

УДК 664.959

## ПОЛУЧЕНИЕ ГЛЮКОЗАМИНА ИЗ ПАНЦИРЕЙ КРЕВЕТОК И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Н. Е. НИКОЛАЕВА, ВНИРО, В. Р. СОБОЛЕВ и И. С. МОЛОЧАЕВА, ЦИУврачей

Глюкозамин (2-дезоксид-2-амино-*d*-глюкоза) — природный аминосахар. Он является структурной единицей хитина — полисахарида, широко распространенного в природе. Хитин — главная составная часть наружных покровов ракообразных.

В литературе имеются сообщения об использовании глюкозамина в медицине. Так, Оэриу и его соавторы [5] обращают внимание на свойство глюкозамина усиливать всасывание некоторых антибиотиков в организме, вводимых перорально совместно с глюкозамином, а также указывают на его пролонгирующее действие по отношению к некоторым лекарствам. Адамс [4] предлагает применять для лечения желудочно-кишечного тракта ацетилсалицилат глюкозамина.

Известно, что метил-*l*-глюкозамин участвует в построении антибиотического вещества стрептомицина [3 и 5].

Чтобы найти метод рационального использования хитинсодержащего сырья, а также учитывая интерес медицинских учреждений к глюкозамину, во ВНИРО в 1965 г. начали получать этот препарат, а попутно и хитин из панцирей ракообразных и в первую очередь креветок, промысел которых у нас интенсивно развивается.

В связи с тем что глюкозамин в нашей стране не производится, возникла необходимость проверить известные способы получения глюкозамина из различного хитинсодержащего сырья, уточнить некоторые технологические режимы, учитывая специфику сырья (панцири креветок), и уточнить технологию получения глюкозамина из этого сырья.

**Характеристика сырья.** Для получения глюкозамина использовали предварительно сваренных (в течение 5—10 мин) мороженых креветок Персидского залива *Penaeus semisulcatus* de Naap, заготовленных промысловым судном «Запрыбы» БМРТ «Лири» в декабре 1964 г. Креветок хранили при температуре минус 12—14° С\*.

Длина этих креветок 10—16 см (средняя 13), вес 23—29 г (средний 26). Съедобная часть (шейки) составляет около 47%, отходы около 52%. Из них на долю головогрудей приходится примерно две трети, а на долю панцирного покрова брюшка — треть. Средний выход воздушно-сухих отходов (от веса вареных креветок) — 15%.

\*) При освоении методов получения глюкозамина в нескольких модельных опытах использовали случайное, пестрое по качеству и составу сырье: дальневосточных креветок — шримса и медвежонка, берингоморских и черноморских креветок.

В сырье (панцири), полученном глюкозамине и в некоторых из промежуточных продуктов, в том числе хитине, определяли содержание воды, жира, золы и общего азота\* (табл. 1).

Таблица 1

Химический состав воздушно-сухих панцирей креветок Персидского залива (в % на сухое вещество)

Панцири	Жир	Общий азот	Минеральные вещества	
			сумма	в том числе кальция (катион)
Всего тела . . . . .	4,4	8,7	25,9	7,9
Головогруды . . . . .	4,7	8,9	25,6	7,0
Брюшка . . . . .	1,5	8,6	26,7	8,4
Всего тела медвежонка	4,2	6,6	28,0	—

Наибольшим количеством минеральных веществ и кальция отличается панцирный покров брюшка, наименьшим — панцирный покров головогрудей, в которых находится значительно больше (примерно в три раза) жира и несколько выше содержание азота, чем в панцирях брюшка. Химический состав панцирей всего тела креветок занимает промежуточное положение.

**Выделение хитина и получение глюкозамина.** Мы выделяли хитин и получали глюкозамин дифференцированно из головогрудей, панцирей брюшка и целиком из всего панцирного покрова креветок Персидского залива.

Способы выделения хитина и получения глюкозамина из хитиновых покровов ракообразных, жуков, а также из грибов достаточно подробно описаны в литературе [1, 2 и 5].

Процесс получения хитина в чистом виде можно разделить на три этапа: деминерализация панцирей, депротенизация хитинового покрова и очистка хитина от красящих веществ.

В том случае, когда хитин предназначен для получения глюкозамина, очищать его от красящих веществ нет необходимости.

Для получения солянокислого глюкозамина хитин подвергают гидролизу соляной кислотой до глюкозамина и уксусной кислоты, затем раствор солянокислого глюкозамина осветляют активированным углем, фильтруют, упаривают и выдерживают на холоде. Выделившиеся кристаллы солянокислого глюкозамина отделяют от раствора и очищают перекристаллизацией из раствора спирта.

Для деминерализации панцирей применяли 5%-ную соляную кислоту при соотношении раздробленных воздушно-сухих панцирей и кислоты 1:4. Деминерализация при комнатной температуре и систематическом перемешивании продолжалась примерно 20 ч. Деминерализованный хитиновый покров промывали водой до pH ~ 6, отделяли воду центрифугированием или прессованием и при необходимости высушивали на воздухе. Выход деминерализованных воздушно-сухих панцирей составлял около 55%.

**Депротенизация хитинового покрова.** Сразу после удаления избытка воды прессованием сырые деминерализованные панцири обрабатывали раствором едкого натра, концентрацию которого в смеси в разных опытах меняли от 3 до 10%. Соотношение сырых панцирей и раствора щелочи также варьировали от 1:5 до 1:1. Полностью все белки раство-

\* Аналитическую работу выполняла техник Л. В. Сысоева.

рялись через 3 ч при периодическом перемешивании массы и температуре 95—96° С.

Щелочной раствор охлаждали до комнатной температуры и хитин отделяли от раствора белков центрифугированием, промывали водой до рН~6 и высушивали на воздухе. Образцы хитина, получаемые в опытах, имели окраску от светлой сиренево-розовой до ярко-розовой.

Средний выход хитина из панцирей креветок Персидского залива составил (в %): из головогрудей 9,8; из брюшка — 18,4 и из всего тела — 13,7, т. е. чем панцири содержат меньше жира и белков, тем выше выход хитина. В предварительных опытах из голов очень мелких черноморских креветок было выделено 6,1% хитина; из панцирей всего тела креветок: дальневосточных шримса и медвежонка и беринговоморских выделено соответственно 20; 17 и 11,2%.

В табл. 2 показан химический состав нескольких образцов хитина (неочищенного и очищенного от красящих веществ), выделенного из панцирей креветок Персидского залива.

Таблица 2  
Химический состав хитина из панцирей  
креветок (в %)

Вода	Зола	Общий азот	Азот, на сухое обеззоленное вещество
7,1	Неочищенный 1,1	5,8	6,34
6,4	1,0	5,8	6,24
5,3	Очищенный 0,7	6,3	6,68

Примечание. Теоретическое содержание азота для молекулы хитина  $(C_8H_{13}O_5N)_n$  — 6,89%.

Как видно из табл. 2, содержание азота в хитине, выделенном из панцирей креветок, несколько ниже теоретически рассчитанного. Однако наши данные близки данным, полученным Даниловым и Плиско [1]. В выделенном ими и очищенном от красящих веществ хитине из дальневосточных крабов и местных раков было от 6,24 до 6,73% азота. Эти авторы очищали хитин от красящих веществ путем их экстракции смесью равных количеств спирта и бензола.

Мы пользовались способом, описанным Демьяновым и Прянишниковым [2], по которому для полного разрушения красящих веществ хитин обрабатывали 10%-ным раствором марганцевокислого калия, затем щавелевой кислотой и слабым раствором соляной кислоты. Полученный при этом почти снежно-белый хитин промыли последовательно водой, спиртом, эфиром и высушили. Этот образец хитина испытывали в Центральном институте усовершенствования врачей как адсорбент лизоцима.

*Гидролиз хитина.* Из всех образцов хитина был получен глюкозамин по методу Эмиля Фишера, модернизированному Оэриу, Лупу и др. [5]. Гидролиз хитина, как упоминалось выше, осуществляли соляной кислотой удельного веса от 1,15 до 1,19 при соотношении хитина и кислоты от 1 : 5 до 1 : 10.

В табл. 3 приводятся средние данные о химическом составе и выходе солянокислого глюкозамина, полученного из воздушно-сухих панцирей креветок Персидского залива.

Химический состав глюкозамина и его выход

Выход глюкозамина, % от веса		Содержание, %					
хитина	панцирей	воды	зола	общего азота	глюкозамина (N×15,41)		
Из панцирей всего тела							
50,0 } 65,7 } 71,6 }	62,4	7,6 } 8,4 } 9,3 }	8,4	0,1 0,9 0,9	0,01 0,04 0,02	6,2 5,9 6,1	95,5 90,9 94,0
Из головогрудей							
67,5 } 52,7 }	60,1	5,4 } 5,4 }	5,4	0,6 0,3	Нет Нет	6,0 5,8	92,5 89,4
Из брюшка							
67,3 } 61,0 }	64,1	13,0 } 10,8 }	11,9	0,2 0,3	Нет Нет	6,0 6,0	92,5 92,5

Из табл. 3 видно, что средний выход глюкозамина от веса хитина, выделенного из панцирей разных частей тела креветок, практически одинаков (60—64%). Наибольший выход глюкозамина (около 12%) получен из панцирей брюшка, наименьший из головогрудей, т. е. выход глюкозамина находится в прямой зависимости от выхода хитина.

Наши данные о выходе хитина и глюкозамина согласуются с данными румынских исследователей (Оэриу, Лупу и др. [5]). Так же, как и они, мы считаем наиболее рациональным следующий режим гидролитического расщепления хитина до глюкозамина и уксусной кислоты: концентрация соляной кислоты — 36—38%, температура около 95°С, соотношение сухого хитина и кислоты (по весу) 1:5 и продолжительность процесса не менее 5 ч.

Технологические режимы выделения хитина из панцирей требуют дальнейшего уточнения.

**Биологические опыты.** Влияние глюкозамина на всасывание тетрациклина в организме человека и животных изучали в Центральном институте усовершенствования врачей.

В опытах на мышах определяли влияние различных доз глюкозамина на всасывание тетрациклина при пероральном введении препаратов. Установлено, что введение тетрациклина с глюкозамином в соотношении 2:1 (3 и 1,5 мг) и 1:2 (3 и 6 мг) не оказывает существенного влияния на уровень антибиотика в сыворотке крови на протяжении всего периода исследования. При введении тетрациклина с равным количеством глюкозамина (1:1) наблюдалось резкое увеличение уровня антибиотика, начиная с третьего и, особенно, с шестого часа с момента введения препаратов. Так, через 3, 6, 12 и 24 ч уровень тетрациклина в опытной группе составлял 8,5; 6,9; 4,7 и 3 ед/мл, в то время как у контрольных животных он был значительно ниже — 4,2; 1,3; 0,7 и 0,33 ед/мл.

Кроме того, в случае применения тетрациклина с глюкозамином антибиотик обнаруживали в сыворотке крови белых мышей более длительное время, чем при введении одного тетрациклина. Если в первом случае терапевтические концентрации антибиотика были в сыворотке крови даже спустя 72 ч с момента введения препаратов, то во втором случае антибиотик сохранялся лишь в течение 24 ч.

Результаты, полученные в опытах на белых мышах, были подтверждены в экспериментах на собаках. Так, при введении собакам 20 000 ед/кг тетрациклина с равным количеством глюкозамина концентрация антибиотика в сыворотке крови опытных животных через 3, 6, 12 и 24 ч составляла 5,4; 4,7; 2,2 и 1,2 ед/мл против 3,5; 1,15; 0,32 и 0,12 ед/мл — в сыворотке крови контрольных животных.

Кроме того, введение тетрациклина с глюкозамином увеличивало время нахождения антибиотика в крови собак с 24 до 72 ч включительно.

Особенно интересно, естественно, изучить влияние глюкозамина на всасывание тетрациклина в организм человека. Поэтому после опытов на животных определяли концентрацию тетрациклина в сыворотке здоровых людей после однократного приема ими 250 мг тетрациклина и 250 мг глюкозамина и одного тетрациклина.

Полученные данные представлены в табл. 4 (каждый показатель — средний из пяти определений).

Таблица 4

Концентрация тетрациклина (в ед/мл) в сыворотке крови людей

Препарат	Доза, мг	Время с момента введения, ч.					
		1	3	6	12	24	36
Тетрациклин + глюкозамин . . . . .	250+250	0,82	0,88	0,53	0,23	0,14	0,10
Тетрациклин . . . . .	250	0,6	0,44	0,14	0,12	—	—

Из приведенных данных видно, что и у людей применение тетрациклина с равным количеством глюкозамина позволило резко увеличить концентрацию антибиотика в сыворотке крови и в значительной степени продлить время нахождения тетрациклина в исследуемом объекте.

Таким образом, солянокислый глюкозамин способствует повышению уровня антибиотика в организме человека и животных и вызывает значительную пролонгацию действия тетрациклина.

## ВЫВОДЫ

1. Богатые хитином панцири креветок и других ракообразных являются ценным сырьем для получения природного аминсахара — глюкозамина.

2. Глюкозамин (солянокислый) усиливает всасывание тетрациклина, а также вызывает значительную пролонгацию его действия в организме человека и животных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С. Н. Данилов и Е. А. Плиско. Изучение хитина. Действие на хитин кислот и щелочей. «Журнал общей химии». Т. 24. Вып. 10, 1954.
2. Н. Я. Демьянов и Н. Д. Прянишников. Общие приемы анализа растительных веществ. Госхимтехиздат, 1933.
3. А. Е. Чичибабин. Основные начала органической химии. Т. 1, Госхимиздат, 1953.
4. Adams Ernest C. Glucosamine acetylsalicylate and process for preparing same. Патент США, кл. 260—211, № 3118875 от 21.01.1964.
5. Oeriu S., Lupu E. R., Dimitriu M. A. et Craesco J. Изучение глюкозамина из панцирей ракообразных, его биологическое и терапевтическое значение. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, t. 20, № 1, Paris, 1962.