

12.2 Корекція флумазенілом фармакологічної дії похідних бензодіазепіну діазепаму та пропоксазепаму

Основною мішенню фармакологічної дії бензодіазепінів (БДЗ) є ГАМК_A рецептори (ГАМК-Р), які представлені сукупністю нервових центрів, волокон і синапсів, що синтезують і виділяють гамма-аміномасляну кислоту (ГАМК) як медіатор. БДЗ не здатні активувати ГАМК-Р в головному та спинному мозку, однак, взаємодіючи зі своїм місцем зв'язування, викликають конформаційні зміни рецептора, які призводять до підвищення його афінності до ГАМК і такий тип взаємодії є прикладом алостеричної модуляції. БДЗ, які використовуються в медичній практиці, відносяться до повних агоністів і за фармакологічною дією є анксиолітичними, седативними, снодійними, протисудомними, міорелаксуючими та вегетостабілізуючими засобами. Співвідношення цих клініко-фармакологічних патернів у спектрі дії окремого препарату визначає особливості його психотропного ефекту, показання до клінічного застосування та побічну дію.

Сьогодні відомо, що агоністичний вплив лігандів безпосередньо на підтипи БДЗ-Р має клінічні наслідки. Більшість класичних БДЗ мають спорідненість до $\alpha 1\beta\gamma 2$, $\alpha 2\beta\gamma 2$, $\alpha 3\beta\gamma 2$ або $\alpha 5\beta\gamma 2$ субодиниць ГАМК-Р, здійснюючи таким чином відповідні поведінкові ефекти. Оскільки зазначені субодиниці мають однакову структуру $\beta\gamma 2$ в науковій літературі їх визначають як $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ та $\alpha 5$. Отже індивідуальна фармакологічна дія БДЗ в основному визначається субодиницями α , що містяться в цільовому рецепторі, та їх анатомічним розподілом у структурах головного мозку. Генетичні та фармакологічні дослідження за допомогою створених мутантних ліній мишей: $\alpha 1(H101R)$, $\alpha 2(H101R)$, $\alpha 3(H126R)$ і $\alpha 5(H105R)$ та синтезу нових лігандів, селективних до кожного підтипу, допомогли зв'язати певні поведінкові реакції з конкретними підтипами рецепторів ГАМК [539]. Седативний і протисудомний ефекти в основному викликані зв'язуванням БДЗ з підтипом $\alpha 1$, тоді як

анксиолітичний ефект був показаний для модуляції $\alpha 2$ -вмісних і зовсім недавно $\alpha 5$ -вмісних ГАМК-Р. Розслаблення м'язів є результатом зв'язування БДЗ з підтипами рецепторів $\alpha 2$ - і $\alpha 3$ ГАМК-Р, а рухова координація порушується модуляцією підтипів рецепторів $\alpha 1$ або $\alpha 3$ [540, 541]. Крім того, субодинаця $\alpha 5$ бере участь у навчанні та пам'яті [542]. Нарешті, нещодавно виявлено антигіперальгетичну дію БДЗ, яка залежить головним чином від $\alpha 2$ -вмісних ГАМК-Р у спинному мозку [541]. Підтип $\alpha 1$ є найпоширенішим і його можна знайти в усьому мозку, тоді як $\alpha 2$, $\alpha 3$ і $\alpha 5$ є більш специфічними для регіону [543]. До встановлення механізму дії БДЗ і особливо молекулярної організації ГАМК-Р існувала думка про неможливість розділити різні фармакологічні ефекти в одному препараті. Зростаюча обізнаність фармакологічною відповіддю окремих субодинаць α -підтипу ГАМК-Р відродила інтерес медичних хіміків щодо створення селективних препаратів похідних БДЗ. Селективність досягається залежною від підтипу субодинаці афінністю або ефективністю зв'язування. Останнє є результатом повного або часткового агонізму в одному підтипі, але повного або часткового антагонізму, слабшого агонізму (або негативного агонізму) в інших α -підтипах [544]. Серед найбільш вдалих наукових напрямків є створення неседативних анксиолітичних препаратів, націлених на субодинацю $\alpha 2$ [545, 546, 547]. Сполука L-838,417, похідна БДЗ, має мінімальну ефективність щодо підтипу $\alpha 1$, є частковим агоністом $\alpha 2$, $\alpha 3$ і $\alpha 5$ і діє як анксиолітик без седації в моделі на тваринах. Такі сполуки як імідазеніл, ТРА123 і ТРА023, у яких є низька або відсутня взаємодія із субтипом $\alpha 1$, мають значну анксиолітичну активність без седації, що свідчить про можливість створення селективних лікарських засобів.

З огляду на широке розповсюдження $\alpha 2$ -вмісних ГАМК-Р в спінальному ганглії, які беруть участь у полегшенні болю та сприяють ноцицепції [541] нами було розроблено інноваційний анальгетик пропоксазепам [548, 549]. Фармакодинамічний профіль сполуки відмінний від усіх анальгетиків, оскільки вона одночасно гальмує і гострий, і хронічний біль з компонентами протизапальної та протисудомної дії. Основною мішенню для знеболення

сполуки є $\alpha 2$ та $\alpha 3$ субодиниці ГАМК-Р [550]. Як показано іншими авторами [551], використання активностей $\alpha 3$ або $\alpha 5$ підвищує антигіперальгетичну ефективність лише помірно або зовсім не підвищує. Отже, препарати, селективні до певних підтипів рецепторів, можуть дозволити відокремити бажану антигіпералгезію від небажаних ефектів, але відсутність селективних агентів усе ще перешкоджають систематичному аналізу.

Ще однією можливістю позбавитися від побічної дії БДЗ може бути використання специфічних антагоністів відповідних субодиниць ГАМК-Р. Для більшості БДЗ, на відміну від усіх інших седативно-гіпнотичних препаратів, специфічним рецепторним антагоністом є похідне імідазобензодіазепіну флумазеніл. Препарат добре переноситься як місцево, так і системно. Незважаючи на те, що після застосування флумазенілу можуть виникнути деякі побічні дії як цей препарат забезпечує механізм безпечного та ефективного усунення седативного ефекту, спричиненого БДЗ. Тому флумазеніл намагаються використовувати не тільки як антидот, але й як коректор дії відомих та новаторських БДЗ в амбулаторній практиці, що й обумовлює необхідність експериментальної оцінка можливості корекції компонентів фармакологічного спектру пропоксазепаму флумазенілом.

Експерименти виконано на білих безпорідних мишах масою 18-24 г відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту та Ради ЄС «Про охорону тварин, які використовуються з науковою метою» [552].

Сполуки пропоксазепам та діазепам синтезовано у ТДВ «ІНТЕРХІМ» і їх чистота та ідентичність доведено низкою фізико-хімічних методів. Засоби вводили внутрішньоочеревинно у вигляді попередньо приготовлених розчинів з фізіологічним розчином (з додаванням Твіну-80), з розрахунку 0,1 мл/10 г маси тіла. Досліджувані зразки вводили в дозах: пропоксазепам 10 мг/кг та еквімолярній – діазепам, як позитивний контроль 6,82 мг/кг. Тварини контрольної групи (негативний контроль, НК) отримували еквівалентний об'єм розчинника. У групах з комбінованим введенням тваринам після введення пропоксазепаму або діазепаму через 5 хвилин вводили флумазеніл у дозі 15

мг/кг. Через пів-години після останнього введення зразків тварин тестували згідно із запланованим дизайном у тестах «відкрите поле», «стрижень, що обертається» («rotarod test»), «горизонтальна поперечина», «піднесений хрестоподібний лабіринт» («ПХЛ») та «гаряча пластина»..

У тесті відкритого поля вивчали вплив сполук на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку, емоційну активність та її вегетативний супровід [553]. Він дозволяє оцінити поведінку тварин у незнайомих стресових умовах, оцінювали локомоторну активність (кількість перетнутих за 3 хв квадратів), орієнтовно-дослідницькі реакції (обстеження отворів і вертикальні стійки), емоційні реакції та їхній вегетативний супровід (кількість актів грумінгу, фекальних болюсів, уринацій). Реєстрували кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок, обстежених отворів, актів грумінгу, фекальних болюсів та уринацій [553, 554].

У тесті ПХЛ досліджували тривожність, визначаючи латентний період входу в затемнений рукав, час перебування тварин в освітлених (маркер анксиолітичної дії) і затемнених рукавах (маркер тривожності), кількість переходів протягом 5 хвилин перебування тварини в лабіринті. [553].

Тест «стрижень, що обертається» є критерієм оцінки впливу пропоксазепаму та діазепаму на м'язовий тонус та (переважно) координацію рухів. Показником вважається кількість мишей, що впали зі стрижня за певні проміжки часу – до 0,5, 1, 3 та 5 хвилин [553, 555]

Критерієм оцінки впливу сполук на м'язовий тонус обрано тест «горизонтальна поперечина» (горизонтально орієнтований дерев'яний циліндр діаметром 0,5 см завдовжки 30 см, піднесений на 20 см) [553], де враховувалась кількість мишей, що підтягуються та утримуються на перекладині протягом 0,5 хвилини

Із урахуванням центральних механізмів реалізації фармакологічних ефектів вплив пропоксазепаму та діазепаму на больову реакцію мишей вивчали за умов моделювання соматичного болю у тесті «гаряча пластина» [556]. Мишей почергово вміщували до приладу Hot/Cold Plate (Bioseb, США) з розігрітою до 54°C підлогою. За допомогою вмонтованого секундоміру з точністю до однієї

десятої секунди фіксували латентний час облизування твариною однієї з задніх лапок. Максимальний час експозиції становив 60 с, щоб уникнути опіку.

Отримані дані обробляли статистично [557]. Результати представляли у вигляді середнього арифметичного значення (М) та стандартного відхилення від середнього (m). Для виявлення відмінності між експериментальними групами використовували t-критерій Ст'юдента. В залежності від типу даних при порівнянні відсоткових часток використовували кутове перетворення Фішера (ϕ^*). Статистичну значущість визначали при $p < 0,05$ та $p < 0,01$. Для обчислювання застосовували стандартний пакет програми «STATISTICA 12.0».

Вплив безпосередньо флумазенілу на поведінкові компоненти тварин було вивчено у тесті “відкритого поля” (табл. 1) і показано тенденцією до підвищення суми всіх активностей. Проте не всі показники мають статистично вірогідні відмінності порівняно з групою інтактних тварин (НК). Локомоторна активність зросла на 48,77%, кількість заглядань у отвори збільшилася у 1,95 разу ($p < 0,05$), орієнтовно-дослідницька діяльність підвищилася на 113,86 %, а загальна сума усіх активностей збільшилася у 1,70 раз у порівнянні з негативним контролем. Однак, впливу флумазенілу на емоційні реакції та вегетативний супровід не виявлено.

На тлі введення діазепаму в комбінації з флумазенілом досить чітко проявляється конкурентна взаємодія двох препаратів, що підтверджується статистично вірогідними змінами у показниках активностей відносно групи флумазенілу. Локомоторна активність сягає рівня негативного контролю, та, у порівнянні з аналогічним показником після введення діазепаму, знижується на 22,34 %. Кількість заглядань в отвори зменшилася у 2,92 рази ($p < 0,01$) щодо групи флумазенілу та на 33,09 % відносно аналогічного показника тварин контрольної групи. Одночасно дані щодо орієнтовно-дослідницької діяльності свідчать про статистично виражене зниження як у порівнянні до групи інтактних тварин (45,21%, $p < 0,05$) так й до групи діазепаму (74,38, $p < 0,01$). Впливу на емоційні реакції та вегетативний супровід на тлі комбінованого застосування діазепаму з флумазенілом також не було виявлено. Загальна сума всіх

активностей не відрізняється від показника контрольної групи, та на 45,04 % нижче показника групи тварин, які отримували флумазеніл ($p<0,05$).

На тлі введення комбінації пропоксазепаму та флумазенілу спостерігали виражений депримуєчий ефект, який був статистично вірогідно більш виражений, ніж в інших групах. Так, локомоторна активність статистично вірогідно ($p<0,01$) знижувалася на 66,35% відносно НК, на 77,38 % щодо показників групи з флумазенілом ($p<0,05$) та на 70,87 % щодо показників групи з діазепамом ($p<0,01$). При вивченні впливу на орієнтовно-дослідницьку активність кількість заглядань в отвори статистично вірогідно скоротилася у 6,49 разу відносно контрольної групи ($p<0,05$), у 12,67 разу у групі з флумазенілом ($p<0,05$) та у 4,34 разу відносно групи тварин, що на тлі введення флумазенілу отримували діазепам ($p<0,05$). Показник суми орієнтовно-дослідницької діяльності статистично вірогідно знизився в 6,78 разу відносно групи НК ($p<0,01$), у 14,5 разу щодо групи контролю флумазенілу (ПК) ($p<0,01$) та у 3,72 разу відносно комбінації діазепам+флумазеніл. Впливу на емоційні реакції та вегетативний супровід також не було виявлено. Загальна сума всіх активностей статистично вірогідно знижувалася на 73,44 % проти показника НК, $p<0,01$), на 84,41% відносно ПК, введення флумазенілу, $p<0,01$) та на 71,64% відносно групи з діазепамом ($p<0,05$).

Таким чином, було виявлено, що пропоксазепам у комбінації з флумазенілом мав більший пригнічувальний вплив на ЦНС, ніж у групі порівняння, де застосовували комбінацію діазепам+флумазеніл. Можна припустити наявність у пропоксазепаму впливу не лише на сайт БДЗ ГАМК-Р, а й на інші мішені, що потребує подальшого вивчення.

Таблиця 1.

Вплив пропоксазепаму, діазепаму та їх комбінацій з флумазенілом на поведінку мишей у тесті «відкрите поле» ($M \pm m$)

Група, кількість тварин	Локомо- торна активність	Орієнтовно-дослідницька діяльність			Емоційні реакції та їх вегетативний супровід				Сума всіх активн о-стей	У % від контро лю
	(перетнут о квадратів)	Стійки	Отвори	Сума	Болю -си	Ури- нації	Гру- мінг	Сума		
Контроль (n=7)	26,3±2,9	6,8±1, 2	11,4±1,9	44,5±3,7	1±0	1±0	1,6±0, 3	3,6±0, 3	48,1±3, 7	100±7,7
Флумазен іл (n=6)	39,2±4,9*	6,8±2, 3	22,2±3,8 *	68,2±6,6* *	1±0	1±0	1,5±0, 3	3,5±0, 3	71,7±6, 6*	148,9±1 7,9
Діазепам (n=7)	40,14±6,9 7	5,75± 1,75	12,14±4, 17	58,03±8, 31	1±0	1±0	1±0	3±0	61,03± 8,31	85,15±1 4
Діазепам + флумазені л (n=7)	30,4±6,6	4,7±2, 3	7,6±1,6##	42,7±7,1#	0±0	0±0	1±0*	1±0** ##	43,7±7, 1#	90,7±16 ,4
Пропокса зепам (n=7)	9±2,64***##	1,5±0, 5*#	2,75±0,6 3***	13,25±2, 76***##	1±0	0±0	0±0**	1±0* *	14,25± 2,76***##	19,88±4 ,27
Пропокса зепам + Флумазен іл (n=7)	8,9±2,6***##	7±0	1,8±0,5** ##	17,6±2,6* ***	0±0	0±0	0±0*** #	0±0** ##	17,6±2, 6***##	36,7±6, 2

Примітка:

n – кількість тварин у групі;

* – рівень статистичної значущості ($p \leq 0,05$) відмінностей відносно відповідного значення в групі негативного контролю (НК);

** – рівень статистичної значущості ($p \leq 0,01$) відмінностей відносно відповідного значення в групі негативного контролю (НК);

– рівень статистичної значущості ($p \leq 0,05$) відмінностей відносно відповідного значення в групі флумазенілу;

– рівень статистичної значущості ($p \leq 0,01$) відмінностей відносно відповідного значення в групі флумазенілу.

& – рівень статистичної значущості ($p \leq 0,05$) відмінностей відносно відповідного значення в групі референтного контролю (діазепам);

&& – рівень статистичної значущості ($p \leq 0,01$) відмінностей відносно відповідного значення в групі референтного контролю.

Результати дослідження впливу флумазенілу, а також його комбінацій з пропоксазепамом та діазепамом на тонус скелетних м'язів та координацію рухів мишей у тесті «стрижень, що обертається» наведені у таблиці 2.

Таблиця 2.

Вплив флумазенілу та його комбінацій з пропоксазепамом та діазепамом на м'язовий тонус та координацію рухів мишей у тесті «стрижень, що обертається»

Умови досліджу	Кількість тварин, що впали з пристрою, n (%)				індекс	У % від контролю
	до 0,5 хв	до 1 хв	до 3 хв	до 5 хв		
Контроль (n=7)	14,3	14,3	71,4	71,4	14,3	100
Флумазеніл (n=6)	16,7	16,7	66,7	66,7	16,7	100,8
діазепам (n=7)	71	86	100	100	84,2	84,4
Діазепам + Флумазеніл (n=7)	14,3	28,6	100*#	100*#	14,29	140,9
Пропоксазепам (n=7)	43	71	86	100	65,7	74,2
Пропоксазепам + Флумазеніл (n=7)	29*#	43*#&	57	57&	41,6*#	45,7*#

Примітка: позначення відповідно до табл. 1.

Встановлено, що флумазеніл не виявляє впливу на тонус скелетних м'язів та координацію рухів мишей. Крім того, на тлі застосування флумазенілу спостерігається абсолютна редукція міорелаксантаного впливу пропоксазепаму, що визначено за відсутністю статистично значущих відмінностей у кількості тварин, які впали зі стрижня за фіксовані проміжки часу, порівняно з контролем.

При цьому міорелаксантий ефект діазепаму флумазеніл усуває не повною мірою – на тлі комбінації встановлено достовірне щодо контролю збільшення відсотка мишей, що впали зі стрижня, до 3 та 5 хвилин спостереження.

За результатами дослідження впливу флумазенілу, а також його комбінацій з пропоксазепамом та діазепамом на тонус скелетних м'язів мишей у тесті «горизонтальна поперечина» (табл. 3), додатково продемонстрована відсутність у флумазенілу власного впливу на м'язовий тонус тварин. Також була встановлена його здатність частково запобігати міорелаксантами впливу пропоксазепаму та діазепаму. Так, сумісне введення флумазенілу з пропоксазепамом або діазепамом значно підвищує кількість тварин, що утримувались на перекладині (з 1-2 тварини з 7 при введенні пропоксазепаму або діазепаму до 4-5 мишей з 7 при комбінованому введенні). Однак ці відмінності все ж вірогідно відрізняються від аналогічного показника групи контролю, що свідчить про неповну редукцію притаманних препаратам міорелаксантий ефектів.

Таблиця 3.

Вплив комбінації з флумазенілом на м'язовий тонус мишей у тесті «горизонтальна поперечина»

Умови досліджу	% тих, що утримались	Міорелаксанта дія (% тих, що впали)
Контроль (n=7)	100	0
Флумазеніл (n=6)	100	0
Діазепам (n=7)	71,4	28,6
Діазепам + Флумазеніл (n=7)	71,43#	28,57#
Пропоксазепам (n=7)	42,86**#	57,14**#
Пропоксазепам + Флумазеніл (n=7)	57,14***#	42,86***#

Таким чином, за результатами тестів «стрижень, що обертається» та «горизонтальна поперечина» можна зробити припущення, що міорелаксантий властивості як пропоксазепаму, так і – більшою мірою – діазепаму, пов'язані не

лише зі стимуляцією бензодіазепінових рецепторів та посиленням гальмівної дії ГАМК, але й, вочевидь, з іншими центральними механізмами.

У тесті «ПХЛ» флумазеніл виявив здатність підвищувати активність тварин і тим самим модулювати ознаки тривожного стану, що підтверджується статистично вірогідним зменшенням латентного часу входу в камеру в 3,5 рази ($p<0,01$) та вірогідного збільшення кількості переходів у темний відсік на 60% ($p<0,05$) у порівнянні з тваринами контрольної групи (табл. 4.)

Таблиця 4.

Вплив флумазенілу та його комбінацій з діазепамом та пропоксазепамом на поведінкові реакції тварин в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт», ($M\pm m$)

Група, кількість тварин	Латентний час переходу в темний відсік, с	Тривалість перебування в світлому відсіку, с	Відвідування світлого відсіку, с	Тривалість перебування в центрі, с	Тривалість перебування в темному відсіку, с	Відвідування темного відсіку, с	Загальна кількість переходів, с
Контроль (n=7)	36,0±6,1	103,9±21,1	6,1±1,2	36,3±7,1	159,9±22,9	6,7±0,6	12,9±1,7
Флумазеніл (n=6)	10,3±3,9**	84,3±15,3	7,0±0,9	30,3±4,3	185,3±15,1	10,7±1,1*	17,7±1,9
Діазепам	21,00±9,71	136,71±33,48	4,00±0,92*	17,85±4,95	148,85±33,17	6,14±1,61*	10,14±2,28*
Діазепам + Флумазеніл (n=7)	74,7±43,3	144,7±35,9	4,3±1,1	18,4±10,4	136,9±32,6	4,3±2,1 [#]	8,6±2,7 [#]
Пропоксазепам (n=7)	180,71±56,63 [#]	180,85±46,19	2,28±0,60**	72,00±36,81	47,14±30,09 ^{**#}	1,14±0,70 ^{***}	3,42±1,08 ^{***}
Пропоксазепам + Флумазеніл (n=7)	15,4±7,2*	135,3±29,1	3,9±0,9 [#]	11,7±3,1 ^{***#}	153,0±28,6	5,1±1,1 ^{##}	9,0±1,9 ^{##}

За використання діазепаму на тлі введення флумазенілу відмічалася тенденція до збільшення латентного часу входу в камеру в 2 рази відносно контролю. Кількість відвідувань освітлених рукавів у тварин цієї групи виявляла

тенденцію до збільшення щодо груп тварин контролю та флумазенілу – на 31 с та 60 с відповідно. Показник кількості переходів між рукавами практично відповідав значенням у групі пропоксазепаму та був тенденційно меншим за аналогічний показник у групі негативного контролю та достовірно нижче, ніж в групі флумазенілу ($p < 0,05$), що вказує на психомоторне пригнічення. Протитривожна активність діазепаму на тлі застосування антагоніста флумазенілу була виражена слабо. Таким чином, флумазеніл знизив анксиолітичну активність діазепаму, але ознаки пригнічувальної активності зберігалися.

На тлі введення пропоксазепаму сумісно з фумазенілом статистично вірогідно зменшувався латентний час входу в темну камеру в 2,3 разу ($p < 0,05$ проти показників контролю). На зниження тривожної поведінки тварин вказувала тенденція до збільшення відвідувань світлого відсіку проти НК (на 31 с) та флумазенілу (на 51 с). У порівнянні з групою флумазенілу вірогідно зменшувалася загальна кількість переходів між рукавами на 49% ($p < 0,01$), а при порівнянні з НК – на 30%, що вказує на седативну дію речовини, що, ймовірно, реалізується за декількома механізмами (табл. 4).

В тесті «гаряча пластина» при дослідженні впливу на больову реакцію мишей встановлено, що флумазеніл за відсутності власної знеболювальної дії запобігає розвитку виразних анальгетичних властивостей як пропоксазепаму, так і діазепаму (табл. 5). Це верифіковано за відсутністю статистично значущих відмінностей латентного періоду облизування задньої лапки у групах, тварини яких отримували комбінації пропоксазепаму та діазепаму з флумазенілом, з відповідним показником групи контролю.

Отримані результати свідчать про роль ГАМК-Р у реалізації анальгетичної дії пропоксазепаму, а також подібність її механізмів з діазепамом.

Таблиця 5.

Вплив пропоксазепаму та діазепаму в комбінації з флумазенілом на больову реакцію мишей у тесті «гаряча пластина», ($M \pm m$)

Умови досліджу (n-кількість тварин)	Латентний час облизання задньої лапки, с
Контроль (n=7)	16,30±3,06
Флумазеніл (n=6)	19,03±3,29
Діазепам (n=7)	19,03±3,29
Діазепам + Флумазеніл (n=7)	19,20±5,12
Пропоксазепам (n=7)	36,27±6,17*
Пропоксазепам + Флумазеніл (n=7)	18,14±2,60

Таким чином, за сукупністю результатів дослідження на мишах встановлено, що пропоксазепам демонструє наявність седативного, протитривожного, міорелаксантажного та анальгетичного ефектів, що виявлялися або на рівні препарату порівняння діазепаму, або перевищували його.

На тлі застосування антагоністу флумазенілу прояви окремих ефектів пропоксазепаму залишалися, в той час як практично для діазепаму вони усувалися. Під впливом флумазенілу в дозі 15 мг/кг на тлі одноразового внутрішньоочеревинного введення пропоксазепаму у експериментальних тварин в дозі 10 мг/кг визначено, що сполука в порівнянні з референтним препаратом (діазепам у дозі 6,82 мг/кг) через 1 годину після введення була здатна:

1. Вірогідно зменшувати показник суми всіх активностей в тесті «відкрите поле» в 3,53 разу.
2. Вірогідно збільшувати кількість тварин, що впали з пристрою «ротарод» до 3 та 5 хвилини на 43%.
3. В тесті «гаряча пластина» анальгетичний ефект пропоксазепаму не усувався повною мірою після ведення флумазенілу.

Отримані результати вказують на ймовірність реалізації центральних ефектів пропоксазепаму не лише за рахунок взаємодії з БДЗ сайтом ГАМК-Р, а й через інші механізми, визначення яких потребує подальших поглиблених фармакологічних досліджень.