

学位論文

母集団薬物動態解析の手法を用いた
医薬品の個別化投与に向けた取り組み

小松 敏彰
(北里大学病院薬剤部)

目次

	頁
緒言	1
【第1章】	
がん性疼痛患者におけるオキシコドンの母集団薬物動態解析	
1. 序	2
2. 方法	3
2-1. 対象患者	3
2-2. 採血ポイント	3
2-3. 薬物血中濃度測定	3
2-4. 薬物動態モデル	3
2-5. 共変量の検討	4
2-6. Final model 式の設定	4
2-7. Final model 式の診断	4
3. 結果	5
【第2章】	
母集団薬物動態解析に基づくジゴキシンの至適投与方法の検討	
1. 序	9
2. 方法	10
2-1. 対象患者	10
2-2. 採血ポイント	10
2-3. 薬物動態モデル	10
2-4. 共変量の検討	10
2-5. Final model 式の設定	11
2-6. Final model 式の診断	11
2-7. 至適投与方法の検討	11
3. 結果	12
【第3章】	
感染性心内膜炎患者における母集団薬物動態解析に基づく ベンジルペニシリンカリウムの至適投与方法の検討	
1. 序	17
2. 方法	18
2-1. 対象患者	18
2-2. 採血ポイント	18

2-3. 薬物血中濃度測定	18
2-4. 薬物動態モデル	18
2-5. 共変量の検討	19
2-6. Final model 式の設定	19
2-7. Final model 式の診断	19
2-8. 血中濃度と効果との関係性	19
2-9. 至適投与方法の検討	20
3. 結果	21
考察	26
結論	27
謝辞	28
引用文献	29

緒言

医薬品の適正使用のためには、個々の患者に対して適切な薬剤を選択し、最適な用量を投与する必要がある。最適な用量を決めるには、投与量と血中濃度との関係を明らかにし、個人差を引き起こす可能性がある、年齢・性別・体重などの患者の基本情報に加え、腎機能・肝機能の変化や併用薬や遺伝子多型による影響について検証する必要があると言われている。それらを考慮し解析する手法の一つとして母集団薬物動態解析がある。母集団薬物動態解析は、医薬品が適応となる患者母集団における平均パラメータ値、それに影響を及ぼす病態生理学的、薬剤学的要因などの個体間・個体内変動を求める手法である。母集団薬物動態解析の方法としては、標準二段階法(standard two-stage method: STS 法)・NPD法(naive pooled data method), 非線形薬物混合効果モデル(Non-linear Mixed Effects Model: NONMEM)がある。この内、最も汎用されている方法としては NONMEM 法が挙げられる。この手法は、被験者群の平均薬物動態パラメータと病態生理学的・薬剤学的要因などの変動要因をモデルに組み込み、同時に平均薬物動態パラメータ値と個人差を引き起こす可能性のある変動要因を推定する方法である。この方法は、個々の被験者の薬物動態パラメータ値の推定を前提としないため、個々の患者から多数の血中濃度測定値を得ることは必要としていない。そのため、各個人から最低 1 ポイントの測定点が得られれば、解析可能であり、多数のサンプルを得ることが困難な患者や小児、高齢者対象の試験などに適している。母集団パラメータを得ることで Bayes 推定や血中濃度シミュレーションを行うことが可能となり医薬品の適性使用に寄与することができるとされている。

このような背景もあり、1999 年に公布された FDA の「Population Pharmacokinetics ガイダンス」¹⁾、2001 年に公布された本邦の「医薬品の臨床薬物動態試験に関する通知解説」²⁾内にも母集団薬物動態解析について明記されている。これらの通知を受け国内外製薬企業に浸透してきており、臨床試験において欠かせない方法となっている。近年発売された医薬品は母集団薬物動態解析が行われており、体内動態が明らかにされているため、それに基づいた投与設計が明記されているケースも多い。しかし、古くから存在している薬剤については行われていないのが実状である。

そのため、体内動態を明らかにし、医薬品適性使用に寄与することを目的に、古くから使用されている薬剤の内、排泄経路が異なるオキシコドン・ジゴキシン・ベンジルペニシリンカリウムについて母集団薬物動態解析を行い、投与設計の検討を行った。

【第1章】

がん性疼痛患者におけるオキシコドンの母集団薬物動態解析

1. 序

オキシコドンは、がん性疼痛患者に使用される薬剤である。オキシコドンの主な排泄経路は、肝臓であり、チトクロム P450 の CYP2D6 および CYP3A4 により、ノルオキシコドンおよびオキシモルフォンに代謝される³⁾。この内、オキシモルフォンは未変化体の 14 倍の鎮痛活性を持つとされているが、産生量は 1%未満でありその影響は少ないとされている⁴⁾。オキシコドンは古くから使用されている薬剤ではあるが、体内動態に関する報告が少ないのが現状である。オキシコドンの剤形としては、注射剤と経口剤がある。注射剤に関しては、海外とは異なりヒドロコタルニンが含まれた複方製剤もある。ヒドロコタルニンの薬理作用はコデインに類し、実験動物において鎮痛、呼吸抑制、麻酔作用および強直けいれん発現作用を有する。古い報告によればオキシコドンの鎮痛作用を増強する目的で添加されたと記載されているが、効果は不明であり根拠となる報告はない⁵⁾。そのため、海外において上市されているオキシコドン単剤の注射剤と経口剤から算出された生物学的利用率の報告が適応できるとは限らない。そこで、複方オキシコドン注射剤およびオキシコドン徐放錠を使用したがん疼痛患者を対象として、母集団薬物動態解析を行い体内動態および生物学的利用率を明らかにし、個別化投与設計の検討を行った。

2. 方法

2-1 対象患者

2005年8月から2009年9月までに北里大学病院緩和ケアチームにおいて複方オキシコドン注射薬またはオキシコドン徐放錠を使用した患者の内、薬物血中濃度測定を行った患者とした。患者背景、生化学データについては、診療録ならびに診療コンピュータから調査した。なお本研究は北里大学医学部・病院倫理委員会承認下で実施した。

2-2 採血ポイント

複方オキシコドン注射薬を開始する場合には、原則として投与開始後 4, 8, 12, 24 および 48~72 時間以降後の 5 ポイントとした。また、オキシコドン徐放錠を内服している場合は、原則として投与を開始後、あるいは増量後 36~48 時間経過した定常状態において、内服直前、内服後 1, 2, 3, 6 又は 8 時間後および 12 時間後の 5 ポイントとした。

2-3 薬物血中濃度測定

血液検体は採血後、遠心分離を行い(3000r.p.m, 10min)、血清分離管に移して測定日まで -30°C で凍結保存した。血中オキシコドン濃度は、我々の開発した方法を用い、血清から抽出した後 HPLC-ECD(High-performance liquid chromatography with electron capture detector)法にて測定した⁶⁾。

2-4 薬物動態モデル

オキシコドン製剤の動態にあたり、あてはめるモデルと確率変数に関する偏微分係数の定義は、NONMEM にあらかじめ用意された PREDPP(Prediction of Population Pharmacokinetics)の吸収ラグタイム(T_{lag})を持つ線形 1-コンパートメントモデル 1 次吸収モデル(ADVAN2, TRANS2)のサブルーチンを利用した。注射剤と経口剤の両方を同時に解析するため、CMT(Compartment data item)を使用した。

測定値の残差変動をあらわす測定誤差モデルは、相対誤差モデルを使用した。

$$C_{p_{ij}} = C_{pred_{ij}} \times (1 + \varepsilon_{ij})$$

ここで $C_{pred_{ij}}$ は、患者 j の i 番目における母集団パラメータによる血清中濃度推定値、 $C_{p_{ij}}$ は患者 j の i 番目の血清中濃度測定値、 ε_{ij} は残差変動を示し、平均値 0、分散 δ^2 の正規分布に従うものとする。

薬物動態パラメータの個体間変動をあらわす混合効果は、指数誤差モデルを使用した。

$$P_j = P \times \exp(\eta_j)$$

ここで、 P は薬物動態パラメータの平均値、 P_j は患者 j 個人の薬物動態パラメータ値、 η_j は個体間変動をあらわし、平均値と患者固有値(P と P_j)との差である。 η_j は平均値 0、分散

ω_2 の正規分布に従うものとする。今回、吸収相のデータが少なかつたため、吸収速度定数(Ka)と T_{lag} については個体間変動の検討を行わなかつた。

2-5 共変量の検討

クリアランス、分布容積、生物学的利用率の個体間変動に影響を及ぼすと考えられる共変量は、年齢、性別、クレアチニンクリアランス(creatinine clearance :CLcr), ALT(alanine aminotransferase), AST(aspartate aminotransferase), 肝転移, Child-Pugh 分類, CYP3A4 阻害薬・誘導薬, 体重, 浮腫について検討を行った。なお CLcr は Cockcroft-Gault から算出した。

それぞれの共変量(covariance)のモデル式としては以下のものを組み合わせ検討した。

$$TV(P) = \theta_p + \theta_c \times \text{covariance}$$

$$TV(P) = \theta_p \times \theta_c \text{ covariance}$$

それぞれにモデル化した影響因子の体内動態パラメータへの有意な寄与の有無については、個々の因子を帰無仮説値に固定したときに NONMEM 解析によって得られる目的関数値 ; OBJ 値の変動値(-2 1.1.d. ; -2 log Likelihood difference)と χ^2 値との差を比較する尤度比検定によって判定した。具体的には、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d. が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-6 Final model 式の設定

共変量の設定で有意($p < 0.01$)であった因子について組み合わせて Full model 式を設定した。その後、Full model から共変量を取り除く変数減少法によって Reduced model を設定し、対話的なモデル選択によって Final model を設定した。

それぞれにモデル化した共変量の、有意な寄与の有無については、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-7 Final model 式の診断

個々の患者におけるオキシコドン血清中濃度の実測値(C_p)と母集団平均パラメータに基づく予測値(PRED), および C_p と Bayes 推定 η によって算出した予測値(IPRED)をプロットし、回帰性を検討した。また、 C_p と PRED の重み付き残差(WRES)を PRED に対してプロットし、Final model に基づく血清中濃度の推定精度と、個体間差の傾向を診断した。さらに、200 回 Bootstrapsampling⁸⁾によって 200 個のデータセットを作成し、その平均値を Final model と比較した。

3. 結果

対象患者は、33名、採血ポイントは108ポイントであった(Table1)。観察された血清中濃度推移について Figure 1(a)(b)に示す。共変量の検討の結果、有意な因子となったものとしては、Child-Pugh 分類、年齢が有意な因子となった(Table 2)。これらの因子を組み合わせ Full model 式を作成し、変数減少法の検討を行ったところ最終的に得られたオキシコドンのパラメータとしては以下の通りとなった。

$$CL(L/h)=10.7 \times [1+(2-\text{Child-Pugh Classification})]$$

$$Vd(L)=193$$

$$Ka(h^{-1})=0.336$$

$$T_{lag}(h)=0.859$$

$$F(\%)=63.9$$

クリアランス(CL)、分布容積(Vd)、生物学的利用率(F)に対する個体間変動は、30.5%、44.6%、37.0%であった。個体内変動は、16.2%であった。

Table 1 Patient characteristics

Number of patients	33
Gender(Male/Female)	24/9
Age(years)	60.8±10.4*
Weight	53.7±9.87*
SOC(ng/mL)	101±153*
SOC observation	108
intravenous	44
oral	64

*Mean±standard deviation

SOC: serum oxycodone concentrations

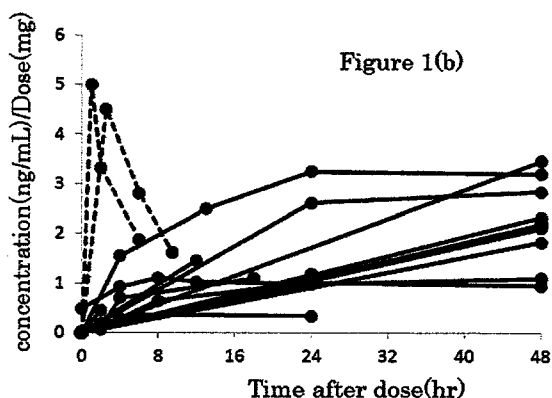
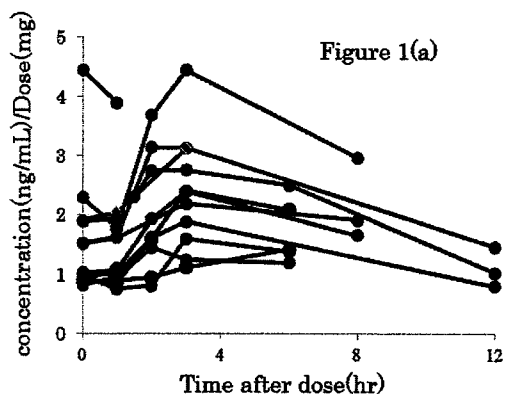


Figure 1 Individual(concentrations)/Dose-time curves of oral oxycodone during steady state(a) and oxycodone via intravenous injection(b).

Blood line in Figure 1(b) represent continuous infusion.

Dashed line in Figure 1(b) represent intravenous after 1 hours infusion.

Table 2 Hypothesis testing for fixed effect model of oxycodone pharmacokinetics

Fixed effect model	OBJ	LLD	p-value
CL=θ1	655.541	0	
θ1×θ2 ^{Meta} (Liver metastasis; positive= 1, negative= 0)	650.675	4.866	<0.05
θ1; Ccr≥=60, θ2; Ccr<60	652.619	2.922	N.S.
θ1; Age≥=65, θ2; Age<65	644.442	11.099	<0.001
θ1; AST≥=40, θ2; AST<40	653.459	2.082	N.S.
θ1; ALT≥=40, θ2; ALT<40	651.909	3.632	N.S.
θ1×θ2 ^{Sex} (Male=1, Female=0)	655.354	0.187	N.S.
θ1×θ2 ^{Drug} (Drug interaction; positive= 1, negative=0)	655.401	0.14	N.S.
θ1+θ2×(1+(2-Child-pugh score)) (A Score=0, B=1, C=2)	643.263	12.278	<0.001
θ1+θ2×BW	653.828	1.713	N.S.
Vd=θ3			
θ3+θ4×BW	654.187	1.354	N.S.
θ3×θ4 ^{Edema}	655.379	0.162	N.S.
F=θ5			
θ5×θ6 ^{Drug}	653.434	2.107	N.S.
θ5×θ6 ^{Sex}	652.923	2.618	N.S.

OBJ; the minimum value of objective function, LLD; -2 log-likelihood difference, N.S; not significant

オキシコドンの血清中濃度の実測値と最終的に得られた母集団パラメータの予測値・Bayes 推定によって算出した予測値の関係性について Figure 2 (a)(b)に示した。Figure 2(c)に母集団パラメータの予測値と重み付き残差との関係性について示した。200回の Bootstrap resampling の成功確率は、199回で得られたパラメータの値と Final model の値とほぼ同等であった (Table 3)。Figure 3 に算出された母集団パラメータを参考にオキシコドン徐放錠(1回 20 mg 1日 2回)と注射剤(26 mg を持続静注)を投与した場合の血中濃度シミュレーションを示した。

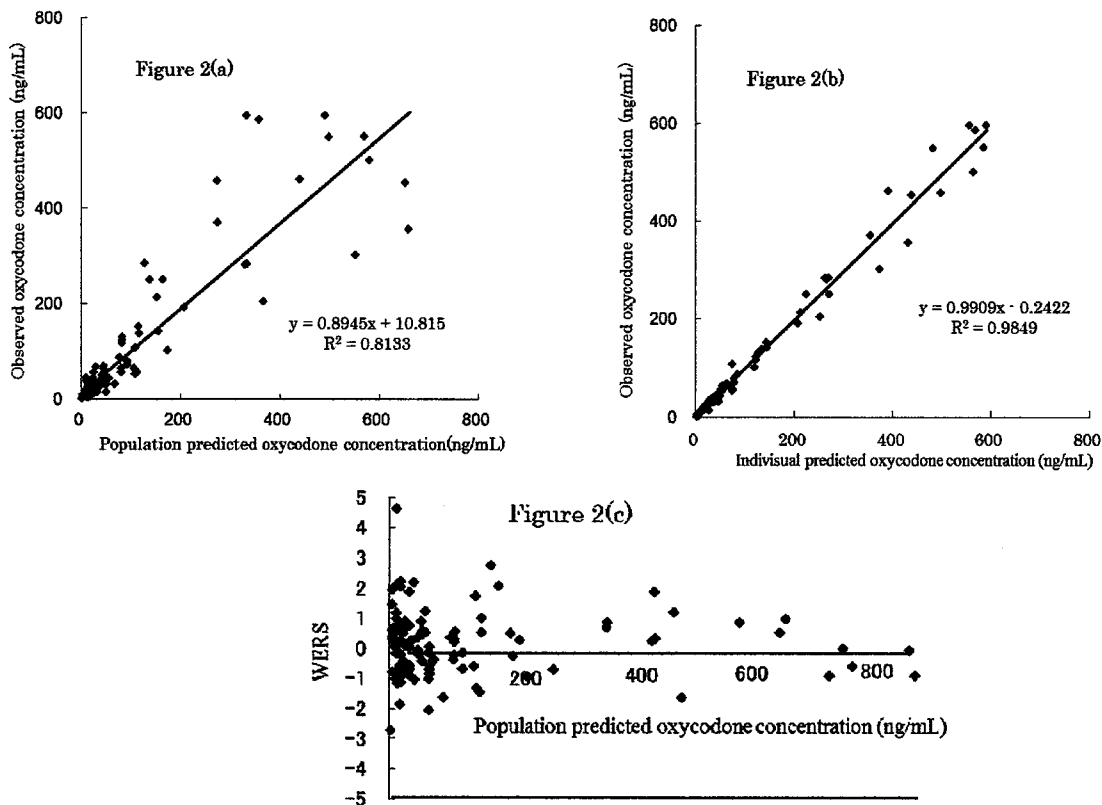


Figure 2 (a) Population predicted concentrations from the final model; (b) Individual predicted concentrations from the final model. (c) Scatter plot of weighted residuals (WRES) versus predicted concentration

Table 3 Final population pharmacokinetic parameters of oxycodone

Parameter	Final model Estimate	Bootstrap method Estimate	95% CI(bootstrap method)
Population Mean			
CL(L/hr)=10.7+[1+(2-Child-Pugh Classification)]			
θ_1	10.7	10.69	8.65-12.72
Vd(L)= θ_2			
θ_2	193	189	62.19-315.81
Ka(hr ⁻¹)			
θ_3	0.336	0.373	-0.484-0.794
Tlag(hr)			
θ_4	0.859	0.881	0.681-1.081
F			
θ_5	0.639	0.650	0.448-0.852
Interindividual variability			
η_{CL}	0.093	0.090	0.077-0.102
η_{Vd}	0.199	0.223	0.192-0.254
η_F	0.137	0.135	0.117-0.153
Residual variability			
ϵ	0.026	0.035	0.030-0.0402

CI, confidence interval

η , random variable, which is normally distributed with mean 0 and variance ω^2

ϵ , random error, which is normally distributed with mean 0 and variance σ^2

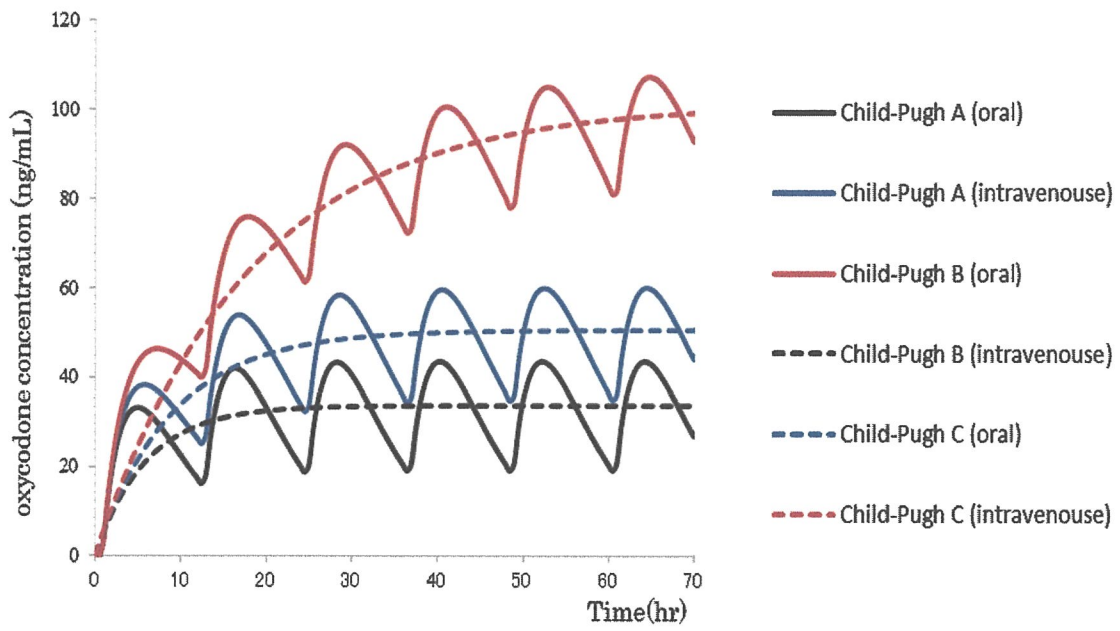


Figure 3 Model-based simulations of oxycodone pharmacokinetic profiles after the following 40 mg twice-daily oral or 26 mg intravenous with Child-Pugh classification

【第2章】

母集団薬物動態解析に基づくジゴキシンの至適投与方法の検討

1. 序

ジゴキシンは心不全や心房細動などの治療に使用される強心配糖体である。ジゴキシンは、治療域が狭いことから薬物血中濃度モニタリング (TDM) に基づく投与设计が必要とされている。その治療域は、2003年に行われた、大規模臨床試験であるDIG(Digitalis Investigation Group) trialのサブ解析結果で、洞調律維持目的で使用されている患者では治療域を0.5~0.8 ng/mLにすることで死亡率や再入院率を減らすことができると報告⁹⁾されていることから、ガイドライン等でも低濃度で管理することが推奨されている¹⁰⁾。ジゴキシンの適性使用を目的に様々なノモグラムがあるが、低濃度を目標血中濃度としたノモグラムは存在していなのが実状である^{11)・13)}。

ジゴキシンの排泄経路は、腎臓における糸球体濾過とP糖蛋白質を介する尿細管分泌により行われる。そのため、P糖蛋白質を基質とするような薬剤との相互作用が添付文書上に多く記載されている。しかし、どの程度影響するかについては明確に記載されていない。

そのため我々は、薬物相互作用を考慮した母集団薬物動態解析を行い、得られたパラメータを基に低濃度を目標血中濃度として至適投与方法の検討を行った。

2. 方法

2-1 対象患者

2011年11月から2013年1月までに北里大学病院においてハーフジゴキシン®錠 0.125 mgもしくはジゴキシン®錠 0.25 mgを使用した患者の内、TDMを実施した患者とした。患者背景、生化学データについては、診療録ならびに診療コンピュータから調査した。なお本研究は北里大学医学部・病院倫理委員会承認下で実施した。

2-2 採血ポイント

ジゴキシンの投与開始1~2週間後経過した定常状態における、内服直前値の1ポイントとした。

2-3 薬物動態モデル

ジゴキシンの動態にあたり、あてはめるモデルと確率変数に関する偏微分係数の定義は、定常状態におけるモデル式($C_{ss} = \text{Dose} / \text{CL} \times \tau$)を用いた。ここで、 C_{ss} は定常状態における血中濃度、 τ は投与間隔を示す。

測定値の残差変動をあらわす測定誤差モデルは、相対誤差モデルを使用した。

$$C_{p_{ij}} = C_{pred_{ij}} \times (1 + \epsilon_{ij})$$

ここで $C_{pred_{ij}}$ は、患者 j の i 番目における母集団パラメータによる血清中濃度推定値、 $C_{p_{ij}}$ は患者 j の i 番目の血清中濃度測定値、 ϵ_{ij} は残差変動を示し、平均値 0、分散 δ^2 の正規分布に従うものとする。

薬物動態パラメータの個体間変動をあらわす混合効果は、指数誤差モデルを使用した。

$$P_j = P \times \exp(\eta_j)$$

ここで、 P は薬物動態パラメータの平均値、 P_j は患者 j 個人の薬物動態パラメータ値、 η_j は個体間変動をあらわし、平均値と患者固有値 (P と P_j) との差である。 η_j は平均値 0、分散 ω^2 の正規分布に従うものとする。

2-4 共変量の検討

クリアランスの個体間変動に影響を及ぼすと考えられる共変量は、年齢、クレアチニンクリアランス (CL_{cr})、左室駆出率 (EF)、体重、併用薬について検討を行った。なお併用薬は、アゼルニジピン・アトルバスタチン・アムロジピン・アミオダロン・カルベジロール・スピロノラクトン・トルバプタン・ビソプロロール・ニフェジピン・抗不整脈薬 I 群・IV 群について検討した。CL_{cr} は Cockcroft-Gault から算出した。

それぞれの共変量(covariance)のモデル式としては以下のものを組み合わせ検討した。

$$TV(P) = \theta_p + \theta_c \times \text{covariance}$$

$$TV(P) = \theta_p \times \theta_c \times \text{covariance}$$

それぞれにモデル化した影響因子の体内動態パラメータへの有意な寄与の有無については、個々の因子を帰無仮説値に固定したときに NONMEM 解析によって得られる目的関数値 ; OBJ 値の変動値(-2 1.1.d. ; -2 log Likelihood difference)と χ^2 値との差を比較する尤度比検定によって判定した。具体的には、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d. が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-5 Final model 式の設定

共変量の設定で有意($p < 0.01$)であった因子について組み合わせて Full model 式を設定した。その後、Full model から共変量を取り除く変数減少法によって Reduced model を設定し、対話的なモデル選択によって Final model を設定した。

それぞれにモデル化した共変量の、有意な寄与の有無については、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-6 Final model 式の診断

個々の患者におけるジゴキシン血清中濃度の実測値(C_p)と母集団平均パラメータに基づく予測値(PRED), および C_p と Bayes 推定 \hat{C}_p によって算出した予測値(IPRED)をプロットし、回帰性を検討した。また、 C_p と PRED の重み付き残差(WRES)を PRED に対してプロットし、Final model に基づく血清中濃度の推定精度と、個体間差の傾向を診断した。さらに、200 回 Bootstrapping⁸⁾によって 200 個のデータセットを作成し、その平均値を Final model と比較した。

2-7 至適投与方法の検討

0.5~0.8 ng/mL を目標血中濃度として、算出された母集団パラメータの推定値と分散値を用いてモンテカルロシミュレーションを行った。モンテカルロシミュレーションは、Microsoft Excel[®] 2013 を用いて行い 1000 症例の乱数を発生させ目標治療域内に入る達成確率が最も高い投与量を組み合わせてノモグラムを作成した。

3. 結果

対象患者は、192名、採血ポイントは287ポイントであった(Table4)。観察された血清中濃度推移について Figure 4 に示す。共変量の検討の結果、有意な因子となったものとしては、CLcr、体重、アミオダロン、アムロジピン、アトルバスタチン、ビソプロロールとなった(Table 5)。これらの因子を組み合わせ Full model 式を作成し、変数減少法の検討を行ったところ最終的に得られたジゴキシンのパラメータとしては以下の通りとなった。

$$CL/F(L/h) = (1.21 + 0.0532 \times CLcr(mL/min)) \times (1 + 0.787 \times AMD)$$

(AMD = 0 for concomitant administration of amiodarone, otherwise 1)

クリアランス(CL)の個体間変動と個体内変動は、32.2%と25.5%であった。

Table 4 Patient characteristics

Number of Patients	192
Gender (Male:Female)	121:71
EF(%) (>=40:<40)	156:36
Age(year)	71±12*
CLcr(mL/min)	56.17±33.76*
Weight(kg)	55.47±11.94*
Observation	287
0.0625mg (every three days)	4
0.0625mg (every other days)	9
0.0625mg	8
0.125mg	234
0.25mg	32
Digoxin concentration (ng/mL)	0.90±0.56*
Combination medication	
Amiodarone	15
Amlodipine	21
Atorvastatin	14
Azelnidipine	13
Bisoprolol	28
Carvedilol	53
Nifedipine	13
Spirolactone	35
Tolvaptan	8
Antiarrhythmic agent; Class I (Aprindine, Cibenzoline, Flecainide, Pilsicainde, Procainamide)	12
Antiarrhythmic agent; Class IV (Bepriidil, Diltiazem, Verapamil)	31

*Mean ±standard deviation

EF;Ejection fraction, CLcr;Creatine clearance

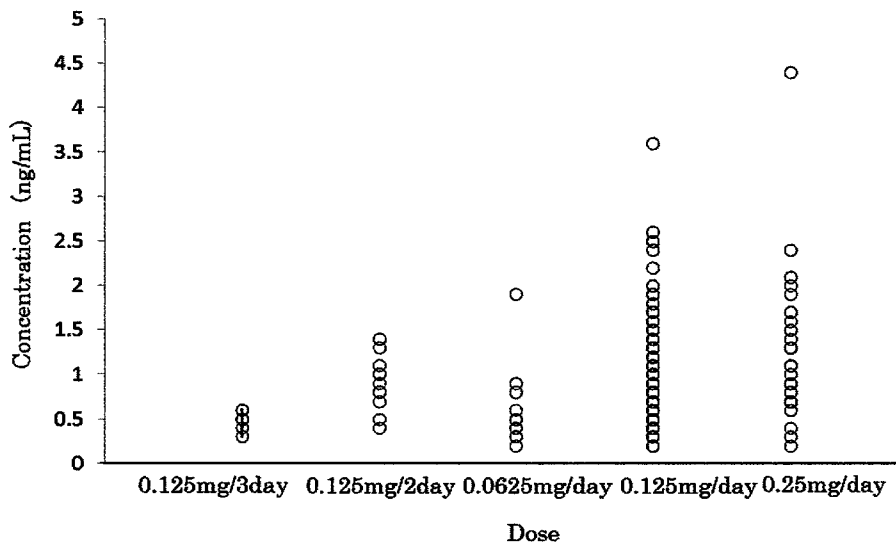


Figure 4 Relationship between the dose of digoxin and serum concentration.

Table 5 Hypothesis testing for fixed effect model of digoxin pharmacokinetics

Fixed model	OBJ	LLD	p-value
CL=01	-128.969		
$\theta_1 + \theta_2 \times \text{CLcr}$	-331.151	202.182	<0.001
$\theta_1 + \theta_2 \times \text{BW}$	-139.203	10.234	<0.002
$\theta_1 \times \theta_2^{\text{Ejection fraction}}$ (EF>41=1, EF<40=0)	-129.247	0.278	N.S.
$\theta_1 \times \theta_2^{\text{Age}}$ (Age>65=0, Age<64=1)	-131.508	2.539	N.S.
$\theta_1 \times \theta_2^{\text{Drug}}$ (0; Cocomitant adminstaraion, 1; otherwise)			
Amiodarone	-163.260	34.291	<0.001
Amlodipine	-142.552	13.583	<0.001
Atorvastatin	-135.985	7.016	<0.01
Azelnidipine	-129.016	0.047	N.S.
Bisoprolol	-145.971	17.002	<0.001
Carvedilol	-134.190	5.221	<0.05
Nifedipine	-129.355	0.386	N.S.
Spirolactone	-132.177	3.208	N.S.
Tolvaptan	-133.804	4.835	<0.05
Antiarrhythmic agent; Class I (Aprindine, Cibenzoline, Flecainide, Pilsicainde, Procainamide)	-131.664	2.695	N.S.
Antiarrhythmic agent; Class IV (Bepridil, Diltiazem, Verapamil)	-131.559	2.590	N.S.

OBJ: the minimum value of objective function, LLD: -2 log-likelihood difference, N.S.: not significant

ジゴキシンの血清中濃度の実測値と最終的に得られた母集団パラメータの予測値・Bayes 推定によって算出した予測値の関係性について Figure 5 (a)(b)に示した。Figure 5(c)に母集団パラメータの予測値と重み付き残差との関係性について示した。200回の Bootstrap resampling の成功確率は、180回で得られたパラメータと Final model とほぼ同等であった(Table 6)。

Figure 6 に得られた母集団パラメータを基に、モンテカルロシミュレーションを行った目標血中濃度に対する達成確率を示す。各クレアチニンクリアランスで最も達成確率が高い投与量を組み合わせて、ノモグラムを作成した(Figure 7)。

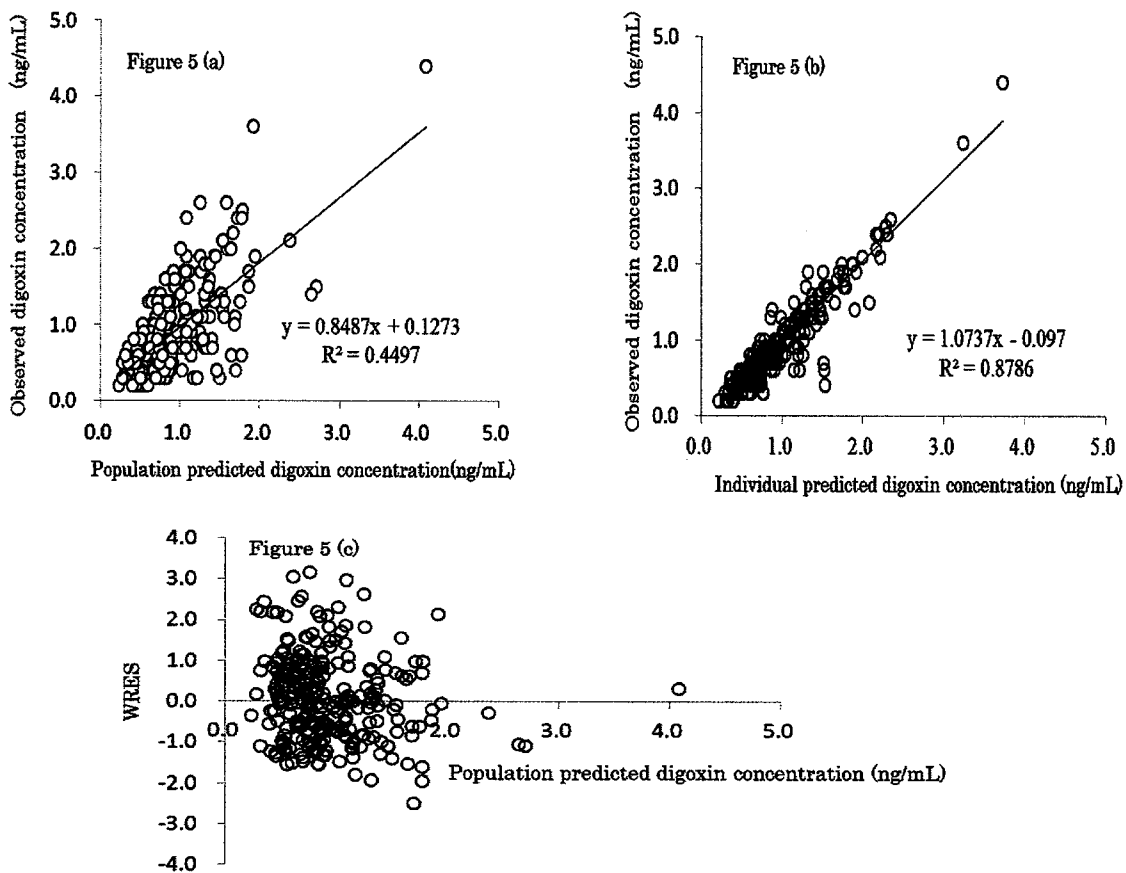


Figure 5 (a) Population predicted concentrations from the final model; (b) Individual predicted concentrations from the final model.(c) Scatter plot of weighted residuals (WRES) versus predicted concentration.

Table 6 Final population pharmacokinetic parameters of digoxin

Parameter	Final model Estimate	Bootstrap method Estimate	95% CI(bootstarp method)
Population Mean			
$CL(L/hr)=(\theta_1+\theta_2\times CL_{Cr})\times(1+\theta_3\times AMD)$			
θ_1	1.21	1.30	1.20-1.39
θ_2	0.0532	0.0543	0.050-0.057
θ_3	0.787	0.803	0.768-0.838
Interindividual variability			
η_{CL}	0.104	0.324	0.312-0.336
Residual variability			
ε	0.065	0.340	0.171-0.509

CI, confidence interval

η , random variable, which is normally distributed with mean 0 and variance σ^2

ε , random error, which is normally distributed with mean 0 and variance σ^2

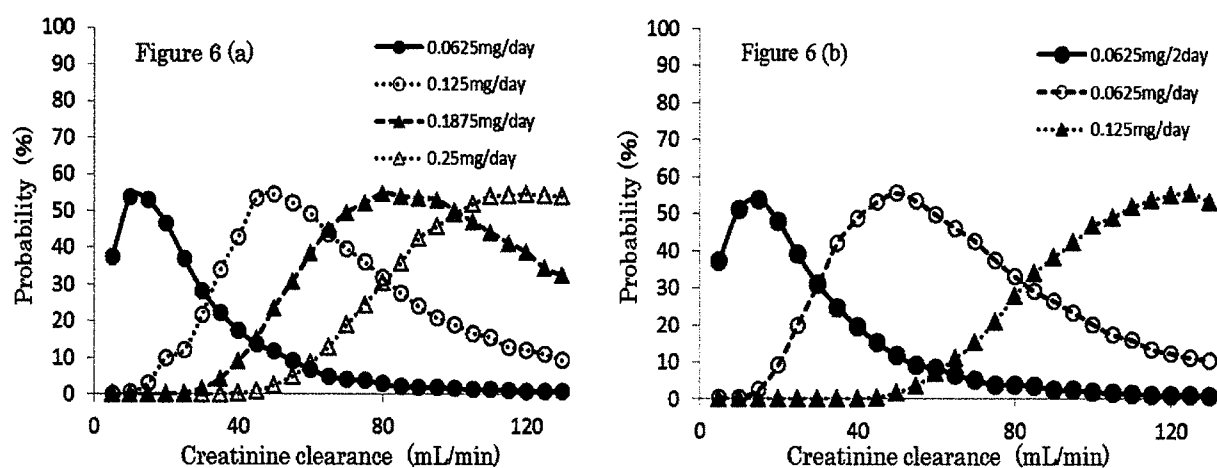


Figure 6 Probability (%) of trough concentration of digoxin being within 0.5–0.8 ng/mL at CL_{Cr} ranging from 5 to 130 mL/min with amiodarone (a) or without amiodarone

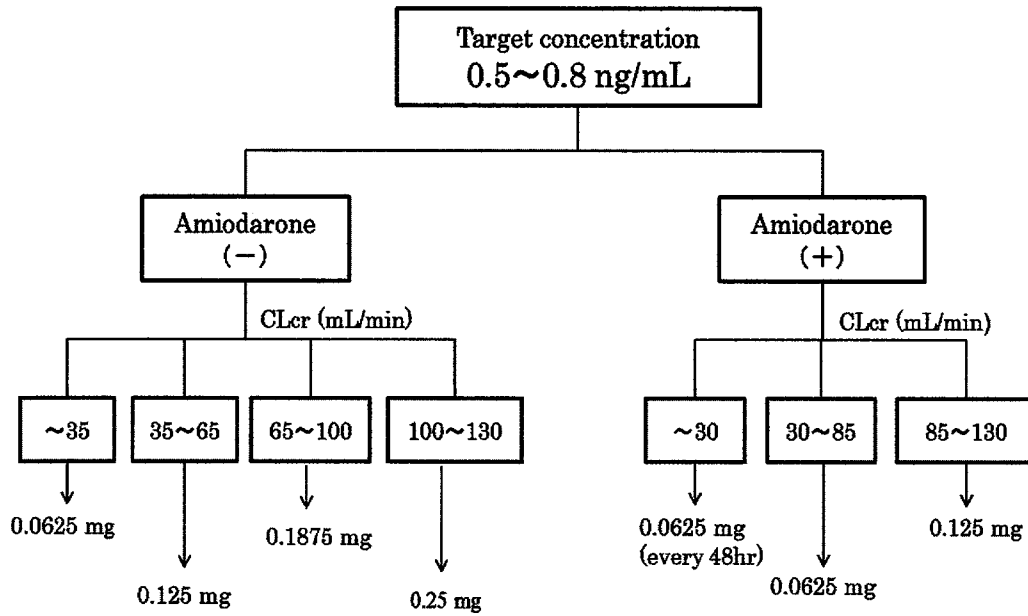


Figure 7 Nomogram for target serum digoxin concentration. The proposed nomograms are presented as a target serum digoxin concentration of 0.5–0.8 ng/mL.

【第3章】

感染性心内膜炎患者における母集団薬物動態解析に基づく

ベンジルペニシリンカリウムの至適投与方法の検討

1. 序

ベンジルペニシリンカリウム(PCG)は、レンサ球菌が起因菌である感染性心内膜炎の第一選択薬として使用されている薬剤である。感染性心内膜炎は致死率も16%~37.1%^{14)・16)}と非常に高いため、抗菌薬の適性使用が重要となる。ペニシリン系の効果の指標としては、Time above MIC(TAM%)と言われており、この値が30%以上超えることが重要とされている¹⁷⁾。感染性心内膜炎の場合、PCGの大量投与が推奨されておりこの値を超えることが報告されている¹⁸⁾。そのため、感染性心内膜炎の場合、最小発育阻止濃度(MIC)に対するトラフ値の比率(Cmin/MIC)が重要と言われているが、この値に関しては明確な指標がないのが現状である。そのため、今回PCGの血中濃度と効果との指標を検討し、母集団解析を行い、算出されたパラメータと効果の指標を基に至適投与方法の検討を行った。

2. 方法

2-1 対象患者

1997年1月から2013年4月までに北里大学病院において感染性心内膜炎と診断されPCGが投与された患者の内、血中濃度測定をした患者とした。患者背景、生化学データについては、診療録ならびに診療コンピュータから調査した。なお本研究は北里大学医学部・病院倫理委員会承認下で実施した。

2-2 採血ポイント

PCGを投与後2時間値もしくは3時間値と投与直前値の2ポイントとした。

2-3 薬物血中濃度測定

血液検体は採血後、遠心分離を行い(3000 r.p.m, 10 min), 血清分離管に移して測定日まで-30°Cで凍結保存した。血中PCG濃度は、既存の報告を参考にHPLC(High-performance liquid chromatography)法にて測定した¹⁹⁾。

2-4 薬物動態モデル

PCGの動態にあたり、あてはめるモデルと確率変数に関する偏微分係数の定義は、NONMEMにあらかじめ用意されたPREDDPP(Prediction of Population Pharmacokinetics)の1-コンパートメントモデル点滴静注モデル(ADVAN1, TRANS2)のサブルーチンを利用した。

測定値の残差変動をあらわす測定誤差モデルは、相対誤差モデルを使用した。

$$C_{p_{ij}} = C_{pred_{ij}} \times (1 + \varepsilon_{ij})$$

ここで $C_{pred_{ij}}$ は、患者jのi番目における母集団パラメータによる血清中濃度推定値、 $C_{p_{ij}}$ は患者jのi番目の血清中濃度測定値、 ε_{ij} は残差変動を示し、平均値0、分散 δ^2 の正規分布に従うものとする。

薬物動態パラメータの個体間変動をあらわす混合効果は、指数誤差モデルを使用した。

$$P_j = P \times \exp(\eta_j)$$

ここで、Pは薬物動態パラメータの平均値、 P_j は患者j個人の薬物動態パラメータ値、 η_j は個体間変動をあらわし、平均値と患者固有値(Pと P_j)との差である。 η_j は平均値0、分散 ω_j^2 の正規分布に従うものとする。

2-5 共変量の検討

クリアランスの個体間変動に影響を及ぼすと考えられる共変量は、年齢、性別、血清クレアチニン、クレアチニンクリアランス(CLcr)、体重、ALT(alanine aminotransferase)について検討をした。なお CLcr は Cockcroft-Gault から算出した。

それぞれの共変量(covariance)のモデル式としては以下のものを組み合わせ検討した。

$$TV(P) = \theta_p + \theta_c \times \text{covariance}$$

$$TV(P) = \theta_p \times \theta_c^{\text{covariance}}$$

それぞれにモデル化した影響因子の体内動態パラメータへの有意な寄与の有無については、個々の因子を帰無仮説値に固定したときに NONMEM 解析によって得られる目的関数値 ; OBJ 値の変動値(-2 1.1.d. ; -2 log Likelihood difference)と χ^2 値との差を比較する尤度比検定によって判定した。具体的には、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d.が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-6 Final model 式の設定

共変量の設定で有意($p < 0.01$)であった因子について組み合わせて Full model 式を設定した。その後、Full model から共変量を取り除く変数減少法によって Reduced model を設定し、対話的なモデル選択によって Final model を設定した。

それぞれにモデル化した共変量の、有意な寄与の有無については、 χ^2 分布に基づき自由度 1 の変化に伴う -21.1.d が 6.63 以上の変化($p < 0.01$)を満たしたものを有意とした。

2-7 Final model 式の診断

個々の患者における PCG 血清中濃度の実測値(C_p)と母集団平均パラメータに基づく予測値(PRED)、および C_p と Bayes 推定⁷⁾によって算出した予測値(IPRED)をプロットし、回帰性を検討した。また、 C_p と PRED の重み付き残差(WRES)を PRED に対してプロットし、Final model に基づく血清中濃度の推定精度と、個体間差の傾向を診断した。さらに、200 回 Bootstrapsampling⁸⁾によって 200 個のデータセットを作成し、その平均値を Final model と比較した。

2-8 血中濃度と効果との関係性

対象症例の内、レンサ球菌が起因菌として検出された患者を対象とした。効果判定は以下の基準に従って行った。熱の継続や菌が陰性化せず PCG を変更した症例や 30 日以内の感染症と関連した死亡症例を無効症例とした。有効症例と無効症例における効果と濃度との関係性を確認するために ROC 曲線とロジスティック曲線を用いて C_{\min}/MIC のカットオフ値を算出した。統計解析ソフトは、JMP8.01J (SAS インスティテュートジャパン株式会社)用いて、 $P < 0.05$ 未満を有意とした。

2-9 至適投与方法の検討

2-8 で得られた Cmin/MIC のカットオフ値を超える値を目標値として、算出された母集団パラメータの推定値と分散値を用いてモンテカルロシミュレーションを行った。また、副作用として報告²⁰⁾のあるピーク濃度が 100 µg/mL以上を超えない組み合わせと達成確率が最も高い投与量を組み合わせてノモグラムを作成した。

3.結果

対象患者は、25名、採血ポイントは46ポイントであった(Table 7)。共変量の検討の結果、有意な因子となったものとしては、年齢、性別、血清クレアチニン、CLcr、体重、ALTとなった(Table 8)。これらの因子を組み合わせ Full model 式を作成し、変数減少法の検討を行ったところ最終的に得られた PCG のパラメータとしては以下の通りとなった。

$$CL (L/h) = 0.21 \times CLcr (mL/min)$$

$$Vd (L) = 28.9$$

クリアランス(CL)の個体間変動は 28.8 %、分布容積(Vd)の個体間変動は 32.4 %で、個体内変動は 17.4 %であった。

Table 7 Patient characteristics

Number of Patients	25
Gender (Male:Female)	16:9
Age(year)	54 ± 17*
Scr(mg/dL)	0.92 ± 0.56*
CLcr (mL/min)	82.52 ± 33.29*
AST(IU/L)	26.80 ± 26.45*
Weight(kg)	55.35 ± 33.31*
Observation	46
PCG concentraion(µg/mL)	33.18 ± 45.20*

*Mean ±standerd deviation

CLcr: Creatine clearance

Table 8 Hypothesis testing for fixed effect model of penicillin G pharmacokinetics

Fixed model	OBJ	LLD	p-value
CL=θ1	356.307		
θ1+θ2×CLcr	239.004	117.303	<0.001
θ1+θ2×1/sCr	280.388	75.919	<0.001
θ1+θ2×BW	323.407	32.9	<0.001
θ1×θ2 ^{ALT} (ALT>40=0,ALT<40=1)	337.037	19.27	<0.001
θ1×θ2 ^{sex} (Male=1,Female=0)	324.973	31.334	<0.001
θ1×θ2 ^{Age} (Age>65=1,Age<64=0)	347.699	8.608	<0.005
Vd=θ3			
θ3+θ4×BW	356.307	0	N.S.

OBJ: the minimum value of objective function,LLD;-2 log-likelihood difference,N.S.:not

PCG の血清中濃度の実測値と最終的に得られた母集団パラメータの予測値・Bayes 推定によって算出した予測値の関係性について Figure 8 (a)(b)に示した。Figure 8(c)に母集団パラメータの予測値と重み付き残差との関係性について示した。200 回の Bootstrap resampling の成功確率は、158 回で得られたパラメータと Final model とほぼ同等であった(Table 9)。

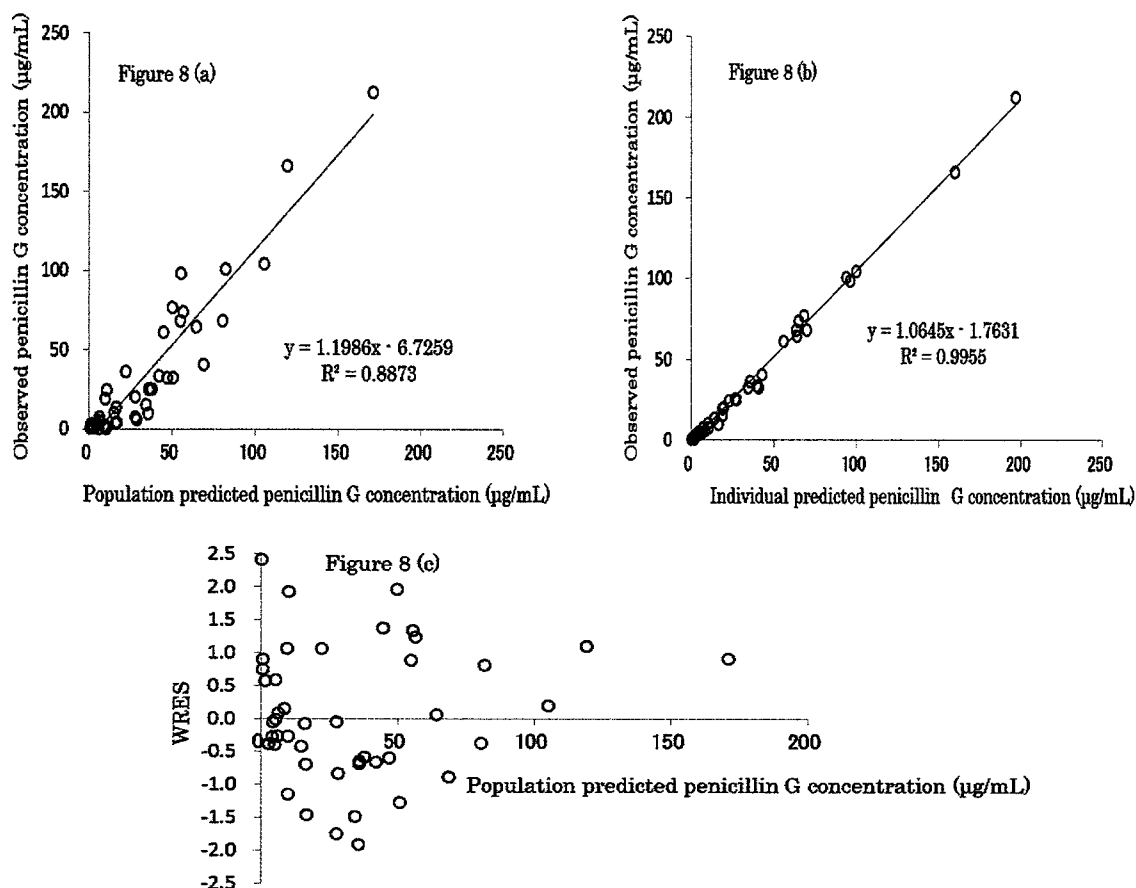


Figure 8 (a) Population predicted concentrations from the final model; (b) Individual predicted concentrations from the final model. (c) Scatter plot of weighted residuals (WRES) versus predicted concentration.

Table 9 Final population pharmacokinetic parameters of penicillin G

Parameter	Final model Estimate	Bootstrap method Estimate	95% CI(bootstarp method)
Population Mean			
CL(L/hr)= $\theta_1 \times \text{CLcr}$			
θ_1	0.21	0.21	0.17-0.249
Vd(L)= θ_2			
θ_2	28.9	29.1	23.4-34.7
Interindividual variability			
η_{CL}	0.0835	0.0786	0.0171-0.1397
η_{Vd}	0.1040	0.0870	0.0087-0.1203
Residual variability			
ϵ	0.0304	0.0310	0.0265-0.0342

CI, confidence interval

η , random variable, which is normally distributed with mean 0 and variance σ^2

ϵ , random error, which is normally distributed with mean 0 and variance σ^2

レンサ球菌が検出された症例は 25 例中 21 名であった。その内、有効症例が 15 名・無効症例が 6 名であった (Table 10)。無効症例と有効症例の Cmin/MIC を ROC 曲線で描いたところ、カットオフ値 60 (感度 68 %, 特異度 100 %) であった (Figure 9)。Figure 10 にロジスティック回帰分析の結果を示した。

Figure 11 に算出された母集団パラメータを基に、Cmin/MIC が 60 を超えた達成確率を示す。なお、MIC は PCG のレンサ球菌に対する MIC として最も頻度の高い 0.06 $\mu\text{g/mL}$ と 0.12 $\mu\text{g/mL}$ とした。各クレアチニンクリアランスで最も達成確率とピーク濃度 100 $\mu\text{g/mL}$ 以上を超えない値とを組み合わせ、ノモグラムを作成した (Figure 12)。

Table 10 Causative microorganisms

	Total n=23	Penicillin success n=17	Penicillin failure n=6
Size of Vegetation (mm)	11.6 \pm 5.8	12.3 \pm 6.2	9.8 \pm 4.5
PCG MIC	0.15 \pm 0.41	0.07 \pm 0.02	0.38 \pm 0.79
Viridans group streptococci			
species level not determined	5	2	3
<i>streptococci sanguis</i>	5	2	3
<i>streptococci gordonii</i>	4	4	0
<i>streptococci agalactiae</i>	2	2	0
<i>streptococci mutans</i>	1	1	0
<i>streptococci intermedius</i>	2	2	0
<i>streptococci mitis</i>	1	1	0
<i>streptococci oralis</i>	1	1	0
<i>streptococci pepto</i>	1	1	0
<i>streptococci constellatus</i>	1	1	0

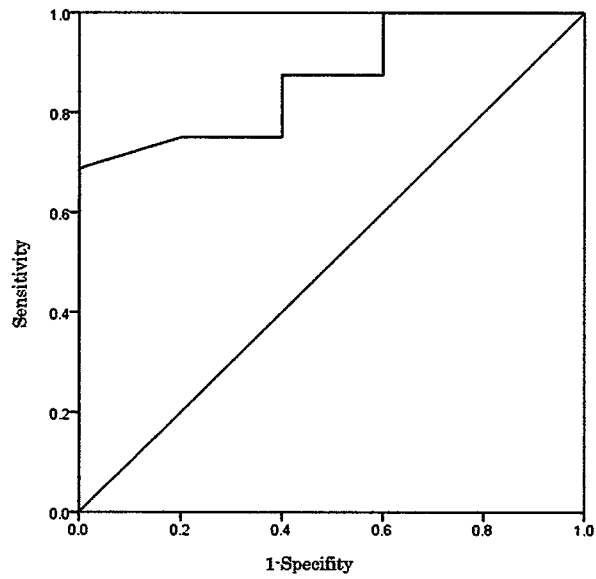


Figure 9 Receiver operating characteristic curve for predicting clinical efficacy using penicillin G minimum serum concentration/MIC

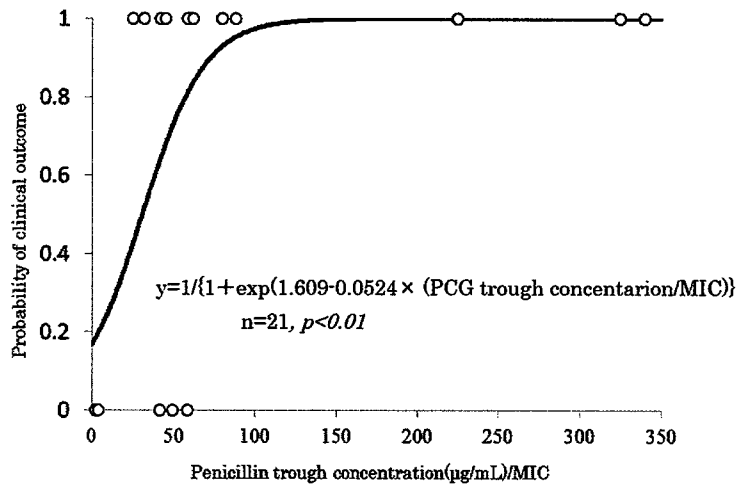


Figure 10 Penicillin G minimum serum concentrations/MIC and logistic regression model for clinical outcomes (failure, 0; success, 1).

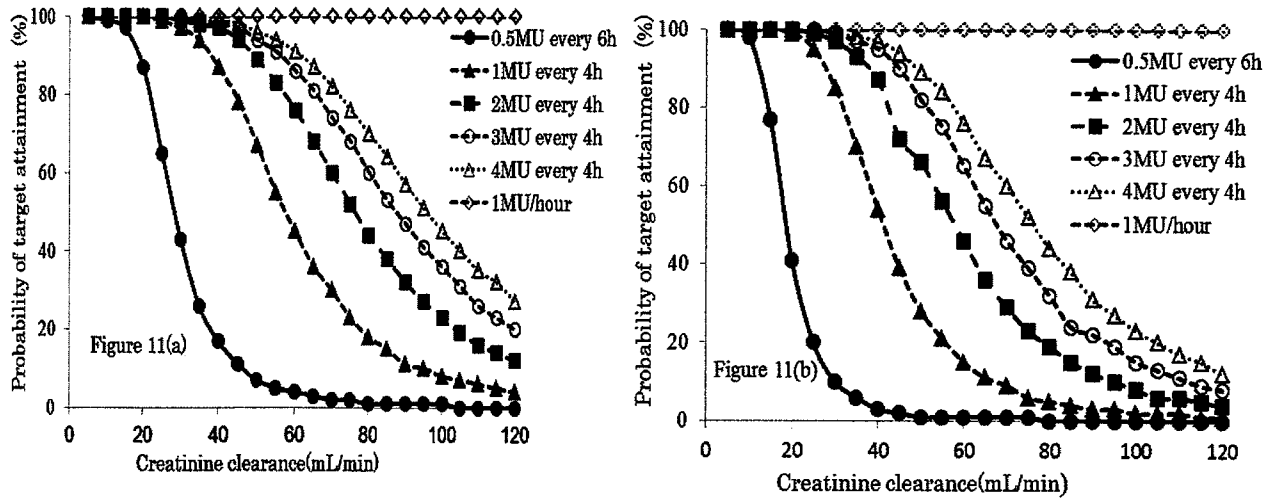


Figure 11 Probability of attaining targets above a penicillin minimum serum concentration/MIC ratio of 60 at CLcr ranging from 5 to 120 with MIC fixed at (a) 0.06 or (b) 0.12 µg/mL.

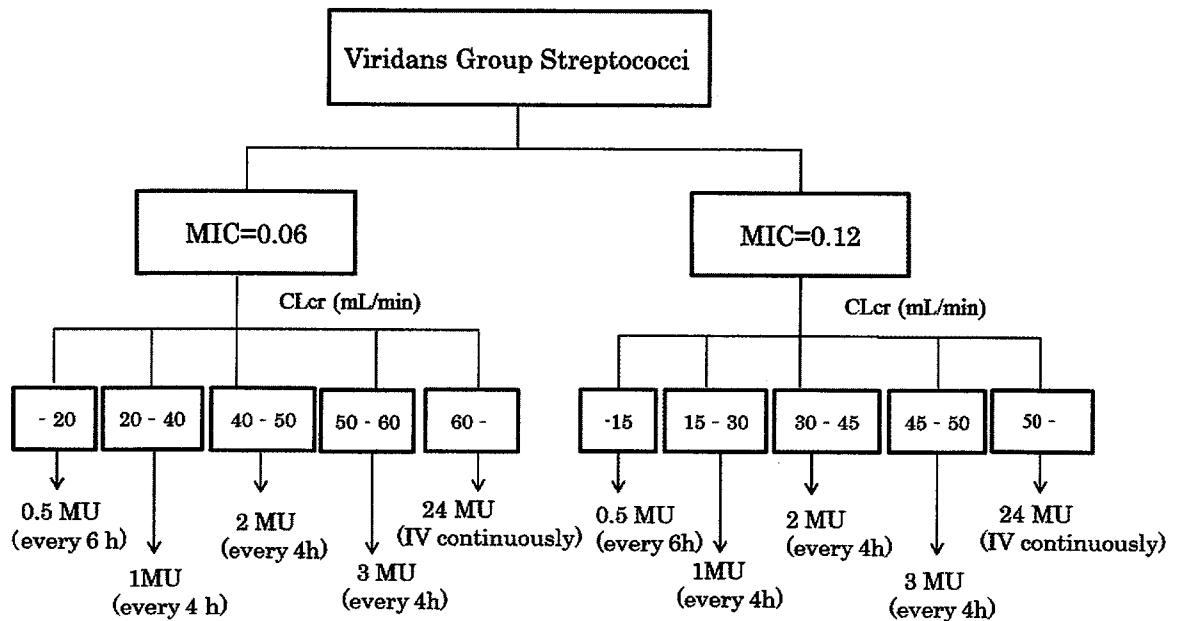


Figure 12 Nomogram for the initial dosage of penicillin against viridans group streptococci.

考察

排泄経路の異なるオキシコドン、ジゴキシン、PCGの3薬剤について母集団薬物動態解析を行い至適投与方法の検討を行った。

オキシコドンのクリアランスの因子は、Child-Pugh分類のみとなった。Child-Pugh分類は、肝予備能力を表わす指標として肝硬変に用いられ、近年では、肝癌における肝機能の指標としても用いられている。Kaiko RFとTallgren Mらによれば、肝機能障害時では、オキシコドンの半減期が延長したと言う報告がある^{21)・22)}。そのため、肝機能の指標であるChild-Pugh分類が因子となったことは妥当と思われる。生物学的利用率に関しては、63.9%と算出された。この値は、健常人を対象とした試験結果の値である60%²³⁾と近似していた。また、今回算出された母集団パラメータも膀胱鏡検査を受けた高齢者を対象とした報告²⁴⁾とも類似していた。今回用いた注射剤は、海外と異なりヒドロコタルニンが含有された複方製剤ではあるが、生物学的利用率やクリアランス等のパラメータが海外の報告と類似していることから、ヒドロコタルニンがオキシコドンの代謝等に影響を及ぼしている可能性は少ないと思われた。

ジゴキシンのクリアランスの因子は、アミオダロンとCLcrとなった。ジゴキシンは腎臓で70%以上が排泄され、既存の報告^{25)・26)}でもCLcrは因子となっていることから妥当と思われる。アミオダロンは、既存の報告でもジゴキシンの血中濃度を2倍程度上昇することが報告されていることから因子となったと思われた。アミオダロンとジゴキシンとの相互作用のメカニズムは、アミオダロンの活性代謝物であるデスエチルアミオダロンがジゴキシンのP糖蛋白質を介する尿細管分泌を阻害するためとされている²⁷⁾。

PCGのクリアランスの因子は、CLcrのみとなった。PCGは、既存の報告^{28)・29)}でも腎臓から排泄されるとされており、腎機能の指標であるCLcrが因子となったことは妥当であると思われた。分布容積についても28.9Lと算出され、既存の報告²⁸⁾とも類似しており適切と思われた。

今回算出された3薬剤の母集団パラメータとも既存の報告とも類似しており適切なモデルであったと思われる。また、Bootstrap resampling法の結果も3薬剤とも良好であり内的妥当性は担保できたものと思われる。

採血ポイントは、患者への負担も考慮し3薬剤とも最小限のポイントにし、それに見合うモデル式を選択した。

オキシコドンは、注射剤と経口剤との換算比と体内動態を明確にすることを目的としたため、採血ポイントは5ポイントと多くなったが臨床的に有用な指標が得られた。

ジゴキシンは、2-コンパートメントモデルでの報告もあるが、トラフ濃度が効果と副作用の指標となるため、TDMの範囲内で採血がされているトラフの1ポイントのみのデータとしたため、モデル式も定常状態のクリアランスのみを算出する式を用いた。

PCGは、Cmin/MICが効果指標となるかの検討であったため、トラフ濃度と半減期算出の目的のため、分布相を避けて2時間値もしくは3時間値の2ポイントとし、1-コンパー

トメントモデルとした。

至適投与方法の検討についても3薬剤とも有用な情報を得ることができた。

オキシコドンは、生物学的利用率が63.9%と算出されたため、内服剤から注射剤への換算比を0.65とした場合の血中濃度推移についてFigure3に示した。この換算比を用いることで、徐放錠の平均血中濃度と持続静脈投与の推移とが一致することから血中濃度の観点からは問題ないと思われた。Child-Pugh分類Cでは、Aに比べて3倍程度血中濃度が上昇していることから、1/3に減量する必要があると思われた。今回得られたパラメータを用いることで、経口剤から注射剤に切り替える際や病態の変化が生じた際などの投与设计につながるものと思われた。

ジゴキシンは、母集団パラメータを基に0.5~0.8 ng/mLを目標血中濃度として、ノモグラムを作成することができた。ノモグラムは、アミオダロンの併用の有無とCLcrに応じて投与量が決定されている。また各投与量は、調整し易い用量で設定されており臨床上の汎用性も高いと思われた。現在、本ノモグラムを用いた前向き試験を実施しており医薬品の適性使用に寄与できていると思われる。

PCGは、効果の指標を明確にすることができCmin/MICが60を超えることが重要であることが明らかとなった。その値を超えることを目標血中濃度として、ノモグラムを作成することができた。ノモグラムは、MICとCLcrによってPCGの投与量が決められており、簡便であると思われた。本ノモグラムに従えば、腎機能正常症例においては持続静脈投与が推奨される。PCGの持続静脈投与は、本邦においては馴染みのない投与方法ではあるがAHAのガイドライン³⁰⁾には記載があり、トラフ濃度を上げる目的には有効な投与方法であると思われた。今後は、本ノモグラムを用いた前向き研究を行い外的妥当性の評価が必要と思われる。

今回得られた3薬剤の母集団パラメータは臨床的に汎用し易いモデルとなっており、医薬品の適性使用に寄与できるものと考えられた。

結論

目的に応じて、採血ポイント数を決定することで、臨床上有用なモデル式が得ることができ、医薬品の適性使用に寄与できるものと考えられた。

謝辞

本研究を行うにあたり，御指導，御鞭撻を賜りました北里大学薬学部教授 伊藤智夫先生，同 厚田幸一郎先生，同 松原肇先生，北里大学薬学部准教授 篠崎公一先生に謹んで感謝の意を表します。

また，本研究に際し，多くの助言を頂きました北里大学薬学部 薬物治療学 I 准教授 尾鳥勝也先生，北里大学薬剤部係長 小林昌弘先生，北里大学医学部循環器内科学教授 阿古潤也先生，北里大学研究所病院循環器内科教授 猪又孝元先生をはじめ，温かい御支援を頂きました北里大学病院薬剤部および北里大学循環器内科学の方々に心より感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Guidance for Industry :Population Pharmacokinetics,FDA, February 1999.
- 2) 臨床薬物動態試験・薬物相互作用ガイドライン検討班: 医薬品の臨床薬物動態試験-通知解説-じほう 2003.
- 3) Davis MP, Varga J, Dickerson D, Walsh D, LeGrand SB, Lagman R. Normal-release and controlled-release oxycodone: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and controversy. *Support Care Cancer*. 2003 ;11:84-92.
- 4) Heiskanen TE, Ruismäki PM, Seppälä TA, Kalso EA. Morphine or oxycodone in cancer pain? *Acta Oncol*. 2000;39:941-7.
- 5) 奥島貫一郎: パピナール Pavinal に就いて. *岡山医学雑誌*. 1925;425:1-10.
- 6) Kokubun H, Ouki M, Matoba M, Kubo H, Hoka S, Yago K. Determination of oxycodone and hydrocotarnine in cancer patient serum by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Sci*. 2005;21(3):337-9.
- 7) Sheiner LB, Rosenberg B, Melmon KL. Modelling of individual pharmacokinetics for computer-aided drug dosage. *Comput Biomed Res*. 1972;5(5):411-59.
- 8) Ette EI. Stability and performance of a population pharmacokinetic model. *J Clin Pharmacol*. 1997;37(6):486-95.
- 9) Rathore SS1, Curtis JP, Wang Y, Bristow MR, Krumholz HM. Association of serum digoxin concentration and outcomes in patients with heart failure. *JAMA*. 2003 19;289(7):871-8.
- 10) 2015 年版循環器薬の血中濃度モニタリングに関するガイドライン 日本循環器学会/日本 TDM 学会合同ガイドライン(2013-2014 年合同研究班報告)
- 11) Jelliffe RW, Brooker G. A nomogram for digoxin therapy. *Am J Med*. 1974;57:63-8.
- 12) Bauman JL, DiDomenico RJ, Viana M, Fitch M. A method of determining the dose of digoxin for heart failure in the modern era. *Arch Intern Med*. 2006;166:2539-45.
- 13) 上野和行, 田中秀子. 日本人のジゴキシン体内動態の解析と初期投与ノモグラムの作成 *老年医学*.2002; 40:835-41.
- 14) Tuğcu A1, Yildirimtürk O, Baytaroğlu C, Kurtoğlu H, Köse O, Sener M et al. Clinical spectrum, presentation, and risk factors for mortality in infective endocarditis: a review of 68 cases at a tertiary care center in Turkey. *Turk Kardiyol Dern Ars*. 2009; 37:9-18.
- 15) Tawfiq JA, Sufi I. Infective endocarditis at a hospital in Saudi Arabia: epidemiology, bacterial pathogens and outcome. *Ann Saudi Med*.2009; 29:433-6.
- 16) Hoen B1, Alla F, Selton-Suty C, Béguinot I, Bouvet A, Briançon S, et al. Changing profile of infective endocarditis: results of a 1-year survey in France. *JAMA*. 2002; 288:75-81.

- 17) Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis.* 1998; 26:1-10.
- 18) Weinstein MP1, Klugman KP, Jones RN. Rationale for revised penicillin susceptibility breakpoints versus *Streptococcus pneumoniae*: coping with antimicrobial susceptibility in an era of resistance. *Clin Infect Dis.* 2009;48:1596-600.
- 19) Muller AE1, DeJongh J, Bult Y, Goessens WH, Mouton JW, Danhof M, et al. Pharmacokinetics of penicillin G in infants with a gestational age of less than 32 weeks. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51:3720-5.
- 20) Wickerts CJ, Asaba H, Gunnarsson B, Bygdeman S, Bergstrom J. Combined carbon haemoperfusion and haemodialysis in treatment of penicillin intoxication. *Br Med J.* 1980; 24:1254-5.
- 21) Kaiko RF. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of controlled-release opioids. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1997;41:166-74.
- 22) Tallren M, Ollkola KT, Seppala T, Hockerstedt K, Lindgren L. Pharmacokinetics and ventilator effect oxycodone before and after liver transplantati. *Clin Pharmacol Ther.*1997;61(6):655-61.
- 23) Poyhia R, Seppala T, Olkkola KT, Kalso E. The pharmacokinetics and metabolism of oxycodone after intramuscular and oral administration to healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 1992;33(6):617-21
- 24) Kokki M1, Välitälo P, Rasanen I, Aaltomaa S, Ojanperä I, Eskelinen M,et al. Absorption of different oral dosage forms of oxycodone in the elderly: a cross-over clinical trial in patients undergoing cystoscopy. *Eur J Clin Pharmacol.*2012;68:1357-63
- 25) Chen R, Zou SL, Wang ML, Jiang Y, Xue H, Qian CY, et al. Population pharmacokinetics of digoxin in elderly patients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2013;38:115-21.
- 26) Yukawa E, Suematu F, Yukawa M, Minemoto M, Ohdo S, Higuchi S, et al. Population pharmacokinetics of digoxin in Japanese patients: a 2compartment pharmacokinetic model. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40:773-81.
- 27) Yamreudeewong W, DeBisschop M, Martin LG, Lower DL. Potentially significant drug interactions of class III antiarrhythmic drugs. *Drug Saf.* 2003;26:421-38
- 28) Holland SM, Livesey EF, Owen J, Pennington GW, Roberts JB, Somers GF. Blood and urine levels following intramuscular administration of potassium penicillin V. *Antibiot Chemother.*1960; 10:25-9.
- 29) Dittert LW, Griffen WO Jr, LaPiana JC, Shainfeld FJ, Doluisio JT. Pharmacokinetic interpretation of penicillin levels in serum and urine after intravenous administration. *Antimicrob Agents Chemother (Bethesda).* 1969; 9:42-8
- 30) Baddour LM, Wilson WR, Bayer AS, Fowler VG Jr, Bolger AF, Levison ME, et al.

Infective endocarditis: diagnosis, antimicrobial therapy, and management of complications: a statement for healthcare professionals from the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, and the Councils on Clinical Cardiology, Stroke, and Cardiovascular Surgery and Anesthesia, American Heart Association: endorsed by the Infectious Diseases Society of America. *Circulation*. 2005; 111:394-434.