

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 645**

51 Int. Cl.:
C07H 13/08 (2006.01)
C07H 15/24 (2006.01)
C07C 62/32 (2006.01)
A23L 1/236 (2006.01)
A23L 2/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08799148 .5**
96 Fecha de presentación: **04.09.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2190854**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.06.2010**

54 Título: **ISÓMEROS DE GLICÓSIDOS DE ESTEVIOL.**

30 Prioridad:
17.09.2007 US 856274

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.03.2012

73 Titular/es:
PEPSICO, INC.
700 ANDERSON HILL ROAD
PURCHASE, NEW YORK 10577, US

72 Inventor/es:
LEE, Thomas

74 Agente: **de Elizaburu Márquez, Alberto**

ES 2 375 645 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Isómeros de glicósidos de esteviol

Campo de la invención

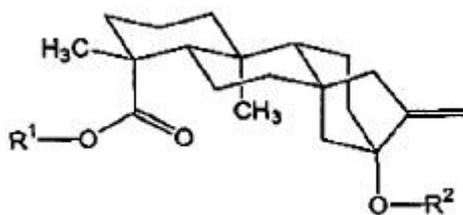
Esta invención se refiere a ciertos isómeros nuevos de glicósidos de esteviol que son adecuados para ser usados como edulcorantes, por ejemplo, mediante la incorporación en productos alimenticios y de bebidas.

La técnica anterior incluye la publicación de M. Kobayashi et al., "Dulcosides A y B, new diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*", *Phytochemistry*, vol. 16, 1977 páginas 1405-1408 y de J.R. Hanson, B.H. de Oliveira: "The microbiological transformation of steviol derivatives by *rhizopus stolonifer* and *gibberella fujikuroi*". *Phytochemistry*, vol. 29, 1990 páginas 3805-3807. El documento US 4404367 describe análogos glucosustituídos de esteviol como edulcorantes.

Antecedentes

Debido a la atención creciente a los efectos negativos para la salud de la obesidad en los Estados Unidos y en todo el mundo, ha aumentado también la demanda del mercado por productos alimenticios y de bebidas que tengan características nutricionales alternativas que incluyan, por ejemplo, un contenido de calorías reducido o nulo. Hay una demanda del mercado para sustituir edulcorantes con elevado contenido de calorías, normalmente usados en productos alimenticios y de bebidas como sacarosa y jarabe de maíz con elevado contenido de fructosa (HFS), con edulcorantes no nutritivos. Por ejemplo, las bebidas de cola dietéticas se ha sugerido que sean edulcoradas con edulcorantes potentes no nutritivos como glicósidos de esteviol (esteviósido, rebaudiósido A, etc).

Los glicósidos de esteviol son compuestos de sabor dulce extraídos de la planta estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Normalmente, estos compuestos se encuentra que incluyen esteviósido (4-13% en peso seco), esteviolbiósido (restos), los rebaudiósidos que incluyen rebaudiósido A (1-6%), rebaudiósido B (restos), rebaudiósido C (1-2%), rebaudiósido D (restos) y rebaudiósido E (restos) y dulcosido A (0,4-0,7%). Muchos glicósidos de esteviol son potentes edulcorantes no nutritivos. Los glicósidos de esteviol comprenden un núcleo de diterpeno (fórmula I) sustituida en R¹ y R² con diversas combinaciones de hidrógeno, glucosa, ramnosa y xilosa.



Fórmula I

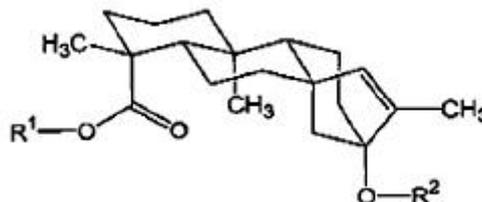
Por ejemplo, R¹ puede ser 1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² puede ser hidrógeno, 1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo. El rebaudiósido A (en el que R¹ = 1-β-D-glucopiranosilo y R² = 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo) tiene un dulzor de aproximadamente 200 a 300 veces el dulzor de la sacarosa. La industria alimenticia se ha mostrado interesada en glicósidos de esteviol en la búsqueda de edulcorantes alternativos. Sin embargo, la simple sustitución de edulcorantes nutritivos con potentes edulcorantes no nutritivos conocidos encuentra problemas de gustos extraños, por ejemplo, una aparición lenta o un gusto posterior amargo, de regaliz o persistente. Estos gustos extraños surgen también cuando se usan glicósidos de esteviol como edulcorantes no nutritivos en productos alimenticios y de bebidas. Por tanto, hay una necesidad de edulcorantes no nutritivos adicionales.

Por lo tanto, es un objeto de al menos ciertas realizaciones de la presente invención proporcionar compuestos que sean útiles como edulcorantes. Es un objeto de al menos ciertas realizaciones de la invención proporcionar productos de bebidas o producto alimenticios que tengan características nutricionales alternativas y propiedades de gusto. Estos y otros objetos, características y ventajas de la invención o de ciertas realizaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción y la exposición de ejemplos de realizaciones.

Breve sumario de la invención

Se ha descubierto ahora un grupo de nuevos isómeros de glicósidos de esteviol. En estos isómeros, el enlace doble

exo-cíclico de fórmula I ha sido desplazado a una posición endo-cíclica en el anillo de cinco miembros (véase la fórmula II). Estos compuestos son útiles como edulcorantes y pueden ser incluidos como tales en productos alimenticios y de bebidas. De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto que tiene la fórmula II



5

Fórmula II

En la que R¹ puede ser 1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² puede ser hidrógeno, 1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-xilopiranosil-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo. En ciertos ejemplos de realizaciones, el compuesto de fórmula II puede ser aislado y purificado. Como se usa en la presente memoria descriptiva, "aislado y purificado" significa que la pureza del isómero de glucósido de esteviol es de al menos 90%.

10

De acuerdo con otros aspectos, se proporciona un producto de bebida que comprende un líquido acuoso y un compuesto de fórmula II.

De acuerdo con otros aspectos, se proporciona un producto alimenticio que comprende un componente alimenticio y un compuesto de fórmula II.

15

De acuerdo con otro aspecto de la invención, se proporciona un edulcorante que comprende un compuesto de fórmula II.

De acuerdo con otro aspecto, se proporciona un método para preparar compuestos de fórmula II, que comprende las etapas de proporcionar una solución acuosa ácida que comprende un compuesto de fórmula I y calentar la solución acuosa ácida a una temperatura en el intervalo de 30°C a 90°C durante un período de tiempo de más de dos días. En ciertos ejemplos de realizaciones, una solución acuosa ácida que comprende rebaudiósido A es calentada a una temperatura en el intervalo de 40°C a 50°C a un pH en el intervalo de pH 1,0-4,0 durante un período de más de dos días.

20

25 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es un espectro RMN protónico de rebaudiósido A.

La Figura 2 es un espectro RMN protónico de iso-rebaudiósido A.

La Figura 3 es una superposición de los espectros de las Figuras 1 y 2.

La Figura 4 es un espectro de masas ESI de rebaudiósido A.

30 La Figura 5 es un espectro de masas ESI de iso-rebaudiósido A.

La Figura 6 es un cromatograma HPS de una mezcla de reacción de 10 semanas que contiene rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A.

La Figura 7 es un espectro de masas del pico de iso-rebaudiósido A de la Figura 6.

La Figura 8 es un cromatograma HPLC de rebaudiósido A.

35 La Figura 9 es un cromatograma HPLC de iso-rebaudiósido A.

La Figura 10 es un espectro de masas ESI del pico de rebaudiósido A de la Figura 8.

La Figura 11 es un espectro de masas ESI del pico de iso-rebaudiósido A de la Figura 9.

La Figura 12 es un cromatograma HPLC de una mezcla de reacción de 10 semanas enriquecida con iso-rebaudiósido A aislado.

La Figura 13 es un espectro de masas del pico de iso-rebaudiósido A de la Figura 12.

La Figura 14 es una estructura cristalina de rayos X de iso-rebaudiósido A.

La Figura 15 es una estructura cristalina de rayos X de rebaudiósido A.

La Figura 16 es una comparación de las estructuras de rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A.

- 5 Las Figuras 17 y 18 muestran la dependencia del pH de la velocidad de síntesis de iso-rebaudiósido A (comp X) a partir de rebaudiósido A (Reb A).

La Figura 19 muestra la dependencia de la temperatura de la velocidad de síntesis de iso-rebaudiósido A (comp X) a partir de rebaudiósido A (Reb A).

La Figura 20 es un espectro RMN protónico de rebaudiósido B.

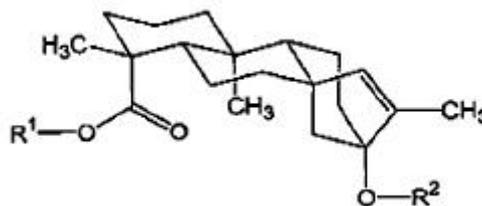
- 10 La Figura 21 es un espectro RMN protónico de iso-rebaudiósido B.

La Figura 22 es una superposición de los espectros de las Figuras 20 y 21.

La Figura 23 es una superposición de los cromatogramas HPLC de rebaudiósido B, iso-rebaudiósido B y una mezcla 1:1 de los dos compuestos.

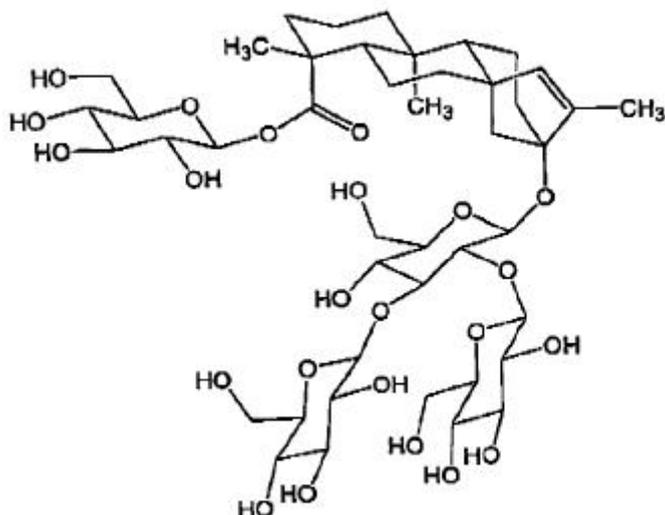
Descripción detallada de ciertos ejemplos de realizaciones

- 15 En ciertos ejemplos de realizaciones, los isómeros de glicósidos de esteviol de la presente invención pueden ser definidos mediante la fórmula general II:



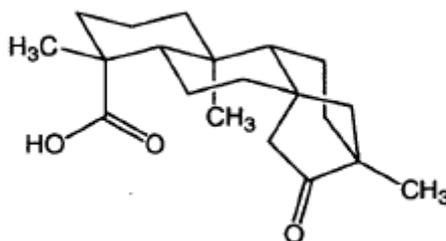
Fórmula II

- 20 En la que R¹ puede ser 1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² puede ser hidrógeno, 1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo. Ciertos ejemplos de realizaciones comprenden compuestos de fórmula II en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido A), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-esteviósido), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 1-β-D-glucopiranosilo (iso-rubusósido), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 1-β-D-glucopiranosilo (iso-rubusósido), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-dulcósido A), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-Ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranososa (iso-rebaudiósido C), R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido D), R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil) 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido E), R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido F), o R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es hidrógeno (éster glucosílico de iso-estevioli II). Un ejemplo de realización comprende el compuesto de fórmula II en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo. Este compuesto tiene la estructura mostrada en la fórmula II siguiente. En lo sucesivo, este compuesto se denomina iso-rebaudiósido A.
- 25
- 30
- 35



Fórmula III

En ciertos ejemplos de realizaciones, los isómeros de glicósidos de esteviol descritos en la presente memoria descriptiva pueden ser preparados calentando rebaudiósido A en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo más de dos días, como de dos días a aproximadamente 11 semanas para producir iso-rebaudiósido A (fórmula II). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido A es convertido en iso-rebaudiósido A. Un informe de la bibliografía sugiere que bajo condiciones ácidas (pH 2,4 a 2,6) el esteviósido o rebaudiósido A son bastante estables a 60°C, pero experimentan cambios drásticos a 100°C, conduciendo a subproductos de hidrólisis como glucosa, esteviolbósido (de esteviósido), rebaudiósido B (de rebaudiósido A) y compuestos desconocidos que tienen valores de R^1 de TLC o t_R de HPLC muy apartados de esteviósido o rebaudiósido A. Cuando el esteviósido fue sometido a temperaturas elevadas, se formó también isoesteviol (fórmula IV). (S.S. Chang and J. M. Cook, *J. Agric. Food Chem.*, 31, 409-412 (1983)).

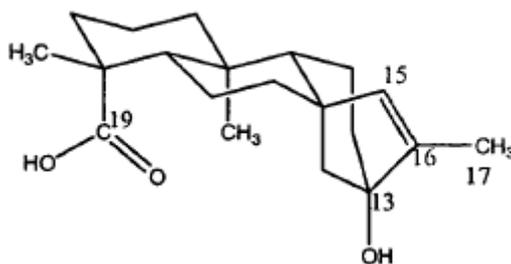


Fórmula IV

Otros informes de la bibliografía han indicado que la hidrólisis catalizada por ácidos de esteviósido produce isoesteviol (M. Bridel and R. Lavielle, *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 14, 321 -328, y 369 -379 (1931), y J.R. Hanson and R.H. Oliverira, *Natural Product Reports*, 10, 301-309 (1993)). El isoesteviol se ha mostrado también que es un producto de reagrupación de Wagner-Meerwein que incluye la inversión del anillo D de esteviol (fórmula I en la que R^1 y R^2 son cada uno hidrógeno). Por tanto, las explicaciones de la bibliografía sugieren que los glicósidos de esteviol, por ejemplo, rebaudiósido A, experimentarían cada uno una isomerización catalizada por ácidos, hasta un producto resultante que tiene análogamente isoesteviol como el resto de aglicón.

Pero sorprendentemente, se ha encontrado ahora que el tratamiento con ácido y calor de glicósidos de esteviol, por ejemplo, rebaudiósido A, según la presente invención produce isómeros de glicósidos de esteviol de fórmula II, por ejemplo, iso-rebaudiósido A (fórmula III), que tienen un resto de aglicón que no es esteviol ni isoesteviol, sino un nuevo resto de aglicón que tiene un enlace doble desplazado en comparación con esteviol. El resto de aglicón inesperado del nuevo compuesto se denomina en lo sucesivo, iso-esteviol II (véase la fórmula II). Cuando R^1 y R^2 en

la fórmula II son cada uno hidrógeno, el compuesto se denomina iso-esteviol II (fórmula V).



Fórmula V

5 En ciertos ejemplos de realizaciones, los isómeros de glicósidos de esteviol descritos en la presente memoria descriptiva pueden ser hidrolizados para separar unidades de glucosa, ramnosa y/o unidades de xilosa. Por tanto, los isómeros de glicósidos de esteviol, por ejemplo, iso-rebaudiósido A-F, iso-esteviósido, iso-dulcósido, etc, pueden ser hidrolizados tras un tratamiento adicional con calor y ácido en forma de otros diversos isómeros de glicósidos de esteviol, por ejemplo, iso-esteviósido, iso-rebaudiósido B, iso-esteviolbiósido, iso-rubosósido, iso-esteviolmonósido, éster glucosílico de iso-esteviol II, etc. Por tanto, como un ejemplo no limitativo, el rebaudiósido A puede ser isomerizado mediante tratamiento con calor y ácido hasta iso-rebaudiósido A como un intermedio, que puede ser seguidamente hidrolizado hasta iso-rebaudiósido B.

10 En ciertos ejemplos de realizaciones, los materiales de partida de glicósidos de esteviol pueden ser hidrolizados en primer lugar para separar una o más unidades de glucosa, ramnosa y/o xilosa y seguidamente ser hidrolizados hasta isómeros de glicósidos de esteviol. Como un ejemplo no limitativo, el rebaudiósido A puede ser hidrolizado mediante tratamiento con calor y ácido hasta rebaudiósido B como un intermedio, que puede ser seguidamente isomerizado hasta iso-rebaudiósido B. En ciertos ejemplos de realizaciones, una solución acuosa ácida que tiene un pH en el intervalo de pH de 1,0-4,0 (por ejemplo, en el intervalo de pH 2,0-2,5) y que comprende rebaudiósido A (es decir, el compuesto de fórmula I en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo es calentado a una temperatura en el intervalo de 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como de dos días a aproximadamente 11 semanas) para producir iso-rebaudiósido B (es decir, el compuesto de fórmula II en la que R¹ es hidrógeno y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo. En un ejemplo de realización, bajo las condiciones anteriores, el rebaudiósido A es convertido en primer lugar en iso-rebaudiósido A, que es seguidamente convertido en iso-rebaudiósido B. En otro ejemplo de realización, bajo las condiciones anteriores, el rebaudiósido A es convertido en rebaudiósido B, que es seguidamente convertido en iso-rebaudiósido B. En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido A es convertido en iso-rebaudiósido B.

15 En otros ejemplos de realizaciones, cada uno de los isómeros de glicósidos de esteviol descritos en la presente memoria descriptiva puede ser preparado tratando un glucósido de esteviol adecuado, por ejemplo, el correspondiente glucósido de esteviol, con ácido y calor según el método de la invención. Específicamente, el esteviósido puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-esteviósido). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de esteviósido es convertido en iso-esteviósido. Análogamente, el rebaudiósido B puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C, por ejemplo 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5, durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R¹ es hidrógeno y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido B). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido B es convertido en iso-rebaudiósido B. El esteviolbiósido puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas

(por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5, durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es hidrógeno y R^2 es 2-(1- β -D)-1- β -D-glucopiranosilo (iso-esteviolbiósido). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de esteviolbiósido es convertido en esteviolbiósido. El rubusósido puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5), durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 1- β -D-glucopiranosilo (iso-rubusósido). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rubusósido es convertido en iso-rubusósido. El esteviolmonósido puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es hidrógeno y R^2 es 1- β -D-glucopiranosilo (iso-esteviolmonósido). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de esteviolmonósido es convertido en iso-esteviolmonósido. El éster de glucosa de esteviol (fórmula en la que R^1 es 1- β -D y R^2 es hidrógeno) puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 1- β -D y R^2 es hidrógeno (éster glucosílico de iso-esteviol II). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de éster de glucosa de esteviol es convertido en éster glucosílico de iso-esteviol II. El dulcósido A puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo (iso-dulcósido A). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de dulcósido A es convertido en iso-dulcósido A. El rebaudiósido C puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-3-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido C). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido C es convertido en iso-rebaudiósido C. El rebaudiósido D puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2,3-bis(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido D). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido D es convertido en iso-rebaudiósido D. El rebaudiósido E puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir un compuesto de fórmula II en la que R^1 es 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido E). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo, al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso)

del material de partida de rebaudiósido E es convertido en iso-rebaudiósido E. El rebaudiósido F puede ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo 43°C, 65°C, 75°C, 85°C o en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas para producir un compuesto de fórmula II en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo (iso-rebaudiósido F). En ciertos ejemplos de realizaciones, al menos un 1,0% en peso (por ejemplo al menos 5%, al menos 10%, al menos 25%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 75% o al menos 90% en peso) del material de partida de rebaudiósido F es convertido en iso-rebaudiósido F. Pueden ser empleados otros métodos de síntesis, por ejemplo isomerización enzimática. Los isómeros de glicósidos de esteviol pueden ser aislados y purificados, por ejemplo, mediante cromatografía, recristalización, etc.

Ejemplos de ácidos adecuados para ser usados en la preparación de isómeros de glicósidos de esteviol bajo condiciones fuertemente ácidas incluyen ácidos inorgánicos como ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, etc. y/o ácidos orgánicos como ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido ascórbico, etc. Se incluyen 1 o más ácidos y, opcionalmente la sal del ácido correspondiente (por ejemplo ácido cítrico y citrato) en la mezcla de reacción en una cantidad suficiente para hacer la mezcla de reacción fuertemente ácida (por ejemplo, para conseguir un valor del pH en el intervalo de aproximadamente pH 1,0-4,0, como aproximadamente pH 2,0-2,5). Puede ser empleada también una isomerización enzimática.

Los glicósidos de esteviol de fórmula I, aisladamente o como una mezcla pueden tener un número adicional de unidades de β-D-glucopiranosilo covalentemente unidas 4→1 a unidades existentes de β-D-glucopiranosilo en R¹ y R² a través de reacciones de transglucosilación enzimática con almidón, produciendo una mezcla compleja de productos. (Véase Kazuhiro Ohtani and Kazuo Yamasaki, Capítulo 7, "Method to improve the taste of the sweet principles of Stevia rebaudiana", pág. 145 en el libro titulado "Stevia, The genus Stevia", editado por A. Douglas Kinghorn, Taylor & Francis, 2002). Estos extractos de estevia modificados con enzimas están disponibles en el comercio para ser usados como edulcorantes en productos alimenticios y de bebidas. Los isómeros de glicósidos de esteviol de fórmula II pueden ser sometidos al mismo tipo de reacciones de transglucosilación enzimática, produciendo una mezcla compleja de productos que son útiles como edulcorantes para productos alimenticios y de bebidas. Está también contemplado que el producto de una transglucosilación enzimática de glicósido de esteviol de fórmula I pueda ser calentado en solución acuosa a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30°C a aproximadamente 90°C (por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 40°C a aproximadamente 50°C, como 43°C) bajo condiciones fuertemente ácidas (por ejemplo, aproximadamente pH 1,0-4,0; como aproximadamente pH 2,0-2,5) durante un período de tiempo suficiente (por ejemplo, más de dos días, como desde dos días hasta aproximadamente 11 semanas) para producir una mezcla compleja de productos que tiene el resto aglicón de fórmula II. Estos productos de isomerización pueden ser útiles también como edulcorantes en productos alimenticios y de bebidas.

En ciertos ejemplos de realizaciones, pueden ser usados isómeros de glicósidos de esteviol que comprenden al menos un compuesto de fórmula II como un potente edulcorante no nutritivo. Los edulcorantes son productos consumibles comestibles adecuados para el consumo y para ser usados en alimentos y bebidas. Como se usa en la presente memoria descriptiva "productos consumibles comestibles" significa un alimento o bebida o un ingrediente para un alimento o bebida para un consumo humano o de animales. Como se usa en la presente memoria descriptiva, un "edulcorante no nutritivo" es uno que no proporciona un contenido calórico significativo en cantidades de uso normales, por ejemplo, uno que confiera menos de 5 calorías por 226,8 gramos que sirva para que la bebida consiga un dulzor equivalente a 10 Brix de azúcar. Como se usa en la presente memoria descriptiva, un "edulcorante potente" significa un edulcorante que es al menos el doble de dulce que el azúcar (sacarosa), es decir, un edulcorante que sobre una base en peso no necesite más de la mitad del peso de azúcar para conseguir un dulzor equivalente. Por ejemplo, un edulcorante potente puede requerir menos de la mitad del peso de azúcar para conseguir un dulzor equivalente en una bebida edulcorada hasta un nivel de 10° Brix con azúcar.

En ciertos ejemplos de realizaciones, un edulcorante puede comprender al menos un compuesto de fórmula II y, opcionalmente, un material de carga, un agente de relleno como dextrosa, maltodextrina, eritritol, tagatosa, o una combinación de eritritol y tagatosa, polidextrosa y/o un agente antiapelmazante.

En ciertos ejemplos de realizaciones, uno o más de los isómeros de glicósidos de esteviol descritos en la presente memoria descriptiva pueden estar presentes como un edulcorante no nutritivo en un producto de bebida. En ciertos ejemplos de realizaciones, el producto de bebida incluye una cantidad edulcorante de iso-rebaudiósido A (es decir, el compuesto de fórmula II en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo). En ciertos ejemplos de realizaciones, el producto de bebida incluye al menos 0,005% en peso (por ejemplo, al menos 0,01%, al menos 0,02%, al menos 0,03% en peso) de iso-rebaudiósido A. En ciertos ejemplos de realizaciones, el producto de bebida incluye una cantidad edulcorante de iso-rebaudiósido B (es decir, el compuesto de fórmula II en la que R¹ es hidrógeno y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo). En ciertos ejemplos de realizaciones, el producto de bebida incluye al menos 0,005% en peso (por ejemplo, al menos 0,01%, al

menos 0,02%, al menos 0,03% en peso) de iso-rebaudiósido B.

Ejemplos de productos de bebidas incluyen un líquido acuoso y un compuesto de fórmula II e incluye bebidas como, por ejemplo, formulaciones líquidas listas para beber, concentrados de bebidas y similares. Las bebidas incluyen, por ejemplo, bebidas no alcohólicas carbonatadas y no carbonatadas, bebidas refrescantes, bebidas congeladas listas para beber, bebidas congeladas carbonatadas, concentrados líquidos, concentrados en polvo, bebidas de café, bebidas de té, bebidas de productos lácteos, bebidas aromatizadas, aguas minerales, zumos de frutas, bebidas aromáticas con zumos de frutas, bebidas con sabores de frutas, bebidas para deportistas, bebidas de soja, bebidas de verduras, bebidas basadas en cereales (por ejemplo, bebidas de malta), bebidas fermentadas (por ejemplo, yogurt y kéfir), bebidas alcohólicas y mezclas de cualesquiera de ellas. Ejemplos de fuentes de zumos de frutas incluyen frutas cítricas, por ejemplo, naranja, uvas, limón y lima, bayas, por ejemplo, arándano encarnado, frambuesa, arándano americano y fresa, manzana, uvas, piña, ciruela, pera, melocotón, cereza, mango y granada. Los productos de bebidas incluyen productos en botella, bote y cartón y aplicaciones de jarabes para refrescos.

Los términos “concentrado para bebidas” y “jarabe” se usan de forma intercambiable en toda esta descripción. Al menos ciertos ejemplos de realizaciones de los concentrados de bebidas contemplados se preparan con un volumen inicial de agua al que se añaden los ingredientes adicionales. Se pueden formar composiciones para bebidas de concentración completa a partir del concentrado de bebida añadiendo volúmenes adicionales de agua al concentrado. Normalmente, por ejemplo, se pueden preparar bebidas de concentración completa a partir de los concentrados combinando aproximadamente 1 parte de concentrado con entre aproximadamente 3 y aproximadamente 7 partes de agua. En ciertos ejemplos de realizaciones, la bebida de concentración completa se prepara combinando 1 parte de concentrado con 5 partes de agua. En ciertos ejemplos de realizaciones, el agua adicional usada para formar las bebidas de concentración completa es agua carbonatada. En otras ciertas realizaciones, se prepara directamente una bebida de concentración completa sin la formación de un concentrado y posterior elución.

En ciertos ejemplos de realizaciones, uno o más de los isómeros de glicósidos de esteviol descritos en la presente memoria descriptiva puede estar presente como un edulcorante no nutritivo en un producto alimenticio. Los productos alimenticios comprenden al menos un componente alimenticio, es decir, cualquier material comestible adecuado para consumo humano o de animales, tanto si es como si no es completa o parcialmente digestibles. Ejemplos no limitativos de componentes alimenticios incluyen proteínas, hidratos de carbono, grasas, vitaminas, minerales, etc. Los productos alimenticios que comprenden un compuesto de fórmula II descrita en la presente memoria descriptiva incluyen, por ejemplo harina de avena, cereal, artículos cocidos (por ejemplo, bizcochos, galletas, tartas, chocolatinas, panes, etc.), productos de aperitivos (por ejemplo, patatas fritas, tortilla de patatas, palomitas de maíz, barritas de aperitivos, tartas de arroz, etc.) y otros productos alimenticios basados en cereales. Todas las variaciones, alternativas, opciones, etc., expuestas en cualquier otro lugar en esta descripción son aplicables a las realizaciones alimenticias de la invención.

Debe entenderse que los productos alimenticios o de bebidas de acuerdo con esta descripción pueden tener cualquiera de las numerosas formulaciones o constituciones específicas diferentes. La formulación del producto alimenticio o de bebida de acuerdo con esta descripción puede variar en cierta medida, dependiendo de factores como el segmento del mercado previsto para el producto, sus características nutricionales deseadas, perfil de gusto y similares. Por ejemplo, generalmente será una opción añadir ingredientes adicionales a la formulación de una realización particular de alimento o bebida, que incluyen cualesquiera de las formulaciones de alimentos o bebidas descritos en la presente memoria descriptiva. Pueden ser añadidos edulcorantes adicionales (es decir, más y/o otros). Los acidulantes, aromas, colorantes, electrolitos, minerales, complementos nutricionales no minerales, zumos de frutas y otros productos de frutas, agentes para dar sabor, agentes para enmascarar sabores y similares, potenciadores del sabor, agentes tamponantes, espesantes, emulsionantes, productos en forma de partículas comestibles, agentes antiespumantes, conservantes, agentes de carbonatación y sus mezclas pueden ser añadidos normalmente a cualesquiera formulaciones para variar el gusto, textura para el paladar, características nutricionales, funcionalidad, etc. del producto alimenticio o de bebida. Los ejemplos de ingredientes complementarios nutricionales no minerales son conocidos por un experto en la técnica e incluyen, por ejemplo antioxidantes y vitaminas que incluyen las vitaminas A, D, E (tocoferol), C (ácido ascórbico) B (tiamina), B₂ (riboflavina), B₆, B₁₂ y K, niacina, ácido fólico, biotina y sus combinaciones. Los complementos nutricionales no minerales opcionales están presentes normalmente en cantidades generalmente aceptadas bajo las prácticas de fabricación de artículos. Ejemplos de cantidades son entre aproximadamente 1% y aproximadamente 100% RDV (valor diario recomendado), cuando este RDV esté establecido. En ciertos ejemplos de realizaciones, el (o los) ingrediente(s) complementario(s) nutricional(es) no mineral(es) está(n) presente(s) en una cantidad de aproximadamente 5% a aproximadamente 20% de RDV, cuando esté establecido. Los ingredientes adecuados adicionales y alternativos serán reconocidos por los expertos en la técnica considerando el aprovechamiento de esta descripción.

Ciertos ejemplos de realizaciones de bebidas carbonatadas descritas en la presente memoria descriptiva son bebidas carbonatadas con sabor de cola, que comprenden de forma característica agua carbonatada, un compuesto de fórmula II, extracto de nuez de cola y/o otros sabores de cola, colorante de caramelo, un acidulante (por ejemplo, ácido fosfórico) y opcionalmente otros ingredientes como otros colorantes. Otros ciertos ejemplos de realizaciones

de bebidas carbonatadas descritas en la presente memoria descriptiva son bebidas carbonatadas con sabores cítricos (por ejemplo limón-lima, uva, limón, lima, etc.), que comprenden de forma característica agua carbonatada, un compuesto de fórmula II, aroma cítrico, un acidulante (por ejemplo, ácido cítrico) y opcionalmente otros ingredientes como agentes colorantes y/o otros edulcorantes. En ciertos ejemplos de realizaciones, se proporciona un concentrado de bebida que comprende agua, un compuesto de fórmula II, sabor de cola, colorante de caramelo, un acidulante (por ejemplo, ácido fosfórico) y opcionalmente otros ingredientes como otros edulcorantes. En ciertos ejemplos de realizaciones, se proporciona un concentrado de bebida que comprende agua, un compuesto de fórmula II, sabor cítrico, un acidulante (por ejemplo, ácido cítrico) y opcionalmente otros ingredientes como agentes colorantes y/o otros edulcorantes.

En al menos ciertos ejemplos de realización de los productos alimenticios y de bebidas descritos en la presente memoria descriptiva, pueden ser incluidos otros edulcorantes adicionales, por ejemplo, edulcorantes nutritivos o edulcorantes no nutritivos. Ejemplos no limitativos de edulcorantes nutritivos incluyen sacarosa, sacarosa líquida, fructosa, fructosa líquida, glucosa, glucosa líquida, jarabe de glucosa-fructosa de fuentes naturales como manzana, achicoria, agave, miel, etc., por ejemplo, jarabe de maíz con elevado contenido de fructosa, jarabe de achicoria, jarabe de agave, azúcar invertido, azúcar invertido medio, jarabe de arce, azúcar de arce, miel, melazas de azúcar marrón, etc., melazas de caña de azúcar y melazas de azúcar de remolacha, jarabe de sorgo y mezclas de cualesquiera de ellos. Estos edulcorantes están presentes en al menos ciertos ejemplos de realizaciones en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20% en peso del producto alimenticio o de bebida acabado, como desde aproximadamente 6% hasta aproximadamente 16% en peso, dependiendo del nivel deseado de dulzor para el producto alimenticio o de bebida acabado. Los edulcorantes nutritivos pueden estar presentes en realizaciones de concentrados de bebidas hasta aproximadamente 60% en peso del concentrado de bebida.

Ejemplos no limitativos de potentes edulcorantes naturales no nutritivos que pueden ser incluidos en productos alimenticios y de bebidas incluyen rebaudiósido A, esteviósido, otros glicósidos de esteviol, extractos de Stevia rebaudiana, Lo Han Guo (LHG), por ejemplo, concentrado de jugo de LHG o polvo de LHG, taumatina, monolina, brazeína, monatina, y mezclas de cualesquiera de ellos. El LHG, si se usa, puede tener, por ejemplo, un contenido de mogrósido V de aproximadamente 2 a aproximadamente 99%. En ciertos ejemplos de realizaciones, se proporciona un producto alimenticio o de bebida que comprende una mezcla de un compuesto de fórmula II y LHG que tiene un contenido de mogrósido V de al menos 30%. En ciertos ejemplos de realizaciones, el LHG en la mezcla tiene un contenido de mogrósido V de aproximadamente 45%, más o menos 5%. En cierto ejemplo de realización, una mezcla que comprende LHG y un compuesto de fórmula II proporciona al menos un 10% del dulzor en un producto alimenticio o de bebida. En ciertos ejemplos de realizaciones, la mezcla proporciona aproximadamente 1/3 a aproximadamente 2/3 del dulzor. Otros ejemplos de edulcorantes no nutritivos incluyen sorbitol, manitol, xilitol, glicirricina, maltitol, maldosa, lactosa, xilosa, arabinosa, isomalta, lactitol, trehalulosa, ribosa, fruto-oligosacáridos y mezclas de cualesquiera de ellos. Opcionalmente, el componente de edulcorante puede incluir eritritol, tagatosa y una combinación de eritritol y tagatosa o povidexrosa. En ciertos ejemplos de realizaciones, se proporciona un producto alimenticio o de bebida que comprende un compuesto de fórmula II en eritritol, tagatosa o una combinación de eritritol y tagatosa.

Ejemplos no limitativos de edulcorantes artificiales no nutritivos que pueden ser incluidos en productos alimenticios y de bebidas incluyen edulcorantes basados en péptidos, por ejemplo, aspartamo, neotamo y alitamo y edulcorantes basados en productos no péptidos, por ejemplo, sacarina de sodio, sacarina de calcio, acesulfamo (que incluye, pero sin limitación acesulfamo de potasio), ciclamato (que incluye, pero sin limitación ciclamato de sodio y/o ciclamato de calcio), dihidrocalcona de neohesperidina, sacralosa y mezclas de cualesquiera de ellos. Los edulcorantes no nutritivos potentes son empleados normalmente a un nivel de miligramos por 28,35 gramos de alimento o bebida según su poder edulcorante, cualesquiera previsiones reguladoras aplicables del país en el que va a ser comercializado el alimento o bebida, el nivel deseado de dulzor del alimento o bebida, etc. Se incluyen mezclas de cualesquiera de los edulcorantes nutritivos y no nutritivos anteriores en el alcance de la invención descrita. Estar adentro de la capacidad de los expertos en la técnica, aprovechando la ventaja de esta descripción, seleccionar edulcorantes adicionales o alternativos adecuados para ser usados en diversas realizaciones de los productos alimenticios y de bebidas descritos en la presente memoria descriptiva.

Los expertos en la técnica comprenderán que, por motivos de conveniencia, algunos ingredientes se describen en la presente memoria descriptiva en ciertos casos haciendo referencia a la forma original del ingrediente en el que es añadida la formulación del producto de bebida. Esta forma original puede diferir de la forma en la que el ingrediente se encuentra en el producto alimenticio o de bebida acabado. Por tanto, por ejemplo, en ciertos ejemplos de realizaciones de los productos de bebidas de cola de esta descripción, la sacarosa y la sacarosa líquida normalmente se disolverán y dispersarán de forma sustancialmente homogénea en la bebida. Análogamente, otros ingredientes identificados como un sólido, concentrado (por ejemplo, concentrado de jugo), etc. normalmente se dispersarán homogéneamente en todo el producto alimenticio o de bebida, en lugar de permanecer en su forma original. Por tanto, una referencia a la forma de un ingrediente de una formulación de producto alimenticio o de bebida no debe ser considerada como una limitación de la forma del ingrediente en el producto alimenticio o de bebida, sino como un medio conveniente de describir el ingrediente como un componente aislado de la formulación del producto.

En al menos ciertos ejemplos de realizaciones, los productos alimenticios y de bebidas descritas en la presente memoria descriptiva pueden ser conservados mediante pasteurización. El procedimiento de pasteurización puede incluir, por ejemplo, un tratamiento a temperatura ultra-elevada (UHT) y/o un tratamiento de tiempo corto a temperatura elevada (HTST). El tratamiento UHT incluye someter el producto alimenticio o de bebida a temperaturas elevadas, como mediante inyección directa de vapor de agua o infusión de vapor de agua o calentamiento indirecto en un intercambiador de calor. Generalmente, después de que el producto es pasteurizado, el producto puede ser enfriado lo necesario mediante la composición/configuración del producto particular y/o la aplicación de relleno del envase. Por ejemplo, en una realización, el producto alimenticio o de bebida es sometido a un calentamiento a aproximadamente 85°C hasta aproximadamente 121°C durante un período de tiempo corto, por ejemplo, aproximadamente 1 a 60 segundos, seguidamente es rápidamente enfriado a aproximadamente 2,2°C +/- 2,8°C para productos refrigerados, a temperatura ambiente para productos estables o refrigerados en almacenamiento y a aproximadamente 85°C +/- 5,5°C para aplicaciones de relleno en caliente para productos estables en almacenamiento. El procedimiento de pasteurización se realiza normalmente en un sistema cerrado, con el fin de no exponer el producto alimenticio o de bebida a la atmósfera u otras posibles fuentes de contaminación. Pueden ser útiles también otras técnicas de pasteurización o esterilización como, por ejemplo, envasado aséptico, pasteurización de túnel o tratamiento en retorta. Generalmente, los métodos de pasteurización en túnel usan normalmente temperaturas inferiores durante un período de tiempo más largo, por ejemplo, aproximadamente 71°C durante 10-15 minutos y los métodos de retorta normalmente usan, por ejemplo aproximadamente 121°C durante 3-5 minutos a presión elevada, es decir a una presión por encima de 1 atmósfera. Además, los procedimientos de pasteurización múltiples se pueden llevar a cabo en serie o en paralelo, como sea necesario para el producto o ingredientes de alimentos o bebidas.

Los siguientes ejemplos son realizaciones específicas de la presente invención, pero no está previsto que la limiten.

Ejemplo 1

Síntesis de iso-rebaudiósido A: Se disuelve rebaudiósido A (0,5 g) en una solución tamponante de citrato acuoso (aproximadamente pH 2,0) y se calentó durante 10 semanas a aproximadamente 43,3°C. La mezcla de reacción seguidamente se liofilizó y seguidamente se sometió a una columna de gel de sílice (1 x 20 cm) eluyendo con un sistema disolvente de 70% de acetona, 15% de trietilamina y 15% de agua. Se aislaron dos fracciones, de las que la fracción 2 contenía rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A. Después de concentrar, se aislaron aproximadamente 6 mg de aceite de la fracción 2. El aceite se disolvió en D₂O (0,6 ml) y se dejó a temperatura ambiente durante aproximadamente tres días. Se formaron cristales de agujas transparentes incoloras (1-2 mg) y se aislaron para un análisis.

Ejemplo 2

Análisis de iso-rebaudiósido A:

Una pequeña cantidad del producto cristalino del Ejemplo 1 se analizó mediante RMN protónica y se comparó con el espectro del rebaudiósido A parental (D₂O, 400 MHz, ¹H-RMN). Los dos compuestos no eran iguales, lo que mostró que se había formado un nuevo isómero. Las figuras 1 y 2 contienen los espectros RMN protónicos de rebaudiósido A estándar e iso-rebaudiósido A, respectivamente. La Figura 3 muestra una superposición de los dos espectros.

Las muestras de rebaudiósido A estándar y el producto cristalino del ejemplo 1 fueron sometidas a un análisis espectral de masas (modo iónico positivo ESI). Ambos compuestos mostraron el peso molecular esperado para rebaudiósido A de 966,5 amu y modelos similares de fragmentación. Las figuras 4 y 5 muestran los espectros de masas de rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A, respectivamente.

Los análisis se realizaron en una columna analítica de fase inversa C-18 (Alltima 2.1 x 250 mm) a un caudal de 0,250 ml/min con detección a 210 nm y detección por dispersión de luz evaporativa (ELSD). La columna fue previamente equilibrada con agua que contenía 0,1% de ácido trifluoroacético (disolvente A). El disolvente B era acetonitrilo que contenía 0,1% de ácido trifluoroacético. Las condiciones del gradiente fueron:

Tiempo (min)	Disolvente A %	Disolvente B %
0	100	0
3	100	0
35	5	95
40	5	95
41	0	00
50	0	100

El producto del ejemplo 1 fue inyectado en agua (5 μ l) dando lugar a dos picos en una relación de 30:70 que no fueron resueltos en línea de base, eluyendo el pico menor a los 22,523 minutos y eluyendo el pico mayor a los 22,680 minutos. Se realizó un rebaudiósido A estándar en la HPLC bajo las mismas condiciones y se mostró que era el pico que eluía a 22,523 min. El mismo rebaudiósido A estándar fue enriquecido con una pequeña cantidad del producto cristalino del ejemplo 1, y entonces el experimento en la HPLC puso de manifiesto un área del pico proporcionalmente aumentada a 22,680 minutos.

El rebaudiósido A y su isómero fueron resueltos en línea de base inyectando la mezcla de reacción de 10 semanas en bruto del ejemplo 1 en la misma columna de fase inversa C-18, eluyendo con una mezcla isocrática que consistía en acetonitrilo: agua 30:70 con 0,1% de ácido fórmico, a un caudal de 0,25 ml/min. La resolución de línea de base se obtuvo también usando un gradiente de 15 minutos de 95% de agua a acetonitrilo a un caudal de 0,25 ml/min. Bajo estas condiciones, el rebaudiósido A eluyó a aproximadamente 10,9 minutos y el iso-rebaudiósido A eluyó a aproximadamente 12,2 minutos (Figura 6). La detección mediante LC/MS (ESI-MS) exhibió un ion molecular de 989 (M+23, el aducto de ion Na) para el pico de iso-rebaudiósido A a 12,2 minutos (Figura 7). Un rebaudiósido A estándar e iso-rebaudiósido A aislado fueron analizados separadamente mediante LC/MS. El rebaudiósido A estándar eluyó a 11,08 minutos (Figura 8), correspondiente al pico de 10,9 minutos en la Figura 6 y el iso-rebaudiósido A aislado eluyó a 12,1 minutos (Figura 9), correspondiente al pico de 12,2 minutos en la Figura 6. Tanto el producto estándar como el aislado tenían un ion molecular de 989 (Figuras 10 y 11, respectivamente). Una mezcla de reacción de 10 semanas en bruto del ejemplo 1 enriquecida con iso-rebaudiósido A aislado fue analizada mediante LC/MS. El iso-rebaudiósido A añadido eluyó conjuntamente y aumentó el área del pico a 12,2 minutos (Figura 12, compárese con la Figura 6) y el espectro de masas del pico de 12,2 minutos proporcionó todavía un ion molecular de 989 (Figura 13).

Los datos espectrales de RMN, HPLC y de masas confirmaron conjuntamente de forma inequívoca que el nuevo compuesto iso-rebaudiósido A era un derivado químicamente distinto de rebaudiósido A.

Ejemplo 3

Síntesis de iso-rebaudiósido A: Se disolvió rebaudiósido A (5 g) en una solución acuosa de tampón de citrato (pH 2, 100 mM, 200 ml) y se calentó a aproximadamente 75°C. El progreso de la reacción se verificó a través de HPLC y cuando la relación de iso-rebaudiósido A a rebaudiósido A era mayor que 75% (72 horas) la mezcla de reacción se evaporó hasta un sólido cristalino pegajoso. La mezcla de productos se hizo pasar a través de una columna de sílice (10 x 40 cm) eluyendo con acetona: agua:trietilamina (70:15:15) para proporcionar un aceite vítreo (aproximadamente 1,0 g). Un análisis mediante HPLC mostró la presencia de rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A junto con una gran cantidad de material aparentemente hidrolizado correspondiente a la pérdida de uno o más restos de azúcares (por ejemplo, iso-esteviósido, iso-rebaudiósido B, iso-rubusósido, iso-esteviolbiósido, iso-esteviolmonósido, etc.).

El aceite vítreo se disolvió en agua (3 ml) y se separó mediante HPLC semi-preparativa (columna semi-preparativa Alltech Alltima C-18, 10 x 250 nm, caudal de 5 ml/min, composición del disolvente de 30% de acetonitrilo en agua con 0,1% de ácido fórmico). Se hicieron inyecciones repetidas, 15 en total, y se recogió un pico que eluía a 13,7 minutos, las fracciones se recogieron y se concentraron hasta un polvo blanco (23 mg de iso-rebaudiósido A aislado y purificado). El polvo blanco se puso en suspensión en primer lugar en agua (2 ml) y se centrifugó. El sólido residual se disolvió en acetonitrilo caliente (200 μ l) seguido de la adición de agua (200 μ l) y se dejó sedimentar a temperatura ambiente durante 5 días tras lo cual aparecieron lentamente cristales en la forma de grandes agujas. La mezcla se sometió a una cristalografía de rayos X sin perturbar los cristales. Los cristales se separaron de la parte líquida y las dos muestras se secaron separadamente bajo alto vacío durante tres días. Los cristales secos se usaron para obtener datos de cristalografía de rayos X.

Se obtuvo una estructura de cristal de rayos X de iso-rebaudiósido A y se dilucidó la estructura (véase la Figura 14). Para fines de comparación, se obtuvo una estructura de cristal de rayos X para rebaudiósido A estándar y se dilucidó la estructura (Figura 15). Un análisis de cristalografía de rayos X mostró inesperadamente que la estructura tridimensional de iso-rebaudiósido A tiene un enlace doble endocíclico en el anillo de cinco miembros, con un grupo

metilo externo, como se puso de manifiesto por la longitud del enlace más corto entre los átomos de carbono 15 y 16. La estructura cristalina de rebaudiósido A mostró el enlace doble exocíclico esperado, como se puso de manifiesto por la longitud del enlace más corto entre los átomos de carbono 15 y 17. Véase la Figura 16 para una comparación de las longitudes de los enlaces. Por tanto, sorprendentemente, la estructura de iso-rebaudiósido A se mostró que era un producto del desplazamiento de enlaces dobles catalizado por ácidos y no un producto de reagrupación de Wagner-Meerwein, como estaba previsto basado en informes de la bibliografía en los que, bajo condiciones de calor y ácidos, el esteviol se convertía en iso-esteviol.

Ejemplo 4

Se disolvió iso-rebaudiósido A de la muestra de cristalografía de rayos X del ejemplo 3 en agua a una concentración de 1.000 ppm, y se encontró, mediante un conjunto de valoración de cinco personas, que tenía una intensidad del dulzor similar a una solución de sacarosa al 7%; por lo tanto, su potencia de dulzor se estimó que era 70 veces la de la sacarosa.

Ejemplo 5

Se ajustaron seis reacciones bajo condiciones idénticas a las del ejemplo 3 excepto para las temperaturas: las reacciones a 43°C, 65°C, 75°C, 85°C y 90°C fueron ajustadas y seguidas mediante detección de HPLC-MS o UV (210 nm). Se observó que a temperaturas elevadas se producía una hidrólisis extensiva, siendo hidrolizada la mayor parte de rebaudiósido A, separándose uno o más restos de azúcares según se determinó mediante análisis de HPLC-MS a medida que se desarrollaba la reacción.

Ejemplo 6

Se realizaron dos estudios sobre la dependencia del pH de la síntesis de iso-rebaudiósido A (comp. X) a partir de rebaudiósido A (Reb. A). El rebaudiósido A se disolvió a la misma concentración en una serie de soluciones de ácido cítrico, que tenían cada una un pH diferente. Las soluciones se calentaron a 43°C durante 11 semanas. Se realizó un estudio con soluciones a pH 2,0, 4,0 y 7,0. El otro estudio se realizó con soluciones a pH 2,5, 3,0 y 3,5. Los resultados de los dos estudios se muestran en la Figuras 17 y 18, respectivamente, en las que Reb A representa rebaudiósido A y Comp. X represente iso-rebaudiósido A. En la Figura 17, la concentración de iso-rebaudiósido A a pH 2, alcanza un pico en la semana 9 y posteriormente disminuye. La concentración de rebaudiósido A a pH 2 continúa disminuyendo después de la semana 9. Esto indica que el propio iso-rebaudiósido A está siendo degradado/hidrolizado en forma de otros isómeros de glicósidos de esteviol, por ejemplo, iso-rebaudiósido B, etc.

Ejemplo 7

Se realizó un estudio sobre la dependencia de la temperatura de la síntesis de iso-rebaudiósido A (Comp. X) a partir de rebaudiósido A (Reb. A). El rebaudiósido A se disolvió a la misma concentración en una serie de soluciones de ácido cítrico, todas a pH 2,5. Cada una de las soluciones se mantuvo a una temperatura diferente (21°C, 32°C y 43°C) durante 11 semanas. Los resultados del estudio se muestran en la Figura 19.

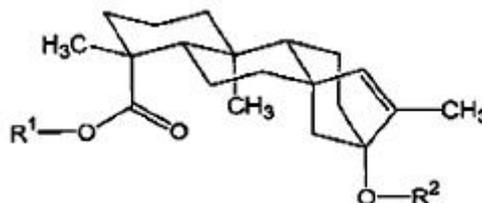
Ejemplo 8

Se sintetizó iso-rebaudiósido B (fórmula VI) y se purificó según el procedimiento expuesto en el ejemplo 3, bajo condiciones de reacción más favorables a la formación de iso-rebaudiósido B. Estas condiciones de reacción incluyen un tiempo de reacción más largo y/o una temperatura de reacción superior a las del ejemplo 3. El iso-rebaudiósido B se purificó mediante HPLC semi-preparativa y el iso-rebaudiósido B purificado se analizó mediante RMN protónica y se comparó con el espectro RMN de una muestra de referencia de rebaudiósido B (D₂O, 400 MHz, ¹H-RMN). Las Figuras 20 y 21 muestran los espectros RMN protónicos de rebaudiósido B estándar e iso-rebaudiósido B, respectivamente, con secciones expandidas para mostrar los detalles. La Figura 22 muestra una superposición de los dos espectros RMN. La Figura 22 muestra dos diferencias fácilmente discernibles entre los dos compuestos. El espectro de iso-rebaudiósido B tiene tres singletes de grupos metilo mientras que el espectro de rebaudiósido B tiene solamente dos. También, en la región de alqueno de aproximadamente 5,2 ppm, el pico de alqueno de dos protones para rebaudiósido B está ligeramente por debajo de campo del pico de un protón de iso-rebaudiósido B.

Se realizaron análisis en HPLC analítica de fase inversa según el procedimiento expuesto en el ejemplo 2. La Figura 23 muestra una superposición de restos de HPLC para tres muestras: un rebaudiósido B estándar, iso-rebaudiósido B y una mezcla 1:1 de los dos. La Figura 23 muestra que los picos para rebaudiósido B e iso-rebaudiósido no están separados en línea de base bajo estas condiciones sino que pueden ser distinguidas. Los espectros de UV-VIS y de masas son esencialmente idénticos para los dos compuestos. El iso-rebaudiósido B aislado a partir de la mezcla de reacción parece que tiene todavía aproximadamente un 26% de rebaudiósido B después de comparar los restos de HPLC y espectros de RMN para los dos compuestos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula II:



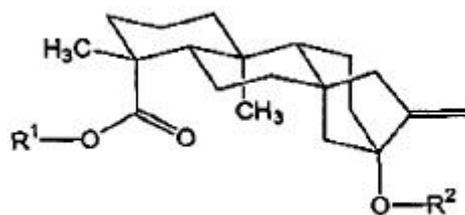
5

Fórmula II

en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es hidrógeno, 1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo o 2-(1-β-D-xilopiranosil-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo.

- 10 2. El compuesto de la reivindicación 1,
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
- 15 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es hidrógeno, o
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo.
3. El compuesto de la reivindicación 1,
- 20 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es hidrógeno, o
- 25 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-α-L-ramnopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
- 30 en el que R¹ es 2-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2-(1-β-D-xilopiranosil)-3-(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o
 en el que el compuesto es aislado y purificado.
4. Un producto de bebida, que comprende
 un líquido acuoso, y
- 35 un compuesto de fórmula II según la reivindicación 1.

5. El producto de bebida de la reivindicación 4, en que el producto de bebida se selecciona entre el grupo que consiste en bebidas carbonatadas, bebidas no carbonatadas, bebidas refrescantes, bebidas carbonatadas congeladas, concentrados en polvo, concentrados de bebidas, zumos de frutas, bebidas con sabor a zumos de frutas, bebidas con sabores a frutas, bebidas para deportistas, bebidas energéticas, bebidas de agua mineral/mejoradas, bebidas de soja, bebidas de verduras, bebidas basadas en cereales, bebidas de malta, bebidas fermentadas, bebidas de yogur, kefir, bebidas de café, bebidas de té, bebidas lácteas y mezclas de cualesquiera de ellas,
- o
- el producto de bebida de la reivindicación 4, que comprende adicionalmente un edulcorante seleccionado entre el grupo que consiste en glucósido de esteviol, extractos de Stevia rebaudiana, Lo Han Guo, concentrado de jugo de Lo Han Guo, polvo de Lo Han Guo, mogrósido V, taumatina, monelina, brazeína, monatina, eritritol, tagatosa, sacarosa, sacarosa líquida, fructosa, fructosa líquida, glucosa, glucosa líquida, jarabe de maíz con elevado contenido de fructosa, azúcar invertido, azúcar invertido medio, jarabe de arce, azúcar de arce, miel, jarabe de achicoria, jarabe de agave, melazas de azúcar marrón, melazas de caña de azúcar, melazas de remolacha azucarera, jarabe de sorgo, sorbitol, manitol, maltitol, xilitol, glicirricina, malitol, maltosa, lactosa, xilosa, arabinosa, isomalta, lactitol, trehalulosa, ribosa, fructo-oligosacáridos, aspartamo, neotamo, alitamo, sacarina de sodio, sacarina de calcio, acesulfamo potasio, ciclamato de sodio, ciclamato de calcio, neohesperidina, dihidrocalcona, sucralosa, polidextrosa y mezclas de cualesquiera de ellos.
6. El producto de bebida de la reivindicación 4, en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, en que el producto de bebida es un concentrado de bebida y que comprende adicionalmente rebaudiósido A, o
- en que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, en que el producto de bebida es una bebida carbonatada y que comprende adicionalmente rebaudiósido A.
7. El producto de bebida de la reivindicación 4, que comprende una cantidad edulcorante del compuesto de fórmula II, en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo, o el producto de bebida de la reivindicación 4, que comprende al menos 0,005% en peso del compuesto de fórmula II, en la que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo.
8. Un producto alimenticio, que comprende:
- un componente alimenticio, y
- un compuesto de fórmula II según la reivindicación 1.
9. El producto alimenticio de la reivindicación 8, en que el producto alimenticio se selecciona entre el grupo que consiste en harina de avena, cereal, artículos cocidos, bizcochos, galletas, tartas, chocolatinas, panes, productos de aperitivos, patatas fritas, tortilla de patatas, palomitas de maíz, barritas de aperitivos, tartas de arroz y productos alimenticios basados en cereales, o
- el producto alimenticio de la reivindicación 8, que comprende adicionalmente un edulcorante seleccionado entre el grupo que consiste en glucósido de esteviol, extractos de Stevia rebaudiana, Lo Han Guo, concentrado de jugo de Lo Han Guo, polvo de Lo Han Guo, mogrósido V, taumatina, monelina, brazeína, monatina, eritritol, tagatosa, sacarosa, sacarosa líquida, fructosa, fructosa líquida, glucosa, glucosa líquida, jarabe de maíz con elevado contenido de fructosa, azúcar invertido, azúcar invertido medio, jarabe de arce, azúcar de arce, miel, jarabe de achicoria, jarabe de agave, melazas de azúcar marrón, melazas de caña de azúcar, melazas de remolacha azucarera, jarabe de sorgo, sorbitol, manitol, maltitol, xilitol, glicirricina, malitol, maltosa, lactosa, xilosa, arabinosa, isomalta, lactitol, trehalulosa, ribosa, fructo-oligosacáridos, aspartamo, neotamo, alitamo, sacarina de sodio, sacarina de calcio, acesulfamo potasio, ciclamato de sodio, ciclamato de calcio, neohesperidina, dihidrocalcona, sucralosa, polidextrosa y mezclas de cualesquiera de ellos.
10. El producto alimenticio de la reivindicación 9, en que el glucósido de esteviol es rebaudiósido A y en el que R¹ es 1-β-D-glucopiranosilo y R² es 2,3-bis(1-β-D-glucopiranosil)-1-β-D-glucopiranosilo.
11. Un edulcorante, que comprende un compuesto de fórmula II según la reivindicación 1, que comprende preferentemente de forma adicional al menos uno de un material de carga, un agente de relleno y un agente anti-apelmazante.
12. Un método para preparar un compuesto de fórmula II según la reivindicación 1, que comprende las etapas de:
- proporcionar una solución acuosa ácida que comprende un compuesto de fórmula I:



Fórmula I

5 en la que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo o 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es hidrógeno, 1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-3-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo o 2-(1- β -D-xilopiranosil)-3-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo; y

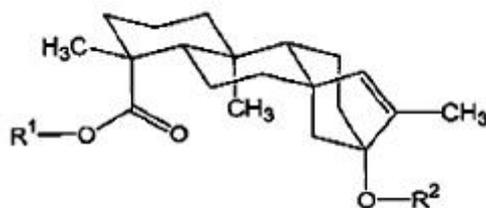
calentar la solución a una temperatura en el intervalo de 30°C a 90°C durante un período de tiempo de más de dos días.

10 13. El método de la reivindicación 12, en el que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2,3-bis(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo en el compuesto de fórmula I, o en el que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 2,3-bis(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo en el compuesto de fórmula II; y

la solución acuosa ácida tiene un valor del pH en el intervalo de pH 1,0-4,0, preferentemente en la que al menos un 1,0% en peso del compuesto de fórmula I es convertido en el compuesto de fórmula II, o

15 el método de la reivindicación 12, en el que la temperatura está en el intervalo de 40°C a 50°C y la solución acuosa ácida comprende adicionalmente al menos uno de ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido láctico y ácido ascórbico, en una cantidad suficiente para conseguir un valor del pH en el intervalo de pH 1,0-4,0.

14. Un compuesto de fórmula II según la reivindicación 1:



Fórmula II

20 en la que R^1 es 1- β -D-glucopiranosilo o 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo y R^2 es 1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2,3-bis(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo, 2-(1- α -L-ramnopiranosil)-3-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo o 2-(1- β -D-xilopiranosil)-3-(1- β -D-glucopiranosil)-1- β -D-glucopiranosilo.

25

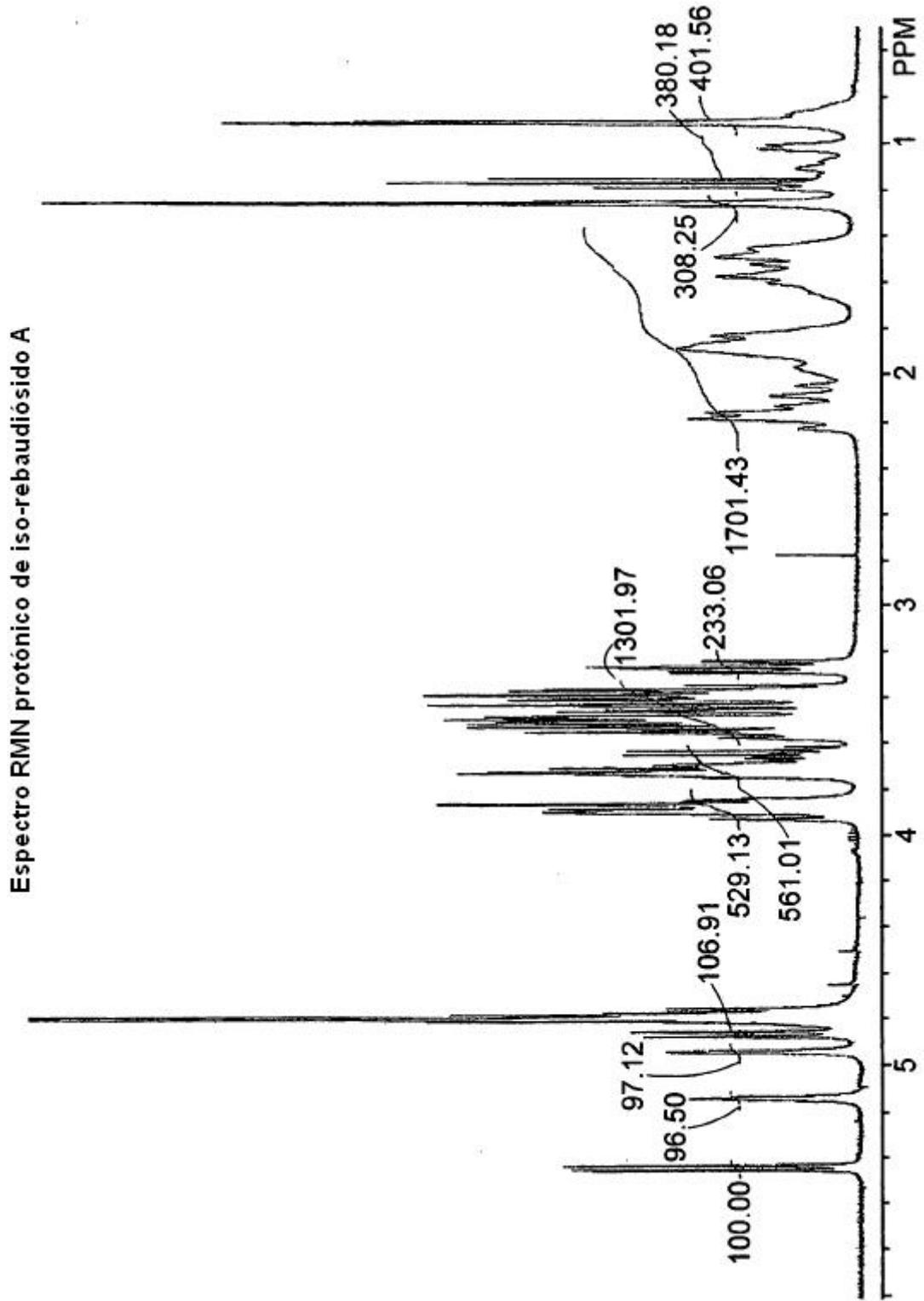


FIG. 1

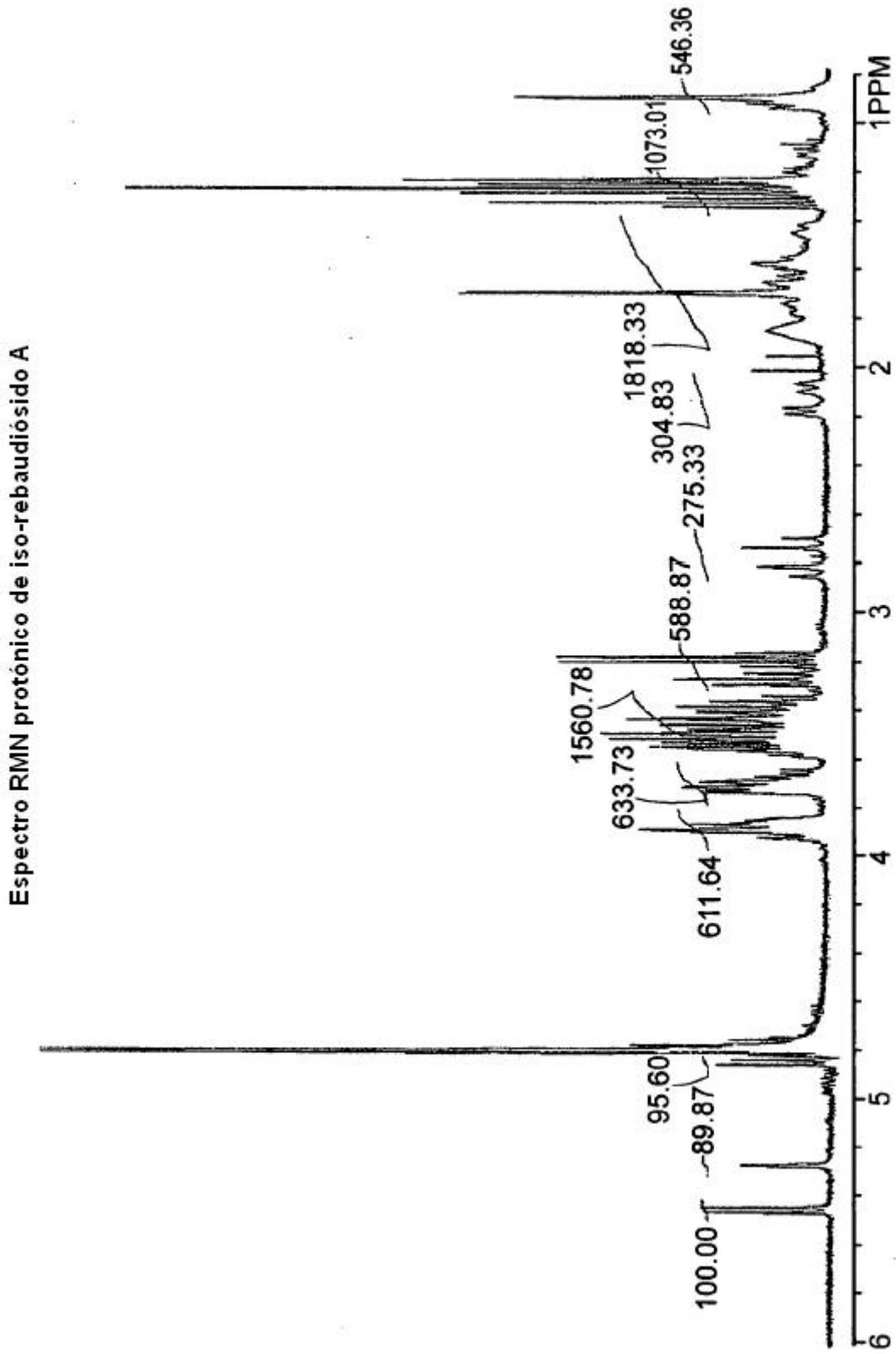


FIG. 2

Superposición de espectro RMN protónico de iso-rebaudiósido A sobre espectro RMN protónico de rebaudiósido A

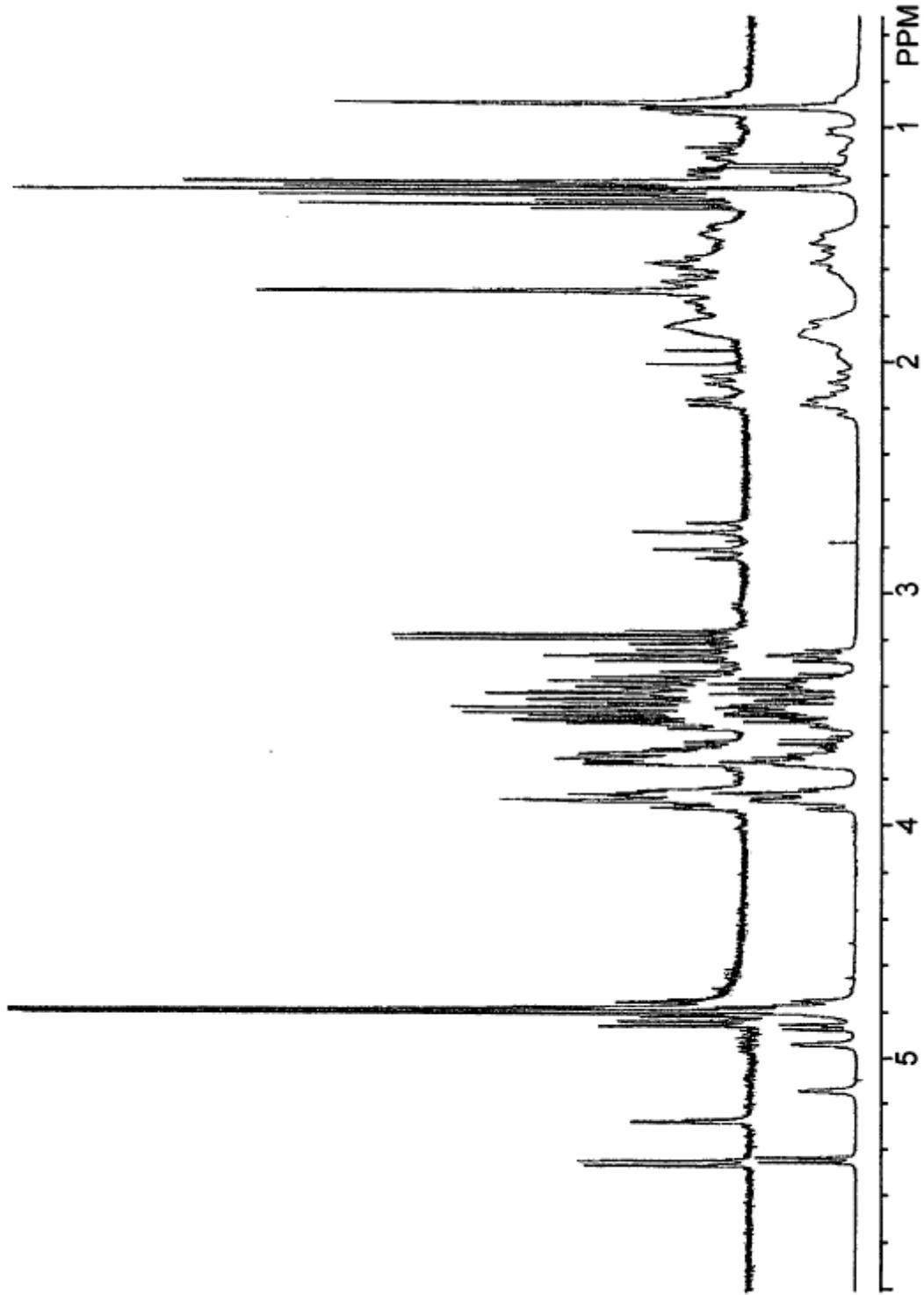


FIG. 3

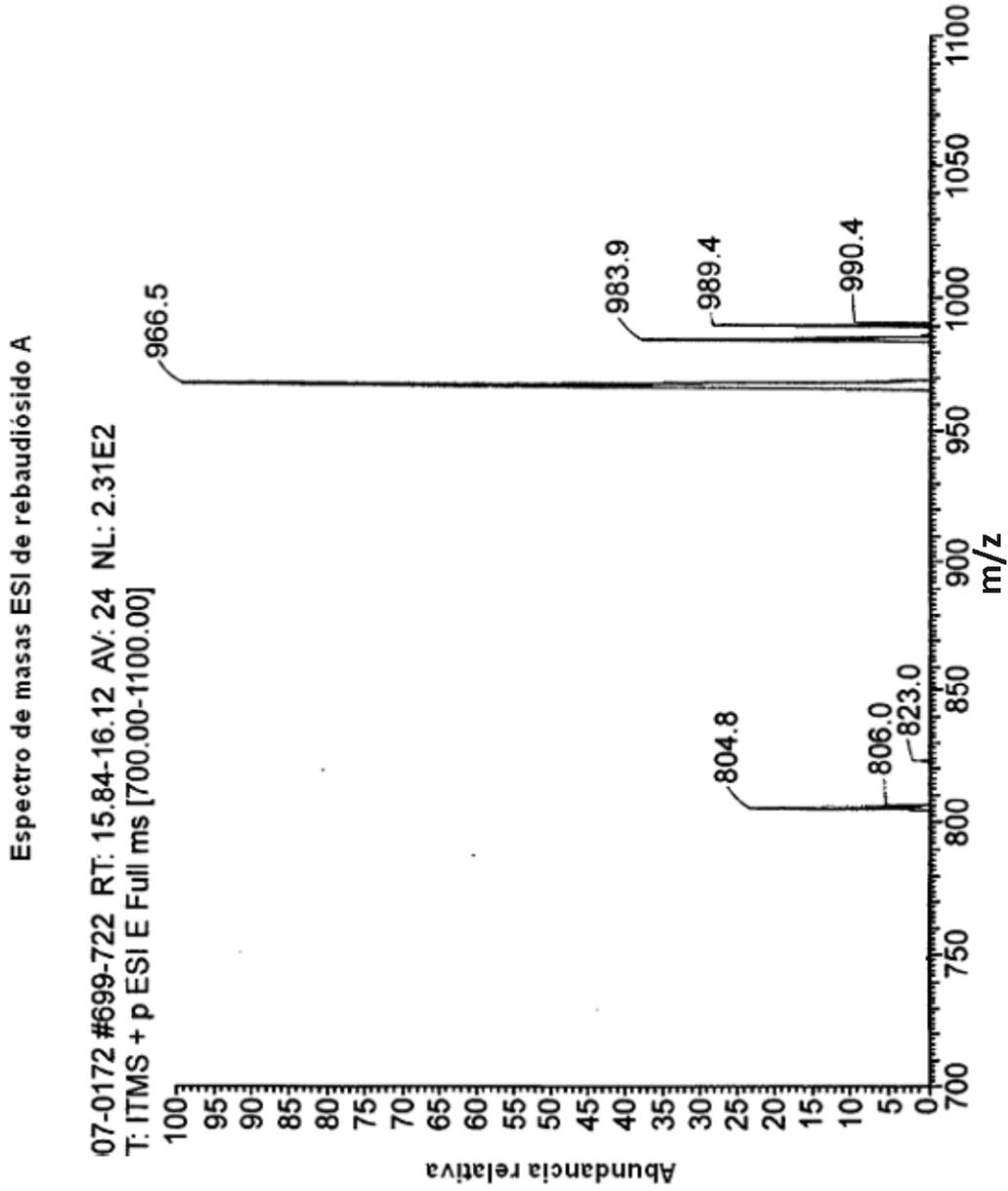


FIG. 4

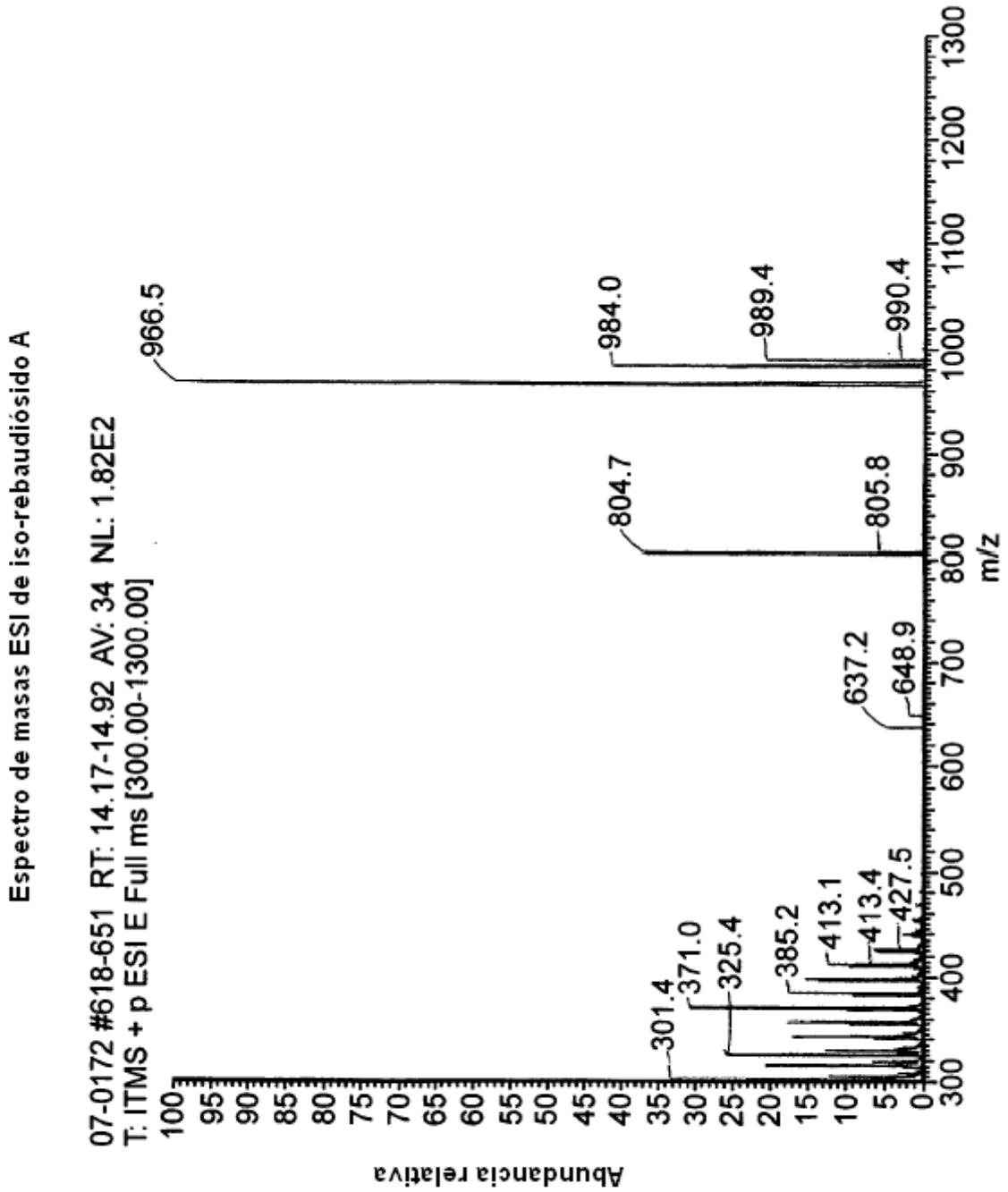


FIG. 5

HPLC de mezcla de reacción de 10 semanas que contiene rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A
Gráfico superior detectado a absorción UV de 210 nm
Gráfico inferior detectado con ion extraído a 989 (M+23)

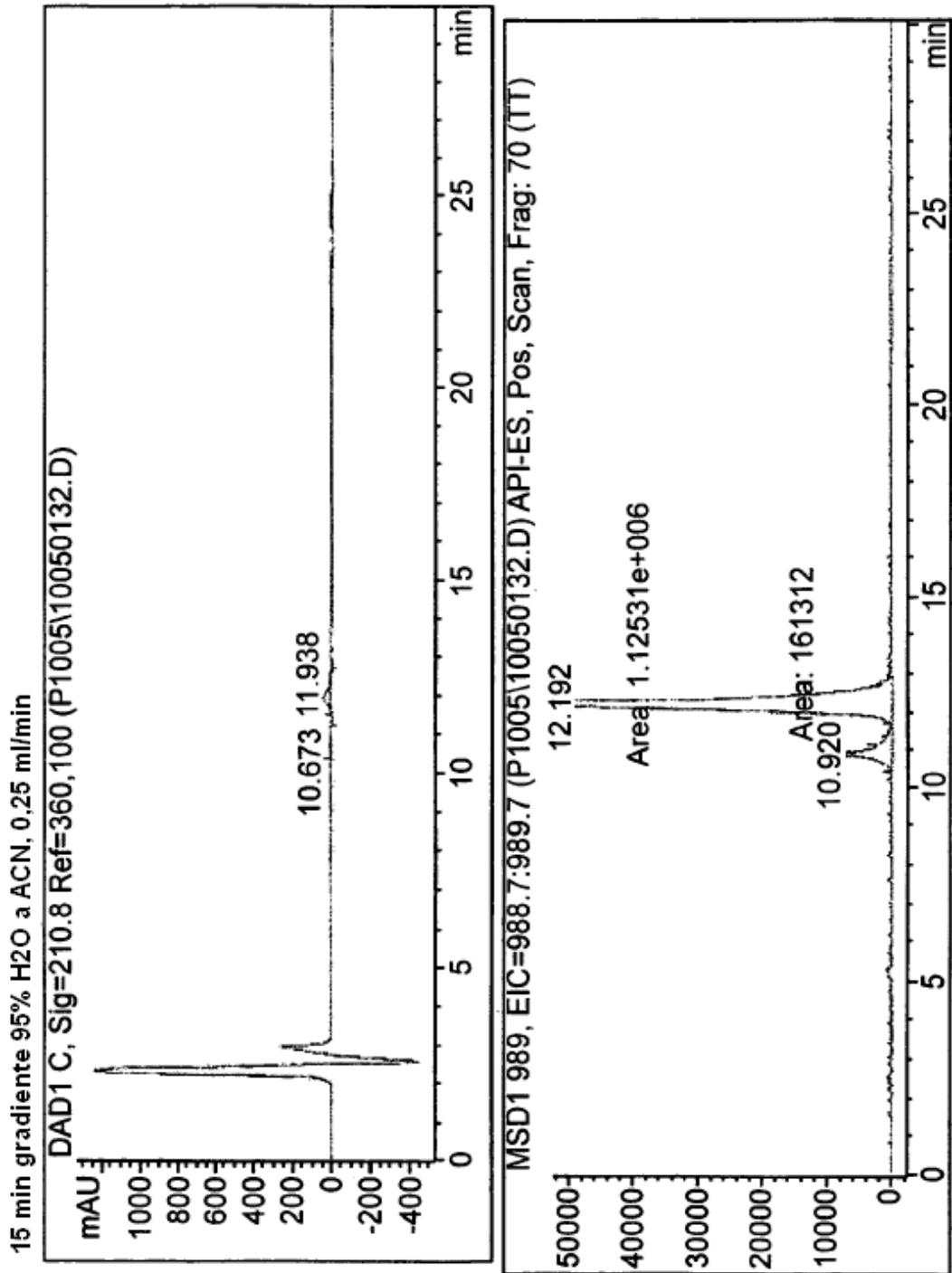


FIG. 6

Espectro de masas ESI de pico de iso-rebaudiósido A a 12,192 minutos

Espectro de masas Apex de pico 12,192 de 10050132.D

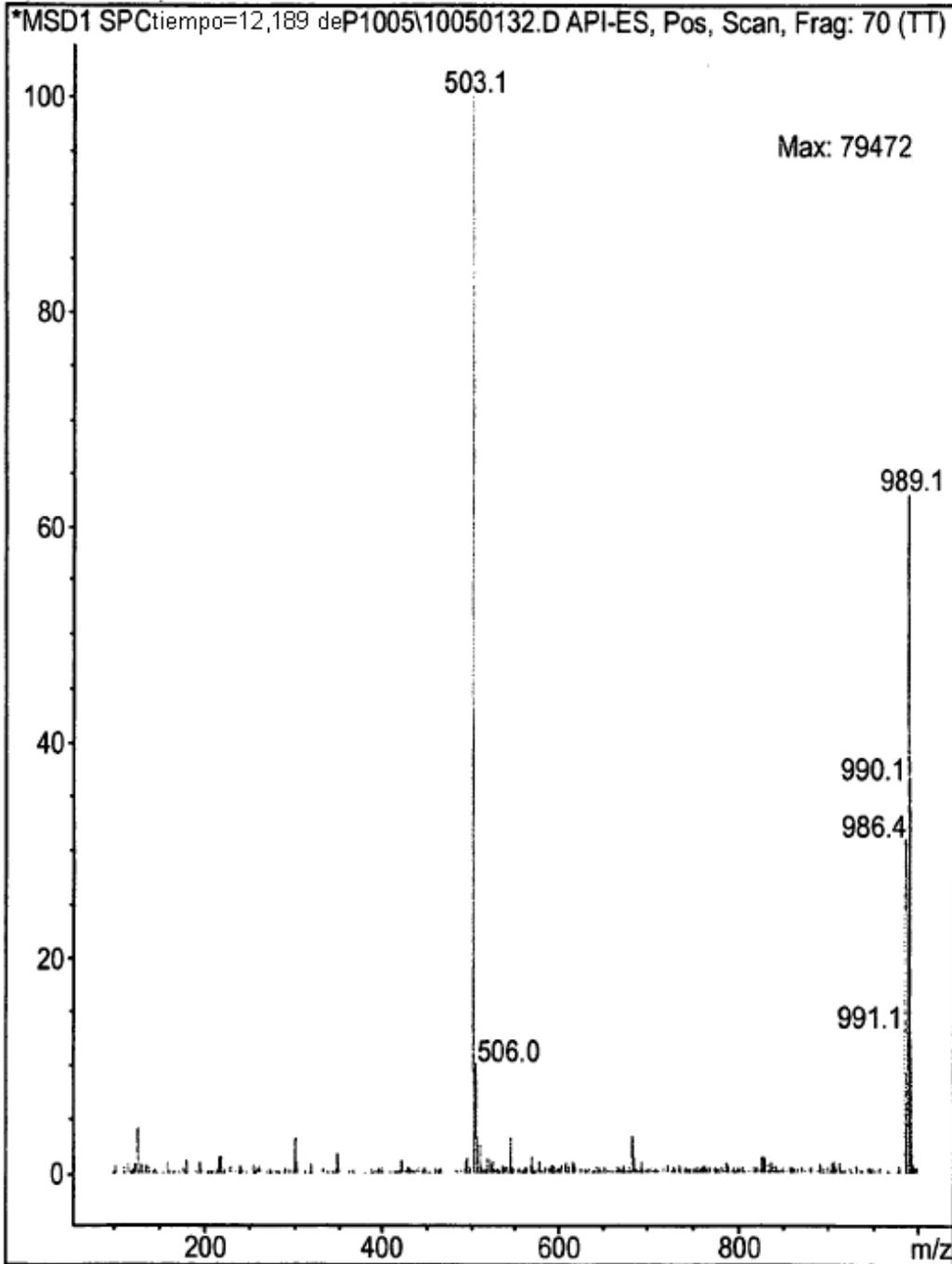


FIG. 7

HPLC de rebaudiosido A estándar
Gráfico superior detectado a absorción UV de 210 nm
Gráfico inferior detectado con ion extraído a 989 (M+23)

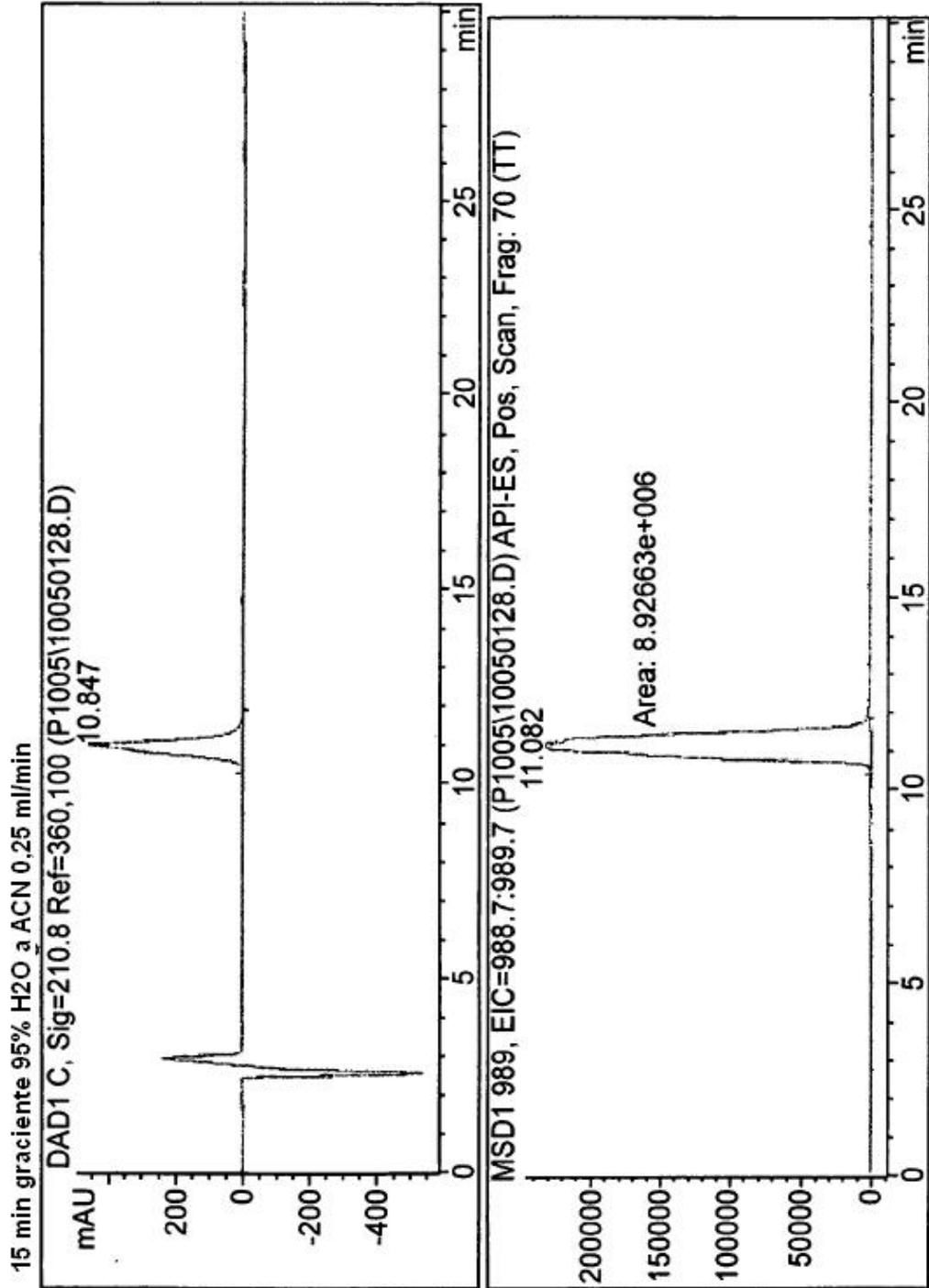


FIG. 8

HPLC de iso-rebaudiósido A aislado
Gráfico superior detectado a absorción UV de 210 nm
Gráfico inferior detectado con ion extraído a 989 (M+23)

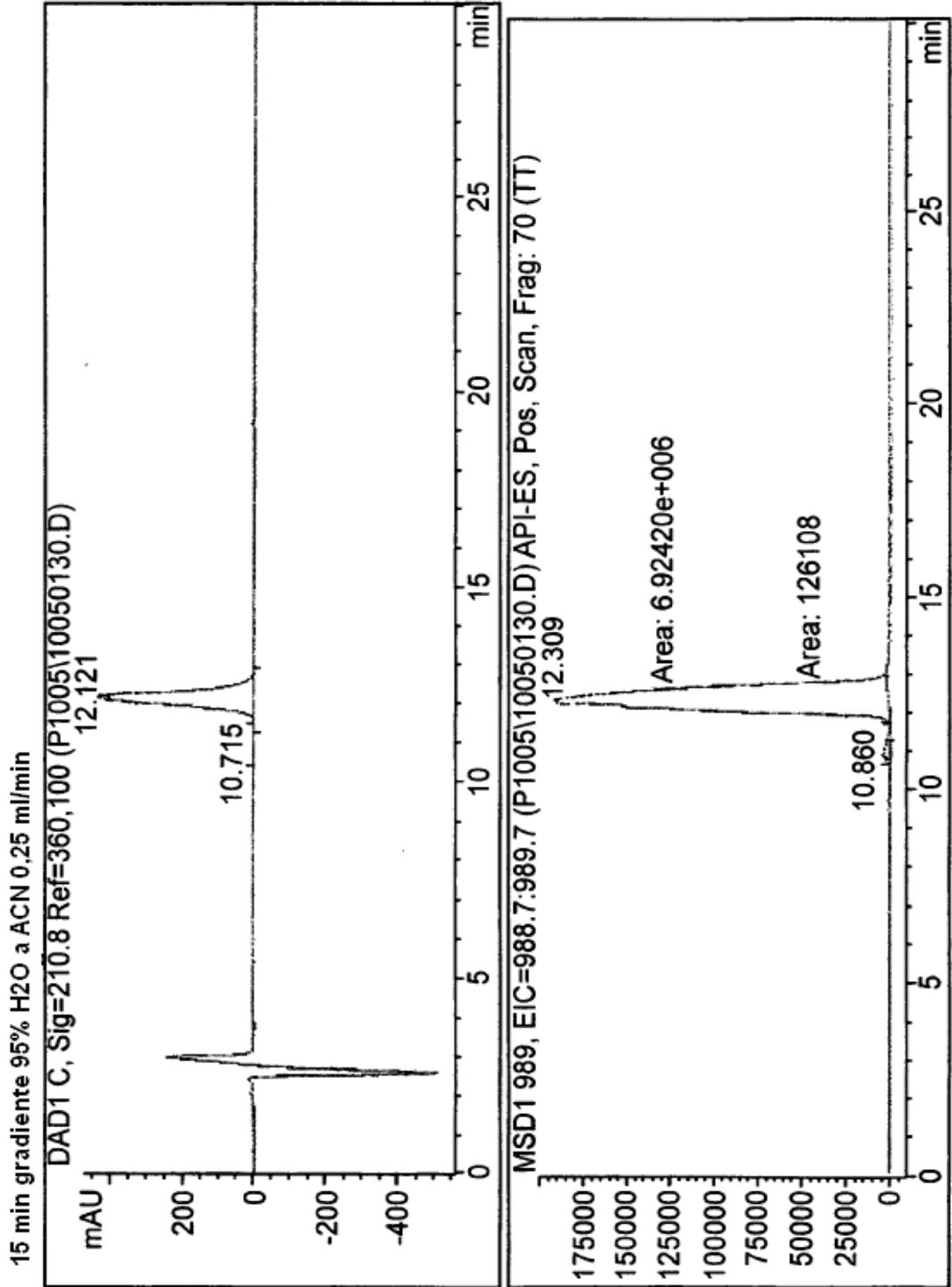


FIG. 9

10/23

Espectro de masas ESI de pico de rebaudiósido A estándar

Espectro de masas Apex de pico 11,082 de 01050128.D

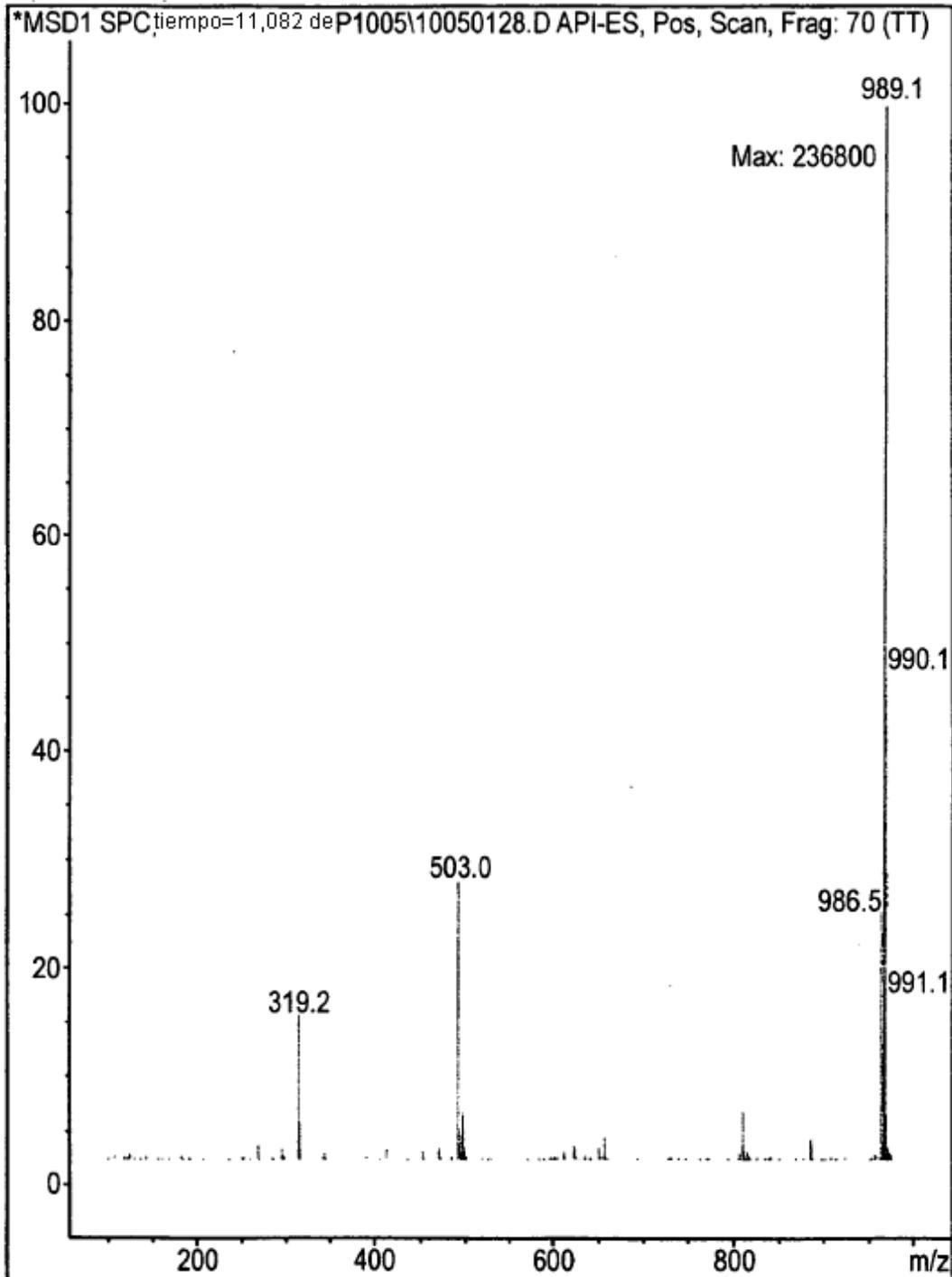


FIG. 10

11/23

Espectro de masas ESI de pico de iso-rebaudiósido A aislado

Espectro de masas Apex de pico 12.239 de 10050130.D

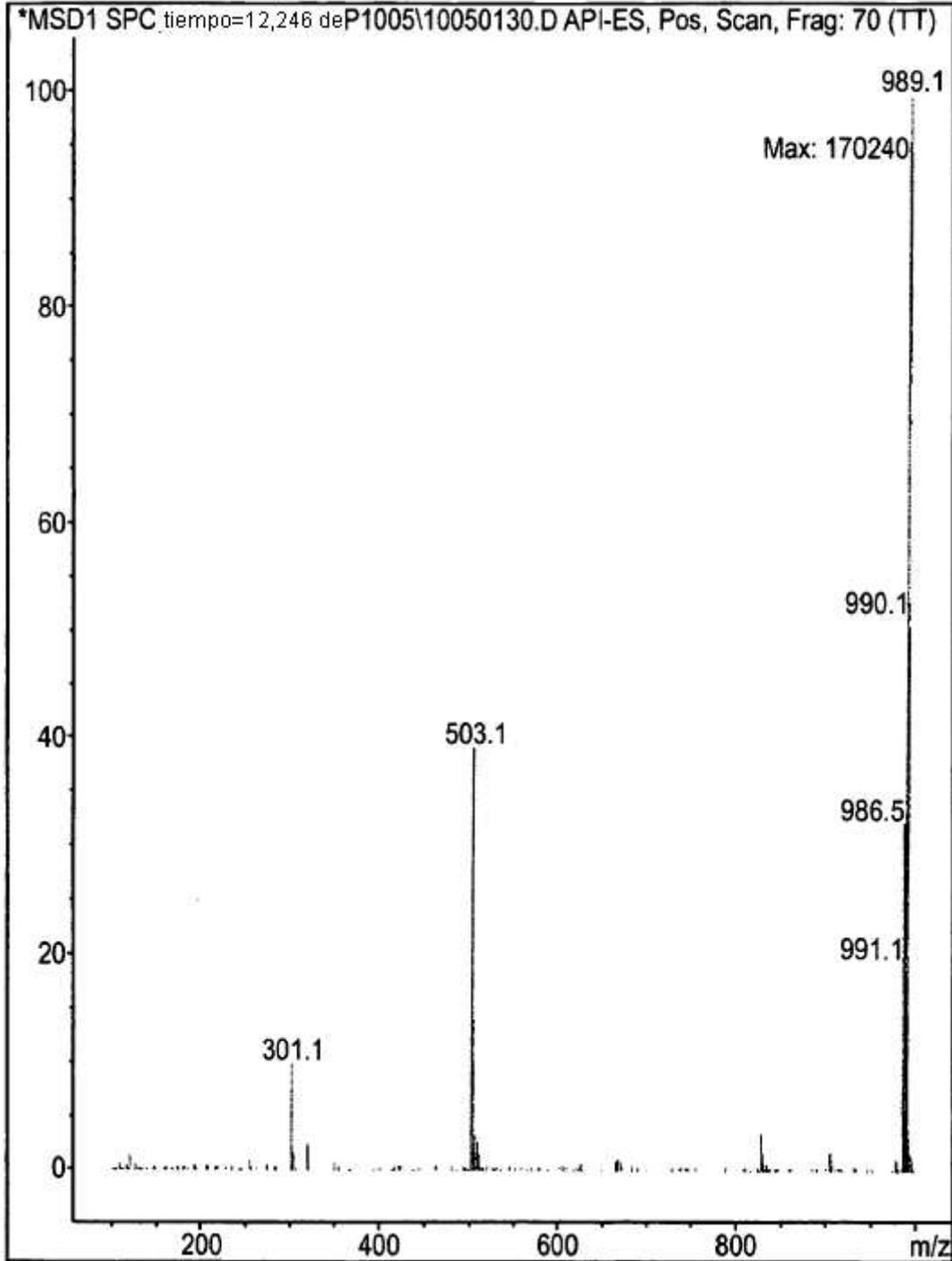


FIG. 11

HPLC de mezcla de reacción de 10 semanas enriquecida con iso-rebaudiósido A aislado
Gráfico superior detectado a absorción UV de 210 nm
Gráfico inferior detectado con ion extraído a 989 (M+23)

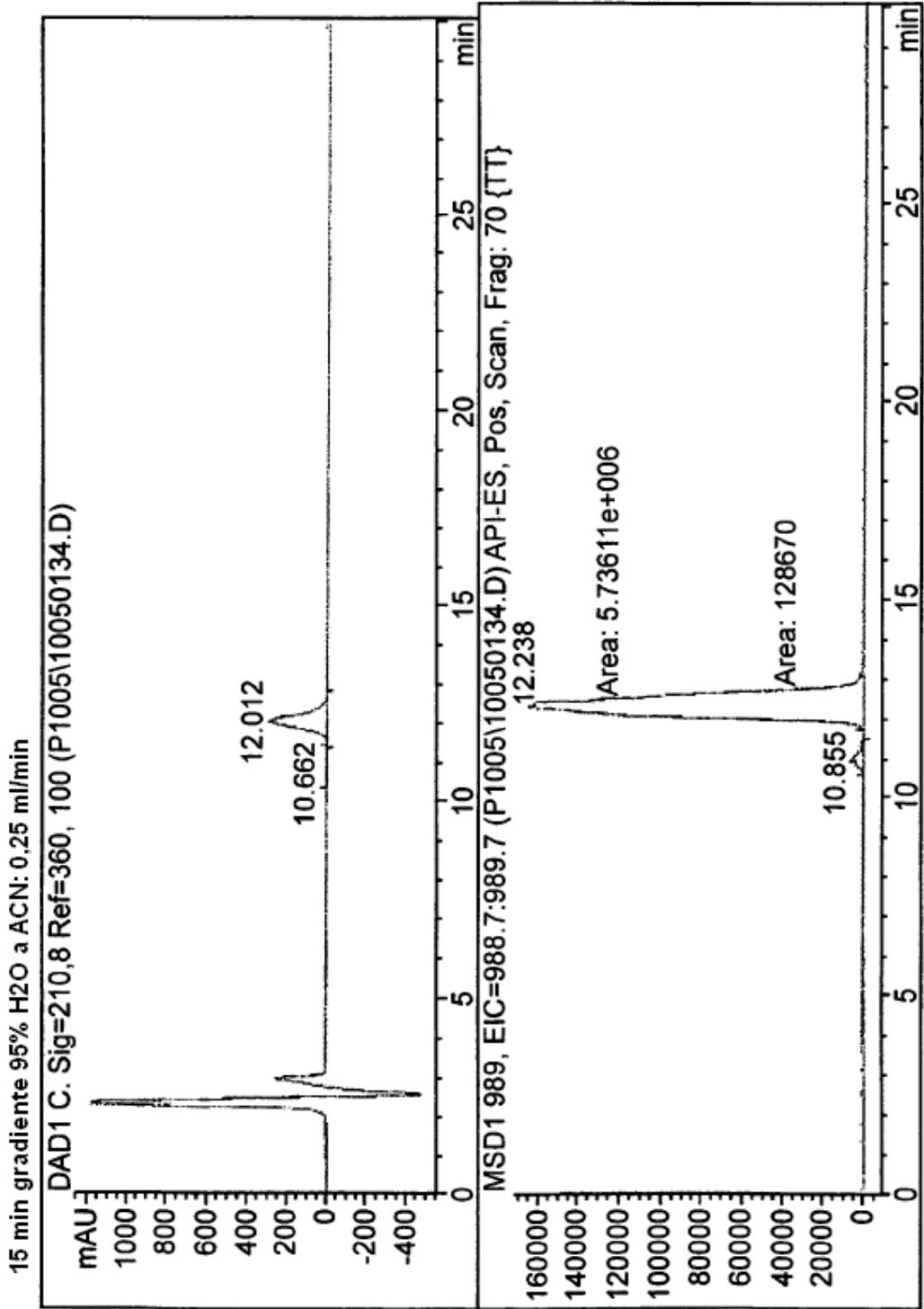


FIG. 12

Espectro de masas ESI de pico de iso-rebaudiósido A a 12,238 minutos

Espectro de masas Apex de pico 12,238 de 10050134.D

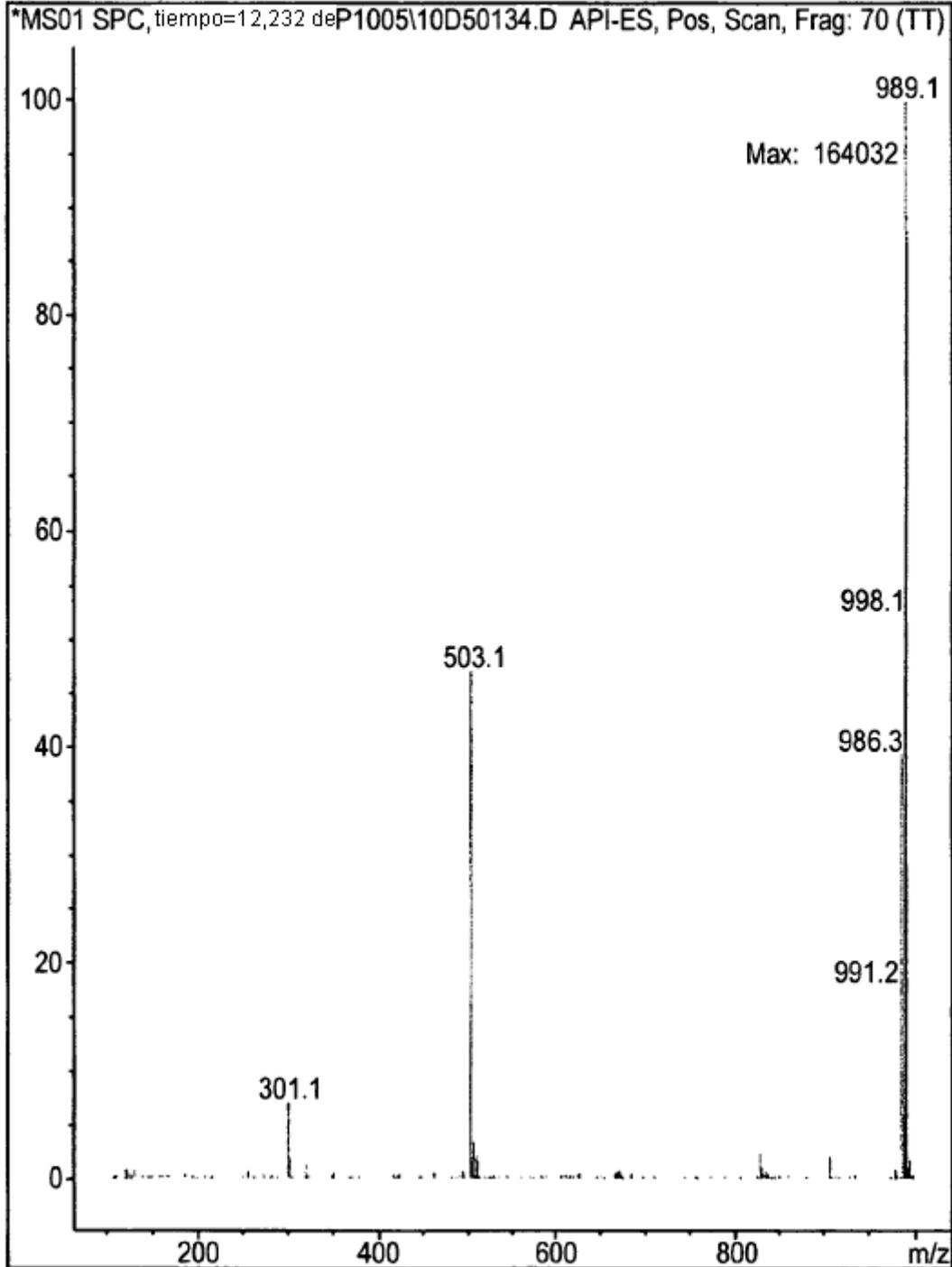


FIG. 13

Estructura de cristales de rayos X de iso-rebaudiósido A

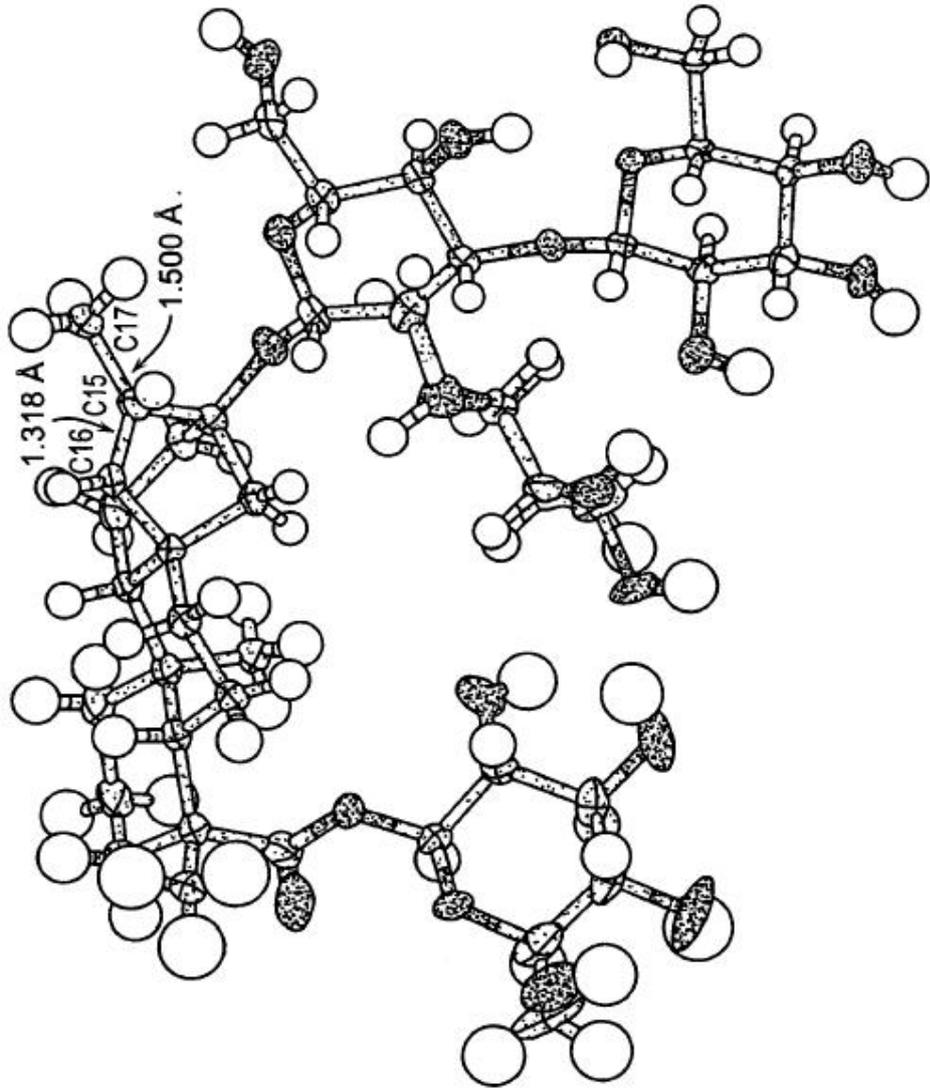


FIG. 14

Estructura de cristales de rayos X de rebaudiósido A estándar

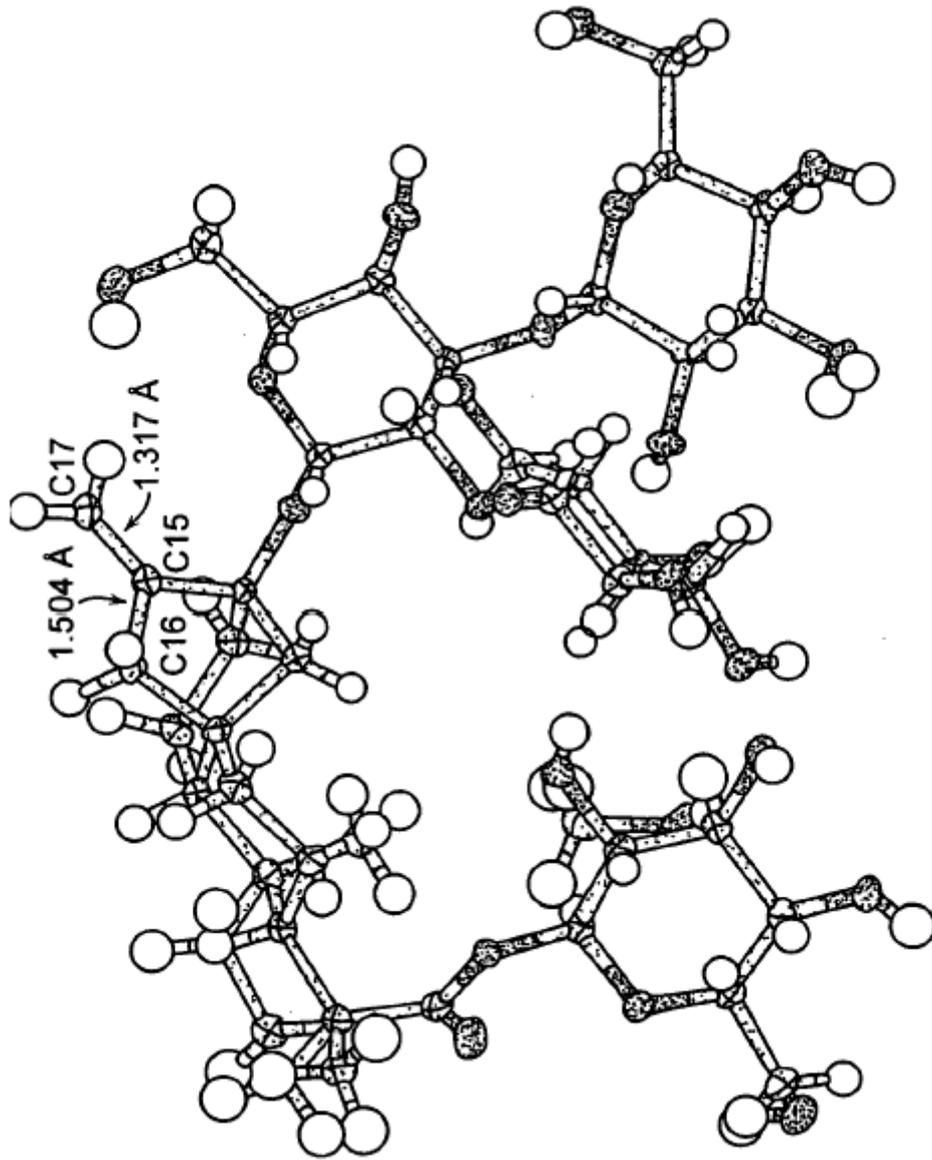


FIG. 15

Estructuras de rebaudiósido A e iso-rebaudiósido A con numeración de carbonos y longitudes de enlaces relevantes

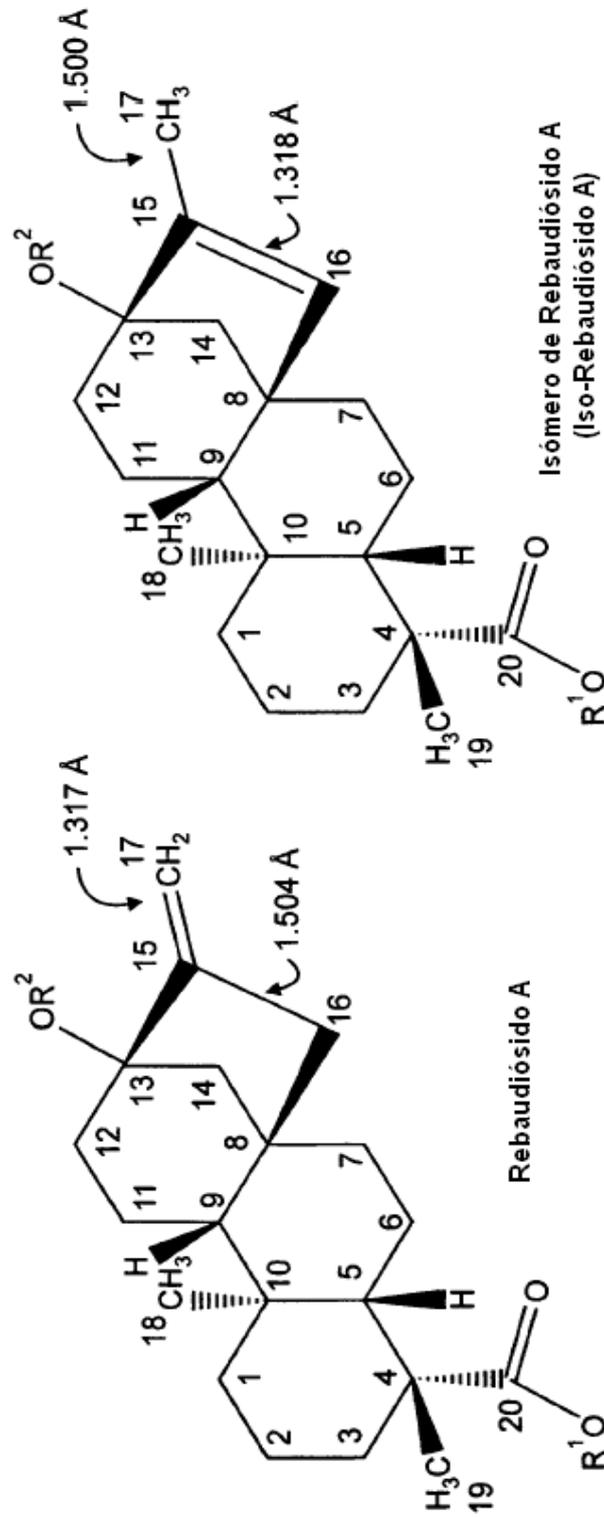


FIG. 16

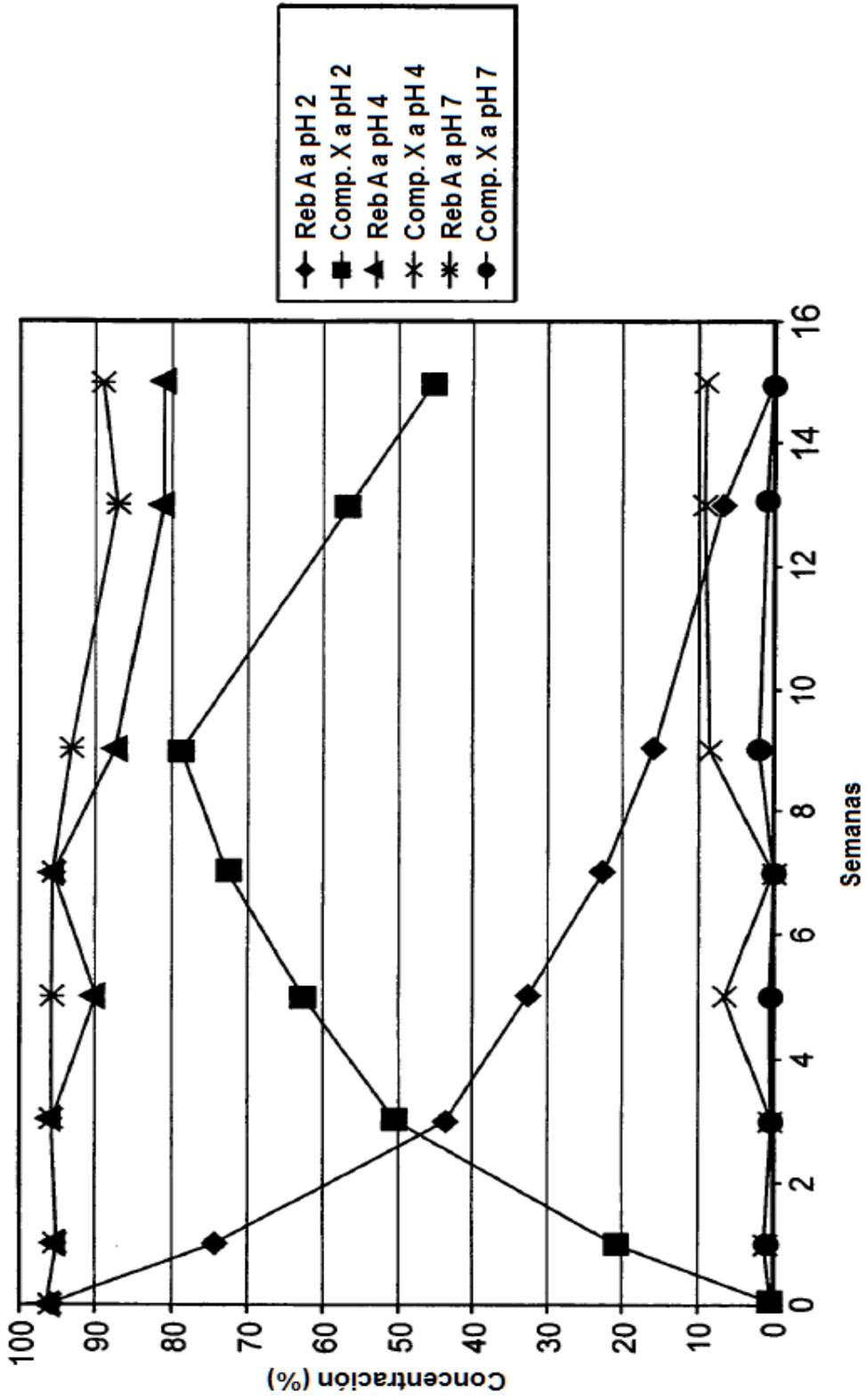


FIG. 17

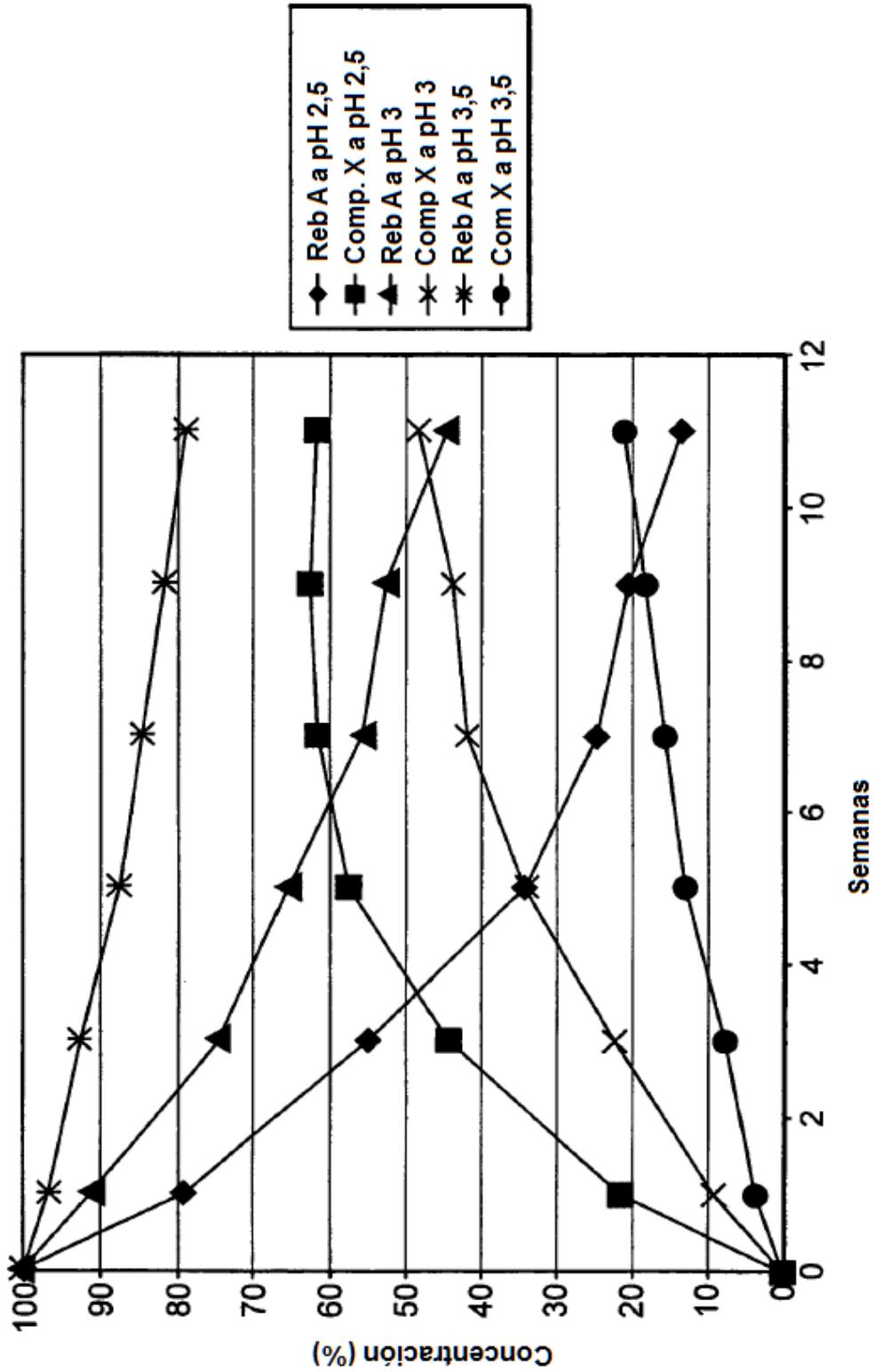


FIG. 18

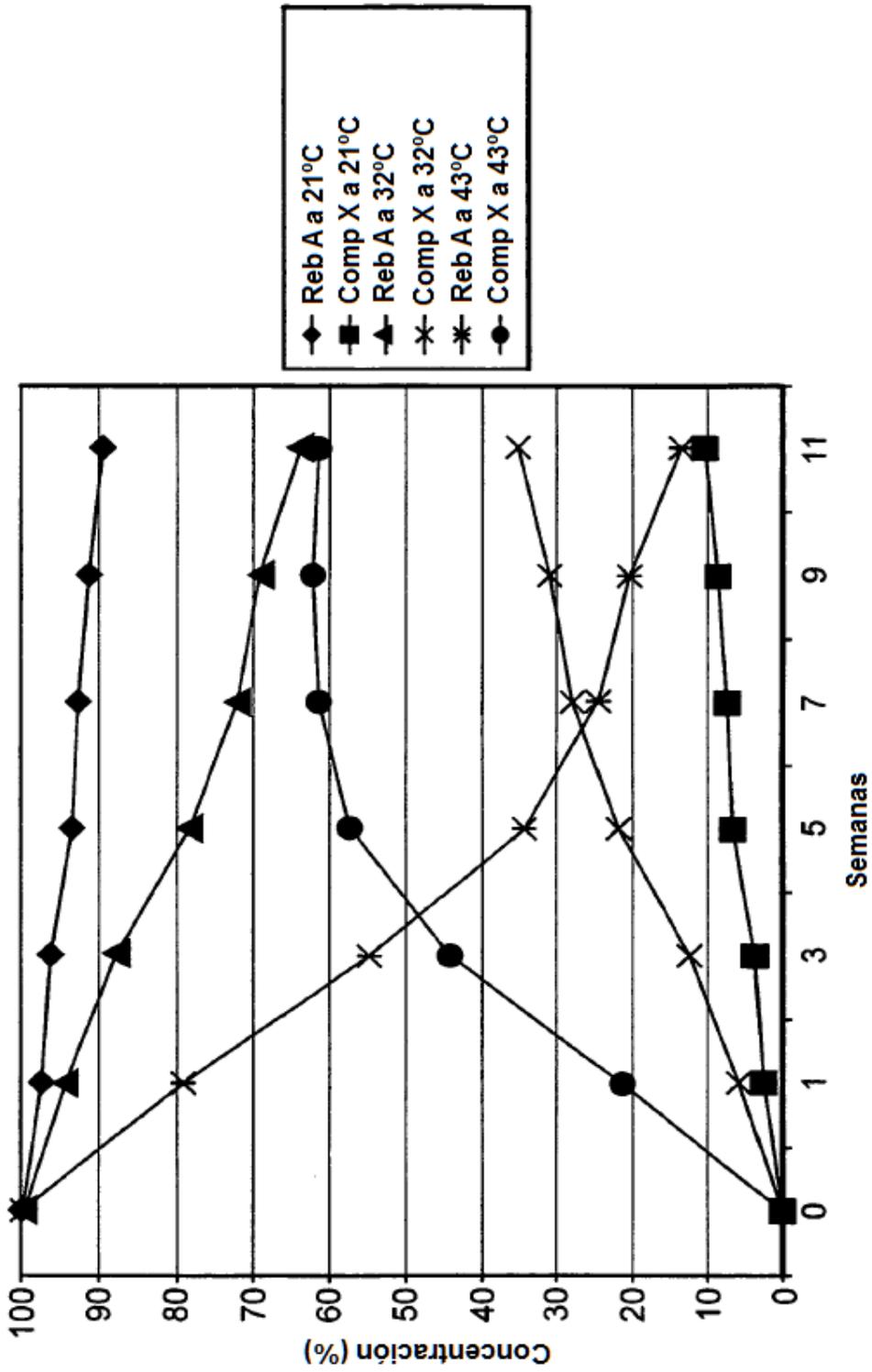
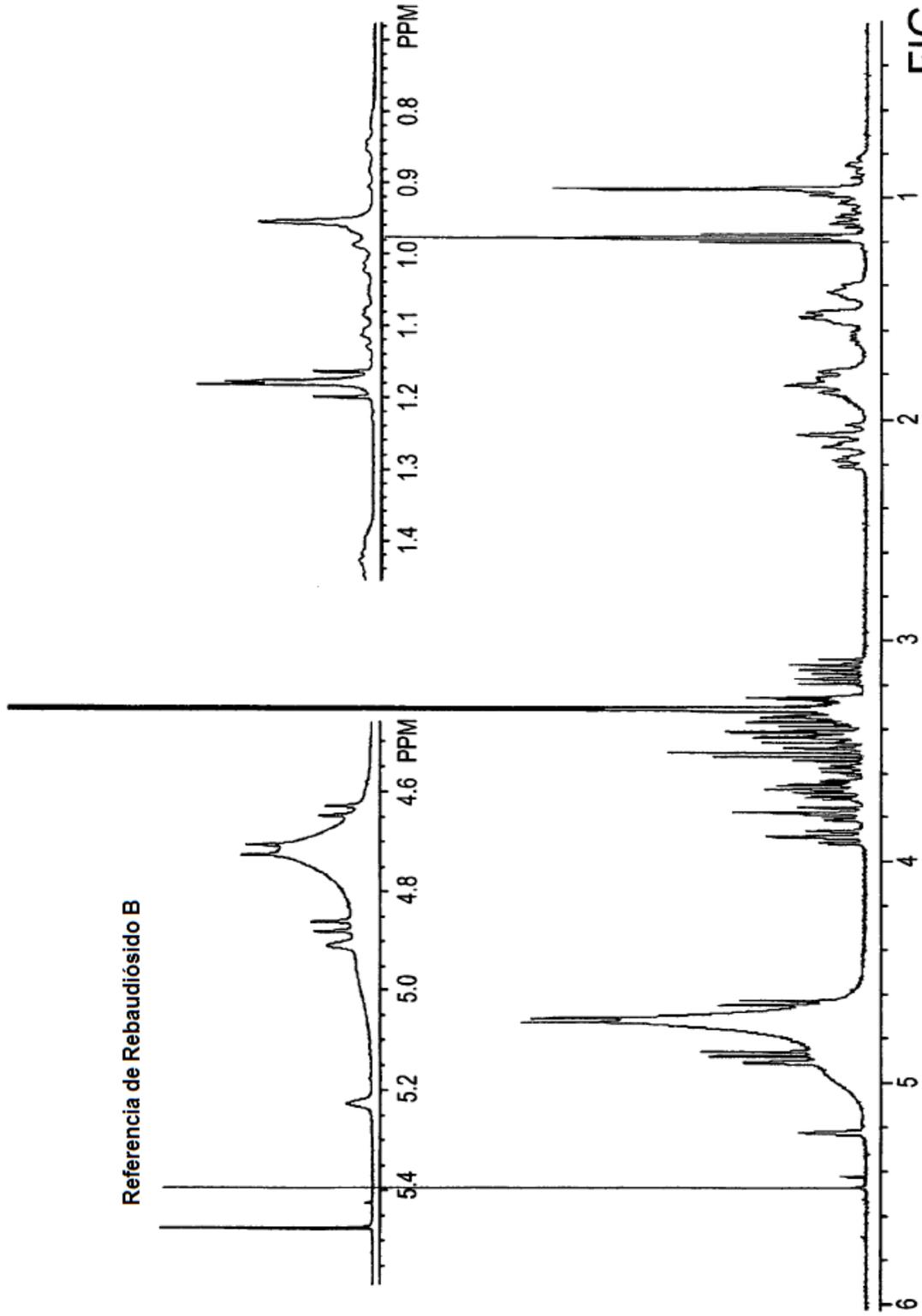
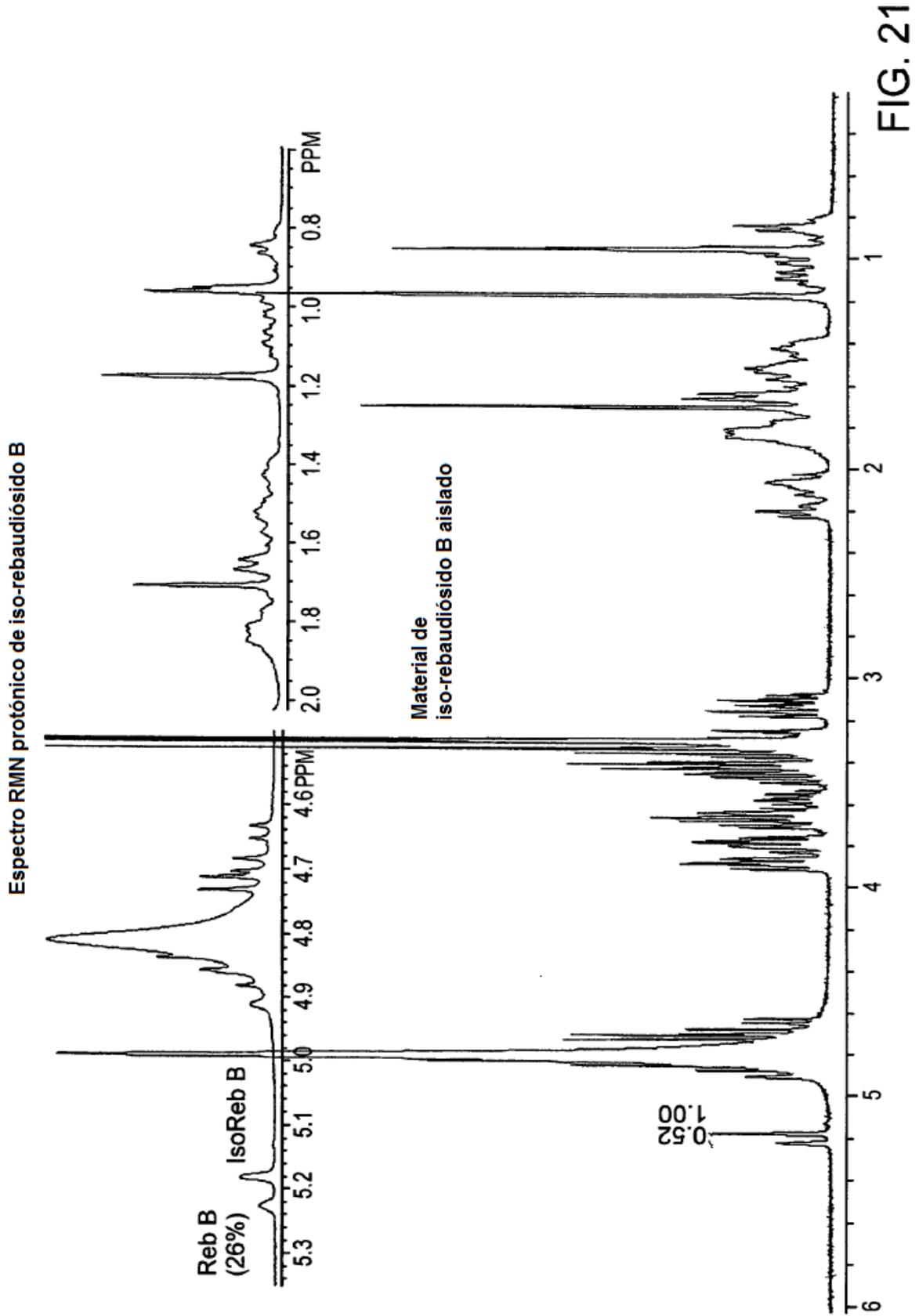


FIG. 19

Espectro RMN protónico de rebaudiósido B





Superposición de espectro RMN protónico de iso-rebaudiósido B sobre espectro RMN protónico de rebaudiósido B

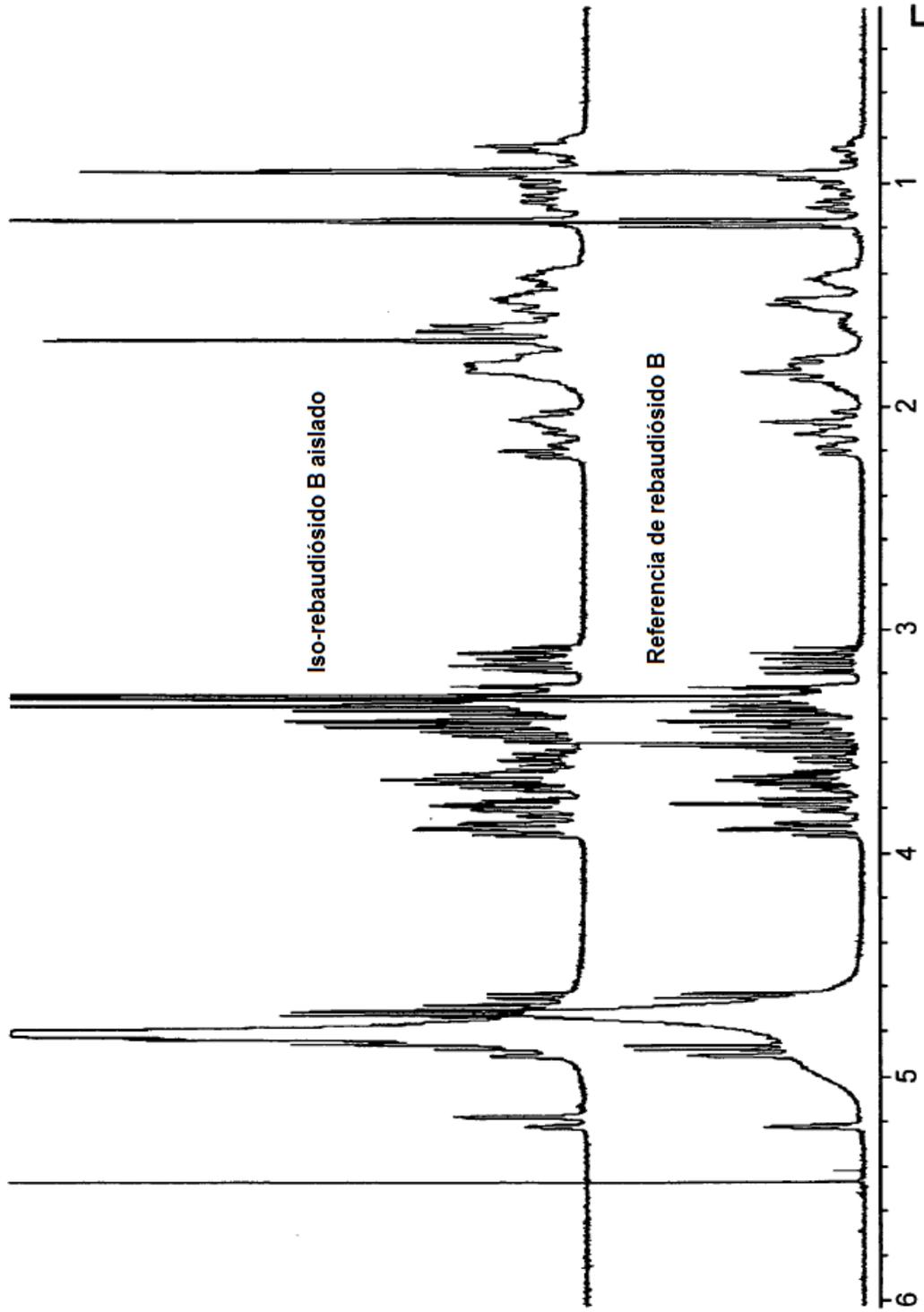


FIG. 22

Superposición de gráficos de HPLC para
rebaudiósido B, iso-rebaudiósido B
y mezcla 1:1 de los dos

FIG. 23

