University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Evaluation of the pharmacological effects of Serratiopeptidase on the central nervous system in mice

Younes Masoud Abdul Hameed Farhan

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Pharmacology and Toxicology

Supervised by

Assistant Professor

Dr. Ahmed Salah Naser

2025 A.D. **1447 A.H.**

Abstract

The study aimed to evaluate the neurobehavioral, anxiolytic, antidepressant, anticonvulsant, physiological effects and its effect on general anesthesia of Serratiopeptidase, a proteolytic enzyme, then utilizes a veterinary patient monitor accompanied by continuous monitoring and tracking of vital signs and physiological parameters in mice following single and repeated oral administrations. The research has employed a series of short- and long-term behavioral and physiological tests to evaluate dose-dependent responses at 5 mg/kg, 10 mg/kg, and 20 mg/kg doses, with comparisons to negative (distilled water) and positive controls (sertraline or diazepam). Key findings have demonstrated Serratiopeptidase's multifaceted pharmacological potential, particularly at higher doses, notable impacts on locomotion, anxiety-like behaviors, depression-related immobility, convulsion modulation, and vital organs function under anesthesia.

In the open field test (OFT), a single-dose Serratiopeptidase significantly increases horizontal locomotion (e.g., 93.6 ± 3.52 squares crossed at 20 mg/kg vs. 13.2 ± 1.71 in control, $P \leq 0.05$) and vertical activity (rearing), suggesting enhanced exploratory behavior. Repeated administration over 15 days further has increase horizontal locomotion (96.13 ± 6.65 squares crossed at 20 mg/kg) and vertical exploration (24.25± 1.68 rearing), indicating sustained motor stimulation. The negative geotaxis test (NG) revealed delayed 180° rotation times after a single 5 mg/kg dose (12.6 ± 5.31 seconds vs. 9.8 ± 1.11 in control), while repeated dosing at 20 mg/kg reduced this time (4.80 ± 1.20 seconds), reflecting improved vestibular function. Head pocking test, a measure of curiosity, increased in both single and repeated administration (the repeated doses, 12.20 ± 1.71 counts at 20 mg/kg vs. 10.40 ± 2.83 in control).

In the elevated plus maze test (EPM), a single-dose of Serratiopeptidase at (20 mg/kg) has shown a significant increase in amount of time mice spent in the open arms (187.40 ± 23.92 seconds vs. 111.40 ± 5.97 in negative control, $p \leq 0.05$) and a reduced close-arms entries, indicative of reduced anxiety. Repeated administration reinforced this trend with the 20 mg/kg group spending (120.60 ± 29.79 seconds) in the open arms, surpassing even Sertraline (99.00 ± 20.72 seconds). The light/dark box test has corroborated these findings; the 20 mg/kg dose increases light-side exploration (198.40 ± 26.23 seconds vs. 157.00 ± 19.69 in negative control) superiority over Sertraline, and reduces dark-side preference, highlighting robust anxiolytic effects. Even after 15 days of administration, a significant reduction in anxiety was detected with a preference for periods of staying on the light side, and the opposite on the dark side.

In acute administration, a single dose of SRP at 10 mg/kg has decreased the immobility time of mice in the tail suspension test (TST) by 7% (25.50 ± 9.90 seconds vs. 62.33 ± 21.94 in negative control), outperforming sertraline. However, a biphasic response has emerged at 20 mg/kg (43.50 ± 17.92 seconds). In the repeated doses, 10 and 20 mg/kg by (11%) vs (21% and 22% in controls, respectively). Similarly, the forced swimming test (FST) reveals immobility reduction at 5 mg/kg (15%) and 20mg/kg (14%), though the 10mg/kg group has paradoxically increased immobility by 30%. Administration over 15 days, both 10 and 20 mg/kg doses has demonstrated sustained antidepressant efficacy, reducing TST immobility to (11%) vs. (21% and 22% in controls, respectively) and FST immobility to (6-7%) vs. (29% in negative control), compatible to sertraline.

Repeated administration of Serratiopeptidase has delayed the onset of pilocarpine-induced convulsion in a dose-dependent manner (24.25 ± 0.5 minutes at 20 mg/kg vs. 8.00 ± 2.0 in control, $p \leq 0.05$) and has reduced

convulsion frequency (3.5 ± 0.3 vs. 10.3 ± 2.1 in control). Survival rates have improved to (100%) at 10-20 mg/kg, matching diazepam's efficacy.

Serratiopeptidase has prolonged anesthesia onset (147.40 ± 8.13 seconds at 5mg/kg vs. 72.88±13.50 in control) and duration (192.25 ± 32.81 minutes at 5 mg/kg vs. 119.50 ± 7.22 in controls). Similarly, at (10 and 20mg/kg). Recovery time has increased, peaking at 77.9 ± 14.90 minutes (20 mg/kg). Vital organ monitoring has revealed enhanced oxygen saturation, peaking (97.50 ± 0.42 at 20 mg/kg vs. 86.50 ± 4.21 in control), elevated respiratory rates (19.8 ±2.9 breaths/min at 20 mg/kg vs. 11.0 ± 0.4 in control), and reduced heart rates (83.3 ± 3.2 bpm at 20 mg/kg vs. 101.5 ± 15.2 in control), suggesting an improved oxygen saturation and a mild cardiorespiratory improvement.

In conclusion, Serratiopeptidase exhibits broad-spectrum neuroactive properties, demonstrating anxiolytic, antidepressant, and anticonvulsant efficacy comparable to or superior to standard therapies. Its ability to enhance exploratory behavior, delay convulsions, modulate anesthesia, and improve physiological parameters underscores therapeutic potential for neurological and psychiatric disorder. However, biphasic responses in acute antidepressant tests and variability in higher-dose effects warrant further mechanistic and clinical exploration. These findings position Serratiopeptidase as a promising candidate for repurposing in neuropharmacological, meriting advanced study to optimize dosing and elucidate the molecular pathway.

جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

تقييم التأثيرات الدوائية للسيراتيوبيبتايداز على الجهاز العصبي المركزي في الفئران

يونس مسعود عبد الحميد فرحان

رسالة الماجستير

الطب البيطري/ الأدوية والسموم البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور احمد صلاح ناصر

١٤٤٧هـ ٢٠٢٥م

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تقييم التأثيرات السلوكية العصبية ومزيلة القلق ومضاد للاكتئاب والاختلاج والفسيولوجية وتأثيرها على التخدير العام، لإنزيم سيراتيوببتيداز، وهو إنزيم محلل للبروتين، ثم استخدمه جهاز مراقبة المريض البيطري مصحوبا بالمراقبة وتتبع المستمر للعلامات الحيوية والمعلمات الفسيولوجية لدى الفئران بعد تجريعه عن طريق الفم بشكل فردي ومتكرر. حيث استخدم البحث سلسلة من الاختبارات السلوكية والفسيولوجية القصيرة وطويلة الامد لتقييم الاستجابات المعتمدة على الجرعة عند جرعات ٥ ملغم/كغم و١٠ ملغم/كغم و٢٠ ملغم/كغم مع مقارنات بالسيطرة السلبية (الماء المقطر) والإيجابية (سيرترالين أو الديازيبام). أظهرت النتائج الرئيسية الإمكانات الدوائية المتعددة الأوجه للسيراتيوببتيداز، خاصة عند الجرعات الأعلى، مع تأثيرات ملحوظة على الحركة، والسلوكيات المشابهة للقلق، وعدم الحركة المرتبطة بالاكتئاب، وتعديل التشنج، ووظيفة الأعضاء الحيوية تحت التخدير.

في اختبار الميدان المفتوح (OFT)، زادت الجرعة الفردية من سيراتيوببتيداز بشكل كبير من الحركة الأفقية (على سبيل المثال، ٩٣.٦ ± ٣.٥٢ مربع تم عبورها عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ١٣.٢ ± ١.٧١ في السيطرة، $P \leq 0.05$) والنشاط العمودية (الوقوف على القوائم الخلفية)، مما يشير إلى تعزيز السلوك الاستكشافي. وقد أدى تكرار الإعطاء على مدى ١٥ يومًا إلى زيادة الحركة الأفقية (٩٦.١٣ ± ٦.٦٥ مربعًا عند ٢٠ ملغم/كغم) والاستكشاف العمودي(٢٤.٢٥ ± ١.٦٨ في التسلق)، مما يشير إلى التحفيز الحركي المستمر. وكشف اختبار الانتحاء الارضي السالب (NG) عن تأخر زمن الدوران ١٨٠ درجة بعد جرعة واحدة ٥ ملغم/كغم (١٢.٦ ± ٥.٣١ ثانية مقابل ٩.٨ ± ١.١١ في السيطرة)، بينما قلل تكرار الجرعات عند ٢٠ ملغم/كغم من هذا الزمن (٤.٨٠ ± ١.٢٠ ثانية)، مما يعكس تحسن الوظيفة الدهليزية، كما زاد اختبار عدد مرات إدخال الرأس في الثقوب، وهو مقياس للفضول، كل من الإعطاء الفردي والمتكرر (الجرعات المتكررة ١٢.٢٠ ± ١.٧١ عدد عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ١٠.٤٠ ± ٢.٨٣ في السيطرة).

في اختبار المتاهة المرتفعة (EPM)، أظهرت الجرعة الفردية من السيراتيوببتيداز عند (٢٠ ملغم/كغم) زيادة كبيرة في مقدار الوقت الذي قضته الفئران في الأذرع المفتوحة(١٨٧.٤٠ ± ٢٣.٩٢ ثانية مقابل ١١١.٤٠ ± ٥.٩٧ في السيطرة السلبية، $p \leq 0.05$) وتقليل الدخول

في الأذرع المغلقة، مما يدل على انخفاض القلق. وقد عزز تكرار الإعطاء هذا الاتجاه مع قضاء مجموعة ٢٠ ملغم/كغم (١٢٠.٦٠ ± ٢٩.٧٩ ثانية) في الأذرع المفتوحة، متجاوزة حتى سيرترالين (٩٩.٠٠ ± ٢٠.٧٢ ثانية). وأيد اختبار صندوق الضوء/الظلام هذه النتائج; زادت جرعة ٢٠ ملغم/كغم من استكشاف الجانب المضيء (١٩٨.٤٠ ± ٢٦.٢٣ ثانية مقابل ١٥٧.٠٠ ± ١٩.٦٩ في السيطرة السلبية) متفوقة على سيرترالين، وقللت من تفضيل الجانب المظلم، مما يسلط الضوء على التأثيرات القوية المزيلة للقلق. حتى بعد ١٥ يومًا من الاعطاء، تم الكشف عن انخفاض كبير في القلق مع تفضيل فترات البقاء على الجانب المضيء، والعكس على الجانب المظلم.

في الاعطاء الحاد، قللت الجرعة الفردية من سيراتيوببتيداز عند ١٠ ملغم/كغم من زمن الجمود لدى الفئران في اختبار تعليق الذيل (TST) بنسبة ٧٪ (٢٥.٥٠ ± ٩.٩٠ ثانية مقابل ٦٢.٣٣ ± ٢١.٩٤ في السيطرة السلبية)، متفوقة على سيرترالين. ومع ذلك، ظهرت استجابة ثنائية الطور عند ٢٠ مجم/كجم (٤٣.٥٠ ± ١٧.٩٢ ثانية) في الجرعات المتكررة، ١٠ و٢٠ ملغم/كغم بنسبة (١١٪) مقابل (٢١٪ و٢٢٪ في مجموعتي السيطرة على التوالي). وبالمثل، كشف اختبار السباحة القسرية (FST) عن انخفاض في عدم الحركة عند ٥ ملغم/كغم (١٥٪) و٢٠ ملغم/كغم (١٤٪)، على الرغم من أن مجموعة ١٠ ملغم/كغم زادت بشكل متناقض من عدم الحركة بنسبة ٣٠٪. بعد ١٥ يوماً من الإعطاء، أظهرت جرعات ١٠ ملغم/كغم و٢٠ ملغم/كغم فعالية مستدامة لمضادات الاكتئاب، مما قلل من عدم الحركة في اختبار TST إلى (١١٪) مقابل (٢١٪ و٢٢٪ في مجموعتي السيطرة على التوالي) وعدم الحركة في اختبار FST إلى(٦-٧٪) مقابل (٢٩٪ في السيطرة السلبية)، وهو ما يتوافق مع السيرترالين.

أدى تكرار إعطاء سيراتيوببتيداز إلى تأخير بداية التشنج الناجم عن البيلوكاربين بطريقة تعتمد على الجرعة (٢٤.٢٥ ± ٠.٥ دقيقة عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ٨.٠٠ ± ٢.٠ في السيطرة، $p \leq 0.05$) وخفض تواتر التشنج (٣.٥ ± ٠.٣ مقابل ١٠.٣ ± ٢.١ في السيطرة). وتحسنت معدلات البقاء على قيد الحياة إلى (١٠٠٪) عند ١٠-٢٠ ملغم/كغم، وهو ما يضاهي فعالية الديازيبام.

وأدى السيراتيوببتيداز إلى إطالة بداية التخدير (١٤٧.٤٠ ± ٨.١٣ ثانية عند ٥ ملغم/كغم مقابل ٧.٢٢ في السيطرة) ومدته (١٩٢.٢٥ ± ٣٢.٨١ دقيقة عند ٥ ملغم/كغم مقابل ١١٩.٥٠ ± ٧.٢٢ في السيطرة). بالمثل، عند (١٠ و٢٠ ملغم/كغم). زاد وقت التعافي ، حيث

بلغ ذروته عند (٢٠ مجم/كجم) ٧٧.٩ ± ١٤.٩٠ دقيقة. وكشفت مراقبة الأعضاء الحيوية عن تحسن في تشبع الأكسجين ويبلغ ذروته (٩٧.٥٠ ± ٠.٤٢ عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ٨٦.٥٠ ± ٤.٢١ في السيطرة)، وارتفاع معدلات التنفس (١٩.٨ ± ٢.٩ نفس/الدقيقة عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ١١.٠ ± ٠.٤ في السيطرة)، وانخفاض معدلات ضربات القلب (٨٣.٣ ± ٣.٢ نبضة في الدقيقة عند ٢٠ ملغم/كغم مقابل ١٠١.٥ ± ١٥.٢ في السيطرة)، مما يشير إلى تحسن تشبع الأكسجين وتحسن خفيف في الجهاز التنفسي القلبي.

في الاستنتاج، يُظهر السيراتيوببتيداز خصائص عصبية واسعة النطاق، مما يدل على فعالية مزيلة للقلق ومضاد للاكتئاب وفعالية مضادة للاختلاج مماثلة أو متفوقة على العلاجات القياسية. تؤكد قدرته على تعزيز السلوك الاستكشافي وتأخير التشنجات وتعديل التخدير، وتحسين المعايير الفسيولوجية على الإمكانات العلاجية للاضطرابات العصبية والنفسية. ومع ذلك، فإن الاستجابات في اختبارات مضادات الاكتئاب الحادة والتباين في تأثيرات الجرعات العالية تستدعي المزيد من الاستكشاف الآلي والسريري. هذه النتائج تضع سيراتيوببتيداز كمرشح واعد لإعادة توجيهه في مجال الأدوية العصبية، مما يستحق دراسة متقدمة لتحسين الجرعات وتوضيح المسار الجزيئي.