

THE INTERACTION BETWEEN ALCOHOL AND ESTAZOLAM

Wojciech LECHOWICZ¹, Piotr ADAMOWICZ¹, Ewa CHUDZIKIEWICZ¹,
Maria KAŁA¹, Wojciech PIEKOSZEWSKI¹, Ewa PUFAL², Marzena SYKUTERA²,
Karol ŚLIWKA²

¹*Institute of Forensic Research, Cracow*

²*Department of Forensic Medicine, L. Rydygier Medical University,
Bydgoszcz*

ABSTRACT: The aim of the study was to evaluate the effect of ethyl alcohol on blood estazolam level, to assess the usefulness of saliva in testing for the presence of the drug and to present selected issues concerning safety of traffic. This paper presents the results of estazolam determinations in blood samples taken from 25 volunteers, who were given a single dose of 1 mg of the drug orally. The subjects also received a single dose of ethyl alcohol (0.6 g/kg of body weight) 3.5 h after drug intake. Blood samples for estazolam determination were taken 1, 2, 3, and 4 h after doses and for ethanol determination, 0.5 h after alcohol intake and 4 h after estazolam administration. The samples were analysed using a developed and validated LC/MS/APCI method. The method enabled estazolam determination at concentrations exceeding 0.5 ng/ml. The determined average levels of blood estazolam in the first three hours were 20.0 ng/ml; 22.7 ng/ml; and 23.9 ng/ml respectively. On the basis of pharmacokinetic calculations using the obtained results, the studied persons were divided into three subgroups characterised by different speeds of metabolism of estazolam. The obtained results also indicated that the interaction of estazolam with alcohol led to changes in its pharmacokinetic parameters. An increase (of at least 20 percent) in the average estazolam concentration (29.0 ng/ml) compared with the extrapolated value of this concentration without administration of alcohol was noted.

KEY WORDS: Estazolam, Ethyl alcohol, Interaction, Saliva, Blood.

Problems of Forensic Sciences, vol. LVIII, 2004, 45–57
Received 15 November 2004; accepted 3 December 2004

INTRODUCTION

Road traffic accidents are one of the main causes of death in the European Union. In 2003, member states noted almost 50 000 road fatalities, while in Poland accidents claimed more than 5 500 lives. Ambitious plans formulated by the EU anticipate a reduction in road accidents fatalities of 50 percent by 2010. It is estimated that every tenth person killed or injured

in a road accident has taken a psychotropic agent, which may have played a role in the death.

Studies carried out both in European countries and the United States of America have shown that the most frequently taken medical drugs are benzodiazepines. These drugs, with tranquilizing activity, are used to treat anxiety and also insomnia, and are readily prescribed by doctors in cases of difficulty in falling asleep. They are characterised by a relatively long-lasting effect on the organism. So it is not difficult to guess why these particular drugs are taken so often. Stress and the ‘technologizing’ of life have caused increasing numbers of people to suffer from insomnia. In our country, about 35 percent of adults, i.e. more than 9 million people, suffer from this affliction, including around 2 million people affected chronically. Only 20 percent of patients notify doctors. Around 2 million Poles use sleep-inducing drugs on a regular basis. These are not exclusively people who are really suffering from insomnia: this group also includes patients afflicted with depression and circulatory system disorders.

The Polish market of hypnotic drugs is not large. Benzodiazepine derivatives are produced and sold by at least six pharmaceutical companies, and another four ones offer herbal medicines or new generation medications, such as Stilnox, Zopiclon, and melatonin. However, Zaleplon, which is very popular in the United States of America, is not sold in Poland. The largest quantity of hypnotic drugs is sold in large cities and their surroundings. As far as sale in particular voivodships is concerned, first place goes to Mazovia, Silesia, Wielkopolska and Małopolska provinces. Based on statistics from other countries, in which insomnia is the cause of half of all accidents, one can estimate that this affliction is the cause of about 40 000 industrial accidents and more than 25 000 road accidents annually. The problem of insomnia, which has recently become fashionable, is widely described on websites, for example, www.dobrysen.pl, www.sen.org.pl, www.sleep-net.com, www.sleepfoundation.org.

It turns out that pharmacotherapy as a means of combating insomnia can pose a threat to health, and even to life, by increasing the risk of occurrence of road traffic accidents. EU Directive 91/439/EEC [2] regulates principles concerning the issue of driving licences. Below is a short passage from the Directive, which expresses the need to limit (or prevent) persons driving who have disturbances of psychophysical functions caused by drugs taken: “driving licences shall not be issued to, or renewed for, persons who regularly use psychotropic substances, in whatever form, which could hamper their ability to drive safely where the quantities absorbed are such as to have an adverse effect on driving. This principle shall apply to other medicines or combinations of medicines which affect the ability to drive”.

This Directive is followed by others informing drivers about the adverse influence of drugs on psychophysical proficiency. After Council Directive 83/570/EEC [1] came into force, pharmaceutical companies which apply for a licence to release a medicinal product on the market must provide “a summary of product characteristic” (SPC), i.e. an information leaflet with a description of the drug’s properties. In particular, it has to contain information about the influence of the product on the ability to drive or operate machines. The next Council Directive 92/27/EEC [3] requires pharmaceutical companies to provide information on the outer packaging in written or pictorial (pictogram) form, concerning the drug’s effect on driving ability.

In accordance with standard CPMC III/9163/90-EN, medicines – on the basis of their pharmacodynamic profile – are divided into three groups, depending on their influence on drivers and machine operators [7]:

- a) presumed to be safe or unlikely to produce an effect;
- b) likely to produce minor or moderate adverse effects;
- c) likely to produce severe effects.

Members of the International Council on Alcohol, Drugs and Traffic Safety (ICADTS) attempted to compare the impairing effect of medicinal drugs to that produced by a particular blood alcohol concentration (*BAC*), suggesting that:

- group a drugs = $BAC < 0.2$ g/l;
- group b drugs = $0.2 < BAC < 0.5$ g/l;
- group c drugs = $BAC > 0.5$ g/l.

Although this classification is, of course, not legally binding, it does give us an idea about future developments on the borderline between toxicology and law.

According to a questionnaire survey conducted under a grant from the State Committee for Scientific Research (KBN) at the Institute of Forensic Research, one of the more frequently used benzodiazepines is estazolam. It is a triazolobenzodiazepine derivative with hypnotic, weak anti-anxiety and muscle relaxing activity. Estazolam is a drug of so-called intermediate duration of action [6]. It acts similarly to flurazepam, but has fewer undesirable effects. A side effect of the drug treatment is daytime somnolence. Some patients treated with estazolam in combination with other benzodiazepines experience paradoxical reactions, such as aggression and a state of excitation. Alprazolam and triazolam are medicines with a similar structure to estazolam[4].

Pharmacological studies showed [8] that estazolam reached its maximal concentration in serum in the range of 0.4–6 hours after oral administration, and for the investigated group were in the range of 75–101 ng/ml after administration of 2 mg, and 157–213 ng/ml after administration of 4 mg.

During repeated administration, the estazolam concentrations before a consecutive dose (2 mg) fluctuated between 20–40 ng/ml.

Estazolam is metabolised to 4-hydroxy-estazolam and 1-oxo-estazolam. However, these metabolites are not of pharmacological importance because of their low concentration and quick coupling with glucuronic acid [7]. The biological half-life of estazolam is about 17 hours.

MATERIALS AND METHODS

The study conducted under grant KBN 6 PO5D 060 21 involved blood and saliva samples taken from 25 volunteers, who were given a single dose of 1 mg of the drug orally. The subjects also received a single dose of ethyl alcohol (0.6 g/kg of body weight) 3.5 h after drug intake. The blood samples for estazolam determination were taken 1, 2, 3, and 4 h after doses and for ethanol determination 0.5 h after alcohol intake and 4 h after estazolam administration. Blood and saliva samples from 21 subjects with analysis results suitable for further calculations were obtained.

Reagents

The following standards and reagents: estazolam (Pliva, Poland), estazolam-D5 (Sigma, USA), acetonitrile (Merck, Germany), water (distilled in quartz water still), diisopropyl ether (Sigma, USA), acetate buffer components (POCh, Poland) and formic acid (Ubichem, UK) were used in the study.

Extraction procedure

For the extraction, 0.2 millilitre portions of saliva sample and blood sample, in duplicate, were taken. The samples were extracted by agitation (30 s, 50 Hz) from an acid medium (0.2 ml acetate buffer, pH 5) with diisopropyl ether (1.2 ml). After centrifuging, the organic layer (1 ml) was evaporated at 40°C under a stream of nitrogen. The residue was dissolved in 0.1 ml of the mobile phase (ACN: H₂O mixed in 1:1 ratio with the addition of formic acid at quantities of 0.1 ml/l of the mixture).

Instrumentation

Analyses were performed on an Agilent Technologies HP-1100 Series LC/MS system in positive ion chemical ionization mode under atmospheric pressure (APCI). Apparent molecular ions [M+H⁺] were registered. Separation was performed in gradient conditions, using a LiChroCART 55 × 4 column with Purospher STAR RP-18e phase. The internal standard used was

a deuterium derivative of estazolam (estazolam- D_5) at concentrations of 50 ng/ml for blood and 5 ng/ml for saliva.

DISCUSSION

The proposed method was successfully applied in the planned research, both in the case of blood and saliva samples. Figure 1 shows a typical chromatogram of a blood sample extract. The recorded estazolam concentration levels were in the range of linearity of the analytical method. There was no interference noted in this case.

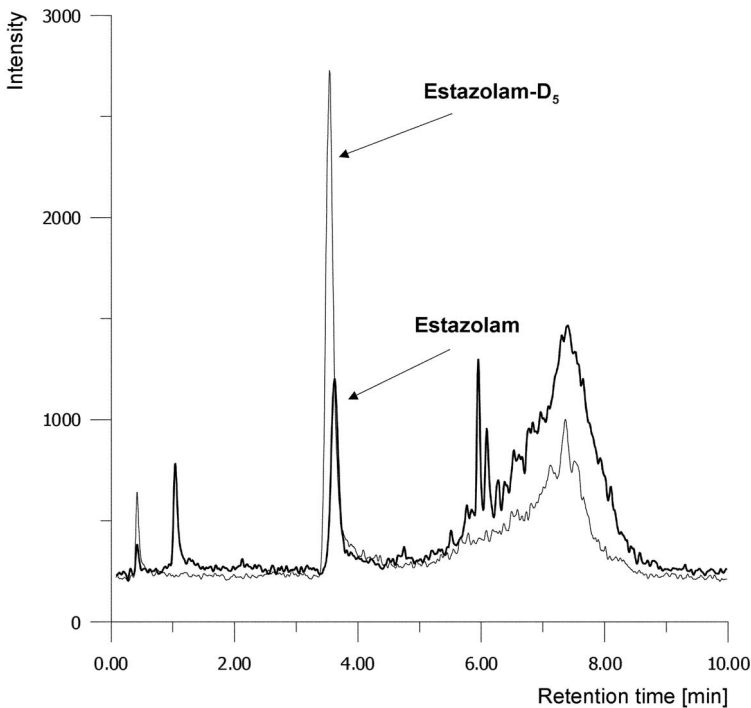


Fig. 1. Chromatogram of analysed blood with estazolam concentration of 18.8 ng/ml. The blood was sampled 4 hours after drug admission.

A summary of all the results, presented in Figure 2, only allowed us to state that the determined estazolam concentrations were in the range of 10-32 ng/ml, while after alcohol intake ranged between 20 and 38 ng/ml. The broad scatter of results at particular times of measurement meant that at the assumed level of confidence ($\alpha = 0.05$), the average concentrations in the

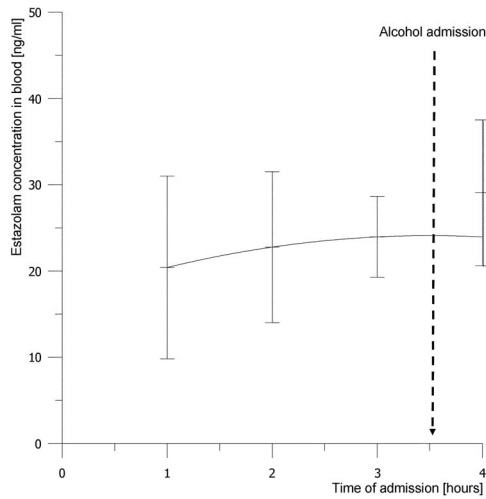


Fig. 2. Mean values of estazolam concentrations based on all blood samples.

first three hours did not differ markedly from the average concentration after alcohol intake (the fourth hour).

The relationship between the estazolam concentration and the time of administration obtained from the results of the most numerous group ($N = 12$), in which estazolam reached its maximal concentration in blood after 2 hours, presented in Figure 3, showed that alcohol intake greatly increases the average concentration of estazolam.

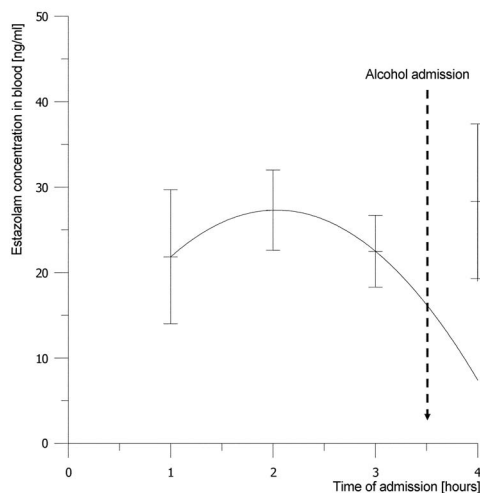


Fig. 3. Mean values of estazolam concentrations calculated for set of results when peak concentrations at 2 hours were recorded.

In this group, the results were closer together, which is illustrated by the ranges of standard deviations. An increase in estazolam concentrations after alcohol intake was clearly observed, despite the fact that the concentration ranges in this case were also similar. This can serve as a basis for inferring that alcohol interacts with estazolam, leading to an increase in concentration of the latter.

Correlation between the average values of estazolam and the body weight of the subjects showed a bigger scattering of results obtained after alcohol intake than in the case of its maximum concentration (Figure 4). This may indicate an increase in differences in drug pharmacokinetics after alcohol administration.

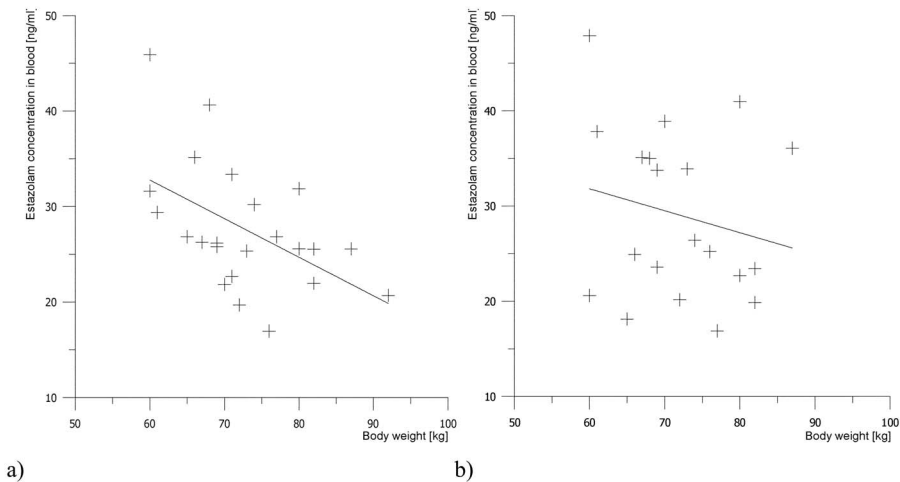


Fig. 4. Correlation of estazolam levels and body weight of probands at peak concentration (a) and after alcohol admission (b).

A comparison of the results of the blood and saliva analysis revealed a relatively high correlation compared with analogous studies carried out for promazine and doxepine. The determined estazolam concentrations in saliva were ten times lower than the drug concentrations in blood (Figure 5). Such low values make it particularly difficult to detect estazolam with screening methods, for example, when carrying out an on-site test during a road check. One should also remember that after a considerably longer period, for example, after about fifteen hours, the drug concentrations would be even lower.

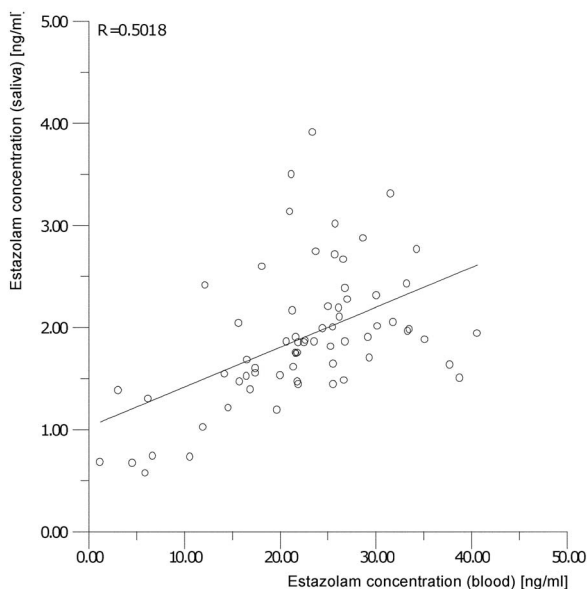


Fig. 5. Correlation of saliva and blood concentrations of estazolam.

CONCLUSIONS

Estazolam is one of the more frequently used hypnotics. Intake of alcohol influences the pharmacokinetics of estazolam, increasing its blood concentration. The increase in estazolam concentration may suggest an additive type of interaction. A side-effect of estazolam, namely daytime somnolence, may increase after alcohol intake.

Parallel analyses of saliva and blood samples showed a correlation with a coefficient $R = 0.50$. This indicates that saliva could be an alternative material used in testing drivers for estazolam, however, the so-called “detection window” in the case of this analysis is narrow, because of the considerably lower concentrations of the drug in saliva. Therefore, Estazolam may be undetected by immunochemical tests used on the roadside.

References:

1. Council Directive of 26 October 1983 on the approximation of provisions laid down by law, regulation or administrative action relating to proprietary medicinal products: 83/570/EEC.
2. Council Directive of 29 July 1991 on driving licences: 91/439/EEC.
3. Council Directive of 31 March 1992 on Labelling of a medicinal product: 92/27/EEC.

4. Drummer O. H., Benzodiazepines – Effects on human performance and behavior, *Forensic Science Review* 2002, vol. 14, pp. 1–14.
5. EU site: http://europa.eu.int/comm/transport/care/statistics/series/fatal1991_actual/index_en.htm.
6. Greenblatt D. J., Miller L. G., Shader R. I., Neurochemical and pharmacokinetic correlates of the clinical action of benzodiazepine hypnotic drugs, *American Journal of Medicine* 1990, vol. 88, pp. 18–24.
7. ICADTS Working Group: Prescribing and dispensing guidelines for medicinal drugs affecting driving performance, <http://www.icadts.org/reports/ICADTSpresguiderpt.pdf>, 2001, pp. 1–33.
8. Miura M., Ohkubo T., Sugawara K. [et al.], Determination of estazolam in plasma by high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction, *Analytical Sciences* 2002, vol. 18, pp. 525–528.
9. Schuetz H., *Benzodiazepines II*, Springer-Verlag, Berlin–Heidelberg 1989.

INTERAKCJA ALKOHOLU Z ESTAZOLAMEM

Wojciech LECHOWICZ, Piotr ADAMOWICZ, Ewa CHUDZIEKIEWICZ,
Maria KAŁA, Wojciech PIEKOSZEWSKI, Ewa PUFAL, Marzena SYKUTERA,
Karol ŚLIWKA

WPROWADZENIE

Wypadki komunikacyjne (WK) stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów w Unii Europejskiej (EU). W roku 2003 z tego powodu w krajach EU zanotowano niemal 50 tysięcy zgonów, a w Polsce ponad 5500. EU w swoich ambitnych planach zakłada do 2010 roku redukcję liczby zgonów z powodu WK o 50% [5]. Szacuje się, że co 10 osoba zabita lub ranna w WK przyjmowała środki psychotropowe, co mogło mieć swój udział w tej statystyce.

Jak wynika z badań prowadzonych zarówno w krajach Europy, jak i w Stanach Zjednoczonych, grupą leków najczęściej przyjmowanych są benzodiazepiny. Leki te, o działaniu przeciw lękowym, uspokajającym, ale również nasennym, przepisywane są chętnie przez lekarzy w przypadkach trudności z zasypianiem. Ich charakter powoduje, że oddziaływanie na organizm utrzymuje się stosunkowo długo. Nie trudno się więc domyśleć, dlaczego właśnie one są tak często przyjmowane. Stres oraz technicyzacja życia sprawiają, że coraz więcej ludzi cierpi na bezsenność. W naszym kraju na tę przypadłość cierpi około 35% osób dorosłych, czyli ponad 9,5 miliona ludzi, z tego na bezsenność przewlekłą około 2 milionów osób. Do lekarza zgłasza się tylko około 20% chorych. Leki pomagające zasnąć zażywa systematycznie około 2 milionów Polaków. Nie są to wyłącznie te osoby, które faktycznie cierpią na brak snu. W tej grupie znaleźć można także chorych na depresję i cierpiących na zaburzenia układu krążenia.

Polski rynek leków nasennych nie jest duży. Pochodne benzodiazepiny produkuje i sprzedaje przynajmniej sześć firm farmaceutycznych, a cztery kolejne oferują leki ziołowe lub medykamenty nowej generacji, takie jak Stilnox, Zopiclon oraz melatonina. Nie ma u nas natomiast w sprzedaży bardzo popularnego w Stanach Zjednoczonych Zaleplonu. Najwięcej leków nasennych sprzedaje się w wielkich miastach i ich okolicach. Jeśli chodzi o sprzedaż w poszczególnych województwach, to stawkę otwierają mazowieckie, śląskie, wielkopolskie i małopolskie. Opierając się na statystykach innych krajów, w których bezsenność jest przyczyną połowy nieszczęśliwych zdarzeń, można szacować, że przypadłość ta rocznie jest przyczyną około 40 tysięcy wypadków w pracy i ponad 25 tysięcy na drogach. Modna obecnie problematyka walki z bezsennością szeroko jest opisana na stronach internetowych, np. www.dobry-sen.pl, www.sen.org.pl, www.sleep-net.com, www.sleepfoundation.org.

Okazuje się, że farmakoterapia jako sposób walki z bezsennością może stanowić zagrożenie dla zdrowia, a nawet życia, poprzez zwiększone ryzyko wystąpienia wypadków komunikacyjnych. Dyrektywa EU 91/439/EEC [2] reguluje zasady dotyczące wydawania prawa jazdy. Poniżej zacytowano fragment dyrektywy, z którego wynika, że istnieje potrzeba ograniczenia lub eliminowania osób o zaburzonych

funkcjach psychofizycznych wywołanych przyjmowanymi lekami: „prawo jazdy nie może być wydane lub wznowione osobie regularnie przyjmującej środki psychotropowe w jakiejkolwiek formie, w której utrudniałaby bezpieczne prowadzenie pojazdu ze względu na wchłoniętą dawkę mającą niekorzystny wpływ na prowadzenie pojazdu. Zasada ta winna być stosowana do innych leków lub ich kombinacji, które wpływają na zdolność prowadzenia pojazdu”.

W związku z tą dyrektywą pozostają kolejne, które związane są z informowaniem kierowców o niekorzystnym wpływie leków na sprawność psychofizyczną. Od kiedy dyrektywa 83/570/EEC [1] stała się prawem, firmy farmaceutyczne chcące uzyskać dopuszczenie leku do obrotu muszą wraz z nim dostarczać tzw. *summary of product characteristic* (SPC), czyli ulotkę z opisem właściwości leku. W szczególności muszą być w niej zawarte informacje dotyczące wpływu leku na zdolność prowadzenia pojazdów i obsługi maszyn. Kolejna dyrektywa 92/27/EEC [3] obowiązuje firmy farmaceutyczne do umieszczania na opakowaniach oznaczeń w formie tekstowej lub znakowej (piktogramy) informujących o zagrożeniu, jakie lek stwarza dla bezpieczeństwa ruchu drogowego.

Zgodnie z zapisami zawartymi w normie CPMP III/9163/90-EN, leki – na podstawie ich profilu farmakodynamicznego – dzieli się ze względu na wpływ, jaki wywierają na kierowców i osoby obsługujące maszyny, na [7]:

- leki grupy „a” nie mające wpływu lub o efekcie zanedbywalnym;
- leki grupy „b” o wpływie słabym lub umiarkowanym;
- leki grupy „c” silnie działające.

Próbie odniesienia działania leków do działania alkoholu podjęli członkowie stowarzyszenia o nazwie International Council on Alcohol, Drugs and Traffic Safety (ICADTS), którzy zaproponowali, by:

- w lekach grupy „a” = $BAC < 0,2$ g/l;
- w lekach grupy „b” = $0,2 < BAC < 0,5$ g/l;
- w lekach grupy „c” = $BAC > 0,5$ g/l.

Choć klasyfikacja ta nie jest oczywiście obowiązkowa, daje jednak wyobrażenie o perspektywach, jakie rysują się na pograniczu toksykologii oraz prawa.

Jak wynika z badań ankietowych prowadzonych w ramach grantu KBN realizowanego w Instytucie Ekspertyz Sądowych w Krakowie, jedną z częściej przyjmowanych pochodnych benzodiazepiny jest estazolam. Stanowi on w istocie pochodną triazolobenzodiazepiny o działaniu nasennym, słabym przeciwłękowym i nieznacznie zmniejszającym napięcie mięśni. Jest to tzw. lek o średnim czasie działania [6]. Wykazuje podobne działanie do flurazepamu, jednak wywołuje mniej efektów niepożądanych. Działanie uboczne tego leku przejawia się w nadmiernej sennie podczas następnego dnia. U niektórych pacjentów po skojarzeniu z innymi benzodiazepinami zarejestrowano reakcje paradoksalne, takie jak agresywność i stany pobudzenia. Leki o podobnej do estazolamu budowie to alprazolam i triazolam [4].

Badania farmakologiczne wykazały [8], że stężenia estazolamu w surowicy osiągały maksymalne wartości w przedziale 0,4–6 godzin po podaniu doustnym i dla badanej grupy zawierały się w przedziale 75–101 ng/ml po podaniu 2 mg, a 157–213 ng/ml po podaniu 4 mg. Podczas podawania wielokrotnego stężenia estazolamu przed kolejną dawką (2 mg) oscylowały wokół 20–40 ng/ml.

Estazolam metabolizuje do 4-hydroksyestazolamu oraz 1-okso-estazolamu. Jednak metabolity nie mają znaczenia farmakologicznego ze względu na ich niskie

stężenie oraz szybkie sprzężenie z kwasem glukuronowym [7]. Biologiczny czas połowicznej eliminacji wynosi 17 godzin.

MATERIAŁY I METODY

Badania w ramach grantu (KBN 6 PO5D 060 21) prowadzono, stosując próby krwi i śliny pobrane od 25 ochotników, którym podano jednorazowo doustnie estazolam w dawce 1 mg. Probandom podano również jednorazowo alkohol etylowy w dawce 0,6 g/kg masy ciała po 3,5 h od podania leku. Próbkę krwi do oznaczeń estazolamu pobierano po 1, 2, 3 i 4 h od jego podania, a do oznaczeń alkoholu etylowego po 0,5 h od podania alkoholu i po 4 h od podania estazolamu. Od 21 probantów uzyskano próbki krwi i śliny, których analiza dała wyniki nadające się do dalszych obliczeń.

Odczynniki

Zastosowano następujące wzorce oraz odczynniki: estazolam (Pliva, Polska), estazolam-D5 (Sigma, Stany Zjednoczone), acetonitryl (Merck, Niemcy), wodę (destylowaną w destylarce kwarcowej), eter diizopropylowy (Sigma, Stany Zjednoczone), składniki buforu octanowego (POCH, Polska), kwas mrówkowy (Ubichem, Wielka Brytania).

Ekstrakcja

Do ekstrakcji pobierano po dwie próbki krwi i śliny o objętości 0,2 ml każda. Ekstrakcję prowadzono przez wstrząsanie (30 s, 50 Hz) ze środowiska kwaśnego o pH 5 (0,2 ml buforu octanowego) eterem diizopropylowym (1,2 ml). Fazę organiczną (1 ml) po odwirowaniu, odparowywano w temperaturze 40°C przy nadmuchu azotu. Suchą pozostałość rozpuszczano w 0,1 ml fazy ruchomej (ACN : H₂O zmieszane w stosunku 1:1 z dodatkiem kwasu mrówkowego w ilości 0,1 ml/l mieszaniny).

Instrumenty

Badania wykonywano metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC/MS) przy zastosowaniu aparatu firmy Agilent Technologies model HP-1100 Series. Stosowano pozytywny chemiczny rodzaj jonizacji pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI) Rejestrowano pozorne jony molekularne [M+H]⁺. Rozdział prowadzono w warunkach gradientowych przy użyciu kolumny LiChroCART 55 × 4 z wypełnieniem Purospher STAR RP-18e. Jako standardu wewnętrznego użyto deuterowanej pochodnej estazolamu (estazolam-D₅) w stężeniu 50 ng/ml dla krwi i 5 ng/ml dla śliny.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Zaproponowana metodyka badań z powodzeniem została zastosowana w projektowanych badaniach, zarówno w przypadku krwi, jak i śliny. Na rycinie 1 przedstawiono typowy chromatogram uzyskany podczas analizy ekstraktu z krwi. Rejestrowane stężenia estazolamu znajdowały się w zakresie liniowości metody analitycznej. Nie zanotowano wystąpienia interferencji w tym przypadku.

Zestawienie wszystkich wyników, przedstawione na rycinie 2, pozwoliło jedynie na stwierdzenie, że wyznaczone stężenia estazolamu mieściły się w przedziale 10–32 ng/ml, natomiast po podaniu alkoholu w przedziale 20–38 ng/ml. Duży rozrzut wyników w poszczególnych godzinach pomiaru sprawił, że przy założonym poziomie ufności ($\alpha = 0,05$) uzyskane średnie stężenia w pierwszych trzech godzinach nie różniły się istotnie od średniego stężenia po podaniu alkoholu (godzina 4).

Zestawiając wyniki najliczniejszej grupy ($N = 11$), w której maksymalne stężenie estazolamu we krwi występowało po 2 h, uzyskana zależność stężenia estazolamu i czasu podania wskazuje, że podanie alkoholu wpływa istotnie na średnie stężenie estazolamu (rycina 3), powodując jego wzrost.

Wyniki w tej grupie są bardziej skupione, co zobrazowano na wykresie dzięki zaznaczonym zakresom odpowiadającym odchyleniu standardowemu. Mimo, że zakresy stężeń i w tym przypadku są podobne jak dla całego zestawienia, wyraźnie można zaobserwować wzrost stężeń estazolamu po podaniu alkoholu. Należy więc na tej podstawie wnioskować o występowaniu interakcji alkoholu z estazolamem, prowadzącej do wzrostu stężenia tego ostatniego.

Korelacja średnich wartości stężenia estazolamu i wagi ciała probantów wykazała większe rozproszenie wyników uzyskanych po spożyciu alkoholu niż w przypadku maksymalnego jego stężenia (rycina 4). Może to wskazywać na zwiększenie różnic w farmakokinetyce leku po podaniu alkoholu.

Zestawienie wyników badania krwi oraz śliny wykazało stosunkowo wysoką korelację w porównaniu do analogicznych badań prowadzonych dla promazyliny i doksepinu. Wyznaczone stężenia estazolamu w ślinie były około 10-krotnie niższe niż we krwi (rycina 5). Tak niskie wartości znacznie utrudniają wykrycie estazolamu metodami skryningowymi, np. w trakcie kontroli w miejscu zatrzymania kierowcy. Należy pamiętać również o tym, że po znacznie dłuższym czasie, np. po kilkunastu godzinach, stężenia leku będą jeszcze niższe.

WNIOSKI

Estazolam jest jednym z częściej przyjmowanych leków o działaniu nasennym. Przyjęcie alkoholu wpływa na farmakokinetykę estazolamu, podnosząc jego stężenie we krwi. Zwiększenie stężenia estazolamu może sugerować addycyjny typ interakcji. Działanie uboczne estazolamu w postaci senności w czasie dnia może zostać zwiększone na skutek spożycia alkoholu.

Równoległe badania śliny oraz krwi wykazały korelację wyrażoną współczynnikiem wynoszącym $R = 0,50$. W związku z tym ślina może być materiałem alternatywnym w przypadku badania kierowców na obecność estazolamu, jednak tzw. „okno detekcji” w przypadku takiego badania jest zawężone z powodu znacznie mniejszych stężeń tego leku w ślinie. Dlatego estazolam może nie być wykrywalny przy zastosowaniu testów immunochemicznych stosowanych przy drodze.