◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Aug; 31(8): 1053-1063

酸枣仁水提物通过抑制 GPR50 调控突触可塑性改善小鼠 PTSD 样行为

高子璇[1]，何存宝[1]，杨绍杰[2]，王　斌[1]，朱国旗[1]，程　卉[3]，陈丽霞[1]

[1]安徽中医药大学分子生物学（脑病）重点实验室，合肥 230012，安徽；
[2]安徽中医药大学第二附属医院，合肥 230061，安徽；
[3]安徽中医药大学新安医学教育部重点实验室，合肥 230038，安徽

摘要　**目的**：评价酸枣仁（Ziziphi Spinosae Semen，ZSS）水提物对单次长时程应激（single prolonged stress，SPS）诱导的小鼠创伤后应激障碍（post-traumatic stress disorder，PTSD）样行为的作用，并从 G 蛋白偶联受体 50（G protein-coupled receptor 50，GPR50）和海马突触可塑性角度探究其可能的作用机制。**方法**：UPLC-UV 检测酸枣仁水提物中主要成分酸枣仁皂苷 A、B 含量；将 C57BL/6 小鼠随机分为正常对照组、SPS 模型组、SPS+酸枣仁水提物低、中、高剂量组及 SPS+帕罗西汀组，采用行为学实验评价 SPS 小鼠的 PTSD 样行为；分子对接验证酸枣仁皂苷 A、B 分别与 GPR50 结合的稳定性；Western blot 联合免疫荧光检测小鼠海马组织 GPR50、PSD95、GluN2A 和 GluN2B 蛋白表达水平；生物信息分析学预测酸枣仁治疗 PTSD 的关键靶点。**结果**：本研究对酸枣仁水提物中主要药效成分酸枣仁皂苷 A、B 进行了定性和定量分析；与正常组比较，SPS 模型组小鼠表现出焦虑、抑郁和恐惧记忆消退困难等 PTSD 样行为（$P<0.05$），海马 GPR50 蛋白表达升高，突触可塑性相关蛋白 PSD95、GluN2A 和 GluN2B 表达异常，而酸枣仁水提物可明显改善 SPS 小鼠的 PTSD 样行为（$P<0.05$），并抑制 GPR50 表达（$P<0.05$），改善 PSD95、GluN2A 和 GluN2B 蛋白的异常表达；筛选酸枣仁水提物作用 PTSD 潜在靶点 209 个，分别富集在抑制突触可塑性损伤及发挥抗氧化特性等功能；分子对接显示酸枣仁水提物中主要成分酸枣仁皂苷 A、B 与 GPR50 结合稳定。**结论**：酸枣仁水提物能改善 SPS 诱导的小鼠 PTSD 样行为，其机制可能与抑制 GPR50 改善突触可塑性损伤相关。

关键词　创伤后应激障碍；G 蛋白偶联受体 50；酸枣仁；突触可塑性

中图分类号：R749；R965.2
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)08-1053-11
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.08.005

创伤后应激障碍（post-traumatic stress disorder，PTSD）是一种严重的精神疾病，通常由战争、暴力、事故或自然灾害等恐怖事件或心理创伤引起；其典型特征为恐惧记忆消退困难，并伴有焦虑、抑郁等症状[1-3]。据统计，PTSD 在普通人群中的患病率约为 6%，而在高风险群体（如战斗退伍军人、难民和暴力事件受害者）中，这一比例可高达 25%～35%[4]。然而，目前人们对 PTSD 的发病机制仍不明确，临床治疗主要依赖帕罗西汀、舍曲林等抗抑郁药物，虽有一定疗效但副作用过多[5]。因此，探究新的潜在治疗靶点，寻找更为安全有效的治疗策略，对提升 PTSD 的临床治疗水平具有重要意义。

酸枣仁（Ziziphi Spinosae Semen，ZSS）为鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子，在我国的药用历史

2025-06-25 收稿　2026-03-18 修回
国家自然科学基金（82404890）；安徽省高等学校科学研究项目（2024AH040137，2024AH051044）；新安医学与中医药现代化研究所“揭榜挂帅”项目（2023CXMMTCM013）
高子璇，女，在读硕士，研究方向：神经药理学。
E-mail: gaozx01@qq.com
陈丽霞，通信作者，女，硕士，助理实验师，研究方向：中药神经药理学。
E-mail: c994743@163.com
程卉，共同通信作者，女，博士，副研究员，研究方向：中药药理学。
E-mail: chenghuikyzx@ahtcm.edu.cn

悠久。现代药理学研究表明其具有镇静催眠、抗焦虑抑郁、抗炎抗氧化及神经保护等多种功效[6]。研究显示，酸枣仁能够改善慢性不可预知温和应激小鼠的抑郁样行为，其机制可能与调节突触可塑性有关[7]。此外，另有研究指出，酸枣仁可通过调节单胺能系统活性，在低剂量时发挥抗焦虑效应，而在较高剂量时产生镇静作用[8]。然而，目前关于酸枣仁对小鼠 PTSD 样行为的影响及其具体作用机制仍有待进一步阐明。

海马脑区参与 PTSD 恐惧记忆消退，其功能异常与海马中突触可塑性受损密切相关[9]。G 蛋白偶联受体 50（G protein-coupled receptor 50, GPR50）是 G 蛋白偶联受体家族中的一员，在脑中主要分布于海马、皮层和下丘脑等区域，参与调控多种信号通路，因其内源性配体尚未明确，因此仍属于孤儿受体[10]。本团队前期通过转录组学测序发现，PTSD 模型小鼠海马组织中 GPR50 的基因表达水平显著升高[11]。近年来研究表明，GPR50 在调节应激和焦虑相关疾病中发挥重要作用[12-13]，并已被证实参与抑郁症的病理机制，尤其在女性患者中影响显著[14]。GPR50 可能通过调节神经元发育和突触可塑性，进而影响情绪调节和应激反应[15]。此外，研究还表明，在阿尔茨海默病模型中，GPR50 能够减轻由 β-淀粉样蛋白介导的突触可塑性损伤，进一步提示该受体在突触功能调节中的潜在作用[16]。

因此，本研究利用单一长时程应激（single prolonged stress, SPS）诱导的 PTSD 小鼠模型[11]，探讨酸枣仁水提物对小鼠 PTSD 样行为的改善作用，从 GPR50 和海马突触可塑性角度探究其机制，为酸枣仁在 PTSD 的临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 药材与试剂 酸枣仁标准品（批号：B26186，上海源叶生物技术有限公司），对照品为酸枣仁皂苷 A 标准品（批号：B21224，上海源叶生物科技有限公司）和酸枣仁皂苷 B 标准品（批号：B21225，上海源叶生物科技有限公司）。GPR50 抗体购自 Proteintech 公司，PSD95 抗体购自 Selleck 公司，GluN2A 抗体购自正能生物技术有限责任公司，GluN2B 购自武汉三鹰生物技术有限公司，β-actin 抗体购自武汉塞维尔生物科技有限公司，辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司，异氟烷购自深圳市瑞沃德生命科技有限公司。甲醇购自 TEDIA 公司，乙腈购自 Fisher 公司。

1.2 酸枣仁水提物和标准品的制备 称量 0.5 g 酸枣仁粉末，加入 5 mL 纯水，放置于超声机中超声 30 min，水浴控温 60 ℃，置于 4 ℃ 环境中，12 h 后，以 14 000 r/min 的转速离心 8 min，取上清液，即为酸枣仁水提物。采用 0.22 μm 微孔滤膜对该水提物进行过滤后，将滤液注入超高效液相色谱-紫外检测（UPLC-UV）系统。另取酸枣仁皂苷 A 标准品与酸枣仁皂苷 B 标准品，分别用甲醇溶解，配制成浓度为 1.0 g/L 的标准品原液；再用甲醇将上述标准品原液稀释至 0.5 g/L，得到标准品溶液。采用 0.22 μm 微孔滤膜对标准品溶液过滤后，将滤液注入 UPLC-UV 检测系统。色谱条件：ACQUITY UPLC® HSS T3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm），乙腈（A）-水（B），梯度洗脱（0 ~ 5 min，15% A→25%A；5 ~ 20 min，25%A→30%A；20 ~ 25 min，30%A→50%A；25 ~ 35 min，50%A→55%A）；流速：0.2 mL/min；柱温：30 ℃；检测波长 203 nm；进样体积：5 μL。

1.3 实验动物 48 只成年雄性 C57BL/6 小鼠（2 月龄，体质量 20 ~ 25 g），购自杭州子源实验动物科技有限公司[SCXK（浙）2019-0004]，饲养于温度（22±2）℃，相对湿度 45% ~ 65%，光照条件 12 h 明/暗循环的环境中，可随意饮水和摄食。本实验程序经安徽中医药大学伦理委员会批准（伦理批号：AHUCM-mouse-2024165）。

1.4 模型建立与分组 C57 小鼠适应一周后复制 SPS 模型，实验流程参考前期文献[17-18]：首先，将小鼠固定束缚 2 h，之后立即强迫游泳 20 min，休息 15 min 后，再将小鼠置于含有 5% 异氟烷的密封容器中麻醉，直至小鼠意识模糊后拿出，并重复两次。休息 20 min 后，小鼠在电击箱内进行一次电击（2 mA，2 s）。结束后，将小鼠放回其笼中。随机将小鼠分为 6 组（n=8）：正常对照组（Control），SPS 模型组（SPS）和酸枣仁水提物低剂量组（8 g/kg，SPS+ZSS-L）、中剂量组（16 g/kg，SPS+ZSS-M）、高剂量组（32 g/kg，SPS+ZSS-H）和 SPS+帕罗西汀组（10 mg/kg，SPS+PRX）。造模 24 h 后开始干预，每日一次灌胃给予酸枣仁水提物或帕罗西

汀；正常对照组与 SPS 模型组则给予等量生理盐水，连续干预 14 d。

1.5　旷场实验（open field test, OFT）　旷场实验用于评价 SPS 小鼠的焦虑样行为。将小鼠放入旷场实验专用敞箱的中心方格内，在安静环境下让其自由探索 5 min，同时进行摄像和计时，记录小鼠出现在中心区域的距离、时间及穿越中心区域的次数、在旷场中探索的总运动距离以及平均速度。每只小鼠测试结束后，用酒精棉球擦拭箱内壁、底部以除去小鼠气味。

1.6　高架十字迷宫实验（elevated plus maze test, EPMT）　高架十字迷宫实验用于评价 SPS 小鼠的焦虑样行为。将小鼠面对闭合臂放在中心区域，让其在 5 min 内自由活动。摄像机记录其运动轨迹，并分析小鼠在开放臂的探索时间（开放臂探索时间与总探索时间之比）。每只小鼠测试结束后，用酒精棉球进行擦拭以除去小鼠气味。

1.7　条件恐惧实验（fear conditioning task, FCT）　条件恐惧记忆实验用于评价小鼠的恐惧记忆。条件恐惧记忆实验共有四个阶段，分别为适应期、训练期、再暴露期和消退期，每个阶段间隔 24 h：第 1 天适应期，将每只小鼠在恐惧箱里放置 5 min 以适应环境。第 2 天训练期：将小鼠放于恐惧箱内，在 5 min 内进行 3 次足底电击（1.0 mA，持续 2 s，每次电击间隔时间为 73 ~ 74 s）。第 3 天再暴露期：将小鼠放在恐惧箱内 15 min，不给予电击。将 15 min 分为 5 个时间段，每个时间段 3 min，统计小鼠在每个时间段内的凝滞时间（freezing time），同时统计小鼠前 5 min 的凝滞时间。第 4 天消退期：将小鼠再次放于恐惧箱内 5 min，不给予电击，统计前 3 min 内小鼠的凝滞时间。每只小鼠测试结束后，用酒精棉球进行擦拭以除去小鼠气味。

1.8　生物信息学分析　酸枣仁水提物治疗 PTSD 靶点预测：通过 TCMSP（https://www.tcmsp-e.com/load_intro.php）、HERB 数据库（http://herb.ac.cn/）及 CNKI（https://www.cnki.net/），对酸枣仁进行检索。以酸枣仁为研究对象，将口服生物利用度（OB）≥30%、类药性（DL）≥1.8 作为条件在 TCMSP 中进行药物的主要活性成分的筛选。另外补充了已有文献报道的有作用的但未被纳入筛选标准的化合物，构建酸枣仁的成分库。随后在 Pubchem（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）中获取主要活性成分的 SMILE Name，将主要活性成分的 SMILE Name 导入 Swiss Target Prediction 数据库（http://swisstargetprediction.ch/），获取单个主要成分的 Gene 名称。在 GeneCards（https://www.genecards.org/）、DisGeNET（https://disgenet.cn/）、OMIM（https://www.omim.org/）和 TTD（https://db.idrblab.net/ttd/）数据库中，以“Post-traumatic stress disorder”为检索词，收集 PTSD 疾病相关靶点。通过 Venny 2.1.0 平台筛选并生成疾病和药物的交集靶点。

为寻找酸枣仁治疗 PTSD 靶蛋白，通过 STRING 数据库（https://cn.string-db.org/）研究各个靶点间的互用联系。将蛋白互作的得分阈值设置为 0.900 用于确证高置信度。通过 STRING 在线数据库载入交集靶点并导出结果以后，再使用 Cytoscape 3.9.2 软件构建可视化的蛋白质-蛋白质互作（protein-protein interaction, PPI）网络。

基因本体（gene ontology, GO）及京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG）富集分析：利用 DAVID（https://david.ncifcrf.gov/）进行 GO 以及 KEGG 富集分析。将获得的交集靶点上传到 DAVID 在线平台，最后筛选出与 PTSD 相关的可能性通路，使用 SPRLOT 平台（https://bioinformatics.com.cn/）进行在线可视化处理。

1.9　蛋白免疫印迹（Western　blot）　小鼠经 5% 异氟烷麻醉后迅速断头处死并取脑，在冰上分离出两侧海马组织，加适量 RIPA 裂解液研磨，提取蛋白样品，BCA 法测定蛋白浓度，Western blot 常规操作，用 SDS-PAGE 分离蛋白质样品并将其转移到硝酸纤维素膜上。在室温下用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h，将膜放入含有对应一抗抗体 GPR50（1:1 000）、PSD95（1:1 000）、GluN2A（1:1 000）和 GluN2B（1:1 000）的稀释液中，4 ℃ 孵育过夜。加入 1:10 000 稀释的二抗孵育 2 h，洗涤后以 ECL 试剂显色并曝光。使用 Image J 软件分析后统计蛋白表达的差异。

1.10　免疫荧光染色　小鼠经 5% 异氟烷麻醉后进行灌流，之后取全脑，置于 4% 的多聚甲醛中，在 4 ℃ 条件下固定 24 h。固定后，使用 30% 的蔗糖溶液脱水 48 h。之后用包埋剂将组织包埋，使

用冷冻切片机进行切片，切片厚度为 20 μm。用 PBS 将脑片洗 3 次，每次 5 min，然后用含有 0.3% TrintonX-100 的 PBS 室温下破膜 10 min 后再洗 3 次，每次 5 min，接着用 5% BSA 含 0.3% TrintonX-100 于室温下封闭 30 min，再用 GPR50 一抗（1∶200）在 4 ℃ 孵育过夜。次日，将脑片用 PBS 洗 3 次，每次 15 min。洗完加入 Alexa Fluor 594 山羊抗兔 IgG，避光孵育 2 h。用 PBS 洗涤 3 次，经 DAPI 染色，封片后用 FV3000 Olympus 激光共聚焦扫描显微镜观察并拍照，之后使用 Image J 软件分析其平均荧光强度。

1.11　分子对接　使用 ChemDraw 构建酸枣仁活性成分的分子结构，保存为 PDBQT 格式后作为对接配体。从 RCSB PDB 蛋白数据库（https://www.rcsb.org/）获取 GPR50 的晶体结构，去除游离水分子、添加氢原子并计算电荷后作为对接受体。采用 AutoDockTools 软件进行分子对接，通过定义覆盖蛋白质活性位点的对接格点，运行对接并生成 DLG 结果文件。选择具有最佳亲和力和最稳定的分子间作用力的 3D 构象，导出为 PDBQT 格式，通过 Pymol 软件实现对接结果的可视化分析。

1.12　统计学处理　使用 GraphPad Prism 9.5 软件对实验数据进行分析，统计图用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。多组别比较采用单因素方差分析并进行 Bonferroni 检验、Grubbs 检验来比较组间差异，P<0.05 表示差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　酸枣仁皂苷 A、B 含量的检测　依据上述色谱条件制备酸枣仁水提物样品，并测定其中有效成分酸枣仁皂苷 A 与 B 的含量。通过与相应的对照品溶液比较，结果显示该酸枣仁溶液中皂苷 A 与 B 的信号强度较高，且稳定性良好。酸枣仁皂苷 A 的标准曲线为 y=408.21x+1 454.9，R^2=0.999 1；酸枣仁皂苷 B 标准曲线为 y=6 642.2x−4 563.7，R^2=0.999 8（Fig.1）。通过高效液相色谱法测定，酸枣仁水提物中酸枣仁皂苷 A 与酸枣仁皂苷 B 的含量分别为（25.64±0.72）μg/g 和（18.95±0.94）μg/g。

2.2　连续 14 d 灌胃酸枣仁水提物改善 SPS 小鼠焦虑样行为　按照 Fig.2A 所示的时间点，连续 14 d 灌胃酸枣仁水提物后，检测 SPS 小鼠的焦虑样行为。旷场实验结果显示，与 Control 组相比，

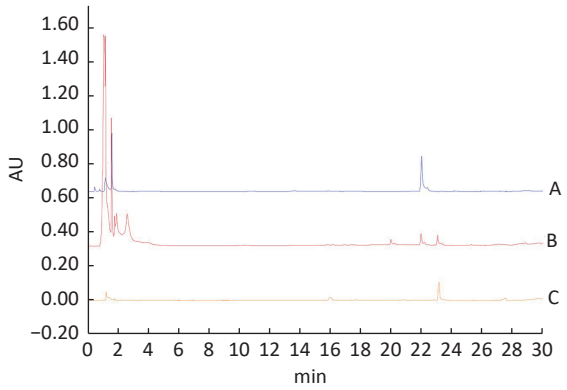


Fig.1　HPLC chromatograms of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) solution and standard solution

A: jujuboside A; B: the aqueous extract of ZSS; C: jujuboside B.

SPS 组小鼠在中心区域的时间、距离及穿越中心区域的次数显著减少；而与 SPS 组小鼠相比，SPS+ZSS-H 组小鼠在中心区域的时间、距离及穿越中心区域的次数则明显增加（P<0.05）。此外，各组小鼠在旷场中的总运动路程和平均速度均无显著差异，表明其基础运动能力未受损伤，酸枣仁水提物干预未影响小鼠的运动功能（Fig.2B-F, H）。

在 EPMT 中，与 Control 组相比，SPS 组小鼠进入开放臂时间百分比显著降低，而 SPS+ZSS-H 组小鼠在开放臂的停留时间百分比则显著增加（P<0.05, Fig.2G）。以上结果表明，连续 14 d 给予高剂量（32 g/kg）酸枣仁水提物能够有效改善 SPS 小鼠的焦虑样行为。

2.3　连续 14 d 灌胃酸枣仁水提物促进 SPS 小鼠恐惧记忆消退　在恐惧记忆测试的再暴露阶段，与 Control 组相比，SPS 组小鼠的恐惧凝滞时间显著增加（P<0.05）；与 SPS 组相比，SPS+ZSS-M 及 SPS+ZSS-H 组的恐惧凝滞时间均显著减少（P<0.05）。在经过 24 h 消退后，SPS 组小鼠的凝滞时间显著高于 Control 组（P<0.05），SPS+ZSS-M 及 SPS+ZSS-H 组的小鼠凝滞时间与 SPS 组相比则显著降低（P<0.05, Fig.3）。以上结果表明，连续 14 d 给予中（16 g/kg）、高剂量（32 g/kg）酸枣仁水提物均能够有效促进 SPS 小鼠恐惧记忆的消退。

2.4　酸枣仁治疗 PTSD 潜在靶点的 PPI 网络　通过数据库检索，共筛选出酸枣仁中 36 个抗 PTSD 活性成分及 962 个相关靶点，同时获取 1 179 个 PTSD 潜在治疗靶点，取交集后得到 209 个交集靶点。利用 Cytoscape 软件构建“药物-成分-靶点”

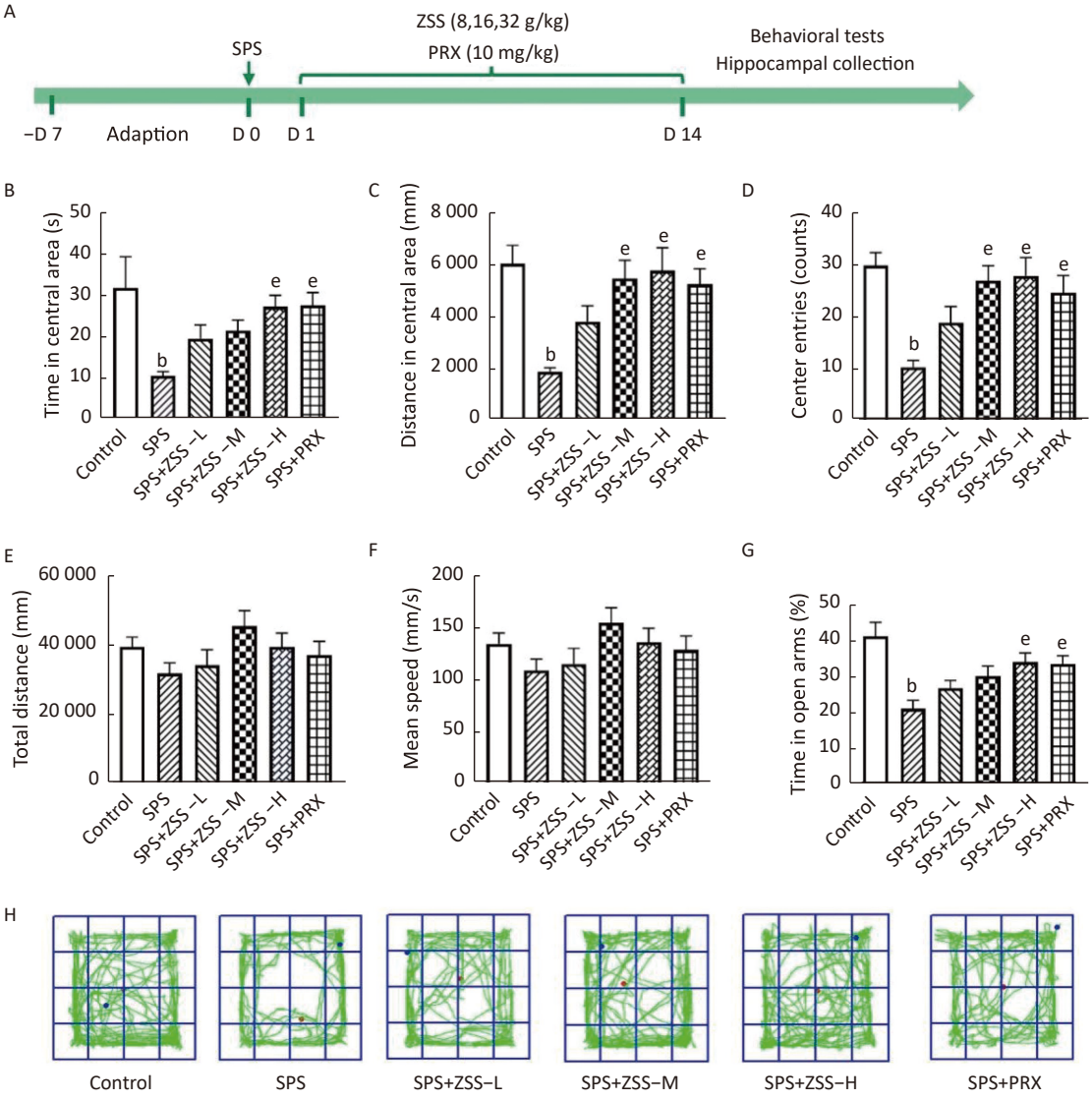


Fig.2　The aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) improved anxiety-like behaviors in SPS mice ($\bar{x}\pm s$, n=8)

A: schematic representation of the time point of administration of the ZSS; B-F: time in central area, distance in central area, center entries, total distance and mean speed of OFT; G: percentage of time in open arms in EPMT; H: movement traces of OFT. ^{b}P<0.05, compared with the control group; ^{e}P<0.05, compared with SPS group.

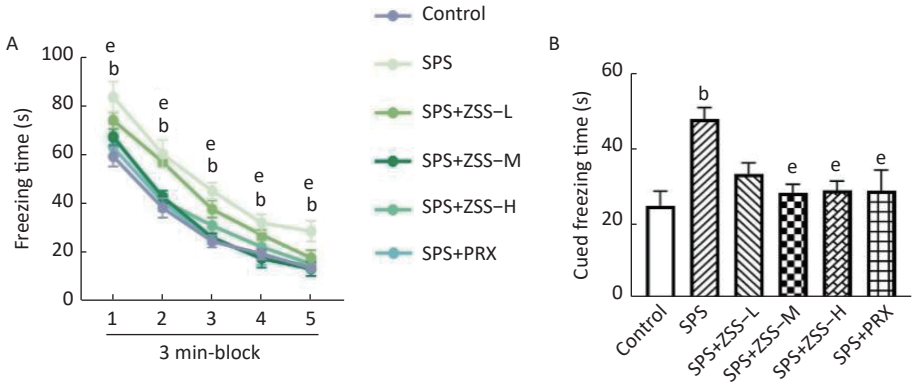


Fig.3　The aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) promoted the extinction of fear memory in SPS mice ($\bar{x}\pm s$, n=8)

A: freezing time in the re-exposure phase; B: freezing time in the extinction phase. ^{b}P<0.05, compared with the control group; ^{e}P<0.05, compared with SPS group.

互作网络图。进一步通过 PPI 蛋白互作分析，以“number of undirect edges ⩾ 6”为条件筛选关键靶点，结果显示 GPR50 可能为酸枣仁治疗 PTSD 的核心作用靶点（Fig.4）。

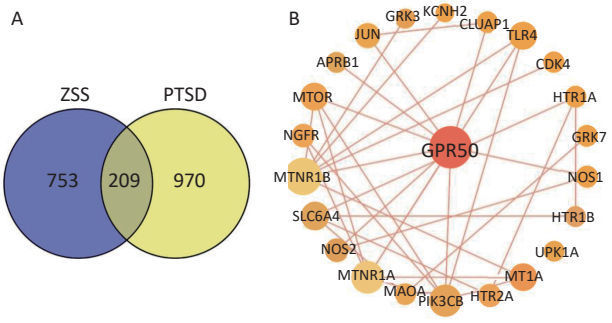


Fig.4 Potential targets and enrichment analysis of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) in treatment of PTSD

A: active component targets and disease targets Venn diagram; B: PPI network.

2.5 酸枣仁治疗 PTSD 潜在靶点的 GO 和 KEGG 富集分析 KEGG 富集分析结果显示，酸枣仁的抗 PTSD 作用主要与 HIF-1 信号通路、cAMP 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等相关，其作用机制可能涉及神经活性配体-受体相互作用、血清素系统调节等过程。GO 富集分析中，Cellular Component 结果显示，酸枣仁的潜在作用部位主要集中在细胞质膜、神经元细胞及突触等结构；Molecular Function 结果表明其可调节 G 蛋白偶联受体活性、神经递质受体活性等；Biological Process 结果显示，酸枣仁通过调控细胞-细胞信号传导、突触信号传导等生物过程发挥效应。上述结果表明，突触结构是酸枣仁发挥抗 PTSD 作用的关键部位，其机制一方面可能通过 HIF-1 等与突触可塑性相关的信号通路实现，另一方面也可能由 G 蛋白偶联受体介导（Fig.5）。

2.6 分子对接验证酸枣仁中主要成分与 GPR50 结合活性 对酸枣仁中的主要成分酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 与筛选得到的关键靶点进行分子对接，并计算其结合能。结果显示，酸枣仁皂苷 A 可与 GPR50 的 ARG-150 等 5 个残基形成稳定的氢键，酸枣仁皂苷 B 则与 GPR50 的 PHE-278 等 3 个残基产生氢键相互作用（Fig.6）。

2.7 酸枣仁水提物抑制海马 GPR50 表达 与 Control 组相比，SPS 组小鼠海马中 GPR50 蛋白表达水平显著升高，而酸枣仁水提物低、中、高 3 个剂量均能降低 GPR50 蛋白的表达，其中高剂量组效果最为显著（P<0.05，Fig.7A-B）。随后，通过免疫荧光染色进一步检测了 GPR50 在 Control 组、SPS 组及 SPS+ZSS-H 组小鼠海马中的分布与表达。结果显示，GPR50 在海马各区域均有表达，与 Control 组相比，SPS 组小鼠海马中 GPR50 的平均荧光强度显著增强（P<0.05）；而与 SPS 组相比，SPS+ZSS-H 组小鼠海马中 GPR50 的平均荧光强度则显著降低（P<0.05，Fig.7C-H）。上述结果表明，酸枣仁水提物能够抑制 SPS 小鼠海马中 GPR50 蛋白的表达。

2.8 酸枣仁水提物调节海马突触可塑性相关蛋白的表达 Western blot 结果显示，与 Control 组相比，SPS 组小鼠海马中 PSD95、GluN2A 蛋白表达水平显著降低，GluN2B 蛋白表达水平显著升高，给予酸枣仁水提物干预后，PSD95、GluN2A 蛋白表达水平明显升高，同时 GluN2B 蛋白表达水平也明显降低（P<0.05，Fig.8）。以上结果表明，酸枣仁水提物可调节突触可塑性相关蛋白的表达。

3 讨论

PTSD 在古代医学中并无相应病名记载，但在“惊悸”“怔忡”“不寐”等疾病记载中可见对其发病机理的阐述。根据中医学理论，PTSD 可归属于情志病，因其发生于重大创伤性事件之后，故常认为“惊”“恐”为其始动病因，惊可伤心神，恐则损肾精[19]。酸枣仁归心、肝、胆经，具有养心补肝、宁心安神等功效[20]。依据新安医学名家徐春甫的“一药一方”理论，其在《古今医统大全·不寐候》记载：“用枣仁（一两）炒香熟捣细为末，每服二钱，竹叶汤调下，不拘时服”，说明酸枣仁单味即可成方，用于治疗睡卧不安及心中惊悸[21]。此外，从中医角度看，PTSD 会耗损五脏精气，尤以心、肝、肾为甚，导致脏腑功能失调，而这种脏腑气血的紊乱状态，正与酸枣仁所归经络及调理功能相契合[22-23]。另外，现代研究表明，酸枣仁含有三萜皂苷类、黄酮类和生物碱类等多种活性成分，具有镇静催眠、抗焦虑抑郁和抗炎等多种药理作用。已有研究发现酸枣仁复方（如酸枣仁汤）可改善 SPS 小鼠的 PTSD 样行为[24]，但单味酸枣仁对 PTSD 的干预效果尚不明确。因此，本研究采用酸枣仁水提物，观察其对 SPS 小鼠 PTSD 样行为的影响。本研究设置低、中、高 3 个剂量（8 g/kg、16 g/kg 和 32 g/kg），

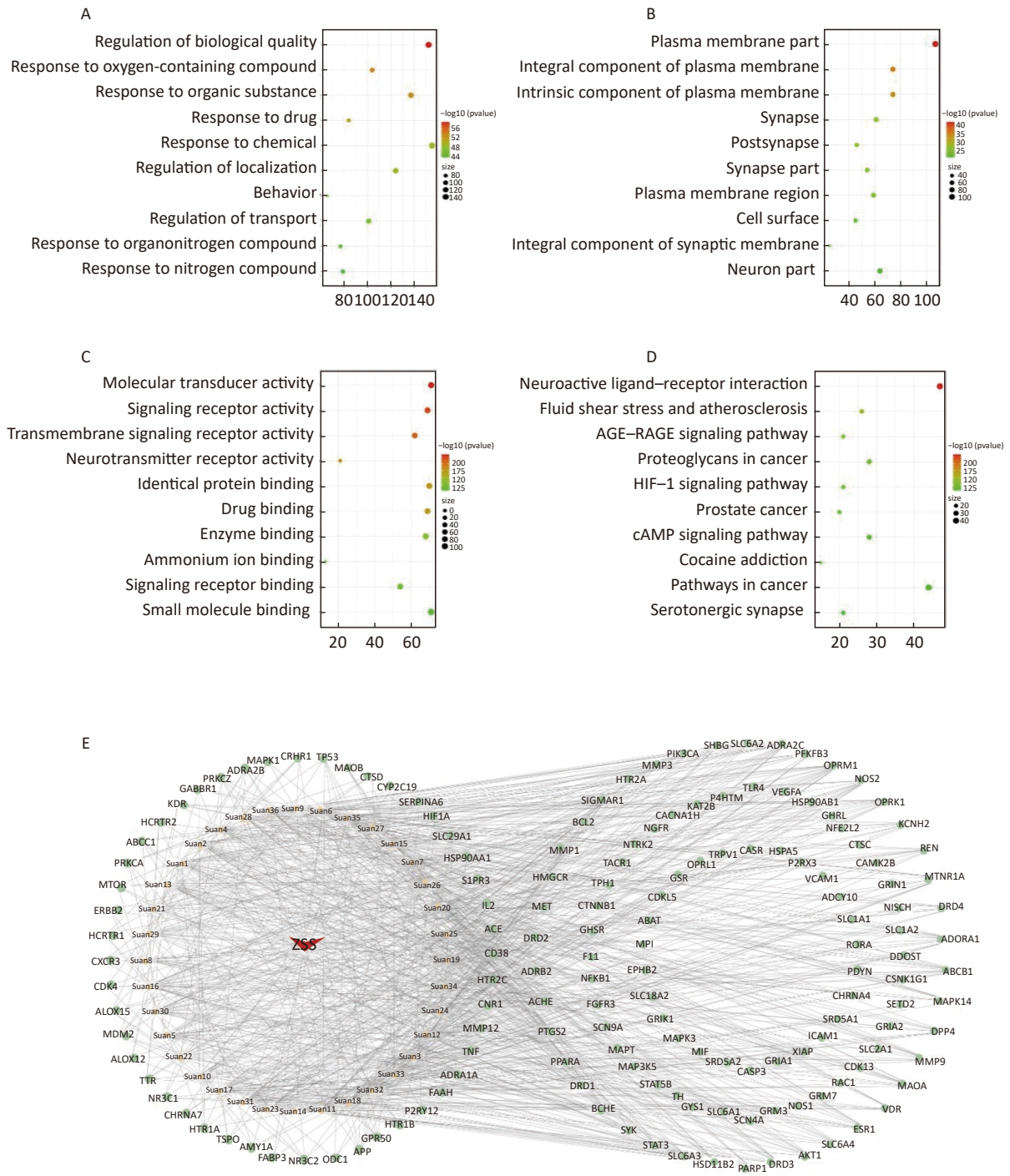


Fig.5　GO and KEGG enrichment analysis of potential targets of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) treatment for PTSD

A-C: GO analysis; D: KEGG analysis; E: drug-component-target network.

连续灌胃干预 14 d, 结果显示高剂量(32 g/kg)组能有效改善 SPS 小鼠焦虑样行为并促进恐惧记忆消退。同时, 本研究对酸枣仁水提物有效成分酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 进行了含量测定, 结果表明二者在该水提物中信号强、稳定性良好。

GPR50 在中枢神经系统中广泛分布, 尽管仍属孤儿受体, 现有研究已显示其在焦虑、抑郁等精神疾病中起重要作用[13, 25]。本研究发现, 在 SPS 小鼠中, GPR50 蛋白表达水平显著升高。值得注意的是, GPR50 已被视为重度抑郁症与双相情感障碍的风险靶点, 这些疾病常伴随神经前体细胞增殖与分化异常[25]。这表明 GPR50 可能参

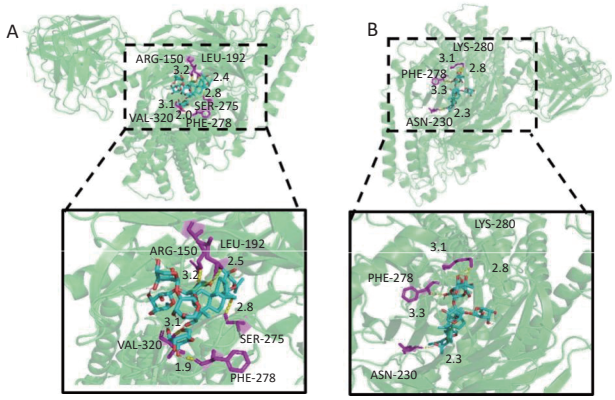


Fig.6 Visualization of molecules docking between main components of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) and key targets.

A: jujuboside A-GPR50; B: jujuboside B-GPR50.

与上述疾病的病理过程，其表达过高可能会干扰神经前体细胞的增殖和分化，进而导致神经网络连接异常，影响神经功能[26]。除此之外，睡眠障碍同样是 PTSD 典型症状之一。褪黑素是一种通过与褪黑素受体（MT1 和 MT2）结合来调节睡眠-觉醒周期的内源性激素，GPR50 作为褪黑素受体的同源受体，可与这两种受体形成异二聚体，虽然 MT2 受体功能不受 GPR50 异聚化影响，但 GPR50 与 MT1 受体结合会抑制该受体与褪黑素结合并阻断其下游信号级联反应[27-28]。研究显示，PTSD 患者褪黑素分泌减少，而外源性补充褪黑素可改善小鼠 PTSD 样行为，并且这种作用由 MT1 受体介导[29-30]。GPR50 与 MT1 的异聚化程度受两者相对表达水平调控，GPR50 表达过高可增强对 MT1 的抑制作用，从而可能加剧 PTSD 样行为。因此，SPS 小鼠出现 PTSD 样行为可能与 GPR50 表达上调有关。本研究结果显示，酸枣仁水提物能够降低 GPR50 蛋白表达水平，并且生物信息学分析结果表明 GPR50 可能是酸枣仁治疗 PTSD 的主要作用靶点，同时利用分子对接发现酸枣仁水提物中的主要成分酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 均能与 GPR50 稳定结合，这不仅揭示了 GPR50 的潜在外源性配体，也为 PTSD 治疗提供了新的潜在靶点及药物干预方向。

生物信息学分析表明，突触可能是酸枣仁发挥抗 PTSD 作用的关键部位，其机制可能与调控 HIF-1、cAMP 及 AGE-RAGE 等信号通路有关，表明酸枣仁可能通过调节突触可塑性改善 SPS 小鼠的 PTSD 样行为。本团队前期研究已证实 SPS 小

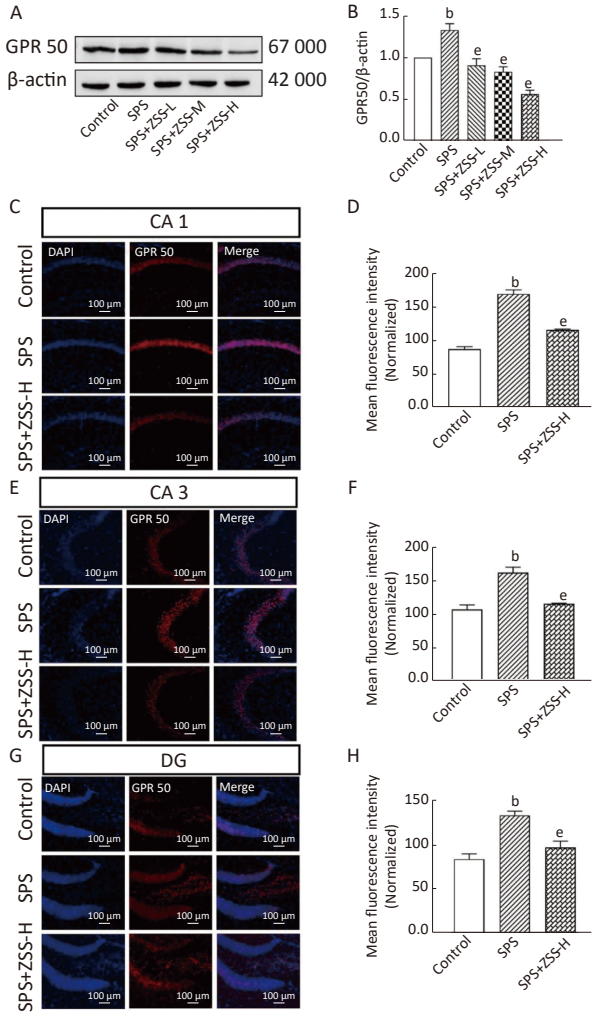


Fig.7 The aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) inhibited the expression of GPR50 protein in the hippocampus ($\bar{x}\pm s$, n=6)

A: representative blots; B: quantitative data of GPR50 (n=3); C-H: schematic immunofluorescence of GPR50 in the CA1, CA3 and DG region of mouse hippocampus and mean fluorescence intensity of GPR50 (Nucleus: blue; GPR50: red) (n=3). ^{b}P<0.05, compared with the control group; ^{e}P<0.05, compared with SPS group.

鼠存在突触可塑性损伤，且海马突触可塑性在 PTSD 恐惧记忆异常调控中起重要作用[31]。PSD95，一种突触后致密后蛋白，是一个关键的突触蛋白，参与调控突触传递和可塑性过程[32]。而谷氨酸受体 N-甲基-D-天冬氨酸受体（NMDAR），尤其是 GluN2A 和 GluN2B，在突触形成、成熟和可塑性中发挥核心作用[33]。与之前的研究结果一致，本研究发现 SPS 小鼠海马中 PSD95 和 GluN2A 蛋白表达降低，GluN2B 蛋白表达升高，表明 SPS 小鼠的突触可塑性受损，而酸枣仁干预后可逆转这些变化，表明其能够调节突触可塑性相关蛋白，改善

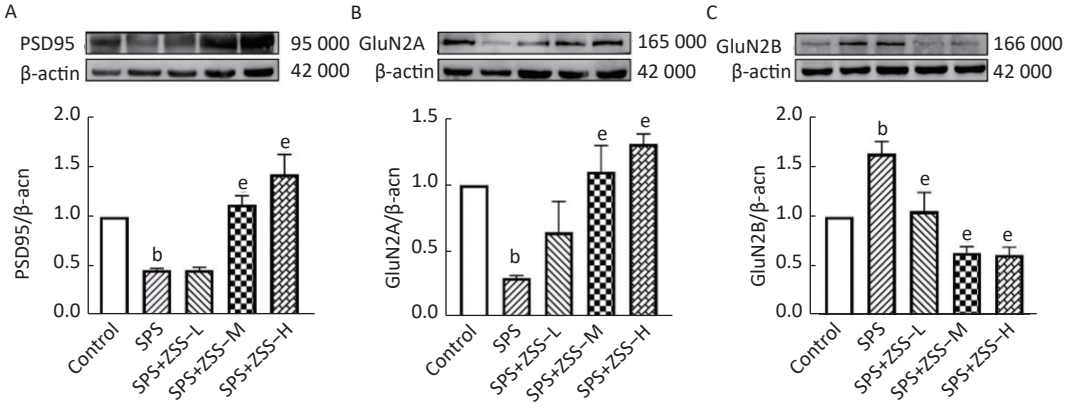


Fig.8 Effects of the aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) on the expression levels of PSD95, GluN2A and GluN2B proteins in mouse hippocampus ($\bar{x}\pm s$, n=3)

A: representative blot and quantitative analysis of PSD95; B: representative blot and quantitative analysis of GluN2A; C: representative blot and quantitative analysis of GluN2B; ^{b}P<0.05, compared with the control group; ^{e}P<0.05, compared with SPS group.

SPS 小鼠海马的突触可塑性损伤。

海马是突触可塑性和空间记忆形成的关键脑区，本研究的结果显示 GPR50 在海马 CA1、CA3 及 DG 区均显著表达，提示 GPR50 可能参与对突触可塑性的调控[34]。并且，作为线粒体自噬受体，GPR50 可促进线粒体更新，为突触可塑性提供必需的能量支持[15, 35-36]。而 GPR50 的过度表达可能会导致线粒体自噬异常，破坏能量代谢稳态，进而抑制 PSD95 在突触的富集[37]。PSD95 的缺失会破坏突触后 NMDA 受体的锚定和分布，引发以 GluN2A/B 亚基为主的受体功能失调和钙信号紊乱，从而进一步加剧线粒体功能障碍[38-39]。因此，酸枣仁水提物改善突触可塑性可能是通过抑制 GPR50 表达，修复线粒体功能来实现的。

综上所述，本研究发现酸枣仁水提物能够有效改善 SPS 小鼠的 PTSD 样行为，其作用机制可能与抑制 GPR50 的过表达进而改善突触可塑性损伤有关。酸枣仁水提物中的关键活性成分酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 可与 GPR50 紧密结合，抑制海马 GPR50 的过表达。GPR50 活性的下调，能够逆转因其高表达所引发的线粒体自噬异常，进而恢复海马能量代谢稳态。能量供应的恢复，进一步促进了突触后致密区关键蛋白 PSD95 在突触的富集，进而稳定了由 GluN2A/B 亚基主导的 NMDA 受体功能与钙信号传导，恢复突触可塑性。突触可塑性损伤是 PTSD 发生过程中的一个关键因素[40]。

本研究也存在一定局限：首先，尽管发现酸枣仁水提物可下调 GPR50 蛋白表达并调节突触可塑性相关蛋白，但 GPR50 是直接还是间接调控突触可塑性，尚需进一步明确。其次，分子对接模拟提示了酸枣仁活性成分与 GPR50 结合的可能性，然而具体的分子结合机制如关键作用位点，仍有待通过实验进一步阐明。

参考文献

[1] Chen L, Zhang Y, Wang Z, et al. Activation of GPER1 by G1 prevents PTSD-like behaviors in mice: illustrating the mechanisms from BDNF/TrkB to mitochondria and synaptic connection [J]. CNS Neurosci Ther, 2024, 30(7): e14855.

[2] Maercker A, Cloitre M, Bachem R, et al. Complex post-traumatic stress disorder [J]. Lancet, 2022, 400(10345): 60-72.

[3] 何存宝, 杨绍杰, 朱国旗. 4-(芳基乙炔基)-吡咯并[2, 3-d]嘧啶通过抑制 mGluR5 调控 ERK1/2-SGK1 信号通路改善小鼠创伤后应激障碍 [J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(4): 765-773.

[4] Ressler KJ, Berretta S, Bolshakov VY, et al. Post-traumatic stress disorder: clinical and translational neuroscience from cells to circuits [J]. Nat Rev Neurol, 2022, 18(5): 273-288.

[5] Singh B. MDMA-assisted therapy for post-traumatic stress disorder: regulatory challenges and a path forward [J]. CNS Drugs, 2025, 39(4): 339-343.

[6] 李园, 邓昕, 黄成, 等. 酸枣仁炮制的历史沿革、化学成分和药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27(4): 215-220.

[7] 程宏博, 刘献, 尚慧莹, 等. 酸枣仁提取物对慢性不可预知温和应激致抑郁失眠小鼠的治疗作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(7): 1817-1829.

[8] Peng WH, Hsieh MT, Lee YS, et al. Anxiolytic effect of

seed of Ziziphus jujuba in mouse models of anxiety [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 72(3): 435-441.
[9] Hu J, Li H, Wang X, et al. Novel mechanisms of Anshen Dingzhi prescription against PTSD: inhibiting DCC to modulate synaptic function and inflammatory responses [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 333: 118425.
[10] Yao Z, Meng J, Long J, et al. Orphan receptor GPR50 attenuates inflammation and insulin signaling in 3T3-L1 preadipocytes [J]. FEBS Open Bio, 2023, 13(1): 89-101.
[11] Ding K, Zhang Z, Niu J, et al. Taltirelin treatment alleviates PTSD-like symptoms and restores neural oscillations in male mice receiving single prolonged stress [J]. Neuropharmacology, 2026, 284: 110791.
[12] Ahmad R, Luka M, Journe AS, et al. Orphan GPR50 restrains neurite outgrowth and cell migration by activating the G(12/13) protein-RhoA pathway in neural progenitor cells and tanycytes [J]. J Pineal Res, 2025, 77(2): e70041.
[13] Watkins LR, Orlandi C. Orphan G protein coupled receptors in affective disorders [J]. Genes (Basel), 2020, 11(6): 666.
[14] Macintyre DJ, McGhee KA, Maclean AW, et al. Association of GPR50, an X-linked orphan G protein-coupled receptor, and affective disorder in an independent sample of the Scottish population [J]. Neurosci Lett, 2010, 475(3): 169-173.
[15] Liu JC, Zhao XY, Wu ML, et al. GPR50 regulates neuronal development as a mitophagy receptor [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(8): 591.
[16] 兰道亮, 姚颖, 陈艳, 等. GPR50 生物学功能研究进展 [J]. 西南民族大学学报, 2021, 47(3): 238-245.
[17] Wang J, Gao F, Cui S, et al. Utility of 7, 8-dihydroxyflavone in preventing astrocytic and synaptic deficits in the hippocampus elicited by PTSD [J]. Pharmacol Res, 2022, 176: 106079.
[18] Chen D, Hu J, Yang S, et al. Mechanistic studies of the beneficial effects of Anshen Dingzhi prescription for PTSD treatment: roles of the FKBP5-IKKα-NF-κB-NLRP3 signaling pathway [J]. Acupunct Herb Med, 2025, 5(3): 316-327.
[19] 杨静怡, 朱国旗, 陈玉状, 等. 肿瘤相关创伤后应激障碍的中医认识 [J]. 中医药临床杂志, 2021, 33(9): 1666-1670.
[20] 丁灵, 王欣, 上官惠子, 等. 酸枣仁的化学成分及治疗失眠的作用机制研究进展 [J]. 现代中医药, 2025, 45(3): 14-23.
[21] 区绮琪, 王鹏, 王茎. 浅析宫廷医学辨治不寐特色 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(6): 3691-3694.
[22] 杨绍杰, 陈玉状, 朱国旗. 从心肾探析创伤后应激障碍病机及中药防治研究 [J]. 中医药临床杂志, 2021, 33(6): 1011-1015.
[23] 唐言波. 基于中医古籍和数据挖掘探讨中医辨治失眠的用药规律 [J]. 贵州医药, 2024, 48(9): 1460-1462.
[24] 赵博深, 史磊磊, 安宇宇, 等. 酸枣仁汤对创伤后应激障碍模型小鼠行为学的改善作用及对 JAK2/STAT3、ERK/CREB 信号通路的影响 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(12): 2778-2788.
[25] Alavi MS, Shamsizadeh A, Azhdari-Zarmehri H, et al. Orphan G protein-coupled receptors: the role in CNS disorders [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 98: 222-232.
[26] Khan MZ, He L, Zhuang X. The emerging role of GPR50 receptor in brain [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 78: 121-128.
[27] Levoye A, Dam J, Ayoub MA, et al. The orphan GPR50 receptor specifically inhibits MT1 melatonin receptor function through heterodimerization [J]. EMBO J, 2006, 25(13): 3012-3023.
[28] Boutin JA, Kennaway DJ, Jockers R. Melatonin: facts, extrapolations and clinical trials [J]. Biomolecules, 2023, 13(6): 989.
[29] Paul MA, Love RJ, Jetly R, et al. Blunted nocturnal salivary melatonin secretion profiles in military-related posttraumatic stress disorder [J]. Front Psychiatry, 2019, 10: 882.
[30] Xu Z, Li W, Sun Y, et al. Melatonin alleviates PTSD-like behaviors and restores serum GABA and cortisol levels in mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 2023, 240(2): 259-269.
[31] Xie P, Chen L, Wang J, et al. Polysaccharides from Polygonatum cyrtonema Hua prevent post-traumatic stress disorder behaviors in mice: mechanisms from the perspective of synaptic injury, oxidative stress, and neuroinflammation [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 1): 117165.
[32] Shi X, Zhou XZ, Chen G, et al. Targeting the postsynaptic scaffolding protein PSD-95 enhances BDNF signaling to mitigate depression-like behaviors in mice [J]. Sci Signal, 2024, 17(834): eadn4556.
[33] Dupuis JP, Nicole O, Groc L. NMDA receptor functions in health and disease: old actor, new dimensions [J]. Neuron, 2023, 111(15): 2312-2328.
[34] Pereyra G, Mateo MI, Miaja P, et al. SFRP1 upregulation causes hippocampal synaptic dysfunction and memory impairment [J]. Cell Rep, 2025, 44(4): 115535.
[35] Storey GP, Riquelme R, Barria A. Activity-dependent internalization of Glun2B-containing NMDARs is required for synaptic incorporation of Glun2A and synaptic plasticity [J]. J Neurosci, 2025, 45(4): e0823242024.
[36] Rangaraju V, Lewis TL Jr, Hirabayashi Y, et al. Pleiotrop-

ic mitochondria: the influence of mitochondria on neuronal development and disease [J]. J Neurosci, 2019, 39(42): 8200-8208.

[37] Nachman E, Verstreken P. Synaptic proteostasis in Parkinson's disease [J]. Curr Opin Neurobiol, 2022, 72: 72-79.

[38] Yang L, Wei M, Wang Y, et al. Rabphilin-3A undergoes phase separation to regulate GluN2A mobility and surface clustering [J]. Nat Commun, 2023, 14(1): 379.

[39] Zhang K, Wen M, Nan X, et al. NMDA receptors in neurodegenerative diseases: mechanisms and emerging therapeutic strategies [J]. Front Aging Neurosci, 2025, 17: 1604378.

[40] Wang J, Zhao P, Cheng P, et al. Exploring the effect of Anshen Dingzhi prescription on hippocampal mitochondrial signals in single prolonged stress mouse model [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 323: 117713.

Amelioration of PTSD-like behaviors in mice by the aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen via inhibition of GPR50 and regulation of synaptic plasticity

GAO Zixuan[1], HE Cunbao[1], YANG Shaojie[2], WANG Bin[1], ZHU Guoqi[1], CHENG Hui[3], CHEN Lixia[1]

[1] Key Laboratory of Molecular Biology (Brain Diseases), Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, Anhui, China; [2] The Second Affiliation Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061, Anhui, China; [3] Key Laboratory of Xin'an Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, Anhui, China

ABSTRACT **AIM**: To evaluate the effects of the aqueous extract of Ziziphi Spinosae Semen (ZSS) on single prolonged stress (SPS)-induced post-traumatic stress disorder (PTSD)-like behaviors in mice, and to explore its potential mechanism from the perspective of hippocampal G protein-coupled receptor 50 (GPR50) and synaptic plasticity. **METHODS**: The UPLC-UV method was employed to determine the content of the main components, saponin A and saponin B, in the aqueous extract of ZSS. C57BL/6 mice were randomly divided into Control group, SPS group, SPS+ZSS-L, M, H groups and SPS+PRX group. Behavioral experiments were used to evaluate PTSD-like behaviors in SPS mice. Molecular docking was employed to evaluate the stability of the binding between the active ingredients in aqueous extract of ZSS and GPR50. Western blot combined with immunofluorescence were applied to detect GPR50, PSD95, GluN2A, and GluN2B protein expression in mouse hippocampal tissue. Bioinformatics analysis was used to predict key targets for ZSS treatment of PTSD. **RESULTS**: This study conducted qualitative and quantitative analyses of the main active ingredients saponin A and B in the aqueous extract of ZSS. Compared with the Control group, mice in the SPS group exhibited PTSD-like behaviors such as anxiety, depression, and difficulty in fear memory extinction (P<0.05), with elevated expression of GPR50 protein in the hippocampus and abnormal expression of synaptic plasticity-related proteins PSD95, GluN2A, and GluN2B. The aqueous extract of ZSS significantly improved PTSD behaviors in SPS mice (P<0.05) and inhibited GPR50 expression (P<0.05). A total of 209 potential targets of the aqueous extract of ZSS for treating PTSD were screened. These targets were enriched in pathways associated with functions such as inhibiting impaired synaptic plasticity and exerting antioxidant properties. Molecular docking demonstrated that ZSS saponin A and saponin B, bind stably to GPR50.**CONCLUSION**: The aqueous extract of ZSS can ameliorate SPS-induced PTSD-like behaviors in mice, and its mechanism may be associated with the inhibition of GPR50 to alleviate synaptic plasticity impairment.

KEYWORDS post-traumatic stress disorder; G protein-coupled receptor 50; Ziziphi Spinosae Semen; synaptic plasticity