

迟海林, 李菲菲, 张李伟, 等. 氨基葡萄糖类物质在保健食品中的应用及研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(8): 437-445. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050211

CHI Hailin, LI Feifei, ZHANG Liwei, et al. Application and Research Progress of Glucosamine in Health Food[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(8): 437-445. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050211

· 专题综述 ·

氨基葡萄糖类物质在保健食品中的应用及研究进展

迟海林, 李菲菲⁺, 张李伟, 姜 雨^{*}

(国家市场监督管理总局食品审评中心, 北京 100070)

摘 要:我国进入老龄化社会后, 骨质疏松症、骨关节炎等问题愈发严峻。氨基葡萄糖作为人体关节软骨中蛋白多糖的重要成分, 可改善关节软骨代谢, 促进骨关节健康。市售的氨基葡萄糖类物质主要以盐酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖及其复盐形式存在, 制备方法主要有酸解法、微生物发酵法、酶解法。目前临床研究表明氨基葡萄糖安全性较高, 尚未发现严重不良反应, 在促进骨关节健康、抗氧化、免疫调节、抗菌消炎等方面均有明显的改善效果。在保健食品领域, 氨基葡萄糖类物质的研究主要以促进骨骼健康为主。本文从氨基葡萄糖类物质的生理功能、制备工艺、安全性、国内外的应用情况等方面进行综述, 针对氨基葡萄糖类物质无专属性保健食品原料质量标准、生产工艺不规范等问题提出建议, 旨在为氨基葡萄糖类保健食品的开发利用和监督管理提供参考。

关键词:氨基葡萄糖, 骨骼健康, 保健食品, 注册管理

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)08-0437-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022050211



本文网刊:

Application and Research Progress of Glucosamine in Health Food

CHI Hailin, LI Feifei⁺, ZHANG Liwei, JIANG Yu^{*}

(Center for Food Evaluation, State Administration for Market Regulation, Beijing 100070, China)

Abstract: An aging society is coming in China with more and more serious problems such as osteoporosis and osteoarthritis. Glucosamine is one of important components from proteoglycan in human articular cartilage matrix, which can improve articular cartilage metabolism and promote bone and joint health. Commercially available glucosamine usually exists in the form of glucosamine hydrochloride, glucosamine sulfate and their double salts, and produced through acid and enzymatic hydrolysis and fermentation. Clinical studies have shown that it has high safety with no serious adverse reactions found and exhibits the health functions of promoting bone and joint health, antioxidation, regulating immunity, resisting bacteria and inflammation, etc. In health food, research in glucosamine is often focused on promoting bone health. In this article, the health functions, preparation techniques, safety and use of glucosamine are reviewed, while suggestions are given to improve the quality standard and production techniques due to no specific quality standard and standardized production process of glucosamine currently available, aiming at providing a reference for the development, supervision and regulation of glucosamine-based health foods.

Key words: glucosamine; bone health; health food; registration management

随着人口老龄化趋势的加重, 骨质疏松症、骨关节炎的发病率呈上升趋势, 已逐渐成为严重危害人类健康的重大疾病之一。作为具有调节机体功能的保健食品在增加骨密度、减轻关节疼痛、缓解骨质疏松

等方面具有较大的市场前景, 受到了中老年人的青睐。氨基葡萄糖作为人体关节软骨基质以及关节滑液中蛋白多糖的重要组成成分, 外源性补充氨基葡萄糖类物质能促进关节软骨中的胶原蛋白多糖的合成,

收稿日期: 2022-05-19 +并列第一作者

作者简介: 迟海林 (1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 保健食品技术审评, E-mail: 1099393684@qq.com。

李菲菲 (1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 保健食品技术审评, E-mail: anyanglifeifei@163.com。

* 通信作者: 姜雨 (1978-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 保健食品技术审评, E-mail: 42152728@qq.com。

刺激软骨细胞再生,改善关节软骨的代谢,保护骨关节^[1]。2003 年以来我国批准注册的氨基葡萄糖类保健食品共 320 个,占增加骨密度保健食品的比例为 55.2%,市场潜力较大。本文对氨基葡萄糖类物质的生理功能、制备工艺、安全性等方面进行了综述,并综合分析了氨基葡萄糖类物质在国内外外的应用情况,旨在为政府监管部门提供参考,为进一步开发利用氨基葡萄糖类保健食品提供研究思路。

1 氨基葡萄糖类物质的生理功能

1.1 促进骨关节健康

骨密度是骨骼组织矿物质的密度,可反映骨骼的健康状况。临床上一般通过增加钙的含量、提高雌激素水平、增加成骨细胞活性等途径增加骨密度。氨基葡萄糖主要存在于关节软骨中,可促进软骨中胶原的合成,维持关节软骨的正常结构,通过增加成骨细胞中骨桥蛋白和骨钙素的分化,加速骨钙沉积来改善骨质疏松;可通过降低炎症转录因子浓度,抑制溶酶体酶、胶原酶和磷脂酶 A2 等水解酶的释放,减少关节软骨基质的水解破坏,从而保护骨骼^[2-3]。李哲等^[4]通过对绝经后骨质疏松模型大鼠进行连续 12 周的氨基葡萄糖(250、100 mg/kg)灌胃治疗,发现氨基葡萄糖可在体内逆转骨量丢失、骨强度降低和组织受损结构,对骨质疏松具有一定的改善作用。尹友红等^[5]以盐酸氨基葡萄糖、碳酸钙、维生素 D 为保健食品复合配方饲养 SPF 级大鼠 3 个月后,测量骨重、骨密度、骨钙指标变化发现,该配方各剂型实验组的测定值均显著高于对照组($P<0.05$),表明该配方既能增加骨密度又能增加骨钙量,可有效改善和预防骨质疏松。刘慧娜^[6]对轻度、中度以及重度膝骨关节炎患者进行口服盐酸氨基葡萄糖胶囊治疗,连续服用两个疗程(4 周为一疗程)。结果发现,盐酸氨基葡萄糖既可以改善患者疗效,又能有效降低膝骨关节炎患者炎症反应,改善白细胞介素-1 β (IL-1 β)以及前列腺素 E-2 PGE-2 水平,增加滑膜液的粘稠度,促进滑膜液的合成,从而改善膝关节功能,提高治疗效果。

为探究不同酸根形式的氨基葡萄糖在改善骨骼健康疗效方面的差异,邱贵兴等^[7]在国内首次评估了硫酸及盐酸氨基葡萄糖两种形式治疗骨关节炎的有效性,结果显示盐酸氨基葡萄糖在缓解膝关节疼痛、减轻肿胀及改善关节活动度方面与硫酸氨基葡萄糖相似,两者的药代动力学特性相同,都在胃酸中完全解离,在小肠中以氨基葡萄糖原形吸收,体内活性与最初的酸根形式无关,具有相似的疗效。张百挡^[8]选取 78 例膝骨关节炎患者,随机分为口服盐酸氨基葡萄糖组和口服硫酸氨基葡萄糖组,用 WOMAC 骨关节炎指数和 Lequesne 疼痛与功能指数客观评估治疗前后患者膝骨关节炎指数及膝关节功能改善程度,结果发现两组治疗 3、6 周后 WOMAC 疼痛积分、僵硬积分、生理功能积分、运动痛、关节压痛、关节肿胀、关节晨僵、Lequesne 总指数差异无显著性意义($P>0.05$),表明盐酸氨基葡萄糖与硫酸氨基葡萄糖均

能明显地改善膝骨关节炎指数及膝关节功能,在治疗膝骨关节炎上疗效相当。也有研究发现,盐酸氨基葡萄糖对关节压痛、夜间静息痛、晨僵等方面的改善效果优于硫酸氨基葡萄糖,但并无统计学差异。张伟滨等^[9]选取 143 例膝和髌骨关节炎患者,随机分成盐酸氨基葡萄糖研究组和硫酸氨基葡萄糖对照组给药 6 周。治疗 3 周、6 周时两组患者在行走疼痛、关节压痛、夜间静息痛、晨僵各项指标均有明显改善。6 周后,研究组在行走疼痛、夜间静息痛、晨僵方面改善情况较对照组更明显,差异有统计学意义($P<0.05$),但关节压痛两组间差异无明显统计学意义($P>0.05$)。治疗结束后,两组患者的总体疗效评价显示各研究组的总有效率略好于对照组,但两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 免疫调节

免疫是人体通过一定的机体反应以抵抗异物入侵,维持人体健康的一项生理功能。氨基葡萄糖可通过激活 T-淋巴细胞与巨噬细胞增强人体免疫。研究发现^[10]氨基葡萄糖能显著促进小鼠脾淋巴细胞增多,增加巨噬细胞对中性红的吞噬量,具有剂量-效应关系;对小鼠进行灌服氨基葡萄糖处理后,能够增强 T 淋巴细胞转化功能及自然杀伤细胞(NK 细胞)活性,提高单核巨噬细胞的吞噬功能,增强迟发性超敏反应,提高小鼠抗体生成能力,提高免疫器官指数,对特异性细胞免疫、体液免疫以及非特异性免疫功能均有明显的促进作用。曹秀明等^[11]发现 D-盐酸氨基葡萄糖能够诱导淋巴细胞增殖并且分泌 IL-2。研究者^[12]对 ICR 小鼠连续灌胃 30 d,取脾脏进行 T 淋巴细胞转化功能和细胞活性测定、取胸腺称重计算胸腺指数,结果发现氨基葡萄糖对小鼠 T 淋巴细胞转化功能和自然杀伤细胞活性有明显的促进作用($P<0.05$),显著提高小鼠胸腺指数,可明显提高机体的免疫功能。陈冠敏等^[13]将 ICR 雌性小鼠按体重随机分成低、中、高(150、300、900 mg/kg bw)3 个剂量组和对照组,连续灌胃 30 d,结果发现高剂量组小鼠的胸腺指数、迟发型超敏反应应激能力、血清溶血素水平及抗体生成能力、NK 细胞的活性显著高于对照组($P<0.05$),表明硫酸氨基葡萄糖可在细胞免疫功能、体液免疫功能及 NK 细胞活性方面增强正常小鼠免疫功能。为研究氨基葡萄糖对中风后炎症的影响,Rahimian 等^[14]采用转基因小鼠模型,在小鼠中风后 72 h 进行氨基葡萄糖治疗发现,雄性小鼠体内促炎细胞因子(包括 IL-4、IL-13 和集落刺激因子 MCFC)的水平会下降,包括 GM-CSF 在内的抗炎细胞因子水平会上升,肠系膜病变现象减少。同时给予氨基葡萄糖可恢复雄性小鼠大脑中动脉闭塞的 PPAR- γ 活性。结果表明,氨基葡萄糖在男性中风后具有一定的免疫调节作用。因此,实验表明氨基葡萄糖可明显提高机体的免疫功能,在调节机体免疫功能方面具有一定的价值。

1.3 抗氧化

生物体系中,自由基作为人体正常代谢的产物,

在机体内处于动态平衡。一旦这种平衡状态被打破, 它们将会攻击生物大分子, 损伤细胞和结缔组织, 导致透明质酸解聚加重、延长炎症过程, 诱导有害物质产生, 从而引发疾病。抗氧化是抑制、抵消自由基对人体细胞攻击的氧化反应, 可减少对组织器官的损伤, 抗氧化剂可直接作用于自由基, 通过直接清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 ABTS^+ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 等自由基以及抑制脂质过氧化, 从而发挥抗氧化的作用; 也可通过增强超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的活性、络合产生活性氧所必需的金属离子、降低丙二醛、提高总抗氧化能力水平以达到抗氧化的目的^[15-16]。有研究表明^[17]氨基葡萄糖对 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 $\text{DPPH}\cdot$ 自由基的清除效果显著, 表现出较强的清除能力、还原力和络合铁离子的能力, 能够保护脱氧核糖、脂类和蛋白质生物大分子的氧化性损伤, 是有效的自由基清除剂。杨艳^[18]采用单剂量腹腔注射 CCl_4 (20 mg/kg) 诱导小鼠肝脏毒性, 并提前 12 d 给予氨基葡萄糖 (1.5 g/kg bw) 灌胃处理, 结果显示氨基葡萄糖组可有效降低血清中天门冬氨酸转氨酶和丙氨酸转氨酶的含量, 抑制肝脏中脂类过氧化产物丙二醛的含量, 提高肝组织中总巯基和非蛋白结合巯基、总抗氧化能力的水平, 表明氨基葡萄糖能够降低转氨酶的活性, 诱导肝脏中金属硫蛋白的表达, 提高肝脏总抗氧化能力, 从而有效对抗诱导的氧化应激。Chiu 等^[19]研究发现氨基葡萄糖可通过减少脂多糖激活的巨噬细胞中活性氧的生成、减少 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的激活来抑制 NLRP3 和 $\text{IL-1}\beta$ 前体的表达, 对由 NLRP3 激活的巨噬细胞线粒体活性氧生成和线粒体完整性丧失具有抑制作用。口服氨基葡萄糖可降低尿酸晶体注射小鼠腹腔中性粒细胞内流和灌洗液中 $\text{IL-1}\beta$ 、 IL-6 MCP-1 和 $\text{TNF-}\alpha$ 的浓度, 改善 NLRP3 炎症相关并发症。Mendis 等^[20]研究发现, 硫酸氨基葡萄糖处理人软骨细胞和巨噬细胞后, 会抑制膜脂、蛋白质和 DNA 的自由基模拟氧化, 并具有一定的剂量依赖性。硫酸氨基葡萄糖还可以抑制自由基介导的核因子 κB ($\text{NF-}\kappa\text{B}$) 蛋白的表达和活化, 增强氧化应激人类软骨细胞中还原型谷胱甘肽的水平, 从而改善细胞氧化还原平衡。研究

证明硫酸氨基葡萄糖在细胞和非细胞系统中具有有效的自由基清除能力。

1.4 其他功能

氨基葡萄糖不仅能改善关节软骨的代谢、增强免疫力、抗氧化, 还可参与抗癌抑菌、肝肾解毒, 发挥抗炎护肝作用。在有关盐酸氨基葡萄糖体外对人肝癌细胞 (SMMC-7721) 生长影响实验中发现^[21], 氨基葡萄糖体外能明显抑制 SMMC-7721 的生长, 而且存在剂量依赖关系。氨基葡萄糖可以抑制自身免疫性脑脊髓炎的发病, 使自身免疫性脑脊髓炎的发病率降低, 减轻发病的高峰症状, 可有效对自身免疫性脑脊髓炎起到一定的保护作用^[22]。

2 氨基葡萄糖类物质的制备工艺

氨基葡萄糖是一种重要的氨基己糖, 它由葡萄糖的一个羟基被氨基取代形成, 分子式为 $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5$, 分子量为 179, 结构式如图 1。氨基葡萄糖通常以 N-乙酰基衍生物 (甲壳素)、N-硫酸酯和 N-乙酰-3-O-乳酸醚 (细胞壁) 形式存在于微生物、动物来源的多糖和结合多糖中^[23]。氨基葡萄糖由于存在活性氨基基团, 化学性质不稳定, 在空气中易氧化, 目前市场上的氨基葡萄糖主要以盐酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖及其复盐形式存在^[24]。商业化生产氨基葡萄糖的动物性原料主要以甲壳动物的外壳为主, 植物性原料主要有工业发酵柠檬酸的废弃玉米、大米、稻谷渣等^[25]。制备方法主要有酸水解法、酶解法及微生物发酵法^[26]。不同方法具有各自的优势, 同时也有一些不可忽视的局限性 (表 1)。

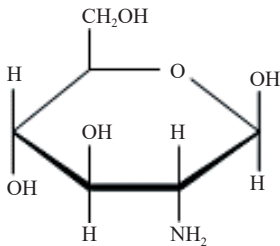


图 1 氨基葡萄糖分子结构图
Fig.1 Molecular structure of glucosamine

表 1 不同方法制备氨基葡萄糖的优势与不足
Table 1 Advantages and disadvantages of different methods for preparing glucosamine

制备方法	制备原理	优势	不足
酸解法	利用高温、浓盐酸将甲壳素脱去乙酰基制得	适合工业化生产 变废为宝, 增加附加值 操作简单 成本较低	浓盐酸使用量大, 增加后处理难度, 能耗高 易受原料来源季节和产地限制 产生较多废渣和废液, 造成环境污染 产品有鱼腥味, 不稳定 预处理复杂
酶解法	利用酶对虾蟹外骨骼进行脱乙酰基反应来制得 (酶制剂: 甲壳素酶、溶菌酶、壳聚糖酶等)	绿色环保, 无环境污染, 无需添加强酸 无副产物, 无有毒物质积累 产品质量稳定	酶制剂转化时间较长 生产成本较高 生产工艺过程较复杂 酶的获得途径有局限 较难实现工业化
微生物发酵法	利用微生物或代谢工程改良过的菌种进行发酵培养、分离纯化制得 (菌种: 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌等)	条件温和 减少三废污染, 环保 原材料广泛, 不受资源限制, 产品无鱼腥味 生产成本低、产量高 生产周期短, 强度高	微生物工程菌代谢改造困难 易产生代谢副产物 产物积累抑制

2.1 酸解法

甲壳动物虾、蟹壳中甲壳素是国内氨基葡萄糖类物质的首要来源,也是酸解法制备盐酸氨基葡萄糖的主要原料。盐酸氨基葡萄糖的制备主要是利用高温(通常 90~100 ℃)、浓盐酸将甲壳素脱去乙酰基。该方法操作简单、成本较低,是适合工业化生产的常用方法^[27]。硫酸氨基葡萄糖可通过硫酸降解甲壳素或将酸解法得到的盐酸氨基葡萄糖经反离子交换制备。由于不含金属氯化物的硫酸氨基葡萄糖易吸潮和氧化,不易加工和储存,一般将其制成硫酸氨基葡萄糖复盐形式^[28]。盐酸水解甲壳素时,盐酸用量、水解时间、质量配比、盐酸浓度、水解温度、甲壳素粒度、脱色时间及温度、浓缩结晶条件等因素均会影响产物纯度、得率。孙丽^[29]采取浓盐酸水解虾头来源的甲壳素制备盐酸氨基葡萄糖,通过工艺优化,确定了3倍量31%的盐酸在90 ℃反应5 h,该工艺路线制备盐酸氨基葡萄糖得率为57.1%,纯度为99.1%。韩立路^[30]选择6倍量36%盐酸,90 ℃水解粒度25目的甲壳素3.5 h,65~70 ℃脱色35 min,浓缩晶体与母液比在1:1左右时,盐酸氨基葡萄糖的质量最好,产率最高。林秀芬等^[31]采用硫酸直接降解甲壳质,经稀硫酸脱乙酰反应、过滤、多级膜分离法除去过量硫酸、脱色、浓缩、干燥制得硫酸氨基葡萄糖。该方法避免使用大量有机溶剂,生产过程安全,纯度高、可大量处理。Rovati^[32]将盐酸氨基葡萄糖溶液通过阴离子交换树脂(由硫酸钠水溶液处理),收集过柱溶液,经浓缩、与丙酮混合、冻干、乙醇洗涤制得,该方法氯离子含量低、产物纯度较高。Schleck等^[33]在盐酸氨基葡萄糖溶液中加入硫酸钾,特定条件下进行离子交换反应,将得到的硫酸氨基葡萄糖氯化钾水溶液直接冷冻干燥制得氨基葡萄糖硫酸复盐。尹鸿萍等^[34]将氯化钾溶液缓慢加入到硫酸氨基葡萄糖溶液中经回流反应、减压蒸馏,离心脱水,真空干燥制得复盐。该方法可以有效减少生产过程中有机溶剂的参与,避免了冷冻干燥有机溶剂对人员造成的伤害和对环境的污染,节约了运行成本。不过,酸解法也存在一些缺点^[35],比如盐酸使用量大,增加后处理难度增加、污染环境;长时间的高温反应,盐酸氨基葡萄糖容易发生复合与再分解,降低产率,成品颜色加深等。经工艺优化,有研究者^[36]采用低酸度盐酸多次酸解、微波加热辅助方式减少盐酸用量;优化升温程序,以分段升温、加氮保护来减少副反应等。

综合目前研究,以甲壳素为原料经酸水解制备氨基葡萄糖类物质的方式充分体现了资源再利用理念,操作简单、方法可行,有利于创造良好的经济效益,已被氨基葡萄糖企业广泛应用。不过从环保、安全的角度出发,探索温和条件下(避免强酸、强碱环境)的制备工艺,利用新兴技术减少环境污染、降低安全风险,还应作为今后研究的重点。

2.2 微生物发酵法

微生物发酵法主要以葡萄糖和氮源为发酵底物,利用菌种或代谢工程改良过的菌种进行发酵培养、分离纯化制得N-乙酰氨基葡萄糖,进一步脱乙酰制得氨基葡萄糖。近几年,用代谢工程改造过的大肠杆菌、枯草芽孢杆菌生产氨基葡萄糖的技术已逐渐成熟^[37],葡萄糖转化率高。程汝滨等^[38]在大肠杆菌基因工程菌株构建时,同时增强氨基葡萄糖合成酶和外源性的氨基葡萄糖乙酰化酶的表达活性,有效提高了胞外氨基葡萄糖的积累量。Wu等^[39]通过构建枯草芽孢杆菌工程菌株,控制代谢通路关键酶的表达,阻断细胞自身消耗途径,结合优化与控制发酵过程,乙酰氨基葡萄糖产量最高可达103.1 g/L。徐恒德等^[40]构建枯草芽孢杆菌基因工程菌株,利用该菌株在1 m³发酵罐中流加补料进行好氧发酵50 h,葡萄糖转化为N-乙酰氨基葡萄糖的转化率可达到52.5%,N-乙酰氨基葡萄糖产率≥100 g/L。该方法通过提高基因工程菌的纯度,创新流加补料工艺,有效提高葡萄糖的转化率、氨糖产率和纯度,减少代谢副产物的产生。Zhu等^[41]构建了一株重组枯草芽孢杆菌菌株,通过表达二乙酰基二糖脱乙酰基酶作为高效的全细胞生物催化剂,研究发现在枯草杆菌全细胞生物催化剂18.6 g/L,温度40 ℃,pH7.5,乙酰化氨基葡萄糖浓度50 g/L,反应时间3 h时,氨基葡萄糖的最大效价为35.3 g/L,摩尔转化率为86.8%。可实现乙酰化氨基葡萄糖一步制备氨基葡萄糖。刘龙等^[42]发现以大肠杆菌*E.coli* ATCC25947(DE3)为出发菌株,过表达氨基葡萄糖-6-磷酸合成酶及外源氨基葡萄糖6-磷酸N-乙酰转移酶,敲除丙酮酸氧化酶和乳酸脱氢酶,可提高大肠杆菌生产乙酰氨基葡萄糖的能力,提高乙酰氨基葡萄糖胞外积累量,浓度最高可达180 g/L,葡萄糖转化率56%,不产生乙酸和乳酸副产物。卢健行等^[43]将大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、葡萄球菌(体积比3:(1~2):(0.8~1))进行种子活化后制得混合发酵剂,按10%接种量接种至含有葡萄糖和氮源的发酵培养基中恒温摇床培养,采用恒速补料方式控制葡萄糖补料速度、发酵pH,发酵培养35~48 h后离心分离、盐酸水解、大孔吸附树脂柱层析、浓缩、加硫酸钾、真空冷冻干燥等制得氨基葡萄糖硫酸钾盐。该方法通过混合发酵剂提高大肠杆菌的发酵活力,提高氨基葡萄糖的合成速率,通过酸解、浓缩、结晶、脱色提高产品纯度,降低反应成本,提高产品收率。

2.3 酶解法

酶解法主要是利用酶对虾蟹外骨骼进行脱乙酰基反应来制得氨基葡萄糖。常见的酶有甲壳素酶、溶菌酶、壳聚糖酶等。与其他方法相比,酶在较温和的条件下会专一性切断 β -1,4-糖苷键,更容易控制降解产物的相对分子质量,产物较为单一,转化率高,具备很好的重复利用性,且降解过程不消耗大量的有机

溶剂, 环境污染较小。但专属性酶需进行人工构建、诱导表达, 操作复杂, 对技术要求较高, 较难获得^[44]。鲍晶晶^[45]利用酶催化法以甲壳素为原料生产氨基葡萄糖, 通过分离纯化来源于嗜热菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 中甲壳素代谢途径中的三个关键酶, 并形成多酶固定系统, 高效催化甲壳素生成氨基葡萄糖。孙玉英等^[46]利用前期发酵制得壳聚糖酶发酵液, 通过高速离心分离出壳聚糖酶液和外切- β -D-氨基葡萄糖酶液的混合物, 利用该混合酶液水解壳聚糖, 经分析确定降解产物为氨基葡萄糖, 实验发现该混合酶在底物浓度 2%, 温度 50 °C, pH5.8 条件下水解反应 5 h, 氨基葡萄糖生产效率最高。彭楠等^[47]以壳聚糖为底物, 加入水和冰醋酸形成胶体, 再加入壳聚糖内切酶和壳聚糖外切酶(比例 0.06~3) 在 30~60 °C 下酶解 2~5 h, 将温度上升至 80~100 °C 保持 5~10 min 使酶蛋白变性析出, 离心除去蛋白, 经喷雾干燥获得氨基葡萄糖。Lü 等^[44]成功克隆了黄粘球菌基因组中的几丁质酶基因(MxChi), 重组表达并纯化制得新型几丁质酶, 实验发现该几丁质酶可与 β -N-乙酰氨基己糖苷酶和 N-乙酰氨基葡萄糖脱乙酰酶等特异性酶联合, 将几丁质或虾壳转化为氨基葡萄糖。这种酶促级联反应为大规模生产氨基葡萄糖提供巨大潜力。吴昊^[48]建立了几丁质酶(Chi A)和 β -N-乙酰基己糖胺酶(HJ5N)协同催化降解胶体几丁质制备 N-乙酰氨基葡萄糖的方法, 选择总添加量为 52.5 U/m, Chi A:HJ5N 添加比例为 2:1, 底物浓度 9%, 在 30 °C, pH6.0 条件下反应 12 h, N-乙酰氨基葡萄糖浓度可达 18 mg/mL, 转化率为 60%。双酶协同可有效消除产物抑制现象, 催化效率提高一倍。丁春华等^[49]选择 40~150 g/L 的 N-乙酰氨基葡萄糖为原料, 按 10~30 U/g 乙酰氨基葡萄糖比例加入脱乙酰酶溶液或脱乙酰酶制剂, pH4.0~8.0, 反应温度 25~45 °C 条件下搅拌 10~40 min 酶解得到氨基葡萄糖和乙酸, 再通过离子交换柱分离得到氨基葡萄糖盐, 提升了 N-乙酰氨基葡萄糖的转化率和氨基葡萄糖盐产品的总得率, 盐酸废液产生量极少, 实现了节能降耗的经济效益和环保安全的效果。

3 氨基葡萄糖类物质的安全性

氨基葡萄糖是一种具有生理活性的氨基单糖, 在人体中以单糖的形式被吸收、发挥作用。现有临床随机试验表明氨基葡萄糖未有急性毒性、遗传毒性和亚急性毒性作用, 较于安慰剂或非甾体抗炎药, 不良反应发生率低, 安全性高, 尚无严重或致死性不良反应, 荟萃分析的研究结果较为乐观^[50-51]。张静等^[52]采用小鼠急性毒性试验、Ames 试验、小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验、小鼠精子畸形试验、大鼠 30 d 喂养试验对 D-盐酸氨基葡萄糖的毒性进行研究, 发现, D-盐酸氨基葡萄糖属于实际无毒级物质; Ames 试验皆为阴性结果; 骨髓细胞微核试验和精子畸形试验剂量组与阴性对照组相比, 无显著性差异($P>0.05$);

大鼠 30 d 喂养试验中大鼠各项观察指标未见毒性作用。王大利等^[53]进行盐酸氨基葡萄糖经口服重复给予大鼠 28 d 的毒性试验, 以 250、500、1000 mg/kg 标准进行给药。结果发现, 各剂量组的大鼠状况良好, 尿液、血液及血液化学检查均在生理波动范围内, 解剖检验无异常, 器官重量与对照组间无统计学意义差异, 病理组织学检查未见与被检物有关的异常改变, 未见迟发型毒效应, 试验表明盐酸氨基葡萄糖无毒。张伟滨等^[54]为评价盐酸氨基葡萄糖与硫酸氨基葡萄糖的安全性, 将 143 例骨关节炎患者随机分成两组, 分别给予 1.5 g/d 盐酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖, 给药 6 周后观察发现, 两组所有患者服药前后血尿常规、血沉、肝肾功能、血糖、心电图检验结果均未出现明显异常, 也未出现血压、脉搏、呼吸等重要生命体征的不良变化, 结果显示盐酸氨基葡萄糖与硫酸氨基葡萄糖未见毒性, 两者安全性相当。此外, 氨基葡萄糖在临床治疗中虽存在一定的不良反应, 但均在可接受的范围内, 不良反应症状与安慰剂相似, 以便秘、轻度胃部不适为主。鲜平等^[55]选取 200 例类风湿关节炎致膝软骨损伤患者, 给予对照组常规缓解病情抗风湿药物治疗, 研究组外加用盐酸氨基葡萄糖片(1440 mg/d)治疗, 分别于治疗 18、36、54 周后评定两组患者的治疗效果。从用药安全性评价方面来看, 不良反应主要以胃肠道反应为主, 研究组与对照组不良反应发生率之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。欧洲食品安全局^[56]就氨基葡萄糖对接受香豆素抗凝剂的患者安全性提供科学声明, 指出一些患者在服用香豆素类抗凝剂(尤其是华法林)后, 服用氨基葡萄糖会导致国际标准化比(INR)上升, 增加凝血时间。一般情况下, 增加的 INR 值是无症状的。现有证据表明当停止摄入氨基葡萄糖时, INR 会下降至正常值。截止目前, 关于氨基葡萄糖和香豆素抗凝剂之间相互作用的机制、氨基葡萄糖的剂量反应关系还不明确, 也无法评估风险水平。

4 氨基葡萄糖类保健食品的批准应用情况

4.1 氨基葡萄糖类物质在国内外的批准应用情况

中国: 可作为保健食品原料和药物使用^[57], 目前盐酸氨基葡萄糖有专属的药品标准。

美国: 氨基葡萄糖盐酸盐和氨基葡萄糖硫酸盐是美国国家营养中心协会(NNFA)批准的膳食补充剂。美国药典 USP-NF 收录了氨基葡萄糖盐酸盐、氨基葡萄糖硫酸盐·氯化钾、氨基葡萄糖硫酸盐·氯化钠、氨基葡萄糖片剂、氨基葡萄糖&硫酸软骨素&二甲砒片剂等标准^[58]。

欧盟: 对氨基葡萄糖的健康声称进行评估后, 认为现有数据尚不完全支持氨基葡萄糖对维持关节健康的声称^[59-60]。

加拿大: 氨基葡萄糖盐酸盐和氨基葡萄糖硫酸盐被列入加拿大天然健康产品, 可作为膳食补充剂使用, 可使用的功能声称维持软骨健康和有助于关节

健康^[61-62]。

澳洲:将氨基葡萄糖硫酸盐·氯化钠、氨基葡萄糖硫酸盐·氯化钾、氨基葡萄糖盐酸盐纳入补充药物(Complementary medicine)目录,可用于保健食品原料^[63]。

日本:葡糖胺盐酸盐属于“除非表明药品的功效效果,否则不判断为药品的成分本质(原材料)”。氨基葡萄糖盐类可以作为食品原料,对骨关节炎可能有效。适当摄取可能是安全的,孕妇和乳母应避免使用。源自海洋生物的氨基葡萄糖类有可能在甲壳类过敏的人身上引发过敏反应^[64]。

4.2 国内批准注册的氨基葡萄糖类保健食品情况分析

根据保健食品行政许可审评系统统计,2003年以来我国批准注册的以氨基葡萄糖类物质为原料的保健食品共320个(无单方产品),保健功能为增加骨密度的产品占比91.0%,增强免疫力功能的占比7.6%,可见氨基葡萄糖类保健食品主要应用于促进骨健康方面,占我国已批准的增加骨密度功能的保健食品的比例为55.2%(表2)。另外,按原料类别分,以盐酸氨基葡萄糖为原料的产品占批准注册的氨基葡萄糖类保健食品的比重较大(83.4%),硫酸氨基葡萄糖、硫酸氨基葡萄糖复盐次之(表3)。

表2 氨基葡萄糖类保健食品的功能分布情况

Table 2 Functional classification of glucosamine health food

保健功能	批准数量(件)	百分比(%)
增加骨密度	273	91.0
增强免疫力	23	7.6
抗氧化	2	0.7
其他(对化学性肝损伤有辅助保护功能)	2	0.7

注:因存在20个双功能产品,不在此表格中统计。

表3 不同原料来源的氨基葡萄糖类保健食品的批准情况分析

Table 3 Analysis of approval status of glucosamine health food from different raw materials

原料种类	批准数量(件)	百分比(%)
盐酸氨基葡萄糖	267	83.4
氨基葡萄糖硫酸复盐	32	10.0
硫酸氨基葡萄糖	19	5.9
N-乙酰-D-氨基葡萄糖	1	0.3
氨基葡萄糖	1	0.3

5 氨基葡萄糖类物质在保健食品领域面临的挑战

5.1 国内暂无保健食品用原料质量标准,原料质量良莠不齐

在国内,盐酸氨基葡萄糖具有相应的国家药品标准,但无专属的食品或保健食品原料标准。2012年原国家食品药品监督管理局保健食品化妆品监管司组织整理了《已使用保健食品原料名称目录(第二批)》(征求意见稿)^[57],目录中包括盐酸氨基葡萄糖和硫酸氨基葡萄糖。由于暂无专属性原料质量标准,生

产企业依据目前自身的生产实际制定企业标准,就会存在不同企业制定的质控指标及指标值不统一的问题,加之生产不规范会进一步导致市售的氨基葡萄糖类原料质量良莠不齐。专属性原料质量标准的缺位,也为监管部门带来无法对原料进行标准化、规范化管理等困境。

5.2 目前有关氨基葡萄糖类物质维持骨关节健康的有效性、针对特殊人群的安全性仍尚存争议

氨基葡萄糖类物质在预防骨质疏松等方面已使用多年,尚未出现明显的不良反应,安全性高,改善关节软骨结构的效果较好,但目前对氨基葡萄糖类物质在缓解关节疼痛、有效剂量及使用方法等方面还存在一些争议,还需要严格的、大样本的、符合临床循证医学的证据支持^[65]。比如少数研究认为,硫酸氨基葡萄糖在改善关节疼痛方面与安慰剂无显著差异^[66];短期治疗效果不明显,持续用药1年以上(1500 mg/d)疗效才会稳定等^[67]。特殊人群的用药方面,糖尿病病人是否应慎重使用氨基葡萄糖以及长期使用是否需监测血糖^[68]、氨基葡萄糖复盐中含有的氯化钠是否会增加老年人高血压等心脑血管疾病风险^[69]、从甲壳素提取出来的氨基葡萄糖是否会引起对贝壳类过敏人群的过敏反应^[70]等问题有待进一步研究确认。

5.3 硫酸氨基葡萄糖氯化钠(钾)复盐生产不规范

硫酸氨基葡萄糖氯化钠(钾)复盐原料的生产工艺主要是以盐酸氨基葡萄糖为原料通过离子交换制得,但部分生产企业为降低成本,直接采用物理混合盐酸氨基葡萄糖和硫酸钠(钾)制备。由于目前的鉴别方法仅针对氨基基团、金属离子、硫酸根结构等,无法从根本上区分硫酸氨基葡萄糖氯化钠(钾)复盐和盐酸氨基葡萄糖+硫酸钠(钾)混合物,为市场监管层面带来巨大困难。

6 结论与展望

从近年来批准注册的氨基葡萄糖类保健食品情况来看,作为原料的氨基葡萄糖类物质主要以虾壳、蟹壳经酸解法制得,目前尚未出现严重不良反应,可有效改善关节软骨结构、增加骨密度、维持骨健康。

针对特殊人群食用氨基葡萄糖类物质存在的安全性问题,建议相关部门持续关注,建立人群食用分析报告反馈机制,畅通渠道,及时收集相关信息。

严格加强氨基葡萄糖类物质的原料管理,尽快制定适合专属保健食品的氨基葡萄糖类原料质量标准,将可区别于简单物理混合工艺的专属性鉴别方法纳入质量标准,严格进行市场监管,并有序衔接保健食品原料目录研究。

鉴于国际上关于氨基葡萄糖类物质对缓解或改善骨关节炎的有效性褒贬不一,我国也未有“改善或促进关节健康”类似的保健功能,建议相关部门关注中国老龄化社会人群对关节健康保健食品的呼吁,深入开展氨基葡萄糖与骨关节健康的相关性研究,适时考虑将“改善或促进关节健康功能”纳入保健食品新

功能审评审批管理。

参考文献

- [1] KWATRA B. Collagen supplementation: Therapy for the prevention and treatment of osteoporosis and osteoarthritis: A review [J]. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2020, 9(5): 589–604.
- [2] TANTIKANLAYAPORN D, WICHIT P, SUKSEN K, et al. Andrographolide modulates OPG/RANKL axis to promote osteoblastic differentiation in MC3T3-E1 cells and protects bone loss during estrogen deficiency in rats[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 131: 110763.
- [3] AMIRYAGHOUBI N, FATHI M, PESYAN N N, et al. Bioactive polymeric scaffolds for osteogenic repair and bone regenerative medicine[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2020, 40(5): 1833–1870.
- [4] 李哲, 蒋志雯, 张伟, 等. 氨基葡萄糖对绝经后骨质疏松模型大鼠的保护作用[J]. *中国海洋药物*, 2017, 36(4): 29–34. [LI Zhe, JIANG Zhiwen, ZHANG Wei, et al. Protective effect of glucosamine on postmenopausal osteoporosis model rats[J]. *China Ocean Medicine*, 2017, 36(4): 29–34.]
- [5] 尹友红, 夏新兴. 氨基葡萄糖各制剂剂型对实验动物骨密度的研究[J]. *科技资讯*, 2017, 15(26): 177–178. [YIN Youhong, XIA Xinxing. Study on bone density of experimental animals by various formulations of glucosamine[J]. *Science and Technology Information*, 2017, 15(26): 177–178.]
- [6] 刘慧娜. 盐酸氨基葡萄糖对不同时期骨关节炎患者 TNF- α 、IL-1 β 以及 PGE-2 的影响[J]. *中国医药导刊*, 2018, 20(1): 24–27. [LIU Huina. Effects of glucosamine hydrochloride on TNF- α , IL-1 β and PGE-2 in patients with osteoarthritis at different stages[J]. *China Medical Journal*, 2018, 20(1): 24–27.]
- [7] 邱贵兴, 翁习生, 张克, 等. 盐酸/硫酸氨基葡萄糖治疗骨关节炎的平行对照临床研究[J]. *中华医学杂志*, 2005(43): 49–52. [QIU Guixing, WENG Xisheng, ZHANG Ke, et al. A parallel controlled clinical study of hydrochloric acid/glucosamine sulfate in the treatment of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Medicine*, 2005 (43): 49–52.]
- [8] 张百挡, 梁祖建, 张还添, 等. 盐酸/硫酸氨基葡萄糖治疗膝骨关节炎的成本效果分析[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(52): 9867–9872. [ZHANG Baidang, LIANG Zujian, ZHANG Huantian, et al. Cost-effectiveness analysis of hydrochloric acid/glucosamine sulfate in the treatment of knee osteoarthritis[J]. *Chinese Tissue Engineering Research*, 2012, 16(52): 9867–9872.]
- [9] 张伟滨, 庄澄宇, 李建民, 等. 盐酸氨基葡萄糖治疗骨性关节炎有效性及安全性评价[J]. *中华外科杂志*, 2007, 45(14): 998–1001. [ZHANG Weibin, ZHUANG Chengyu, LI Jianmin, et al. Evaluation of the efficacy and safety of glucosamine hydrochloride in the treatment of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Surgery*, 2007, 45(14): 998–1001.]
- [10] SONG N, QI Q, CAO R, et al. MAVS O-GlcNAcylation is essential for host antiviral immunity against lethal RNA viruses[J]. *Cell Reports*, 2019, 28(9): 2386–2396.
- [11] 曹秀明, 李惠, 刘万顺, 等. D-氨基葡萄糖盐酸盐抗肿瘤及其免疫调节作用机理的研究[A]. 中国工程院医药卫生学部, 中国抗癌协会抗癌药物专业委员会, 中国药理学学会肿瘤药理专业委员会. 2007 医学前沿论坛暨第十届全国肿瘤药理与化疗学术会议论文集[C]//青岛: 2007 医学前沿论坛暨第十届全国肿瘤药理与化疗学术会议, 2007: 184[CAO Xiuming, LI Hui, LIU Wanshun, et al. Study on anti-tumor and immunomodulatory mechanism of D-glucosamine hydrochloride[A]. Chinese Academy of Engineering Department of Medicine and Health, Chinese Anti-Cancer Association Anti-cancer Drug Professional Committee, Chinese Pharmacological Society Oncology Pharmacology Professional Committee. 2007 Medical Frontier Forum and Proceedings of the 10th National Academic Conference on Cancer Pharmacology and Chemotherapy[C]//Qingdao: 2007 Medical Frontier Forum and Proceedings of the 10th National Academic Conference on Cancer Pharmacology and Chemotherapy, 2007: 184.]
- [12] 戴关海, 江克翊, 徐庆乐, 等. 硫酸软骨素和氨基葡萄糖对小鼠免疫功能的影响[J]. *现代中药研究与实践*, 2006(2): 36–38. [DAI Guanhai, JIANG Keyi, XU Qingle, et al. Effects of chondroitin sulfate and glucosamine on the immune function of mice[J]. *Research and Practice of Modern Chinese Medicine*, 2006(2): 36–38.]
- [13] 陈冠敏, 陈润, 张荣标, 等. 硫酸氨基葡萄糖对正常小鼠免疫功能的影响[J]. *卫生研究*, 2011, 40(2): 227–229. [CHEN Guamin, CHEN Run, ZHANG Rongbiao, et al. Effects of glucosamine sulfate on immune function in normal mice[J]. *Health Research*, 2011, 40(2): 227–229.]
- [14] RAHIMIAN R, LALANCETTE-HÉBERT M, WENG Y C, et al. Glucosamine-mediated immunomodulation after stroke is sexually dimorphic[J]. *Brain, Behavior, & Immunity-Health*, 2020, 3: 100041.
- [15] BASIRI F, RAD A, MAHDIAN D, et al. Effects of glucosamine against morphine-induced antinociceptive tolerance and dependence in mice[J]. *Journal of Biomedical Science*, 2019, 26(1): 21.
- [16] MCCARTY M F, ASSANGA S, LL LUJÁN, et al. Nutritional strategies for suppressing NLRP3 inflammasome activation: Pertinence to the management of COVID-19 and beyond[J]. *Nutrients*, 2020, 13(1): 47.
- [17] CHIN K Y, AL-SAAD H M, PANG K L, et al. Multifaceted protective role of glucosamine against osteoarthritis: Review of its molecular mechanisms[J]. *Scientia Pharmaceutica*, 2019, 87(4): 34.
- [18] 杨艳. 壳寡糖, 氨基葡萄糖及其衍生物的抗氧化功能研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005. [YANG Yan. Study on the antioxidant function of chitosan oligosaccharides, glucosamine and their derivatives [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2005.]
- [19] CHIU H W, LI L H, HSIEH C Y, et al. Glucosamine inhibits IL-1 β expression by preserving mitochondrial integrity and disrupting assembly of the NLRP3 inflammasome[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 5603.
- [20] MENDIS E, KIM M M, RAJAPAKSE N, et al. Sulfated glucosamine inhibits oxidation of biomolecules in cells via a mechanism involving intracellular free radical scavenging[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2008, 579(1-3): 74–85.
- [21] 张莉, 刘万顺, 韩宝芹. D-氨基葡萄糖及其衍生物抗肿瘤活性的初步研究[J]. *中国海洋药物*, 2006(2): 26–31. [ZHANG Li, LIU Wanshun, HAN Baoqin. A preliminary study on the antitumor activity of D-glucosamine and its derivatives[J]. *China Ocean Medicine*, 2006(2): 26–31.]
- [22] LIU C Y, MENG J, ZHANG W Y. Effect of glucosamine on blood-brain barrier function during experimental autoimmune encephalomyelitis in rats[J]. *Chinese Journal of Natural Medicine*,

2008.

- [23] YOSHIMURA J, FUNABASHI M, ISHIGE S, et al. Studies on D-glucosamine derivatives. XII. The synthesis of N-Acetyl-3-O- and -4-O-aminoacyl-D-glucosamines[J]. Bulletin of the Chemical Society of Japan, 2006, 39(8): 1760-1764.
- [24] SAENGNIPIANTHAKUL S, WAIKAKUL S, ROJANASTHIEN S, et al. Differentiation of patented crystalline glucosamine sulfate from other glucosamine preparations will optimize osteoarthritis treatment[J]. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2019, 22: 376-385.
- [25] DING Z Z, FENG X H, CHAO Z, et al. Secondary conversion of citric acid fermentation residue and edible fungi residue to produce glucosamine[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2018, 1: 280.
- [26] 邓琛. 代谢调控谷氨酸棒杆菌合成乙酰氨基葡萄糖[D]. 无锡: 江南大学, 2021. [DENG Chen. Metabolic regulation of acetylglucosamine synthesis by *Corynebacterium glutamicum*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.]
- [27] KRAISANGSRI J, NALINANON S, RIEBROY S, et al. Physicochemical characteristics of glucosamine from blue swimming crab (*Portunus pelagicus*) shell prepared by acid hydrolysis[J]. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 2018, 15(12): 869-877.
- [28] 张健. 一种硫酸氨基葡萄糖氯化钠复盐的合成方法: 中国, 110903330A[P]. 2020-03-24. [ZHANG Jian. A kind of synthetic method of glucosamine sulfate sodium chloride double salt: China, 110903330A[P]. 2020-03-24.]
- [29] 孙丽. 虾头制备盐酸氨基葡萄糖的优化研究[J]. 福建分析测试, 2018, 27(3): 15-19. [SUN Li. Optimization study on the preparation of glucosamine hydrochloride from shrimp heads[J]. *Fujian Analysis and Testing*, 2018, 27(3): 15-19.]
- [30] 韩立路. 贝壳制备氨基葡萄糖盐酸盐影响因素的探讨[J]. 中国科技信息, 2009(376): 232-233. [HAN Lilu. Discussion on influencing factors of shell preparation of glucosamine hydrochloride[J]. *China Science and Technology Information*, 2009(376): 232-233.]
- [31] 林秀芬, 孙丽, 石国宗. 一种硫酸氨基葡萄糖的制备方法: 福建省, 101343294B[P]. 2011-04-27. [LIN Xiufen, SUN Li, SHI Guozong. A preparation method of glucosamine sulfate: Fujian Province, 101343294B[P]. 2011-04-27.]
- [32] ROVATI L. Pharmaceutically active glucosamine salts useful in the treatment of osteoarthritis and rheumatoid arthritis: US 3683076a[P]. 1972.
- [33] SCHLECK, JAMES R, BURGER, et al. Glucosamine sulfate calcium chloride composition and processes for the preparation of glucosamine sulfate metal chlorides: United States, 6472380[P]. 2002-10-29.
- [34] 尹鸿萍, 王莹, 聂煜, 等. 快速、高效的硫酸氨基葡萄糖氯化钾复盐制备: 中国, 102167714A[P]. 2011-08-31. [YIN Hongping, WANG Ying, NIE Yu, et al. Rapid and efficient preparation of glucosamine sulfate potassium chloride double salt: China, 102167714A[P]. 2011-08-31.]
- [35] 吴东慧. 盐酸氨基葡萄糖含量测定方法研究现状[J]. 中国标准化, 2018(2): 3. [WU Donghui. Research status of methods for determination of glucosamine hydrochloride[J]. *Standardization in China*, 2018(2): 3.]
- [36] 邢荣斌, 李鹏程, 刘松, 等. 一种氨基葡萄糖盐酸盐制备新方法: 中国, 108003200A[P]. 2018-05-08. [XING Rong'e, LI Pengcheng, LIU Song, et al. A new method for the preparation of glucosamine hydrochloride: China, 108003200A[P]. 2018-05-08.]
- [37] SUN L. Method for producing n-acetyl-d-glucosamine and/or d-glucosamine salt by microbial fermentation: U. S. Patent Application 16/091, 865[P]. 2020-10-1.
- [38] 程汝滨, 葛宇清, 方昀, 等. 一种氨基葡萄糖合成酶、工程菌及其应用: 中国, 108588049B[P]. 2021-05-14. [CHENG Rubin, GE Yuqing, FANG Yun, et al. A glucosamine synthase, engineering bacteria and its application: China, 108588049B[P]. 2021-05-14.]
- [39] WU Y, CHEN T, LIU Y, et al. CRISPRi allows optimal temporal control of N-acetylglucosamine bioproduction by a dynamic coordination of glucose and xylose metabolism in *Bacillus subtilis*[J]. *Metabolic Engineering*, 2018, 49: 232-241.
- [40] 徐恒德, 于有良, 张西进, 等. 大自然生物集团有限公司. 基于微生物发酵法生产氨基葡萄糖的新技术研发[Z]. 日照: 山东黄海科技创新研究院, 2020-11-28. [XU Hengde, YU Youliang, ZHANG Xijin, et al. Nature Biology Group Co., Ltd., Shandong Nature Biotechnology Research Institute Co., Ltd. Research and development of new technology for the production of glucosamine based on microbial fermentation[Z]. Rizhao: Shandong Huanghai Science and Technology Innovation Research Institute, 2020-11-28.]
- [41] ZHU, JIANG, XUEQIN, et al. Biocatalytic production of glucosamine from N-acetylglucosamine by diacetylchitobiose deacetylase[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018, 28(11): 1850-1858.
- [42] 刘龙, 陈坚, 卢健行, 等. 一种高效生产 N-乙酰氨基葡萄糖的大肠杆菌及其应用: 中国, 114574410A[P]. 2022-06-03. [LIU Long, CHEN Jian, LU Jianxing, et al. An *Escherichia coli* for efficient production of N-acetylglucosamine and its application: China, 114574410A[P]. 2022-06-03.]
- [43] 卢健行, 韩宁, 吴祥舟, 等. 微生物发酵生产氨基葡萄糖硫酸钾盐的方法: 中国, 110846373A[P]. 2020-02-28. [LU Jianxing, HAN Ning, WU Xiangzhou, et al. Method for the production of glucosamine sulfate potassium salt by microbial fermentation: China, 110846373A[P]. 2020-02-28.]
- [44] LÜ Y, ZHENG F, QIU C, et al. Heterologous expression of a thermostable chitinase from *Myxococcus xanthus* and its application for high yield production of glucosamine from shrimp shell[J]. *Foods*, 2021, 10: 2808.
- [45] 鲍晶晶. 多酶偶联催化甲壳素制备功能性糖氨基葡萄糖[A]. 中国食品科学技术学会. 中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集[C]//青岛: 中国食品科学技术学会第十五届年会, 2018: 2. [BAO Jingjing. Multi-enzyme coupling catalyzed the preparation of functional sugar glucosamine from chitin[A]. Chinese Institute of Food Science and Technology. Collection of abstracts of the 15th annual meeting of China Institute of Food Science and Technology[C]//Qingdao: The 15th annual meeting of China Institute of Food Science and Technology, 2018: 2.]
- [46] 孙玉英, 张继泉, 王淑军. D-氨基葡萄糖酶法生产工艺优化[A]. 香港国际工业电子中心. 2011 国际生物医学与工程会议论文集 (ISBE 2011 V2) [C]//香港: 智能信息技术应用学会, 2011: 4. [SUN Yuying, ZHANG Jiquan, WANG Shujun. Optimization of D-glucosamine enzymatic production process [A]. Hong Kong International Industrial Electronics Center. Proceedings of the 2011 International Conference on Biomedicine and Engineering (ISBE 2011 V2) [C]//Hong Kong: Intelligent Information Technology Applica-

tion Society, 2011: 4.]

[47] 彭楠,梁运祥,王林春.一种酶法生产的氨基葡萄糖及其制备方法:中国,103865969A[P].2014-06-18.[PENG Nan, LIANG Yunxiang, WANG Linchun. An enzymatically produced glucosamine and its preparation method: China, 103865969A[P]. 2014-06-18.]

[48] 吴昊.酶法制备 N-乙酰氨基葡萄糖及催化机理的研究[D].合肥:合肥工业大学,2021.[WU Hao. Enzymatic preparation of N-acetylglucosamine and its catalytic mechanism [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.]

[49] 丁春华,章文劼.酶法生产氨基葡萄糖盐及其提纯方法:中国,111518857A[P].2020-08-11.[DING Chunhua, ZHANG Wenjie. Enzymatic production of glucosamine salt and its purification method: China, 111518857A[P]. 2020-08-11.]

[50] LOMONTE A B V, MENDONÇA J A, BRANDÃO G C, et al. Multicenter, randomized, double-blind clinical trial to evaluate efficacy and safety of combined glucosamine sulfate and chondroitin sulfate capsules for treating knee osteoarthritis[J]. *Advances in Rheumatology*, 2019: 58.

[51] WANDEL S. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: Network meta-analysis[J]. *BMJ: British Medical Journal*, 2010: 341.

[52] 张静,杨非,颜燕.D-氨基葡萄糖盐酸盐的毒性研究[J].现代预防医学,2009,36(14):2713-2715,2718.[ZHANG Jing, YANG Fei, YAN Yan. Toxicity study of D-glucosamine hydrochloride[J]. *Modern Preventive Medicine*, 2009, 36(14): 2713-2715, 2718.]

[53] 王大利,耿成燕,姜丽平,等.盐酸氨基葡萄糖经口重复给予大鼠 28d 的毒性试验[J].毒理学杂志,2011,25(1):77-78.[WANG Dali, GENG Chengyan, JIANG Liping, et al. Toxicity test of repeated oral administration of glucosamine hydrochloride to rats for 28 days[J]. *Journal of Toxicology*, 2011, 25(1): 77-78.]

[54] 张伟滨,庄澄宇,李建民,等.盐酸氨基葡萄糖治疗骨性关节炎有效性及安全性评价[J].中华外科杂志,2007,45(14):4.[ZHANG Weibin, ZHUANG Chengyu, LI Jianmin, et al. Efficacy and safety evaluation of glucosamine hydrochloride in the treatment of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Surgery*, 2007, 45(14): 4.]

[55] 鲜平,向元兵,黄朝莉,等.盐酸氨基葡萄糖片治疗类风湿关节炎致膝软骨损伤的疗效观察[J].华西医学,2016,31(5):831-834.[XIAN Ping, XIANG Yuanbing, HUANG Chaoli, et al. Observation of curative effect of glucosamine hydrochloride tablets on knee cartilage damage caused by rheumatoid arthritis[J]. *West China Medicine*, 2016, 31(5): 831-834.]

[56] AUTHORITY E. Scientific opinion on the safety of caffeine [J]. *Efsa Journal*, 2016, 13(5): 4102.

[57] 国家食品药品监督管理局保健食品化妆品监管司.关于征求《已使用保健食品原料名称目录(第二批)》(征求意见稿)意见的函.食药监保化函[2012]322号[EB/OL].[2012-07-06]<http://www.chc.org.cn/news/detail.php?id=61094>. [Department of Health Food and Cosmetics Supervision, State Food and Drug Administration. Letter on Solicitation of Opinions on the Catalogue of the Names of Used Health Food Raw Materials (Second Batch)

(Draft for Comments). Food and Drug Administration Baohuahan [2012] No. 322[EB/OL]. [2012-07-06]<http://www.chc.org.cn/news/detail.php?id=61094>]

[58] The United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopoeia 40/National Formulary 35 [S]. Washington: The United States Pharmacopeial Convention, 2016.

[59] European Food Safety Authority. Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to glucosamine and maintenance of joints pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC)No 1924/2006[J]. *EFSA Journal*, 2011, 9(12): 2476.

[60] European Food Safety Authority. Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to glucosamine and maintenance of normal joint cartilage pursuant to Article 13 (5) of Regulation (EC) No 1924/2006[J]. *EFSA Journal*, 2012, 10(5): 2691.

[61] Health Canada. Glucosamine Hydrochloride [EB/OL]. (2008-12-19) [2022-4-19]. <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/bdi-psn/atReq.do?atid=glucosamine.hydrochloride&lang=eng>.

[62] Health Canada. Glucosamine Sulfate [EB/OL]. (2022-04-09) [2022-4-19]. <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/bdi-psn/atReq.do?atid=glucosamine.sulfate&lang=eng>.

[63] Parliamentary Secretary to the Minister for Health and Aged Care. Therapeutic Goods Act 1989[EB/OL]. (2000-03-22) [2022-4-19]. <https://www.tga.gov.au/legislation-listing/therapeutic-goods-listing-notice-2000-no-1>.

[64] Information system on safety and effectiveness for health food. Glucosamine[EB/OL]. (2021-12-22) [2022-4-19]. <https://hfnet.nibiohn.go.jp/contents/detail24.html#1>.

[65] MCCARTY M F, O'KEEFE J H, DINICOLANTONIO J J. Glucosamine for the treatment of osteoarthritis: The time has come for higher-dose trials[J]. *Journal of Dietary Supplements*, 2019, 16(2): 179-192.

[66] WU D, HUANG Y, GU Y, et al. Efficacies of different preparations of glucosamine for the treatment of osteoarthritis: A meta-analysis of randomised, double-blind, placebo-controlled trials[J]. *International Journal of Clinical Practice*, 2013, 67(6): 585-594.

[67] 张伟斌.氨基葡萄糖治疗骨关节炎的专家共识[J].中华外科杂志,2008,46(18):1437-1438.[ZHANG Weibin. Expert consensus on glucosamine in the treatment of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Surgery*, 2008, 46(18): 1437-1438.]

[68] MENON B V V, HASHIM R, ZAINAL Z A, et al. The effect of glucosamine with or without chondroitin sulphate on glucose monitoring parameters in humans—a systematic review[J]. *Journal of Young Pharmacists*, 2021, 13(1): 19.

[69] 陈广东.镇痛药早期干预对骨关节炎软骨下骨影响的实验研究[D].苏州:苏州大学,2019.[CHEN Guangdong. An experimental study on the effect of analgesic early intervention on subchondral bone in osteoarthritis [D]. Suzhou: Soochow University, 2019.]

[70] ARTMANN D J, AMRAIN W, MURAUER A, et al. Critical evaluation of a putative glucosamine excretion by *Aspergillus niger* CBS120.49 and *Penicillium ochrochloron* CBS123.824 under citric acid producing conditions[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1-9.