薬物の裁判化学的研究 (第3報¹⁾)

除草剤 Diquat ならびに Paraquat の水素化ホウ素ナトリウム・遷移
金属塩 (塩化ニッケル) 系還元生成体のガスクロマトグラフィー²⁾

鵜飼茂夫, 広瀬一雄,^{3a)} 河瀬章司^{3b)}
岐阜薬科大学,^{3a)} 岐阜県警察本部鑑識課^{3b)}

Forensic Chemical Studies on Drugs. III.¹⁾

Gas Chromatography of Reduction-Products of Herbicide "Diquat and Paraquat"
with Sodium Borohydride-Transition Metal Salt (Nickel Chloride)²⁾

SHIGEO UKAI, KAZUO HIROSE,^{3a)} and SHŌZI KAWASE^{3b)}

Gifu College of Pharmacy,^{3a)} and Identification Section
Gifu Prefectural Police Headquarters^{3b)}

(Received September 4, 1976)

Diquat (I) and paraquat (II) were analyzed by gas chromatography of their perhydrogenated products (III and IV) obtained by their treatment with NaBH_4 and NiCl_2 . The system of NaBH_4 - NiCl_2 was the most effective to obtain III and IV in the reduction of I and II with NaBH_4 -transition metal salt. The reduction products were resolved by a gas chromatograph equipped with a hydrogen flame ionization detector and a $2\text{ m} \times 3\text{ mm}$ i.d. glass column packed with 5% KOH plus 5% PEG 20 M on Gas-chrom Z at 175° , with N_2 flow rate of 30 ml/min.

This procedure is well suited for the assay of 10–90 $\mu\text{g/ml}$ concentration of I and II (internal standard: *p*-anisidine) and is very useful for routine work because the reduction takes only a short time, without a troublesome apparatus by the use of NaBH_4 and NiCl_2 which are relatively safe to handle.

The reduction products of I and II were identified as a mixture of *trans*- and *cis*-perhydrodipyrido [1,2-*a*:2',1'-*c*] pyrazine (III) and 1,1'-dimethyl-4,4'-bipiperidine (IV) by gas chromatography-mass spectrometry and elemental analysis, as in the case of catalytic reduction using Pt_2O .

Keywords—herbicide; diquat; paraquat; sodiumborohydride-nickel chloride; sodiumborohydride-transition metal salt; perhydrogenated diquat; perhydrogenated paraquat

緒 言

著者らは、除草剤として繁用される diquat (I: 1,1'-ethylene-2,2'-bipyridylum salt) ならびに paraquat (II:

1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridylum salt) による自殺および事故中毒死がしばしば報ぜられる事実⁴⁾に鑑み、前報⁵⁾において裁判化学的な興味から、これらの物質の分

1) 第2報: 鵜飼茂夫, 広瀬一雄, 河瀬章司, 衛生化学, **22**, 275 (1976).

2) 本報告の一部は日本薬学会第94年々会 (仙台, 1974年4月) で発表した。

3) Location: a) 6-1, Higashi-5-chome, Mitahora, Gifu (岐阜市三田洞東5丁目6-1); b) Yabuta, Gifu (岐阜市藪田)。

4) 恒成茂行, 武藤 仁, 井上志げ子, 佐々木澄夫, 杉田宏海, 神田瑞穂, 日法医誌, **29**, 88 (1975); 薬物による中毒事故等の発生状況, 第10—18報, 科学警察研究所, 東京, (1967—1975)。

5) 鵜飼茂夫, 広瀬一雄, 河瀬章司, 衛生化学, **19**, 281 (1973)。

Chart 1

析法について検討を行ない、I および II を過剰の水素化ホウ素ナトリウムで (NaBH_4) で処理し、還元成績体に導いた後ガスクロマトグラフィー (GC) を行なうことによって容易に定性、定量しうることを報告した。その際、I の場合には主ピーク A (N, N'-ethylene-1, 1', 2, 2', 3, 3', 6, 6'-octahydro-6, 6'-bipyridyl) の他に4個の副ピーク B, C, D, E が、II の場合には主ピーク A' (N, N'-dimethyl-1, 1', 2, 2', 3, 3', 6, 6'-octahydro-4, 4'-bipyridyl) の他に1個の副ピーク B' が認められた。

I および II の還元成績体の GC による分析に関しては、著者らの発表⁶⁾とほとんど同時に Soderquist ら⁷⁾により、つづいて Shahamat⁸⁾によって報告されたが、いずれも酸化白金触媒を用いる接触還元法であり、実験操作に複雑な面を有している。

今回、著者らは I および II の NaBH_4 処理におけるこれらの還元成績体を完全還元体に導くことによって、GC 上のピークの単純化をはかる目的で完全還元化法の検討を行なった。その結果、遷移金属塩 (塩化ニッケル) 存在下 NaBH_4 還元を行なうことによって、きわめて簡単に I および II の完全還元成績体 (III および IV) に導くことに成功するとともに、これらの還元成績体を基として I および II の GC による定量を合理的に行ないうることを見出したので報告する。

実験の部

試薬ならびに試料 試薬—— NaBH_4 , CrCl_3 , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, PbCl_2 , AgNO_3 , NaOH , 無水 Na_2SO_4 , LiOH , *n*-ヘキサン, 酢酸エチル, *p*-アニシジンおよび

スチフニン酸はいずれも市販特級品を用いた。エーテルは新たに蒸留精製した後、使用した。

試料——I (salt : bromide) ならびに II (salt : chloride) の標品は前報⁹⁾同様 Imperial Chemical Industries Limited (ICI) ならびに日本農薬の製品を用いた。

GC ならびに GC-Mass の装置および条件 GC : 日立製 073 型に水素炎イオン化検出器を接続。カラム : 内径 3 mm, 長さ 2 m の硬質ガラス管を dimethyldichlorosilane にてシラン処理した後, 5% KOH ならびに 5% PEG 20 M で被覆した Gas chrom Z (60—80 mesh) を充填。カラム温度 : 175°。試料導入部温度 : 250°。キャリアーガス : 窒素, 30 ml/min (0.4 kg/cm²)。感度 : 1×8。

GC-Mass : 日本電子 JGC-20 KP 型 GC 装置に JMS-D 100 型質量分析器を接続。GC 条件 [カラム : 4% OV-17 Gas chrom Q (100—120 mesh), 2 m×3 mm ガラスカラム。試料導入部温度 : 180°。カラム温度 : 110°。キャリアーガス : He, 40 ml/min, 感度 : 3×10⁻⁹ Afs]。

遷移金属塩の検討 10 ml の共栓試験管に試料水溶液 1 ml (I を 80 μg 含有) をとり, 遷移金属塩 (CrCl_3 , $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, PdCl_2 , AgNO_3) の 0.02M 水溶液 0.5 ml を加え, さらに 2.6 M NaBH_4 水溶液 0.3 ml を加えてよく振盪。室温において 30 min 放置。エーテル 2 ml×4 を用いて激しく振盪抽出。エーテル層を合し, 無水 Na_2SO_4 で乾燥。エーテル層は 5 ml の梨型フラスコ中で少量ずつ減圧下に濃縮乾固。残渣を酢酸エチルに溶解。その酢酸エチル溶液 1.0 μl を GC に注入。

6) 日本薬学会第92年々会, 大阪, 1972年4月。

7) C. J. Soderquist, D. G. Crosby, *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, **8**, 363 (1972) [C. A., **78**, 80681 w (1973)]。

8) Shahamat U. Khau, *J. Agr. Food Chem.*, **22**, 863 (1974)。

I ならびに II の還元時間の検討 10 ml の共栓試験管 4 個 (a, b, c, d) にそれぞれ I の 0.01 % 水溶液 1.0 ml を, また, 別に同種の試験管 4 個 (a', b', c', d') に, それぞれ II の 0.01 % 水溶液 1.0 ml を加え, ついで各試験管に 0.02 M NiCl_2 水溶液 0.5 ml および 2.6 M NaBH_4 水溶液 0.3 ml を加えて良く振盪. 室温において 30 min (a, a'), 1 hr (b, b'), 2 hr (c, c'), 12 hr (d, d') 放置. 所定時間後, エーテル 2 ml $\times$ 4 で激しく振盪抽出. エーテル層を合し, 無水 Na_2SO_4 で乾燥. エーテル層を 5 ml の梨型フラスコ中で少量ずつ減圧下に濃縮乾固. 残渣を 200 μl の 0.01 % *p*-アニシジン酢酸エチル溶液に溶解. その酢酸エチル溶液 1.0 μl を GC に注入.

内部標準物質: *p*-アニシジン.

I の NaBH_4 - NiCl_2 による還元 10 ml の共栓試験管に試料水溶液⁹⁾ 1 ml (I を 10—150 μg 含有) ならびに 0.02 M NiCl_2 水溶液 0.5 ml, 2.6 M NaBH_4 水溶液 0.3 ml を加えて良く振盪. 室温において 30 min 放置. エーテル 2 ml $\times$ 4 で激しく振盪抽出. エーテル層を合し, 2N HCl 2 ml $\times$ 4 で振盪抽出. 2N HCl 層を合し, 5 ml 梨型フラスコ中で少量ずつ減圧下に濃縮乾固. 残渣を 0.05 ml の蒸留水に溶解し, 0.01 % *p*-アニシジンヘキサン溶液 400 μl を加え, さらに LiOH 粉末 0.1 g を加えて激しく振盪. そのヘキサン溶液 1.0 μl を GC に注入.

内部標準物質: *p*-アニシジン.

II の NaBH_4 - NiCl_2 による還元 10 ml の共栓試験管に試料水溶液⁹⁾ 1 ml (II を 10—90 μg 含有) ならびに 0.02 M NiCl_2 水溶液 0.5 ml, 2.6 M NaBH_4 水溶液 0.3 ml を加えてよく振盪. 室温において 30 min 放置. エーテル 2 ml $\times$ 4 を用いて激しく振盪抽出. エーテル層を合し, 無水 Na_2SO_4 で乾燥. エーテル層を 5 ml の梨型フラスコ中で少量ずつ減圧下に濃縮乾固. 残渣を 400 μl の 0.01 % *p*-アニシジン酢酸エチル溶液に溶解. その酢酸エチル溶液 1.0 μl を GC に注入.

内部標準物質: *p*-アニシジン.

検量線作成用試料の調製 I を蒸留水に溶解し, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度を有する溶液を調製し, また, II を蒸留水に溶解し, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 90 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度を有する溶液を調製して標準溶液とした. これらの標準溶液 1 ml を 10 ml の共栓試験管に加えて, 0.02 M NiCl_2 水溶液 0.5 ml, 2.6 M NaBH_4 水溶液 0.3 ml を加えて良く振盪. 以下, 前節と同様に処理, 得られたヘキサン溶

液又は酢酸エチル溶液 1.0 μl を GC に注入.

内部標準物質: *p*-アニシジン.

I ならびに II の NaBH_4 - NiCl_2 還元成績体の合成

trans- および *cis*-perhydrodipyrido [1,2-*a*:2',1'-*c*] pyrazine 混合物 (III)——I 1.00 g (0.0029 mole) を水 20 ml に溶解し, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.379 g (0.0058 mole) を加えて攪拌下に NaBH_4 1.10 g (0.029 mole) を加え, 室温に 30 min 放置. つぎに反応混液に 50 % NaOH 水溶液 10 ml を加え, エーテル 10 ml で 4 回抽出. エーテル層を合し, 無水 Na_2SO_4 で乾燥. エーテルを留去, 減圧蒸留によって bp 100—102°/6 mmHg の無色油状物質 (III) 0.22 g を得. 収率 38.9%. E, E' (Fig. 1) の GC-Mass スペクトル m/e : 83, 98, 111, 194. III のスチフィン酸塩, mp (decomp) 230°, 黄色結晶. Anal. Calcd. $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_{16}\text{N}_8$: C, 42.11%; H, 4.12%; N, 16.37%. Found: C, 42.15%; H, 4.18%; N, 16.54%.

1,1'-Dimethyl-4,4'-bipiperidine (IV)——II 1.00 g (0.0039 mole) を水 20 ml に溶解し, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.848 g (0.0078 mole) を加えて攪拌下に NaBH_4 1.47 g (0.039 mole) を加え, 室温に 30 min 放置. つぎに反応混液に 50 % NaOH 水溶液 10 ml を加え, エーテル 10 ml で 4 回抽出. エーテル層を合し, 無水 Na_2SO_4 で乾燥. エーテルを留去してベンゼンに溶解. ろ過後, ベンゼンを留去. mp 51—52°¹⁰⁾ の無色板状晶 0.69 g を得. 収率 90.4%. Anal. Calcd. $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2$: C, 73.41%; H, 12.32%; N, 14.27%. Found: C, 73.42%; H, 12.23%; N, 14.18%.

結果および考察

1. GC 測定条件の検討

I および II の NaBH_4 ・遷移金属塩 (塩化ニッケル) 系還元によって得られる還元成績体の GC による分離条件について種々検討を行なった.

前回,⁵⁾ I および II の NaBH_4 還元成績体の分離に用いた 5 % KOH +5 % PEG 6000 Gas chrom Z カラムは液相 (PEG 6000) が熱ならびにアルカリによって劣化しやすいため, 今回は比較的耐熱性の強い PEG 20 M を選び, 5 % KOH +5 % PEG 20 M Gas chrom Z カラムを用いた.

前回⁵⁾ の GC 条件 (5 % KOH +5 % PEG 6000 Gas chrom Z ガラスカラム: 4 mm $\times$ 2 m; 温度: 180°; キャリアーガス: 窒素, 50 ml/min) において, I の NaBH_4 還元成績体は, 主ピーク A の他に 4 個の副ピーク

9) 検液の液性を pH 6—7 に調整.

10) F. F. Blicke, E. B. Hotelling, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5099 (1954).

TABLE I. Peak-intensity of Reduction-products obtained by Reaction of Diquat (I) with NaBH_4 -Transition Metal Salt

Reductants	Peak ^{a)} of reduction-products					
	A (11.2)	B (9.1)	C (6.8)	E' (6.2)	D (5.7)	E (4.3)
NaBH_4	s	w	m	vw	vw	vw
$\text{NaBH}_4 + \text{CrCl}_3$	w	m	s	w	m	s
$\text{NaBH}_4 + \text{MnCl}_2$	s	vw	w	—	t	t
$\text{NaBH}_4 + \text{FeCl}_3$	—	vw	w	w	w	s
$\text{NaBH}_4 + \text{CoCl}_2$	—	vw	vw	m	vw	s
$\text{NaBH}_4 + \text{NiCl}_2$	—	—	—	w	—	s
$\text{NaBH}_4 + \text{CuCl}_2$	—	vw	m	m	vw	s
$\text{NaBH}_4 + \text{PdCl}_2$	—	t	t	w	t	s
$\text{NaBH}_4 + \text{AgNO}_3$	s	m	s	vw	w	w

a) Peak-intensity is represented by the following symbols; s: strong; m: medium; w: weak; vw: very weak; t: trace. The numeral in parentheses exhibits the retention time of gas chromatography. GC conditions: shown in Fig. 1

B, C, D, Eを生ずることを報じたが、その後、カラム温度を175°, そして窒素の流量を30 ml/min とすることにより、さらに1個の副ピーク E' が弱い強度で現われることが判明した。このピーク E' は5% KOH+5% PEG 20 M Gas chrom Z ガラスカラム (カラム: 3 mm×2m; カラム温度: 175°; キャリヤーガス: 窒素, 30 ml/min) においても、前回⁹⁾ のカラムと同様に検出された。

すなわち、この両カラム (5% KOH+5% PEG 6000 Gas chrom Z ならびに5% KOH+5% PEG 20 M Gas chrom Z) は NaBH_4 単独還元および NaBH_4 -遷移金属塩系還元における還元成績体の分離能ならびに感度において相違は認められず、いずれも安定した対照的なピークを与える。

2. NaBH_4 -遷移金属塩系還元における還元成績体の比較

I および II の完全還元については、酸化白金¹¹⁾ およびラネーニッケル¹²⁾ 等の触媒を用いる接触還元法があるが、煩瑣な装置とテクニックを必要とする。著者らは、還元条件について種々検討を加えた結果、 NaBH_4 -遷移金属塩系還元法をとりあげた。この還元法については、佐藤ら¹²⁾ がニトリル、アミド化合物、桂皮酸エステル等の還元を用いているが、第4級アミン塩の還元に関する研究は行なわれていない。

まず、遷移金属塩として塩化クロム、塩化マンガン、塩化第二鉄、塩化コバルト、塩化ニッケル、塩化第二

銅、塩化パラジウムおよび硝酸銀を選び、これらの金属塩の0.02 M 水溶液0.5 ml と2.6 M NaBH_4 水溶液0.3 ml を用いて、I の0.008%水溶液1 ml を還元した後、GCを行なったところ Table I の如き結果が得られた。

I の NaBH_4 単独還元においては、前節1で述べたように、還元成績体として主ピークAの他に5個の副ピーク B, C, D, E, E' を生ずる。これらの諸ピークは GC-Mass において、分子イオンピーク m/e として A, B=190 (M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2^+$, 二重結合2個); C, D=192 (M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2^+$, 二重結合1個); E, E'=194 (M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2$) を与え、E, E' は A, B, C, D の完全還元物質で互いに異性体の関係にあると考えられる (E, E' の構造については後節6で述べる)。すなわち、 NaBH_4 単独還元の場合と遷移金属添加の場合とを比較してみると、金属塩として塩化第二鉄、塩化コバルト、塩化ニッケル、塩化第二銅、塩化パラジウムを添加した場合には、ピークAは消失し、完全還元体のピークEが強い強度で保持時間 (t_R) 4.3 分に、E の異性体 E' は中等度以下の強度で t_R 6.2 分に出現した。これらの金属塩においては、いずれも圧倒的に完全還元物質のピークが得られ、一応目的が達せられた。今回の反応条件では、塩化ニッケルの場合にはピーク E, E' のみが現われ、他のピークの存在が認められなかったが、塩化第二鉄、塩化コバルト、塩化第二銅の場合にはピーク B, C, D が僅かに観察され、塩化パラジウムの場合にもピーク B, C, D が痕跡程度

11) R.C. Brian, R.F. Homer, J. Stubbs, R.L. Jones, *Nature*, **181**, 446 (1958).

12) T. Satoh, K. Nanba, S. Suzuki, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **19**, 817 (1971); 佐藤利夫, 鈴木芳夫, 鈴木周一, 薬誌, **90**, 1553 (1970); T. Satoh, S. Suzuki, Y. Suzuki, Y. Miyaji, Z. Imai, *Tetrahedron Letters*, **1969**, 4555.

に認められた。そして、塩化クロム、塩化マンガン、硝酸銀の場合には、他のピークの影響がかなり大きいことが観察された。これらの結果から、I から完全還元ピーク E, E' を得るためには NaBH_4 ・塩化ニッケル系還元が最も有効と考えられる。それゆえ、 NaBH_4 ならびに塩化ニッケルを使用して II の還元を I の場合と全く同様の反応条件で行なったところ、 NaBH_4 単独還元における 2 個のピーク A' (分子イオンピーク m/e : 192, M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2^+$, 二重結合 2 個), B' (分子イオンピーク m/e : 194, M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2^+$, 二重結合 1 個) は消失し、新たに完全還元成績体として 1 個のピーク C' (分子イオンピーク m/e : 196, M^+ : $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2$) が t_R 3.9 分に出現した。

このように I および II の NaBH_4 ・塩化ニッケル系還元によって、I の場合には 2 個の完全還元成績体 (ピーク E, E') に、II の場合には 1 個の完全還元成績体 (ピーク C') に導くことができ、GC 上のピークを単純化することに成功した。

Fig. 1 (a and b). Gas Chromatogram of the Perhydrogenated-Products derived from Diquat (I) (a) or Paraquat (II) (b)

(a) E, E': *trans*- or *cis*-Perhydrodipyrido [1,2-*a*:2',1'-*c*] pyrazine (III)

I.S.: internal standard substance (*p*-anisidine)

(b) C': 1,1-dimethyl-4,4-bipiperidine (IV)

I.S.: internal standard substance (*p*-anisidine)

GC conditions: 5% KOH+5% PEG 20 M on Gas chrom Z (60–80 mesh), glass-column (DMCS treated), i.d. 3 mm, length 2 m; injection temp.: 250°; column temp.: 175°; carrier gas: N_2 , 30 ml/min; sensitivity: 1×8 ; detector: HFID

なお、この NaBH_4 ・遷移金属塩系還元において、I および II の検液にこれらの金属塩を添加した後、 NaBH_4 を加えると、いずれの場合も、直ちに沈殿物 (FeCl_3 , CoCl_2 , NiCl_2 , CuCl_2 , PdCl_2 , AgNO_3 の場合は黒色沈

殿, CrCl_3 の場合は淡緑色沈殿, MnCl_2 の場合は乳白色沈殿) を析出し、盛んに水素を発生しながら反応が進行する。Paul ら¹³⁾ は NaBH_4 あるいは KBH_4 と塩化ニッケルおよび塩化コバルトとの反応によってホウ化ニッケルおよびホウ化コバルトを生成すると報じている。

3. 還元時間の検討

I の NaBH_4 ・塩化ニッケル系還元における主ピーク E と副ピーク E' の生成量ならびに生成比は、前節 2 の反応条件 (内部標準物質: *p*-アニシジン) で、それぞれ還元時間を 30 分間、1 時間、2 時間、12 時間にわたり観察したところ、各時間とも同様の値を示した。すなわち、I の 0.008% 水溶液 1.0 ml の場合、各々の反応時間において、内部標準物質のピークに対する還元物質のその比は E:1.35, E':0.35 であり、E'/E の値は 0.26 とほとんど一定であった。II の場合 (0.008% 水溶液 1.0 ml) も、還元物質 C' の生成量は上記の各反応時間において、ほとんど一定の値 (内部標準物質 *p*-アニシジンのピークに対するピーク C' の比高 2.04) を示した。したがって、 NaBH_4 ・塩化ニッケル系還元における還元時間は、この反応条件において 30 分間で充分である。この還元反応において、 NaBH_4 (2.6 M 水溶液 0.3 ml) ならびに塩化ニッケル (0.02 M 水溶液 0.5 ml) は大過剰を用いており、I および II の 0.008% 水溶液 1 ml の場合には還元剤の量を 1/3 (2.6 M NaBH_4 0.1 ml および 0.02 M NiCl_2 0.17 ml) に減らしても充分反応は完結し、還元物質の生成量 (内部標準物質に対するピーク比) は変わらない。

Soderquist ら⁷⁾ および Shahamat⁸⁾ の酸化白金触媒を用いる接触還元法においては、I および II の還元反応の完結に 1 時間以上を要することを報告している。また、Shahamat の報告では、I の還元の場合、第一ピーク E の高さは第二ピーク E' のそれより低く、著者らの還元の場合とは E, E' の生成比が逆の関係にある。

なお、 NaBH_4 ・遷移金属塩 (塩化ニッケル) 系における反応機構については目下検討中であるが、本反応は反応の初期に生成するホウ化ニッケル¹³⁾の触媒作用により NaBH_4 の還元が増強するものと考えられる。したがって、検液の液性がアルカリ性に傾くと水酸化ニッケルを生じ、ホウ化ニッケルの形成を妨害する。また、酸性においては NaBH_4 の分解をきたすため、検液はあらかじめ中性 (pH 6–7) 付近に調整しておく必要がある。

4. Diquat (I) および Paraquat (II) の定量

I ならびに II の還元成績体のピーク (I については主

13) R. Paul, P. Buisson, Joseph N., *Ind. Eng. Chem.*, **44**, 1006 (1952).

Fig. 2. Calibration Curve of I (based on the perhydrogenated-product (III) (peak E in Fig. 1) of I)

Fig. 3. Calibration Curve of II (based on the perhydrogenated-product (IV) (peak C' in Fig. 1) of II)

ピーク E) を基として 内部標準物質に *p*-アニジンを 用い、検量線を作成したところ、I の場合は 0.001—0.015 % 水溶液 (10—150 μg/ml) の範囲において (Fig. 2. 参照)、II の場合には 0.001—0.009 % 水溶液 (10—90 μg/ml) の範囲において (Fig. 3. 参照) 直線的関係が得られ、きわめて高い再現性を示した。したがって、本法によれば、この濃度範囲において定量が可能である。

ここで、II の場合には後節 6 の合成実験で明らかなように、完全還元物質 (IV) が好収率で得られ、定量値に支障をきたすことはなかったが、I の場合には NaBH₄・塩化ニッケル系還元によって生じた完全還元物質 (III) が揮発性のため、III のエーテル抽出液を濃縮する際に損失し、検量線に若干のバラツキが見られた。それゆえ、III のエーテル抽出液から 2N 塩酸にて III を塩酸塩として

抽出したのち、減圧濃縮し、その塩酸塩残渣に一定量の *n*-ヘキサン (内部標準物質 *p*-アニジンを含有) を層積させ、ついで LiOH 粉末を加え遊離した III を直ちに *n*-ヘキサン層に転溶させ GC に注入した。その結果、上述の如く I の 10—150 μg/ml の範囲で再現性のある検量線を得ることができた。

5. I および II の混合物の分析

I および II の混合製剤の分析に関しては、前報⁵⁾ の NaBH₄ 還元において両者の定量が可能なることを述べたが、今回の NaBH₄・塩化ニッケル系還元においても、前節 1 の GC 条件 (カラム温度: 175°) において、I および II の混合物の完全還元物質は *t*_R=C' (3.9 分)、E (4.3 分)、E' (6.2 分) の順序で現われ、合目的的に各成分に分離された。すなわち、この GC 条件によって I および II の混合製剤の分析が可能なることを見出した。

Fig. 4. Gas Chromatogram of the Mixture of the Perhydrogenated-products derived from Diquat (I) and Paraquat (II)

GC conditions: shown in Fig. 1

Soderquist ら、および Shahamat は、彼等の GC 条件では、いずれも I の完全還元物質の第 1 ピーク (E に相当) と II の完全還元物質 (C' に相当) のピークとの保持時間がほとんど同一で、互いに重なり合うため全者の分離に成功していない。

6. I および II の還元成績体の化学構造

I および II の NaBH₄・塩化ニッケル系還元によって得られる還元成績体の化学構造をつぎのようにして検討した。

まず, I を水溶液中で NaBH_4 および NiCl_2 を用いて還元し, 生成した反応物をエーテルにて抽出後, 減圧蒸留することによって bp 100–102°/6 mmHg の無色油状物質 (III) を 38.9% の収率で得た. この場合, 収率の良くなかった原因については, この油状物質 (III) は前節において述べたように非常に揮発性なため, 濃縮中および減圧蒸留中の揮散によって損失したものと思われる. III の GC における t_R (4.3 分および 6.2 分) は, E, E' に合致する. また, GC-Mass において E, E' は, いずれも完全還元体に相当する親ピーク m/e ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2^+$, M^+) 194 を与え, その他のフラグメントイオンピーク m/e においても E, E' は全く同様のパターンを示すところから, 両者は Chart 1 に示すように I の完全還元体 perhydro dipyrido [1,2- $a:2',1'-c$] pyrazine の *trans*-, *cis*- 異性体と推定される. なお, 上記油状物質 (III, *trans*- および *cis*- 体混合物) は, スチフニン酸塩として mp (decomp.) 230° の淡黄色結晶を与え, その元素分析値は完全還元物質 ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2$) のスチフニン酸塩に一致した. 著者らの還元における perhydrodipyrido [1,2- $a:2',1'-c$] pyrazine の *trans*-, *cis*- 異性体の生成は, 酸化白金触媒接触還元法における Soderquist らおよび Shahamat の観察と同様であるが, E, E' のいずれのピークが *trans*- または *cis*- 体であるかについては不明であり, 今後の研究課題としたい.

II の場合には, II を水溶液中で NaBH_4 および NiCl_2 を用いて還元し, 生成した反応物のエーテル抽出物をベンゼンにて精製すると mp 51–52°¹⁰⁾ の無色板状晶 (IV) が 90.4% の好収率で得られた. この物質 (IV) の GC における t_R (3.9 分) はピーク C' に合致し, Mass スペクトルにおいて II の完全還元体に相当する親ピーク m/e ($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2^+$, M^+) 196 を示し, 元素分析値は $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2$ に一致した. したがって, IV を 1,1'-dimethyl-4,4'-

bipiperidine と同定した. すなわち, II の場合も, 酸化白金触媒接触還元法の場合と全く同様, NaBH_4 ・塩化ニッケル還元によって完全還元物質 (IV) を与えた.

結 び

今回, NaBH_4 ・遷移金属系還元による I および II の完全還元化について検討した結果, NaBH_4 ・塩化ニッケル系還元法が最も有効であることを確認した. この方法によって I および II を容易に完全還元体 (III, IV) に導くことができ, 前報⁵⁾ の NaBH_4 単独還元の際に観察された GC 上の複雑なピークの単純化に成功した. すなわち, 5% KOH+5% PEG 20M Gas chrom Z を充填したガラスカラムを用いる GC 条件 (カラム温度: 175°; キャリアガス: N_2 , 30 ml/min) において, I の場合には, 完全還元体 (III) は主ピーク E および副ピーク E' を与え, II の場合には, 完全還元体 (IV) はピーク C' を与えた. これらの還元成績体ピークを基にして, I の 10–150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 水溶液および II の 10–90 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 水溶液各々約 1 ml から容易にそれらを定量することができる. また, この GC 条件によって, I および II の混合製剤の分析も可能である.

I ならびに II の還元物質は GC-Mass スペクトルおよび元素分析によって perhydrodipyrido [1,2- $a:2',1'-c$] pyrazine の *trans*- および *cis*- 異性体混合物 (III) ならびに 1,1'-dimethyl-4,4'-bipiperidine (IV) として同定した. 本法では酸化白金を触媒とする接触還元^{7,8)} の場合と全く同様の完全還元体を得られた.

なお, 本法は接触還元法 (酸化白金触媒) に比較し, 前回⁵⁾ の NaBH_4 単独還元法と同様, 煩瑣な装置を要せず, 取扱上比較的安全で廉価な NaBH_4 および NiCl_2 を用いることにより簡単に還元反応を行なうことができ, 日常の分析業務にとって極めて有用である.