

## 生体内におけるシアン定量法の開発

(同志社大理工) ○北川 清香・北岸 宏亮

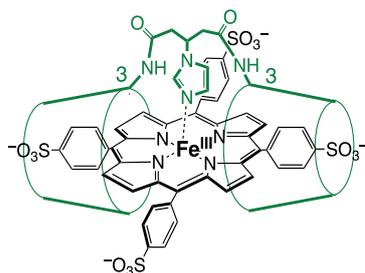
Development of a simple method for determination of cyanide *in vivo*

(Faculty of Science and Engineering, Department of Molecular Chemistry and Biochemistry, Doshisha University) ○Sayaka Kitagawa, Hiroaki Kitagishi

Hydrogen cyanide (HCN) is a poisonous gas in the fire fumes. It binds to cytochrome *c* oxidase in the mitochondrial respiratory chain, which is lethal at low concentrations. However, it has been generally difficult to quantify cyanide in the biological samples. In this work, we used an artificial hemoglobin model compound (**hemoCD-I**), which is synthesized in our laboratory as a cyanide quantitative reagent. Using **hemoCD-I**, we quantified the cyanide ion concentrations in the blood and organs of cyanide-poisoned mice based on a simple spectrophotometric method.

**Keywords** : hydrogen cyanide; heme protein; animal experiments; cyanide poisoning; cytochrome *c* oxidase

シアン化水素(HCN)は火災等で一酸化炭素(CO)などと共に発生する有毒ガスである。HCN から生じるシアン化物イオン(CN<sup>-</sup>)は、ミトコンドリアに含まれるヘム活性中心に配位することで強い毒性を示す。しかしながら HCN 中毒になった場合でも、生体内組織にどれくらいのシアン化物イオンが含まれているのかを定量することが困難である。そのため、シアン中毒の危険性やメカニズムについて、あまり理解されていないのが現状である。既存の HCN 定量方法であるピリジン-ピラゾロン法<sup>1)</sup>は、実験操作が煩雑であり多くの時間を要するため、臨床や剖検の現場ではほとんど適用されてこなかった。本研究では、生体内でシアン化物イオン(CN<sup>-</sup>)を選択的に強く結合する人工ヘモグロビンモデル化合物(**hemoCD-I**) (Figure 1)<sup>2)</sup>を用いて、これを生体内 CN<sup>-</sup>定量試薬として利用することを試みた。**hemoCD-I** は、水中で CN<sup>-</sup>を  $K = 10^6 \text{ M}^{-1}$  程度で結合し、その結合の強さは pH に依存する。この pH 依存性は、**hemoCD-I** の



**Figure 1.** Structure of a CN<sup>-</sup> receptor, **hemoCD-I**.

アクア配位子の酸解離( $pK_a = 7.4$ )および HCN の酸解離( $pK_a = 9.2$ )によって説明できる。吸収スペクトル滴定実験の結果、**hemoCD-I** によるシアン化物イオンの定量には pH = 8.0 の条件が適していると判断した。pH 8.0 におけるシアン化物イオンの検量線を **hemoCD-I** の吸収スペクトル変化に基づいて作成し、その検量線を用いた生体内シアン化物イオンの定量アッセイの確立を試みている。

1) Okada, Y.; Miyaguchi, H. *Forensic Toxicol.* **2020**, *38*, 542–546.

2) Watanabe, K.; Kitagishi, H.; Kano, K. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 943–947.