

Identifizierung und Unterscheidung von H₂-Antihistaminika und Thioharnstoffderivaten durch Farbreaktionen mit Kupfer(II)-Salzen in stark saurer Lösung

Lidia Baumann, Kathrin Lutz, Franz Bracher*

Department Pharmazie – Zentrum für Pharmaforschung, Ludwig-Maximilians-
Universität München, Butenandtstr. 5-13, 81377 München, Deutschland

Zusammenfassung

Durch Farbreaktionen mit Kupfer(II)-Salzen in stark saurer Lösung gelingt die Unterscheidung der vier H₂-Antihistaminika Cimetidin, Ranitidin, Nizatidin und Famotidin, sowie eine Unterscheidung von Propylthiouracil von anderen Thioharnstoffderivaten.

Schlagwörter

Farbreaktionen, H₂-Antihistaminika, Thioether, Propylthiouracil, Thioharnstoff-
derivate

Einleitung

Zum Nachweis von Arzneistoffen mit Thioetherfunktion stehen nur sehr wenige Farbreaktionen zur Verfügung, z. B. die Iod-Azid-Reaktion zum Nachweis von Substanzen mit niedervalentem Schwefel [1] oder Mineralisierungsreaktionen (reduktiv mit elementarem Natrium zu Sulfid, oxidativ zu Sulfat). Allerdings erlauben diese Methoden keine Unterscheidung zwischen Thioethern und Thiolen oder Disulfiden. Im Jahr 1939 beschrieben Kolb und Toennies [2], dass Methionin, die einzige proteinogene Aminosäure mit einer Thioetherfunktion, von allen

anderen Aminosäuren durch Farbreaktion mit Kupfer(II)chlorid in konzentrierter Salzsäure unterschieden werden kann. Die Autoren proklamierten nach Versuchen mit weiteren Thioethern, dass eine $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-$ Partialstruktur essenziell für diese Farbreaktion ist. Eine Modifikation dieser Farbreaktion (Kupfer(II)sulfat in konzentrierter Schwefelsäure) wurde in diversen Arzneibüchern (DAB 8, ÖAB 1981, USP 21, Japan. Arzneibuch 1992) zur Identifizierung von Methionin eingesetzt. Dies veranlasste uns zu untersuchen, ob auch neuere Arzneistoffe durch Farbreaktion mit Kupfer(II)-Salzen in stark saurer Lösung identifiziert werden können. Unser erstes Augenmerk lag dabei auf den H_2 -Antihistaminika Cimetidin (**1**), Ranitidin (**2**), Nizatidin (**3**) und Famotidin (**4**) (Fig. 1), die allesamt die o. g. strukturellen Anforderungen erfüllen.

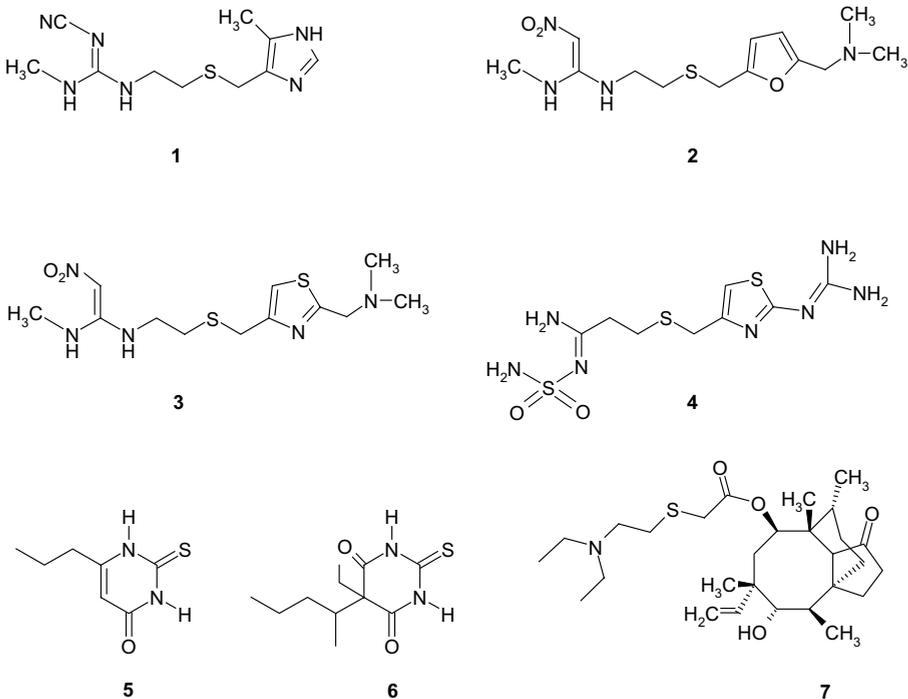


Fig. 1. Strukturen der untersuchten Arzneistoffe

Ergebnisse und Diskussion

H₂-Antihistaminika

Vorversuche mit Methionin bestätigten die in Lit. [2] und den Arzneibüchern beschriebenen Farbreaktionen. Methionin gibt mit Kupfer(II)chlorid /konz. Salzsäure (Reagenz I) eine orange Färbung, die auf Zusatz von 30%iger Wasserstoffperoxid-lösung wieder verschwindet (Farbwechsel zum Hellgrün der Kupfer(II)-chlorid-Lösung). Grund für diese Entfärbung dürfte eine Oxidation des Thioethers zu einem Sulfoxid oder Sulfon sein [2]. Mit Kupfer(II)sulfat in konzentrierter Schwefelsäure (Reagenz II) gibt Methionin eine Gelbfärbung. Überraschenderweise zeigen die vier untersuchten H₂-Antihistaminika unterschiedliches Verhalten gegenüber den beiden Reagenzien (Tab. 1). Cimetidin (**1**) gibt mit Reagenz I eine Gelbfärbung, die auf Zusatz von Wasserstoffperoxidlösung wieder verschwindet, gibt aber keine Färbung mit Reagenz II. Ranitidin (**2**) färbt sich mit Reagenz I orange, auch diese Färbung verschwindet nach Zugabe von Wasserstoffperoxidlösung. Mit Reagenz II entsteht eine Gelbfärbung. Famotidin (**3**) reagiert nicht mit Reagenz I und gibt mit Reagenz II erst nach ca. 10 Minuten eine Gelbfärbung, während Nizatidin (**4**) mit keinem der beiden Reagenzien eine Farbreaktion gibt. Die Farbreaktionen von Cimetidin und Ranitidin mit Kupfer(II)chlorid /konz. Salzsäure fallen negativ aus, wenn man die Ansätze 1:1 mit Wasser verdünnt, die Reaktionen von Ranitidin und Famotidin mit Reagenz II bleiben bei 1:1-Verdünnung mit Wasser erhalten, verdünnt man aber mit vier Teilen Wasser, wird der Nachweis bei beiden Substanzen negativ.

Somit können durch Kombination der beiden Reagenzien I und II die vier genannten H₂-Antihistaminika eindeutig unterschieden werden. Analoge Experimente wurden auch mit Lösungen anderer Salze (Cobalt(II)chlorid, Mangan(II)chlorid, Eisen(III)-chlorid, Nickel(II)chlorid, Aluminium(III)chlorid) in konzentrierter Salzsäure durchgeführt, allerdings trat in keinem der Fälle eine Farbreaktion auf.

Arzneistoff	Reagenz I (CuCl ₂ /HCl)	nachträgliche Zugabe von H ₂ O ₂	Reagenz II (CuSO ₄ /H ₂ SO ₄)
Methionin	orange	Entfärbung	gelb
Cimetidin (1)	gelb	Entfärbung	-
Ranitidin (2)	orange	Entfärbung	gelb
Famotidin (3)	-	-	nach 10 Min. gelb
Nizatidin (4)	-	-	-
Propylthiouracil (5)	rotbraun	Entfärbung	orange
Thiopental (6)	-	-	gelb
Thioharnstoff	-	-	gelb

Tab. 1. Farbreaktionen mit Reagenz I und Reagenz II

Thioharnstoffderivate

Um die Spezifität der oben beschriebenen Farbreaktion zu überprüfen, wurden auch weitere schwefelhaltige Arzneistoffe mit den Reagenzien I und II umgesetzt. Ein interessantes Ergebnis wurde dabei mit Thioharnstoffderivaten erzielt. Propylthio-uracil (5) gibt mit Reagenz I eine intensive rotbraune Färbung, die nach Zugabe von Wasserstoffperoxidlösung wieder verschwindet, mit Reagenz II entsteht eine Orangefärbung (vgl. hierzu die Farbreaktionen in ÖAB 1981 und Ph. Helv. VI mit Kupfer(II)sulfat in schwach alkalischer Lösung). Im Gegensatz hierzu geben weder Thioharnstoff noch Thiopental (6) eine Farbreaktion mit Reagenz I; mit Reagenz II färben sich beide Substanzen gelb (Tab. 1). Somit lässt sich auf diese Weise Propylthiouracil gut von anderen Thioharnstoffderivaten unterscheiden. Diese Farb-reaktion ist deutlich spezifischer als literaturbekannte Verfahren mit Kupfer(II)sulfat/ Diethylamin [4] oder Cobaltacetat/Isopropylamin [5].

Andere schwefelhaltige Arzneistoffe

Schließlich wurden noch zahlreiche andere schwefelhaltige Arzneistoffe mit den beiden Reagenzien umgesetzt. Das Tierarzneimittel Tiamulin (7) enthält eine Thioethergruppe und erfüllt die in Lit. [2] postulierten Voraussetzungen für eine Farbreaktion mit Reagenz I. Überraschenderweise fiel die Farbreaktion mit Reagenz I negativ aus, mit Reagenz II hingegen entstand eine tiefrote Färbung. Allerdings ist anzumerken, dass Tiamulin auch schon mit konzentrierter Schwefelsäure (ohne Kupfersalz) die gleiche positive Reaktion gibt [3]. Einige weitere schwefelhaltige Arzneistoffe (Diltiazem, Thiaminhydrochlorid, Xylazin) geben Gelbfärbungen mit Reagenz II, während Benzylpenicillin, Captopril und Acetylcystein mit keinem der beiden Reagenzien reagieren.

Diskussion

Farbreaktionen von Arzneistoffen mit Kupfer(II)-Salzen wurden bisher überwiegend in alkalischer Lösung durchgeführt (z. B. Chen-Kao-Reaktion auf Aminoalkohole [1], Identifizierung von Propylthiouracil nach ÖAB 1981 und von Thiopental nach ÖAB 1960). Die hier beschriebenen Farbreaktionen mit Kupfer(II)-Salzen in stark saurer Lösung eröffnen eine neue Möglichkeit zur Identitätsprüfung. Diese Methoden erlauben klare Differenzierungen in der Gruppe der H₂-Antihistaminika und der Thioharnstoffderivate. Hinsichtlich der Reaktion mit Reagenz I (Kupfer(II)chlorid/ konz. Salzsäure) wurde jedoch festgestellt, dass nicht alle Substanzen, die die von Kolb und Toennies [2] postulierten strukturellen Voraussetzungen erfüllen, auch tatsächlich die Farbreaktion geben (siehe Nizatidin und Tiamulin).

Experimentelles

Arzneistoffe

Nizatidin wurde aus Nizac[®] Lilly Kapseln (Lilly), Famotidin aus Famobeta[®] Tabletten (betapharm) isoliert. Tiamulin (Binder GmbH), Xylazin (Bayer AG). Alle anderen Arzneistoffe wurden von Sigma-Aldrich bezogen.

Reagenzien

Reagenz I: 0,1 M Lösung von Kupfer(II)chlorid in konzentrierter Salzsäure (hellgrüne Lösung).

Reagenz II: Gesättigte Lösung von Kupfer(II)sulfat in konzentrierter Schwefelsäure (farblos).

Durchführung der Farbreaktionen

Etwas 10 mg des Arzneistoffs werden in einem Mikroreagenzglas mit 0,2 ml des Reagenzes versetzt.

Die Spezifizierung bei den Reaktionen mit Reagenz I erfolgt durch

- a) Verdünnen mit 0,2 bzw. 0,8 ml Wasser
- b) Zugabe von einigen Tropfen 30%iger Wasserstoffperoxidlösung.

Diese Untersuchungen wurden im Rahmen des Praktikums "Wahlpflichtfach Pharmazeutische Chemie" für Studierende der Pharmazie durchgeführt.

Literatur

- [1] Auerhoff G, Kovar A, Identifizierung von Arzneistoffen, 6. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1998.
- [2] Kolb J., Toennies H, Methionine studies IV. A color reaction of methionine, J. Biol. Chem. 1939; 131:401-407.
- [3] Bracher F, Arzneibuch-Kommentar, Kommentare zu Tiamulin und Tiamulinhydrogenfumarat, Ph. Eur. 5.0, Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2005.
- [4] Raventós J, Method for the estimation of barbituric and thiobarbituric acids in biological materials, Brit. J. Pharmacol. 1946; 1:210-214.
- [5] Holt W L, Mattson L N, Spectrophotometric determination of uracil, thiouracil, and related compounds, Anal. Chem. 1949, 21:1389-1391.