

19990827

平成11年度厚生科学研究費補助金

(健康科学総合研究事業)

# タバコ含有物質による健康増進に及ぼす影響に関する研究

平成11年度研究報告書

平成11年3月

主任研究者 佐竹元吉

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
総括研究報告書

たばこ含有物質による健康増進に及ぼす影響に爛する研究

主任研究者 佐竹 元吉 国立医薬品食品衛生研究所生薬部長

たばこに関連した疾病における医療費が増えている最近、たばこの害に関して社会的に感心が持たれている。たばこの煙には3,000種類以上の成分が含有されていると言われているが明確ではないのでそれらを明らかにする目的でたばこの主流煙の成分検討を行った。その結果、新規化合物を単離され、またいくつかの化合物がたばこの煙からは始めて単離された。副流煙および吐出煙による室内汚染については測定した結果、浮遊粒子状と二酸化炭素がビル管理法の基準を超え、さらに多環芳香族炭化水素などの発癌性物質が検出された。また、市販されているたばこからは保留性、保湿効果を促進する isopropylidene glycol を先頭に高等植物に多く含まれている polyphenol 系化合物が単離された。

分担研究者

佐竹元吉 国立医薬品食品衛生研究所  
生薬部長

松村年郎 国立医薬品食品衛生研究所  
環境衛生化学部室長

山田 隆 国立医薬品食品衛生研究所  
食品添加物部長

#### A. 研究目的

最近、WHO のたばこに対する取り組みに基づき国内のたばこ製品についても検討が要求されている。また、女性の喫煙者の増加や喫煙の初心年齢の低下などたばこに対する消費、または、認識の変化が見られる。長期間にわたって喫煙することが、健康に有害であることは多く報告されているが、喫煙をしない人においても、いわゆる着火端から立ち昇る煙である副流煙による健康被害を懸念されている。このような背景より、たばこの害に

対して社会的に関心が持たれ、特にたばこの煙中の化学成分に対する関心が高まっている。たばこの煙の成分研究は主に 1960 年代、70 年代に GC (Gas Chromatography) または GC-Mass を用い旺盛に行い、1988 年 D.L.Roberts によってたばこの煙には 3,796 種類の物質が含まれていると整理されたが、その詳細は明確ではなく、さらに現在知られている化合物についても詳しいデータが存在しない。平成 10 年の報告書も GC-Mass を用い行った推定成分を報告したが、

それをもっと詳しく煙を分け、各種分光機器を用いた主流煙の成分分析や副流煙および吐出煙による室内汚染、また喫煙前のたばこの製品の成分分析を行った。

## B. 研究方法

### 1. たばこの主流煙に含有される成分分析

ハンブルク II タイプ装置によりガラスフィルターにたばこの主流煙を捕集し、補集したフィルターをメタノールで3回抽出した。得られたメタノールエキスをクロロフォルム、*n*-ブタノールおよび水で順次分配を行った後、シリカゲルおよび ODS カラムクロマトグラフィーを用い分離・精製した結果、ニコチンを始めとする 24 種類の化合物が単離された。これらの化合物については各種分光機器を用い、構造決定をした。

### 2. 室内空気汚染に及ぼす喫煙の影響

床面積 14m<sup>2</sup>(約 8 畳)、容積 33m<sup>3</sup>、換気回数は 0.5 回/hr のワンルームマンションをモデルハウスとして実験に用いた。喫煙条件としては、第 1 日目から 3 日目までは自然換気の状態で喫煙実験を行い、1 日 1 銘柄、タバコの種類を変えながら喫煙した。喫煙条件は一般的に考えられる条件を想定し、以下のような条件を設定した。実験は喫煙者 3 人に 1 時間に計 6 本(11:0-11:10 に 3 本、11:30-11:40 に 3 本)喫煙してもらった。

第 4 日目は換気扇を稼働しながら喫煙実験を行った。喫煙はフィルターの先端約 1cm まで喫煙した。具体的には第 1 日目がタール 1mg(ニコチン 0.1mg)、第 2 日目がタール 6mg(ニコチン 0.5mg)、第 3 日目がタール 24mg(ニコチン 2.4mg)のタバコを喫煙した。

第 4 日目は換気扇を稼働しながらタール 1mg(ニコチン 0.1mg)のタバコを喫煙した。測定物質は一酸化炭素(CO)、二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>, NO, NO<sub>2</sub>)、浮遊粒子状物質(Dust PM10)、浮遊粒子個数(Dust >5 μm, Dust <0.5 μm)、ホルムアルデヒド(HCHO)、多環芳香族炭化水素類(PAHs)。気象要素として温度、湿度を測定対象とした。

### 3. たばこの葉の添加物の分析

たばこの葉 156g を hexane, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt, acetone, MeOH, H<sub>2</sub>O (各 500 ml)で順次室温で冷浸し、溶媒を留去して hexane ext. (3.4g), CHCl<sub>3</sub> ext. (5.5g), AcOEt ext. (1.9g), acetone ext. (0.9g), MeOH ext. (28.0g), H<sub>2</sub>O ext. (23.1g)を得た。Hexane ext. をシリカゲルカラムクロマト(hexane:AcOEt)に付し、化合物を得た。また、H<sub>2</sub>O ext. は、更に BuOH 及び H<sub>2</sub>O で分配し、溶媒を留去して BuOH ext. (3.0g)を得た。BuOH ext. を HP-20 及び ODS を担体とするカラムに付し、分画を繰り返し化合物を得た。また、MeOH ext. は、Prep. HPLC に付し、化合物を得た。

## C. 研究結果

### 1. たばこの主流煙に含有される成分分析

各種スペクトルデータを用い、アルカロイド、テルペン、配糖体、クマリン、および添加物など 24 種類を単離し、構造決定した。これらの内、Cigatin A および B と命名した 2 種類は新規化合物である。Cigatin A は FAB mass スペクトルにおいて、分子量 204 (M+H)<sup>+</sup> のイオンピークから N が存在していると推測し、FAB-high mass スペクトルデータより分子式 C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N と決定した。また、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルでピリジン骨格を有する 8-9 ppm

間のシグナルおよび 7 ppm 付近でベンゼン環を示唆するシグナルが観測された。さらに、 $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルの 150 ppm 付近での 4 級炭素の存在が確認され、oxyl- 基または水酸基の存在が予想された。一方、HMBC (heteronucle multi -bond correlation) 並びに HMQC (heteronucle multi quatumu correlation) の相関によりプロトンとカーボンをそれぞれ帰属した。また、水酸基の確認のため無水酢酸およびピリジンをういアセチル化を誘導し、 $^1\text{H}$ -NMR や ACPI MS により 2 つのアセチル基を確認することができ、最終的に二つの水酸基の存在を明らかにした。

次に、Cigatin B は FAB mass により分子量 218 (M+H)<sup>+</sup> のイオンピークが観察され、FAB-high mass には分子式  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}$  が示された。また、Cigatin A の  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ -NMR データと比較すると、メチル基の存在を除いて、ほぼ一致した。そのメチル基は HMBC によりピリジン骨格の C-4 に結合していると決定した。その他の化合物は NMR スペクトルおよび GC-MS により同定した。これらの中、6 つはたばこ煙からは始めて同定された化合物であった。

## 2. 室内空気汚染に及ぼす喫煙の影響

$\text{O}_2$  及び Dust (PM10) の最高値は 1632 ppm 及び  $3635 \mu\text{g}/\text{m}^3$  でビル管理法の基準 ( $\text{CO}_2$  1000 ppm, PM10  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) を超えていた。一方、 $\text{NO}_2$  (大気環境基準 0.06 ppm) 及び CO (ビル管理法基準 10 ppm) は基準以下であった。HCHO は最高値で 0.212 ppm、非喫煙時の平均値で 0.178 ppm を示したことからこの部屋の場合、喫煙よりも建物それ自体からの放散量が高いものと思われる。また、Dust 濃度、特に、Dust (<0.5  $\mu\text{m}$ ) の微細粒

子は喫煙時に約 24 万個と高い値を示していた。また、単純に自然換気時と換気扇使用時の汚染物質濃度を比較すると、換気扇使用時は各物質とも減少(34-99%)しており換気扇の使用効果は大きい。一方、PAHs 濃度は喫煙時に高く、Benzo(ghi)perylene が  $5.5 \text{ ng}/\text{m}^3$ 、Benzo(a)pyrene が  $3.2 \text{ ng}/\text{m}^3$ 、Benz(a)anthracene が  $2.1 \text{ ng}/\text{m}^3$  で他の PAHs に比較し高い値を示していた。バックグラウンドは各物質とも微量ではあるが検出(0.02-0.28  $\text{ ng}/\text{m}^3$  の範囲)されていた。測定期間中の温度は 27-32°C、湿度は 50%程度であった。CO<sub>2</sub> 濃度はタール 1 mg(ニコチン 0.1 mg)、

## 3. たばこの葉の添加物の分析

市販たばこ(ピース)の葉を hexane,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt, acetone, MeOH 及び  $\text{H}_2\text{O}$  で順次抽出し、hexane,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt 及び acetone 抽出物について GC/MS によって検討した。その結果、得られた GC/MS クロマトグラムは、良好な分離を示し、多数のピークが検出された(Fig. 1)。各ピークについて、NIST パブリックライブラリ (NIST62, NIST12) を用い、類似度約 85 以上を検索し、更に、それぞれのマスフラグメントスペクトルより確認した。Hexane ext. は、nicotine をはじめ、多数のピークが観察され、isomenthol, vanillin の香料成分、及び nicotin N<sup>1</sup>-oxide, cotinine の含窒素化合物、carotenoide 分解物等が検出された。また、長鎖カルボン酸、エステル、長鎖炭化水素類などが検出され、また、nicotine の次に含有量の高いピーク 8 についてはシリカゲルクロマトに付し、精製してその構造について NMR により検討した。その結果、たばこ特有のジテルペン炭化水素 neophentadiene と確定した。これは、喫煙時に高率で煙中に移行することが知られてい

る。<sup>5,6)</sup> 次に、CHCl<sub>3</sub> ext. からは、nicotine と neopentadiene の他に微量の scopoletin 及び vitamin E が検出された。また、AcOEt ext. 及び acetone ext. からは、glycerol, isopropylidene glycol 等の香料の保留性、保湿効果の促進を目的としてたばこ製品に加えられたと考えられる化合物を検出した。

また、高極性成分として、MeOH ext. を UV 210, 254, 280 nm を検出波長とした分取 HPLC に付し分画を繰り返し、各種 NMR により、scopoletin を aglycone とする配糖体の scopolin (scopoletin 7-O-β-glucoside) と flavonol 配糖体の rutin (quercetin-3-O-β-rutinoside) と同定した。また、H<sub>2</sub>O ext. については、BuOH 及び H<sub>2</sub>O で分配し、BuOH ext. より caffeic acid を得た。

#### D. 考察

たばこの主流煙には多くの化合物が含有され、それらは燃焼により熱分解および熱合成の反応が起きる。今回単離された Cigatin A と B はその反応によるものと考えられた。また、二つの sesquiterpenoid はたばこ煙からは始めて同定され、タバコの葉からも単離された。このようにたばこの煙には葉からの成分がそのまま移動する場合や燃焼により熱分解または熱合成などが起きることも確認された。今後、この Cigatin A と B の生物的作用についてさらに研究を進めようと思っている。約 8 畳のワンルームマンション内で喫煙者 3 人が 1 時間に計 6 本喫煙、ごくありふれた条件下で喫煙実験を行った。その結果、CO<sub>2</sub> と浮遊粒子状物質 (PM10) がビル管理法の基準 (CO<sub>2</sub> 1000ppm, Dust 150 μg/m<sup>3</sup>) を超えており、CO (ビル管理法 10ppm) や NO<sub>2</sub> (大気環境基準 0.06ppm) は基準以下であった。また、Dust (PM10) の経時変化をみると、自

然換気の場合、実験開始後 5 時間経過してもビル管理法の基準 (どの銘柄を喫煙しても) を超えていた。一方、換気扇稼働の場合は 1 時間後に 30 μg/m<sup>3</sup> 以下にまで低下し基準を満たしていた。このことから、約 8 畳の部屋で 1 時間に 6 本程度の喫煙では Dust (PM10) についてのみ注意が必要と思われる。その低減対策としてはキッチンに設置してある換気扇を 1 時間程度稼働すれば Dust (PM10) についても基準を満たすことが判った。

喫煙時における NO<sub>2</sub>/NO<sub>x</sub> 比をみると、タール 1mg 喫煙時は平均 (11-15 時) で 16.4%、タール 6mg 時で 36.3%、タール 24mg 時で 13.4%、3 者平均で 22% を示し、大気中の NO<sub>2</sub>/NO<sub>x</sub> 比に比較し低く、喫煙時は NO<sub>2</sub> の発生量が低いことを示している。因みに大気中の NO<sub>2</sub>/NO<sub>x</sub> 比は東京都内霞ヶ関の自動車排出局で 45% 程度を示している。なお、換気扇稼働時 (タール 1mg 喫煙時) は外気が室内に導入されるので NO<sub>2</sub>/NO<sub>x</sub> 比は 38.2% と高くなっている。

これは前述したように実験住宅の近くに高速道路があり、大気中の NO<sub>2</sub> が高かったものと思われる。

PAHs 濃度はタール 6mg、タール 24mg のタバコ喫煙時に高い傾向を示し、特に、BghiP はタール 6mg の時に 5.5 ng/m<sup>3</sup> を示していた。また、換気扇稼働時が他に比較し高い傾向を示していた。原因は明確でないが大気汚染の室内侵入とも考えられる。次に、喫煙時における各汚染物質の経時変化について考察する。11 時に喫煙を開始し、自然換気で 16 時まで放置した時、すなわち、5 時間後に各物質がどの程度減少するのか、タール 24mg のタバコ喫煙時について検討した。その結果、CO は 62%、CO<sub>2</sub> は 47%、NO は 70%、NO<sub>2</sub> は

0%, Dust(<0.5  $\mu\text{m}$ )は 99%, Dust(>5  $\mu\text{m}$ )は 50%, Dust(PM10)は 92%, HCHO は 0%であった。HCHO の場合、建材等からの HCHO 放散量と自然換気によって排出される HCHO 量が平衡状態になり、事実上、自然換気による減少が起きていないことになる。

GC/MS により、市販たばこの葉の低～中極性成分として合計 23 種の化合物を同定した。これらは、比較的揮発性が高く、喫煙時にはその殆どが、熱分解や熱合成されることなくそのままの形で煙中に含有されると考えられる。Novotny らは、たばこの煙中の中性化合物について GC/MS で分析を行っているが、我々が得た GC クロマトグラムは、彼らの得たものとほぼ同様のパターンを示し、このことから、低～中極性成分は、喫煙時に煙中に速やかに移行することが示唆された。また、低～中極性成分が含有される hexane ext.,  $\text{CHCl}_3$  ext., AcOEt ext., acetone ext. の和が 11.7g であるのに対して、高極性成分が含有される MeOH ext.,  $\text{H}_2\text{O}$  ext. の和は、51.3g と 5 倍近く多いことから、たばこの葉は非常に多くの高極性化合物から構成されていることが予想され、たばこの煙中には、これらが熱分解あるいは熱合成されて生成した化合物も多く含有されると考えられる。従って、高極性成分として今回 2 種の配糖体を含む 3 種の化合物を同定したが、今後更にたばこの葉の高極性成分を単離・精製し、NMR 等により構造決定を行わなければならない。

## E. 結論

たばこの煙には数千種類の含有物が存在すると言われているがそれらの化学構造は明らかではなく、GC および GC-Mass により検出したピークの数あるいはライブラリーで比較

したものであった。そこでこれらの個々の化合物の物性を明らかにするために、分離・精製を行い 各種分光機器を用いそれらの化合物の構造を決定した。今回単離された化合物は大きく Phenol 系、Indol 骨格を有する化合物、および Sesquiterpenoid など一定した化合物が単離された。また、これは微量成分である。一方、ニコチンと同じくピリジン骨格を有する Cigatin A および Cigatin B が新規化合物として単離された。その他、6 種類の化合物がたばこの煙から始めて単離された。Cigatin A および Cigatin B の P388 に対する毒性はニコチンと同じく緩和な毒性を示した。今後、Cigatin A および Cigatin B の他の生理作用について検討を行う予定である。約 8 畳のワンルームマンション(換気回数 0.5 回/hr)でタール含量の多いタバコ(24mg)を 1 時間に 6 本喫煙した場合、Dust(PM10)がビル管理法の基準(150  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )の 20 倍以上の高濃度を示したが、CO や  $\text{NO}_2$  濃度はビル管理法や大気環境基準以下であり、6 本/hr 程度の喫煙では Dust(PM10)以外はそれほど問題となる濃度ではなかった。一方、PAHs についてみると、BaP が 3.2ng/ $\text{m}^3$ , BghiP が 3ng/ $\text{m}^3$ , BaA が 2.1ng/ $\text{m}^3$  が検出されており、大気環境濃度よりは若干高い傾向を示していた。さらに換気扇の低減効果は大きく、喫煙後 1 時間で Dust(PM10)濃度は 95%以上減少した。その他、CO,  $\text{CO}_2$ , NO, Dust(>5  $\mu\text{m}$ ), Dust(<0.5  $\mu\text{m}$ )等についても 40-70%程度の低減効果が認められた。但し、 $\text{NO}_2$  は喫煙によって殆ど発生しないので、むしろ換気扇を稼動することにより外気が室内に取り込まれ外気汚染の影響(外気  $\text{NO}_2$  濃度が高い場合)を受けて室内濃度が上昇することが判明した。最後に、たばこの葉からは低～中極性

成分として合計 23 種の化合物を同定した。これらは、比較的揮発性が高く、喫煙時にはその殆どが、熱分解や熱合成されることなくそのままの形で煙中に含有されることが考えられる。

## **F. 研究発表**

### 1. 論文発表

Chem.Pharm.Bull. submitted.

### 2. 学会発表

日本薬学会第 120 回年会（岐阜），講演要旨集，p.208 (1999)

## **G. 知的所有権の取得状況**

なし

厚生科学研究費補助金（特別研究事業）  
分担研究報告書

たばこ含有物質が健康増進に及ぼす影響に関する研究  
たばこの主流煙に含有される成分の分析

分担研究者 佐竹元吉 国立医薬品食品衛生研究所生薬部部長

たばこの煙には数千種類の含有物質が存在するといわれているがそれらの化学構造は明らかではなく、GC および GC-MASS により検出したピークの数あるいはライブラリーで比較したものであった。そこでこれらの個々の化合物の物性を明らかにするために 1999 年 4 月からたばこの煙の抽出物を分離・精製を行い各種分光機器を用いそれらの化合物の構造を決定した。その結果ニコチンと同じくピリジン骨格を有する Cigatin A および Cigatin B が新規化合物として単離された。その他、6 種類の化合物がたばこの煙から始めて単離された。

#### A. 研究目的

最近、WHO のたばこに対する取り組みに基づき、国内のたばこ製品についても検討が要求されている。たばこの煙の成分研究は主に GC (Gas Chromatography) または GC-Mass によるもので、たばこの煙には 3,000 種類以上の物質が含まれていると言われているが、その詳細は明確ではなく、さらに現在知られている化合物についても詳しいデータが存在しない。そこで、たばこの煙の成分を明らかにする目的で補集したたばこの主流煙について検討を行い、現在までに報告されていないたばこの主流煙の含有物質および新規化合物を単離・構造決定したので報告する

#### B. 研究方法

##### 1. 分離・精製

ハンブルク II タイプ装置によりガラスフィルターにたばこの主流煙を捕集し、補集したフィルターをメタノールで 3 回抽

出した。得られたメタノールエキスをクロロフォルム、n-ブタノールおよび水で順次分配を行った後、シリカゲルおよび ODS カラムクロマトグラフィーを用い分離・精製した結果、ニコチンを始めとする 24 種類の化合物が単離された。(Chart.1) これらの化合物については各種分光機器を用い、構造決定をした。

##### 2. 分光機器

FABMS / HRFABMS ; JEOL JMS-SX 102 spectrometer.

UV / IR spectra ; Hitachi U-2000 spectrophotometer / JASCO IR-5300 spectrophotometer

NMR spectra ; JEOL JNM-alpha (500 MHz) with acetone- $d_6$  and methanol- $d_4$  as the solvents. H-NMR および  $^{13}\text{C}$ -NMR の内部標準物質として TMS を使用。

Shimadzu GC/MS-5050A の条件 ; column; CBP-20 (0.25 mm i.d. × 25 m, Shimadzu), inj. temp.; 240°C, column



temp., 50 °C → 2.0 °C /min → 240 °C :  
carrier gas, He 1.4 ml/min: detect.  
temp., 250°C: ionization voltage, 70 eV:  
acceleration voltage, 1.0 kV.

Column chromatography ; silica gel  
60 (Art. 7734; Merck) および ODS (Fuji  
Silysia Chemical LTD.).

TLC ; pre-coated silica gel 60 F<sub>254</sub>  
plates (Art.5715; Merck).

Prep. HPLC ; a JASCO HPLC  
system

Prep. HPLC column の条件, Inertsil  
ODS (20 mm i. d. × 250 mm): mobile  
phase, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (15:85): flow rate,  
6ml/min: detection, UV at 254 nm.

### C. 研究結果

各種スペクトルデータを用い、アルカロイド、テルペン、配糖体、クマリン、および添加物など 24 種類を単離し、構造決定した。これらの内、Cigatin A (1) および B (2) と命名した 2 種類は新規化合物である。Cigatin A (1) は FAB mass スペクトルにおいて、分子量 204 (M+H)<sup>+</sup> のイオンピークから N が存在していると推測し、FAB-high mass スペクトルデータより分子式 C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N と決定した。また、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルでピリジン骨格を有する 8-9 ppm 間のシグナルおよび 7 ppm 付近でベンゼン環を示唆するシグナルが観測された。さらに、<sup>13</sup>C-NMR スペクトルの 150 ppm 付近での 4 級炭素の存在が確認され、oxyl- 基または水酸基の存在が予想された。一方、HMBC (heteronuclear multi -bond correlation) 並びに HMQC (heteronuclear multi quatumn correlation)の相関によりプロトンとカーボンをそれぞれ帰属した。また、水酸基の確認のため無水酢酸およびピリジンを用いアセチル化を誘導し、<sup>1</sup>H-NMR や

ACPI MS により 2つのアセチル基を確認することができ、最終的に二つの水酸基の存在を明らかにした。

次に、Cigatin B (2) は FAB mass により分子量 218 (M+H)<sup>+</sup> のイオンピークが観察され、FAB-high mass には分子式 C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>N が示された。また、Cigatin A (1) の <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR データと比較すると、メチル基の存在を除いて、ほぼ一致した。そのメチル基は HMBC によりピリジン骨格の C-4 に結合していると決定した。(Fig.1,2) これらのデータは表 1. に示した。

その他の化合物は NMR スペクトルおよび GC-MS により同定した。これらの中、**3**, **7,8,19** および **23** はたばこ煙からは始めて同定された。後者二つはタバコの葉からも単離された。(Fig .3)

### D. 考察

たばこの煙の成分研究は主に 1960 年代、70 年代にGC (Gas Chromatography) または GC-Mass を用い旺盛に行い、1988 年 D.L.Roberts によってたばこの煙には 3,796 種類の物質が含まれている (Table.2)と整理されたが、その詳細は明確ではなく、さらに現在知られている化合物についても詳しいデータが存在しない。(Table.3) 平成 10 年の報告書も GC-Mass を用い行った推定成分を報告したが、それをもっと詳しく煙を分け、各種分光機器を用いて主流煙の成分分析を行った。たばこの主流煙には多くの化合物が含有され、それらは燃焼により熱分解および熱合成の反応が起きる。今回単離された Cigatin A と B はその反応によるものと考えられた。また、二つの sesquiterpenoid はたばこ煙からは始めて同定され、タバコの葉からも単離された。このようにたばこの煙には葉からの成分がそのまま移動する場合や燃焼により熱

分解または熱合成などが起きることも確認された。今後、この Cigatin A と B の生物的作用についてさらに研究を進めようと思っている。

#### E. 結論

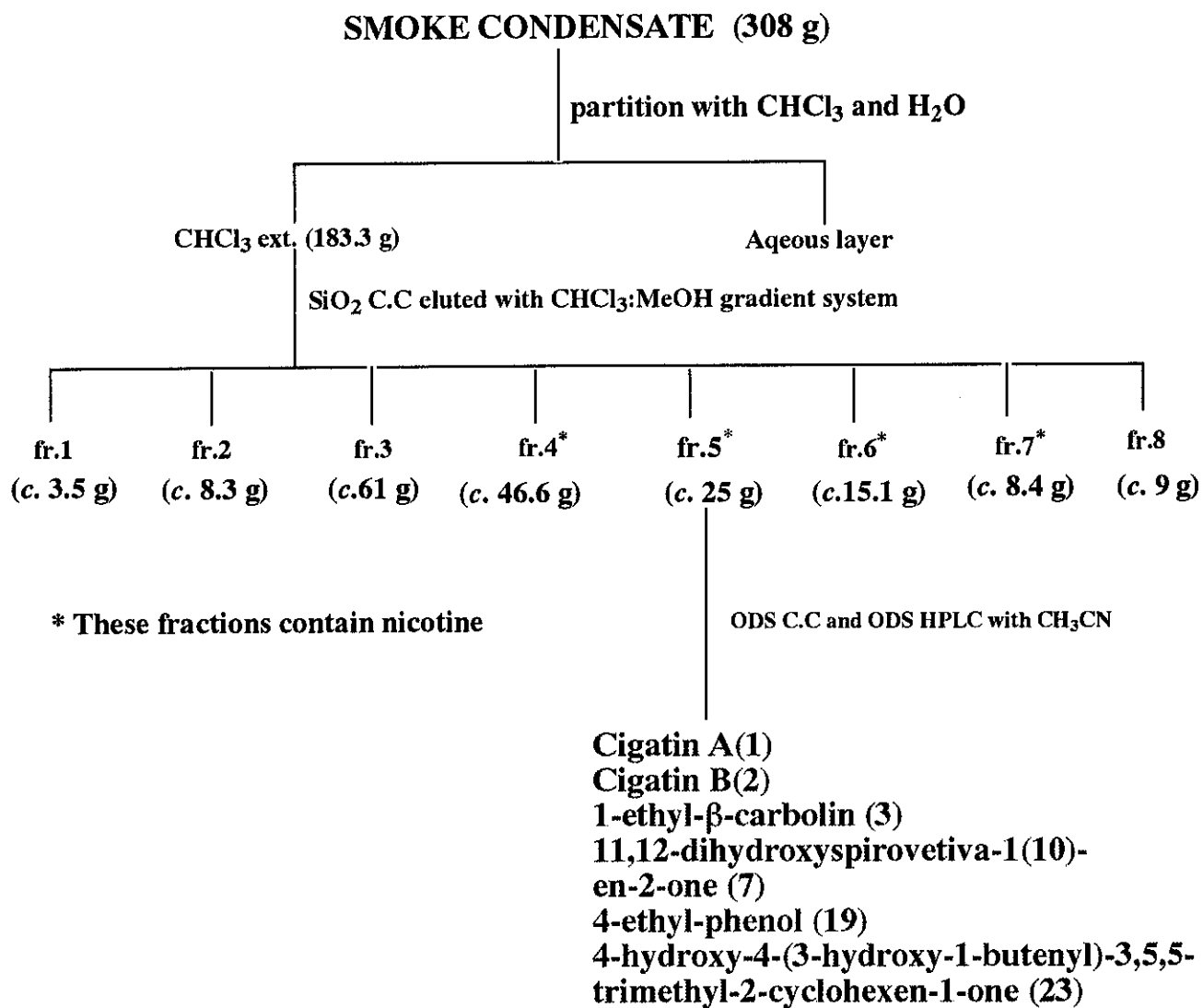
今回単離された化合物は大きく Phenol 系、Indol 骨格を有する化合物、および Sesquiterpenoid など一定した化合物が単離された。また、これは微量成分である。一方、ニコチンと同じくピリジン骨格を有する Cigatin A および Cigatin B が新規化合物として単離された。その他、6 種類の化合物がたばこの煙から始めて単離された。Cigatin A および Cigatin B の P388 に対する毒性はニコチンと同じく緩和な毒性を示した。今後、Cigatin A および Cigatin B の他の生理作用について検討を行う予定である。

#### F. 研究発表

1. 日本薬学会第 120 回年会（岐阜），講演要旨集，
2. Chem.Pharm.Bull. submitted.
3. たばこ白書. 1999.

#### G. 知的所有権の取得状況

なし。



**Chart.1. The separation and purification of compounds from tobacco mainstream**

Cigtin A (1) : Yellowish plates

$m/z$ ; 204 (M+H)<sup>+</sup> [Found;(M+H)<sup>+</sup> 204.0652,  
for C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N, requires; 204.0661]

IR  $\nu_{\max}$  (KBr)cm<sup>-1</sup>; 3190 (OH), 1670 and  
1580 (C=C)

UV  $\lambda_{\max}$  (in MeOH); 333 ( $\epsilon$  5,530), 216  
( $\epsilon$  25,673).

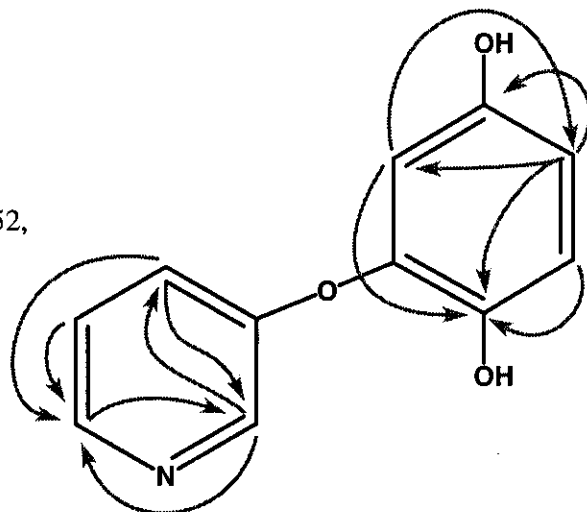


Fig.1. Structure of Cigtin A. Arrows showed some important HMBC correlations

Cigtin B (2) : Yellowish plates

$m/z$ ; 218 (M+H)<sup>+</sup> [Found;(M+H)<sup>+</sup> 218.0824,  
for C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>N, requires; 218.0817]

IR  $\nu_{\max}$  (KBr)cm<sup>-1</sup>; 3190 (OH), 1640 and  
1580 (C=C)

UV  $\lambda_{\max}$  (in MeOH); 328 ( $\epsilon$  2,782), 220  
( $\epsilon$  10,695).

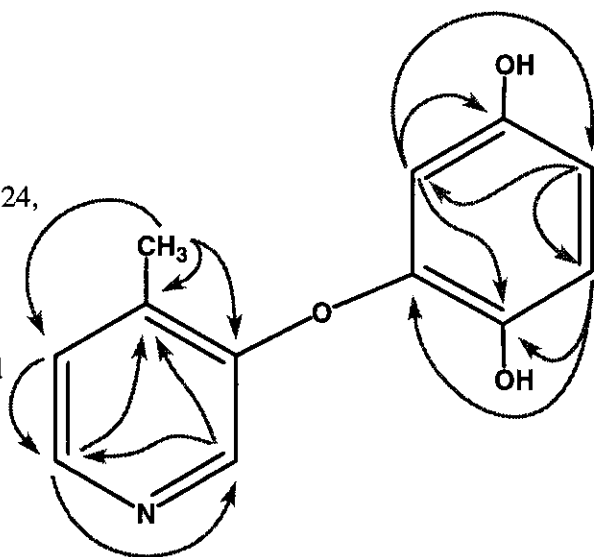
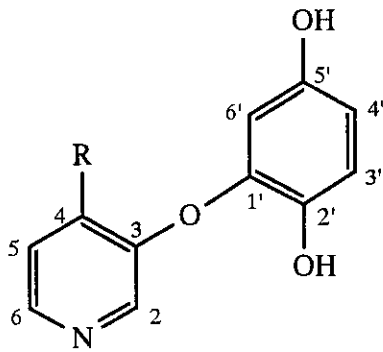


Fig.2. Structure of Cigtin B. Arrows showed some important HMBC correlations

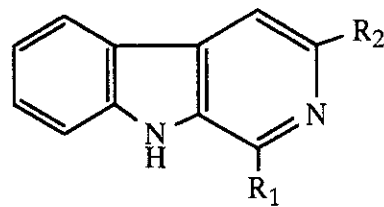
Table 1. <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR Assignments of the Cigatin A (**1**) and B (**2**) in Acetone-*d*<sub>6</sub>

Position	<b>1</b>		<b>2</b>	
	$\delta$ <sup>1</sup> H (int,mul, J(Hz))	$\delta$ <sup>13</sup> C	$\delta$ <sup>1</sup> H (int,mul, J(Hz))	$\delta$ <sup>13</sup> C
2	8.76(1H, s)	135.5	9.04 (1H, d, 1.3)	132.8
3		159.6		157.6
4	8.22(1H, d, 7.9)	133.6		147.3
5	8.06 (1H, dd, 7.9, 5.4)	128.8	7.95 (1H, d, 5.9)	128.8
6	8.49 (1H, d, 5.4)	137.0	8.40 (1H, dd, 1.3, 5.9)	130.6
1'		131.4		131.4
2'		143.7		143.7
3'	7.11 (1H, d, 8.7)	119.3	7.11 (1H, d, 8.8)	119.5
4'	6.98 (1H, d, 8.7)	120.2	6.97 (1H, dd, 2.5, 8.8)	120.0
5'		151.7		151.8
6'	7.12 (1H, s)	113.2	7.12 (1H, d, 2.5)	113.3
4-Me			2.16 (6H, s)	16.6



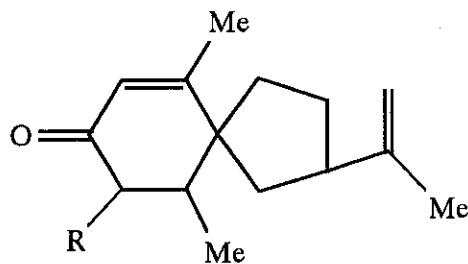
- (1) Cigatin A, R=H  
 (2) Cigatin B, R=CH<sub>3</sub>

→ New Compounds

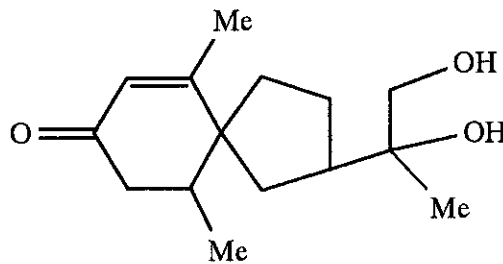


- (3) R<sub>1</sub>=CH<sub>2</sub>CH, R<sub>2</sub>=H

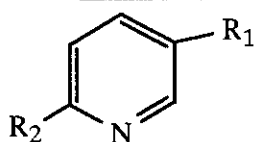
- (4) R<sub>1</sub>=CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=H  
 (5) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H  
 (6) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>



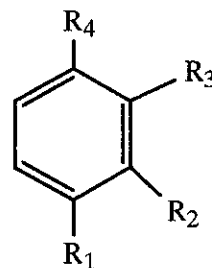
- (7) R=H  
 (8) R=Glc



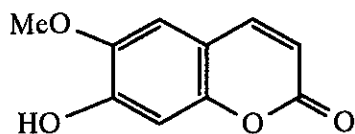
(9)



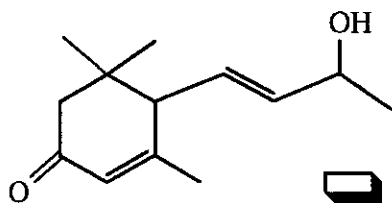
- (10) R<sub>1</sub>=carboxamide, N-methyl, R<sub>2</sub>=H  
 (11) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H  
 (12) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=CH<sub>3</sub>



- (13) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH, R<sub>4</sub>=OH  
 (14) R<sub>1</sub>=CHO, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=OH, R<sub>4</sub>=OCH<sub>3</sub>  
 (15) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=-Acetyl, R<sub>4</sub>=OH  
 (16) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=-propenamide, R<sub>4</sub>=H  
 (17) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=-Acetyl, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=OH  
 (18) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=COOH  
 (19) R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=H, R<sub>4</sub>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH  
 (20) R<sub>1</sub>=H, R<sub>2</sub>=H, R<sub>3</sub>=CH<sub>2</sub>OH, R<sub>4</sub>=OCH<sub>3</sub>

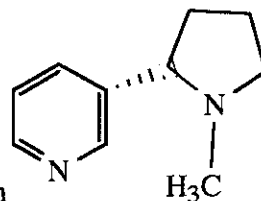


(22)



(23)

These indicate compounds which are isolated from tobacco smoke for the first time



(24)

Fig.3. The structures of compounds from cigarette mainstream

**Table. 2 Compounds identified in tobacco and smoke**

Fuctional Groups	No. in Tobacco	No. in Smoke	No.in Tobacco and Smoke
Carboxylic acid	450	69	140
Amino acid	95	18	16
Lactones	129	135	39
Ester	529	456	314
Amines & Immines	205	227	32
Anhydrides	10	10	4
Aldehydes	111	106	148
Carbohydrates	138	30	12
Nitriles	4	101	4
Ketones	348	461	122
Alcohols	334	157	69
Phenols	58	188	40
Amines	65	150	37
Sulfur Compouds	3	37	2
N-heterocycles;			
Pyridines	63	324	46
Pyrroles & Indoles	9	88	3
Pyrazines	21	55	18
Non-aromatics	13	43	7
Polycyclic aromatics	36	0	
Others	4	50	2
Ethers	53	88	15
Hydrocarbons;			
Saturated Aliphatics	58	113	44
UnsaturatedAliphatics	338	178	10
Monocyclic Aliphatics	33	138	25
Polycyclic Aliphatics	55	17	35
Miscellaneous	112	110	19
Inorganics & Metals	105	111	69
Total	3,379	3,460	1,272

Source: D.L.Roberts,1988

表 3. たばこ煙に含まれている成分

1,2,3-Trimethylbenzene	1-Ethylindole	11H-Naphthol[2,1-a]fluorene
1,2,3-Trimethylindole	1-Heneicosanol	12 $\alpha$ -Hydroxy-13-epimaronyl oxide
1,2,4-Trimethylbenzene	1-Heptadecanol	16,17-Dihydro-15H-cycloper[ <i>a</i> ]phenanthrene
1,2,5,6-Tetrahydropyridine	1-Hexene	2,3,5-Trimethylphenol
1,2-Butadiene	1-indanone	2,3,6-Trimethyl-1,4-naphthoquinone
1,2-Dimethylindole	1-Methyl-1-cyclopentene	2,3-Butadiene
1,2-Pentadiene	1-Methyl-4-isopropyl-1-cyclohexene	2,3-Dimethyl-1-butene
1,3,5-Trimethylbenzene	1-Methylcarbazole	2,3-Dimethyl-2-cyclopentene-1-one
1,3,6-Trimethylnaphthalene	1-Methylfluorene	2,3-Dimethyl-2-cyclopentenone
1,3-Butadiene	1-Methylindole	2,3-Dimethylamine
1,3-Cyclopentadiene	1-Methylnaphthalene	2,3-Dimethylaniline
1,3-Dimethylindole	1-Methylphenanthrene	2,3-Dimethylbenzotrile
1,3-Pentadiene	1-Methylpyrene	2,3-Dimethylindole
1,4,3,6-Dianhydroglucopyranose	1-Naphthol	2,3-Dimethylpiperidine
1,4-Dimethylindole	1-Naphthylamine	2,3-Dimethylpyrazine
1,4-Pentadiene	1-Naphtonitrile	2,3-Dimethylpyridine
1,5-Dimethylindole	1-Nitro-n-butane	2,3-Lutidine
1,6-Dimethylindole	1-Nitro-n-pentane	2,3-Pentadione
1,6-Dimethylnaphthalene	1-Nitropropane	2,3-Xylenol
1,7-Dimethylindole	1-Nonadecanol	2,4,6-Trimethylaniline
1,8,9-Perinaphthoxanthene	1-Octadecanol	2,4,6-Trimethylphenol
1,8-Dimethylnaphthalene	1-Pentene	2,4,6-Trimethylpyridine
1,9-Dimethylcarbazole	1-Tetracosanol	2,4-Dimethyl-3-pentanone
1-Butene	1-Tricosanol	2,4-Dimethyl-4-vinylcyclohexene
1-Butyne	10,11-Dihydro-9H-benzol[ <i>a</i> ]cyclopent[ <i>a</i> ]anthracene	2,4-Dimethyl-5-isopropylpyridine
1-Decene	11-Methyl-11H-benzol[ <i>a</i> ]fluorene	2,4-Dimethylaniline
1-Docosanol	11H-Benzol[ <i>a</i> ]fluorene	2,4-Dimethylpiperidine
1-Eicosanol	11H-Benzol[ <i>b</i> ]fluorene	



2,4-Dimethylpyridine	2-Acetylpyrrole	2-Methyl-5-acetylpyridine
2,4-Lutidine	2-Butanone	2-Methyl-5-isopropylpyridine
2,4-Pentadien-4-olide	2-Butene	2-Methyl-6-ethylpyrazine
2,4-Xylenol	2-Carbomethoxypyrrole	2-Methylanthracene
2,5-Diethylpyrazine	2-Chloraniline#	2-Methylbutylamine
2,5-Dimethylamine	2-Cyclopentenone	2-Methylbutyraldehyde
2,5-Dimethylaniline	2-Ethyl-3-methyl-2-cyclopentene-1-one	2-Methylcarbazole
2,5-Dimethylbenzotrile	2-Ethyl-5-methylpyrazine	2-Methylindole
2,5-Dimethylfuran	2-Ethylaniline	2-Methylnaphthalene
2,5-Dimethylphenanthrene	2-Ethylbenzotrile	2-Methylpropene
2,5-Dimethylpyrazine	2-Ethylphenol	2-Methylpyrazine
2,5-Dimethylpyridine	2-Ethylpiperidine	2-Methylpyrene
2,5-Xylenol	2-Ethylpyrrolidine	2-Methylpyridine
2,6-Diethylpyrazine	2-Formylpyrrole	2-Methylpyrrolidine
2,6-Dimethoxyphenol	2-Fororic acid	2-Methylvaleraldehyde
2,6-Dimethylamine	2-Furoic acid	2-Naphthol
2,6-Dimethylaniline	2-Hexanone	2-Naphthylamine
2,6-Dimethylbenzotrile	2-Hexene	2-Naphtronitrile
2,6-Dimethylnaphthalene	2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopentenone	2-Nitro-1,4-dimethylbenzene
2,6-Dimethylpiperidine	2-Isopropyl-9,9-dimethylacridan	2-Nitro-3-methylphenol
2,6-Dimethylpyrazine	2-Methoxyaniline	2-Nitro-4-methylphenol
2,6-Dimethylpyridine	2-Methyl-1-butene	2-Nitro-5,6--dimethylphenol
2,6-Dimethylquinoline	2-Methyl-1-hydro-2-hexanoic acid	2-Nitro-dimethylphenol
2,6-Lutidine	2-Methyl-1-pentene	2-Nitrophenol
2,6-Xylenol	2-Methyl-2-butene	2-Nitropropane
2,7-Dimethylnaphthalene	2-Methyl-2-cyclopentenone	2-Nitrotoluene
2,9-Dimethylcarbazole	2-Methyl-2-pentene	2-Pentanone
2-Methylpyrrolidine	2-Methyl-3-pentanone	2-Pentene
2,3'-Dehydrionicotine	2-Methyl-4-pentalol	2-Phenylethylamine
2-Acetyl furan	2-Methyl-5-(furyl-2')-pyrazine	2-Phenylpyridine

2-Picoline	3-Hydroxypyridine	3-Picoline
2-Propionypyrrrole	3-Methoxyaniline	3-Propylindole
2-Vinylpyridine	3-Methoxyphenol	3-Pyridinol
3,3-Dimethyl-1-butene	3-Methyl-1-butene	3-Pyridyl ethyl ketone
3,4-Dehydroperidine	3-Methyl-1-cyclopentene	3-Pyridyl methyl ketone
3,4-Dihydrobenzo[ <i>a</i> ]pyrene	3-Methyl-1-indanone	3-Pyridyl propyl ketone
3,4-Dimethylamine	3-Methyl-1-pentanol	3-Pyrroline
3,4-Dimethylpyridine	3-Methyl-1-pentene	3-Vinylpyridine
3,4-Xylenol	3-Methyl-2-butanone	4,9-Dimethylcarbazole
3,5-Dimethylamine	3-Methyl-2-cyclopentene-1-one	4-Aminobiphenyl
3,5-Dimethylaniline	3-Methyl-2-cyclopentenone	4-Azafluorene
3,5-Dimethylpyridine	3-Methyl-2-pentanone	4-Ethylaniline
3,5-Xylenol	3-Methyl-3-buten-2-one	4-Ethylcatechol
3,9-Dimethylcarbazole	3-Methyl-4-nitrophenol	4-Ethylphenol
3-Acetylpyridine	3-Methylaminopyridine	4-Heptanone
3-Butene-1-yne	3-Methylbenz[ <i>a</i> ]anthracene	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone
3-Cyanopyridine	3-Methylcarbazole	4-Hydroxybenzoic acid
3-Ethyl-2-cyclopentene-1-one	3-Methylcatechol	4-Hydroxyphenylacetic acid
3-Ethylbenzotrile	3-Methylindole	4-Hydroxyphenylpropionic acid
3-Ethylindole	3-Methylpiperidine	4-Isopropenyltoluene
3-Ethylphenol	3-Methylpyridine	4- <sup>****</sup> ropyltoluene
3-Ethylpyridine	3-Methylvaleric acid	4-Methoxyaniline
3-Formylpyridine	3- <i>n</i> -Propyl-2-cyclopentene-1-one	4-Methoxyphenol
3-Hexanone	3-Nitrophenol	4-Methyl-1-cyclopentene
3-Hydrobenzoic acid	3-Nitrotoluene	4-Methyl-1-indanone
3-Hydropropioninc acid	3-Pentanone	4-Methyl-1-pentene
3-Hydroxybutyric acid	3-Phenylindole	4-Methyl-2-pentanone
3-Hydroxyphenylacetic acid	3-Phenylpropionitrile	4-Methyl-2-pentene
3-Hydroxyphenylpropionic acid	3-Phenylpyridine	4-Methylcarbazole
3-Hydroxypropionic acid	3-picoline	4-Methylcatechol

4-Methylpyrene	6-Methylcoumarin	Acetylene
4-Methylpyridine	7,8-Benzoquinoline	Acrolein
4-Methylquinoline	7-Methylindole	Acrylonitrile
4-Nitro-1,2-dimethylbenzene	7H-Benzol[c]fluorene	Adipic acid
4-Nitro-1,3-dimethylbenzene	7H-Dibenzol[c,g]carbazole	Alkylbenzol[a]pyrene
4-Nitrocatechol	8-Hydroxyquinoline	Alkylchrysene
4-Nitrocumene	8-Methylfluoranthene	Alkylfluoranthene
4-Nitrophenol	9,10-Dihydroanthracene	Alkylpyrene
4-Nitrotoluene	9,10-Dimethylbenz[a]anthracene	Allene
4-Penten-2-one	9,9-dimethylacridine	Allylamine
4-Penten-3-one	9-Methylanthracene	Allyl cyanide
4-Picolline	9-Methylcarbazole	Aluminium*
4-Vinylcatechol	9-Methylfluorene	Ammonia
4-Vinylguaiacol	9-Methylphenanthrene	Amylamine
5,6-Dihydro-3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-one	$\alpha$ -5,8-Oxido-3,9,13-duvatrien-1-ol	Anabasine
5,6-Dihydro-8H-benzol[a]cyclopenta[ <i>f</i> ]anthracene	$\alpha$ -5,8-Oxido-3,9(17),13-duvatrien-1-ol	Aniline
5,6-Dimethyl-2-(furyl-2')pyrazine	$\alpha$ -Alanine	Anisole
5-Hydroxymethylfurfural	$\alpha$ -Carbomethoxyproline	Anthracene
5-hydroxymaltol	$\alpha$ -Formylpyrrole	Arachidic acid
5-Methyl-1-indanone	$\alpha$ -Ketoglutaric acid	Argon
5-Methyl-2-cyanofuran	$\alpha$ -Levantanolide	Arsenic*
5-Methyl-2-furaldehyde	$\alpha$ -Phenylpropionic acid	Aspartic acid
5-Methyl-2-furoic acid	$\alpha$ -Pyrrylmethylketone	Azacarbazole
5-Methylbenz[a]anthracene	Acenaphthene	Azulene
5-Methylfurfural	Acenaphthylene	$\beta$ -Alanine
5-Methylindole	Acetaldehyde	$\beta$ -Amyrenyl ester
5H-Benzol[a]fluorene	Acetic acid	$\beta$ -Amyrin
6-Methyl-1-indanone	Aceto acetate	$\beta$ -Levantanolide
6-Methyl-2-(furyl-2')-pyrazine	Acetone	$\beta$ -Methyl valeric acid
6-Methyl-3-hydroxypyridine	Acetonitrile	$\beta$ -Phenethyl alcohol

$\beta$ -Phenethylamine	Butyl acetate	Coronene
$\beta$ -Pinene	Butyl alcohol	Cotinine
$\beta$ -Sitosterol	Butylamine	Coumarin
Benzothiazole	Butyronitrile	Crotonaldehyde
Benz[a]anthracene	Butyraldehyde	Crotonitrile
Benzaldehyde	Butyric acid	Crotonolactone
Benzene	Butyronitrile	Cyanogen
Benzimidazole	Cadmium*	Cyclohexene
Benzol[a]naphthacene	Caffeic acid	Cyclopentanone
Benzol[a]pyrene	Calcium*	Cyclopenten
Benzol[b]fluoranthene	Campesterol	Cyclotene
Benzol[b]fluorene	Caproaldehyde	Decanoic acid
Benzol[c]phenanthrene	Caproic acid	Dehydromethanocotone
Benzol[e]pyrene	Capronitrile	Di- <i>n</i> -propylamine
Benzol[g,h,i]fluoranthene	Carbaryl#	Diaminotoluene
Benzol[g,h,i]perylene	Carbazole	Dibenz[a,h]acridine
Benzol[j]fluoranthene	Carbon dioxide	Dibenz[a,h]anthracene
Benzol[k]fluoranthene	Carbon dioxide	Dibenz[a,j]acridine
Benzol[m,n,o]fluoranthane	Carbon disulfide	Dibenzol[a,c]naphthacene
Benzoic acid	Carbon monoxide	Dibenzol[a,h]pyrene
Benzonitrile	Carbon monoxide	Dibenzol[a,i]fluorene
Benzyl acetate	Carbonyl sulfide	Dibenzol[a,i]pyrene
Benzyl alcohol	Catechol	Dibenzol[a,j]naphthacene
Benzyl benzoate	Cerotic acid	Dibenzol[b,h]phenanthrene
Benzyl cinnamate	Chlorogenic acid	Dibenzol[cd,jk]pyrene
Benzyl cyanide	Chromium*	Diethylamine
Biphenyl	Chrysene	Diethylene alcohol
Butadiene	Cinnamonnitrile	Dihydroacridinidolide
Butenone	Collidine	Dihydrodrometanicotine
Butenylamine	Cupper*	Dimethyl disulfide