



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105732761 B

(45)授权公告日 2018.02.02

(21)申请号 201610130036.0

A23L 27/30(2016.01)

(22)申请日 2016.03.08

A23L 2/60(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105732761 A

(56)对比文件

CN 1542016 A,2004.11.03,

CN 101113161 A,2008.01.30,

(43)申请公布日 2016.07.06

Uchiyama, Taketo等.New oleanane-type triterpene saponins from *Millettia speciosa*.《Heterocycles》.2003,第60卷(第3期),第656页.

(73)专利权人 中国科学院昆明植物研究所  
地址 650201 云南省昆明市蓝黑路132号

吴红果等.毛果鱼藤化学成分研究.《中成药》.2014,第36卷(第4期),第786页右栏第2节.

(72)发明人 杜芝芝 张红霞 李志坚

(74)专利代理机构 昆明协立知识产权代理事务所(普通合伙) 53108

代理人 马晓青

审查员 王瑞

(51)Int.Cl.

C07J 63/00(2006.01)

C07H 15/256(2006.01)

C07H 1/08(2006.01)

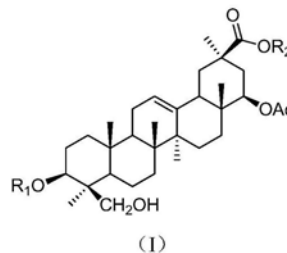
权利要求书4页 说明书15页 附图2页

(54)发明名称

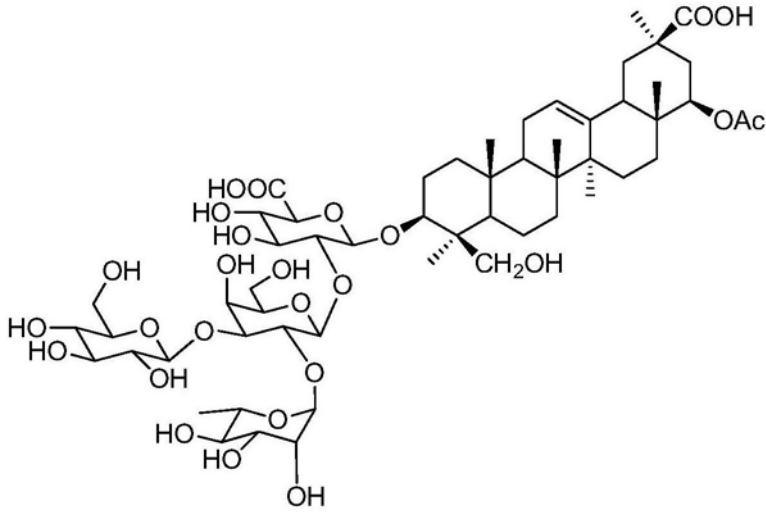
天然甜味剂齐墩果烷型三萜皂苷类化合物及其制备方法与应用

(57)摘要

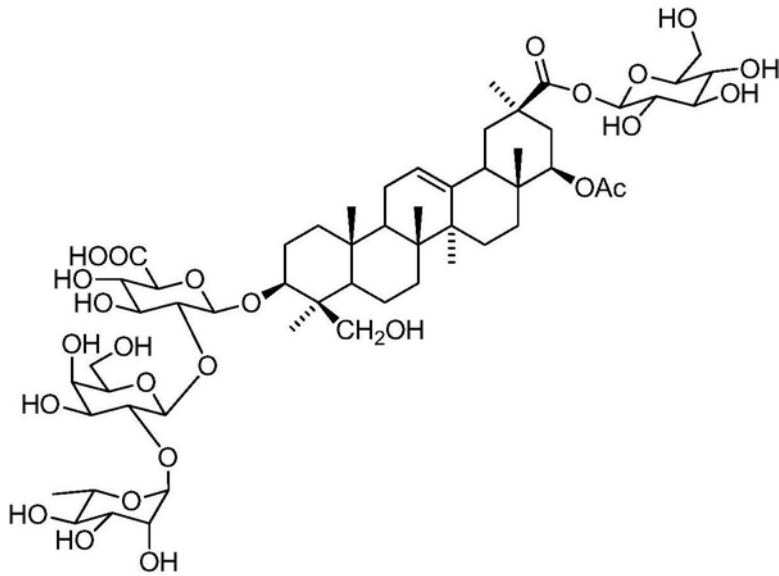
提供一类结构式(I)所示的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物,式中,R1为 $\alpha$ -L-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-半乳糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸,或, $\beta$ -D-葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\alpha$ -L-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -D-半乳糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸;R2为葡萄糖或者氢取代。同时提供这类化合物的组合物,以及含这类化合物的植物提取物,它们的制备方法,以及它们在甜味剂领域中的应用。本发明在对云南民间特色药用植物的研究中发现,傣药毛果鱼藤具有明显的甜味,通过味觉活性追踪分离,从毛果鱼藤中分离出了四个高甜度齐墩果烷型三萜皂苷类化合物。



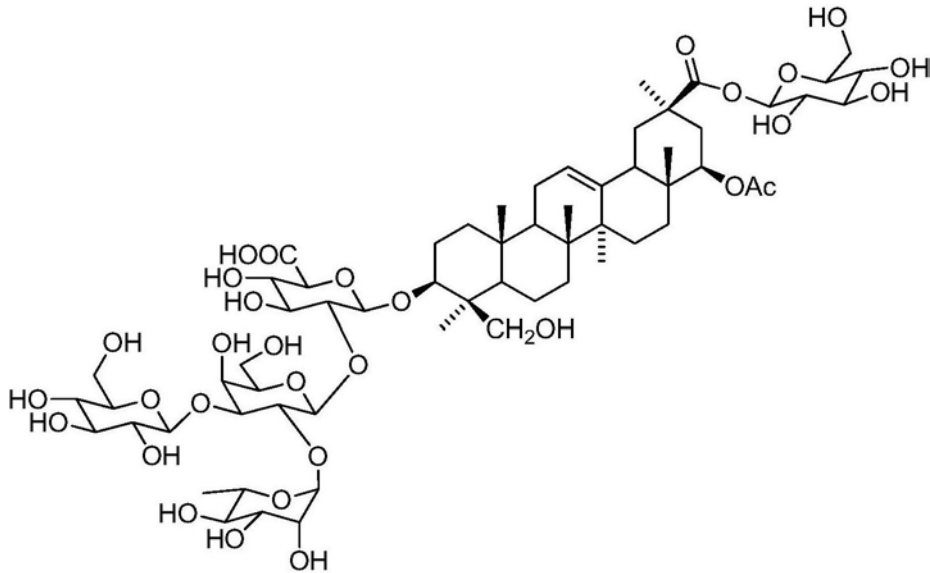
1. 下述齐墩果烷型三萜皂苷类化合物2~4,



化合物 2 (Eriocarpaside A)

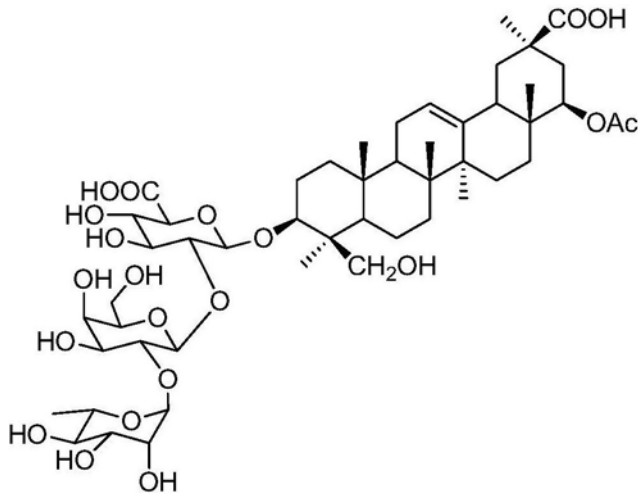


化合物 3 (Eriocarpaside B)

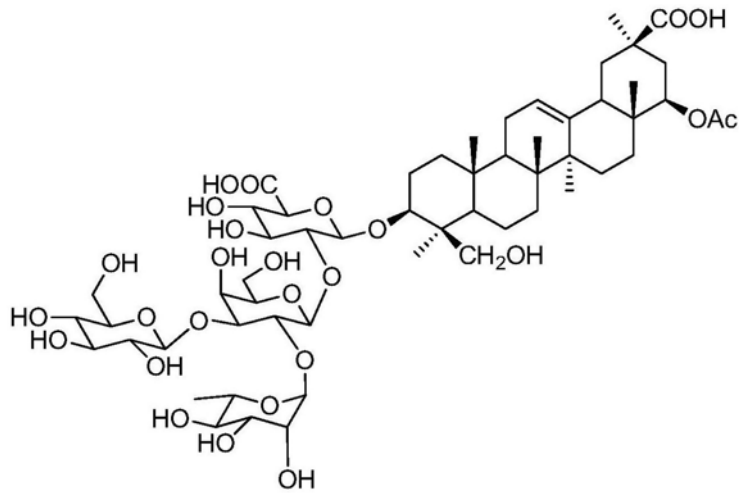


化合物 4 (Eriocarpaside C)。

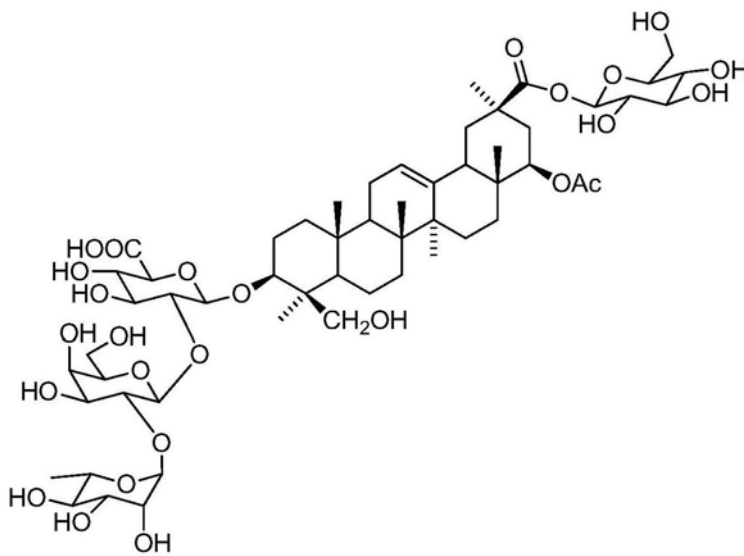
2. 毛果鱼藤甜味提取物,其特征在于所述的提取物由下述方法制备而得:将毛果鱼藤的藤茎阴干粉碎到20目,用0-100%的甲醇-水或0-100%的乙醇-水冷浸或回流提取,提取液浓缩至仅剩水时经氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取后的水相部分或是正丁醇萃取物经大孔树脂柱层析,用30%、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,其中50%和70%甲醇-水洗脱段浓缩得毛果鱼藤甜味总皂苷提取物,其包含基于该提取物总重量为5wt%~100wt%的如下结构式所示的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1~4,



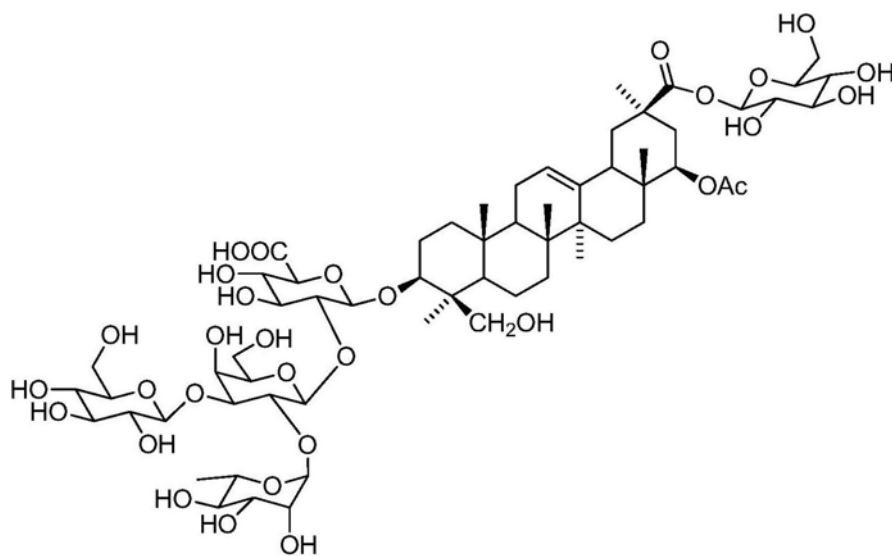
化合物 1 (Millettiasaponin A)



化合物 2 (Eriocarpaside A)



化合物 3 (Eriocarpaside B)



化合物 4 (Eriocarpaside C)。

3. 权利要求2所述的毛果鱼藤甜味提取物的制备方法,其特征在于风干后的毛果鱼藤

藤茎,粉碎后用80%的甲醇-水冷浸提取3次,每次浸泡48小时,合并提取液过滤后,减压浓缩除去甲醇后的水溶液依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得氯仿萃取物CP,乙酸乙酯萃取物EP,正丁醇萃取物BP,萃取后的水相部分WP;正丁醇部分经大孔树脂D101柱层析划段,用水、30%、50%、70%乙醇-水、乙醇和丙酮洗脱,得水洗脱段,30%乙醇-水洗脱段、50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段,乙醇洗脱段,丙酮洗脱段,活性追踪得50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段为甜味活性段,得到毛果鱼藤甜味提取物I;水相部分经大孔树脂HP-20柱层析划段,用水、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,得水洗脱段,50%甲醇-水洗脱段和70%甲醇-水洗脱段,纯甲醇洗脱段,活性追踪得70%甲醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物II,毛果鱼藤甜味提取物I和毛果鱼藤甜味提取物II合并后得到毛果鱼藤甜味提取物。

4. 权利要求1所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物的制备方法,其特征在于将毛果鱼藤植物的藤茎阴干粉碎到20目,用0-100%的甲醇-水或0-100%的乙醇-水冷浸或回流提取,提取液浓缩至仅剩水时经氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取后的水相部分或是正丁醇萃取物经大孔树脂柱层析,用30%、50%、70%甲醇-水、甲醇洗脱,其中50%和70%甲醇-水洗脱段浓缩得甜味总皂苷提取物,毛果鱼藤甜味提取物经反复正相硅胶柱层析、反相硅胶中压柱层析、反相硅胶减压柱层析分离纯化得所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物2-4。

5. 如权利要求4所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物的制备方法,其特征在于风干后的毛果鱼藤藤茎,粉碎后用80%的甲醇-水冷浸提取3次,每次浸泡48小时,合并提取液过滤后,减压浓缩除去甲醇后的水溶液依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得氯仿萃取物CP,乙酸乙酯萃取物EP,正丁醇萃取物BP,萃取后的水相部分WP;正丁醇部分经大孔树脂D101柱层析划段,用水、30%、50%、70%乙醇-水、乙醇和丙酮洗脱,得水洗脱段,30%乙醇-水洗脱段、50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段,乙醇洗脱段,丙酮洗脱段,活性追踪得50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段为甜味活性段,得到毛果鱼藤甜味提取物I;水相部分经大孔树脂HP-20柱层析划段,用水、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,得水洗脱段,50%甲醇-水洗脱段和70%甲醇-水洗脱段,纯甲醇洗脱段,活性追踪得70%甲醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物II,毛果鱼藤甜味提取物I和毛果鱼藤甜味提取物II合并后得到毛果鱼藤甜味提取物甜味总皂苷,经反相中压柱层析,依次用10%、30%、50%、70%甲醇水、甲醇洗脱得到Fr.1-4,其中Fr.3和Fr.4两个部分再分别反复通过正相柱层析,反相中压柱层析,反相减压柱层析得到化合物2-4。

6. 甜味剂组合物,含有权利要求1所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物2-4或权利要求2所述的毛果鱼藤甜味提取物,或所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1-4或毛果鱼藤甜味提取物两种或两种以上混合,或与其他辅料混合。

7. 权利要求1所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或权利要求2所述的毛果鱼藤甜味提取物用作为甜味剂。

8. 权利要求6所述的甜味剂组合物在制备食品或饮料中的应用。

9. 权利要求1所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或权利要求2所述的毛果鱼藤甜味提取物在制备食品或饮料中的应用。

## 天然甜味剂齐墩果烷型三萜皂苷类化合物及其制备方法与 应用

### 技术领域：

[0001] 本发明属于甜味剂和天然药物化学领域，具体地，涉及一类新的甜味齐墩果烷型三萜皂苷类化合物、其衍生物、有机和无机酸盐，含有它们的组合物及毛果鱼藤甜味提取物（甜味总皂苷），其制备方法，以及它们在食品或饮料中的应用。

### 背景技术：

[0002] 由于各种原因，甜味在人类可感觉的五种基本味觉（包括甜味、鲜味、苦味、咸味和酸味）中占据着核心地位。甜味物质，称为甜味剂，甜味剂按种类分为糖类甜味剂（如蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、果糖等）和非糖类甜味剂，按来源分为合成甜味剂（如糖精、阿斯巴甜、安赛蜜、三氯蔗糖等）和天然甜味剂。

[0003] 在长期的应用历史中，人类目前高发的许多疾病，如糖尿病、心血管疾病、肥胖、高脂血症、龋齿等，或多或少都与糖类甜味剂的过量摄入有关。因此寻找高甜度低热量或非营养性的糖类替代物引起了人们的极大兴趣。

[0004] 通过国内外学者多年的研究，人类通过合成发现了可以替代糖类的高倍甜味剂，如安赛蜜（acesulfame-K）、阿斯巴甜（aspartame）、纽甜（neotame）、糖精（saccharin）、三氯蔗糖（sucralose）、阿力甜（alitame）、甜蜜素（cyclamate）等，这些合成甜味剂其甜度是蔗糖的上百倍，且能量低，但是合成类高倍甜味剂具有显著的缺点，除了部分合成产品的甜味不够纯正，带有不同程度的苦涩味、金属后味或异味，与蔗糖风味相比有一定的差距外，一些化学合成的甜味剂在安全性方面也存在不少问题。

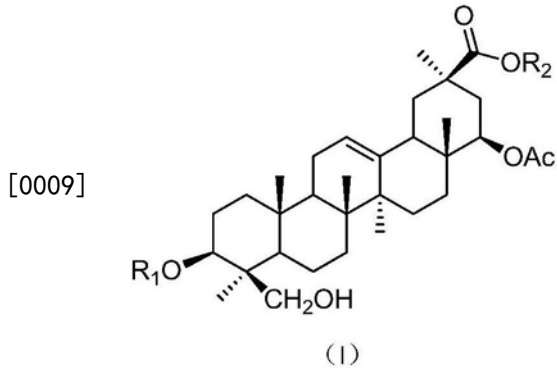
[0005] 毛果鱼藤（*Derris eriocarpa* F.C.How）为豆科（Leguminosae）鱼藤属（*Derris* Lour）植物，又名土甘草，其干燥藤茎是壮药土甘草的来源，《中华本草》中记录其能利尿通淋、化痰止咳，主治肾炎、膀胱炎、尿道炎、脚气水肿、咳嗽，又叫藤子甘草，美丽相思子。近年来学者们对毛果鱼藤的药理活性进行了较为系统的研究，主要是抗炎、镇痛作用和止咳、祛痰作用。而相对于药理活性研究，目前国内外关于毛果鱼藤的化学成分的研究较少，仅报道了从毛果鱼藤中分离鉴定出3个新的和2个已知的三萜：鱼藤三萜素A（eriocarpin A），鱼藤三萜素B（eriocarpin B），鱼藤三萜素C（eriocarpin C）， $2\beta, 3\beta, 28$ -trihydroxy-12-en-oleane,  $\beta$ -amyrin以及二十七碳脂肪酸甘油酯和 $\beta$ -谷甾醇，但是未见该植物中活性化合物的相关报道。本申请人在进行民族植物调查时发现其藤茎具有如甘草般的甜味。

### 发明内容：

[0006] 本发明旨在提供一类新结构的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物，这类化合物的组合物，以及含这类化合物的植物提取物，它们的制备方法，以及它们在甜味剂领域中的应用。本发明在对云南民间特色药用植物的研究中发现，毛果鱼藤具有明显的甜味，通过味觉活性追踪分离，从毛果鱼藤中发现了4个高甜度齐墩果烷型三萜皂苷类化合物。

[0007] 本发明的上述目的是通过如下的技术方案得以实现的：

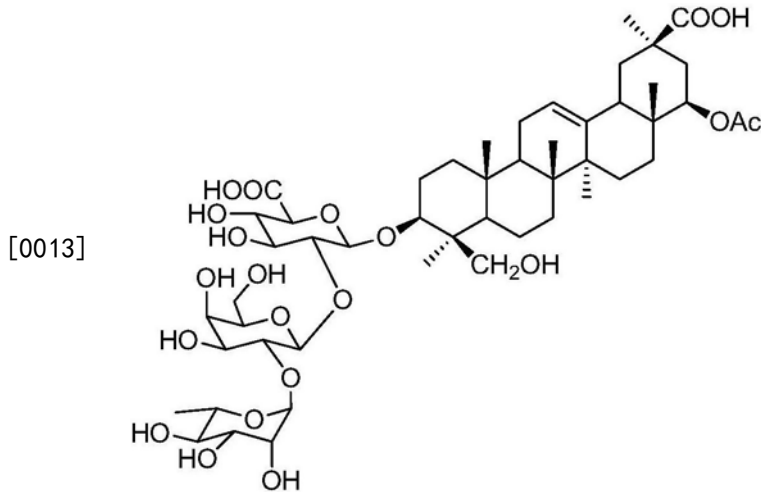
[0008] 下述结构式(I)所示的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物,



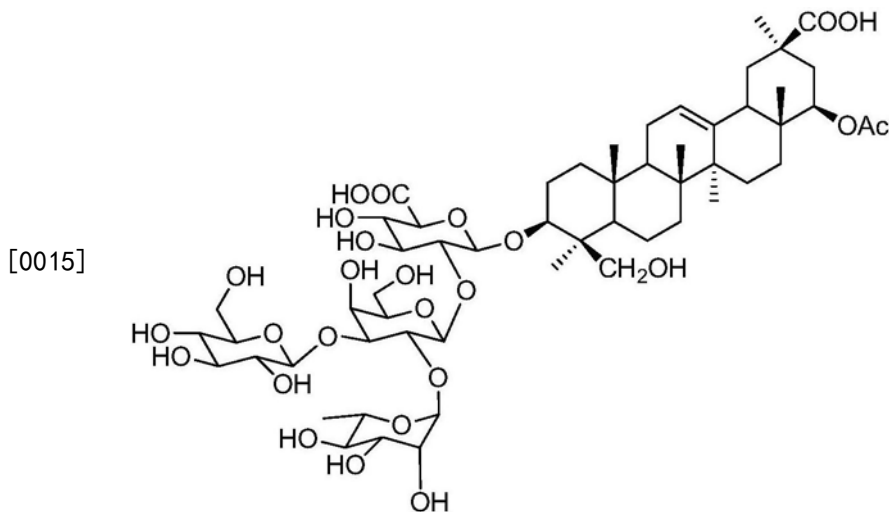
[0010] 式中,  $R_1$  为  $\alpha$ -L-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -D-半乳糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸, 或,  $\beta$ -D-葡萄糖-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\alpha$ -L-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -D-半乳糖-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸;

[0011]  $R_2$  为葡萄糖或者氢取代。

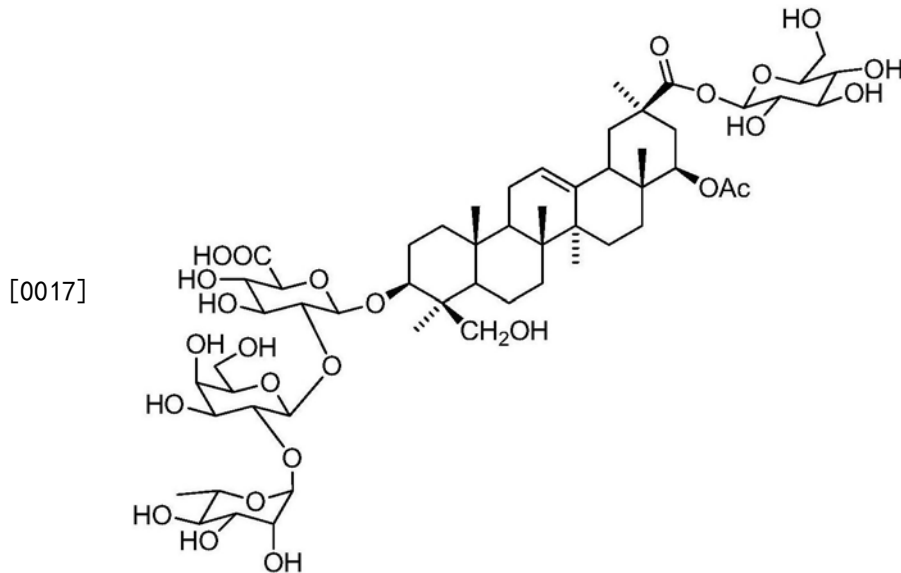
[0012] 根据所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物, 其中所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物为下述结构式所示的化合物1~4,



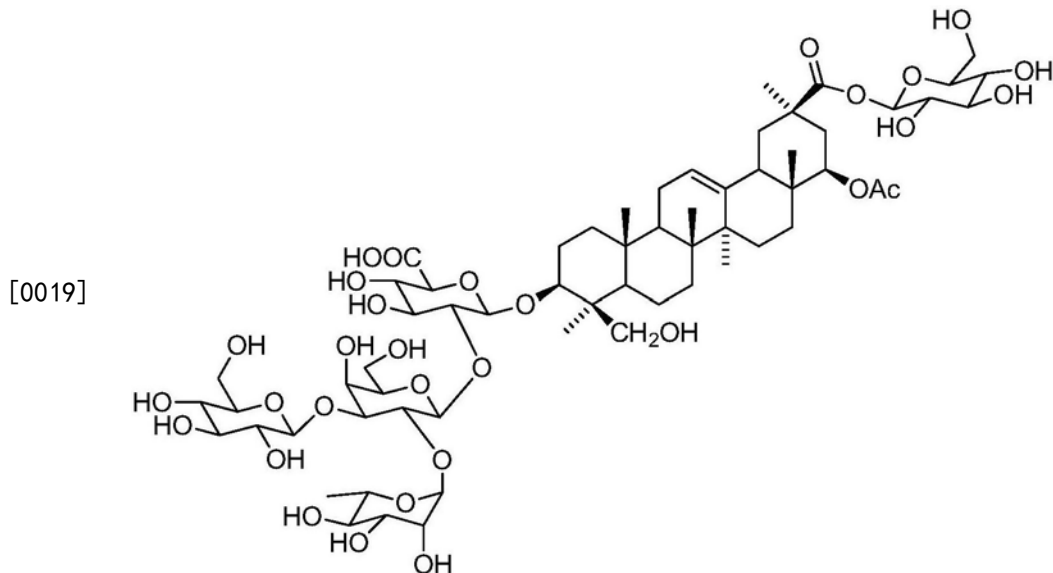
[0014] 化合物1 (Millettiasaponin A)



[0016] 化合物2 (Eriocarpaside A)



[0018] 化合物3 (Eriocarpaside B)



[0020] 化合物4 (Eriocarpaside C)。

[0021] 本发明同时提供毛果鱼藤甜味提取物,由下述方法制备而得:将毛果鱼藤的藤茎阴干粉碎到20目,用0-100%的甲醇-水或0-100%的乙醇-水冷浸或回流提取,提取液浓缩至仅剩水时经氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取后的水相部分或是正丁醇萃取物经大孔树脂柱层析,用30%、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,其中50%和70%甲醇-水洗脱段浓缩得毛果鱼藤甜味总皂苷提取物。

[0022] 所述的毛果鱼藤甜味提取物,其包含基于该提取物总重量为5wt%~100wt%的权利要求2所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1~4。

[0023] 本发明还提供了上述的毛果鱼藤甜味提取物的制备方法,将毛果鱼藤植物的藤茎阴干粉碎到20目,用0-100%的甲醇-水或0-100%的乙醇-水冷浸或回流提取,提取液浓缩至仅剩水时经氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取后的水相部分或是正丁醇萃取物经大孔树脂柱层析,用30%、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,其中50%和70%甲醇-水洗脱段浓缩得毛果鱼藤甜味总皂苷提取物。



[0024] 如所述的毛果鱼藤甜味提取物的制备方法,是将风干后的毛果鱼藤藤茎,粉碎后用80%的甲醇-水冷浸提取3次,每次浸泡48小时,合并提取液过滤后,减压浓缩除去甲醇后的水溶液依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得氯仿萃取物CP,乙酸乙酯萃取物EP,正丁醇萃取物BP,萃取后的水相部分WP;正丁醇部分经大孔树脂D101柱层析划段,用水、30%、50%、70%乙醇-水、乙醇和丙酮洗脱,得水洗脱段,30%乙醇-水洗脱段、50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段,乙醇洗脱段,丙酮洗脱段,活性追踪得50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段为甜味活性段,得到毛果鱼藤甜味提取物I;水相部分经大孔树脂HP-20柱层析划段,用水、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,得水洗脱段,50%甲醇-水洗脱段和70%甲醇-水洗脱段,纯甲醇洗脱段,活性追踪得70%甲醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物II,毛果鱼藤甜味提取物I和毛果鱼藤甜味提取物II合并后得到毛果鱼藤甜味提取物。

[0025] 以及,所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物的制备方法,将毛果鱼藤植物的藤茎阴干粉碎到20目,用0-100%的甲醇-水或0-100%的乙醇-水冷浸或回流提取,提取液浓缩至仅剩水时经氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取后的水相部分或是正丁醇萃取物经大孔树脂柱层析,用30%、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,其中50%和70%甲醇-水洗脱段浓缩得甜味总皂苷提取物,毛果鱼藤甜味提取物经反复正相硅胶柱层析、反相硅胶中压柱层析、反相硅胶减压柱层析分离纯化得所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1-4。

[0026] 如所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物的制备方法,风干后的毛果鱼藤藤茎,粉碎后用80%的甲醇-水冷浸提取3次,每次浸泡48小时,合并提取液过滤后,减压浓缩除去甲醇后的水溶液依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得氯仿萃取物CP,乙酸乙酯萃取物EP,正丁醇萃取物BP,萃取后的水相部分WP;正丁醇部分经大孔树脂D101柱层析划段,用水、30%、50%、70%乙醇-水、乙醇和丙酮洗脱,得水洗脱段,30%乙醇-水洗脱段、50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段,乙醇洗脱段,丙酮洗脱段,活性追踪得50%乙醇-水洗脱段和70%乙醇-水洗脱段为甜味活性段,得到毛果鱼藤甜味提取物I;水相部分经大孔树脂HP-20柱层析划段,用水、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,得水洗脱段,50%甲醇-水洗脱段和70%甲醇-水洗脱段,纯甲醇洗脱段,活性追踪得70%甲醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物II,毛果鱼藤甜味提取物I和毛果鱼藤甜味提取物II合并后得到毛果鱼藤甜味提取物甜味总皂苷,经反相中压柱层析,依次用10%、30%、50%、70%甲醇水、纯甲醇洗脱得到Fr.1-4,其中Fr.3和Fr.4两个部分再分别反复通过正相柱层析,反相中压柱层析,反相减压柱层析得到化合物1-4。

[0027] 本发明还提供了甜味剂组合物,含有所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或毛果鱼藤甜味提取物,或所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或毛果鱼藤甜味提取物两种或两种以上混合,或与其他辅料混合。

[0028] 此外,本发明还提供了所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或毛果鱼藤甜味提取物用作为甜味剂。

[0029] 和,所述的甜味剂组合物在制备食品或饮料中的应用。

[0030] 以及,所述的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物或毛果鱼藤甜味提取物在制备食品或饮料中的应用。

[0031] 本发明在对云南民间特色药食兼用植物的研究中发现,毛果鱼藤具有明显的甜

味,通过味觉活性追踪分离,从毛果鱼藤中发现了3个新的(化合物2-4)和1个(化合物1)已知化合物,均为高甜度齐墩果烷型三萜皂苷类化合物。

[0032] 本发明以22-乙酰基-24-羟基-30-齐墩果酸(22-(acetyloxy)-24-hydroxy-olean-12-en-30-oic acid)为母核的化合物包括含有母核结构22-乙酰基-24-羟基-30-齐墩果酸的修饰物和衍生物,包括:化合物的苷元以及带有不同数目和结构葡萄糖的皂苷。主要是指Millettiasaponins A和Eriocarpasides A~C(化合物1~4)。

[0033] 本发明所保护的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物及其类似物主要从植物毛果鱼藤中提取,但是从其他植物中提取、化学合成、半合成或生物合成、生物转化的方式获得的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物及其类似物也应认为在本发明的保护范围之内。

#### 附图说明:

[0034] 图1为本发明齐墩果烷型三萜皂苷类化合物的结构通式;

[0035] 图2为本发明化合物4中重要HMBC相关(H→C)和COSY相关(加粗);

[0036] 图3毛果鱼藤提取物及化合物的提取分离流程图,图中边框加粗的标注表示经过活性追踪后选择继续分离的组分。

#### 具体实施方式:

[0037] 下面结合附图,用本发明的实施例来进一步说明本发明的实质性内容,但并不以此来限定本发明。

[0038] 实施例1:

[0039] 本发明毛果鱼藤甜味总皂苷提取物、化合物1~4的提取、分离和纯化:

[0040] 仪器与材料:

[0041] 比旋光度由Horiba SEPA-300型分光光度计测定,紫外由Shimadzu UV-2401A型紫外光谱仪测定,IR由Bruker Tenor-27型红外光谱仪测定,ESI-MS和MS-MS由Bruker HCT/Esquire型质谱仪测定,NMR由Bruker AM-400、DRX-500、Avance III 600型核磁共振仪测定,TMS作为内标,化学位移 $\delta$ 的单位ppm,耦合常数J的单位为Hz。

[0042] 各种型号的硅胶柱层析柱,反相中压柱,旋转蒸发仪(BüCHI和EYELA公司),暗箱式紫外分析仪(上海嘉鹏科技公司),中压液相色谱仪(BüCHI),油浴温控仪。

[0043] 正相硅胶板(青岛海洋化工厂),正相硅胶(80-100目,200-300目)(青岛海洋化工厂),反相硅胶填料(粒径50 $\mu$ m,YMC公司提供),凝胶Sephadex LH-20(瑞典GE健康医疗公司)。

[0044] 显色剂:10%硫酸-乙醇溶液,硫酸-香草醛溶液,碘粉;水解反应应用试剂:36-37%的盐酸溶液,Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O,二氧六环。

[0045] 植物来源:

[0046] 毛果鱼藤的藤茎于2011年6月采自广西省靖西县,经昆明植物研究所王立松高级工程师鉴定,标本(N0.11-322190)保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆中。

[0047] 毛果鱼藤提取物及化合物的提取分离流程如图3所示,图中边框加粗的标注表示经过活性追踪后选择继续分离的组分。

[0048] 风干后的毛果鱼藤(D.eriocarpa How)藤茎6kg,粉碎后用80%的甲醇-水冷浸提

取3次,每次浸泡48小时,合并提取液过滤后,减压浓缩除去甲醇后的水溶液依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取,得氯仿萃取物150g(记为CP),乙酸乙酯萃取物12g(记为EP),正丁醇萃取物80g(记为BP),萃取后的水相部分大约为850g(记为WP)。正丁醇部分经大孔树脂(D101)柱层析划段,用水、30%、50%、70%乙醇-水、乙醇和丙酮洗脱,得水洗脱段(TLC检测基本为糖类化合物,未蒸干称重),30%乙醇-水洗脱段(11g)、50%乙醇-水洗脱段(24g)和70%乙醇-水洗脱段(25g),乙醇洗脱段(1g),丙酮洗脱段(600mg),活性追踪得50%和70%乙醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物I共计49克。水相部分经大孔树脂(HP-20)柱层析划段,用水、50%、70%甲醇-水、纯甲醇洗脱,得水洗脱段(TLC检查基本为糖类化合物,未蒸干称重),50%甲醇-水洗脱段(29g)和70%甲醇-水洗脱段(56g),纯甲醇洗脱段(25g),活性追踪得70%甲醇-水洗脱段为甜味活性段,由此得到毛果鱼藤甜味提取物II共计56克。毛果鱼藤甜味提取物I和毛果鱼藤甜味提取物II合并后得到毛果鱼藤甜味提取物。

[0049] 毛果鱼藤甜味提取物即甜味总皂苷,经反相中压柱层析,依次用10%、30%、50%、70%甲醇水、甲醇洗脱得到Fr.1-4,其中Fr.3和Fr.4为甜味活性段,这两个部分再分别反复通过正相柱层析,反相中压柱层析,反相减压柱层析得到齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1-4。实施例2:

[0050] 本发明化合物1-4的物理和光谱数据:

[0051] Millettiasaponin A(1):白色粉末, $^1\text{H}$  NMR和 $^{13}\text{C}$  NMR数据见表1和表2;ESI-MS<sup>+</sup>(m/z 1015, [M+H]<sup>+</sup>; 1037, [M+Na]<sup>+</sup>; 1059, [M+2Na-H]<sup>+</sup>; 1075, [M+Na+K-H]<sup>+</sup>),ESI-MS<sup>-</sup>(m/z 1013, [M-H]<sup>-</sup>)。

[0052] Derrisaponin A(2):白色粉末, $[\alpha]_D^{25} = -10.4$ (c = 0.18, H<sub>2</sub>O);UV(H<sub>2</sub>O)  $\lambda_{\text{max}}$ (nm) (log $\epsilon$ ): 190(3.74);IR(KBr)  $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup>: 3423(OH), 2972, 2934, 1713, 1615, 1265, 1074, 1048; $^1\text{H}$  NMR和 $^{13}\text{C}$  NMR data见表1和表2;ESI-MS m/z 1175[M-H]<sup>-</sup>;HR-EI-MS m/z 1175.5480, [M]<sup>-</sup>(C<sub>56</sub>H<sub>88</sub>O<sub>26</sub>计算值为1175.5480)。

[0053] Derrisaponin B(3):白色粉末, $[\alpha]_D^{25} = -11.7$ (c = 0.12, H<sub>2</sub>O);UV(H<sub>2</sub>O)  $\lambda_{\text{max}}$ (nm) (log $\epsilon$ ): 190(3.77);IR(KBr)  $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup>: 3424(OH), 2969, 2932, 1718, 1615, 183, 1261, 1072, 1048; $^1\text{H}$  NMR和 $^{13}\text{C}$  NMR数据见表1和表2;ESI-MS m/z 1175[M-H]<sup>-</sup>, 1013[M-162]<sup>-</sup>;HR-EI-MS m/z 1175.5482, [M]<sup>-</sup>(C<sub>56</sub>H<sub>88</sub>O<sub>26</sub>计算值为1175.5482)。

[0054] Derrisaponin C(4):白色粉末, $[\alpha]_D^{25} = -4.3$ (c = 0.15, H<sub>2</sub>O);UV(H<sub>2</sub>O)  $\lambda_{\text{max}}$ (nm) (log $\epsilon$ ): 190(3.71);IR(KBr)  $\nu_{\text{max}}$  cm<sup>-1</sup>: 3424(OH), 2968, 2932, 1720, 1619, 1383, 1263, 1073, 1049; $^1\text{H}$  NMR和 $^{13}\text{C}$  NMR数据见表1和表2;ESI-MS m/z 1337[M-H]<sup>-</sup>, 1013[M-162]<sup>-</sup>;HR-EI-MS m/z 1337.6017, [M]<sup>-</sup>(C<sub>62</sub>H<sub>98</sub>O<sub>31</sub>计算值为1337.6017)。

[0055] 表1.化合物1~4的 $^{13}\text{C}$ -NMR(氘代吡啶)信号归属

[0056]

| NO. | 1<br>(125MHz) | 2<br>(125MHz) | 3<br>(200MHz) | 4<br>(200MHz) |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 1   | 38.9          | 39.1          | 39.6          | 38.9          |
| 2   | 27.0          | 27.2          | 27.77         | 27.08         |
| 3   | 91.5          | 91.9          | 92.2          | 91.7          |
| 4   | 44.3          | 44.4          | 45.0          | 44.3          |
| 5   | 56.3          | 56.6          | 57.0          | 56.4          |
| 6   | 18.9          | 19.1          | 19.6          | 19.0          |
| 7   | 33.2          | 33.4          | 33.9          | 33.2          |
| 8   | 40.5          | 40.7          | 41.2          | 40.5          |
| 9   | 48.1          | 48.3          | 48.7          | 48.0          |
| 10  | 36.8          | 37.0          | 37.54         | 36.88         |
| 11  | 24.5          | 24.6          | 25.1          | 24.1          |
| 12  | 123.6         | 123.8         | 123.2         | 123.9         |
| 13  | 144.6         | 144.7         | 145.0         | 144.2         |
| 14  | 42.3          | 42.5          | 42.9          | 42.2          |
| 15  | 26.7          | 26.9          | 27.3          | 26.6          |
| 16  | 26.7          | 26.8          | 27.3          | 26.6          |
| 17  | 36.6          | 36.8          | 37.5          | 36.81         |
| 18  | 44.5          | 44.7          | 44.9          | 44.2          |
| 19  | 42.0          | 42.2          | 42.23         | 41.54         |
| 20  | 41.2          | 41.4          | 42.26         | 41.59         |
| 21  | 35.6          | 35.8          | 36.5          | 35.8          |
| 22  | 78.7          | 78.7          | 78.3          | 77.6          |
| 23  | 23.3          | 23.3          | 24.0          | 23.3          |
| 24  | 63.8          | 64.1          | 64.4          | 63.8          |
| 25  | 16.1          | 16.2          | 16.8          | 16.1          |
| 26  | 17.2          | 17.3          | 17.9          | 17.1          |

|        |                 |       |       |       |       |
|--------|-----------------|-------|-------|-------|-------|
|        | 27              | 27.1  | 27.1  | 27.72 | 27.04 |
|        | 28              | 21.8  | 21.95 | 22.4  | 21.7  |
|        | 29              | 30.2  | 30.3  | 30.7  | 30.1  |
|        | 30              | 180.0 | 180.1 | 177.9 | 177.2 |
|        | —C=O            | 171.2 | 171.1 | 172.4 | 171.7 |
|        |                 |       |       |       |       |
|        | CH <sub>3</sub> | 21.6  | 21.5  | 22.8  | 22.1  |
|        | C3-O-GluA       |       |       |       |       |
|        | 1'              | 105.8 | 105.8 | 106.5 | 105.8 |
|        | 2'              | 77.0  | 77.4  | 77.7  | 76.79 |
|        | 3'              | 78.4  | 78.6  | 79.0  | 78.3  |
|        | 4'              | 74.3  | 74.2  | 75.0  | 74.2  |
|        | 5'              | 78.0  | 78.1  | 78.6  | 78.2  |
|        | 6'              | 172.9 | 172.9 | 173.6 | 172.9 |
|        | Gal             |       |       |       |       |
| [0057] | 1''             | 102.1 | 102.2 | 102.8 | 102.0 |
|        | 2''             | 77.9  | 76.8  | 78.5  | 76.78 |
|        | 3''             | 76.7  | 85.0  | 77.35 | 84.9  |
|        | 4''             | 71.3  | 71.3  | 72.0  | 71.0  |
|        | 5''             | 76.6  | 76.6  | 77.32 | 76.5  |
|        | 6''             | 61.8  | 62.2  | 63.1  | 61.8  |
|        | Rha             |       |       |       |       |
|        | 1'''            | 102.6 | 102.8 | 103.2 | 102.6 |
|        | 2'''            | 72.7  | 72.8  | 73.4  | 72.6  |
|        | 3'''            | 72.8  | 73.6  | 73.5  | 72.8  |
|        | 4'''            | 74.7  | 74.8  | 75.4  | 74.6  |
|        | 5'''            | 69.8  | 69.8  | 70.4  | 69.6  |
|        | 6'''            | 19.4  | 19.4  | 20.0  | 19.4  |
|        | Glc             |       |       |       |       |
|        | 1''''           |       | 106.4 |       | 106.3 |

[0058]

---

|      |      |      |
|------|------|------|
| 2''' | 75.5 | 75.3 |
| 3''' | 78.7 | 78.5 |
| 4''' | 71.9 | 71.7 |
| 5''' | 78.7 | 78.7 |
| 6''' | 62.8 | 62.4 |

C30-O-Glc

---

|       |      |      |
|-------|------|------|
| 1'''' | 97.4 | 96.7 |
| 2'''' | 74.9 | 74.3 |
| 3'''' | 79.5 | 78.0 |
| 4'''' | 72.2 | 71.5 |
| 5'''' | 80.4 | 79.6 |
| 6'''' | 62.5 | 62.6 |

---

[0059]

表 2. 化合物 1~4 的 <sup>1</sup>H-NMR (氘代吡啶) 数据归属 (J=Hz)

| NO. | 1 (500MHz)           | 2 (500MHz)         | 3 (800MHz)       | 4 (800MHz)         |
|-----|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| 1   | 1.29, 0.76           | 1.33, 0.79         | 1.34, 0.84       | 1.37, 0.86         |
| 2   | 1.74, 2.09           | 1.95, 2.10         | 1.84, 2.13       | 1.84, 2.14,        |
| 3   | 3.35 (dd, 11.5, 3.5) | 3.35 (dd, 11.5, 4) | 3.35 (dd, 12, 4) | 3.36 (dd, 11.2, 4) |
| 4   | /                    | /                  | /                | /                  |
| 5   | 0.80                 | 0.84               | 0.81             | 0.84               |
| 6   | 1.51, 1.20           | 1.57, 1.29         | 1.52, 1.22       | 1.56, 1.27         |
| 7   | 1.45, 1.24           | 1.50, 1.33         | 1.43, 1.21       | 1.45, 1.26         |
| 8   | /                    | /                  | /                | /                  |
| 9   | 1.57                 | 1.59               | 1.54             | 1.55               |
| 10  | /                    | /                  | /                | /                  |
| 11  | 1.76 (2H)            | 1.33, 1.79         | 1.70 (2H)        | 1.72 (2H)          |
| 12  | 5.52 (brs)           | 5.52 (brs)         | 5.40 (brs)       | 5.42 (brs)         |
| 13  | /                    | /                  | /                | /                  |
| 14  | /                    | /                  | /                | /                  |
| 15  | 0.98 (2H)            | 1.01 (2H)          | 0.94 (2H)        | 0.96 (2H)          |
| 16  | 1.93 (2H)            | 1.78 (2H)          | 1.68 (2H)        | 1.70 (2H)          |

[0060]

|                              |                                  |                      |                      |                            |                  |
|------------------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|------------------|
| 17                           | /                                | /                    | /                    | /                          | /                |
| 18                           | 2.93 (dd, 12.5, 3.5)             | 2.93 (dd, 12.5, 4)   | 2.84 (dd, 12, 4)     | 2.84 (dd, 12, 4)           | 2.84 (dd, 12, 4) |
| 19                           | 1.82, 2.30 (d, 11.5)             | 1.82, 2.30 (d, 10.5) | 1.75, 2.17 (d, 12)   | 1.75, 2.19 (dd, 11.2, 5.6) |                  |
| 20                           | /                                | /                    | /                    | /                          | /                |
| 21                           | 1.77, 2.81 (d, 14)               | 1.78, 2.82 (d, 13)   | 1.71, 2.64 (d, 13.6) | 1.73, 2.66 (d, 13.6)       |                  |
| 22                           | 4.83 (brs)                       | 4.84 (brs)           | 4.88 (brs)           | 4.90 (brs)                 |                  |
| 23                           | 1.39 (s)                         | 1.38 (s)             | 1.40 (s)             | 1.39 (s)                   |                  |
| 24                           | 4.22 (d, 11.5)<br>3.23 (d, 11.5) | 4.23, 3.29 (d, 11.5) | 4.22, 3.23 (d 11.2)  | 4.24, 3.30 (d, 11.2)       |                  |
| 25                           | 0.64 (s)                         | 0.67 (s)             | 0.67 (s)             | 0.70 (s)                   |                  |
| 26                           | 0.87 (s)                         | 0.90 (s)             | 0.85 (s)             | 0.88 (s)                   |                  |
| 27                           | 1.30 (s)                         | 1.33 (s)             | 1.23 (s)             | 1.25 (s)                   |                  |
| 28                           | 0.96 (s)                         | 0.98 (s)             | 0.86 (s)             | 0.88 (s)                   |                  |
| 29                           | 1.31 (s)                         | 1.33 (s)             | 1.27 (s)             | 1.29 (s)                   |                  |
| 30                           | /                                | /                    | /                    | /                          | /                |
| —C=O<br> <br>CH <sub>3</sub> | /                                | /                    | /                    | /                          | /                |
| C3-O-GluA                    | 2.07 (s)                         | 2.07 (s)             | 2.38 (s)             | 2.39 (s)                   |                  |



[0061]

|      |                                       |                       |   |   |
|------|---------------------------------------|-----------------------|---|---|
| 1'   | 4.97 (d, 8)                           | 4.96 (overlapped)     | 4.96 (d, 7.2)                           | 4.95 (d, 8)                             |
| 2'   | 4.52 (overlapped)                     | 4.52 (overlapped)     | 4.52 (t 8.8)                            | 4.54 (t, 8.8)                           |
| 3'   | 4.67 (overlapped)                     | 4.57 (overlapped)     | 4.66 (overlapped)                       | 4.32 (overlapped)                       |
| 4'   | 4.44 (overlapped)                     | 4.42 (overlapped)     | 4.44 (overlapped)                       | 4.45 (overlapped)                       |
| 5'   | 4.67 (overlapped)                     | 4.63 (d, 9.5)         | 4.66 (overlapped)                       | 4.65 (overlapped)                       |
| 6'   | /                                     | /                     | /                                       | /                                       |
| Gal  |                                       |                       |   |   |
| 1''  | 5.70 (d, 7.5)                         | 5.70 (d 7.5)          | 5.69 (d, 7.2)                           | 5.69 (d, 7.2)                           |
| 2''  | 4.49 (overlapped)                     | 4.48 (m)              | 4.49 (dd, 9.6, 7.2)                     | 4.48 (m)                                |
| 3''  | 4.10 (dd, 9.5, 3)                     | 4.08 (dd, 9.5, 2)     | 4.08 (dd, 9.6, 3.2)                     | 4.05 (overlapped)                       |
| 4''  | 4.39 (overlapped)                     | 4.72 (overlapped)     | 4.40 (d, 3.2)                           | 4.79 (overlapped)                       |
| 5''  | 3.97 (m)                              | 3.96 (overlapped)     | 3.95 (t, 6.4)                           | 4.03 (t, 6.4)                           |
| 6''  | 4.37(dd, 9.5, 3),<br>4.30 (dd, 11, 6) | 4.25 (2H, overlapped) | 4.42 (overlapped),<br>4.34 (overlapped) | 4.30 (overlapped),<br>4.27 (overlapped) |
| Rha  |                                       |                       |   |   |
| 1''' | 6.17 (s)                              | 6.10 (s)              | 6.18 (s)                                | 6.13 (s)                                |
| 2''' | 4.81 (overlapped)                     | 4.87 (brs)            | 4.83 (dd, 3.2, 1.6)                     | 4.92 (d, 3.2)                           |
| 3''' | 4.80 (dd, 9.5, 3)                     | 4.69 (overlapped)     | 4.79 (dd, 9.6, 3.2)                     | 4.79 (overlapped)                       |

[0062]

|                     |                   |   |                    |   |
|---------------------|-------------------|---|--------------------|---|
| 4 <sup>'''</sup>    | 4.36 (overlapped) | 4.30 (overlapped)                       | 4.36 (overlapped)  | 4.34 (overlapped)                       |
| 5 <sup>'''</sup>    | 5.01 (m)          | 4.93 (m)                                | 5.0 (dq, 12,6)     | 4.97 (m)                                |
| 6 <sup>'''</sup>    | 1.79 (d, 6.5)     | 1.72 (d, 6)                             | 1.76 (d, 6.4)      | 1.73 (d, 5.6)                           |
| Glc                 |                   |   |                    |   |
| 1 <sup>''''</sup>   |                   | 5.04 (d, 8)                             |                    | 5.06 (d, 7.2)                           |
| 2 <sup>''''</sup>   |                   | 3.95 (overlapped)                       |                    | 3.98 (t, 8.8)                           |
| 3 <sup>''''</sup>   |                   | 4.21 (overlapped)                       |                    | 4.32 (overlapped)                       |
| 4 <sup>''''</sup>   |                   | 4.12 (t, 9.5)                           |                    | 4.12 (t, 9.6)                           |
| 5 <sup>''''</sup>   |                   | 3.86 (m)                                |                    | 3.92 (m)                                |
| 6 <sup>''''</sup>   |                   | 4.40 (overlapped),<br>4.29 (overlapped) |                    | 4.34 (overlapped),<br>4.27 (overlapped) |
| C30-O-Glc           |                   |   |                    |   |
| 1 <sup>''''''</sup> |                   |   | 6.10 (d, 8)        | 6.11 (d, 8.0)                           |
| 2 <sup>''''''</sup> |                   |   | 4.20 (overlapped)  | 4.22 (overlapped)                       |
| 3 <sup>''''''</sup> |                   |   | 4.31 (overlapped)  | 4.65 (overlapped)                       |
| 4 <sup>''''''</sup> |                   |   | 4.33 (overlapped)  | 4.33 (overlapped)                       |
| 5 <sup>''''''</sup> |                   |   | 4.05 (m)           | 4.06 (overlapped)                       |
| 6 <sup>''''''</sup> |                   |   | 4.37 (overlapped), | 4.42 (2H, overlapped)                   |

4.29 (overlapped)

[0063]

[0064] 实施例3:

[0065] 本发明齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1~4的味觉阈值及甜度测试:

[0066] 单个化合物的甜度评价:配制浓度为4%,2%,1%的蔗糖对照品溶液梯度,配制浓度为0.02%,0.01%,0.005%,0.0033%,0.0025%,0.002%的样品溶液梯度。由评价小组成员对样品甜味阈值及甜度进行评价。阈值指能尝到甜味的最低浓度(单位:mg/ml);甜度指样品甜味对蔗糖甜味的倍数,是通过比较找出某一浓度的样品的甜味与一定浓度的蔗糖的甜味相当,从而换算出该样品的甜度。齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1~4的味觉阈值及甜度见表3。

[0067] 表3化合物1~4甜味评价情况

|        | 化合物 | 甜度  | 阈值     |
|--------|-----|-----|--------|
|        | 1   | 150 | 0.05   |
| [0068] | 2   | 80  | 0.0625 |
|        | 3   | 2   | 1      |
|        | 4   | 0.5 | 5      |

[0069] 实施例4:

[0070] 本发明的齐墩果烷型三萜皂苷类化合物和毛果鱼藤甜味提取物可用于制作食品、甜味剂,用作食品时,可直接食用,或配以食品常规辅料制作而成。

[0071] 毛果鱼藤颗粒剂的制备工艺采用:按实施例1制得的翅果藤甜味提取物或/和齐墩果烷型三萜皂苷类单体化合物1或/和2或/和3或/和4干粉3份,糊精2份,适量50%乙醇。将上述原辅料按照常规制备颗粒剂的工艺制备,即先对原辅料进行检验称重—制软材—制粒—干燥—整粒—成品分装。颗粒剂规格:10g/袋。

[0072] 实施例5:

[0073] 按实施例1的方法制得的毛果鱼藤甜味提取物即甜味总皂苷或/和齐墩果烷型三萜皂苷类化合物1或/和2或/和3或/和4按1~9:1~9的比例,配制成高度无糖甜味剂。

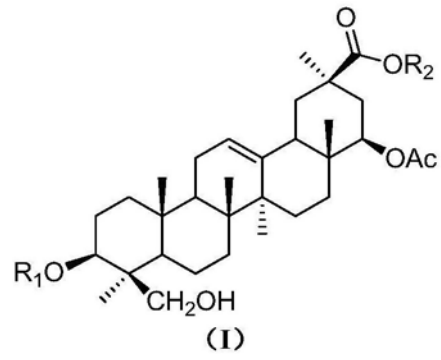


图1

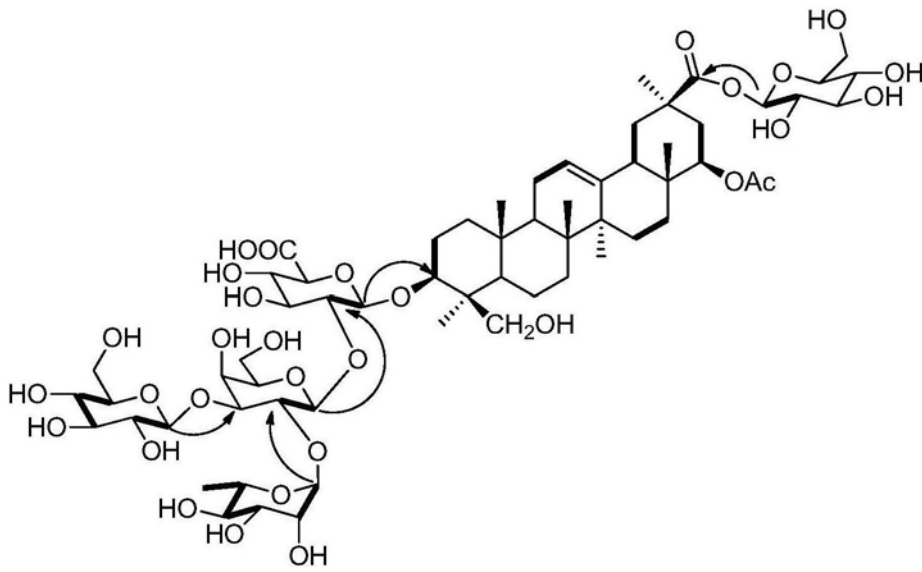


图2

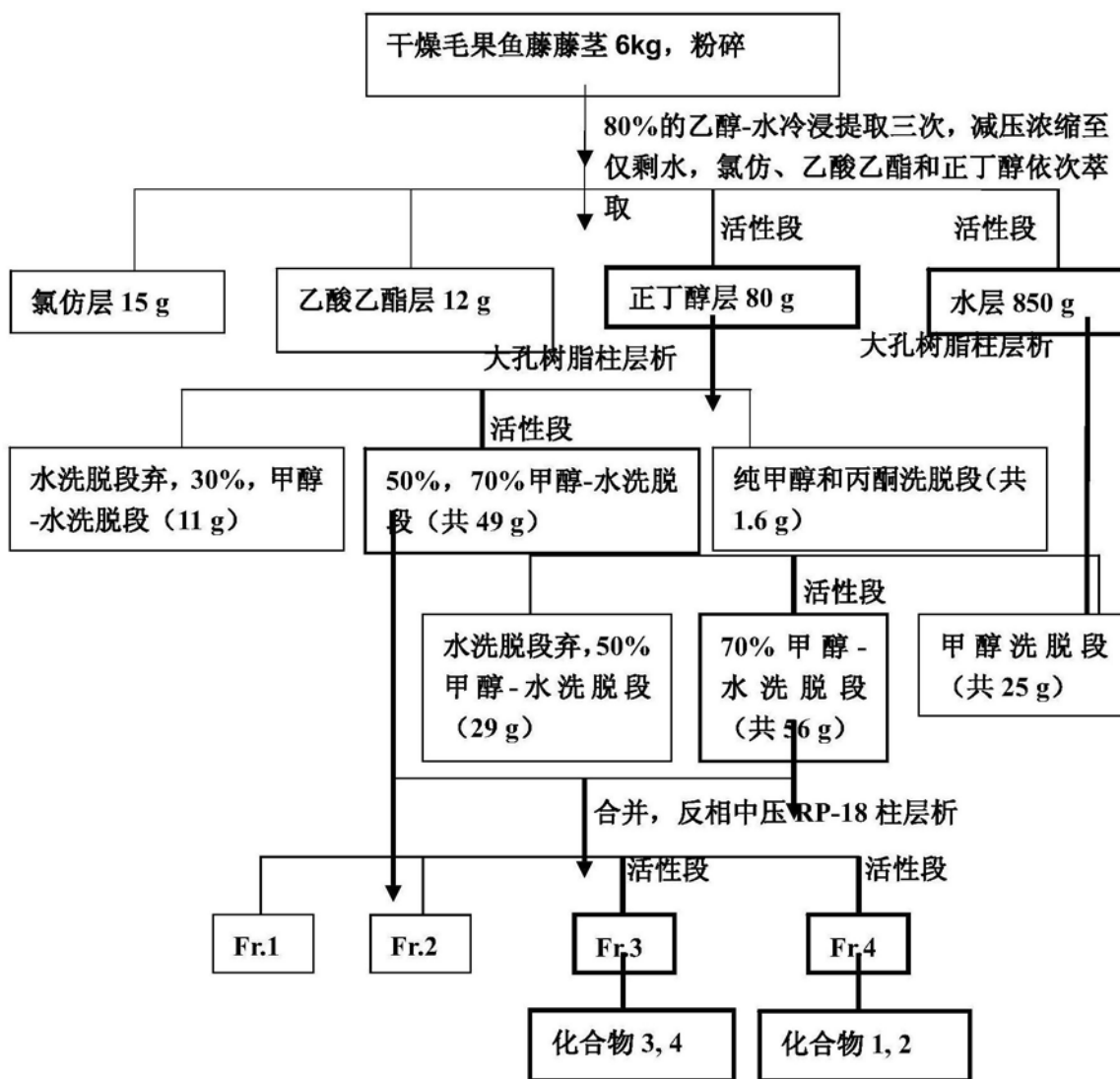


图3