(19) **RU** (11) **2 057 760** (13) **C1**

(51) МПК[6] **C 08 B 37/08**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 4831001/05, 28.08.1990

(30) Приоритет: 29.08.1989 JP 222248/89

(46) Дата публикации: 10.04.1996

(56) Ссылки: Патент США N 3922260, кл. C 08B 37/08, 1975.

(71) Заявитель:
Таматсукури Корпорейшн (JP)

(72) Изобретатель: Етсуко Накао[JP]

(73) Патентообладатель:
Таматсукури Корпорейшн (JP)

(54) ОЛИГОМЕР ХИТИНА ИЛИ ХИТОЗАНА И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Использование: в пищевой промышленности и фармации. Сущность: олигомер хитина или хитозана, содержащий концевые группы 2,5-ангидроманнозы или 2,5-ангидроманнита формулы, приведенной в тексте описания. Олигомер может быть пищевой добавкой или основой для фармацевтических препаратов. 0способ получения олигомера: взаимодействие хитина или хитазана с азотистой кислотой или нитритом натрия в водном растворе при pH 3 - 4, температуре не выше 10°C с последующей нейтрализацией реакционной смеси, гидрированием полученных олигомеров в присутствии восстановителя и/или охлаждением. Взаимодействие может быть осуществлено в присутствии стабилизирующего агента - органической кислоты, а нейтрализация осуществлена аммиаком, алкиламином или анионнообменной смолой после завершения реакции. Восстановителем может быть боргидрид натрия или калия. 2 с. и 3 з. п. ф-лы, 3 табл.

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

(19) **RU** (11) **2 057 760** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **C 08 B 37/08**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **4831001/05, 28.08.1990**

(30) Priority: **29.08.1989 JP 222248/89**

(46) Date of publication: **10.04.1996**

(71) Applicant:
Tamatsukuri Korporejshn (JP)

(72) Inventor: **Etsuko Nakao[JP]**

(73) Proprietor:
Tamatsukuri Korporejshn (JP)

(54) CHITIN OR CHITOSAN OLIGOMER AND A METHOD OF ITS SYNTHESIS

(57) Abstract:

FIELD: food industry. SUBSTANCE: product: oligomer of chitin or chitosan containing terminal groups of 2,5-anhydromannose or 2,5-anhydromannitol of the formula given in description text. Method of oligomer synthesis: interaction of chitin or chitosan with nitrous acid or sodium nitrite in an aqueous solution at pH 3-4, at 10 C (not above) followed by neutralization of reaction mass, hydrogenation of synthesized oligomers in the presence of reducing agent and/or cooling. Interaction can be carried out in the presence of solubilizing agent - organic acid, and neutralization can be carried out with ammonia, alkylamine or anion-exchange resin after reaction termination. Reducing agent: sodium or potassium boron hydride. EFFECT: improved method of oligomer synthesis. 6 cl, 3 tbl

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

Изобретение относится к олигомеру хитина и хитозана, и способу его получения, позволяющему с высоким выходом получать из хитина или хитозана олигосахарид хитина, который является смесью олигомеров хитина, или олигосахарид хитозана, который является смесью олигомеров хитозана.

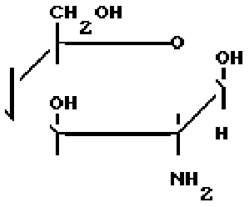
В последнее время пищевые продукты животного происхождения получили широкое распространение, крабы и креветки импортируются из-за границы, а из хитиновых материалов их панцирей в большом количестве изготавливаются хитин и хитозан. Эти хитины и хитозаны в настоящее время используются для изготовления агрохимикатов, искусственной кожи, и в качестве пищевых добавок, поэтому интерес к получению олигосахаридов хитина или хитозана за последнее время заметно возрос.

Как хорошо известно специалистам, указанный олигосахарид хитина или олигосахарид хитозана может быть получен, в основном, путем расщепления хитина и хитиназой, или хитозана хитозаназой.

Также хорошо известно, что хитин и хитозан могут быть частично гидролизованы соляной кислотой в целях получения различных соединений: от N-ацетилглюкозамина или глюкозамина до N-ацетилхитопентаозы или хитопентаозы.

С другой стороны, может быть использован хорошо известный метод Ван Слайка (метод определения амино-образующего азота), в котором хитозан деполимеризуют при температуре 20-25°С путем добавления азотистой кислоты.

Однако указанный выше способ разложения ферментом затрудняет регулирование молекулярной массы в силу того, что получают смесь олигосахаридов с разными молекулярными массами, концентрация которых, кроме того, составляет лишь 0,001% в результате чего полученную смесь необходимо концентрировать. В соответствии с этим, для получения олигосахарида с адекватной молекулярной массой необходимо осуществлять фракционирование, что делает работу чрезвычайно трудоемкой, и к тому же, поскольку при нагревании в режиме концентрации или стерилизации образуется олигомер со структурой, имеющей следующую концевую группу



то может иметь место реакция Мейларда с окрашиванием. Кроме того, даже, если после этого провести восстановление с помощью восстанавливающего агента, то это может повлечь за собой разрыв кольца с превращением в сахарный спирт. Кроме того в указанном способе используется разбавленная реакционная концентрация, поэтому для крупномасштабного производства требуется слишком громоздкое оборудование.

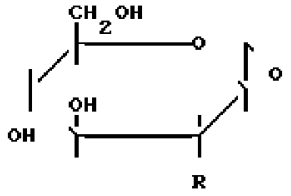
Более того, поскольку указанный выше способ частичного гидролизирования с помощью соляной кислоты дает тот же самый продукт, что и способ, использующий фермент, то нет смысла решать описанные выше проблемы, связанные с окрашиванием и разрывом кольца.

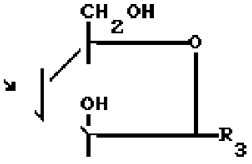
С другой стороны во втором способе, заключающемся в деполимеризации хитозана азотистой кислотой, используют хитозан с очень высокой молекулярной массой, поэтому указанную азотистую кислоту добавляют в количестве, составляющем от 3 до 5 М на 1 М аминогрупп хитозана, в силу чего он может быть расщеплен до гликозамина, который является моносахаридом. Альтернативно, поскольку реакция разложения протекает при относительно высоких температурах, от 20 до 25°С, то перед разложением в моносахариды могут иметь место побочные реакции, например, такие, как реакции передачи цепи, и эти реакционные продукты могут подвергнуться рекомбинации с образованием продуктов, отличающихся от олигосахаридов хитозана.

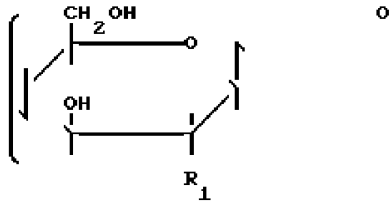
В соответствии с этим в продуктах, полученных указанным способом, могут присутствовать рекомбинированные токсичные глюкозидные соединения, отличающиеся от вышеупомянутых гликозаминов, а также в смеси указанных продуктов может присутствовать непрореагировавшая азотистая кислота, что не допускает использование этих продуктов в качестве пищевых добавок или лекарственных средств.

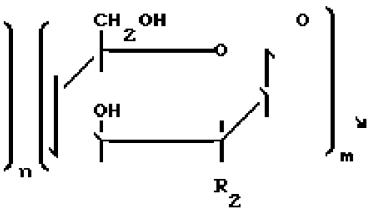
Целью изобретения является получение олигомеров хитина или хитозана, которые могут быть использованы в качестве пищевых добавок и фармацевтических препаратов.

Эта цель достигается структурой олигомера хитина или хитозана, содержащего концевые группы 2,5-ангидроманнозы или 2,5-ангидроманнита формулы:









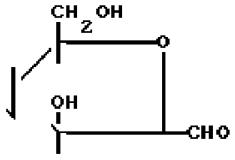
где R, R_1 и R_2 означают $NHCOCH_3$ или NH_2, а R_3 CHO или CH_2OH при условии, что если R означает NH_2, то R_2-$NHCOCH_3$, m+n равно 0-500, m

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

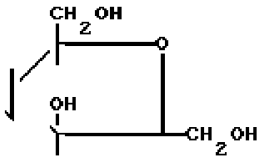
равно 50% или меньше n, R_1-$ПH_2$, и если R означает $NHCOCH_3$, то R_2 означает NH_2, m+n равно 0-1000, m равно 50% или меньше n, R_1 означает $NHCOCH_3$, с молекулярной массой 900-50000, позволяющей его использование в качестве пищевых добавок и фармацевтических препаратов, и способом его получения. Способ получения олигомера заключается во взаимодействии хитина или хитозана с азотистой кислотой или нитритом натрия в водном растворе при pH 3-4 и температуре не выше +10°C, с последующей нейтрализацией реакционной смеси, гидрированием полученных олигомеров в присутствии восстановителя и/или осаждением целевых продуктов. При этом взаимодействие с азотистой кислотой или нитритом натрия осуществляют в присутствии солюбилизирующего агента органической кислоты. Нейтрализация может быть осуществлена добавлением аммиака, алкиламина или анионообменной смолы после завершения реакции. Восстановлением может служить боргидрид натрия или боргидрид калия.

Олигомер хитина или хитозана настоящего изобретения, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы структурной формулы



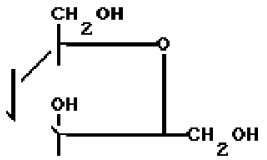
может быть связан с другим соединением, и поэтому может быть использован в качестве исходного материала или промежуточного продукта для пищевых добавок или при изготовлении фармацевтических средств.

С другой стороны, олигомер, имеющий 2,5-ангидроманнит структурной формулы

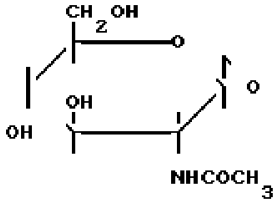


, который обладает низкой реакционной способностью и высокой стабильностью, и, следовательно, почти не подвержен окрашиванию, может быть использован в качестве исходного материала или промежуточного соединения для пищевых добавок и при изготовлении лекарственных средств.

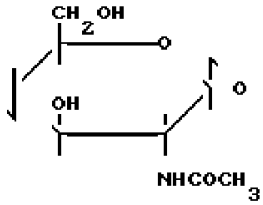
В качестве олигомера хитина настоящего изобретения может быть олигомер хитина, имеющий группу 2,5-ангидроманнита в своей концевой части, содержащей группу 2,5-ангидроманнита структурной формулы



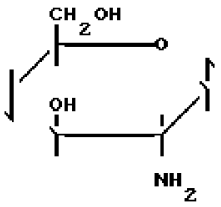
на одном конце и группу структурной формулы



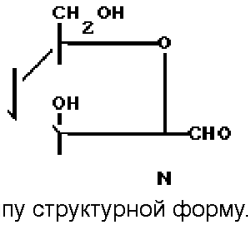
на другом конце, при этом оба эти конца являются связанными непосредственно или посредством цепи из 0-1000 звеньев, предпочтительно, из 0-500 звеньев, а особенно предпочтительно из 40-250 звеньев структурной формулы



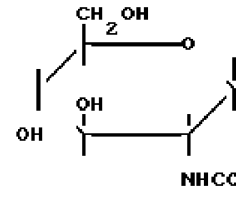
причем указанная цепь необязательно содержит 50% илм менее, а предпочтительно, 45% или менее звеньев структурной формулы



O и олигомер хитина, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы в своей концевой части, содержащей группу 2,5-ангидроманнозы структурной формулы



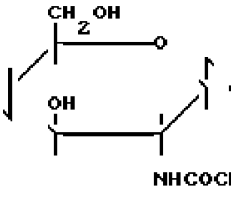
на одном конце и группу структурной формулы



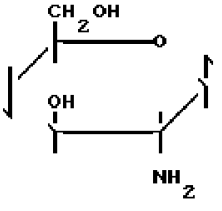
N

на другом конце, при этом оба эти конца являются связанными непосредственно или посредством цепи 0-1000 звеньев, предпочтительно из 0-500 звеньев, а особенно предпочтительно, из 40-250 звеньев структурной формулы

причем указанная цепь необязательно содержит 50% или менее, а предпочтительно 45% или менее



O

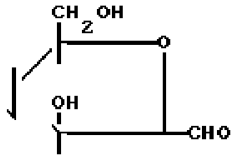


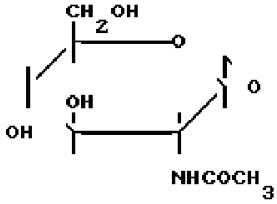
Вышеупомянутый олигомер хитина имеет группу 2,5-ангидроманнита в концевой части, содержащей группу 2,5-ангидроманнита

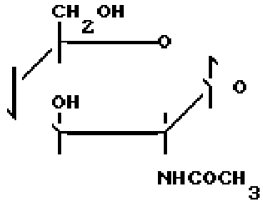
RU 2057760 C1

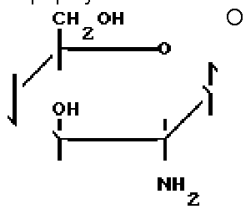
RU 2057760 C1

структурной

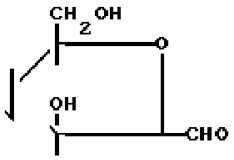
формулы  на одном

конце и группу структурной формулы  на другом

конце, при этом оба эти конца являются связанными непосредственно или посредством цепи из 0-1000 звеньев структурной формулы  но, поскольку

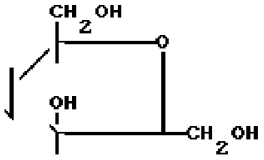
указанный частично ацетилированный олигомер, содержащий аминогруппы, входит в состав природного хитина, то альтернативно, с помощью использования искусственно деацетилированного хитина, олигомер хитина или олигомер хитозана может быть также получен так, что часть цепи в вышеуказанной структурной формуле будет конвертирована в цепь формулы 

Поэтому отличить деацитилированные олигомер хитина и олигомер хитозана представляется довольно затруднительным.

Указанный выше олигомер хитина, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы в концевой части со структурной формулой  обладает высокой

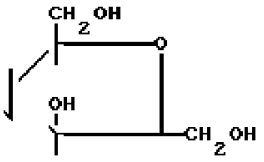
реактивной способностью, и поэтому может вступать в реакцию с различными соединениями.

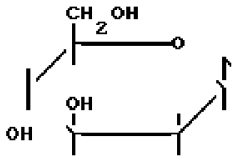
Таким образом, он может быть использован в качестве исходного материала или промежуточного соединения при изготовлении лекарственных средств.

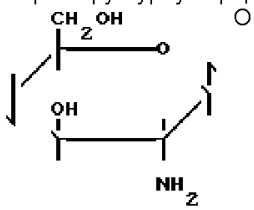
Однако, обладая высокой реакционной способностью, указанный олигомер является в то же время нестабильным при нагревании, и при этом легко поддается окрашиванию, а поэтому он может быть восстановлен с помощью восстанавливающего агента в целях превращения группы структурной формулы  в концевой части

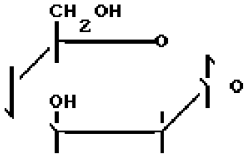
в группу 2,5-ангидроманнита с образованием термостабильного олигомера хитина с пониженной реакционной способностью.

Даже если вышеуказанная группа 2,5-ангидроманнозы будет восстановлена в группу 2,5-ангидроманнита, то поскольку структурная формула другой концевой части и структурная формула промежуточной цепи остается неизменной, то первоначальные свойства соединения и его ценность останутся неизменными и поэтому он может быть использован в качестве пищевых добавок и при изготовлении лекарственных средств.

Олигомером хитозана настоящего изобретения может быть олигомер, имеющий группу 2,5-ангидроманнита в своей концевой части, содержащей группу 2,5-ангидроманнита структурной формулы  на одном конце и

группу структурной формулы  на другом конце,

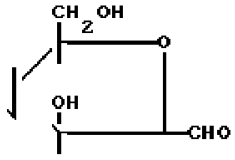
при этом оба эти конца являются связанными либо непосредственно, либо посредством цепи из 0-500 звеньев, предпочтительно из 0-300 звеньев, а наиболее предпочтительно, из 0-30 звеньев в случае низкой молекулярной массы, или из 40-280 звеньев в случае высокой молекулярной массы, имеющих структурную формулу  причем указанная

цепь необязательно содержит, в основном, 50% или менее, а предпочтительно 45% или менее звеньев структурной формулы  и олигомер,

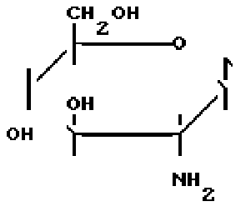
имеющий группу 2,5-ангидроманнозы в своей концевой части, содержащей группу 2,5-ангидроманнозы структурной формулы

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

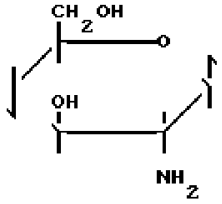


на одном конце и группу структурной формулы

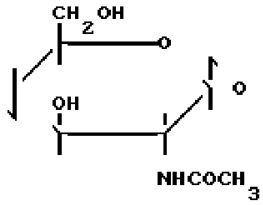


О на другом конце,

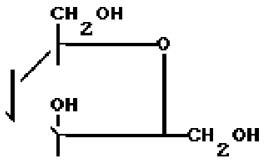
при этом оба эти конца являются связанными непосредственно или посредством цепи из 0-500 звеньев, предпочтительно, из 0-300 звеньев, а наиболее предпочтительно из 0-30 звеньев в случае низкой молекулярной массы, или 40-280 звеньев в случае высокой молекулярной массы, имеющих структурную формулу



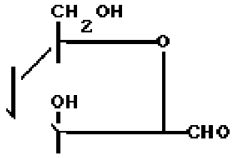
О причем указанная цепь необязательно содержит, в основном, 50% или менее, а предпочтительно 45% или менее звеньев структурной формулы



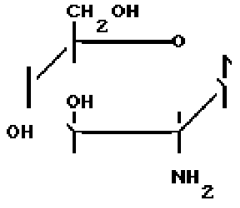
Вышеуказанный олигомер хитозана имеет группу 2,5-ангидроманнита структурной формулы



или группу 2,5-ангидроманнозы структурной формулы

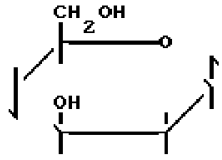


на одном конце, и группу структурной формулы

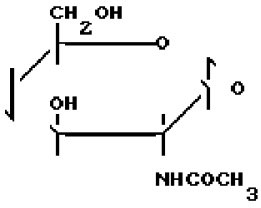


О на другом конце,

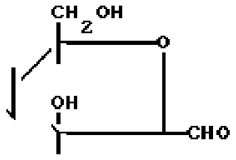
при этом оба эти конца являются связанными либо непосредственно, либо посредством цепи из 0-500 звеньев структурной формулы



О но поскольку эти частично ацетилированные аминогруппы обычно входят в состав природного хитозана, то альтернативно, с помощью использования искусственно деацетилированного хитозана, может быть также получен олигомер хитозана, содержащий группу структурной формулы



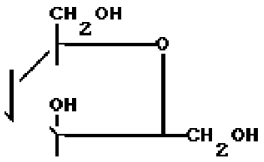
Указанный выше олигомер хитозана, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы в концевой части со структурной формулой



обладает высокой реактивной способностью, и может вступать в реакцию с различными соединениями.

Таким образом, он может быть использован в качестве исходного материала или промежуточного соединения при изготовлении лекарственных средств.

Однако, обладая высокой реакционной способностью, указанный олигомер является в то же время нестабильным при нагревании и легко поддается окрашиванию, а поэтому он может быть восстановлен с помощью восстанавливающего агента для превращения группы структурной формулы



в концевой части

в 2,5-ангидроманнит с образованием термостабильного олигомера хитозана с пониженной реакционной способностью.

Даже если вышеуказанная группа 2,5-ангидроманнозы будет восстановлена в группу 2,5-ангидроманнита, то поскольку структурная формула другой концевой части и структурная формула промежуточной цепи остается неизменной, первоначальные свойства соединения и его ценность останутся неизменными, и поэтому оно может быть использовано в качестве пищевых добавок и при изготовлении лекарственных средств.

Хитинами и хитозанами, используемыми для получения олигомеров хитина и хитозана настоящего изобретения, являются хитины, полученные путем обработки хитинового материала, содержащегося в панцирях ракообразных, таких как креветки, крабы и т.д. в насекомых, таких как жуки, сверчки и т.п. в грибе шиитаке, и клетках плесневых грибов, соляной кислотой для удаления карбоната кальция с последующей

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

обработкой в течение небольшого количества времени щелочным раствором для удаления белков и т.п. или хитозаны, полученные путем нагревания хитина с концентрированной щелочью с целью осуществления диацетилирования.

Обычно природные хитины имеют среднюю молекулярную массу от 100000 до 1000000, а молекулярная масса хитозана составляет приблизительно от 20000 до 200000, и поэтому если использовать природные хитин или хитозан в качестве исходных материалов, то из-за их высокой вязкости реакции с азотной кислотой будет недостаточно, если только она не проводится в жестких условиях.

Поэтому олигомер хитина или хитозана, полученный с помощью реакции в указанных жестких условиях, представляет собой лишь смесь, содержащую молекулы с различными молекулярными массами, где молекулы с высокими и низкими молекулярными массами являются перемешанными, поскольку указанная реакция зависит от поверхности молекул исходного материала. Поэтому для получения олигомера хитина-хитозана с однородной молекулярной массой, предпочтительно в качестве исходного материала использовать хитин или хитозан со средней молекулярной массой 50000 или менее, предпочтительно от 20000 до 50000, и наиболее предпочтительно 30000-40000.

Поскольку реакция в способе получения хитина или хитозана настоящего изобретения приводит к алкоголизации аминогрупп в хитине с помощью азотистой кислоты, то обычно используются аминогруппы, содержащиеся в хитине.

Однако, поскольку в природном хитине содержится, в основном, 3-10% звеньев, имеющих аминогруппы, то реакция настоящего изобретения может протекать с их использованием, однако, альтернативно, могут быть использованы хитины или хитозаны, полученные путем полного или частичного деацетилирования.

Указанные хитины или хитозаны предпочтительно должны быть солюбилизированы для осуществления плавной реакции настоящего изобретения. Поэтому предпочтительно использовать реагенты в тонко измельченной форме, например, в виде частиц, полученных путем пропускания через сито 15-30 меш, а предпочтительно 30 меш.

При осуществлении способа настоящего изобретения может быть использована обычная азотистая кислота, как таковая, однако, для проведения более медленной реакции предпочтительно использовать нитрит натрия, который позволяет получить азотистую кислоту in situ.

Указанный нитрит, применяемый для алкоголизации аминогрупп в хитине и хитозане путем деаминирования, может быть, в основном, использован в количестве от 0,01 до 1 мол. экв, а предпочтительно, от 0,1 до 0,6 мол. экв по отношению к аминогруппам, и в зависимости от этого количества можно осуществлять регулирование молекулярной массы олигомера хитина или хитозана. Если вышеуказанное количество составляет менее 0,01 мол. экв, то протекание реакции затрудняется, а если это количество превышает 1 мол. экв, то возникает возможность чрезмерного образования моносахаридов таких, как N-ацетилглюкозамин или глюкозамин, в результате чего выход олигомера хитина или хитозана будет снижаться.

При получении олигомера хитина или олигомера хитозана настоящего изобретения, в целях облегчения проведения реакции хитина и хитозана, используемых в качестве исходных материалов, предпочтительно солюбилизировать хитин или хитозан в водном растворе путем подмешивания солюбилизирующего агента к водной реакционной среде указанных хитина и хитозана.

В качестве солюбилизирующего агента, используемого для солюбилизации вышеуказанного хитина и хитозана, могут служить органические кислоты, имеющие 1-10 атомов углерода, а предпочтительно, 2-7 атомов углерода, такие как муравьиная кислота, уксусная кислота, масляная кислота, щавелевая кислота, винная кислота, янтарная кислота, молочная кислота, аскорбиновая кислота, пропионовая кислота, адипиновая кислота, бензойная кислота и т.п. минеральные кислоты, такие как соляная кислота, бромистоводородная кислота, азотная кислота и т.п. При этом предпочтительными являются уксусная кислота, щавелевая кислота, винная кислота и молочная кислота, а особенно предпочтительной является уксусная кислота.

Указанные солюбилизирующие агенты могут быть использованы как отдельно, так и в виде смеси, но обычно их используют в виде смеси с водой, которая является реакционным растворителем.

Указанные солюбилизирующие агенты используют в количестве от 0,5 мол. или более, а предпочтительно, в эквимолярной концентрации или более по отношению к хитину или хитозану, но поскольку может быть использовано и большее количество указанных агентов, то в качестве верхнего предела рекомендуется использовать не более чем 20 об. по отношению к воде, а предпочтительно 0,1-20 об. а более предпочтительно от 5 до 10 об. по отношению к воде, которая является реакционным растворителем.

Путем регулирования вида и количества солюбилизирующего агента можно регулировать в определенных пределах концентрацию водородных ионов в реакции.

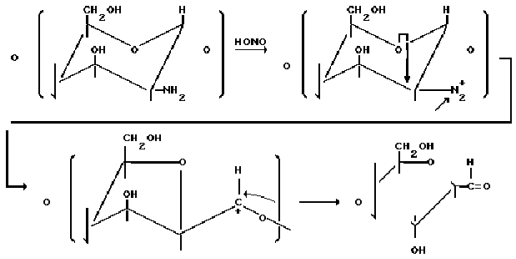
При получении олигомера хитина или олигомера хитозана настоящего изобретения чрезвычайно важным является тот факт, что указанная реакция хитина или хитозана должна протекать в смеси с азотистой кислотой при температуре 10°C или ниже, предпочтительно (-5°)-10°C), более предпочтительно, 0-8°C, а наиболее предпочтительно 2-6°C, в водном растворе с концентрацией водородных ионов (pH) от 3 до 4.

При смешивании при указанных условиях реакция протекает медленно, и поэтому хитин или хитозан не гидролизуется в гликозид связанной области, где звено глюкозаминоглюкана является связанным, но аминогруппа в хитине или хитозане является алкголизированной путем деаминирования с азотистой кислотой, а спиртовая группа входит в псевдогликоль, который расположен

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

ближе к кислороду в гликозид-связанной части глюкозаминоглюканового звена, в результате чего можно заключить, что здесь, вероятно, имеет место реакция пинаколиновой перегруппировки, которая показана ниже.



Если температура реакции при указанных выше условиях превышает 10 °С, то будет иметь место реакция гидролиза с последующей реакцией передачи цепи и рекомбинацией, в результате чего возникает опасность образования токсичных гликозидных звеньев. С другой стороны, если концентрация водородных ионов составляет менее 3, то, по всей вероятности, будет происходить гидролитическая реакция расщепления гликозидной связи, в результате чего может иметь место реакция передачи цепи и рекомбинации. Если концентрация водородных ионов превышает 4, то азотистая кислота будет разлагаться вплоть до потери своего действия, либо молекулярную массу нельзя будет регулировать.

Как было указано выше, реакция протекает в водном растворе в условиях вышеупомянутой температуры и концентрации водородных ионов, однако к указанному водному раствору могут быть также подмешаны и другие органические растворители и буферы.

Как правило, указанная реакция протекает в течение периода времени, составляющего от нескольких минут до 10 ч, а предпочтительно, в течение около 0,5-3 ч.

Смесь олигомера хитина или олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы в концевой части, содержащая азотистую кислоту или нитрит и полученная при помощи указанной выше реакции, содержит большое количество непрореагировавшей азотистой кислоты или нитрита, и поэтому обладает сильной кислотностью, и во избежание возникающих в связи с этим трудностей для осуществления последующей стадии указанную смесь необходимо нейтрализовать.

Такая нейтрализация может быть осуществлена путем добавления нейтрализующего агента в целях доведения концентрации водородных ионов (pH) до 7 или выше, а предпочтительно до 7-8.

Указанная нейтрализация способствует облегчению осуществления последующей реакции, а также осаждению образовавшегося олигомера хитина или олигомера хитозана.

В качестве нейтрализующего агента, добавляемого в смесь, могут быть использованы щелочи, такие, как едкий натр, но предпочтительно использовать аммиак, алкиламин, или ионообменную смолу, более конкретные примеры указанных агентов приводятся ниже.

В качестве вышеуказанного аммиака может быть использована аммиачная вода, представляющая собой газообразный аммиак, растворенный в воде, в основном, в концентрации 20-30 мас. а предпочтительно, 26-30 мас.

Указанное количество добавляли до уровня, при котором концентрация ионов водорода в вышеупомянутом водном растворе остается в указанных выше пределах, обычно это количество составляет от 40 до 70 мл аммиачной воды на литр реакционной смеси.

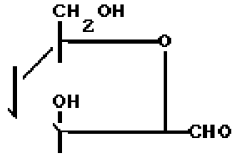
В качестве алкиламинов, упомянутых выше, могут быть использованы амины, имеющие 1-20 атомов углерода, такие как метиламин, этиламин, диэтиламин, триэтиламин, н-пропиламин, изопропиламин, н-бутиламин и т.п.

Указанные алкиламины добавляют в таком количестве, чтобы концентрация ионов водорода (в вышеуказанном водном растворе) находилась в определенных пределах, указанных выше, но обычно указанное количество составляет 50-200 г на литр реакционной смеси.

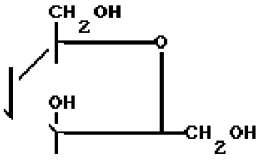
В качестве анионообменной смолы, используемой в настоящем изобретении, может быть смола, имеющая основность такую, как аминогруппа ($-NH_2$, $-NHR$, $-NR_2$), группа четвертичного аммония ($-\overset{+}{N}R_3$), и т.д. введенные в матрицу синтетических смол.

Указанную анионообменную смолу добавляют в таком количестве, чтобы вышеупомянутая азотистая кислота была нейтрализована, обычно это количество составляет от 200 г/литр, а предпочтительно, 300 г 1 кг/л реакционной смеси или более.

Как было описано выше, хитиновый или хитозановый олигомер, содержащийся в нейтрализованной смеси и имеющий группы 2,5-ангидроманнозы, содержит также альдегидную группу с высокой реактивностью в концевой части структурной формулы



и поэтому указанный олигомер, обладая высокой реактивной способностью, легко поддается окрашиванию и связыванию и может быть восстановлен до спирта с группой 2,5-ангидроманнита в концевой части структурной формулы



в результате чего указанный олигомер хитина или хитозана становится стабильным вследствие снижения его реакционной способности.

Для осуществления указанной реакции восстановления могут быть использованы любые известные восстанавливающие агенты, способствующие восстановлению альдегидных групп. В частности, для этой цели могут быть использованы скелетные никелевые катализаторы гидрирования, такие как катализатор Рэнея, никель/углеродный катализатор и т.п. палладированные катализаторы гидрирования, такие как

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

палладированный уголь, гидриды металлов, такие как алюмогидрид диизобутила, органогидриды олова, гидросилан и т.п. металлокомплексные соединения водорода, такие как алюмогидрид лития, борогидрид натрия, борогидрид калия, борогидрид лития, борогидрид кальция, борогидрид цинка и т.п. диборан, алкилборан и т.п. Наиболее предпочтительными из них являются металло-комплексные соединения водорода, в частности, соединения борогидрида, такие как борогидрид натрия, борогидрид калия и т.п.

Указанную реакцию восстановления осуществляют путем добавления восстанавливающего агента в вышеуказанную нейтрализованную смесь или после удаления примесей простой фильтрацией.

Восстанавливающий агент может быть добавлен в количестве от 1 моль или более, а предпочтительно, 1,5-3 моль на один моль 2,5-ангидроманноза группы в хитиновом или хитозановом олигомере для восстановления группы 2,5-ангидроманнозы в указанном олигомере в группу 2,5-ангидроманнита.

Указанная реакция восстановления может быть проведена при температуре 100°C или ниже, а предпочтительно, при комнатной температуре или ниже, и при нормальном давлении в течение периода времени, составляющего несколько часов.

Указанную реакцию восстановления проводят до тех пор, пока в ней не останется ни одной группы 2,5-ангидроманнозы.

Для фракционирования в водную среду, содержащую олигомеры хитина или хитозана с разными молекулярными массами, имеющие на конце группу 2,5-ангидроманнита, как описано выше, постепенно или стадиями добавляют раствор для осаждения, который является совместимым с вышеуказанной водной средой и не растворяет вышеуказанные олигомеры, в результате чего происходит фракционирование вышеуказанных олигомеров путем последовательного осаждения из указанной водной среды олигомера хитина хитозана, имеющего большую молекулярную массу. С помощью описанного процесса фракционирования могут быть получены фракции с небольшим разбросом молекулярных масс.

Если при нейтрализации в качестве нейтрализующего агента используют аммиачную воду, алкиламин или ионообменную смолу, то образующийся в водной среде олигомер хитина или хитозана, имеющий 2,5-ангидроманнозу, будет восприимчив к осаждению и поэтому при последующем постепенном или постадийном добавлении среды для осаждения, которая является совместимой с указанной водной средой и не растворяет указанный олигомер хитина или хитозана, эти олигомеры хитина или хитозана постепенно осаждаются из указанной среды, причем сначала осаждается олигомер, имеющий большую молекулярную массу.

В качестве среды, являющейся совместимой с указанной водной средой и, в основном, не растворяющей вышеуказанные олигомеры хитозана или хитина, можно использовать, например, спирты, кетоны, простые эфиры, сложные эфиры, углеводорода и др.

В частности, используемыми спиртами могут быть спирты, имеющие от 1 до 5, а предпочтительно, от 1 до 4 атомов углерода, например, метанол, этанол, бутанол, пропанол, этиленгликоль и т.п. используемые кетоны могут иметь от 1 до 5, а предпочтительно, от 1 до 4 атомов углерода, например, такие как ацетон, метилэтилкетон и т.п. используемые простые эфиры могут иметь от 2 до 6, а предпочтительно, от 2 до 4 атомов углерода, например, такие как этиловый простой эфир, используемые сложные эфиры могут иметь от 2 до 10, а предпочтительно, от 2 до 5 атомов углерода, например, такие как этилацетат и т. п. а используемые углеводороды могут иметь от 1 до 10 атомов углерода, а предпочтительно, от 1 до 6 атомов углерода, например, такие как н-гексан, петролейный эфир и т.п.

Указанная среда для осаждения олигомеров хитина или хитозана с большей молекулярной массой из указанной выше водной среды может быть добавлена в количестве от 0,4 до 1,5 л, а предпочтительно, от 0,5 до 1 л на 1 л вышеупомянутой водной среды.

При фракционировании постепенно осажденных таким образом олигомеров хитина или олигомеров хитозана, олигосахариды хитина или олигосахариды хитозана могут быть фракционированы на соответствующие различные полисахариды с различными большими молекулярными массами.

При выделении олигосахарида хитина или олигосахарида хитозана с постоянной молекулярной массой, полученных путем фракционирования на соответствующие различные полисахариды, каждая фракция содержит олигосахарид хитина или олигосахарид хитозана с молекулярной массой высокой эффективности, в силу чего может быть получен еще больший эффект.

С другой стороны, олигомер хитина или олигомер хитозана, имеющии группу 2,5-ангидроманнита у восстановленного конца, является менее реактивным, обладает более высокой термостабильностью, и поэтому, в основном, не поддается окрашиванию, в результате чего они могут быть использованы в качестве пищевых добавок или фармацевтических средств, или в качестве промежуточных материалов при их изготовлении.

Более того, в случае получения олигомера хитина или олигомера хитозана, в котором группа 2,5-ангидроманнозы была восстановлена в группу 2,5-ангидроманнита и который также является термоустойчивым, азотистая кислота является достаточно нейтрализованной в смеси, а среду для осаждения, которая является плохим растворителем для указанного олигомера в условиях, когда указанная азотистая кислота является растворенной в воде, постепенно добавляют к смеси в целях осаждения и выделения лишь олигомера хитина или хитозана, растворенного в этой смеси. В соответствии с этим, содержание азотистой кислоты или нитрита в олигомере хитина или хитозана, как правило, составляет около 20 ppm или менее, а предпочтительно, 2 ppm или менее, а наиболее предпочтительно 0-0,7 ppm, что является ниже, чем допустимый

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

уровень (25 ppm), определенный пищевым законодательством, а следовательно, указанный продукт настоящего изобретения может быть без ограничений использован при изготовлении пищевых добавок и лекарственных средств.

П р и м е р 1. В стеклянную колбу 5-литрового объема, снабженную смесителем, загружают 100 г хитозана в виде частиц 30 меш, и постепенно добавляют 2 л 10% водной уксусной кислоты для растворения хитозана, после чего раствор охлаждают в ледяной бане до 4°С.

Затем в целях доведения концентрации водородных ионов (pH) до значения 3, добавляют 300 мл 1%-ного водного нитрита натрия (азотистая кислота / остаток глюкозамина 0,1 мол. отн.) и реакционную смесь перемешивают при 4°С в течение 1,5 ч для получения олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции смесь нейтрализуют при помощи 393 мл концентрированной аммиачной воды с последующим добавлением 3,2 г борогидрида натрия (2 моль по отношению к нитриту натрия), и реакцию восстановления осуществляют с перемешиванием в ледяной бане в течение 5 ч, в результате чего получают олигомер хитозана, имеющий 2,5-ангидроманнит.

После завершения реакции восстановления, для получения легко осаждаемого продукта, добавляют концентрированную аммиачную воду для доведения pH до 8 с последующим добавлением 2,5 л ацетона для осаждения продукта.

Преципитаты фильтруют, тщательно промывают ацетоном, высушивают в вакуумной печи, а затем анализируют с помощью высоко разрешающей жидкостной хроматографии и элементного анализа.

При осуществлении высокоразрешающей жидкостной хроматографии использовали следующие аналитические условия:

Колонка Asahi pack GS-220
Скорость потока 0,5 мл/мин
Температура 50°С
Подвижная фаза 0,5 М
ацетатного буфера
pH: 4,0.

Полученный продукт содержал 1,0% моносахаридов мол.м. 240, 6,9% дисахаридов мол.м. 380 и 80,6% 8-29-сахаридов мол.м. 1300-5300, выход продукта составлял 59,7 г, который представляет собой 60% от теоретического выхода 99,4 г.

П р и м е р 2. В ту же самую стеклянную колбу, снабженную смесителем, добавляют 100 г хитозана и растворяют, понемногу добавляя 1 л 10%-ной водной уксусной кислоты, после чего смесь охлаждают ледяной водой.

Затем к полученному раствору добавляют 88 мл 10%-ного водного нитрита натрия (азотистая кислота: глюкозаминовый остаток молярное отношение 0,3) в целях доведения pH до 3, и реакцию проводят в ледяной бане в течение 4 ч.

После завершения реакции смесь нейтрализуют при помощи 210 мл концентрированной аммиачной воды, а затем для осуществления реакции восстановления добавляют 9,6 г борогидрида натрия (2 моль по отношению к нитриту натрия) и полученную смесь перемешивают в бане с ледяной водой в течение 4 ч.

После завершения реакции восстановления, для получения легко осаждаемого продукта добавляют концентрированную аммиачную воду для доведения pH до 8-9 с последующей концентрацией до 1/2 объема (около 500 мл).

После чего к концентрату добавляют 3,5 л метанола, и образовавшийся преципитат фильтруют и анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Было обнаружено, что преципитаты содержали 0,2% моносахаридов, 5,3% дисахаридов и 69,3% 10-25 сахаридов.

Затем фильтрат еще раз концентрируют и для осуществления повторного осаждения к концентрату добавляют смесь метанола и ацетона (1:1), а полученные преципитаты снова анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В результате указанных анализов было обнаружено, что преципитаты содержат 3,7% моносахаридов мол.м. 240, 4,1% дисахаридов мол.м. 380, 0,2% трисахаридов, 0,1% тетрасахаридов, 10,4% пентасахаридов и 67,5% 6-23 сахаридов мол.м. 1500-4800.

В результате выход продукта составлял 74,3 г, что соответствует 76% от теоретического выхода, составляющего 98,2 г.

П р и м е р 3. В ту же самую стеклянную колбу, снабженную смесителями, добавляют 100 г хитозана и растворяют, постепенно добавляя 1 л 10%-ной водной уксусной кислоты, после чего смесь охлаждают в достаточной степени ледяной водой.

Затем к полученному раствору добавляют 146 мл 10%-ного водного нитрита натрия (молярное отношение:азотистая кислота=0,5) для доведения pH до 3, и реакцию проводили в бане с ледяной водой в течение 4 ч.

После завершения реакции смесь нейтрализуют при помощи 220 мл концентрированной аммиачной воды, а затем добавляют 16,0 г борогидрата натрия (2 моль по отношению к нитриту натрия) в целях проведения реакции восстановления и полученную смесь перемешивают в бане с ледяной водой в течение 4 ч.

После завершения реакции восстановления, для получения легко осаждаемого продукта добавляют концентрированную аммиачную воду для доведения pH до 8-9 с последующей концентрацией до 1/2 объема (около 500 мл).

После чего к концентрату добавляют 3,5 л метанола, и образовавшийся осадок фильтруют и промывают ацетоном.

Полученные преципитаты анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Указанные анализы показали, что преципитаты содержали 2,1% моносахаридов, 9,8% дисахаридов, 1,1% трисахаридов, 3,1% тетрасахаридов, 0,8% пентасахаридов, 0,4 гексахаридов и 79,3% 7-25 сахаридов. Выход преципитатов составлял 26,6 г, что соответствует 27% от теоретического выхода.

К полученному фильтрату затем добавляют 4 л метанола в целях проведения повторной преципитации, после чего преципитаты фильтруют и промывают

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

ацетоном. Полученные преципитаты анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Результаты показали, что полученные преципитаты содержат 0,1% моносахаридов, 2,1% дисахаридов, 0,7% тетрасахаридов, 0,6% пентасахаридов, 0,3% гексасахаридов и 79,1% 7-25 сахаридов. Выход продукта составлял 11,2 г, что соответствует 12% от теоретического выхода.

После повторного осаждения, описанного выше, фильтрат концентрируют до 200 мл, к концентрату добавляют смесь метанола (300 мл) и ацетона (500 мл) для получения преципитатов. Полученные преципитаты фильтруют и промывают ацетоном.

Затем указанные преципитаты анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. В результате этих анализов было обнаружено, что преципитаты содержат 2,3% моносахаридов мол.м. 240, 4,4% сахаридов мол.м. 380, 0,6% трисахаридов мол.м. 500, 0,3% тетрасахаридов мол.м. 640, 0,2% пентасахаридов мол.м. 910 и 88,7% 6-23-сахаридов мол.м. 1000-3800.

Выход осадка составлял 11,2 г, что соответствует 12% от теоретического количества.

Следовательно, полный выход продукта составлял 52,9 г, что соответствует 54% от теоретического выхода, составляющего 97,2 г.

П р и м е р 4. В стеклянную колбу объемом 5 л, снабженную смесителем, загружают 50 г хитозана в виде частиц 30 меш, а затем туда постепенно, и, перемешивая, добавляют 480 мл 10%-ной водной уксусной кислоты для растворения хитозана, после чего раствор охлаждают в бане с ледяной водой.

После чего добавляют 136 мл 10%-ного водного нитрита натрия (молярное отношение: азотистая кислота/глюкозаминовый остаток=0,7) для доведения pH до 3, и реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение 16 ч, а затем смесь оставляют при комнатной температуре на ночь для завершения реакции.

После завершения реакции смесь нейтрализуют концентрированной аммиачной водой и концентрируют при пониженном давлении. Затем к концентрату постепенно добавляют ацетон для осуществления фракционирования путем осаждения продуктов, начиная с тех, которые имеют большую молекулярную массу, результаты проведенного фракционирования представлены в табл.1.

П р и м е р 5. Эксперимент проводят способом, аналогичным описанному в примере 3, за исключением того, что вместо хитозана используют природный хитин, и молярное отношение азотистая кислота:глюкозаминовый остаток составляло 0,5, в результате чего получали хитиновый олигомер, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы, а после реакции восстановления получали олигомер хитина, имеющий группу 2,5-ангидроманнита.

Анализы проведены с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и ИК-абсорбционной спектроскопии. Наличие абсорбционного пика в позиции 1600-1700 $см^{-1}$ подтвердило получение хитинового олигомера, имеющего группу 2,5-ангидроманнита. Подтверждено получение хитинового олигомера, имеющего группу 2,5-ангидроманнита, который представляет собой смесь 40-250-сахаридов с мол.м. 8000-50000.

П р и м е р 6. В стеклянный сосуд с объемом 500 мл, снабженный смесителем, загружают 10 г хитозана в виде частиц 30 меш (мол.м. 40000), и затем постепенно добавляют 100 мл водной уксусной кислоты солюбилизирующий агент/вода: 10 об. после чего раствор охлаждают в бане с ледяной водой до 3°C.

Затем в целях доведения концентрации водородных ионов (pH) до 3 добавляют 14,5 мл 10%-ного водного нитрита натрия (молярное отношение: азотистая кислота (глюкозаминовый остаток 0,5), и проводят реакцию в водном растворе при 3°C, при этом перемешивая в течение 2 ч, в результате чего получают хитозановый олигомер, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции смесь нейтрализуют при помощи 15 мл аммиачной воды с последующим добавлением 1,6 г борогидрида натрия (2 моль по отношению к нитриту натрия) и проводят реакцию восстановления путем перемешивания смеси в течение ночи при комнатной температуре, в результате чего получают хитозановый олигомер, имеющий группу 2,5-ангидроманнита.

После завершения реакции восстановления реакционную смесь фильтруют в целях удаления нерастворившихся продуктов, а фильтрат концентрируют до 100 мл. Затем продукт осаждают путем добавления метанола. При осуществлении указанной операции количество используемого метанола варьируют в отношении: концентрат/метанол= 1:3 (первая фракция), 1:5 (вторая фракция), 1:19 (третья фракция) в целях осуществления фракционирования.

Затем для осушивания осуществляют концентрирование, и полученный продукт осаждают путем добавления метанола и ацетона. В этой операции фракционирование осуществляют с помощью метанола и ацетона 1:2 (четвертая фракция). Полученные преципитаты тщательно промывают ацетоном, простым эфиром и высушивают в вакуумном эксикаторе.

Указанные преципитаты анализируют с помощью ИК-спектроскопии.

ИК-абсорбционный спектральный анализ подтвердил получение олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнита.

Твердые вещества от первой до четвертой фракции, полученные посредством указанного фракционирования, анализируют с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и элементного анализа.

При осуществлении высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали следующие условия:

Колонка Asahi pack FDA-30Г

Скорость потока 0,3 мл/мин

Температура 50°C

Подвижная фаза 0,5% ацетатный буфер pH 4,0.

В указанных фракциях были обнаружены следующие продукты:

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

Первая фракция
Выход 7,2 мас.
Пик хитозана исходного материала
Пик олигомера хитозана 88,5 мол.
Мол.м. 40000-1300 (246 сахариды-7-сахариды).
Пик ацетата натрия.
Вторая фракция
Выход 15,2 мас.
Пик хитозана исходного материала
Пик олигомера хитозан 99,7 мол.
Мол.м. 45000-1300 (277 сахариды-7-сахариды)
Пик ацетата натрия.
Третья фракция
Выход 8,4 мас.
Пик олигомера хитозана 100 мол.
Мол.м. 25000-1000 (154 сахариды-5-сахариды)
Пик ацетата натрия.
Четвертая фракция
Выход 42,2 мас.
Пик олигомера хитозана 97,4 мол.
Мол.м. 25000-1300 (154 сахариды-7-сахариды)
Пик олигомера хитозана 2,6 мол.
Мол.м. 1300-900 (7-сахариды-5-сахариды)
Пики (пять) различных солей.

П р и м е р 7. В колбу, сделанную из стекла и имеющую емкость 500 мл, оборудованную мешалкой, вводят 10 г хлопьеобразного хитозана, имеющего размер частиц 30 меш, к которому добавляют 100 мл 10%-ного раствора уксусной кислоты с последующим перемешиванием для растворения. Температура реакции полученного раствора (pH равно 4) поддерживалась при 4°C использованием ледяной воды.

Затем было добавлено к таким образом полученному продукту 14,6 мл 10 мас. азотистая кислота/остаток глюкозамина 0,5 (молярное соотношение) водного раствора нитрита натрия, с последующим проведением реакции в течение 2 ч при перемешивании с получением олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции продукт, полученный таким образом, нейтрализуют 11 мл раствора метиламина, далее добавляют 1,6 г (2 моль в расчете на нитрит натрия) боргидрид натрия с последующим перемешиванием в течение 3 ч и проведением реакции восстановления, посредством этого получая олигомер хитозана, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы.

Вышеуказанная реакция, нейтрализация и восстановление были выполнены при температуре 4°C.

Реакционная жидкость стояла одну ночь в холодильнике и после удаления нерастворимых веществ использованием центрифужного седиментатора, с последующим концентрированием до получения смолообразного продукта, генерировали осаждение добавлением 300 мл метанола. Далее, концентрирование было продолжено до тех пор, пока отстоявшаяся жидкость стала смолообразным материалом, чтобы генерировать осаждение добавлением 300 мл этанола. Полученный таким образом осадок собирали использованием центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушивать при пониженном давлении. Полученный таким образом осадок подвергали измерению молекулярной массы посредством скоростной жидкостной хроматографии.

Результат: Осадок из-за метанола (фракция метанола) Выход 2,75 г Мол.м. 23,700-560

Осадок, обусловленный этанолом (фракция этанола) Выход 2,79 г Мол.м. 7,900-560

П р и м е р 8. Повторили тот же способ, что и в примере 7 (использование раствора метиламина в качестве нейтрализующего агента), за исключением того, что использовали следующий нейтрализующий агент.

Повторили тот же способ, что и в примере 7 (использование раствора метиламина в качестве нейтрализующего агента), за исключением того, что каждое количество алкиламинов, используемых для нейтрализации, было 25 мл раствора триметиламина, 10 мл раствора этиламина, 13 мл диэтиламина, 11 мл n-пропиламина и 9,5 мл изопропиламина.

Результаты приведены в табл.2.

П р и м е р 9. Повторили тот же способ, что и в примере 7 (использование раствора метиламина в качестве нейтрализующего агента), за исключением того, что использовали следующий нейтрализующий агент.

Ионообменные смолы, используемые в качестве нейтрализующего агента, приводятся ниже.

Амберлит IPA-400. Повторили тот же способ, что и в примере 7 (использование раствора метиламина в качестве нейтрализующего агента), за исключением нейтрализации. В нейтрализации в реакционный раствор ввели 200 мл ионообменной смолы, тихо перемешивая в течение 15 мин, чтобы удалить ионообменную смолу фильтрацией.

Фракция метанола: Выход 4,53 г Мол.м. 30,800-570

Фракция этанола: Выход 2,71 г Мол.м. 7,400-560

П р и м е р 10. В колбу, сделанную из стекла и имеющую емкость 500 мл, оборудованную мешалкой, ввели 10 г хлопьеобразного хитозана, имеющего размер частиц 30 меш, к которому добавили 100 мл 10%-ного раствора уксусной кислоты с последующим перемешиванием для растворения. Температура реакции полученного раствора (pH равно 4) поддерживалась при 4°C использованием ледяной воды.

Затем к таким образом полученному продукту было добавлено 14,6 мл 10 мас. азотистая кислота/остаток глюкозамина 0,5 (мольное соотношение) водного раствора нитрита натрия, с последующим проведением реакции в течение 2 ч при перемешивании с получением олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции продукт, полученный таким образом, нейтрализовали 10,5 мл конц. аммиачной воды, далее добавляли 2,28 г (2 моль в расчете на нитрит натрия) боргидрид калия, с последующим перемешиванием в течение 3 часов и проведением реакции восстановления,

RU 2057760 C1
RU 2057760 C1

посредством этого получая олигомер хитозана, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы.

Вышеуказанная реакция, нейтрализация и восстановление были выполнены при температуре 4°С.

Реакционная жидкость стояла одну ночь в холодильнике и после удаления нерастворимых веществ использованием центрифужного седиментатора с последующим концентрированием до получения смолообразного продукта, генерировали осаждение добавлением 300 мл метанола. Далее концентрирование было продолжено до тех пор, пока отстоявшаяся жидкость стала смолообразным материалом, чтобы генерировать осаждение добавлением 300 мл этанола. Полученный таким образом осадок собирали использованием центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушивать при пониженном давлении. Полученный таким образом осадок подвергали измерению молекулярной массы посредством скоростной жидкостной хроматографии.

Осадок, обусловленный метанолом (фракция метанола) Выход 2,66 г Мол.м. 28,200-560

Осадок, обусловленный этанолом (фракция этанола) Выход 3,37 г Мол.м. 9,400-560

П р и м е р 11. В колбу, сделанную из стекла и имеющую емкость 500 мл, оборудованную мешалкой, ввели 10 г хлопьеобразного хитозана, имеющего размер частиц 30 меш, к которому добавили 100 мл 10%-ного раствора уксусной кислоты с последующим перемешиванием для растворения. В случаях pH 1, pH 8 и pH 3,5 далее добавляли 4 мл азотной кислоты, и 35 мл и 12 мл уксусной кислоты соответственно. В случае pH 4 корректировки не проводилось, а в случае pH 5,4 pH корректировали добавлением 21 мл 5 водного раствора гидроксида натрия. Температуру реакции полученного раствора поддерживали при 4°С использованием ледяной воды.

Затем к таким образом полученному продукту было добавлено 14,6 мл 10 мас. [азотистая кислота/остаток глюкозамина0,5 (мольное соотношение)] водного раствора нитрита натрия, с последующим проведением реакции в течение 2 ч при перемешивании, с получением олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции продукт, полученный таким образом, нейтрализовали 13 мл при pH 1; 52 мл при pH 3; 27 мл при pH 3,5; 11 мл при pH 4; 2 мл при pH 5,4 конц. аммиачной воды, далее добавляли 1,6 г (2 моль в расчете на нитрат натрия) боргидрид натрия, с последующим перемешиванием в течение 3 ч и проведением реакции восстановления, посредством этого получая олигомер хитозана, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы.

Вышеуказанная реакция, нейтрализация и восстановление были выполнены при температуре 4°С.

Реакционная жидкость стояла одну ночь в холодильнике и после удаления нерастворимых веществ использованием центрифужного седиментатора с последующим концентрированием до получения смолообразного продукта, осаждение и процесс фракционирования продукта после этого было проведено следующим образом.

Измерение молекулярной массы таким образом полученного продукта выполнили посредством скоростной жидкостной хроматографии:

а) Фракционирование продукта при pH 1.

Продукт концентрировали до тех пор, пока он стал смолообразным материалом, с последующим добавлением метанола (300 мл) для осаждения продукта. Далее отстоявшуюся жидкость концентрировали до тех пор, пока она стала смолообразным материалом и затем добавили 300 мл этанола для осаждения продукта. Эти осадки собирали посредством центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении.

б) Фракционирование продукта при pH 3.

Добавляли 700 мл метанола к смолообразному концентрату для осаждения продукта. Далее отстоявшуюся жидкость концентрировали до тех пор, пока она стала смолообразным материалом, с последующим добавлением 300 мл метанола для осаждения таким образом полученного продукта. Таким образом, полученный концентрат снова концентрировали, с последующим добавлением 500 мл этанола для осаждения таким образом произведенного продукта. Эти осадки собирали посредством центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении.

в) Фракционирование продукта при pH 3,5.

Добавляли 400 мл метанола к смолообразному концентрату для осаждения продукта. Далее отстоявшуюся жидкость концентрировали до тех пор, пока она стала смолообразным материалом, с последующим добавлением 300 мл метанола для осаждения таким образом полученного продукта. Эти осадки собирали посредством центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении.

г) Фракционирование продукта при pH 4.

Добавляли 300 мл метанола к смолообразному концентрату для осаждения продукта. Далее отстоявшуюся жидкость концентрировали до тех пор, пока она стала смолообразным материалом, с последующим добавлением 300 мл метанола для осаждения таким образом полученного продукта. Эти осадки собирали посредством центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении.

д) Фракционирование продукта при pH 5,4.

Добавляли 300 мл метанола к смолообразному концентрату для осаждения продукта. Далее отстоявшуюся жидкость концентрировали с последующим добавлением метанола, потерпев неудачу получить продукт, таким образом генерируемый. Осадки, обусловленные метанолом, собирали посредством центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении.

pH и выход продукта приведены в табл.3.

П р и м е р 12. В колбу, сделанную из стекла и имеющую емкость 500 мл, оборудованную мешалкой, ввели 10 г хлопьеобразного хитозана, имеющего размер частиц 30 меш, к которому добавили 100 мл 10%-ного раствора уксусной кислоты, с последующим перемешиванием для растворения. Температуру реакции полученного раствора (pH 4) поддерживали при 8°C посредством постоянной температурной бани.

Затем к таким образом полученному продукту было добавлено 14,6 мл 10 мас. водного раствора нитрита натрия [азотистая кислота/остаток глюкозамина 0,5 (молярное соотношение)] последующим проведением реакции в течение 2 ч при перемешивании, с получением олигомера хитозана, имеющего группу 2,5-ангидроманнозы.

После завершения реакции продукт, полученный таким образом, нейтрализовали 11 мл конц. аммиачной воды, далее добавляли 1,6 г (2 моль в расчете на нитрит натрия) боргидрида натрия, с последующим перемешиванием в течение 3 ч и проведением реакции восстановления, посредством этого получая олигомер хитозана, имеющий группу 2,5-ангидроманнозы.

Вышеуказанная реакция, нейтрализация и восстановление были проведены при температуре 8°C.

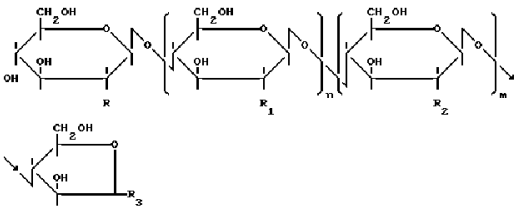
Реакционная жидкость стояла одну ночь в холодильнике и после удаления нерастворимых веществ использованием центрифужного седиментатора, с последующим концентрированием до получения смолообразного продукта, с генерированием осаждения добавлением 300 мл метанола. Далее концентрирование было продолжено до тех пор, пока отстоявшаяся жидкость стала смолообразным материалом с генерированием осаждения добавлением 300 мл этанола. Таким образом, полученный осадок собирали использованием центрифужного седиментатора с последующим промыванием ацетоном и эфиром, чтобы высушить при пониженном давлении. Таким образом, полученный осадок подвергали измерению молекулярной массы посредством скоростной жидкостной хроматографии.

Осадок, обусловленный метанолом (фракция метанола): Выход 2,96 г Мол.м. 29,800-570.

Осадок, обусловленный этанолом (фракция этанола): Выход 2,66 г Мол.м. 10,700-560.

Формула изобретения:

1. Олигомер хитина или хитозана, содержащий концевые группы 2,5-ангидроманнозы или 2,5-ангидроманнита общей формулы



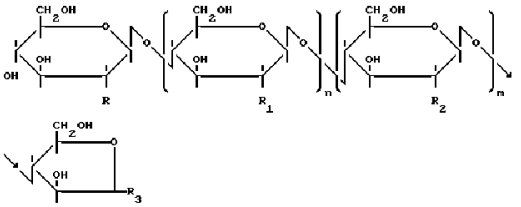
где R, R_1 и R_2 $NHCOCH_3$ или NH_2;

R_3 CHO или CH_2OH при условии, что если R NH_2, то R_2 $NHCOCH_3$, m + n 0 500; m равно 50% или меньше n, R_1 NH_2, а если R $NHCOCH_3$, то R_2 NH_2, m + n 0

1000, m равно 50% или меньше n, R_1 $NHCOCH_3$,

с мол. м. 900 50000 в качестве пищевых добавок и для создания фармацевтических препаратов.

2. Способ получения олигомера хитина или хитозана, имеющего концевые группы 2,5-ангидроманнозы или 2,5- ангидроманнита общей формулы



где R, R_1 и R_2 $NHCOCH_3$ или NH_2;

R_3 CHO или CH_2OH при условии, что если R NH_2, то R_2 $NHCOCH_3$, m + n 0 500, m равно 50% или меньше n, R_1 NH_2, а если R $NHCOCH_3$, то R_2 NH_2, m + n 0

1000, m равно 50% или меньше n, R_1 $NHCOCH_3$,

с мол. м. 900 50000, включающий взаимодействие хитина или хитозана с азотистой кислотой или нитритом натрия в водном растворе при pH 3 4 температуре не выше 10°C с последующей нейтрализацией реакционной смеси, гидрированием полученных олигомеров в присутствии восстановителя и/или осаждением целевых продуктов.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что взаимодействие с азотистой кислотой или нитритом натрия осуществляют в присутствии солюбилизирующего агента органической кислоты.

4. Способ по пп. 2 и 3, отличающийся тем, что нейтрализацию осуществляют добавлением аммиака, алкиламина или анионообменной смолы после завершения реакции.

5. Способ по пп.2 4, отличающийся тем, что восстановителем является боргидрид натрия или калия.

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1

Таблица 1

Вид	Выход, %	Выход олигосахарида-хитозана
Моносахарид Глюкозамин	49	
Дисахариды	5	
Трисахариды	6	
Тетрасахариды	5	51%
Пентасахариды	6	
Гексахариды и выше	29	

Таблица 2

Алкиламины	Фракция	Выход (г)	Мол. м.
Триметиламин	Метанол	2,10	30,000-570
	Этанол	4,70	10,000-540
Этиламин	Метанол	3,10	26,300-570
	Этанол	2,63	8,200-570
Диэтиламин	Метанол	3,72	28,200-560
	Этанол	2,37	7,600-560
n-Пропиламин	Метанол	3,46	30,000-560
	Этанол	2,45	8,700-570
Изопропиламин	Метанол	3,31	26,300-570
	Этанол	2,16	7,600-560

Таблица 3

pH	Фракция	Выход (г)	Мол. м.
1	Метанол	3,17	37,800-570
	Этанол	3,49	7,600-570
3	Метанол	1,26	42,500-570
	Этанол	3,69	11,600-480
3,5	Метанол	1,32	29,800-570
	Этанол	3,37	15,900-500
4	Метанол	3,33	34,500-590
	Этанол	3,38	9,000-490
5,4	Метанол	0,12	45,500-610
	Этанол	0,00	

RU 2057760 C1

RU 2057760 C1