

神香苏合丸防治心血管疾病的实验研究

朱晓宇,刘洪翠,俞航萍,郭胜亚,劳乔聪,李春启

(杭州环特生物科技股份有限公司,杭州 310051)

摘要: 利用斑马鱼心血管疾病模型研究神香苏合丸的药效。用维拉帕米诱导心衰模型评价对心衰心脏功能的改善,用氯化钴诱导缺氧模型评价对缺氧运动耐受力影响,酶标法评价清除自由基(ROS)效果,用花生四烯酸诱导血栓模型评价预防血栓效果。结果显示:浓度为5、16.7 $\mu\text{g/mL}$ 和50 $\mu\text{g/mL}$ 的神香苏合丸对心衰心脏扩大改善率分别为66%、92%和75%,静脉瘀血改善率45%、49%和13%,心输出量增加率为55%、59%和51%,血流速度增加率为62%、55%和47%;浓度为15、50 $\mu\text{g/mL}$ 和150 $\mu\text{g/mL}$ 的神香苏合丸提高缺氧耐受力分别为15%、28%和46%;浓度为2.67、8 $\mu\text{g/mL}$ 和26.7 $\mu\text{g/mL}$ 的神香苏合丸对ROS清除率分别为78%、107%和118%;浓度为50 $\mu\text{g/mL}$ 时预防血栓效率为49%。神香苏合丸对心脏功能、缺氧运动耐受力有改善作用,有抗氧化能力,能预防血栓形成。

关键词: 斑马鱼;神香苏合丸;心脏功能;缺氧;自由基;血栓

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3851(2016)04-0630-06 **引用页码:** 070703

0 引言

随着人类生活环境和膳食习惯的变化,心脑血管疾病的发病率和死亡率逐年增高^[1]。药物筛选是开发药物过程中一个重要的环节,实验模型的建立对评价与筛选药物至关重要。体外模型具有快速高效的优点,但其筛选结果与动物及人体的可比性较差。以斑马鱼(*Danio rerio*)为模型建立的体内实验弥补了这一不足^[2]。

斑马鱼为脊椎动物,其心血管系统在分子信号通路上与人和哺乳动物的同源性达到85%以上,近年来斑马鱼广泛地被用于心血管疾病研究领域,如心力衰竭、血栓、心律失常、心肌病、动脉粥样硬化等^[3-4]。斑马鱼作为模式动物具有很多优势:胚胎透明,可同时观察分析多个器官,实验周期短,样本容量大,结果可信度高,所需费用低,已成功应用于药物药效学、毒理学及药物代谢等方面的研究^[5-10]。神香苏合丸(Shenxiang Suhe Pill, SSP)由安息香、苏合香、冰片等味中药组成。本文应用斑马鱼模型,评价了神香苏合丸对心衰心脏功能改善、缺氧运动耐受力改善、清除自由基和预防血栓效果。

1 实验

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

实验用动物是野生型AB品系斑马鱼,胚胎的繁殖方式是自然成对交配。在受精后6 h(hours post fertilization, 6 hpf)和24 hpf 移除已死亡胚胎,并根据胚胎的发育阶段挑选实验用胚胎^[2, 11]。在28 $^{\circ}\text{C}$ 条件下用养鱼用水孵育胚胎(养鱼用水水质: pH 为6.9~7.2;硬度为53.7~71.6 mg/L CaCO_3);电导率为480~510 $\mu\text{S/cm}$ 。因为胚胎可从自身的卵黄囊中获取营养物质,所以在受精后9天内(9 dpf)不需要喂食^[2, 11]。实验动物使用许可证编号为:SYXK(浙)2012-0171。饲养管理符合国际AAALAC认证的要求。

1.1.2 实验药品与试剂

神香苏合丸(批号1402202,杭州胡庆余堂药业有限公司提供)。CM(LOT1524917, Life Technologies公司);GSH(批号45463,阿拉丁);维

收稿日期:2015-09-08

基金项目:国家火炬计划项目(gjxm69)

作者简介:朱晓宇(1985-),女,山东菏泽人,硕士,主要从事药理毒理学方面的研究。

通信作者:李春启, E-mail: jackli@zhunter.com

拉帕米(批号 E1216038,阿拉丁);地高辛(批号 D102298,阿拉丁);二甲基亚砜(DMSO,批号 67-68-5, Sigma);阿司匹林(批号 059K0199,阿拉丁);邻联茴香胺(批号 MKBG4648V, Sigma);花生四烯酸(批号 F1418031,阿拉丁);MESAB(批号 20110216, Sigma);甲基纤维素(批号 20110521, Sigma)。

1.1.3 实验仪器

解剖显微镜(SMZ645, Nikon, Japan);6孔板(Nest Biotech, Shanghai, China);96孔板(Nest Biotech, Shanghai, China);行为分析仪(V3, Viewpoint Life Sciences, France);多功能酶标仪(Mithras LB940, Berthold Technologies);心跳血流分析系统(Zebralab3.3 (PB2084C), Viewpoint Life Sciences, France);精密电子天平(CP214, 奥豪斯)。

1.2 实验方法

1.2.1 心衰心脏功能的改善作用评价

挑取150尾发育正常的4 dpf野生型AB品系斑马鱼幼鱼,用200 μ M 维拉帕米处理4 h建立斑马鱼心衰模型;造模后分别用浓度为5、16.7 μ g/mL和50 μ g/mL的神香苏合丸处理3 h;每个浓度均处理30尾斑马鱼。同时设置模型组和空白组,阳性对照组给予0.1 μ g/mL地高辛。药物处理结束后,每组随机取10尾斑马鱼置于心跳血流分析系统下检测斑马鱼心输出量(O)和血流速度(V);然后用0.16 mg/mL MESAB进行麻醉,在显微镜下观察、拍照,计算心脏扩大面积(A)和静脉淤血面积(B),定量评价神香苏合丸对心衰心脏功能的改善作用。计算公式如下:

a)对心衰引起的心包水肿的治疗作用:

$$\begin{aligned} & \text{心脏扩大改善率}(\%) \\ &= \frac{A(\text{模型组}) - A(\text{药物组})}{A(\text{模型组}) - A(\text{空白组})} \times 100\% \end{aligned}$$

b)对心衰引起的静脉瘀血的改善:

$$\begin{aligned} & \text{静脉瘀血改善率}(\%) \\ &= \frac{B(\text{模型组}) - B(\text{药物组})}{B(\text{模型组}) - B(\text{空白组})} \times 100\% \end{aligned}$$

c)对心输出量的影响:

$$\begin{aligned} & \text{心输出量增加率}(\%) \\ &= \frac{O(\text{药物组}) - O(\text{模型组})}{O(\text{空白组}) - O(\text{模型组})} \times 100\% \end{aligned}$$

d)对血流速度的影响:

$$\begin{aligned} & \text{血流速度增加率}(\%) \\ &= \frac{V(\text{药物组}) - V(\text{模型组})}{V(\text{空白组}) - V(\text{模型组})} \times 100\% \end{aligned}$$

1.2.2 缺氧运动耐受力影响评价

挑取150尾发育正常的受精后5 d(5 dpf)野生型AB品系斑马鱼幼鱼,用浓度为15、50 μ g/mL和150 μ g/mL的神香苏合丸预处理2 h后,加入氯化钴造成缺氧模型,每个浓度处理30尾斑马鱼。同时设置模型组和空白组,神香苏合丸和氯化钴共同处理24 h后,每组随机选取10尾斑马鱼置于行为分析仪中,检测斑马鱼在缺氧条件1 h内的运动距离(D),计算缺氧耐受力改善率,定量评价神香苏合丸对斑马鱼的抗缺氧能力。计算公式如下:

$$\begin{aligned} & \text{缺氧耐受力改善率}(\%) \\ &= \frac{D(\text{药物组}) - D(\text{模型组})}{D(\text{空白组}) - D(\text{模型组})} \times 100\% \end{aligned}$$

1.2.3 清除自由基(ROS)效果评价

挑取70尾发育正常的受精后4 d(4 dpf)野生型AB品系斑马鱼幼鱼,用ROS特异性荧光检测试剂处理20 h,建立斑马鱼检测自由基(ROS)模型;用浓度为8、26.7 μ g/mL和80 μ g/mL的神香苏合丸处理模型组斑马鱼20 h;每个浓度均处理10尾斑马鱼。同时设置模型组,阳性对照组给予100 μ M谷胱甘肽。药物处理结束后,每组随机取8尾斑马鱼置于96孔酶标板,应用多功能酶标仪对各实验组进行荧光(F)定量分析,化合物对ROS影响的药理学计算公式如下:

$$\begin{aligned} & \text{ROS清除率}(\%) \\ &= \frac{F(\text{模型组}) - F(\text{药物组})}{F(\text{模型组})} \times 100\% \end{aligned}$$

1.2.4 预防血栓效果评价

挑取150尾发育正常的受精后3 d(3 dpf)黑色素等位基因突变型Albino品系斑马鱼幼鱼,用浓度为5、16.7 μ g/mL和50 μ g/mL的神香苏合丸预先处理3 h;然后用80 μ M花生四烯酸处理1.5 h建立斑马鱼血栓模型;每个浓度均处理30尾斑马鱼。同时设置模型组和空白组,阳性对照组给予22.5 μ g/mL阿司匹林。药物处理结束后,用邻联茴香胺染色液染色,每组随机挑选10尾斑马鱼在显微镜下观察、拍照;计算心脏红细胞染色强度(S),定量评价神香苏合丸对血栓的预防作用。计算公式如下:

$$\begin{aligned} & \text{预防血栓药效}(\%) \\ &= \frac{S(\text{药物组}) - S(\text{模型组})}{S(\text{空白组}) - S(\text{模型组})} \times 100\% \end{aligned}$$

1.2.5 统计学分析

结果用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。用方差分

析进行数据处理, $P < 0.05$ 表明具有显著性差异。作图用 GraphPad 5.0 软件。

2 实验结果

2.1 心衰心脏功能的改善作用

维拉帕米诱导的心衰模型组斑马鱼表现出心脏扩大、静脉淤血、心输出量减少和血流速度减少。0.1 $\mu\text{g/mL}$ 地高辛治疗后, 斑马鱼心脏扩大和静脉淤血明显改善, 心输出量和血流速度明显增加, 其心脏扩大改善率为 70%, 静脉淤血改善率为 38%, 心输出量增加率为 34%, 血流速度增加率为 37%, 各

组与模型组相比, 统计学差异极显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。浓度为 5、16.7 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 神香苏合丸治疗后, 斑马鱼心脏扩大和静脉淤血明显改善, 心输出量和血流速度明显增加, 其心脏扩大改善率分别为 66%、92% 和 75%, 静脉淤血改善率分别为 45%、49% 和 13%, 心输出量增加率分别为 55%、59% 和 51%, 血流速度增加率分别为 62%、55% 和 47%; 与模型组相比, 统计学差异均显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) (表 1, 图 1), 说明神香苏合丸对心衰具有很好的心脏功能改善作用。

表 1 神香苏合丸对心衰心脏功能的改善作用 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度/ $(\mu\text{g/mL})$	心脏扩大改善率/%	静脉淤血改善率/%	心输出量增加率/%	血流速度增加率/%
地高辛	0.1	70***	38**	34***	37***
	5	66***	45***	55***	62***
神香苏合丸	16.7	92***	49***	59***	55***
	50	75***	13***	51*	47***

注: 与模型组相比, * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$ 。

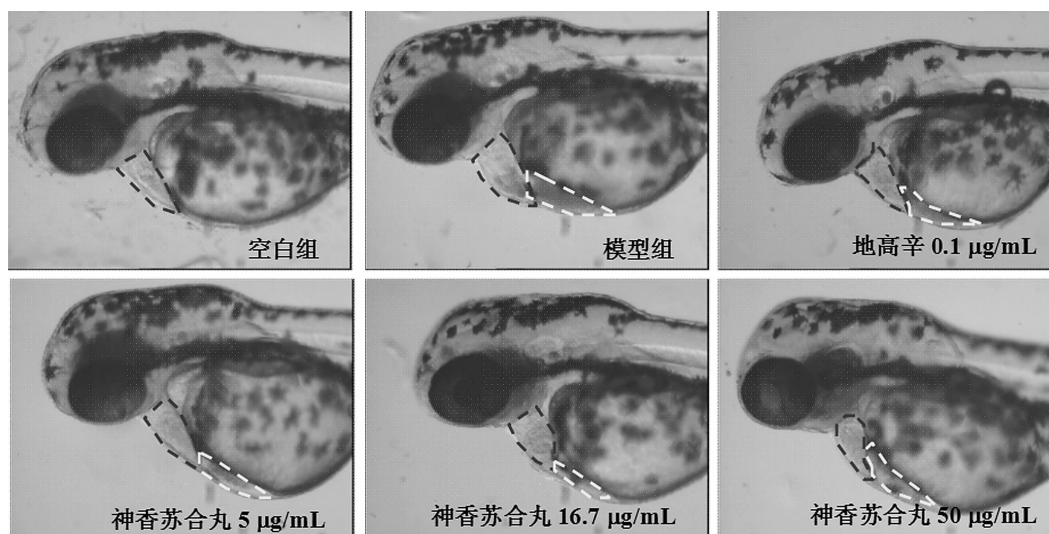


图 1 神香苏合丸心衰心脏功能改善表型图

图 1 中黑色虚线区域为心脏面积, 白色虚线区域为静脉淤血面积。模型组斑马鱼与空白组比较, 心脏明显扩大且静脉淤血严重; 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 地高辛组斑马鱼心脏扩大和静脉淤血明显改善; 浓度为 5、16.7 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$ 神香苏合丸处理后, 斑马鱼心脏扩大和静脉淤血明显改善。

2.2 评价对缺氧运动耐受力的影响

氯化钴诱导的缺氧模型组斑马鱼运动距离为 $(4056 \pm 203) \text{mm}$, 与空白对照组 $(9540 \pm 215) \text{mm}$ 比较, $P < 0.001$ 。浓度为 15、50 $\mu\text{g/mL}$ 和 150 $\mu\text{g/mL}$ 的神香苏合丸显著增加斑马鱼运动距离, 缺氧耐受力改善率分别为 15%、28% 和 46%, 各组与模

型对照组比较, $P < 0.05$ & $P < 0.001$ (表 2), 说明神香苏合丸具有很好的改善缺氧运动耐受力的作用。

表 2 神香苏合丸对缺氧耐受力的改善作用 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	斑马鱼总运动 距离/mm	缺氧耐受力 改善率/%
空白组	—	9540 \pm 215***	—
模型组	—	4056 \pm 203	—
	15	4879 \pm 158*	15
神香苏合丸	50	5571 \pm 255***	28
	150	6602 \pm 259***	46

注:与模型组相比,*表示 $P < 0.05$,***表示 $P < 0.001$ 。

2.3 评价清除自由基(ROS)效果

100 μM 谷胱甘肽 ROS 清除率为 99%, 与空白组相比有统计学意义 ($P < 0.01$); 神香苏合丸在浓度为 2.67、8 $\mu\text{g/mL}$ 和 26.7 $\mu\text{g/mL}$ 时, ROS 清除率分别为 78%、107% 和 118%, 与空白组相比, 均有统计学意义 ($P < 0.01$) (表 3), 说明神香苏合丸的抗氧化能力很强, 不但可以清除斑马鱼体内的 ROS, 还能降低 ROS 染料在空气中的氧化, 故其 ROS 清除率大于 100%。

表 3 神香苏合丸清除 ROS 效果 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度/($\mu\text{g/mL}$)	ROS 清除率/%
谷胱甘肽	100 μM	99 \pm 16**
	2.67	78 \pm 8**
神香苏合丸	8	107 \pm 9**
	26.7	118 \pm 3**

注:与空白组相比,**表示 $P < 0.01$ 。

2.4 评价预防血栓效果

阿司匹林预防血栓效率为 64% ($P < 0.001$); 神香苏合丸在浓度 5 $\mu\text{g/mL}$ 和 16.7 $\mu\text{g/mL}$ 时, 预防血栓效率为 -3% 和 7%, 与模型组相比, $P \geq 0.05$; 浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 时, 预防血栓效率为 49%, 与模型组相比, $P < 0.001$ (表 4), 说明神香苏合丸具有很好的血栓预防效果。

表 4 神香苏合丸预防血栓效果 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	浓度/($\mu\text{g/mL}$)	预防血栓效率/%
阿司匹林	22.5	64***
	5	-3
神香苏合丸	16.7	7
	50	49***

注:与模型组相比,***表示 $P < 0.001$ 。

3 讨 论

冠心病主要病因为心肌缺血、缺氧, 自由基生成、脂质过氧化反应发生, 导致心肌细胞受损, 严重者可引发心衰^[12]。神香苏合丸是杭州胡庆余堂制药厂研制而成的, 由 11 种常用中药组成, 如苏合香、安息香、麝香、冰片等^[13], 在治疗冠心病及老年性冠心病无症状心肌缺血等追踪观察中取得良好临床疗效^[14]。陈铎葆等^[13]评价了神香苏合丸对大鼠心肌缺血的硬性, 结果表明神香苏合丸能明显缓解实验性大鼠心肌缺血, 并有效减少心律失常的发生, 且对血流动力学影响较小。胡永狮等^[15]观察研究了神香苏合丸对狗急性心肌梗塞的影响, 结果显示神香苏合丸可显著降低狗急性心肌梗塞及其诱导心电图 ST-T 的抬高程度, 并缩小心肌梗塞范围。

斑马鱼在靶点鉴别、疾病模型及毒性评价中应用广泛^[16-17]。本实验首先利用斑马鱼心衰模型评价神香苏合丸的心脏功能改善作用, 结果证实, 神香苏合丸对心脏功能具有显著的改善作用, 不仅能够明显改善心脏扩大和静脉瘀血, 而且可显著增加心输出量和血流速度, 耐缺氧实验也显示神香苏合丸能显著改善斑马鱼在缺氧条件下的运动状态, 说明神香苏合丸对缺氧也具有改善功能。这些结果与哺乳动物研究非常吻合。

斑马鱼血小板与人类血小板在生理功能方面具有相似性^[18-22]。神香苏合丸中安息香、麝香、冰片均具有开窍通络、活血散瘀作用, 本研究实验也证实神香苏合丸能预防血栓的形成。自由基是生物体内影响信号传导的重要物质, 与许多衰老相关疾病的发生、发展预防和治疗相关, 如心血管疾病、老年痴呆、肿瘤、糖尿病等^[23]。ROS 存在于斑马鱼体内, 是斑马鱼体内正常的代谢产物, 能被特异性荧光检测试剂检测出来, 所以斑马鱼能被用作 ROS 检测的模型动物^[24]。本研究结果显示, 神香苏合丸清除 ROS 效果显著, 具有很好的抗氧化能力。

模式动物斑马鱼与人类基因高度相似, 且具有活体、高通量的优点, 尤其适用于中药及其复方的物质基础研究、药物代谢、药效成分快速发现及毒性安全性评价等方面^[25-27], 在中药新药研究领域具有较广的应用前景。斑马鱼模型将凭借自身

优势对新药药物发现和早期筛选模型是一个有力的补充。

参考文献:

- [1] 张颖,黄世敬,王彦云,等. 丹参通络胶囊对心梗大鼠心脏的保护作用和血流动力学的影响[J]. 中国中药杂志, 2015,40(3):528-532.
- [2] 李美娟,劳乔聪,姜永新,等. 几种植物原花青素及其片段化产物的抗 ROS 活性评价[J]. 西部林业科学, 2014, 40(1):99-103.
- [3] 鲍丙浩,谢尚论,宋彬锋,等. 血液和心血管疾病研究的重要模式生物——斑马鱼[J]. 发育医学电子杂志, 2014,2(3):135-138.
- [4] 陈侃,王长谦. 模式生物斑马鱼在心血管疾病研究中的应用[J]. 自然杂志, 2013,35(1):64-72.
- [5] HE J H, GUO S Y, ZHU F, et al. A zebrafish phenotypic assay for assessing drug-induced hepatotoxicity [J]. Journal of Pharmacological & Toxicological Methods, 2013,67(1):25-32.
- [6] YANG R, LAO Q C, YU H P, et al. Tween-80 and impurity induce anaphylactoid reaction in zebrafish[J]. Journal of Applied Toxicology, 2015,35(3):295-301.
- [7] XUA M, LAO Q C, ZHAO P, et al. 6'-O-Caffeoylarbutin inhibits melanogenesis in zebrafish[J]. Natural Product Research, 2014,28(12):932-934.
- [8] ZHOU J, GUO S Y, ZHANG Y, et al. Human Prokinetic drugs Promote gastrointestinal motility in zebrafish[J]. Neurogastroenterology & Motility, 2014, 26(4):589-595.
- [9] MCGRATH P, LI C Q. Zebrafish: a predictive model for assessing drug-induced toxicity[J]. Drug Discovery Today, 2008,13(9-10):394-401.
- [10] ZHU J J, XU Y Q, HE J H, et al. Human cardiotoxic drugs delivered by soaking and microinjection induce cardiovascular toxicity in zebrafish [J]. Journal of Applied Toxicology, 2014,34(2):139-148.
- [11] 郭殿武,周娟,唐礼可,等. 斑马鱼高血脂模型在山青之片质量控制中的应用研究[J]. 中国药品标准, 2013,14(4):255-255.
- [12] GORSUCH W B, CHRYSANTHOU E, SCHWAEBLE W J, et al. The complement system in ischemia-reperfusion injuries [J]. Immunobiology, 2012, 17(11):1026.
- [13] 陈铎葆,刘建国,陈红,等. 神香苏合丸对大鼠心肌缺血的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2011,11(2):86-88.
- [14] 贾连旺. 庆余救心丸治疗老年性冠心病无症状心肌缺血的观察[J]. 中国中西医结合杂志, 1998,18(3):150.
- [15] 胡永狮,陈红,管云枫,等. 神香苏合丸对狗冠状动脉两步结扎法急性心肌梗塞的影响[J]. 中国现代应用药效杂志, 2000,17(2):99-101.
- [16] PARNG C, SENG W L, SEMINO C, et al. Zebrafish: a preclinical model for drug screening[J]. Assay & Drug Development Technologies, 2002,1(1):41-48.
- [17] PARNG, C. In vivo zebrafish assays for toxicity testing [J]. Current Opinion in Drug Discovery & Development, 2005,8(1):100-106.
- [18] JAGADEESWARAN P P, SHEEHAN J E, CRAIG F, et al. Identification and characterization of zebrafish thrombocytes [J]. British Journal of Haematology, 1999,107(4):731-738.
- [19] KHANDEKAR G, KIM S, JAGADEESWARAN P. Zebrafish Thrombocytes: Functions and Origins [J]. Advances in Hematology, 2012(2012):857058.
- [20] LANG M R, GIHR G P, GAWAZ M, et al. Hemostasis in Danio rerio: is the zebrafish a useful model for platelet research? [J]. Journal of Thrombosis & Haemostasis, 2010,8(6):1159-1169.
- [21] WEYAND A C, SHAVIT J A. Zebrafish as a model system for the study of hemostasis and thrombosis[J]. Current Opinion in Hematology, 2014,21(5):418-422.
- [22] 李国然,单冬凯,宋晓伟,等. 斑马鱼在血小板研究中的应用[J]. 国际心血管病杂志, 2013,40(3):164-166.
- [23] HARMAN D. Free radicals in aging[J]. Molecular & Cellular Biochemistry, 1988,84(2):155-161.
- [24] ANDREA C H, PAUL J M, SHARON L B, et al. Development of a respiratory burst assay using zebrafish kidneys and embryos [J]. Journal of Immunological Methods, 2004,292(1-2):119-129.
- [25] 陈磊,刘怡,梁生旺. 模式生物斑马鱼在中药研究中的应用[J]. 药效学报, 2012,47(4):434-439.
- [26] 韩利文,袁延强,何秋霞,等. 斑马鱼模型在中药活性筛选中的适用性研究[J]. 中草药, 2011,42(10):2037-2041.
- [27] 梁爱华. 斑马鱼:一种可用于中药药效和毒性筛选的鱼类模型[J]. 2009,34(22):2839-2842.

Experimental Study on Therapeutic Effects of Shenxiang Suhe Pill on Cardiovascular Diseases

ZHU Xiaoyu, LIU Hongcui, YU Hangping, GUO Shengya, LAO Qiacong, LI Chunqi

(Hangzhou Hunter Biotechnology Co., Ltd., Hangzhou 310051, China)

Abstract: In this study, we have assessed therapeutic effects of Shenxiang Suhe pill on cardiovascular diseases by zebrafish cardiovascular disease model. Verapamil-induced heart failure model was applied to evaluate the improvement of the function of heart with heart failure. Cobalt chloride induced hypoxia model was used to evaluate the influence on tolerance of anaerobic exercise. Enzyme linked immunosorbent assay was used to assess the effect on free radical scavenging (ROS). Arachidonic acid induced thrombosis model was applied to evaluate thrombosis prevention effect. The results show that the improvement rates of Shenxiang Suhe pill with the concentration of 5, 16.7 and 50 $\mu\text{g/mL}$ on the heart with heart failure are 66%, 92% and 75%, respectively; the improvement rates of venous congestion are 45%, 49% and 13%, respectively; the increasing rates of cardiac output are 55%, 59% and 51%, respectively; and the increasing rates of blood flow velocity are 62%, 55% and 47%, respectively. The improvement rates of Zebrafish; Shenxiang Suhe pill with the concentration of 15, 50 and 150 $\mu\text{g/mL}$ on hypoxia tolerance are 15%, 28% and 46%, respectively. ROS clearance percentages of Zebrafish; Shenxiang Suhe pill with the concentration of 2.67, 8 and 26.7 $\mu\text{g/mL}$ are 78%, 107% and 118%, respectively. When the concentration is 50 $\mu\text{g/mL}$, thrombosis prevention efficiency is 40%. Shenxiang Suhe pill has improvement function on heart function and hypoxia tolerance, owns oxidation resistance ability and can prevent thrombosis.

Key words: Zebrafish; Shenxiang Suhe pill; heart function; hypoxia; ROS; thrombosis

(责任编辑: 许惠儿)