

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2018年9月20日 (20.09.2018)



(10) 国际公布号
WO 2018/166475 A1

(51) 国际专利分类号:
C07H 15/256 (2006.01) *A23L 33/125* (2016.01)
C07H 1/06 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/079010

(22) 国际申请日: 2018年3月14日 (14.03.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201710157466.6 2017年3月16日 (16.03.2017) CN

(71) 申请人: 诸城市浩天药业有限公司 (ZHUCHENG HAOTIAN PHARM CO., LTD.) [CN/CN]; 中国山东省潍坊市诸城市辛兴镇浩天路1号, Shandong 262218 (CN)。

(72) 发明人: 朱理平 (ZHU, Liping); 中国山东省潍坊市诸城市辛兴镇浩天路1号, Shandong 262218 (CN)。梅雪锋 (MEI, Xuefeng); 中国山东省潍坊市诸城市辛兴镇浩天路1号, Shandong 262218 (CN)。黄颖 (HUANG, Ying); 中国山东省潍坊市诸城市辛兴镇浩天路1号, Shandong 262218 (CN)。王建荣 (WANG, Jianrong); 中国山东省潍坊市诸城市辛兴镇浩天路1号, Shandong 262218 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司 (XU AND PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路958号天地科技广场1号楼106室, Shanghai 200333 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,

LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: STEVIOSIDE M CRYSTAL FORM, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 甜菊糖M苷晶型及制备方法和用途

(57) Abstract: The present invention relates to a stevioside M crystal form, a preparation method therefor and a use thereof, and specifically, relates to a naturally extracted high-intensity sweetener, i.e., a stevioside M crystal form A, the preparation method therefor and the user thereof. By means of comprehensive characterization of the new crystal form, the new crystal form is found to have advantages such as a high degree of crystallinity, good stability, and low hygroscopicity, and is applicable to a more comprehensive field of application. The preparation method in the present invention is simple and easy to operate, has high selectivity and good reproducibility, and can stably obtain the target crystal form.

(57) 摘要: 本发明涉及甜菊糖M苷晶型及制备方法和用途, 具体地, 涉及一种天然提取的高倍甜味剂甜菊糖M苷晶型A、制备方法及其应用。通过对该新晶型进行了全面表征, 发现该新晶型具有结晶度高, 稳定性好、吸湿性小等优点, 适于更加广泛的运用领域。本发明涉及的制备方法简单, 易于操作, 选择性多, 重现性好, 可以稳定地获得目标晶型。



WO 2018/166475 A1

甜菊糖M苷晶型及制备方法和用途

技术领域

本发明涉及甜味剂领域，尤其涉及一种甜菊糖M苷的新晶型及其制备方法
5 和用途。

背景技术

甜叶菊原产于南美巴拉圭与巴西接壤的阿曼拜山脉，是一种具有高倍甜味的植物。从甜叶菊中提取的白色粉末状甜菊糖苷，是一种纯天然、高甜度、零
10 卡路里的甜味剂、天然代糖。甜菊糖是国际高倍甜味剂市场上第三大畅销的产品。第一代甜菊糖以混合糖为主，但是其常常伴随着苦涩的口感。第二代甜菊糖以高纯的甜菊糖A苷为主，已经被广泛用于食品、保健品和药品中。随着甜菊糖A苷不断的普及，甜叶菊中的其他苷类化合物也逐渐受到重视。目前，市场上开始使用的甜菊糖苷类化合物除了甜菊糖A苷外，还有甜菊糖B苷、甜菊糖
15 C苷、甜菊糖D苷和甜菊糖M苷。其中，甜菊糖D苷和甜菊糖M苷的口感最好，并没有甜菊糖A苷的后苦味，已被FDA批准作为新型甜味剂使用。

甜菊糖M苷(还被称为莱鲍迪苷M或莱鲍迪苷X, Reb M), (13-[(2-O-β-D-吡喃葡萄糖基-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-β-D-吡喃葡萄糖基)氧基]对映贝壳杉-16-烯-19-酸-[(2-O-β-D-吡喃葡萄糖基-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-β-D-吡喃葡萄糖基)酯]
20 是从甜叶菊中分离出的。

甜菊糖M苷以微量(按重量计为0.05%-0.5%)存在于甜叶菊中。专利CN 104151378 A公开了一种提纯甜菊糖M苷的方法。但由于天然的甜菊糖M苷含量甚微，所以对甜菊糖M苷的研究大多转向了酶转化或合成工艺上。专利CN 104726523 A公开了利用番茄UDP-糖基转移酶和土豆蔗糖合成酶，以甜菊糖A
25 苷和蔗糖为原料生产甜菊糖M苷的方法。专利CN 104163839 A公开了以甜菊糖C苷为底物，在碳酸银的作用下与化合物R1发生取代反应，得到中间体Ac-Reb M，再进行水解得到产品甜菊糖M苷的方法。专利CN 103397064 A公开了一种以甜菊糖A苷或甜菊糖D苷为底物，使所述底物在葡萄糖基供体存在下，在UDP-葡萄糖基转移酶和/或含有UDP-葡萄糖基转移酶的重组细胞的催化下反应生成
30 甜菊糖M苷的方法。上述方法存在生产成本高、反应条件苛刻，难以制备高纯甜菊糖M苷等缺点。

晶体甜菊糖M苷在饮料配制品中具有差的水溶性和溶解品质。含量为75% - 90%的甜菊糖M苷在室温条件下水中溶解度在0.1% - 0.15%之间。专利CN 105722533 A报道了通过与甜菊糖D苷和至少一种表面活性剂组合的方法来提
5 高甜菊糖M苷溶解度。其中，甜菊糖M苷和甜菊糖D苷的无定形组合物，可以提高甜菊糖M苷溶解度达0.3%(w/w)。虽然，甜菊糖M苷的水溶性得到少量提高，但是由于组合物为无定形，而使得其稳定性令人堪忧。

众所周知，晶型不同，可能导致颜色、形态、稳定性、吸湿性和溶解性存在差异，进而影响食品的储存条件、外观和口感。甜菊糖类化合物的晶型不同对其口感、稳定性、引湿性和溶解度有很大的影响。专利CN 103739639 A和CN
10 103739640 A报道了甜菊糖A苷的两种晶型，其中晶型7具有口感好和引湿性低的优势，晶型9具有稳定性高和水溶性高的优势。专利CN 105037458 A公开的甜菊糖D苷晶型A具有结晶度高、水溶性好和化学稳定性高的优点。目前，关于甜菊糖A苷、甜菊糖B苷、甜菊糖C苷、甜菊糖D苷的晶型研究均有报道，而口感最好的甜菊糖M苷的晶型从未报道过。

15 本领域迫切需要提供一种性能更好的甜菊糖M苷的晶型，例如结晶度好、水溶性好、化学稳定性高、口感好的新晶型。同时，迫切需要提供上述晶型的制备方法和用途。

发明内容

20 本发明旨在提供一种新的甜菊糖 M 苷晶型。

本发明的另一个目的是提供所述新的甜菊糖 M 苷晶型的制备方法。

本发明的再一个目的是提供所述新的甜菊糖 M 苷晶型的用途。

在本发明的第一方面，提供了一种甜菊糖 M 苷晶型 A，所述晶型 A 使用 Cu-K α 的 X-射线粉末衍射方法，以度表示的 2θ 角在约为 4.30、6.57、8.04、16.31、17.57
25 和 20.91 处有明显的特征衍射峰。

在另一优选例中，所述晶型A有如图1所示的X-射线粉末衍射(XRPD)图，以度表示的 2θ 值、误差范围为 $\pm 1^\circ$ ，以Å表示的晶面间距d和以百分数表示的衍射峰的相对强度具有如下特征：

2 θ 角	d	相对强度%
3.51	25.12	14.4

4.30	20.54	63.7
5.27	16.75	17.7
6.57	13.44	54.4
8.04	10.99	100.0
13.43	6.59	28.8
14.61	6.06	39.9
16.31	5.43	59.5
17.57	5.04	87.7
18.34	4.83	40.8
19.25	4.61	22.5
19.75	4.49	32.1
20.91	4.24	42.6
22.56	3.94	31.5
23.67	3.76	19.5
3.51	25.12	14.4
4.30	20.54	63.7
5.27	16.75	17.7
6.57	13.44	54.4
8.04	10.99	100.0
13.43	6.59	28.8

在另一优选例中,所述晶型A有如图2所示的差示扫描量热分析图谱,在约30-160 °C和210-250 °C区间内有特征吸热峰。

在另一优选例中,所述晶型A的热失重分析在250±20 °C开始分解。

在另一优选例中,所述晶型A有如图4所示的动态水分吸附图谱。在相对湿度为0-40%范围内,其吸收水分的质量百分数在0-9.4%;在相对湿度为40-80%范围内,其吸收水分的质量百分数在9.4-14.0%。

在另一优选例中,所述晶型A的红外光谱至少在3391 cm⁻¹、2922 cm⁻¹、1727 cm⁻¹、1639 cm⁻¹、1446 cm⁻¹、1365 cm⁻¹、1228 cm⁻¹、1202 cm⁻¹、1074 cm⁻¹、1032 cm⁻¹、991 cm⁻¹、891 cm⁻¹、637 cm⁻¹和560 cm⁻¹处具有特征峰,误差范围为± 2 cm⁻¹。

在本发明的第二方面，提供了一种如上所述的甜菊糖M苷晶型A的制备方法，所述制备方法为混悬法、溶液挥发法或冷却法的一种或两种以上的混合结晶方法，包括以下步骤：

- 5 (1) 混悬：在 0-100 °C 温度范围内，将甜菊糖 M 苷与溶剂混合 0.1-48 h，得到混悬溶液；
- (2) 冷却：步骤(1)中的混悬溶液趁热过滤，滤液冷却至 0-30 °C 温度范围内，直至析出大量的白色固体，得到混悬溶液；
- (3) 挥发：步骤(1)中的混悬溶液过滤后，在 0-100 °C 温度范围内挥发，真空压力小于或等于 0.1MPa，直至析出大量的白色固体，得到混悬溶液；
- 10 (4) 过滤：在 0-100 °C 温度范围内，将步骤(1)、(2)或(3)中的混悬溶液过滤或离心，得到白色固体，干燥即得甜菊糖 M 苷晶型 A。

在另一优选例中，步骤(1)中所述的甜菊糖M苷干物质纯度在20-100%范围内。

在另一优选例中，步骤(1)中所述的溶剂为：甲醇、乙醇、1-丙醇、乙腈、15 丙酮、甲乙酮、乙酸甲酯、甲酸乙酯、乙酸乙酯、甲基叔丁基醚、四氢呋喃、硝基甲烷、甲苯中的一种或两种以上，或是上述溶剂与水的混合溶剂。

在本发明的第三方面，提供了一种如上所述的本发明提供的甜菊糖M苷晶型A在制备食品、保健品及药品中的用途。

在另一优选例中，提供了一种如上所述的本发明提供的甜菊糖M苷晶型A 20 在组合物中的用途。

在另一优选例中，所述的组合物选自下组：食品组合物、饮料组合物、保健品组合物和药品组合物。

本发明提供的甜菊糖M苷晶型A的制备方法，其工艺简单、易于操作，且制得的产品结晶度高、吸湿性低、稳定性高。

25

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

30 图1是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A的X-射线粉末衍射(XRPD)图；
图2是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A的差示扫描量热分析(DSC)图；

图3是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A的热失重分析(TG)图;

图4是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A吸湿性分析(DVS)图;

图5是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A红外(IR)图;

图6是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A、晶型B与无定形的吸湿性(DVS)比较图;

图7是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A在干燥前后的X-射线粉末衍射(XRPD)比较图;

图8是本发明提供的甜菊糖M苷晶型B在干燥前后的X-射线粉末衍射(XRPD)比较图;

图9是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A在25 °C、相对湿度60%的条件下储存半年的X-射线粉末衍射(XRPD)比较图;

图10是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A在40 °C、相对湿度75%的条件下储存半年的高效液相(HPLC)比较图;

图11是本发明提供的甜菊糖M苷晶型A的粉末溶出曲线。

15

具体实施方式

本发明人通过广泛而深入的研究,首次研发出一种甜菊糖M苷晶型A,所述的晶型A结晶度高,化学稳定性好、吸湿性小,且制备工艺简单高效,重复性好,可实现规模化工业生产。在此基础上,完成了本发明。

20

术语说明

除非另外定义,否则本文中所有的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

如本文所用,在提到具体列举的数值中使用时,术语“约”意指该值可以从列举的值变动不多于1%。例如,如本文所用,表述“约100”包括99和101之间的全部值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

对于用 2θ 角表示的特征衍射峰,术语“约”表示列举的值变动不多于 2° ,例如约为 X° ,则表示 $X\pm 2^\circ$,较佳地 $X\pm 1^\circ$ 。

如本文所用,术语“含有”或“包括(包含)”可以是开放式、半封闭式和封闭式的。换言之,所述术语也包括“基本上由...构成”、或“由...构成”。

30

本发明化合物

如本文所用，术语“本发明化合物”或“本发明晶型”或“本发明晶型 A 化合物”可互换使用，指本发明第一方面中所述的具有式 I 化合物的具有所述 X-射线衍射特征峰的结晶化合物。本发明化合物可用作甜味剂。

5

组合物

本发明还提供了含有本发明晶型A化合物的组合物，即甜味剂组合物。

在本发明的一种优选实施方式中，所述组合物包括食品组合物、饮料组合物、和药品组合物等各种不同产品。

10 在一优选实施方式中，以所述甜味剂组合物或产品的总重计，所述本发明化合物的含量(wt%)为0.1-99%，较佳地，1-90%，更佳地，2-50%。

在本发明的甜味剂组合物中，还可含有其他甜味剂，例如乳糖、果糖、蔗糖、葡萄糖、海藻糖或其组合。

15 在一优选实施方式中，所述甜味剂组合物不含蔗糖或含少量的蔗糖，并且在所述甜味剂组合物中，所述蔗糖的含量(wt%) ≤ 5 ，较佳地 ≤ 2 ，更佳地 ≤ 1 。

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则
20 百分比和份数按重量计算。

实施例一

在室温条件下，将20 g物质纯度为99.5%的甜菊糖M苷加入100 mL丙酮中，搅拌12 h后，过滤得到白色固体，白色固体于25 °C下真空干燥，得甜菊糖M苷
25 晶型A。

实施例二

在室温条件下，将20 g物质纯度为99.5%的甜菊糖M苷加入100 mL乙腈中，搅拌24 h后，过滤得到白色固体，白色固体于25 °C下真空干燥，得甜菊糖M苷
晶型A。

30 实施例三

在50 °C条件下，将20 g物质纯度为99.5%的甜菊糖M苷加入100 mL乙醇中，

搅拌1 h后, 过滤得到白色固体, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例四

在50 °C条件下, 将10 g物质纯度为50.2%的甜菊糖M苷加入1.5 L甲醇中, 5 搅拌1 h, 过滤后的滤液放置在25 °C、真空压力低于0.5 MPa条件下挥发, 直至溶剂体积小于50 mL, 过滤, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例五

在50 °C条件下, 将10 g物质纯度为50.2%的甜菊糖M苷加入1 L乙醇中, 10 搅拌1 h, 过滤后的滤液放置在50 °C条件下挥发, 直至溶剂体积小于50 mL, 过滤, 白色固体于50 °C下鼓风干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例六

在50 °C条件下, 将10 g物质纯度为40%的甜菊糖M苷加入900 mL乙醇-水 (2:1, v/v)溶液中, 搅拌0.5 h, 过滤后的滤液放置在50 °C、真空压力低于0.5 MPa 15 条件下挥发, 直至溶剂体积小于50 mL, 过滤, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例七

在80 °C条件下, 将10 g物质纯度为60%的甜菊糖M苷加入500 mL乙醇-水 (1:1, v/v)溶液中, 搅拌0.5 h, 趁热过滤后的滤液自然降温至室温, 静置12h析出 20 大量固体后, 过滤, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例八

在50 °C条件下, 将10 g物质纯度为80%的甜菊糖M苷加入1 L乙醇-水(1:1, v/v)溶液中, 搅拌0.5 h, 趁热过滤后的滤液以1 °C/h的降温速率降至30 °C, 析 出固体后, 过滤, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例九

在80 °C条件下, 将10 g物质纯度为60%的甜菊糖M苷加入500 mL乙醇-水 (1:1, v/v)溶液中, 搅拌0.5 h, 向趁热过滤后的滤液内加入0.1g物质纯度为95%的 甜菊糖M苷, 随后自然降温至室温, 静置12h析出固体后, 过滤, 白色固体于25 °C下真空干燥, 得甜菊糖M苷晶型A。

实施例十

在室温条件下, 将20 g物质纯度为99.5%的甜菊糖M苷晶型A加入100 mL水

中，搅拌12 h后，过滤得到白色固体，即得甜菊糖M苷晶型B。

对上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A进行X-射线粉末衍射分析(XRPD)、差示扫描量热分析(DSC)、热失重分析(TG)、动态水分吸附分析(DVS)等。

5 XRPD分析：其采用德国布鲁克仪器有限公司Bruker D8 advance型的衍射仪于室温进行检测，采用Cu-K α 射线($\lambda= 1.5418 \text{ \AA}$)， 2θ 角扫描从3度到40度，扫描速度为0.2度/秒。其分析结果见图1。XRPD谱图显示上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A具有良好的结晶度。

10 在样品粉末X-射线粉末衍射图谱中，由特定晶型得到的衍射谱图往往是特征性的。因为结晶条件、粒径、混合物的相对含量和其它测试条件的差异，衍射谱图可能会产生择优取向效果，从而导致谱图中某些谱带(尤其是在低角度)的相对强度发生变化。因此，衍射峰的相对强度对所针对的晶体并非其特征性的，判断是否与已知的晶型相同时，更应该注意的是峰的位置而不是它们的相对强度。另外，判断晶型是否一样时应注意保持整体观念，因为并不是一条衍射线代表一个物相，而是一套特定的“d-I/I1”数据才代表某一物相。还应指出的是，在混合物的鉴定中，由于含量下降等因素会造成部分衍射线的缺失，此时，

15 无需依赖高纯试样中观察到的全部谱带，甚至一条谱带也可能对给定的晶体是特征性的。

DSC分析：其采用美国铂金埃尔默公司的DSC 8500型差示扫描量热仪进行检测，气氛为氮气，加热速度为10摄氏度/分钟。其分析结果见图2。

20 TG分析：其采用德国耐驰公司的Netzsch TG 209F3型热重分析仪检测，温度范围：30-400 °C，扫描速率：10 K/min，吹扫气：25 mL/min。其分析结果见图3。

DVS分析：其采用英国SMS仪器公司DVS Intrinsic型动态水分吸附仪进行测定，测定温度：25 °C；相对湿度：0-95%。其分析结果见图4。上述实施例

25 制得的甜菊糖M苷晶型A在25 °C 40%RH条件下吸湿性明显低于甜菊糖M苷无定形和晶型B，比较结果见图6和表1。同时，甜菊糖M苷晶型A在正常储存(40%-80%RH)条件下吸湿性低于无定形。

表1

样品名称	吸湿性	吸湿的质量变化 (0%-40%RH)	吸湿的质量变化 (40%-80%RH)

甜菊糖 M 苷晶型 A	40%RH, 吸水 9.4% 80%RH, 吸水 14.0%	9.4%	4.6%
甜菊糖 M 苷晶型 B	40%RH, 吸水 15.3% 80%RH, 吸水 17.4%	15.3%	2.1%
甜菊糖 M 苷无定形	40%RH, 吸水 11.0% 80%RH, 吸水 19.2%	11.0%	8.2%

对上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A, 在105 °C条件下干燥一天后进行XRPD分析, 其分析结果见图7。从图7中可以看出其晶型不变, 晶型在高温条件下稳定性好。而甜菊糖M苷晶型B在高温条件下极其不稳定, 在105 °C条件下干燥一天后为无定形, 其分析结果见图8。

- 5 对上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A, 在25 °C、RH 60%条件下储存半年, 其分析结果见图9。从图9中可以看出其晶型不变, 说明该晶型在正常储存条件下物理稳定性好。

HPLC分析: 其采用美国安捷伦科技有限公司的1260 infinity液相色谱仪测定。样品溶液配制方法: 精确称量25-50毫克甜菊糖M苷样品, 放入25毫升的容量瓶中, 然后加入水-乙腈(7: 3, v/v)溶液, 进行溶解并定容至刻度。磷酸钠缓冲液(规格: 10 mmol/L, pH值: 2.6)的配置方法: 将2.76克磷酸二氢钠溶解到2升水中, 加入磷酸, 将pH值调至2.6。色谱柱: Phenomenex公司的Luna 5 μ C18(2)100A型色谱柱。进样量: 5 μ l。流速: 1.0 mL/min。柱温: 40 °C。检测器: 210 nm紫外检测。洗脱梯度如下:

时间(分钟)	磷酸钠缓冲液(规格: 10 mmol/L, pH值: 2.6)%	乙腈%
0.00	80	20
2.00	80	20
10.00	60	40
15.00	60	40
21.00	80	20
24.00	80	20

- 15 其分析结果见图10。上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A, 具有好的化学稳定性, HPLC分析显示在40 °C、RH 75%条件下储存半年后,其含量降低小于0.2%。说明该晶型在高湿条件下化学稳定性好。

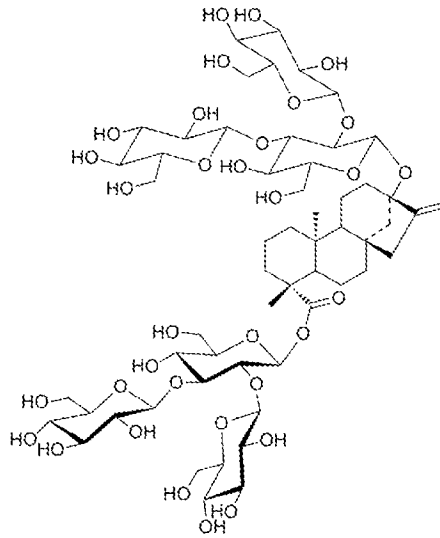
上述实施例制得的甜菊糖M苷晶型A，具有很好的重现性，并且水溶性稳定，最大溶解度约为3 mg/mL，24h时的平衡溶解度约为2 mg/mL。通过实施例制备的两批甜菊糖M苷晶型A的粉末溶出曲线见图11。晶型A的水溶性与专利CN 105722533 A中报道的甜菊糖D苷-甜菊糖M苷无定形组合(约3 mg/mL)差不多，均可以稳定提高水溶性2-3倍。

上述实施例中所用的甜菊糖M苷原料由山东诸城浩天药业有限公司提供。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权 利 要 求

1. 一种甜菊糖M苷晶型A，其特征在于，其结构如下式I所示，



(I)

5 并且，所述晶型A使用Cu-K α 的X-射线粉末衍射方法，以度表示的 2θ 角，在约4.30、约6.57、约8.04、约16.31、约17.57和约20.91处具有3个、4个、5个或6个特征衍射峰。

2. 根据权利要求1所述的甜菊糖M苷晶型A，其特征在于，所述晶型A有基本如图1所示的X-射线粉末衍射(XRPD)图谱，以度表示布拉格 2θ 角、误差范围为 \pm

10 1° ，以 \AA 表示的晶面间距 d 和以百分数表示的衍射峰的相对强度具有如下特征：

2θ 角($\pm 1^\circ$)	$d(\text{\AA})$	相对强度%
3.51	25.12	14.4
4.30	20.54	63.7
5.27	16.75	17.7
6.57	13.44	54.4
8.04	10.99	100.0
13.43	6.59	28.8
14.61	6.06	39.9
16.31	5.43	59.5
17.57	5.04	87.7
18.34	4.83	40.8
19.25	4.61	22.5
19.75	4.49	32.1

20.91	4.24	42.6
22.56	3.94	31.5
23.67	3.76	19.5

。

3. 根据权利要求1所述的甜菊糖M苷晶型A，其特征在于，所述晶型A还具有选自下组的一个或多个特征：

(1)所述晶型A具有基本上如图2所示的差示扫描量热分析图谱；

5 (2)所述晶型A具有基本上如图3所示的热失重分析图谱；

(3)所述晶型A具有基本上如图4所示的动态水分吸附图谱；和

(4)所述晶型A具有基本上如图5所示的红外图谱。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的甜菊糖M苷晶型A的制备方法，其特征在于，所述制备方法为混悬法、溶液挥发法或冷却法的一种或两种以上的混合结晶方法，
10 包括以下步骤：

(1) 混悬：在0-100° C温度范围内，将甜菊糖M苷与溶剂混合0.1-48 h，得到混悬溶液；

(2) 冷却：步骤(1)中的混悬溶液趁热过滤，滤液冷却至0-30° C温度范围内，直至析出大量的白色固体，得到混悬溶液；

15 (3) 挥发：步骤(1)中的混悬溶液过滤后，在0-100° C温度范围内挥发，真空压力小于或等于0.1MPa，直至析出大量的白色固体，得到混悬溶液；和

(4) 过滤：在0-100° C温度范围内，将步骤(1)、(2)或(3)中的混悬溶液过滤或离心，得到白色固体，干燥即得甜菊糖M苷晶型A。

5. 根据权利要求4所述的甜菊糖M苷晶型A的制备方法，其特征在于，步骤(1)
20 中所述的甜菊糖M苷干物质纯度在20-100%范围内。

6. 根据权利要求4所述的甜菊糖M苷晶型A的制备方法，其特征在于，步骤(1)中所述的溶剂为：甲醇、乙醇、1-丙醇、乙腈、丙酮、甲乙酮、乙酸甲酯、甲酸乙酯、乙酸乙酯、甲基叔丁基醚、四氢呋喃、硝基甲烷、甲苯中的一种或两种以上，或是上述溶剂与水的混合溶剂。

25 7. 一种组合物，其特征在于，所述组合物含有如权利要求1-3任一项所述的甜菊糖M苷晶型A。

8. 根据权利要求1-3任一项所述的甜菊糖M苷晶型A及其制备方法在食品、保健品及药品中的用途。

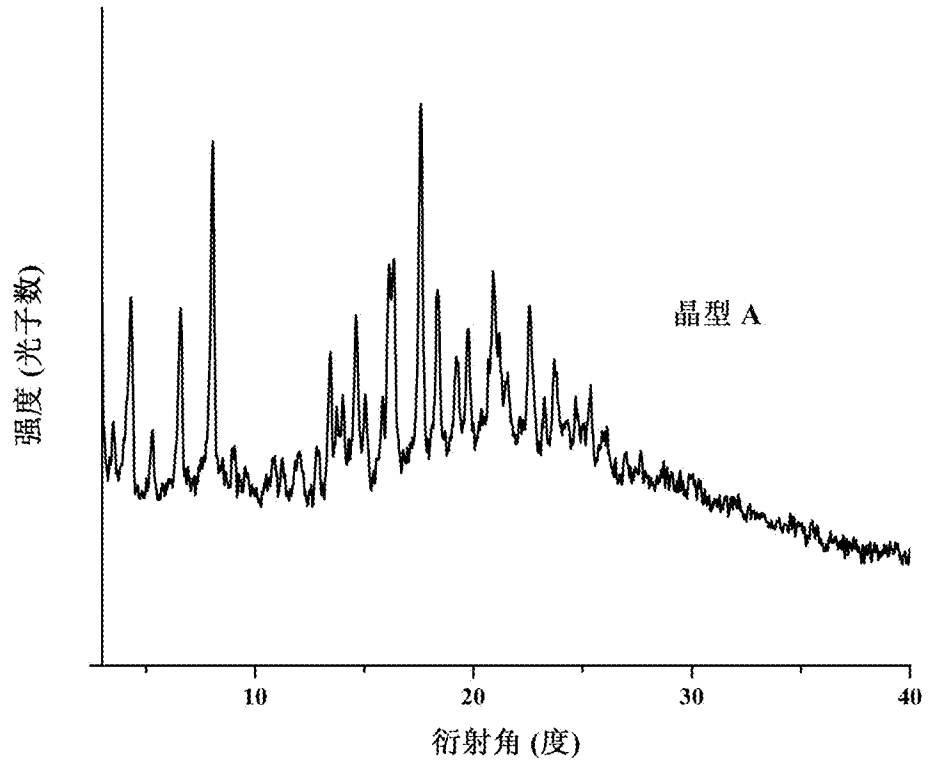


图 1

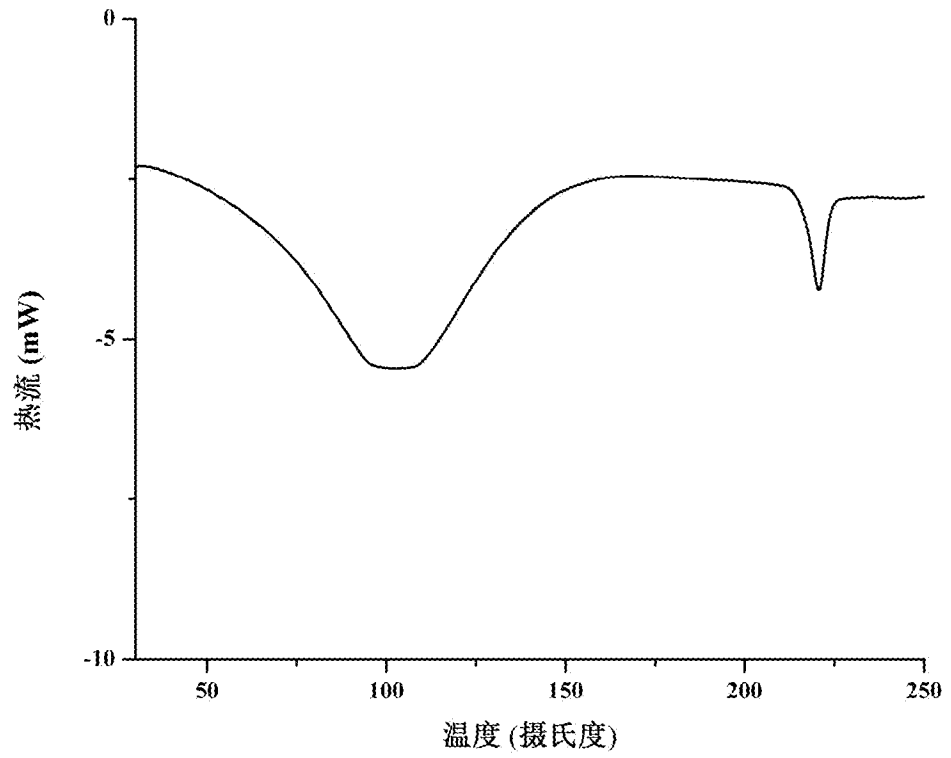


图 2

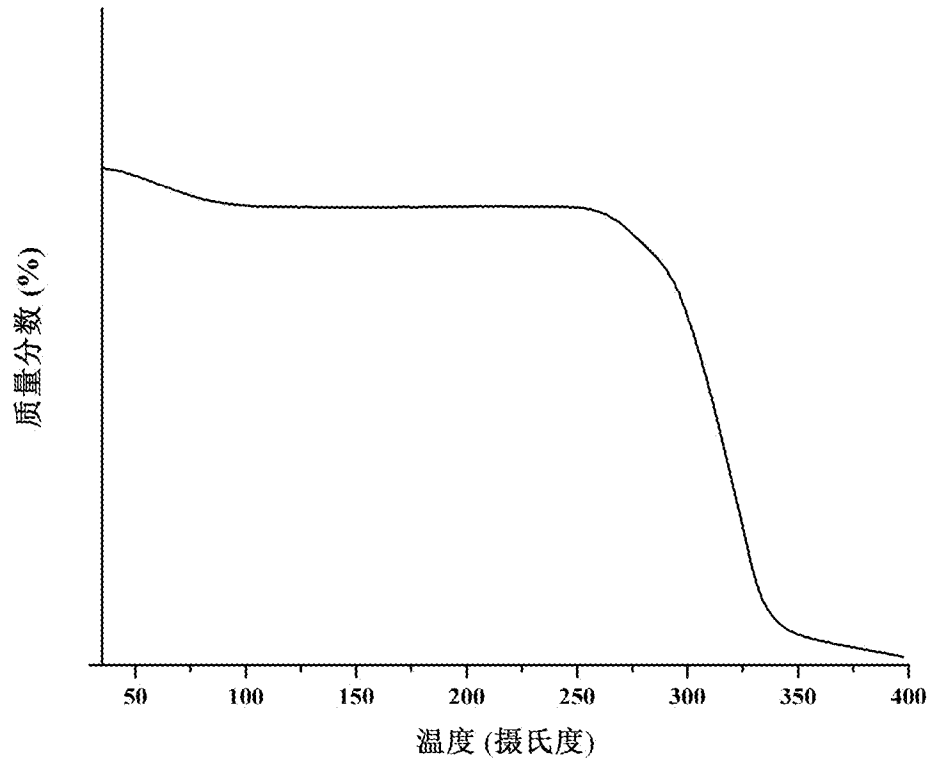


图 3

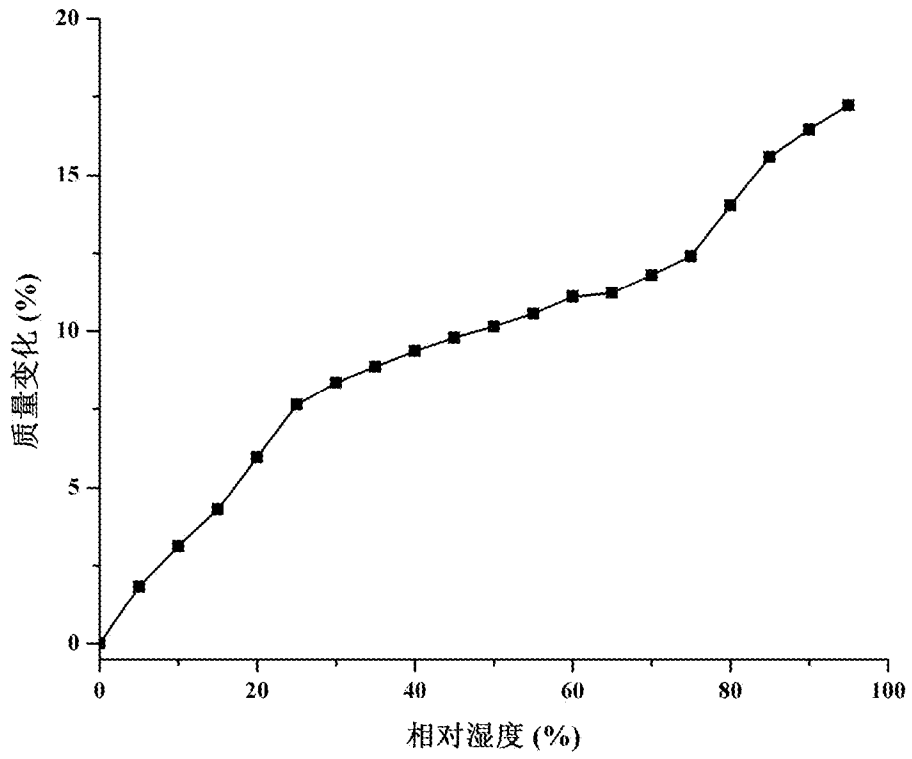


图 4

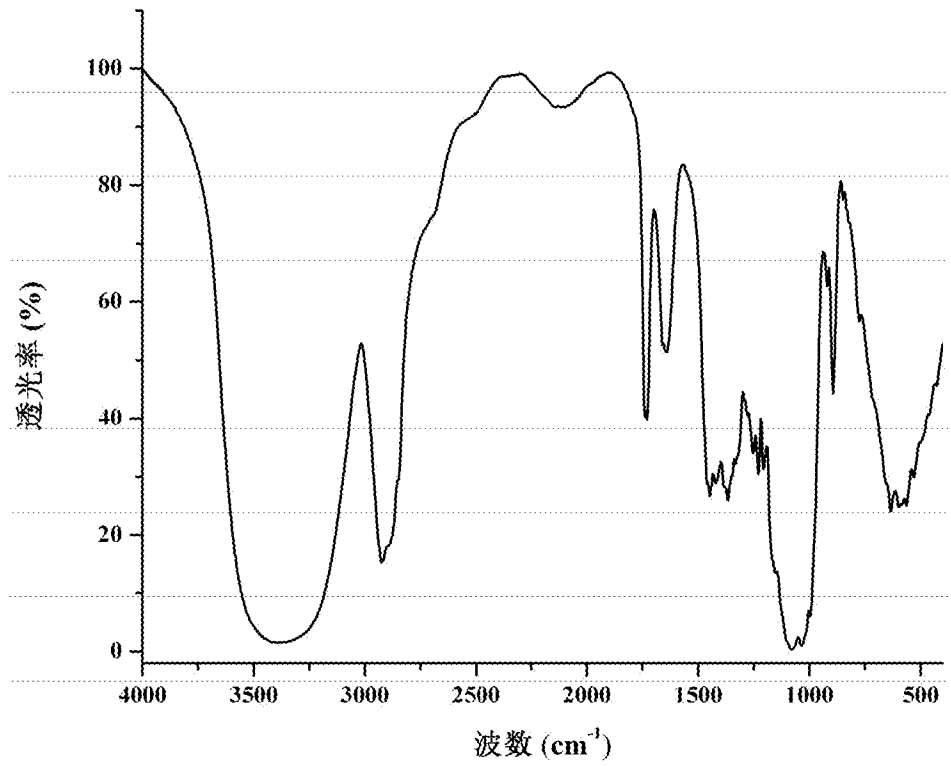


图 5

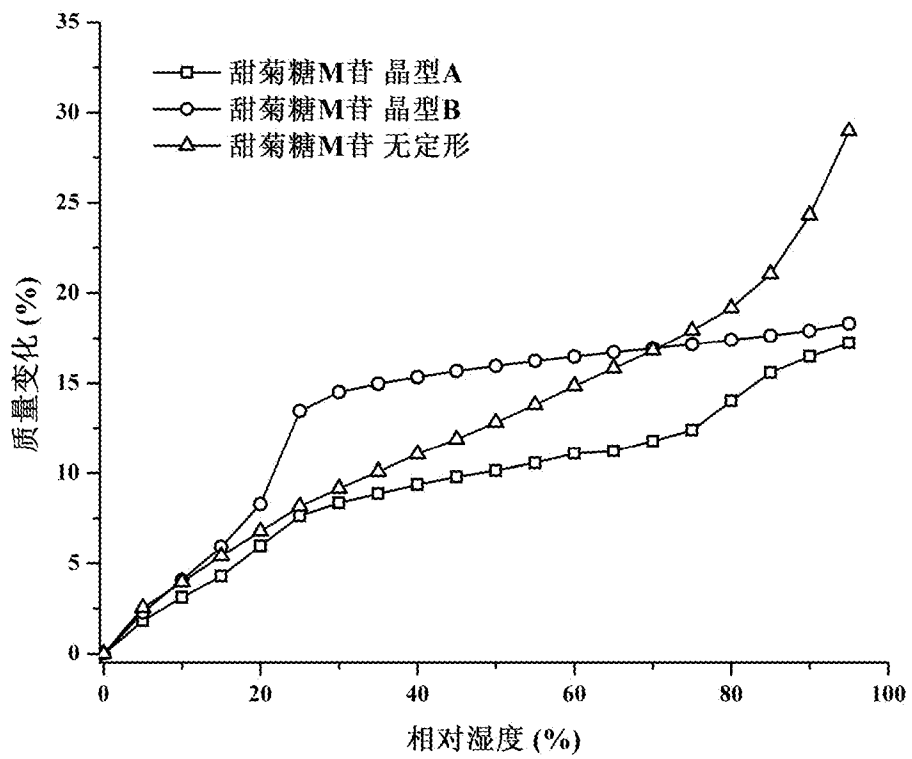


图 6

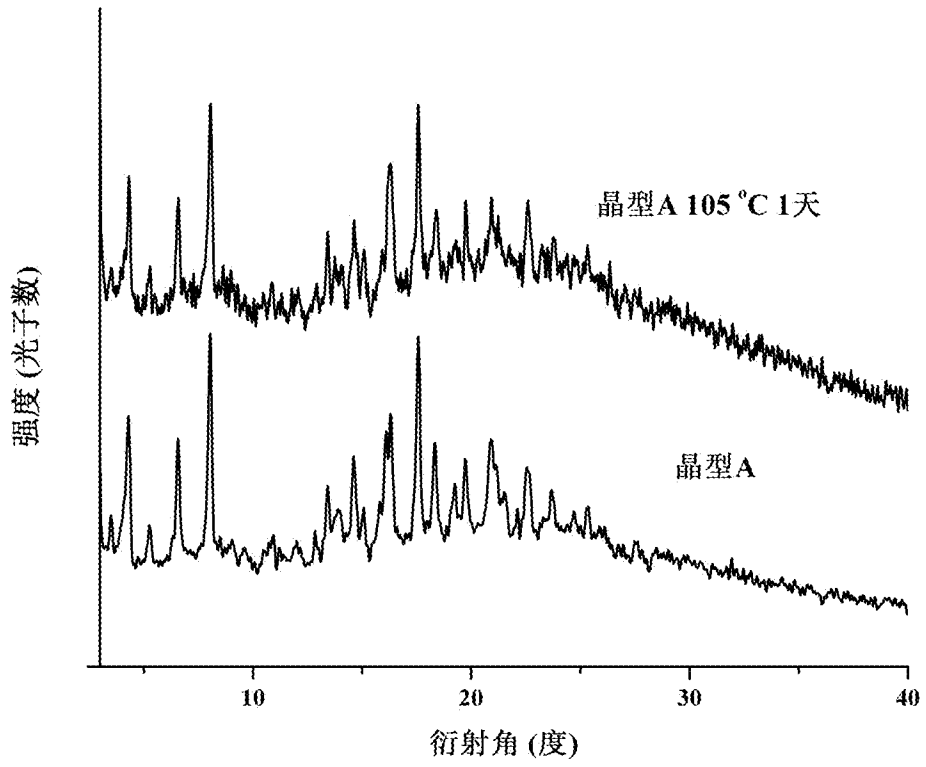


图 7

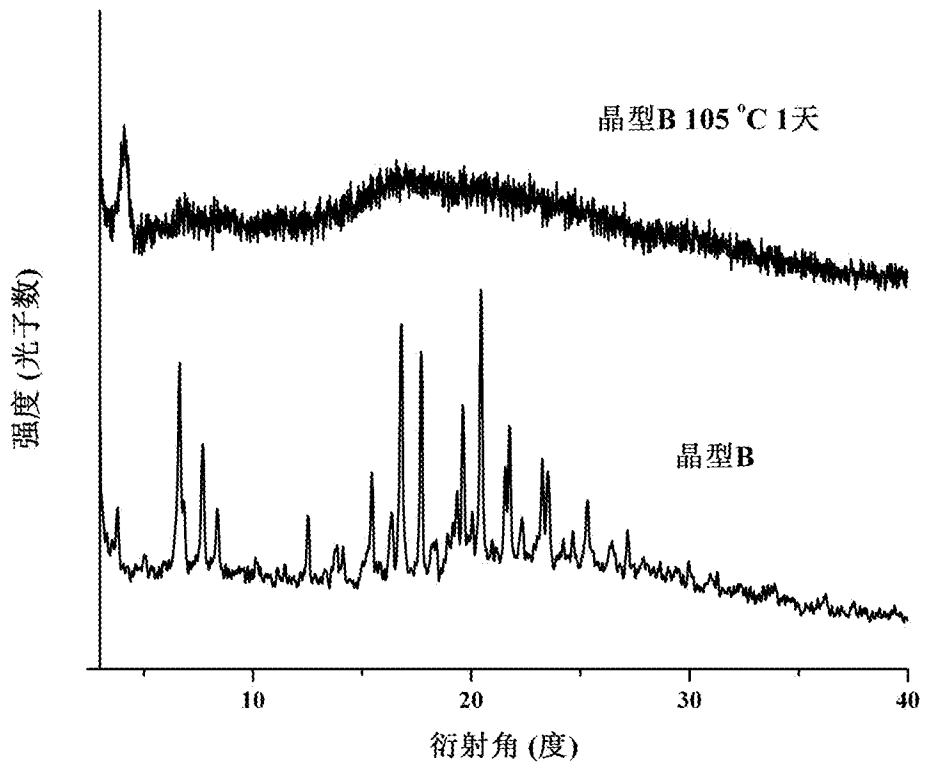


图 8

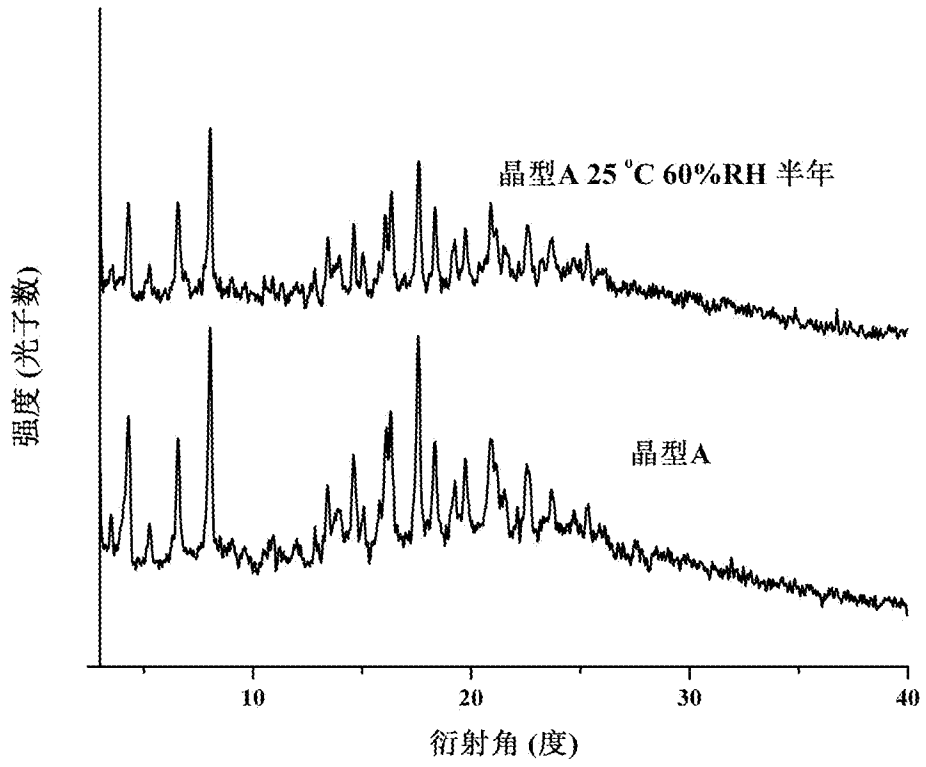


图 9

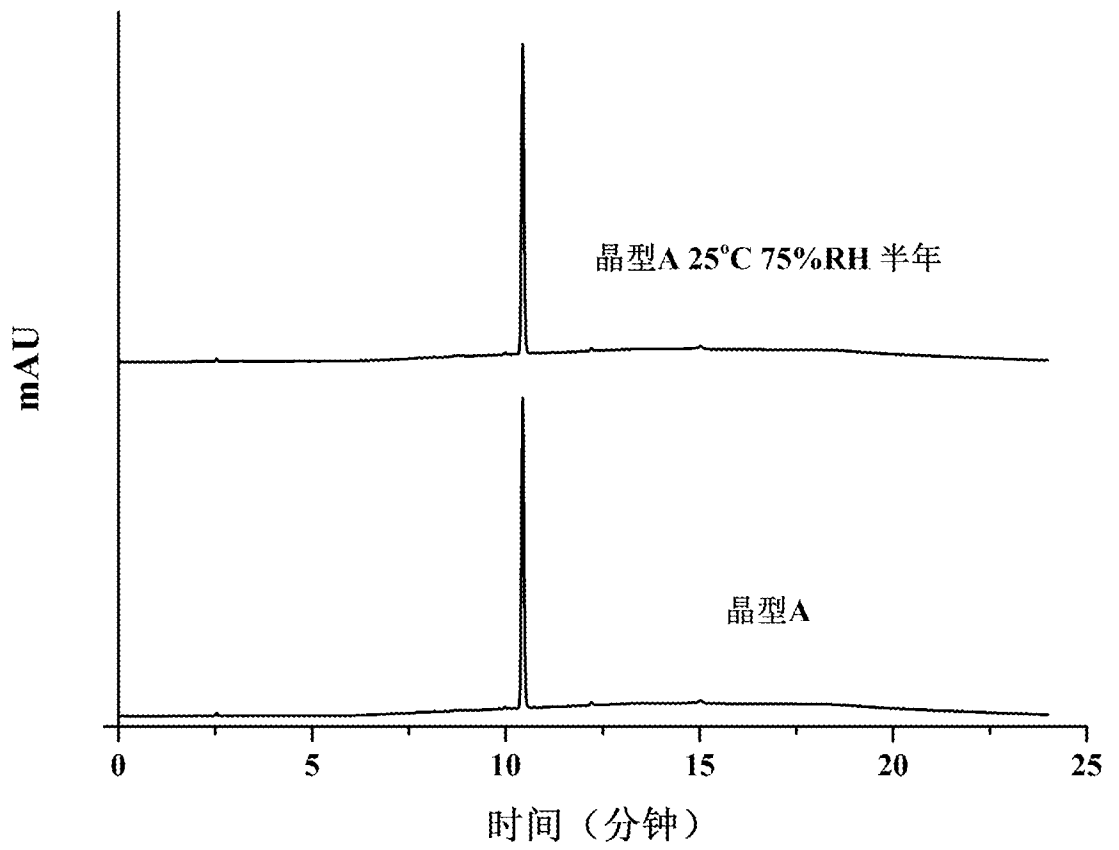


图 10

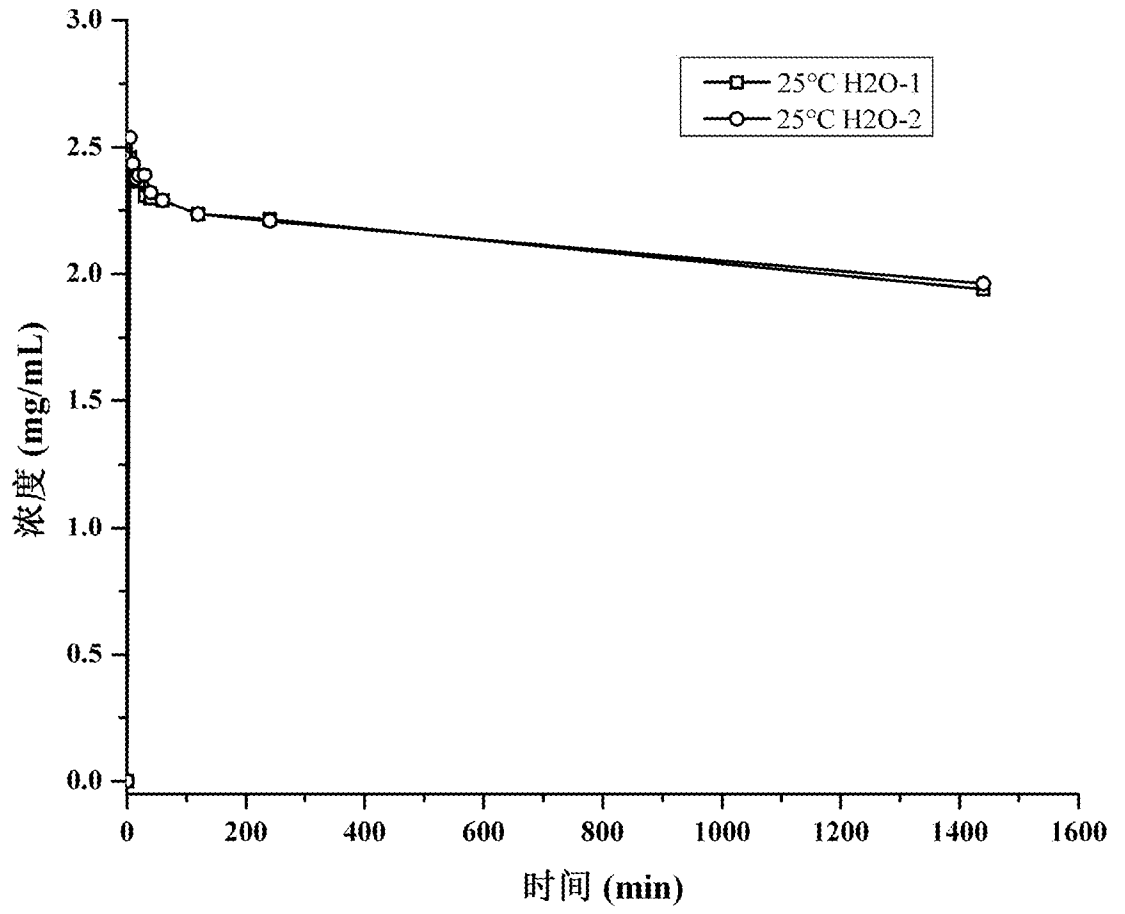


图 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2018/079010

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H 15/256 (2006.01) i; C07H 1/06 (2006.01) i; A23L 33/125 (2016.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 15/-, C07H 1/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNABS, CNTXT, SIPOABS, DWPI, CA, REGISTRY, CAPLUS, 甜菊糖, 莱鲍迪苷, 莱鲍迪甙, 瑞鲍迪苷, 瑞鲍迪甙, 晶, 吡喃葡萄糖, glucopyranosyl, XRPD, 1220616-44-3, Rebaudioside, crystal, structural formula search performed according to claim 1.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 106866757 A (ZHUCHENG HAOTIAN PHARM CO., LTD.), 20 June 2017 (20.06.2017), entire document	1-8
X	CN 103757074 A (ENZYMWORKS, INC.), 30 April 2014 (30.04.2014), claims 1 and 14, embodiment 7, and description, page 1	1-8
X	CN 104151378 A (JINAN HANDING BIOENGINEERING CO., LTD.), 19 November 2014 (19.11.2014), claim 1, embodiments 2-4, and description, page 2	1-3, 7-8
A	US 2015344512 A1 (PURECIRCLE USA INC.), 03 December 2015 (03.12.2015), entire document	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search 30 May 2018	Date of mailing of the international search report 27 June 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer XIE, Jiaye Telephone No. 62089649

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2018/079010

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106866757 A	20 June 2017	None	
CN 103757074 A	30 April 2014	CN 103757074 B	02 December 2015
CN 104151378 A	19 November 2014	US 2017226145 A1	10 August 2017
		WO 2016023103 A1	18 February 2016
US 2015344512 A1	03 December 2015	None	

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/079010

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07H 15/256(2006.01)i; C07H 1/06(2006.01)i; A23L 33/125(2016.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07H 15/-, C07H 1/-</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNKI, CNABS, CNTXT, SIPOABS, DWPI, CA, REGISTRY, CAPLUS, 甜菊糖, 莱鲍迪苷, 莱鲍迪甙, 瑞鲍迪苷, 瑞鲍迪甙, 晶, 吡喃葡萄糖, glucopyranosyl, XRPD, 1220616-44-3, Rebaudioside, crystal, 根据权利要求1进行的结构式检索。</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 106866757 A (诸城市浩天药业有限公司) 2017年 6月 20日 (2017 - 06 - 20) 全文</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 103757074 A (苏州汉酶生物技术有限公司) 2014年 4月 30日 (2014 - 04 - 30) 权利要求1, 14, 实施例7, 说明书第1页</td> <td>1-8</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 104151378 A (济南汉定生物工程有限公司) 2014年 11月 19日 (2014 - 11 - 19) 权利要求1, 实施例2-4, 说明书第2页</td> <td>1-3, 7-8</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2015344512 A1 (PURECIRCLE USA INC) 2015年 12月 3日 (2015 - 12 - 03) 全文</td> <td>1-8</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 106866757 A (诸城市浩天药业有限公司) 2017年 6月 20日 (2017 - 06 - 20) 全文	1-8	X	CN 103757074 A (苏州汉酶生物技术有限公司) 2014年 4月 30日 (2014 - 04 - 30) 权利要求1, 14, 实施例7, 说明书第1页	1-8	X	CN 104151378 A (济南汉定生物工程有限公司) 2014年 11月 19日 (2014 - 11 - 19) 权利要求1, 实施例2-4, 说明书第2页	1-3, 7-8	A	US 2015344512 A1 (PURECIRCLE USA INC) 2015年 12月 3日 (2015 - 12 - 03) 全文	1-8
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
PX	CN 106866757 A (诸城市浩天药业有限公司) 2017年 6月 20日 (2017 - 06 - 20) 全文	1-8															
X	CN 103757074 A (苏州汉酶生物技术有限公司) 2014年 4月 30日 (2014 - 04 - 30) 权利要求1, 14, 实施例7, 说明书第1页	1-8															
X	CN 104151378 A (济南汉定生物工程有限公司) 2014年 11月 19日 (2014 - 11 - 19) 权利要求1, 实施例2-4, 说明书第2页	1-3, 7-8															
A	US 2015344512 A1 (PURECIRCLE USA INC) 2015年 12月 3日 (2015 - 12 - 03) 全文	1-8															
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。															
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>		<p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>															
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2018年 5月 30日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2018年 6月 27日</p>															
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>解佳烨</p> <p>电话号码 62089649</p>															

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/079010

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	106866757	A	2017年 6月 20日	无			
CN	103757074	A	2014年 4月 30日	CN	103757074	B	2015年 12月 2日
CN	104151378	A	2014年 11月 19日	US	2017226145	A1	2017年 8月 10日
				WO	2016023103	A1	2016年 2月 18日
US	2015344512	A1	2015年 12月 3日	无			