薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
108 (7) 653-658 (1988)

血漿中、唾液中のカフェインとジメチルキサンチン類の生体内動態

中澤一治, 田中晴美*

国立精神・神経センター, 神経研究所疾病研究第二部

Pharmacokinetics of Caffeine and Dimethylxanthines in Plasma and Saliva

KAZUHARU NAKAZAWA and HARUMI TANAKA*

Division of Mental Retardation and Birth Defect Research,
National Institute of Neuroscience, NCNP, 4-1-1
Ogawahigashi, Kodaira, Tokyo 187, Japan

(Received February 3, 1988)

The concentrations of caffeine and its metabolites, dimethylxanthines, in the plasma and saliva were determined in order to clarify the metabolic capacity of caffeine in pregnant women.

After taking caffeine-free diet for 3 d, caffeine (3 mg/kg) was orally administered to 6 healthy volunteers. The concentrations of caffeine and dimethylxanthines, *i.e.* theobromine, paraxanthine and theophylline in the plasma and saliva were measured.

The concentrations in the saliva showed positive relationships to those in the plasma for both caffeine and paraxanthine. There was a linear relationship between the plasma clearance of caffeine and the molar concentration ratio of paraxanthine to caffeine in the saliva at 6 h after oral administration of caffeine. The concentration of caffeine in the saliva from pregnant women was higher than 1.3 $\mu\text{g/ml}$ at 1 h after taking one or three cups of coffee or green tea without restriction.

These results indicate that the plasma levels of caffeine and paraxanthine can be predicted from the saliva levels of caffeine and paraxanthine. Moreover, it would be possible to estimate the plasma clearance or metabolic capacity of caffeine from the molar concentration ratio of paraxanthine to caffeine in the saliva.

Keywords—caffeine; paraxanthine; plasma; saliva; pregnancy; pharmacokinetics

緒 言

カフェインは嗜好品として、緑茶、コーヒー等から摂取することの多い物質である。カフェインは様々な生理活性を有することが知られており、¹⁾ また近年、妊婦のカフェイン摂取による胎児への影響が指摘されている。²⁾ それによると、カフェインの1日摂取量が600 mg以上であると自然流産、早産、死産の出現が高いことを示唆している。また、動物実験でも胎仔の脳発達に悪影響を及ぼすことが証明されている。^{3,4)}

日常生活で妊婦の摂取するカフェインが、胎児の発育にどのように影響を与えるかを把握する上で、生体内のカフェインレベルの測定は必要である。しかし、通常妊婦からの継続的な採血又は採尿は現実的には困難である。そこで本研究では、唾液を採取し、唾液中のカフェイン及びその代謝物をモニターすることによって、妊婦の生体内のカフェイン動態を把握することを試みた。

実 験 の 部

試薬 日本薬局方カフェインは吉田製薬株式会社製を使用した。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の移動相溶媒は、吸収スペクトル用、液体クロマトグラフ用を、また他の試薬は特級試薬、和光純薬株式会社製を使用した。7-(2-ヒドロキシエチル)テオフィリン、8-クロルテオフィリンは東京化成工業株式会社製を使用した。

生体試料の採取 健康成人6名を被験者とした。カフェイン負荷3日前より、カフェインを含有する飲食物の摂取を中止し、試験当日はカフェインをオブラートに包み3 mg/kgを200—400 mlの微温湯とともに服用した。採血及び唾液の採取は、カフェイン服用直前、0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24時間後に行った。血液はヘパリ

ン処理後、血漿を分離した。血漿と唾液は、測定まで -30°C にて、凍結保存した。

また、6名の妊婦に日常生活で摂取している緑茶あるいはコーヒーを飲用してもらい、飲用1及び2時間後に唾液を採取した。

血漿、唾液中のカフェインとジメチルキサンチン類の定量 定量方法は前報に準じた。⁵⁾ 血漿又は唾液 0.2 ml に 0.02 ml の内部標準液 (7-(2-ヒドロキシエチル)テオフィリン, 50 mg/l) を添加し、2.5 ml のクロロホルム-イソプロパノール混液 (75:25, v/v) で抽出後、2.0 ml の有機層を分取し蒸発乾回した。この沈渣を 0.2 ml の 5 mM 酢酸ナトリウム緩衝液に溶解し、20 μl を HPLC に注入した。分析カラムには $\mu\text{Bondapak C}_{18}$ (粒子径 10 μm , 30 cm $\times$ 3.9 mm i.d., ウォーターズ社) を、プレカラムには Co: Pell ODS (粒子径 30-38 μm , 7 cm $\times$ 2.1 mm i.d., ワットマン社) を使用した。移動相は 5 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 5.0)-メタノール-アセトニトリル-テトラヒドロフラン (92.5:3.0:2.8:1.7, v/v) 流速 1.5 ml/min にて溶出し、紫外吸収 280 nm にて測定した。

カフェイン含有飲料中のカフェイン量の測定 緑茶、コーヒー等は日常、用いられている方法で調製した。尚、緑茶葉、紅茶葉 1 g に対し 100 ml の沸騰水を使用した。また、市販細挽きコーヒー 4 g に対し 100 ml の水を用いて、コーヒーメーカーにより調製した。

試料 0.05 ml に 5 ml のクロロホルム (内部標準として、8-クロルテオフィリン, 10 mg/l を含有) を加え、抽出し蒸発乾回後、5 ml の 0.2 M 酢酸ナトリウム緩衝液に溶解後、10 μl を HPLC に注入した。分析カラムは Zorbax ODS (粒子径 5 μm , 15 cm $\times$ 4.6 mm, i.d., 島津製作所) を、移動相には 0.2 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.0)-アセトニトリル (85:15, v/v), 流速 0.5 ml/min にて溶出し、紫外吸収 273 nm を利用し定量した。⁵⁾

血漿、唾液中カフェイン濃度の動態解析 One-compartment open model に従い、最小二乗法より求めた傾きから消失速度定数 (K_{el}) を算出した。また、濃度曲線下の面積 (AUC) と投与量 (Dose) より次式を用いクリアランス (CL) を求めた。

$$CL = \frac{F \cdot \text{Dose}}{AUC}$$

ここで吸収率 (F) は、カフェインについては完全に速やかに吸収されるので⁶⁾, $F=1.0$ として算出した。見かけの分布容積 (V_d) は CL/K_{el} より算出した。

結 果

健康成人のカフェインの生体内動態

Fig. 1 にカフェインとその代謝物であるパラキサンチン、テオフィリン、テオブロミンの血漿中、唾液中の濃度推移の1例を示した。服用直前の血漿中、唾液中のカフェイン及びジメチルキサンチン類は全例で検出できなかった。また、パラキサンチン濃度は服用6-8時間後にピークに達した。

Fig. 2 に示したように、カフェイン及びパラキサンチンの血漿中と唾液中との濃度の間には有意な相関関係が得られた。またカフェインの血漿濃度に対する唾液濃度の比は、 0.86 ± 0.25 (mean $\pm$ S.D.) であった。

Table I にカフェインの pharmacokinetic parameters を示した。血漿クリアランスと唾液クリアランスは、それぞれ平均 64.82 ml/h/kg と 81.83 ml/h/kg であった。

血漿クリアランスと唾液クリアランス及び、血漿クリアランスと服用6時間後の唾液中のパラキサン

Fig. 1. The Time Courses of Caffeine and Dimethylxanthines in Plasma and Saliva Concentrations after Oral Administration of Caffeine in Subject No. 4

●, caffeine; ○, paraxanthine; □, theophylline; △, theobromine.
—, plasma; ----, saliva.

Fig. 2. Relationship between Plasma and Saliva Concentrations of (A) Caffeine of (B) Paraxanthine

(a) $Y = 1.0X + 0.5$ ($n = 60$, $r = 0.907$, $p < 0.01$). (b) $Y = 1.3X + 0.0$ ($n = 60$, $r = 0.955$, $p < 0.01$).

TABLE I. Pharmacokinetic Parameters of Caffeine in Plasma and Saliva after Single Oral Administration of Caffeine in Healthy Subjects

Subject				$V_d^{b)}$		Half-life		$K_{el}^{c)}$		Clearance	
No.	Age (year)	Sex	B.W. ^{a)} (kg)	Plasma (ml/kg)	Saliva (ml/kg)	Plasma (h)	Saliva (h)	Plasma (l/h)	Saliva (l/h)	Plasma (ml/h/kg)	Saliva (ml/h/kg)
1	22	F	51.5	393.0	580.2	4.10	4.41	0.169	0.157	66.41	91.09
2	22	F	48.5	361.7	526.7	3.77	3.47	0.184	0.200	66.56	105.34
3	23	F	55.0	438.8	599.8	5.87	7.02	0.118	0.099	51.77	59.20
4	53	M	54.0	461.1	721.7	5.92	7.79	0.117	0.089	53.95	64.23
5	42	F	60.0	386.7	650.3	3.23	4.83	0.215	0.143	83.01	93.25
6	27	M	66.5	602.1	592.4	6.21	5.27	0.112	0.132	67.20	77.90
Mean	31.5		55.9	440.6	611.8	4.85	5.47	0.152	0.137	64.82	81.83
S.D.	13.0		6.4	87.1	66.8	1.30	1.63	0.043	0.041	11.23	17.92

a) B.W., body weight. b) V_d , apparent volume of distribution. c) K_{el} , elimination rate constant.

Fig. 3. (A) Correlation between Plasma Clearance of Caffeine and Saliva Clearance of Caffeine (B) Correlation between Plasma Clearance of Caffeine and Molar Concentration Ratio of Paraxanthine to Caffeine in Saliva at 6 h after Oral Administration of Caffeine

(a) $Y = 0.46X + 27.1$ ($r = 0.74$, $p < 0.05$). (b) $Y = 45.5X + 38.8$ ($r = 0.85$, $p < 0.01$).

TABLE II. Saliva Concentrations of Caffeine and Paraxanthine in Pregnant Women

No.	Subject		Gestation (weeks)	Caffeine source ^{a)} (cups)	Saliva level after caffeine ingestion ^{b, c)} ($\mu\text{g/ml}$)			
	Age (year)	B.W. (kg)			1 h		2 h	
					Caffeine	Paraxanthine	Caffeine	Paraxanthine
1	30	56.5	17	1 (T)	3.54 (4.04)	0.94 (1.22)	2.35 (2.85)	0.76 (0.99)
2	26	63.5	39	3 (T)	8.36 (8.86)	2.44 (3.17)	6.86 (7.36)	1.83 (2.38)
3	25	58.2	28	1 (C)	1.89 (2.39)	0.23 (0.30)	2.10 (2.60)	0.26 (0.34)
4	26	63.0	36	1 (C)	2.07 (2.57)	0.10 (0.13)	2.18 (2.68)	0.12 (0.15)
5	24	57.5	24	1 (C)	2.86 (3.36)	0.29 (0.38)	3.47 (3.97)	0.43 (0.56)
6	38	48.5	28	1 (T)	1.29 (1.79)	0.43 (0.56)	0.97 (1.47)	0.43 (0.56)

a) T, green tea; C, instant coffee. b) The saliva samples were obtained approximately 1 and 2 h after the oral administration of 1 or 3 cups of green tea or instant coffee. c) The values in parentheses were plasma concentrations calculated on the basis of the equations showed in Fig. 2.

チン/カフェインのモル濃度比との間の相関性に関しては、例数も少なく相関性も低い統計上は正の相関関係が認められた (Fig. 3).

妊婦の唾液中カフェイン、パラキサンチン濃度

Table II に緑茶、コーヒー飲用後の唾液中カフェイン、パラキサンチン濃度を示した。飲用1時間後でカフェイン濃度は $1.3 \mu\text{g/ml}$ 以上、なかには $8.4 \mu\text{g/ml}$ に達している例も観察された。

カフェイン含有飲料中のカフェイン量

Table III にカフェイン含有飲料中のカフェイン量を示した。調製方法、銘柄等によりカフェイン量は異なるが、1杯200mlとすると緑茶では約50mg、インスタントコーヒーで約88mg、ドリップ式コーヒーで約130mgのカフェインを含むものが多かった。

TABLE III. Caffeine Content in Caffeine-containing Beverages

Caffeine-beverages	w/v (%) ^{a)}	Caffeine content ^{b)} (mg/200 ml)
Green tea	1.0	35—68
Black tea	1.0	69—77
Instant cocoa	3.0	16
Instant café au lait	10.0	74—109
Instant coffee	1.0	65—111
Ground coffee	4.0	112—139
Can coffee	—	51—71
Cola	—	18

a) The values indicate the concentrations in the beverages which consumers prepared. b) The means of at least two determinations obtained from several brands were ranged in values indicated.

考 察

ヒトにおいて唾液中のカフェイン濃度と血漿中カフェイン濃度との間には有意な相関があり、カフェインの血漿中濃度に対する唾液中濃度の比は平均0.79であると報告されている。⁷⁾ 本実験においてもカフェインについて有意な相関があり、血漿中濃度に対する唾液中濃度の比は平均0.86であった。しかし、カフェイン服薬直後の唾液中濃度が血漿中濃度より高い値を示す点があり、これは経口投与後のカフェインが口腔内に残存していたことによると考えられるため、これらの点を除外すると、血漿中濃度に対する唾液中濃度の比は 0.79 ± 0.15 (mean $\pm$ S.D.) となり、先の報告⁷⁾ と一致した。

また、Khanna *et al.*⁸⁾ は無呼吸を呈する早産児に対するカフェイン、テオフィリン療法において、唾液中のカフェイン濃度より血清中のカフェイン濃度の推定が可能であることを示唆している。本実験においても同様の結果が得られ、カフェインの主要代謝産物であるパラキサンチンに関しても唾液中濃度と血漿中濃度との間には有意な相関を認めた。このことから、パラキサンチンに関してもカフェインと同様に、唾液中濃度より血漿中濃度を推定できる。

ヒトのカフェイン代謝では、その第一段階でテオフィリン、テオブロミン、パラキサンチン並びに 1,3,7-trimethyluric acid に変換される。⁹⁾ このなかでパラキサンチンは生成量が多いこと、テオブロミン、テオフィリンは緑茶、紅茶にも含まれていること、¹⁰⁾ パラキサンチンからカフェイン、テオフィリン、テオブロミンへの生体内変換のないことから、日常生活でカフェイン含有物から摂取したカフェインの代謝物はパラキサンチンであると言える。したがって、パラキサンチンの変動は生体でのカフェイン代謝能を反映していると考えられる。

代謝物の pharmacokinetics に関して、Tang-Liu *et al.*⁹⁾ は次式を提示している。

$$\frac{dA_M}{dt} = CL_{P \rightarrow M} \cdot C_P - CL_M \cdot C_M \quad (1)$$

ここで A_M は生体内の代謝物の生成量、 $CL_{P \rightarrow M}$ は前駆体から代謝物への変換クリアランス、 CL_M は代謝物のクリアランス、 C_P 並びに C_M は血漿中の前駆体、代謝物の濃度である。更に、前駆体から代謝物への変換率を f_M 、前駆体のクリアランスを CL_P とすると次式が成立する。

$$CL_{P \rightarrow M} = f_M \cdot CL_P \quad (2)$$

(2) 式を (1) 式に代入すると (3) 式が成立する。

$$\frac{dA_M}{dt} = f_M \cdot CL_P \cdot C_P - CL_M \cdot C_M \quad (3)$$

ここで $dA_M/dt=0$ である時は見かけ上、代謝物の生成量と消失量とは平衡状態となり次式が成立する。

$$CL_P = \frac{CL_M}{f_M} \cdot \frac{C_M}{C_P} \quad (4)$$

ここで CL_M と f_M の個体差が小さいとすれば、 CL_P と C_M/C_P とは比例関係にあることになる。本実験では、パラキサンチンはカフェイン服用 6—8 時間後でピークに達したが、この時点で平衡状態になっていることが考えられる。Fig. 3(B) に示したように、カフェイン服用 6 時間後のパラキサンチン/カフェインのモル濃度比とカフェインの血漿クリアランスとは正の相関関係があり、パラキサンチン/カフェインのモル濃度比からカフェインのクリアランスの概算が可能であることが示唆された。

妊娠時のカフェイン代謝は非妊娠時に比較して低下することが知られている。¹¹⁾ また、妊婦の唾液中のカフェイン濃度の経時変化の解析からもカフェイン代謝の低下が観察されている。^{12,13)} 妊娠ラットを使用した実験において、カフェインは容易に母体血を介して胎仔脳へ移行し、^{3,5)} 胎仔の脳発達に悪影響を与える。³⁾ この時の母体血漿中濃度は $1.5 \mu\text{g/ml}$ 以上である。⁴⁾ 本実験において得られた妊婦の唾液中濃度から血漿中カフェイン濃度を算定すると、 $1.5—8.9 \mu\text{g/ml}$ であり、(Table II), 単純に動物からヒトへの外そうには問題があるが、濃度的には近似した値である。

Weathersbee *et al.*²⁾ はカフェインによる流産の出現を 1 日カフェイン摂取量 600 mg 以上と定めているが、他方 Srisuphan *et al.*¹⁴⁾ は 150 mg 以上としている。この 150 mg は 1 日 2—3 杯程度の緑茶、コーヒー等から摂取可能な量である (Table III)。妊娠時にはカフェイン代謝が低下することも考慮すると、妊娠中のカフェイン摂取には注意がはらわれるべきである。

唾液の採取は、採血、採尿に比べ容易であり、本実験より唾液濃度から血漿中のカフェイン、パラキサンチンの推定が可能であることが示唆された。日常、カフェイン含有飲料を摂取している妊婦のカフェイン動態を把握する上で、唾液中のカフェイン、パラキサンチンの測定は有用かつ意義のあることと考えられる。

謝辞 本実験において、実験の目的を十分に理解、承諾していただき、実験に参加していただいた被験者の皆様に感謝いたします。また、本実験に被験者として参加していただき、ご指導を賜った疾病研究第二部 有馬正高部長（現、国立精神・神経センター、武蔵病院副院長）に深謝いたします。

尚、本研究は昭和 59—61 年度厚生省神経疾患研究委託費 No. 84-11, No. 85-07, No. 86-05 によって行われた。

引用文献

- 1) P. B. Dews (ed.), "Caffeine," Springer-Verlag, Berlin, 1984, pp. 77—150.

- 2) P. S. Weathersbee, L. K. Olsen, J. R. Lodge, *Postgrad. Med.*, **62**, 64 (1977).
- 3) H. Tanaka, K. Nakazawa, M. Arima, *Brain Dev.*, **5**, 397 (1983).
- 4) H. Tanaka, K. Nakazawa, M. Arima, *Biol. Neonate*, **51**, 332 (1987).
- 5) 中澤一治, 田中晴美, 薬誌, **105**, 848 (1985).
- 6) J. Axelrod, J. Reichenenthal, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **107**, 519 (1953).
- 7) E. Zylber-Katz, L. Granit, M. Levy, *Clin. Pharmacol. Ther.*, **36**, 133 (1984).
- 8) N. N. Khanna, H. S. Bada, S. M. Somani, *J. Pediatr.*, **96**, 494 (1980).
- 9) D. D. Tang-Liu, R. L. Williams, S. Riegelman, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **224**, 180 (1983).
- 10) 福原克治, 松木容彦, 南原利夫, 食衛誌, **26**, 208 (1985).
- 11) J. L. Brazier, J. Ritter, M. Berland, D. Khenfer, G. Faucon, *Dev. Pharmacol. Ther.*, **6**, 315 (1983).
- 12) R. Knutti, H. Rothweiler, Ch. Schlatter, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 121 (1981).
- 13) W. D. Parsons, J. G. Pelletier, *Can. Med. Assoc. J.*, **127**, 377 (1982).
- 14) W. Srisuphan, M. B. Bracken, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **154**, 14 (1986).