

基于 TGF- β 1/Smad 信号通路探讨桑枝总生物碱对糖尿病心肌纤维化的影响

孔洒洒¹, 王梦亭¹, 孟涵¹, 谢兆宇¹, 徐涛¹, 傅雪莲², 车慧^{1,3*}

1. 皖南医学院药学院, 安徽 芜湖 241002; 2. 哈尔滨医科大学附属第二医院, 黑龙江 哈尔滨 150081;

3. 皖南医学院代谢性疾病药物基础研究创新中心, 安徽 芜湖 241002

摘要 目的: 探讨中药新药桑枝总生物碱(SZ-A)对糖尿病心肌纤维化的影响及其潜在的分子机制。方法: 随机抽取 6 只 C57BL/6 小鼠作为非糖尿病组, 其余采用高脂饮食联合链脲佐菌素建立糖尿病小鼠模型, 随机分为糖尿病组及 SZ-A 低剂量组(50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和 SZ-A 高剂量组(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 每组 6 只。采用 Western blot 技术检测胶原蛋白 I(Collagen I)、TGF- β 1 及 Smad 通路相关蛋白表达水平, qRT-PCR 技术分析纤维化相关标志物 mRNA 水平, 并结合 AlphaFold2/Autodock 进行分子对接验证。结果: SZ-A 干预显著降低糖尿病小鼠心肌组织 Collagen I、Collagen III、 α -SMA、Fn1 和 Postn 的 mRNA 表达水平($P < 0.05$), 抑制 TGF- β 1 表达及 Smad2/3 磷酸化水平($P < 0.05$)。分子对接显示 SZ-A 主要成分(DNJ、FGM、DAB)与 TGF- β 1 具有稳定结合能力。外源性 TGF- β 1 可逆转 SZ-A 的抗纤维化作用, 显著上调纤维化相关指标($P < 0.05$)。结论: SZ-A 通过靶向调控 TGF- β 1/Smad 信号通路抑制糖尿病心肌纤维化进程。

关键词 桑枝总生物碱; 心肌纤维化; TGF- β 1/Smad 信号通路; 分子对接

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2392(2026)07-0012-06

DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.260134

糖尿病的根源最早可追溯至《黄帝内经》所记载的“此肥美之所发也, 此人必数食甘美而多肥也, 肥者令人内热, 甘者令人中满, 故其气上溢, 转为消渴”。糖尿病已演变为全球性的重大公共卫生问题。它所引发的诸多并发症, 严重威胁着人类健康。其中, 糖尿病心肌病(DCM)作为一种严重的糖尿病心血管并发症, 具有较高的发病率与致死率^[1]。心肌纤维化是糖尿病心肌病的关键病理特征之一, 致使心肌的收缩与舒张功能障碍不断加剧, 进而引发恶性心律失常、心力衰竭, 甚至导致猝死, 极大地危及患者的生命安全^[2-3]。

桑树(*Morus alba* L.)药用历史悠久, 多个部位被《中国药典》收录。早期研究多关注桑叶、桑白皮、桑葚等的降血糖作用, 后来桑枝的药用价值渐受重

视^[4]。古籍记载桑枝能治疗多种病症, 尤其强调其“主消渴, 利五脏关节”, 《中药大辞典》也表明它可治消渴症。现代研究^[5]发现, 桑枝含 1-脱氧野尻霉素(DNJ)、莽麦碱(FGM)等成分, 可通过抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 调节血糖、血脂, 改善胰岛素抵抗等多靶点发挥抗糖尿病作用。基于此研发的桑枝总生物碱(SZ-A), 2020 年获批成为我国首个源于桑枝的糖尿病治疗新药, 降糖疗效与安全性在Ⅲ期临床试验中得到证实。然而, 目前关于 SZ-A 能否改善糖尿病心肌纤维化及其分子机制尚未见系统报道。

基于此, 本研究首次从“抑制心肌纤维化”角度探讨 SZ-A 治疗 DCM 的可行性, 通过构建糖尿病动物模型, 阐明 SZ-A 干预 TGF- β 1/Smad 信号通路的药效机制, 旨在为 DCM 的防治提供新策略, 改善患者的预后。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 8 周龄, 体质量(20 ± 2)g, 购自合肥蜀山动物繁殖场, 实验动物合格证号: SCXK(豫)2020-0005。动物实验方案经皖南医学院实验动物福利与伦理委员会批准(LLSC-2022-166)。饲养环境温度(24 ± 2)℃、相对湿度 55% ~

收稿日期: 2025-01-17 修回日期: 2025-10-16

基金项目: 安徽省教育厅、安徽省高校优秀青年科研项目(2022AH030124);
安徽省大学生创新创业训练计划项目(S202310368032,
S202310368077)

作者简介: 孔洒洒(1998-), 女, 硕士, 研究方向: 糖尿病心肌病发病机制研究。

* 通信作者: 车慧(1985-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 糖尿病心肌病发病机制研究。

60% ,12 h 昼夜节律,自由摄食饮水。

1.2 实验药品、试剂与仪器

桑枝总生物碱(SZ - A)由广西五和博澳药业股份有限公司提供;链脲佐菌素(S0130, Sigma - Aldrich)、高脂饲料(D12492, 协同医药生物公司)。

RT - PCR 试剂盒(FSQ - 101, TOYOBO); qPCR 试剂盒(B532955 - 001, Sangon Biotech); 一抗: Collagen I (WL0088, 万类生物); Collagen III (WL03186, 万类生物); TGF - β 1 (bs - 0086R, Bioss); Smad2 (#5339, CST); p - Smad2 (#3108, CST); Smad3 (bsm - 33222M, Bioss); p - Smad3 (bs - 19452R, Bioss); GAPDH (BL006B, Biosharp)。

PCR 仪(ABI Quant Studio 5, Thermo Fisher Scientific); 蛋白电泳系统(PowerPac Basic, Bio - Rad); 化学发光成像仪(Amersham Imager 600, Cytiva)。

1.3 实验方法

1.3.1 糖尿病动物模型的构建及药物处理

C57BL/6 小鼠适应性喂养1周,随机抽取6只作为非糖尿病组($n = 6$),喂食 SPF 级普通小鼠饲料,其

余小鼠用于制备糖尿病模型,先喂养高脂饲料1个月,再按照 $50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量连续5 d 腹腔注射链脲佐菌素,第3天测空腹血糖值,若血糖值均 $> 11.1\text{ mmol/L}$ 认为造模成功。造模成功的18只小鼠随机分为3组,糖尿病组、SZ - A 低剂量组($50\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和SZ - A 高剂量组($100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),每组6只。将SZ - A 粉末溶于生理盐水中,按照不同剂量对糖尿病模型小鼠进行连续灌胃处理8周。

1.3.2 实时定量 RT - PCR 检测相关指标的 mRNA 水平

先用 Trizol 提取心肌组织中的总 RNA,经 Nano-drop 2000 检测纯度($A_{260}/A_{280} = 1.8 \sim 2.0$)。按说明书合成 cDNA,反应体系($20\text{ }\mu\text{L}$): $5 \times \text{Buffer } 4\text{ }\mu\text{L}$ 、Enzyme Mix $1\text{ }\mu\text{L}$ 、RNA 模板 $1\text{ }\mu\text{g}$,用去酶水补足至 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。逆转录条件: $37\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ min}$, $98\text{ }^{\circ}\text{C } 5\text{ min}$ 。采用 SYBR Green 法进行 qPCR 扩增,引物序列见表1。反应程序:预变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C } 3\text{ min}$; 40 循环($95\text{ }^{\circ}\text{C } 15\text{ s}$, $60\text{ }^{\circ}\text{C } 30\text{ s}$); 熔解曲线分析。以 GAPDH 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 mRNA 相对表达量。本实验使用引物序列如表1。

表 1 引物序列

引物名称	序列 - F(5' - 3')	序列 - R(5' - 3')	产物长度/bp
GAPDH	CCACTCACGGCAAAATTCAAC	CTCCACGACATACTCAGCAC	140
Collagen I	ATGGCCAAGAAGACATCCCTG	AGCATACCTCGGGTTTCAC	87
Collagen III	ATGAGGAGCCACTAGACTGC	GGTCACCATTTCTCCCAGGA	165
Postn	TGGTATCAAGGTGCTATCTGCG	AATGCCCAGCGTGCCATAA	135
Fn1	CCCAACTGTTACCCCTTCCA	GTTTGGTGATGAAGGGGGTC	93
α - SMA	GTACCACCATGTACCACGGC	GCTGGAAGGTAGACAGCGAA	156

1.3.3 Western blot 检测相关蛋白表达水平

取小鼠心肌组织,充分裂解后取上清,加入($5 \times$) loading 煮样。样本经电泳恒压转移至 NC 膜,用脱脂奶粉封闭后,加入一抗孵育过夜: Collagen I (1: 200)、TGF - β 1 (1: 500)、Smad2 (1: 500)、p - Smad2 (1: 500)、Smad3 (1: 500)、p - Smad3 (1: 500)、GAPDH (1: 2 000)。次日,室温孵育二抗,显影,利用 cytiva 曝光。

1.3.4 分子对接

TGF - β 1 蛋白质序列由 Uniprot 数据库获取。由于该蛋白目前不存在合适的用于执行分子对接的解析结构,故使用 AlphaFold2 模拟其结构,并使用 Rosetta Relax 进行能量优化。使用 Pymol 软件对获取的蛋白 3D 结构进行去水、加氢等结构准备工作;化合物结构由 PubChem 数据库得到。对接使用 CB - DOCK2 在线服务器的盲对接完成,并使用 Autodock Vina 进行对接。根据结合能挑选对接后的复合物结果,并进行作用力分析及对接位置评估,以进行后续动力学验证结合稳定性。配体与受体的作用力分析依靠 PLIP 在线

服务器分析完成,配体 - 受体的 3D 构象使用 Pymol 软件展示。

1.4 统计分析

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,ANOVA 分析比较不同组数据, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SZ - A 对糖尿病小鼠心肌纤维化的影响

结果表明,与糖尿病组小鼠相比,SZ - A 可以减少 Collagen I 和 Collagen III 的 mRNA 表达水平($P < 0.05$),见表2。

表 2 各组小鼠 Collagen I 和 Collagen III 的 mRNA 表达结果($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	Collagen I	Collagen III
非糖尿病组	$1.000 \pm 0.029\text{ }0$	$1.000 \pm 0.054\text{ }1$
糖尿病组	$2.220 \pm 0.648\text{ }4^*$	$2.325 \pm 0.417\text{ }8^*$
SZ - A 低剂量组	$0.992 \pm 0.064\text{ }8^{\#}$	$0.929 \pm 0.240\text{ }6^{\#}$
SZ - A 高剂量组	$0.797 \pm 0.175\text{ }9^{\#}$	$0.603 \pm 0.240\text{ }8^{\#}$

注:与非糖尿病组相比,* $P < 0.05$;与糖尿病组相比, $^{\#}P < 0.05$ 。

此外,如表 3 所示,SZ - A 还能够显著减少心肌纤维化标记物表达,主要表现为减少 α - SMA、Fn1 和 Postn 的 mRNA 水平($P < 0.05$)。上述结果提示,SZ - A 能够抑制糖尿病小鼠心肌纤维化。

表 3 各组小鼠 α - SMA、Fn1 和 Postn 的 mRNA 表达结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	α - SMA	Fn1	Postn
非糖尿病组	1.000 $\pm$ 0.100 9	1.000 $\pm$ 0.027 8	1.000 $\pm$ 0.027 9
糖尿病组	2.035 $\pm$ 0.178 9*	1.748 $\pm$ 0.304 8*	2.209 $\pm$ 0.605 6*
SZ - A 低剂量组	1.369 $\pm$ 0.375 9#	1.119 $\pm$ 0.185 0#	1.070 $\pm$ 0.120 4#
SZ - A 高剂量组	0.956 $\pm$ 0.193 8#	1.010 $\pm$ 0.063 6#	0.994 $\pm$ 0.141 1#

注:与非糖尿病组相比,* $P < 0.05$;与糖尿病组相比,# $P < 0.05$ 。

2.2 SZ - A 对糖尿病小鼠心肌组织 TGF - β 1/Smad 信号通路的影响

如表 4、图 1 所示,与非糖尿病组小鼠相比,糖尿病小鼠心肌组织中 TGF - β 1 蛋白表达水平显著增加($P < 0.05$),同时 p - Smad2 和 p - Smad3 蛋白表达水平均明显增多($P < 0.05$)。如表 5、图 2 所示,与糖尿病组相比,SZ - A 处理可显著减少 TGF - β 1 蛋白表达

水平($P < 0.05$),此外,SZ - A 各剂量组 p - Smad2 和 p - Smad3 蛋白表达水平也显著降低($P < 0.05$)。上述结果提示,SZ - A 抑制糖尿病小鼠心肌组织中 TGF - β 1/Smad 信号通路的激活。

表 4 各组小鼠 TGF - β 1、p - Smad2、p - Smad3 蛋白表达结果($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	TGF - β 1	p - Smad2/Smad2	p - Smad3/Smad3
非糖尿病组	1.000 $\pm$ 0.060 2	1.000 $\pm$ 0.168 3	1.000 $\pm$ 0.185 5
糖尿病组	2.287 $\pm$ 0.356 9*	2.106 $\pm$ 0.349 8*	1.640 $\pm$ 0.171 6*

表 5 各组小鼠 TGF - β 1、p - Smad2 和 p - Smad3 的蛋白表达结果($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	TGF - β 1	p - Smad2	p - Smad3
非糖尿病组	1.000 $\pm$ 0.189 3	1.000 $\pm$ 0.166 7	1.000 $\pm$ 0.274 3
糖尿病组	1.795 $\pm$ 0.243 5*	1.813 $\pm$ 0.323 2*	1.716 $\pm$ 0.175 3*
SZ - A 低剂量组	0.824 $\pm$ 0.233 3#	0.757 $\pm$ 0.200 8#	0.819 $\pm$ 0.323 9#
SZ - A 高剂量组	0.705 $\pm$ 0.243 1#	0.856 $\pm$ 0.183 9#	0.846 $\pm$ 0.227 7#

注:与非糖尿病组相比,* $P < 0.05$;与糖尿病组相比,# $P < 0.05$ 。

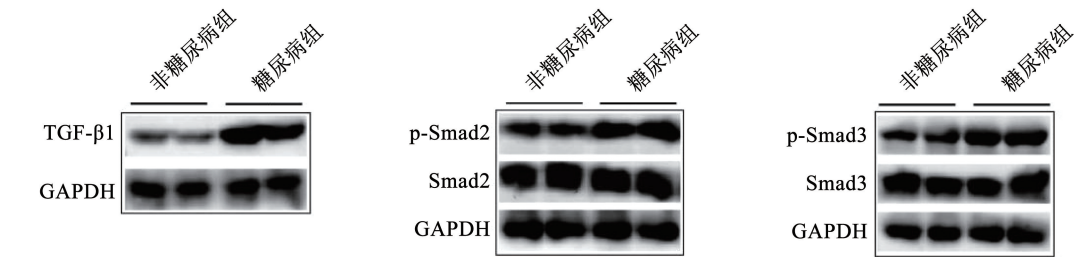


图 1 各组小鼠心肌组织中 TGF - β 1、p - Smad2、p - Smad3 蛋白表达印迹图



图 2 各组小鼠心肌组织中 TGF - β 1、p - Smad2、p - Smad3 蛋白表达印迹图

2.3 SZ - A 主要成分与 TGF - β 1 蛋白结合预测

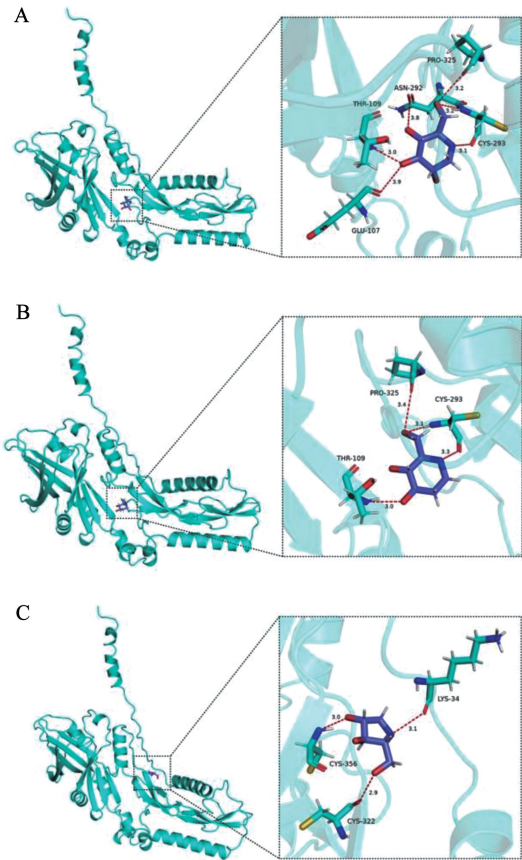
如图 3A 所示,SZ - A 主要成分 DNJ 与 TGF - β 1 蛋白之间的结合能为 -5.0 kcal/mol,二者之间形成了一定数目的氢键相互作用,且自由能较低,提示 DNJ 和 TGF - β 1 形成了较稳定的复合物。同样,分子对接结果所示,FGM 与 TGF - β 1 之间也可以形成较稳定的复合物(图 3B)。如图 3C 所示,DAB 与 TGF - β 1 二者之间形成了一定数目的氢键相互作用。上述结果

提示,SZ - A 的 3 种主要成分均能与 TGF - β 1 蛋白之间形成较稳定的复合物。

2.4 SZ - A 靶向 TGF - β 1 影响糖尿病心肌纤维化

如表 6 所示,外源性给予 TGF - β 1 能够阻断 SZ - A 对糖尿病心肌纤维化的影响,主要表现为与单纯 SZ - A 组相比,Collagen I 和 Collagen III 的 mRNA 水平明显增加($P < 0.05$)。此外,如表 7 所示,与 SZ - A 单独处理组相比,外源性给予 TGF - β 1 增加心肌纤维化标记物

α -SMA、Fn1 和 Postn 的 mRNA 表达水平($P<0.05$)。



注:A. DNJ 与 TGF-β1 结合位点预测;B. FGM 与 TGF-β1 结合位点预测;C. DAB 与 TGF-β1 结合位点预测。

图 3 SZ-A 主要成分与 TGF-β1 蛋白结合预测

表 6 各组 Collagen I 和 Collagen III 的 mRNA 表达结果($\bar{x}\pm s,n=3$)		
组别	Collagen I	Collagen III
非糖尿病组	1.000±0.011 7	1.000±0.059 3
糖尿病组	1.858±0.382 9 [*]	2.043±0.327 6 [*]
SZ-A 组	0.985±0.136 5 [#]	1.230±0.414 5 [#]
SZ-A+TGF-β1 组	1.644±0.243 8 [§]	2.505±0.649 8 [§]

注:与非糖尿病组相比,^{*} $P<0.05$;与糖尿病组相比,[#] $P<0.05$;与 SZ-A 组相比,[§] $P<0.05$ 。

表 7 各组 α -SMA、Fn1 和 Postn 的 mRNA 表达结果($\bar{x}\pm s,n=3$)

组别	α -SMA	Fn1	Postn
非糖尿病组	1.000±0.059 7	1.000±0.085 0	1.000±0.053 2
糖尿病组	2.763±0.310 6 [*]	1.805±0.420 5 [*]	1.865±0.232 2 [*]
SZ-A 组	1.017±0.228 3 [#]	0.867±0.149 4 [#]	1.094±0.224 4 [#]
SZ-A+TGF-β1 组	2.691±0.427 4 [§]	1.907±0.533 8 [§]	2.076±0.448 4 [§]

注:与非糖尿病组相比,^{*} $P<0.05$;与糖尿病组相比,[#] $P<0.05$;与 SZ-A 组相比,[§] $P<0.05$ 。

如表 8、表 9、图 4 所示,TGF-β1 处理后 Collagen I 蛋白表达增加($P<0.05$),此外,TGF-β1 处理能够阻断 SZ-A 对 TGF-β1/Smad 信号通路激活的影响,主要表现为与单纯 SZ-A 组相比,TGF-β1 处理组 TGF-β1、p-Smad2 和 p-Smad3 的表达水平明显增加($P<0.05$)。上述结果提示,SZ-A 可能通过靶向 TGF-β1 影响糖尿病心肌纤维化。

表 8 各组 Collagen I 和 TGF-β1 的蛋白表达结果($\bar{x}\pm s,n=4$)

组别	Collagen I	TGF-β1
非糖尿病组	1.000±0.195 6	1.000±0.132 3
糖尿病组	1.956±0.258 6 [*]	1.906±0.311 2 [*]
SZ-A 组	1.004±0.313 8 [#]	0.940±0.337 2 [#]
SZ-A+TGF-β1 组	1.736±0.329 1 [§]	1.669±0.325 0 [§]

注:与非糖尿病组相比,^{*} $P<0.05$;与糖尿病组相比,[#] $P<0.05$;与 SZ-A 组相比,[§] $P<0.05$ 。

表 9 各组 p-Smad2 和 p-Smad3 的蛋白表达结果($\bar{x}\pm s,n=6$)

组别	p-Smad2	p-Smad3
非糖尿病组	1.000±0.181 2	1.000±0.087 2
糖尿病组	2.157±0.288 9 [*]	2.160±0.248 0 [*]
SZ-A 组	0.955±0.311 9 [#]	1.052±0.259 3 [#]
SZ-A+TGF-β1 组	1.821±0.183 5 [§]	1.773±0.243 6 [§]

注:与非糖尿病组相比,^{*} $P<0.05$;与糖尿病组相比,[#] $P<0.05$;与 SZ-A 组相比,[§] $P<0.05$ 。

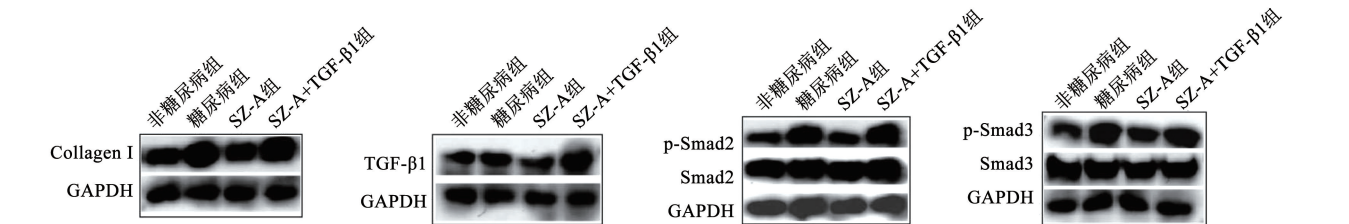


图 4 各组 Collagen I、TGF-β1、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达印迹图

3 讨论

桑枝总生物碱(SZ-A)是我国首个天然降糖中药组分。研究发现 SZ-A 能够降低 HbA1c、空腹和餐后

血糖水平,改善胰岛素抵抗和糖尿病前期糖脂代谢,降低体质量、甘油三酯和胆固醇,调节肠道菌群和机体炎症状态^[6-8]。相较于化学降糖药(如 α -葡萄糖苷酶

抑制剂、DPP-4 抑制剂等), 中药复方制剂因其多组分协同作用, 在长期用药安全性方面表现更优。然而, 目前尚不清楚 SZ-A 对糖尿病相关心血管疾病的影响。心肌纤维化在糖尿病心肌病(DCM)进展过程中发挥重要作用, 其与 DCM 损伤程度成正相关。因此, 靶向心肌纤维化被认为是防治 DCM 的有效策略^[9-11]。本研究结果表明, SZ-A 具有改善糖尿病小鼠心肌纤维化的作用, 主要表现为 SZ-A 能够减轻糖尿病引起的心肌组织中 Collagen I 和 Collagen III 的过度沉积, 下调心肌纤维化标记物 α -SMA、Fn1 和 Postn 的表达水平。

TGF- β 1 是属于 TGF- β 超家族的多功能细胞因子, 在心血管疾病、肿瘤、认知功能障碍、免疫性疾病的进展过程中发挥重要调控作用^[12-13]。研究表明 TGF- β 1 是调节心肌纤维化的关键因子, 具有影响细胞生长、凋亡和分化, 增加细胞外基质产生, 维持成纤维细胞活力, 抑制金属蛋白酶产生, 促进胶原蛋白降解等作用^[14-16]。因此, TGF- β 1 被认为是心肌纤维化相关疾病的重要靶点。在糖尿病心肌病研究领域, 众多研究表明, 长期高血糖状态能够激活心肌细胞内的多种关键信号通路, 其中较为典型的包括细胞内肾素-血管紧张素系统(RAS)以及 NLRP3 炎症小体信号通路。一旦这些信号通路被激活, 便会触发一系列分子生物学事件, 促进 TGF- β 1 的表达与分泌。而 TGF- β 1 作为一种重要的细胞因子, 在心肌细胞中发挥着显著作用, 它能够促使心肌细胞体积增大, 呈现出肥大状态, 同时还会刺激心肌细胞外基质的合成过程, 使得各类细胞外基质成分如胶原蛋白、纤连蛋白等大量生成, 最终导致心肌纤维化的发生发展^[17-18]。本研究通过分子对接预测实验发现, SZ-A 的 3 种主要成分 DNJ、FGM、DAB 均能够与 TGF- β 1 蛋白之间形成较稳定的复合物, 提示 TGF- β 1 可能是 SZ-A 抑制心肌纤维化的潜在靶点。本研究结果表明, 糖尿病小鼠心肌组织中 TGF- β 1 的表达水平明显增加, 而给予 SZ-A 处理能够降低糖尿病引起的心肌组织中 TGF- β 1 的增多。进一步研究发现, SZ-A 抗心肌纤维化的作用能够被 TGF- β 1 有效阻断, 主要表现为与单纯 SZ-A 组相比, 同时给予 TGF- β 1 处理能够增加 Collagen I、Collagen III、 α -SMA、Fn1 和 Postn 的表达。上述结果均提示 SZ-A 可能通过靶向 TGF- β 1 产生改善糖尿病心肌纤维化的作用。

TGF- β 1 通过活化下游 Smad2 和 Smad3, 导致心肌成纤维细胞的激活, 增加细胞外基质的产生, 抑制细胞外基质的降解^[19-20]。与既往研究结果^[21-23]相一

致, 本研究发现糖尿病小鼠心肌组织中 p-Smad2 和 p-Smad3 水平明显增加, 给予 SZ-A 处理可明显减少上述蛋白的表达, 提示 SZ-A 能够影响 TGF- β 1/Smad 信号通路的激活。本研究还发现, 外源性给予 TGF- β 1 处理可以阻断 SZ-A 对 Smad2 和 Smad3 的激活, 主要表现为与单纯 SZ-A 组相比, TGF- β 1 组 p-Smad2 和 p-Smad3 的表达明显增多。上述结果进一步提示 SZ-A 可能通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路, 发挥抗糖尿病心肌纤维化的作用。

综上所述, 本研究系统阐明了 SZ-A 通过靶向 TGF- β 1/Smad 通路抑制糖尿病心肌纤维化的药效机制, 不仅为 DCM 防治提供了新策略, 更凸显了中药多组分、多靶点调控复杂病理网络的应用优势。

参考文献:

- [1] DILLMANN W H. Diabetic cardiomyopathy: what is it and can it be fixed? [J]. Circ Res, 2019, 124(8): 1160-1162.
- [2] RITCHIE R H, ABEL E D. Basic mechanisms of diabetic heart disease[J]. Circ Res, 2020, 126(11): 1501-1525.
- [3] TULETA I, FRANGOGIANNIS N G. Fibrosis of the diabetic heart: clinical significance, molecular mechanisms, and therapeutic opportunities[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 176: 113904.
- [4] AN X Y, YANG X X, DING X L, et al. *Ramulus Mori* (Sangzhi) alkaloids tablets for diabetes mellitus: a regulatory perspective[J]. Fitoterapia, 2023, 166: 105444.
- [5] MENG Z Y, XU C Y, LIU H L, et al. Effects of mulberry twig alkaloids(Sangzhi alkaloids) and metformin on blood glucose fluctuations in combination with premixed insulin-treated patients with type 2 diabetes[J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1272112.
- [6] CHEN Y M, LIAN C F, SUN Q W, et al. *Ramulus mori* (Sangzhi) alkaloids alleviate high-fat diet-induced obesity and nonalcoholic fatty liver disease in mice[J]. Antioxidants, 2022, 11(5): 905.
- [7] LIU Q, LIU S N, CAO H, et al. *Ramulus mori* (Sangzhi) alkaloids (SZ-A) ameliorate glucose metabolism accompanied by the modulation of gut microbiota and ileal inflammatory damage in type 2 diabetic KKAY mice[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 642400.
- [8] LI C N, LIU Q, JI W M, et al. New anti-diabetic drug *Morus alba* L. (Sangzhi) alkaloids (SZ-A) improves diabetic nephropathy through ameliorating inflammation and fibrosis in diabetic rats[J]. Front Med, 2023, 10: 1164242.
- [9] XIE S Y, LIU S Q, ZHANG T, et al. USP28 serves as a key suppressor of mitochondrial morphofunctional defects and cardiac dysfunction in the diabetic heart[J]. Circulation, 2024, 149(9): 684-706.
- [10] NAKAMURA K, MIYOSHI T, YOSHIDA M, et al. Pathophysiology and treatment of diabetic cardiomyopathy and heart failure in patients with diabetes mellitus[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(7): 3587.
- [11] TULETA I, FRANGOGIANNIS N G. Diabetic fibrosis[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2021, 1867(4): 166044.
- [12] SU C, MIAO J, GUO J H. The relationship between TGF- β 1 and cognitive function in the brain[J]. Brain Res Bull, 2023, 205: 110820.
- [13] MARTELOSSI CEBINELLI G C, PAIVA TRUGILO K, BADARÓ

- GARCIA S, et al. TGF- β 1 functional polymorphisms: a review [J]. Eur Cytokine Netw, 2016, 27(4): 81-89.
- [14] WENG L, YE J J, YANG F H, et al. TGF- β 1/SMAD3 regulates programmed cell death 5 that suppresses cardiac fibrosis post-myocardial infarction by inhibiting HDAC3 [J]. Circ Res, 2023, 133(3): 237-251.
- [15] MENG L L, LU Y, WANG X L, et al. NPRC deletion attenuates cardiac fibrosis in diabetic mice by activating PKA/PKG and inhibiting TGF- β 1/Smad pathways [J]. Sci Adv, 2023, 9(31): eadd4222.
- [16] CHEN Y T, JHAO P Y, HUNG C T, et al. Endoplasmic reticulum protein TXNDC5 promotes renal fibrosis by enforcing TGF- β signaling in kidney fibroblasts [J]. J Clin Invest, 2021, 131(5): e143645.
- [17] ZHANG Y, CAO Y, ZHENG R, et al. Fibroblast-specific activation of Rnd3 protects against cardiac remodeling in diabetic cardiomyopathy via suppression of Notch and TGF- β signaling [J]. Theranostics, 2022, 12(17): 7250-7266.
- [18] WANG B Z, MORSINK M A, KIM S W, et al. Cardiac fibroblast BAG3 regulates TGFB β 2 signaling and fibrosis in dilated cardiomyopathy [J]. J Clin Invest, 2025, 135(1): e181630.
- [19] CHENG X C, WANG L Y, WEN X S, et al. TNAP is a novel regulator of cardiac fibrosis after myocardial infarction by mediating TGF- β /Smads and ERK1/2 signaling pathways [J]. EBioMedicine, 2021, 67: 103370.
- [20] ZHANG T T, ZHANG Y, LI S, et al. *Gentianella acuta*-derived Gen-miR-1 suppresses myocardial fibrosis by targeting HAX1/HMG20A/Smads axis to attenuate inflammation in cardiac fibroblasts [J]. Phytomedicine, 2023, 118: 154923.
- [21] CHE H, WANG Y Q, LI H, et al. Melatonin alleviates cardiac fibrosis via inhibiting lncRNA MALAT1/miR-141-mediated NLRP3 inflammasome and TGF- β 1/Smads signaling in diabetic cardiomyopathy [J]. FASEB J, 2020, 34(4): 5282-5298.
- [22] DING H S, YAO J H, XIE H X, et al. MicroRNA-195-5p downregulation inhibits endothelial mesenchymal transition and myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy by targeting Smad7 and inhibiting transforming growth factor beta 1-smads-snail pathway [J]. Front Physiol, 2021, 12: 709123.
- [23] YUAN P, LIU J G, XIONG S, et al. Effects and mechanism of Compound Qidan Formula on rats with HFpEF induced by hypertension and diabetes mellitus based on Ang II/TGF- β 1/Smads signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 313: 116558.

Effects of Mulberry Twig Alkaloids on Diabetic Myocardial Fibrosis via the TGF- β 1/Smad Signaling Pathway

KONG Sasa¹, WANG Mengting¹, MENG Han¹, XIE Zhaoyu¹, XU Tao¹, FU Xuelian², CHE Hui^{1,3}

1. School of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China;

2. The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China;

3. Center for Basic Research and Innovation of Metabolic Diseases Drugs, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

Abstract Objective: To investigate the effect of Mulberry twig (Sangzhi) alkaloids (SZ-A), which is a new traditional Chinese medicinal, on myocardial fibrosis in diabetes mellitus (DM) and its underlying molecular mechanism. Methods: The diabetic mouse model was established using high-fat diet combined with streptozotocin injections. Mice were randomly divided into non-diabetic (ND), diabetic (DM), and SZ-A low- (50 mg/kg/d) or high- dose (100 mg/kg/d) groups. Myocardial fibrosis-related proteins (Collagen I, TGF- β 1, Smad2/3, and their phosphorylated forms) were analyzed by Western blot, while mRNA levels of fibrosis markers (Collagen I/III, α -SMA, Fn1, Postn) were quantified via qRT-PCR. Molecular docking simulations (AlphaFold2/Autodock) were performed to validate interactions between SZ-A components (DNJ, FGM, DAB) and TGF- β 1. Results: SZ-A treatment significantly reduced myocardial Collagen deposition in diabetic mice, downregulated mRNA expression of Collagen I/III, α -SMA, Fn1, and Postn ($P < 0.05$), and suppressed TGF- β 1 expression and Smad2/3 phosphorylation. Molecular docking revealed stable binding affinities between DNJ/FGM/DAB and TGF- β 1. Exogenous TGF- β 1 administration reversed SZ-A's anti-fibrotic effects, restoring Collagen I, TGF- β 1, and p-Smad2/3 levels ($P < 0.05$). Conclusion: SZ-A ameliorates diabetic myocardial fibrosis by targeting the TGF- β 1/Smad signaling pathway, highlighting its therapeutic potential for diabetic cardiomyopathy.

Key words Mulberry twig alkaloids; Cardiac fibrosis; TGF- β 1/Smad signaling pathway; Molecular docking