—原著—

アゾカップリング反応を用いた一酸化二窒素の新規分析法

新田篤志, 掛橋秀直, 浅井龍太郎, 和田美暁, 中野史保子, 松田駿太郎
志摩典明, 鎌田 徹, 西岡 裕, 三木昭宏, 片木宗弘

大阪府警察本部科学捜査研究所
〒541-0053 大阪府大阪市中央区本町 1-3-18

A new method for detection of nitrous oxide using azo coupling reaction

Atsushi Nitta, Hidenao Kakehashi, Ryutaro Asai, Misato Wada, Shihoko Nakano,
Shuntaro Matsuta, Noriaki Shima, Tooru Kamata, Hiroshi Nishioka,
Akihiro Miki and Munehiro Katagi

*Forensic Science Laboratory, Osaka Prefectural Police H.Q.
1-3-18, Hommachi, Chuo-ku, Osaka 541-0053, Japan*

*(Received 15 May 2017; accepted 2 August 2017;
Published online 19 September 2017 in J-STAGE DOI: 10.3408/jafst.737)*

This paper reports a new qualitative analytical approach, based on a color reaction for the detection of nitrous oxide (N_2O), in order to solve problems of existing methods. The coloration was caused by the azo coupling of N_2O with a Grignard reagent and 1-naphthol in the presence of CuCl_2 , which generated an orange-colored product 4-(phenylazo)-1-naphthol (4-PN) known as an azo dye compound. This color reaction provided both a simple color identification test and derivatization of N_2O for its effective identification by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) or liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). This approach has several advantages such as: N_2O was detectable by the color identification test quickly even when it was diluted with air, the derivative 4-PN was detectable by GC/MS or LC/MS/MS using an ordinary separation column and detection limits were about 10% for the color identification test, 1% for GC/MS, and 0.01% for LC/MS/MS. Thus, this method was found to be useful for both preliminary test and confirmation of N_2O in street drug samples.

Key words: Nitrous oxide, Azo coupling, Color identification test, GC/MS, LC/MS/MS

緒 言

近年、自転車タイヤ補充用ガスと称した「シバガス」と呼ばれる製品の急速な流通拡大が問題視されている。その成分は一酸化二窒素 (N_2O) という無色かつほぼ無臭の気体であり、代表的な用途として、病院での治療時に用いられる笑気麻酔^{1,2)}、ナイトラス・オキサイド・システムにおける燃料の発火促進剤³⁾、あるいはエスプーマという調理法に用いられる、食材をムース状にするための食品添加物⁴⁾などが挙げられる。しかし、乱用者の目的は高濃度の吸入によって得られる陶酔作用や多幸感²⁾の享受であり、その結果引き起こされる健康被害や死亡例が国内外で多数報告されている⁵⁻⁷⁾。こうした背景を受け、同物質は平成28年2月から医薬品医療機器法に規定の指定薬物として規制されており⁸⁾、今後この法規制の遂行には各種捜査機関における N_2O の分析・鑑定が必要不可欠となる。

N_2O の分析法については、多孔質層オープンチューブカラムを用いたガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS)⁹⁻¹²⁾や、気体セルを用いたフーリエ変換赤外分光法 (FTIR)¹²⁻¹⁶⁾が一般的に知られている。しかしながら、これらの分析法では、汎用性に欠ける特別なカラムやセルを必要とする上、GC/MS では特徴的なフラグメントイオンに乏しく、FTIR では N_2O が空気など他の気体と混合していた場合に赤外吸収スペクトルの干渉が起こるなど、それぞれ欠点を抱えている。

N_2O は非常に反応性の低い分子であり、従来グリニャール試薬に対して不活性であるとされていたが、2014年、Tskhovrebov らによって、テトラヒドロフラン溶媒中の脂肪族グリニャール試薬は N_2O と反応し、ヒドラゾンを生成することが報告され、その中間体としてジアゾ化合物を経由していることが示唆された¹⁷⁾。また2015年には、N-複素環式カルベンと N_2O の反応により得られる付加生成物に、ルイス酸触媒として塩化アルミニウムを加えることで N-O 結合の開裂が起こり、その結果生ずるジアゾニウムイオンが、さらに芳香族化合物と求電子置換反応を起こすことにより、最終的にアゾイミダゾリウム色素が生成するという反応が報告され

Fig. 1 Proposed mechanism for the formation of 4-(phenylazo)-1-naphthol (4-PN) by the azo coupling reaction.

た¹⁸⁾。

我々は上記の報告を端緒に、 N_2O に特異的なアゾカップリング誘導体化反応を考案した。想定される反応機構は Fig. 1 に示す通りであり、この反応機構に従い N_2O が 4-(フェニルアゾ)-1-ナフトール (4-PN) へと誘導体化される。4-PN は芳香族アゾ染料の一種であり、当該溶液は、その液性や溶媒により黄～赤色を呈することが知られている¹⁹⁾。また、その化学構造から、GC/MS における検出には特別なカラムを必要とせず、さらに液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) の適用も可能であることが推定された。そこで本研究では、上記反応を利用することにより、呈色試験、GC/MS および LC/MS/MS から構成される N_2O の新規分析法の開発を目的とし、その条件検討および最適化を実施した。本法は、薬物取り締まりにおける、 N_2O の迅速・簡便かつ信頼性の高い分析法として有用であると考えられる。

材料および方法

1. 実験材料

1.1. 試薬

N_2O 標準ガスはジーエルサイエンス製、1-ナフトールは米山薬品工業製、塩化銅 (CuCl_2) はシグマアルドリッチ製、フェニルマグネシウムブロミド (16%テトラヒドロフラン溶液、約 1 M) は東京化成工業製、ヘリウムはエア・リキード工業ガス製、シアン化ナトリウムは関東化学製、アジ化ナトリウムは林純薬工業製、亜硝酸イソamil、LC/MS/

MS 用メタノールおよび酢酸アンモニウムは和光純薬工業製を使用した。また、アンモニアガスは28%アンモニア水に水酸化カリウムを加えることにより生成し、二酸化窒素は銅粒に濃硝酸を加えることにより生成した。

1.2. 4-PN 標準品の合成²⁰⁾

氷冷したアニリンと希塩酸の混合溶液に亜硝酸ナトリウム水溶液を加え、塩化ベンゼンジアゾニウムを得た。1-ナフトールを溶解させた水酸化ナトリウム水溶液にこれを加えることにより、4-PN を得た。分取薄層クロマトグラフィーによる分離精製後、核磁気共鳴法による同定を行い、適当な濃度になるよう適宜溶媒で希釈して使用した。

2. 分析方法

2.1. 呈色試験法

あらかじめ1-ナフトールおよび CuCl_2 粉末各 5 mg を封入したガラスバイアルに、検査気体を注入し、次いで 1 M フェニルマグネシウムブロミドを注入した後、ガラスバイアルを10秒程度激しく攪拌した。最後に 1 M 塩酸を注入し、再びバイアルを軽く攪拌した後、直ちに有機層の呈色を観察した。なお、検査気体および各試薬の注入にはそれぞれ SGE Analytical Science 製のガスタイトシリンジを使用し、ガラスバイアルの規格および各注入量については下記の 2 つの条件で実施した。

(条件 A)

ガラスバイアル：ジーエルサイエンス製ミニナートバルブ付サーモフィッシャーサイエンティフィック製 22 ml 容ガラスバイアル

検査気体：約 15 ml

1 M フェニルマグネシウムブロミド：1 ml

1 M 塩酸：1 ml

(条件 B)

ガラスバイアル：シグマアルドリッチ製セプタムキャップ付 2 ml 容ガラスバイアル

検査気体：約 1 ml

1 M フェニルマグネシウムブロミド：0.5 ml

1 M 塩酸：0.5 ml

2.2. 可視吸収スペクトル測定

呈色試験後の有機層を分取し、ミリポア製ウルトラフリー MC (フィルター孔径 0.65 μm) を用いて

ろ過した後、テトラヒドロフランを用いて10倍に希釈し、可視吸収スペクトルを測定した。

装置：島津製作所製 Prominence SPD-M20A

スリット幅：1.2 nm

測定波長：400–780 nm

サンプリングタイム：0.24秒

光源：重水素およびタングステンランプ

2.3. 質量分析

2.3.1. 前処理

呈色試験後の有機層 250 μl を 2 ml 容マイクロチューブに移し、ヘキサンおよび 0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液各 250 μl を加え、攪拌後遠心分離し、可能な限り水層を分取した。この抽出操作を 2 回行い、得られた水層を合わせ、そこに酢酸エチル 250 μl および 1 M 塩酸 50 μl を加え、攪拌後遠心分離し、有機層 50 μl を GC/MS および LC/MS/MS 用にそれぞれ分取した。得られた有機層について、窒素気流化で溶媒を留去し残渣を得た。

2.3.2. GC/MS

前処理によって得られた残渣に N-メチル-N-トリメチルシリルトリフルオロアセトアミド (MSTFA) 50 μl を加え、60°C で 30 分間加熱しトリメチルシリル (TMS) 誘導体化を行った。その後ヘキサンを用いて適宜希釈し GC/MS の試料とした。

装置：島津製作所製 GCMS-QP2010 Ultra

カラム：アジレント・テクノロジー社製 DB-5MS (30 m $\times$ 0.32 mm i.d., 膜厚 0.25 μm)

カラム温度：80°C (1 分) $\rightarrow$ 20°C/分 $\rightarrow$ 320°C (1 分)

気化室温度：250°C

キャリアガス：He, 3.6 ml/分

注入量：1 μl , スプリット比 (1 : 5)

イオン化法：電子イオン化 (EI) 法

イオン化エネルギー：70 eV

イオン源温度：200°C

インターフェース温度：250°C

測定モード：スキャン (m/z 40–600)

2.3.3. LC/MS/MS

前処理によって得られた残渣に 50% メタノール 50 μl を加え、適宜希釈し LC/MS/MS の試料とした。

装置：島津製作所製 Prominence UFLC およびサーモフィッシャーサイエンティフィック社製 LTR

XL

カラム：化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS
(150 mm × 1.5 mm i.d., 粒子径 5 μ m)

カラム温度：40°C

移動相：A；5%メタノール10 mM 酢酸アンモニウム
B；95%メタノール10 mM 酢酸アンモニウム
グラジエント条件：B 50% (0分) - 直線グラジエント
(0-7.5分) - B 100% (7.5-15分) - B 50% (15-
25分)

流速：0.1 ml/分

注入量：5 μ l

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI)
法 (ポジティブ)

キャピラリー電圧：7 V

キャピラリー温度：275°C

測定モード：フルスキャン (m/z 100-1000) およ
び m/z 249 をプリカーサーイオンとしたプロダクト
イオンスキャン (m/z 55-260)

ノーマライズドコリジョンエネルギー：35%

結果および考察

1. 呈色試験

材料および方法2.1.項で示した条件 A に基づき実施した呈色試験の結果を Fig. 2 に示す。なお検査気体として、陰性対照試料には空気を、陽性対照試料には N_2O 標準ガスを注入した。希塩酸注入後の有機層を観察したところ、陰性では白～淡褐色、陽性では直ちに鮮やかな橙色の呈色を示した。この呈色反応は、単一ガラスバイアル内に各試薬を注入するだけの簡便な操作によって進行し、またその所要時間も短いことから、 N_2O の検出法として利用す

Fig. 2 Color reactions for N_2O determination. (a) Positive (N_2O) and (b) negative (air) controls.

るのに有効であると考えられた。以下では、本呈色試験の確立に向けて実施した検討内容について記述する。

1.1. 呈色反応

本反応により得られた陽性対照試料の有機層は、4-PN 標準品をテトラヒドロフランに溶かしたものと同様の呈色を示した。また、陰性対照試料の有機層も併せて、材料および方法2.2.項で示した操作に従いこれらの可視吸収スペクトルを測定し、比較を行った。その結果、陽性対照試料の吸収スペクトルは、陰性対照試料に比べて400-550 nmの波長域での吸収が大きく、また、460 nm および510 nm 付近に変曲点を有しており、標準品の吸収スペクトルとよく類似した (Fig. 3)。一方、 N_2O 、フェニルマグ

Fig. 3 Visible absorption spectra of (a) positive and negative controls, and (b) a tetrahydrofuran solution of 4-PN (AU: absorbance unit).

ネシウムブロミド, 1-ナフトールあるいは CuCl_2 のいずれか一つでも欠けた場合, 反応は進行せず, 試験溶液は上記呈色を示さなかった. 続いて, 1-ナフトールおよび CuCl_2 の用量について検討を行ったところ, いずれも過剰量 (約10 mg 以上) の使用により, N_2O 非存在下でも有機層が顕著に褐色を呈したため, 呈色判定の妨げとならないよう留意する必要があった. また, フェニルマグネシウムブロミドは非常に反応性が高く, 水や酸素と反応して失活し, 反応効率を大きく低下させてしまう要因となるため, 試薬瓶の開封時間は必要最小限とし, 取り扱うシリンジは錆びていないものを使用するなどの注意が必要であった.

1.2. 試験操作

本反応において, 希塩酸注入前の攪拌時間が反応効率に及ぼす影響を調べるため, 攪拌時間を 0 秒から120秒の間で設定し, 呈色の比較を行った. その結果, 攪拌なしでは十分に呈色しなかったものの, 10秒程度激しく攪拌することによって鮮明な呈色が表示され, それ以上攪拌しても顕著な呈色の差は観察されなかった. 一方, 反応終了後の試験溶液を室温で放置し, 呈色の経時変化を観察したところ, N_2O の有無にかかわらず, 数時間後には有機層が徐々に褐色を帯びてしまう傾向が見られたため, 呈色の判定は希塩酸注入後直ちに行うほうが望ましいと考えられた.

また, 試験に用いるガラスバイアルの仕様・容量について, 材料および方法2.1.項で示した条件 A および B を設定し, その結果を比較した. 条件 A を用いた場合, ミニナートバルブの使用による検査気体および各試薬注入時の優れた操作性に加え, 条件 B に比べてより大きいスケールでの反応が可能であり, 質量分析を実施する上で十分な量の有機層が得られた. 一方, 条件 B を用いた場合, より少量の N_2O を用いて呈色試験を実施することが可能であり, 条件 A の 1/10の注入量で概ね同程度の呈色を示した (Fig. 4). また, この結果から, 本呈色反応効率は, 気体注入後のバイアル内における N_2O の濃度に依存することが示唆された. 以上より, 本呈色試験においては, 条件 A および B の使い分けにより, 状況や目的に応じて検査を行うことが可能

condition A

condition B

Fig. 4 Color reactions performed under conditions A and B. The numbers represent injection volumes of N_2O .

であり, 操作上, より扱い易いのは条件 A であるが, 特に消費できる試料量が少ない状況では, 条件 B の適用が有用であると考えられた.

2. GC/MS

呈色試験において, アゾカップリング誘導体化反応による 4-PN の生成が示唆されたことから, GC/MS を用いてその検出を試みた. 材料および方法2.2.2.項で示した操作に従い GC/MS を実施し, 陽性対照試料から得られたマスキロマトグラムおよび EIマスペクトルを Fig. 5 に示す. クロマトグラム中11.4分付近にピーク A が検出され, そのマスペクトルには, 分子イオン ($\text{M}^{+\cdot}$) である m/z 320をはじめ, m/z 215, 77など, 4-PN の TMS 誘導体の構造に特徴的なピークが観測された. また, 同様に実施した 4-PN 標準品の分析結果と比較したところ, 保持時間およびマスペクトルがよく一致した (Fig. 5). なお, 4-PN は未変化体としても検出可能であるが, TMS 誘導体化をすることにより, その検出感度は10倍程度向上した. さらに, 材料および方法2.2.1.項で示した前処理における 4-PN の回収率を算出したところ, 約80%と良好な結果が得られた.

Positive control

4-PN

Fig. 5 (a) Total ion current chromatograms (TICs) and extracted ion chromatograms (EICs), and (b) electron ionization mass spectra of the marked peaks obtained from a positive control and a synthesized standard of 4-PN by gas chromatography/mass spectrometry.

Positive control

4-PN

Fig. 6 (a) EICs, (b) electrospray ionization mass spectra of the marked peaks and (c) product ion spectra of m/z 249 obtained from a positive control and a synthesized standard of 4-PN by liquid chromatography/tandem mass spectrometry.

3. LC/MS/MS

生成した 4-PN について, LC/MS/MS を用いた検出を試みた. 材料および方法 2.2.3. 項で示した操

作に従い LC/MS/MS を実施し, 陽性対照試料から得られたマスキログラムおよびマススペクトルを Fig. 6 に示す. クロマトグラム中 13.2 分付近に

ピーク B が検出され、その ESI スペクトルには、4-PN のプロトン化分子 ($[M+H]^+$) に相当する m/z 249 のイオンが観測された。さらに、 m/z 249 のイオンをプリカーサーとしてプロダクトイオンスクリーンを行い、得られたプロダクトイオンスペクトルには、 m/z 105, 77 など、4-PN の構造に特徴的なイオンが観測された。また、GC/MS 同様、標準品の分析結果との比較を行い、保持時間およびマススペクトルの一致を確認した (Fig. 6)。

4. N_2O の検出限界

呈色試験, GC/MS, LC/MS/MS を用いた 4-PN の検出がそれぞれ可能であったことから、次に N_2O を空気で希釈したものについて上記分析法を実施し、本法における注入気体中の N_2O 濃度の検出限界を算出した。材料および方法 2.1. 項で示した条件 B に従い得られた呈色試験の結果を Fig. 7 に示す。 N_2O 濃度の減少に伴い呈色が淡くなる傾向が見られ、陰性対照試料 (0%) と比較したところ、概ね 10% の濃度まで呈色による判定が可能であった。続いて呈色試験後の有機層を分取し、材料および方法 2.2. 項で示した方法に従い質量分析を実施したところ、GC/MS では 1%, LC/MS/MS では 0.01 % まで 4-PN の検出が可能であった。 N_2O は最小肺胞内濃度が高く²⁾、歯科臨床診療における意識下鎮静法には平均的に 40% 濃度の N_2O が必要である²¹⁾ことから、乱用者の間で流通している製品中の N_2O 濃度は、本法を用いて十分に検出可能な範囲であると想定された。なお今回の検討は条件 B を用いて行ったが、この呈色反応の効率はバイアル内の N_2O 濃度に依存すると考えられるため、条件 A を用いた場合でも同様の結果が得られると推定され

Fig. 7 Detection sensitivity of N_2O in the color reaction. The numbers represent concentrations of N_2O .

た。

5. N_2O の特異性

本誘導体化反応における N_2O の特異性を確認するため、主に揮発性乱用化合物や含窒素化合物を対象とした N_2O 以外の物質、すなわち常温で気体であるアンモニア、ヘリウム、二酸化窒素、また液体や固体である亜硝酸イソアミル、トルエン、メタノール、酢酸エチル、シアン化ナトリウム、アジ化ナトリウムについて、本分析法を適用し、その結果を比較した。材料および方法 2.1. 項で示した条件 A に基づき、得られた呈色試験の結果を Fig. 8 に示す。(ただし液体および固体については気体注入量と等モル量を分析に供し、トルエン、メタノールおよび酢酸エチルについては混合物として同一バイアル内で検査を実施した。) いずれの物質も N_2O と同様の挙動は示さなかったものの、二酸化窒素および亜硝酸イソアミルについては、希塩酸の注入により若干類似した呈色を示したため注意が必要であった。ただし二酸化窒素については、気体自体が赤褐色を有していることや、希塩酸注入前の時点でバイアル内の溶液が黒褐色を示すことから N_2O との識別が可能であった。また亜硝酸イソアミルについては、常温で果実臭を帯びた液体であり、同じく希塩

Fig. 8 Specificity of the azo coupling reaction for N_2O .

酸注入前の時点で溶液が暗赤褐色を示すことから識別が可能であった。

さらに、呈色試験後の有機層をそれぞれ分取し、材料および方法2.2.2.項で示した操作に従い GC/MS を実施したところ、上記試料のいずれからも 4-PN は検出されず、本反応における N_2O の特異性が確認された。

結 語

本研究は、 N_2O に特異的なアゾカップリング誘導体化反応を考案し、その新規分析法の開発を行ったものである。本法は、混合気体が N_2O のスペクトルに干渉するといった、従来法で起こり得る弊害がなく、これまでにない簡便かつ迅速な呈色試験法や、汎用カラムを用いた GC/MS および LC/MS/MS による誘導体の検出が可能であることから、より扱い易く信頼性の高い定性分析法として期待される。 N_2O の検出限界は、呈色試験、GC/MS、LC/MS/MS でそれぞれ約10%、1%、0.01%であり、乱用者から押収された資料を分析対象として想定した場合、十分に適用可能な水準を有していると考えられた。以上より、本法は研究室における新たな N_2O の分析法としてはもちろん、資料大量押収時には、呈色試験を生かしたスクリーニング検査としての運用も見込まれる。また今後、反応試薬や触媒、検査使用器具などについてさらなる検討を進めることにより、検出感度の向上や、現場検査法として活躍することも期待される。

文 献

- 1) 萬家俊博, 全身麻酔における亜酸化窒素 (笑気) の有用性. 日本臨床麻酔学会誌, **26**, 665–670, 2006.
- 2) American Association for Clinical Chemistry, Nitrous Oxide, available from [https://www.aacc.org / community / divisions / tdm-and-toxicology / toxin-library / nitrous-oxide] , accessed Feb 7, 2017.
- 3) 特許 US7451751 B2, Nitrous-oxide system.
- 4) 東邦アセチレン株式会社, エスプーマでレシピが変わる, available from [http://www.espuma-ta.jp/], accessed Feb 3, 2017.
- 5) Henry R. J., Assessing environmental health concerns associate with nitrous oxide. *J. Am. Dent. Assoc.*, **123**, 41–47, 1992.
- 6) Gillman M. A., Nitrous oxide abuse in perspective. *Clin. Neuropharmacol.*, **15**, 297–306, 1992.
- 7) 英国放送協会, How dangerous is laughing gas ?, available from [http://www.bbc.com/news/magazine-33691783] , accessed Feb 7, 2017.
- 8) 厚生労働省, 一酸化二窒素 (別名: 亜酸化窒素) を新たに指定薬物に指定, available from [http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000112797.html], accessed Feb 3, 2017.
- 9) 花井義道, 加藤龍夫, 荒井隆則, 大気中亜酸化窒素の GC-MS による測定. 横浜国立大学環境科学研究センター紀要, **5**, 35–39, 1979.
- 10) Isobe K., Koba K., Ueda S., Senoo K., Harayama S. and Suwa Y., A simple and rapid GC/MS method for the simultaneous determination of gaseous metabolites. *J. Microbiol. Methods*, **84**, 46–51, 2011.
- 11) Giuliani N., Beyer J., Augsburg M. and Varlet V., Validation of an analytical method for nitrous oxide (N_2O) laughing gas by headspace gas chromatography coupled to mass spectrometry (HS-GC-MS): Forensic application to a lethal intoxication. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **983–984**, 90–93, 2015.
- 12) 飯田英己, 黒澤英俊, 宮元礼生奈, 滝口貴広, 伊澤秀二郎, 工藤雅孝, 日本法中毒学会第35年会講演要旨集. 63, 2016.
- 13) Rapson T. D. and Dacres H., Analytical techniques for measuring nitrous oxide. *Trends Analyt. Chem.*, **54**, 65–74, 2014.
- 14) Zhao Y., Wexler A. S., Hase F., Pan Y. and Mitloehner F. M., Detecting Nitrous Oxide in Complex Mixtures Using FTIR Spectroscopy: Silage Gas. *J. Environ. Prot.*, **7**, 1719–1729, 2016.
- 15) Esler M. B., Griffith D. W. T., Turatti F., Wilson S. R., Rahn T. and Zhang H., N_2O con-

- centration and flux measurements and complete isotopic analysis by FTIR spectroscopy. *Chemosphere—Glob. Change Sci.*, **2**, 445–454, 2000.
- 16) Sanchez A., Eddings E. and Mondragon F., Fourier Transform Infrared (FTIR) Online Monitoring of NO, N₂O, and CO₂ during Oxygen-Enriched Combustion of Carbonaceous Materials. *Energy Fuels*, **24**, 4849–4853, 2010.
- 17) Tskhovrebov A. G., Solari E., Scopelliti R. and Severin K., Reactions of Grignard Reagents with Nitrous Oxide. *Organometallics*, **33**, 2405–2408, 2014.
- 18) Tskhovrebov A. G., Naested L. C. E., Solari E., Scopelliti R. and Severin K., Synthesis of Azoimidazolium Dyes with Nitrous Oxide. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **54**, 1289–1292, 2015.
- 19) Griffiths J., Prediction of Colour Change in Dye Equilibria I–Azo and Hydrazone Tautomers and Anions of 4-Phenylazo-1-naphthols. *Color. Technol.*, **88**, 106–109, 1972.
- 20) Merino E., Synthesis of azobenzenes: the coloured pieces of molecular materials. *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 3835–3853, 2011.
- 21) Jastak J. T. and Donaldson D., Nitrous Oxide. *Anesth. Prog.*, **38**, 142–153, 1991.