

NGHIÊN CỨU PHÂN LẬP CHITIN VÀ TỔNG HỢP GLUCOSAMIN SULFAT NATRI CLORUA TỪ VỎ TÔM

Đến tòa soạn: 20 - 06 - 2006

Trần Đại Lâm, Vũ Đình Hoàng

Khoa Công nghệ Hóa học, Đại học Bách khoa Hà Nội

SUMMARY

STUDY ON SYNTHESIS OF GLUCOSAMINE SULFATE SODIUM CHLORIDE FROM SHRIMP SHELL

Chitin has been prepared from the shells of shrimp and have been determined quantitatively. It has been converted into glucosamine hydrochloride and then into glucosamine sulfate sodium chloride. It's structure has been identified by IR and NMR spectra.

I. MỞ ĐẦU

Chitin và các dẫn xuất của nó có các đặc tính quý như kháng khuẩn, kháng nấm, rất dễ phân hủy sinh học, bởi vậy chitin và các dẫn xuất đã được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau [1-3]. Từ thập kỷ 90 người ta đã phát hiện ra glucosamin phục hồi được các sụn khớp, tức là chữa được căn nguyên của bệnh viêm, thoái hoá khớp. Thuốc chứa glucosamin, mà điển hình là các dạng muối của nó như: glucosamin hydroclorit, glucosamin sulfat kali clorua, glucosamin sulfat natri clorua đã được lưu hành trên 70 nước trên thế giới. Xuất phát từ thực tế trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu chế thử glucosamin sulfat natri clorua được dụng từ phế liệu sinh học là vỏ tôm.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp tổng hợp

Glucosamin hydroclorit được tổng hợp bằng phản ứng thủy phân chitin trong dung dịch HCl đặc. Glucosamin sulfat natri clorua được tổng hợp bằng phản ứng của glucosamin hydroclorit với Na_2SO_4

để tạo thành muối kép Glucosamin sulfat natri clorua (Glu-SO_4^{2-}).

2. Phương pháp xác định cấu trúc

Cấu trúc hóa học các chất được xác định bằng các phương pháp phổ IR và NMR. Phổ ^1H - NMR và ^{13}C - NMR được đo trên máy ADVANCE 500 Bruker của Viện Hóa học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, dung môi sử dụng là D_2O , chất nội chuẩn là tetrametylsilan (TMS).

3. Phương pháp kiểm nghiệm

Glucosamin sulfat natri clorua được kiểm nghiệm theo các tiêu chuẩn của Dược điển Mỹ USP 26 [4].

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập chitin

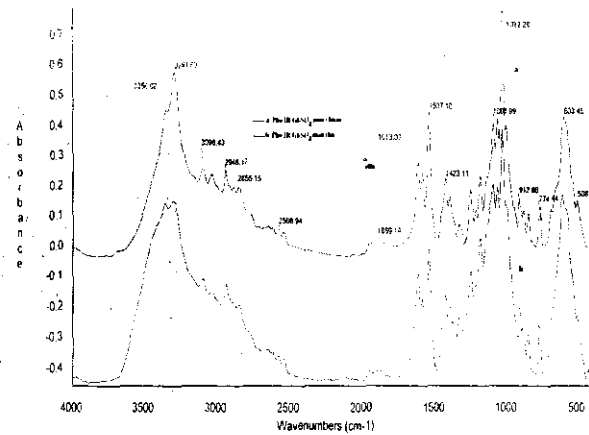
Nguyên liệu dùng để phân lập chitin là vỏ tôm, đây là nguồn nguyên liệu dễ kiếm và rẻ tiền. Mặt khác để đảm bảo mẫu có độ ổn định tương đối, tính

đồng nhất cao, tránh sai số lớn trong tổng hợp thực nghiệm, mẫu chỉ thu thập tại một địa điểm vô tôm sấy khô đến khối lượng không đổi. Tiến hành các bước phân lập theo quy trình [5]. Khảo sát hàm lượng chitin qua 10 lần lặp lại tinh được hiệu suất của quá trình phân lập chitin là 29% -33%.

2. Tổng hợp glucosamin hydroclorit

Chuyển hóa chitin thành glucosamin hydroclorit bằng cách thủy phân dung dịch HCl đặc ở nhiệt độ 60-

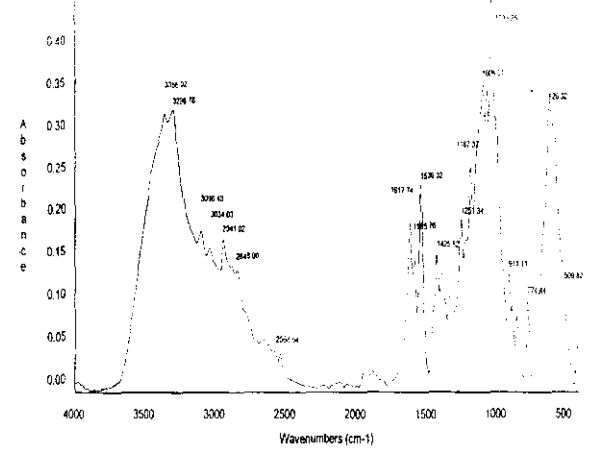
4. Xác định cấu trúc Glucosamin sulfat natri clorua



70°C. Tránh thực hiện phản ứng ở nhiệt độ cao hơn vì glucosamin hydroclorit dễ bị phân hủy. Hiệu suất chuyển hóa của 7 lần làm thí nghiệm là từ 65-70%.

3. Tổng hợp Glucosamin sulfat natri clorua

Glucosamin sulfat natri clorua được tổng hợp bằng cách cho phản ứng với Na₂SO₄ ở nhiệt độ phòng, sau đó kết tinh lại bằng cồn tuyệt đối. Hiệu suất phản ứng của 5 lần làm thí nghiệm là từ 85 - 88,5%.



Hình 1: Phổ IR của Glu-SO₄²⁻: Mẫu thử (trái); so sánh mẫu chuẩn và mẫu thử (phải)

+) Phổ IR của Glu-SO₄²⁻ có các đỉnh hấp thụ 3356cm⁻¹ và 3298cm⁻¹ của nhóm OH và NH. Không thấy có các đỉnh hấp thụ của nhóm C = O của aldehyt no trong vùng 1700cm⁻¹-1730cm⁻¹, chứng tỏ hợp chất tồn tại ở dạng bán xetal. Đỉnh hấp thụ 2941cm⁻¹ đặc trưng của nhóm CH₂. Phổ hồng ngoại glucosamin sulfat natri clorua mẫu thử được so sánh với mẫu chuẩn theo hình 2.

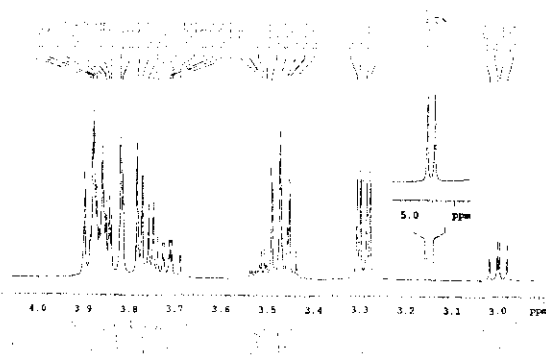
Như vậy qua so sánh phổ trên hình 1 nhận thấy các pic của mẫu chuẩn và mẫu thử có độ trùng lặp, khẳng định mẫu thử đúng là glucosamin sulfat natri clorua với độ tinh khiết cao.

Các dữ liệu về phổ ¹H-NMR và ¹³C-NMR của Glu-SO₄²⁻ thu được từ hình 2 và hình 3, bảng 1 có các độ chuyển dịch hóa học hoàn toàn tương tự với số liệu phổ của glucosamin hydroclorit trong tài

liệu [6]. Điều này có thể giải thích do cả hai loại muối đều chứa sản phẩm proton hóa glucosamin. Tuy nhiên, có sự khác biệt tỉ lệ các đồng phân α và β của muối kép điều chế được glucosamin sulfat natri clorua và glucosamin hydroclorit theo tài liệu [6]. Điều này được thể hiện trên phổ ¹H-NMR (hình 2) và bảng 1.

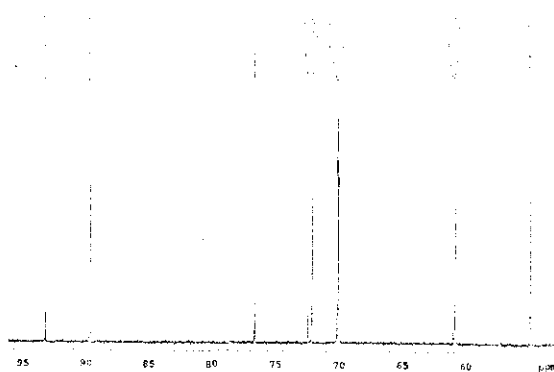
Sản phẩm hỗn hợp glucosamin sulfat natri clorua là một hỗn hợp đồng phân α và β theo vị trí nhóm OH ở C₁.

Tín hiệu phổ proton của Glu-SO₄²⁻ cũng cho thấy glucosamin sulfat natri clorua tồn tại dưới hai dạng α và β, ở đây ta thấy tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hoá học δ = 5,5ppm là của dạng ghế α vì có dạng duplet với hằng số tương tác J = 3,5 Hz.



Hình 2. Phổ ^1H -NMR của Glu-SO_4^{2-}

Còn tín hiệu proton ở độ chuyển dịch hoá học $\delta = 4,95\text{ppm}$ tương ứng với proton của dạng ghế β vì có dạng duplet với hằng số, tương tác $J = 8,5$ Hz. Dựa vào các giá trị tích phân của phổ ^1H -



Hình 3. Phổ ^{13}C -NMR của Glu-SO_4^{2-}

NMR ta tính được tỉ lệ hai đồng phân $\alpha : \beta$ là xấp xỉ 3,5:1. Theo tài liệu [6] tỉ lệ hai đồng phân của muối glucosamin hydroclorit là xấp xỉ 9:1.

Bảng 1. Số liệu phổ ^1H -NMR của Glu-SO_4^{2-}

Dạng ghế đồng phân α			Dạng ghế đồng phân β		
Proton	δ (ppm)	J (Hz)	Proton	δ (ppm)	J (Hz)
H ₁	5,5	JH _{1-H2} : 3,5	H ₁	5,0	JH _{1-H2} : 8,5
H ₂	3,5	JH _{2-H1} : 3,5	H ₂	3,0	JH _{2-H1} : 8,5
H ₃ , H ₄ , H ₅ , H ₆	3,4- 3,9	Là dạng hỗn hợp của nhiều hydrô	H ₃ , H ₄ , H ₅ , H ₆	3,0- 3,9	Là dạng hỗn hợp của nhiều hydrô

3. Kiểm nghiệm glucosamin sulfat natri clorua theo các chỉ tiêu chất lượng của Dược điển Mỹ USP 26

+) Định tính:

Kết quả: Hai phổ IR của chất thử và chuẩn có các đỉnh trùng nhau

- Trên sắc ký đồ khi chạy HPLC (theo mục đích định lượng) tại phòng kiểm nghiệm hóa lý 1 Viện Kiểm nghiệm Bộ Y tế.

Kết quả: Pic chính của hai mẫu thử và chuẩn có thời gian lưu như nhau.

- Phản ứng Cl⁻: Đúng.

+) Năng suất quay cực:

- Tính theo công thức:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = \frac{\alpha \times 100}{L \times C}$$

- Tiến hành đo 5 lần.

Với: $\alpha = 2,3$, $L = 2$

$C = 2,5 \times 0,9914$ (hàm lượng ẩm là 0,96%) \times 85,3% (Hàm lượng Glu-SO_4^{2-} là 85,3%)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 54,4$.

+) pH:

- Đo pH của dung dịch 20mg/ml bằng nước cất không có CO₂ (đun sôi để nguội).

Kết quả: 3,92

+) *Mất khối lượng do làm khô*: Hàm lượng ẩm trong chế phẩm đạt 0,95 %.

+) *Cặn sau khi nung*: 23%-25%

+) *Arsen*: Đạt 0,2 ppm

+) *Kim loại nặng*: Hàm lượng kim loại nặng trong chế phẩm $\leq 0,001\%$ (10ppm)

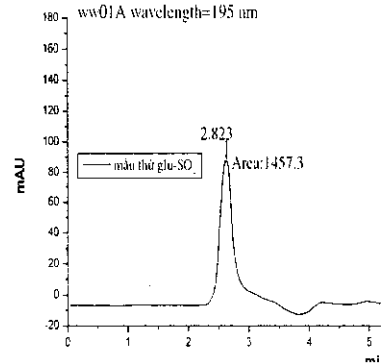
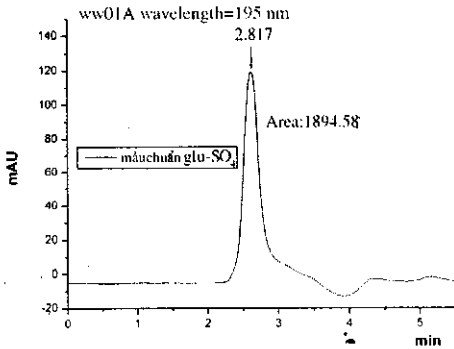
+) *Định lượng*:

***) Định lượng sulfat:**

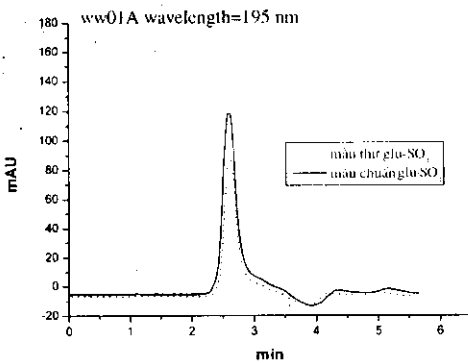
Sulfat thực tế đạt khoảng 16,7% đạt điều kiện cho phép là 16,3%-17,3%.

***) Định lượng hàm lượng chế phẩm theo HPLC:**

Kết quả :



Hình 4. Sắc ký mẫu chuẩn và mẫu thử glu-SO₄²⁻



Hình 5. So sánh sắc ký đồ của mẫu thử và mẫu chuẩn

IV. KẾT LUẬN

Đã tiến hành phân lập thành công chitin từ vỏ tôm phế thải với hiệu suất của quá trình phân lập là 29% -33% và thành phần phần trăm muối khoáng có trong vỏ tôm là 67% – 71%. Từ chitin đã chuyển hóa thành glucosamin hydroclorit với hiệu suất từ 65-70%. Lần đầu tiên điều chế thành công glucosamin sulfat natri clorua từ muối clorit với hiệu suất từ 85-88,5%. Cấu trúc của glucosamin sulfat natri clorua được xác định bằng phổ IR và NMR, chất lượng sản phẩm được kiểm tra theo Dược điển Mỹ USP 26, kết quả cho thấy sản phẩm thu được đáp ứng đầy đủ các điều kiện để có thể sử dụng trong Y dược.

Vậy hàm lượng chế phẩm đạt 80,55% (tính theo nguyên trạng)

Thời gian lưu mẫu thử và mẫu chuẩn trùng nhau.

Diện tích pic chính của mẫu thử nhỏ hơn của mẫu chuẩn hình 5.

LỜI CẢM ƠN:

Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ các đề tài và dự án VLIR-HUT AP05\Prj03\Nr05. UTCN 14\ĐHBK\2005-2006. Đề tài KHCB (6.056.06).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Muzzarelli Riccardo A.A., Monica M.B., Barbara M., Gabriella M., Molena F., Graziella B., "Medical and veterinary applications of Chitin and Chitosan", Adv, Chitin sci., Vol 2, pp. 580-589, (1997).
2. Lê Thị Hải Yến, "Nghiên cứu Chitin/Chitosan ứng dụng trong y học", Luận án Tiến sĩ Hoá học, Viện Hoá học, Trung tâm KHTN & CNQG, (2002).
3. Alberto Di Martino, Michael Sitingger, Makarand V. Risbud, "Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering", Biomaterials (26), pp 5983-5990, (2005).
4. USP 26, NF21, 2764-2765.
5. Nguyễn Văn Thùy, Bùi Duy Hữu, *Đồ án Tốt nghiệp Hóa Dược & hóa chất bảo vệ thực vật*, ĐHBK HN, K45, K46 (2005).
6. Lưu Văn Chính và cộng sự, "Hoạt tính kháng viêm của các muối glucosamin", Tạp chí Dược học 43, (4), tr. 21-24, (2003).