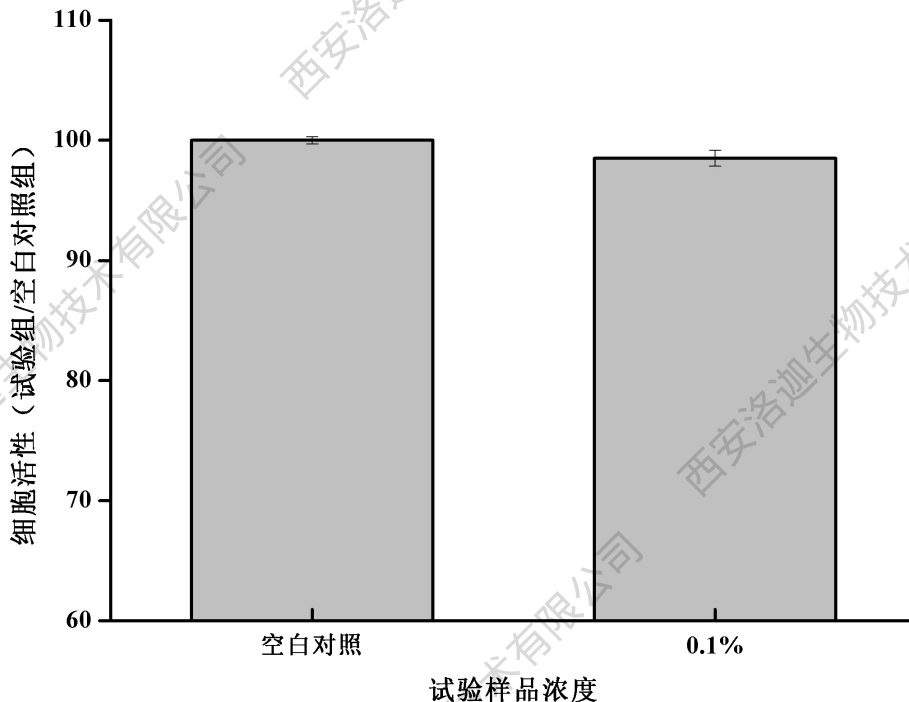


图 1.各浓度受试物对细胞活性的影响

(.....本页结束.....)

表 1 试验结果表

组别	IL-6 抑制率	单位	P 值	C.V 值
阴性对照组	/	/	/	/
阳性对照组	35.80±0.41	%	< 0.05	1.14%
样品组	26.40±2.50	%	< 0.05	9.48%

四、结论

按照实验方法 (XYJC-SOP-CE-045 体外炎症因子含量测试方法), 在满足试验系统有效的基础上, 选取试验样品浓度在 0.1 %时, 细胞活性较高, 其 IL-6 抑制率为 26.40 %, 样品组的炎症因子含量低于阴性对照组的炎症因子含量, 样品组与阴性对照相比, 具有显著性差异 (P<0.05), 即试验样品在 0.1 %的浓度下, 有明显抑制细胞 IL-6 炎症因子含量的能力, 表明样品具有抗炎效果。

参考文献:

[1] T/SHRH 034-2021 《化妆品舒缓功效测试-体外炎症因子含量测定脂多糖诱导巨噬细胞 RAW264.7 测试方法》

*******报告结束*******