

157. Bestimmung von Nicotinsäure-amid in tierischen Organen

von P. Karrer und H. Keller.

(31. VIII. 39.)

In 2 früheren Mitteilungen¹⁾ hatten wir über Nicotinsäure-amidbestimmungen berichtet, die auf der kolorimetrischen Messung des gelben Derivates beruhen, das bei der Einwirkung von Natronlauge auf das Anlagerungsprodukt von 2,4-Dinitro-chlorbenzol an Nicotinsäure-amid besteht. Bei der Ermittlung des Nicotinsäure-amidgehalts von Organextrakten ergaben sich gewisse Schwierigkeiten, indem das frühere benutzte Extraktionsverfahren mit Benzol zur vollständigen Extraktion des Nicotinsäure-amids nicht genügte; unsere früheren Angaben über den Nicotinsäure-amidgehalt von Muskelfleisch, Pferdeleber und Pferdeniere sind daher zu niedrig. Es erwies sich als notwendig, das im wässerigen, konzentrierten Organauszug vorhandene Nicotinsäure-amid durch kontinuierliche Extraktion mit Butylalkohol erschöpfend auszuziehen und erst nachher aus dem Rückstand des Butylalkoholextraktes mit einem Gemisch von Benzol und Methanol das Nicotinsäure-amid herauszuholen. Dieses verbesserte Extraktionsverfahren ist von *v. Euler, Schlenk, Melzer* und *Högberg* empfohlen worden²⁾.

Eine weitere Verbesserung des Bestimmungsverfahrens erreichten wir dadurch, dass wir den trockenen Extraktionsrückstand nicht mehr direkt mit Dinitro-chlorbenzol verschmelzen, sondern ihn zusammen mit Dinitro-chlorbenzol in Methanol lösen, diese Lösung verdampfen und den Rückstand des Gemisches schmelzen. Durch dieses Verfahren wird eine einheitliche Schmelze und grössere Genauigkeit der Analysenergebnisse erzielt.

Die verbesserte Methode besteht also jetzt aus folgenden Operationen:

1. Extraktion des Organmaterials. Die fein gehackte Substanz wird mit der dreifachen Menge Wasser dreimal je eine halbe Stunde ausgekocht. Die vereinigten Extrakte befreit man, wenn nötig, durch 2—3maliges Ausschütteln mit wenig Äther von begleitenden Fettresten.

2. Abspaltung des Nicotinsäure-amids aus dem Coferment. Man gibt zu dem wässerigen Organextrakt Schwefelsäure, bis die Säurekonzentration 0,1-n. erreicht ist und hält hierauf die Flüssigkeit während einer halben Stunde in gelindem Sieden. Hier-

¹⁾ Helv. **21**, 463, 1170 (1938).

²⁾ *H. v. Euler, F. Schlenk, L. Melzer, B. Högberg*, Z. physiol. Ch. **258**, 212 (1939).

auf wird die Flüssigkeit mit einer heissen Lösung von Baryt neutralisiert (Lackmus) und das ausgefallene Bariumsulfat abgenutscht und mit wenig heissem Wasser zweimal ausgewaschen. Man engt die vereinigten Filtrate auf 50—100 cm³ ein und extrahiert sie im Flüssigkeitsextraktionsapparat während 5—6 Stunden im Vakuum mit Butylalkohol. Das vom Butylalkohol extrahierte Nicotinsäureamid, das nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels zurückbleibt, ist mit mitextrahierten anderen Stoffen vermengt.

Der Rückstand wird deshalb zweimal mit wenig Wasser ausgekocht, der Extrakt filtriert und das Filtrat erneut im Vakuum zur Trockene gebracht. Zur Erzielung einer raschen, möglichst vollständigen Trocknung ist es zweckmässig, den Rückstand in einer Mischung von absolutem Methanol und trockenem Benzol zu lösen, wenn nötig nochmals zu filtrieren und das Filtrat im Vakuum zur Trockene zu verdampfen.

3. Herstellung der quartären Pyridiniumverbindung. Der völlig trockene Rückstand wird nun in einer methylalkoholischen Lösung von Dinitro-chlorbenzol, die etwa die dreifache Gewichtsmenge Dinitro-chlorbenzol, bezogen auf den Rückstand, enthält, gelöst und nachher das Lösungsmittel abdestilliert. Dadurch erreicht man eine ziemlich homogene Durchmischung des Dinitro-chlorbenzols und Nicotinsäure-amids. Das trockene Gemenge wird nun eine halbe Stunde auf dem Wasserbad geschmolzen, die Schmelze in 80-proz. Alkohol aufgelöst, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und nach Zusatz einiger Tropfen 10-proz. alkoholischer Kalilauge im Stufenphotometer kolorimetriert.

So wurden beispielsweise folgende Nicotinsäure-amidwerte in frischen Materialien gefunden:

Muskelfleisch Ratten	50,8	γ/g
„ Pferd	46,6	γ/g
„ Rind	38,3	γ/g
Leber Pferd	160,0	γ/g
„ Rind	93,0	γ/g
Nieren Rind	194,0	γ/g
Bäckerhefe	120,0	γ/g

In länger gelagerten Fleischarten war der Nicotinsäure-amidgehalt beträchtlich geringer.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.