



**República Federativa do Brasil**  
Ministério da Indústria, Comércio Exterior  
e Serviços  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0908092-9 B1**

**(22) Data do Depósito:** 25/02/2009

**(45) Data de Concessão:** 27/12/2016



---

**(54) Título:** EDULCORANTE, MÉTODO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO EDULCORANTE, E, COMPOSIÇÃO EDULCORANTE

**(51) Int.Cl.:** A23L 27/30; C07H 15/256

**(30) Prioridade Unionista:** 24/12/2008 US 61/140646, 25/02/2008 US 61/031300

**(73) Titular(es):** THE COCA-COLA COMPANY

**(72) Inventor(es):** INDRA PRAKASH; GRANT E. DUBOIS; RAFAEL I. SAN MIGUEL; JOHN CLOS

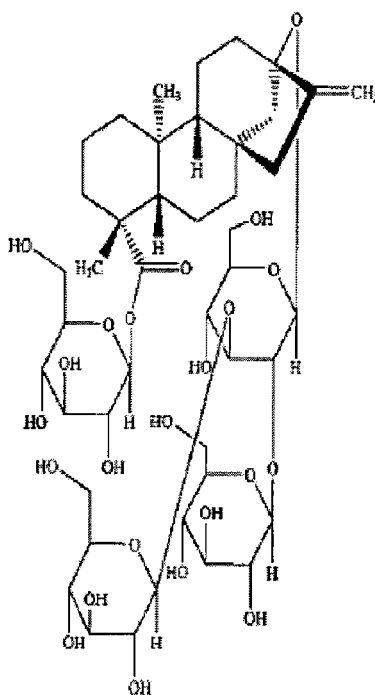
“EDULCORANTE, MÉTODO PARA PREPARAR UMA COMPOSIÇÃO  
EDULCORANTE, E, COMPOSIÇÃO EDULCORANTE”

CAMPO DA INVENÇÃO

Esta invenção se refere, em geral, a produtos derivados de  
5 rebaudiosídeo A e métodos para preparação de produtos derivados de  
rebaudiosídeo A.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Rebaudiosídeo A é um edulcorante glicosídeo diterpenóide de  
alta potência com a estrutura química:



10 O rebaudiosídeo A é isolado e extraído, juntamente com outros  
glicosídeos de esteviol, da planta *Stevia rebaudiana* (Bertoni) (estévia), que é  
comercialmente cultivada no Japão, Cingapura, Taiwan, Malásia, Coreia do  
Sul, China, Israel, Índia, Brasil, Austrália e Paraguai. É um edulcorante  
natural não calórico, com propriedades funcionais e sensoriais superiores às  
15 de muitos outros edulcorantes não calóricos. As formas processadas da  
estévia podem ser 70 a 400 vezes mais potentes que o açúcar; no entanto, a  
estévia também possui um componente amargo. Dos quatro principais

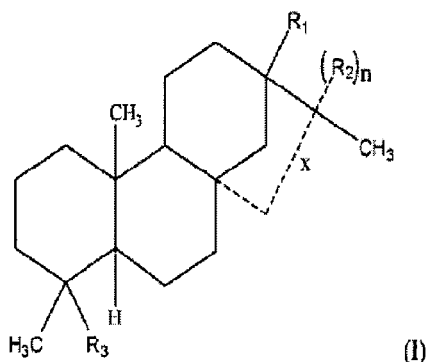
edulcorantes glicosídeos diterpeno presentes na estévia, o rebaudiosídeo A é identificado como o menos adstringente, o menos amargo e como tendo o gosto residual menos persistente. No entanto, o rebaudiosídeo A ainda apresenta características de sabor e gosto que o distinguem do açúcar. Assim, pode ser desejável modificar o rebaudiosídeo A para obter novos compostos úteis como composições edulcorantes, mas apresentando mais sabor e/ou perfis temporais que o rebaudiosídeo A.

### SUMÁRIO DA INVENÇÃO

As modalidades exemplares da invenção referem-se à necessidade identificada anteriormente, fornecendo um método para preparação de produtos derivados de rebaudiosídeo A úteis como composições edulcorantes e de produtos derivados de rebaudiosídeo A.

Em particular, as modalidades aqui fornecidas incluem um método para preparação de produtos derivados de rebaudiosídeo A pelo aquecimento de uma solução de rebaudiosídeo A com um ácido inorgânico a uma temperatura entre cerca de 50°C a cerca de 110°C, por um tempo suficiente para completar a reação e, assim, obter um produto derivado de rebaudiosídeo A.

Em outras modalidades, um edulcorante é fornecido compreendendo um produto derivado de rebaudiosídeo A. O produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química I:



onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que

compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila;

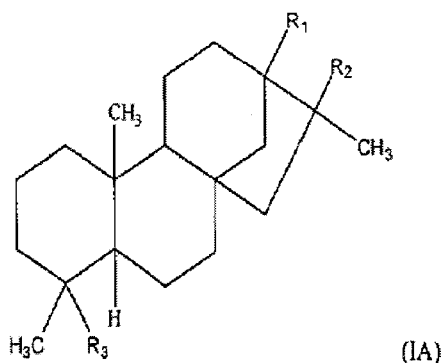
onde  $R_2$  pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi;

onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído;

onde  $x$  pode ser uma ligação simples ou uma ligação dupla;

onde  $n$  é 0 ou 1; e

onde, quando  $x$  é uma ligação simples,  $n$  é 1 e  $R_2$  pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi; e onde, quando  $x$  é uma ligação dupla,  $n$  é 0.



Em uma modalidade particular de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde  $x$  é uma ligação simples e  $n$  é 1, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IA:

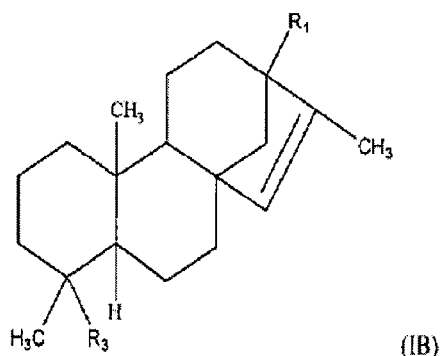
onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila;

onde  $R_2$  pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi; e

onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

Em outra modalidade particular de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde  $x$  é uma ligação dupla e  $n$  é 0, o produto

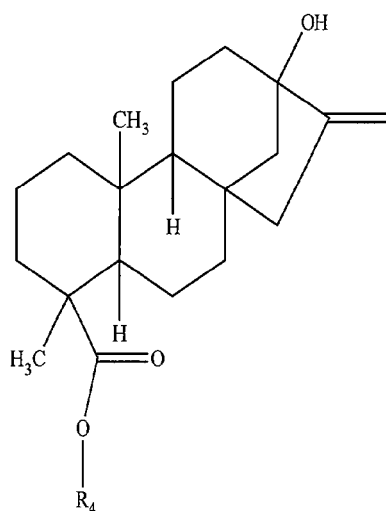
derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IB:



onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila; e

5 onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

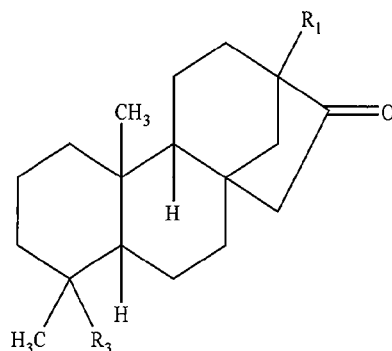
10 Em outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química:



onde  $R_4$  pode ser um monossacarídeo.

15 Em ainda outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química:

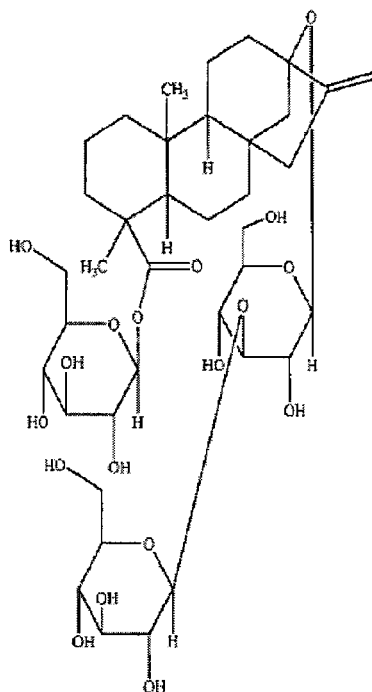
5



onde R<sub>1</sub> pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou um hidróxi;

5 onde R<sub>3</sub> pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

Em ainda outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química:



10

Outros objetos, características e vantagens da invenção estarão evidentes na descrição, nas figuras e nas reivindicações detalhadas a seguir. Salvo indicação em contrário, todos os termos técnicos e científicos e

abreviaturas usados aqui têm o mesmo significado compreendido por aqueles normalmente versados na técnica a qual pertence esta invenção. Embora os métodos e composições semelhantes ou equivalentes àqueles descritos aqui possam ser usados na prática da presente invenção, métodos e composições apropriados são descritos, sem qualquer intenção de limitar esta invenção.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Será feita uma referência detalhada às modalidades apresentadas nesta invenção. Cada exemplo é fornecido por meio da explicação das modalidades da invenção, sem constituir limitação a esta. De fato, ficará evidente para aqueles versados na técnica que várias modificações e variações poderão ser feitas na presente invenção, sem se afastar dos princípios ou do escopo da invenção. Por exemplo, as características ilustradas e descritas como parte de uma modalidade podem ser usadas em outra modalidade para fornecer ainda outra modalidade. Dessa maneira, pretende-se que a presente invenção abranja essas modificações e variações, dentro do escopo das reivindicações anexas e seus equivalentes.

Brevemente descritas, as modalidades da presente invenção incluem produtos derivados de rebaudiosídeo A e métodos para preparação de produtos derivados de rebaudiosídeo A. Em particular, as modalidades aqui fornecidas incluem produtos derivados de rebaudiosídeo A apropriados para uso como edulcorantes.

#### **I. Métodos para Preparação de Produtos Derivados de Rebaudiosídeo A**

Em uma modalidade particular, um método para preparação de um produto derivado de rebaudiosídeo A é fornecido.

O método para preparação de produtos derivados de rebaudiosídeo A compreende, geralmente, a preparação de uma solução de uma composição de rebaudiosídeo A na forma bruta ou substancialmente puro, que compreende um composto de rebaudiosídeo A e um ácido ou base inorgânico, aquecendo-se e/ou pressurizando-se a solução a uma temperatura

e pressão suficientes para a reação do composto de rebaudiosídeo A por um tempo suficiente para obter um produto derivado de rebaudiosídeo A e recuperar o produto derivado de rebaudiosídeo A. Em uma modalidade, a temperatura suficiente para a reação do composto de rebaudiosídeo A varia de  
5 cerca de 50°C a cerca de 110°C, mais particularmente, de cerca de 65°C a cerca de 95°C, e ainda mais particularmente, de cerca de 75°C a cerca de 85°C. Qualquer meio de aquecimento apropriado conhecido por aqueles normalmente versados na técnica pode ser usado para aquecer a solução, exemplos não limitantes que incluem luz solar ou temperaturas ambientes  
10 elevadas. Em uma modalidade, o tempo suficiente para a reação do composto de rebaudiosídeo A varia de cerca de 0,5 hora a cerca de 24 horas.

Exemplos não limitantes de ácidos inorgânicos apropriados para uso nas modalidades desta invenção incluem ácido fosfórico, ácido fosforoso, ácido polifosfórico, ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico,  
15 ácido carbônico, diidrogeno fosfato de sódio e suas combinações. Exemplos não limitantes de bases inorgânicas apropriadas para uso nas modalidades desta invenção incluem hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonato de sódio, carbonato de potássio, carbonato de magnésio, carbonato de cálcio e suas combinações. Sem a pretensão de limitar-se a qualquer teoria, acredita-se  
20 que o uso de um ácido irá resultar na hidratação dos alcenos e/ou na clivagem do éster, enquanto o uso de uma base irá resultar em uma reação de saponificação que exige a adição de um ácido inorgânico para recuperar o ácido carboxílico.

Conforme usado aqui, uma composição bruta de rebaudiosídeo  
25 A compreende níveis de pureza de um composto de rebaudiosídeo A menores que cerca de 80% do composto de rebaudiosídeo A em peso, em base seca, menores que cerca de 70% em peso, em base seca, ou menores que cerca de 60% em peso, em base seca.

Conforme usado aqui, uma composição de rebaudiosídeo A

substancialmente puro compreende níveis de pureza de um composto de rebaudiosídeo A maiores ou iguais a 80% do composto de rebaudiosídeo A em peso, em base seca, iguais a cerca de 100% em peso, em base seca, superiores a cerca de 90% em peso, em base seca, superiores a cerca de 97% em peso, em base seca, superiores a cerca de 98% em peso, em base seca, ou superiores a cerca de 99% em peso, em base seca. A pureza, conforme usada aqui, representa a porcentagem do peso de um composto de rebaudiosídeo A ou de um composto derivado de rebaudiosídeo A, seja na forma bruta ou purificada. Métodos para purificação de compostos brutos de rebaudiosídeo A para obtenção de uma composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro são descritas a seguir.

O produto derivado de rebaudiosídeo A resultante geralmente compreende uma mistura de um sobrenadante e um precipitado. Em uma modalidade particular, a etapa de recuperação do produto derivado de rebaudiosídeo A compreende o isolamento do sobrenadante, do precipitado, ou sua combinação. O produto derivado de rebaudiosídeo A pode ser recuperado por meio de qualquer técnica de separação sólido-líquido apropriada. Por exemplo, o produto derivado do sobrenadante e do precipitado podem ser isolados por meio de decantação do sobrenadante e do precipitado. Outras técnicas de separação podem usar a força centrífuga, exemplos não limitantes que incluem centrífuga de cesto vertical e horizontal perfurado, centrífuga de cuba sólida, centrífuga decantadora, centrífuga tipo descascador, centrífuga tipo impulsor, centrífuga tipo Heinkel, centrífuga de discos e separação ciclone. Além disso, a separação do produto derivado de rebaudiosídeo A no sobrenadante e no precipitado pode ser aperfeiçoada por qualquer método de filtração por pressão, vácuo e gravidade, incluindo, sem limitação, o uso de filtro de correia, filtro de tambor, filtro tipo Nutsche (cartucho), filtro de folhas, filtro de placa, filtro tipo Rosenmund, filtro tipo centelhador, filtro de luvas e filtro-prensa.

O produto derivado de rebaudiosídeo A recuperado do sobrenadante pode ser opcionalmente purificado com uma solução orgânica aquosa, enquanto o produto derivado de rebaudiosídeo A do precipitado pode ser opcionalmente dissolvido em uma solução orgânica aquosa (por exemplo, metanol, etanol, isopropanol, n-propanol e misturas).

Aqueles normalmente versados na técnica devem compreender que o produto derivado de rebaudiosídeo A não estará sempre na forma purificada após a sua preparação. Portanto, em modalidades particulares, um produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender uma quantidade de cerca de 0,5% a cerca de 50% em peso do composto derivado de rebaudiosídeo A ou qualquer quantidade aproximada (ou seja, de cerca de 0,5% a cerca de 45%, de cerca de 0,5% a cerca de 40%, de cerca de 0,5% a cerca de 35%, de cerca de 0,5% a cerca de 30%, de cerca de 0,5% a cerca de 25%, de cerca de 0,5% a cerca de 15%, de cerca de 0,5% a cerca de 10%, de cerca de 0,5% a cerca de 5%, e assim por diante).

Em outras modalidades particulares, o método para preparação de um produto derivado de rebaudiosídeo A compreende ainda a purificação do produto derivado de rebaudiosídeo A. Por exemplo, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode ser purificado a partir do sobrenadante ou do precipitado por meio de cromatografia em coluna de fase normal e/ou de fase reversa. Colunas apropriadas para a purificação do produto derivado de rebaudiosídeo A podem ser determinadas por aqueles normalmente versados na técnica, sem experimentação excessiva. Em modalidades particulares, as frações resultantes do produto derivado de rebaudiosídeo A podem ser reprocessadas (por exemplo, usando-se cromatografia em coluna ou outros métodos de purificação) para a purificação dos produtos derivados de rebaudiosídeo A. Em ainda outras modalidades, as frações resultantes do produto derivado de rebaudiosídeo A podem ser concentradas por qualquer método de concentração adequado que seja conhecido por aqueles

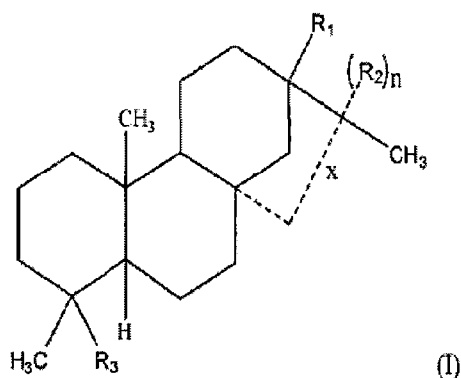
normalmente versados da técnica (por exemplo, cromatografia líquida de alta eficiência).

Portanto, as modalidades particulares podem compreender produtos derivados de rebaudiosídeo A com um nível de pureza desejado. Por exemplo, em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso de um composto derivado de rebaudiosídeo A (em base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, de cerca de 97% a cerca de 99,5%, de cerca de 98% a cerca de 99,5% ou de cerca de 99% a cerca de 99,5%.

Conforme usado aqui, a frase "produto derivado de rebaudiosídeo A" é sinônima de "produto da degradação de rebaudiosídeo A" e inclui, individualmente, compostos derivados de rebaudiosídeo A e combinações de compostos derivados de rebaudiosídeo A. Por exemplo, as modalidades particulares de produtos derivados de rebaudiosídeo A resultantes podem compreender, individualmente, um composto derivado de rebaudiosídeo A, uma combinação de dois compostos derivados de rebaudiosídeo A, uma combinação de três compostos derivados de rebaudiosídeo A, uma combinação de quatro ou mais compostos derivados de rebaudiosídeo A, e assim por diante. Os produtos derivados de rebaudiosídeo A resultantes também podem incluir rebaudiosídeo A residual (ou seja, rebaudiosídeo A não degradado).

## **II. Produtos Derivados de Rebaudiosídeo A**

Em modalidades particulares, um composto derivado de rebaudiosídeo A é fornecido com a fórmula química I:



onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila;

onde  $R_2$  pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi;

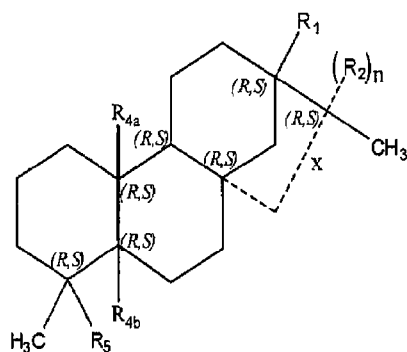
onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído;

onde  $x$  pode ser uma ligação simples ou uma ligação dupla;

onde  $n$  é 0 ou 1; e

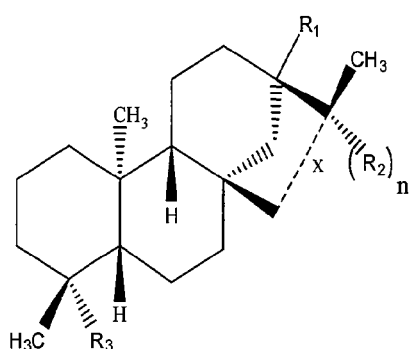
onde, quando  $x$  é uma ligação simples,  $n$  é 1 e  $R_2$  pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi; e onde, quando  $x$  é uma ligação dupla,  $n$  é 0.

Aqueles normalmente versados na técnica devem compreender que as modalidades de produtos derivados de rebaudiosídeo A aqui fornecidas podem ter uma série de estereocentros, simbolizados por  $(R,S)$ , conforme ilustrado em referência ao composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula I:

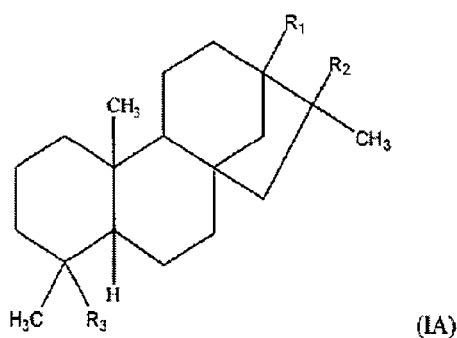


É considerado aqui que nas modalidades de compostos

derivados de rebaudiosídeo A que compreendem um ou mais estereocentros, cada estereocentro pode estar na configuração *R* ou *S*, dependendo da disposição e da orientação dos átomos no espaço. Salvo indicação em contrário, deve ser compreendido que as modalidades de compostos derivados de rebaudiosídeo A aqui fornecidas podem incluir qualquer configuração estereoquímica apropriada. Por exemplo, em uma modalidade particular, os compostos derivados de rebaudiosídeo A com a fórmula química I possuem a seguinte estrutura química:



Em uma modalidade de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde *x* é uma ligação simples e *n* é 1, o composto derivado de rebaudiosídeo A possui a fórmula química IA:

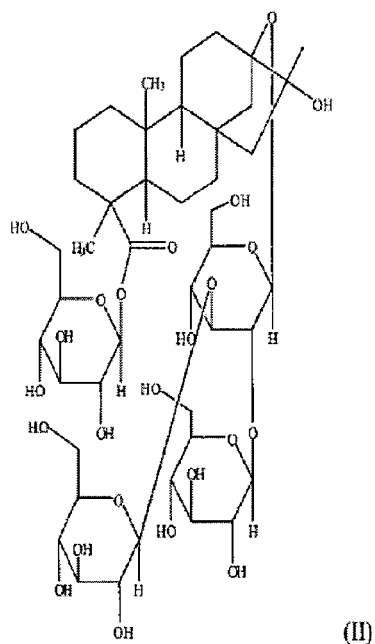


onde *R*<sub>1</sub> pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila;

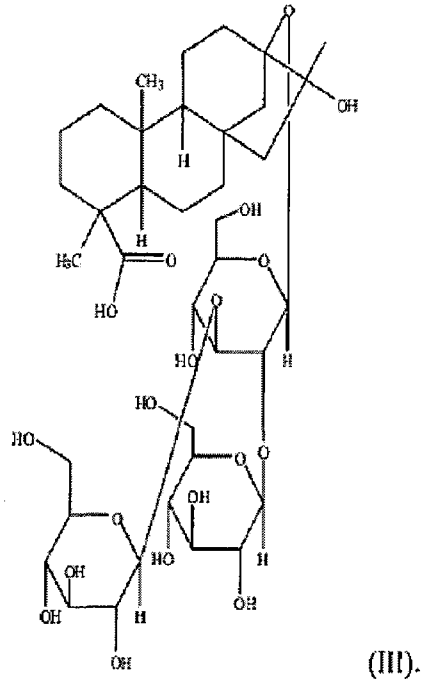
onde *R*<sub>2</sub> pode ser um hidrogênio, hidroxila ou alcóxi; e

15 onde *R*<sub>3</sub> pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

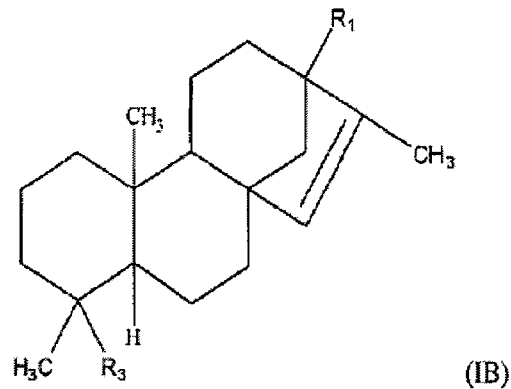
Em uma submodalidade de composto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde  $R_1$  inclui um oligossacarídeo que compreende três açúcares,  $R_2$  compreende uma hidroxila e  $R_3$  compreende um sacarídeo substituído por carboxila, o produto derivado de rebaudiosídeo A  
5 compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química II:



Em outra submodalidade de composto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde  $R_1$  inclui um oligossacarídeo que compreende três açúcares,  $R_2$  compreende uma hidroxila e  $R_3$  compreende  
10 uma carboxila, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química III:



Em uma modalidade de composto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula I, onde x é uma ligação dupla e n é 0, o composto derivado de rebaudiosídeo A possui a fórmula química IB:

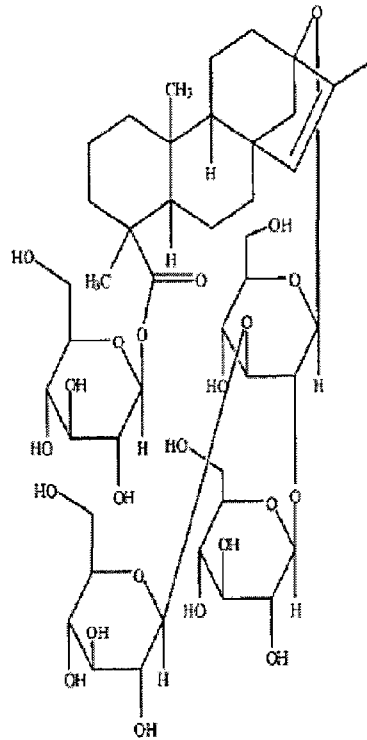


5 onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou uma hidroxila; e

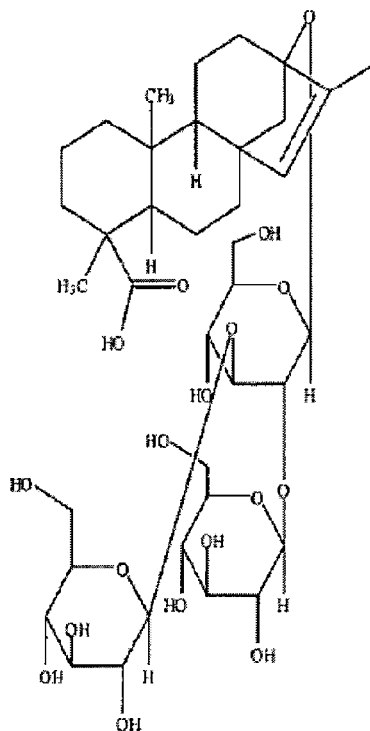
onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

10 Em uma submodalidade de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula IB, onde  $R_1$  é um oligossacarídeo que compreende três açúcares

e  $R_3$  compreende um sacarídeo substituído por carboxila, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IV:

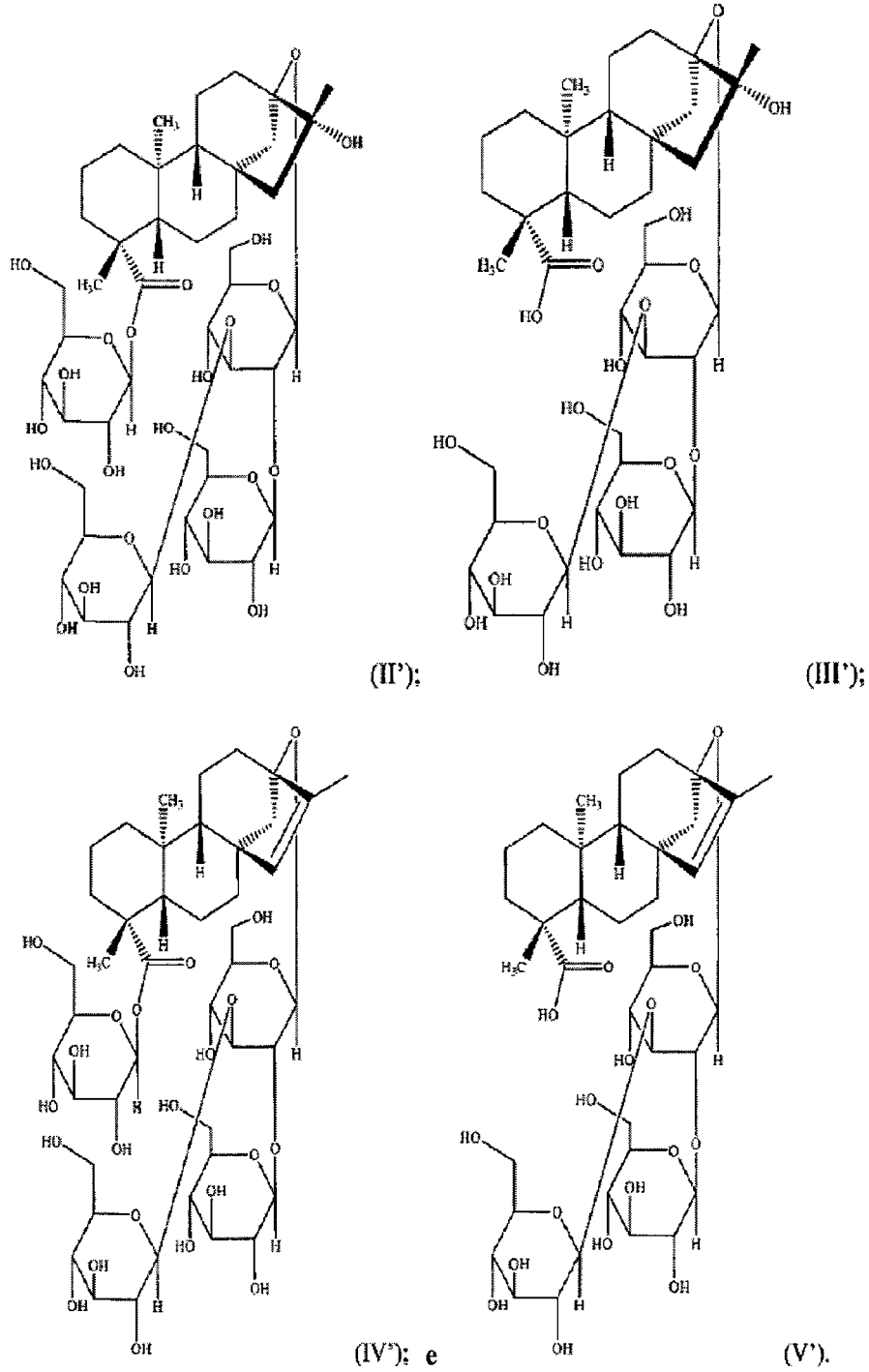


Em outra submodalidade de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula IB, onde  $R_1$  é um oligossacarídeo que  
 5 compreende três açúcares e  $R_3$  é um grupo carboxila, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química V:

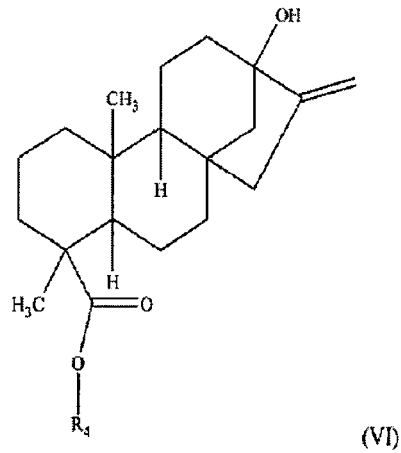


(V).

Conforme descrito anteriormente, os produtos derivados de rebaudiosídeo A podem ter qualquer configuração estereoquímica apropriada que seja conhecida por aqueles normalmente versados na técnica. Por exemplo, as configurações estereoquímicas particulares dos compostos mencionados anteriormente com as fórmulas químicas II, III, IV e V, podem compreender compostos com as configurações estereoquímicas de fórmulas químicas II', III', IV' e V', respectivamente:



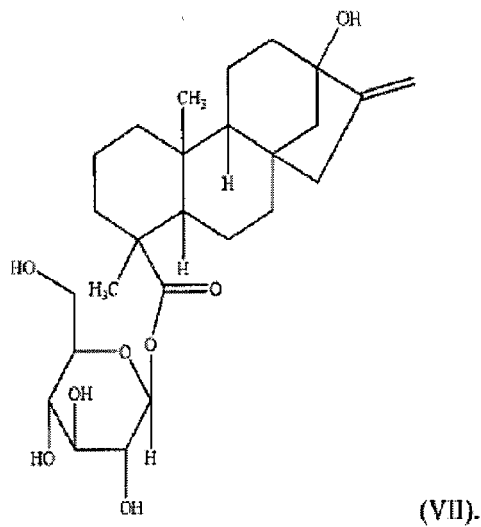
Em outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto com a fórmula química VI:



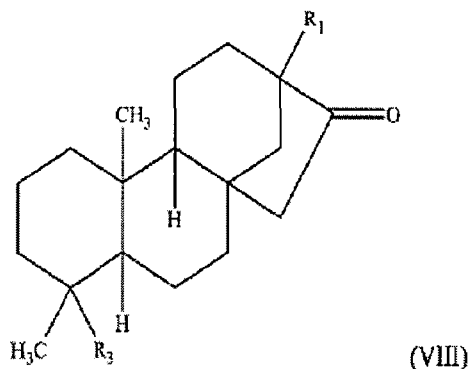
onde  $R_4$  pode ser um monossacarídeo.

Em uma submodalidade de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula química VI, onde  $R_4$  é uma glicose, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com

5 a fórmula química VII:



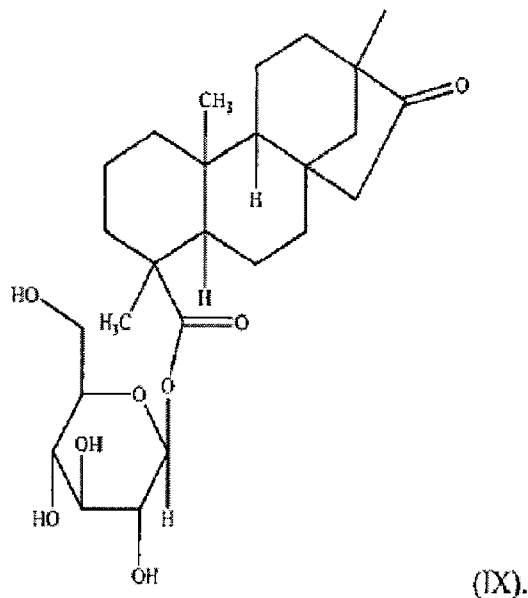
Em outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química VIII:



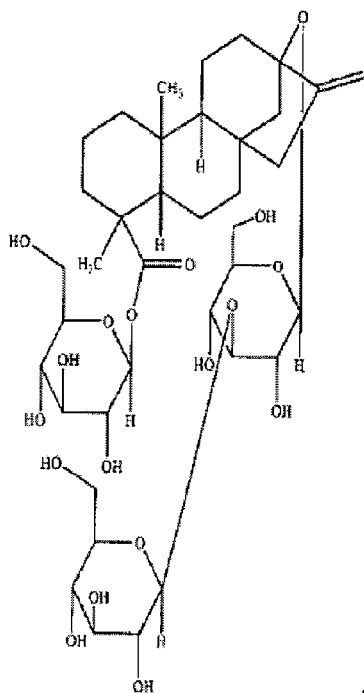
onde  $R_1$  pode ser um monossacarídeo, um oligossacarídeo que compreende dois ou três açúcares, uma alquila ou um hidróxi; e

5 onde  $R_3$  pode ser um hidrogênio, hidroxila, alcóxi, alquenila, alquinila, uma alquila, alquenila ou alquinila cíclica de cadeia reta ou ramificada, grupo arila, heteroarila, heterocíclico ou acila que é substituído ou não substituído.

Em uma submodalidade de produto derivado de rebaudiosídeo A de fórmula VIII, onde  $R_1$  é uma metila e  $R_3$  é glicose, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IX:

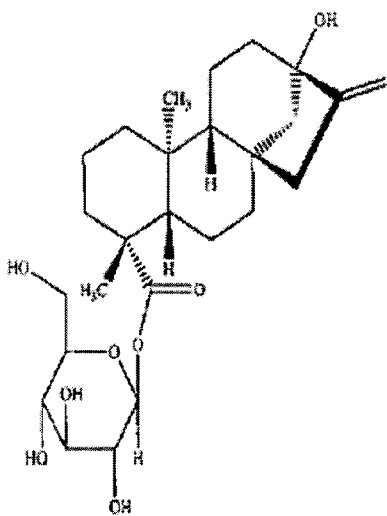


Em ainda outra modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A compreende um composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química X:

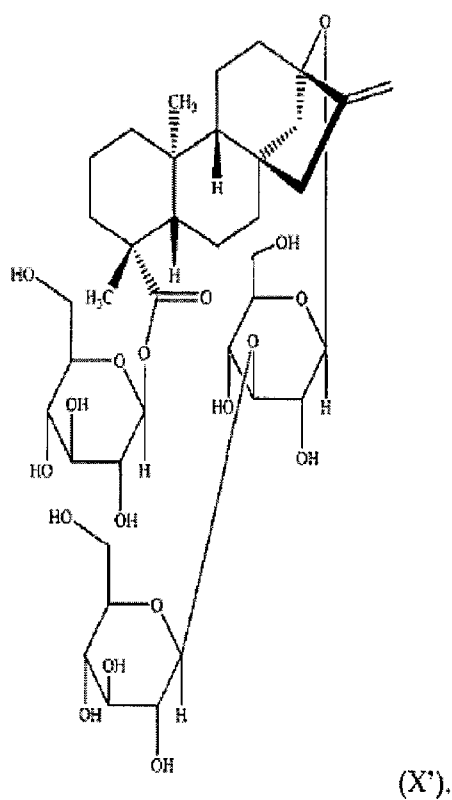
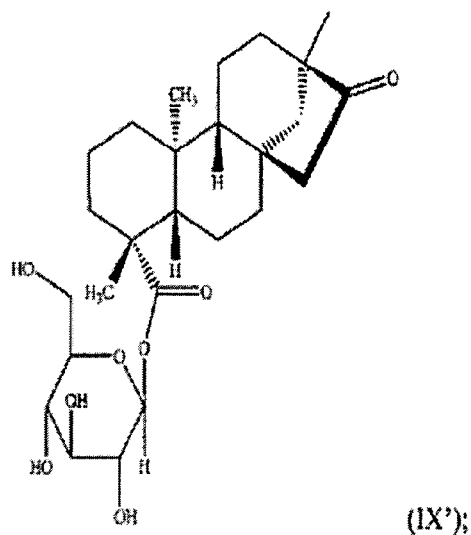


(X).

Conforme descrito aqui, os produtos derivados de rebaudiosídeo A mencionados anteriormente podem ter qualquer configuração estereoquímica apropriada que seja conhecida por aqueles normalmente versados na técnica. Por exemplo, as configurações estereoquímicas particulares dos compostos com as fórmulas químicas VII, IX e X podem compreender compostos com as configurações estereoquímicas de fórmulas químicas VII', IX' e X', respectivamente:



(VII');



Conforme estabelecido anteriormente, as modalidades particulares podem compreender os produtos derivados de rebaudiosídeo A em qualquer nível de pureza desejado. Por exemplo, em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender qualquer nível de pureza apropriado do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química I, do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química II, do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química III, do

composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IV, do  
composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química V, do  
composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química VI, do  
composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química VII, do  
5 composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química VIII, do  
composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IX, do  
composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química X, ou  
qualquer de suas combinações.

Por exemplo, em uma modalidade, o produto derivado de  
10 rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em  
peso do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química II (em  
base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de  
99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%,  
de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada. Em  
15 uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender  
de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso do composto derivado de  
rebaudiosídeo A com a fórmula química III (em base seca), de cerca de 75% a  
cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca  
de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de  
20 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada. Em uma modalidade, o produto  
derivado de rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de  
99,5% em peso do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula  
química IV (em base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de  
80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a  
25 cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade  
aproximada. Em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A  
pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso do composto  
derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química V (em base seca), de  
cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca

85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada. Em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química VII (em base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada. Em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química IX (em base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada. Em uma modalidade, o produto derivado de rebaudiosídeo A pode compreender de cerca de 50% a cerca de 99,5% em peso do composto derivado de rebaudiosídeo A com a fórmula química X (em base seca), de cerca de 75% a cerca de 99,5%, de cerca de 80% a cerca de 99,5%, de cerca de 85% a cerca de 99,5%, de cerca de 90% a cerca de 99,5%, de cerca de 95% a cerca de 99,5%, ou qualquer quantidade aproximada.

### 20 **III. Purificação de Rebaudiosídeo A**

Os produtos derivados de rebaudiosídeo A podem ser obtidos a partir da composição de rebaudiosídeo A em sua forma bruta, como extraídos das plantas de estévia, ou em sua forma purificada. Em modalidades particulares, a composição de rebaudiosídeo A é purificada antes de seus derivados por meio de métodos divulgados no Pedido de Patente US 25 11/751.627, depositado em 21 de maio de 2007, que reivindica prioridade aos Pedidos Provisórios US 60/805.216, depositado em 19 de junho de 2006, e 60/889.318, depositado em 12 de fevereiro de 2007, cujas divulgações são incorporadas aqui por referência em sua totalidade.

Brevemente descrita, a composição de rebaudiosídeo A em sua forma bruta pode ser purificada por recristalização. As impurezas primárias, identificadas por HPLC, são o dulcosídeo A, esteviosídeo, esteviolbiosídeo, rebaudiosídeo B, rebaudiosídeo C, rebaudiosídeo D e rebaudiosídeo F. A  
5 impureza rebaudiosídeo D pode ser removida por meio do aumento da quantidade de água em um solvente orgânico aquoso de recristalização, no entanto, o conteúdo excessivo de água no solvente de cristalização resultará em uma menor recuperação de rebaudiosídeo A. A impureza de rebaudiosídeo B pode ser reduzida significativamente por meio da mistura da composição de  
10 rebaudiosídeo A em uma solução orgânica aquosa, ou por meio do tratamento da solução de rebaudiosídeo A na forma bruta com uma resina de troca iônica. Dessa maneira, o método de purificação depende das impurezas presentes no material de partida de rebaudiosídeo A na forma bruta.

Em uma modalidade exemplar, a composição de rebaudiosídeo  
15 A pode ser purificada pela combinação de rebaudiosídeo A na forma bruta com uma solução orgânica aquosa para formar uma solução de rebaudiosídeo A. Uma solução orgânica aquosa compreende água em uma quantidade de cerca de 10% a cerca de 25% em peso e pelo menos um solvente orgânico. Alternativamente, a solução orgânica aquosa compreende água em uma  
20 quantidade de cerca de 15% a cerca de 20% em peso e pelo menos um solvente orgânico.

Os solventes aquosos orgânicos, conforme usados aqui, referem-se a misturas de água e pelo menos um solvente orgânico. Exemplos não limitantes de solventes orgânicos incluem álcool, acetona e acetonitrila. O  
25 álcool, conforme usado aqui, se refere a qualquer alquila, alquenila ou alquiñila cíclica de cadeia reta ou ramificada, substituída ou não substituída, ligada a pelo menos uma fração hidroxila. Exemplos não limitantes de alcoóis incluem etanol, metanol, isopropanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, terc-butanol e isobutanol.

Em uma modalidade exemplar, a solução orgânica aquosa compreende uma mistura de água e pelo menos um solvente orgânico. Em outra modalidade exemplar, pelo menos um solvente orgânico compreende um álcool, sendo que o álcool compreende etanol, metanol ou suas misturas.

- 5 Em modalidades exemplares onde o solvente orgânico compreende uma mistura de etanol e metanol, sendo o etanol e o metanol combinados no solvente orgânico aquoso em uma razão de peso que varia de cerca de 20 partes para cerca de 1 parte de etanol para cerca de 1 parte de metanol. Em outra modalidade exemplar, o etanol e o metanol são combinados no solvente orgânico aquoso em uma razão de peso que varia de cerca de 3 partes para  
10 cerca de 1 parte de etanol para cerca de 1 parte de metanol.

- Em uma modalidade exemplar, a solução de rebaudiosídeo A compreende o solvente orgânico aquoso e o rebaudiosídeo A na forma bruta em uma razão de peso que varia de 10 partes para cerca de 4 partes do  
15 solvente orgânico aquoso para cerca de 1 parte da composição de rebaudiosídeo A na forma bruta. Em outra modalidade exemplar, a solução de rebaudiosídeo A compreende a solução orgânica aquosa e a composição de rebaudiosídeo A na forma bruta em uma razão de peso que varia de 5 partes para cerca de 3 partes do solvente orgânico aquoso para cerca de 1 parte da  
20 composição de rebaudiosídeo A na forma bruta.

- Em uma modalidade exemplar, o método é realizado próximo à temperatura ambiente. Em outra modalidade, o método compreende ainda a etapa de aquecimento da solução de rebaudiosídeo A. Em uma modalidade, a etapa de aquecimento da solução de rebaudiosídeo A compreende o  
25 aquecimento da solução de rebaudiosídeo A a uma temperatura que varia entre cerca de 20°C e cerca de 70°C, mais desejavelmente entre cerca de 20°C e cerca de 50°C, e ainda mais desejavelmente entre cerca de 20°C e cerca de 40°C. Em outra modalidade, a etapa de aquecimento da solução de rebaudiosídeo A compreende o aquecimento da solução de rebaudiosídeo A a

uma temperatura de refluxo. A etapa de aquecimento da solução de rebaudiosídeo A compreende o aquecimento da solução de rebaudiosídeo A por cerca de 0,25 hora a cerca de 8 horas. Em outra modalidade exemplar, em que o método para purificação de rebaudiosídeo A compreende a etapa de aquecimento da solução de rebaudiosídeo A, sendo que o método compreende ainda a etapa de resfriamento da solução de rebaudiosídeo A. Em uma modalidade, a etapa de resfriamento da solução de rebaudiosídeo A compreende o resfriamento da solução de rebaudiosídeo A a uma temperatura que varia de cerca de 4°C a cerca de 25°C. A etapa de resfriamento da solução de rebaudiosídeo A compreende o resfriamento da solução de rebaudiosídeo A por cerca de 0,5 hora a cerca de 24 horas.

O método para purificação de rebaudiosídeo A compreende ainda a etapa de cristalização, a partir da solução de rebaudiosídeo A, em uma única etapa, de uma composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro que compreende um composto de rebaudiosídeo A em uma quantidade superior a cerca de 95% em peso, em base seca. Em outras modalidades exemplares, a composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro compreende níveis de pureza de rebaudiosídeo A superiores a cerca de 97% do composto de rebaudiosídeo A em peso, em base seca, superiores a cerca de 98% em peso, em base seca, ou superiores a cerca de 99% em peso, em base seca. Durante a etapa única de cristalização, a solução de rebaudiosídeo A pode ser ou não agitada.

Em uma modalidade exemplar, o método compreende ainda a etapa de semeadura (etapa opcional) da solução de rebaudiosídeo A a uma temperatura apropriada com cristais de rebaudiosídeo A substancialmente puros suficientes para promover a cristalização do rebaudiosídeo A para formar rebaudiosídeo A na forma pura. Uma quantidade de rebaudiosídeo A suficiente para promover a cristalização do rebaudiosídeo A substancialmente puro compreende uma quantidade de rebaudiosídeo A de cerca de 0,0001% a

cerca de 1% em peso do rebaudiosídeo A presente na solução. Em outra modalidade, uma quantidade de rebaudiosídeo A suficiente para promover a cristalização do rebaudiosídeo A para formar uma composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro compreende uma quantidade de rebaudiosídeo de cerca de 0,01% a cerca de 1% em peso. A temperatura adequada para a etapa de semeadura compreende uma temperatura que varia de cerca de 18°C a cerca de 35°C.

Em outra modalidade exemplar, o método compreende ainda as etapas de separação e lavagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro. A composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro pode ser separada da solução orgânica aquosa por uma variedade de técnicas de separação sólido-líquido que usam a força centrífuga, incluindo, entre outros, centrífuga de cesto vertical e horizontal perfurado, centrífuga de cuba sólida, centrífuga decantadora, centrífuga tipo descacador, centrifugação tipo impulsor, centrífuga tipo Heinkel, centrífuga de discos e separação ciclone. Além disso, a separação pode ser aperfeiçoada por qualquer método de filtração por pressão, vácuo e gravidade, incluindo, entre outros, o uso de filtro de correia, filtro de tambor, filtro tipo Nutsche (cartucho), filtro de folhas, filtro de placa, filtro tipo Rosenmund, filtro tipo centelhador, filtro de luvas e filtro-prensa. A operação do dispositivo de separação sólido-líquido do rebaudiosídeo A pode ser contínua, semicontínua ou em batelada. A composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro também pode ser lavada no dispositivo de separação por vários solventes orgânicos aquosos e suas misturas. A composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro pode ser parcial ou totalmente seca no dispositivo de separação por quaisquer tipos de gases, incluindo, entre outros, nitrogênio e argônio, para evaporar o solvente líquido residual. A composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro pode ser automática ou manualmente removida do dispositivo de separação usando-se líquidos, gases ou meios mecânicos por meio da

dissolução do sólido ou da manutenção da forma sólida.

Em ainda outra modalidade exemplar, o método compreende também a etapa de secagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro. Esses métodos são conhecidos por aqueles versados na técnica e incluem, entre outros, o uso de um secador rotativo a vácuo, secador de leito fluidizado, secador de túnel rotativo, secador de placas, secador de bandeja, secador do tipo Nauta, secador por pulverização, secador por vaporização instantânea, secador por micronização, secador em panela, secador com pás de alta e baixa velocidade e secador de microondas. Em uma modalidade exemplar, a etapa de secagem compreende a secagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro por meio da purificação do nitrogênio ou do argônio para a remoção do solvente residual a uma temperatura que varia de cerca de 40°C a 60°C, por cerca de 5 horas a cerca de 100 horas.

Em ainda outra modalidade exemplar, em que a mistura de rebaudiosídeo A na forma bruta compreende nenhuma impureza rebaudiosídeo D, o método compreende também a etapa de mistura da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro com um solvente orgânico aquoso antes da etapa de secagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro. A pasta fluida é uma mistura que compreende um sólido e um solvente orgânico ou orgânico aquoso, em que o sólido compreende a composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro e é moderadamente solúvel no solvente orgânico ou orgânico aquoso. Em uma modalidade, a composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro e o solvente orgânico aquoso estão presentes na massa fluida numa razão de peso que varia de cerca de 15 partes para cerca de 1 parte do solvente orgânico aquoso para cerca de 1 parte da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro. Em uma modalidade, a pasta fluida é mantida em temperatura ambiente. Em outra modalidade, a etapa de mistura compreende

o aquecimento da pasta fluida a uma temperatura que varia de cerca de 20°C a cerca de 40°C. A composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro é misturada por cerca de 0,5 hora a 24 horas.

5 Em ainda outra modalidade exemplar, o método compreende também as etapas de separação da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro do solvente orgânico aquoso da pasta fluida e a lavagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro, seguidos da etapa de secagem da composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro.

10 Caso seja desejado purificação adicional, o método para purificação de rebaudiosídeo A descrito aqui pode ser repetido, ou a composição de rebaudiosídeo A substancialmente puro pode ainda ser purificada por meio de um método de purificação alternativo, como a cromatografia em coluna.

15 Pureza, conforme aqui usado, representa a porcentagem em peso, de rebaudiosídeo A presente em uma composição de rebaudiosídeo A na forma bruta ou purificada. Em uma modalidade, uma composição de rebaudiosídeo A compreende o rebaudiosídeo A com uma determinada pureza, com o resíduo da composição que compreende uma mistura de outros  
20 glicosídeos de esteviol ou qualquer componente diferente de rebaudiosídeo A. A pureza da composição pode ser medida por meio de métodos conhecidos por aqueles normalmente versados na técnica. Um desses métodos inclui a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Aquelos normalmente versados na técnica também devem apreciar que a umidade da amostra pode  
25 afetar a precisão das medições de pureza. Portanto, é particularmente desejável que a composição seja substancialmente seca. Conforme usado aqui, uma composição substancialmente seca compreende até cerca de 10% em peso de umidade.

### **III. Aplicações dos Produtos Derivados de Rebaudiosídeo A**

Os produtos derivados de rebaudiosídeo A podem ser usados isoladamente ou em combinação com transportadores ou agentes de volume apropriados, conforme descrito no Pedido de Patente US 11/555.962, depositado em 2 de novembro de 2006, por Prakash, et al., cuja divulgação é incorporada aqui por referência em sua totalidade. Além disso, o perfil de sabor e/ou temporal dos produtos derivados de rebaudiosídeo A pode(m) ser modificado(s) por meio da combinação dos produtos derivados de rebaudiosídeo A com uma ou mais composições que aumentam o sabor adocicado, a fim de melhorar as características de sabor e gosto, assemelhando-se ao açúcar. As combinações de edulcorantes e composições que aumentam o sabor adocicado são descritas nos Pedidos de Patente US 11/561.148 e 11/561.158, ambos depositados em 17 de novembro de 2006, por Prakash, et al., cujas divulgações são incorporadas aqui por referência em sua totalidade. Além disso, os produtos derivados de rebaudiosídeo A podem ser usados isoladamente ou em combinação com outros edulcorantes naturais e/ou sintéticos e, opcionalmente, com composições que aumentam o sabor adocicado em composições que podem ser acrescidas de edulcorantes.

Conforme usado aqui, as expressões "composição para ingestão oral" e "composição que pode ser acrescida de edulcorante" são sinônimas e se referem a substâncias que entram em contato com a boca humana ou de um animal, incluindo substâncias que são ingeridas e posteriormente expelidas pela boca, e substâncias que são introduzidas na forma de líquidos, sólidos, por deglutição ou por outra forma de ingestão, e que são seguras para o consumo humano ou animal quando usadas dentro dos limites geralmente aceitáveis. Essas composições incluem alimentos, bebidas, farmacêuticos, tabaco, nutracêuticos, produtos de higiene oral/cosméticos e similares. Exemplos não limitantes desses produtos incluem bebidas carbonatadas e não carbonatadas, como refrigerantes à base de cola, cervejas de gengibre, cervejas à base de raízes, cidras, refrigerantes com sabor de

frutas (por exemplo, refrigerantes com sabor de frutas cítricas, como limão ou laranja), refrigerantes em pó e similares; sucos com sabor de frutas ou hortaliças, sucos de frutas contendo suco natural de frutas ou similares, sucos de frutas contendo pedaços de fruta, bebidas de frutas, bebidas de suco de frutas, bebidas contendo suco natural de frutas, bebidas com sabor de frutas, sucos à base de hortaliças, sucos contendo hortaliças e sucos mistos contendo frutas e hortaliças, bebidas esportivas, bebidas energéticas, bebidas levemente gaseificadas de baixa caloria e bebidas similares (por exemplo, água contendo flavorizantes naturais ou sintéticos); bebidas de chá ou bebidas favoritas, como café, chocolate (cacau), chá preto, chá verde, chá de *oolong* e similares; bebidas que contenham componentes do leite, como bebidas lácteas, café contendo componentes do leite, café com leite, chá com leite, bebidas de frutas com leite, iogurtes líquidos, bebidas à base de ácido láctico ou similares; produtos lácteos; produtos de panificação; sobremesas como iogurtes, geléias, geléias líquidas, pudins, creme bávaro, manjar branco, bolos, *brownies*, *mousses* e similares, produtos alimentícios adoçados artificialmente consumidos na hora do lanche ou após as refeições; alimentos congelados; doces frios, por exemplo, tipos de sorvetes, como sorvete cremoso, sorvete à base de leite, sorvete à base de leite fermentado e similares (produtos alimentares em que edulcorantes e vários outros tipos de matérias-primas são adicionados aos produtos lácteos, e a mistura resultante é agitada e congelada), e doces gelados, como sorvetes de frutas (*sherbets*), sobremesas geladas e similares (produtos alimentares em que vários outros tipos de matérias-primas são adicionados a um líquido adocicado, e a mistura resultante é agitada e congelada); sorvete; doces em geral, por exemplo, doces assados levados ao forno ou expostos ao vapor, como bolos, biscoitos, bolachas, pães com recheio de geléia de feijão e similares; bolos de arroz e aperitivos, produtos de mesa; doces em geral, como goma de mascar (por exemplo, incluindo composições que compreendem substancialmente

composições insolúveis em água, base para goma de mascar, como chiclete ou seus substitutos, incluindo *jelutong*, *guttakay* ou certas resinas ou ceras naturais e sintéticas comestíveis), balas duras, balas mastigáveis, balas de hortelã, doces *nougat*, geléia de feijão e similares; molhos, incluindo caldas com sabor de frutas, caldas de chocolate e similares; géis comestíveis; cremes, incluindo cremes de manteiga, pasta de farinha, *chantilly* e similares; geléias, incluindo geléia de morango, marmelada e similares; pães, incluindo pães doces e similares, ou outros produtos à base de amido; tempero; condimentos em geral, incluindo molho de soja temperado usado em carne assada, frango assado, carne grelhada e similares, bem como molho de tomate, molhos, caldo de macarrão e similares; produtos de uso veterinário, para animais e animais de estimação; produtos agrícolas processados, produtos de origem animal ou frutos do mar; produtos de carne processada, como salsichas e similares; produtos de alimentos industrializados, pickles, conservas em molho de soja, quitutes, acompanhamentos; aperitivos como batata frita, biscoitos ou similares; produtos à base de cereais; drogas ou quasi-drogas que são administradas por via oral ou usados na cavidade oral (por exemplo, vitaminas, xaropes para a tosse, pastilhas para a tosse, comprimidos mastigáveis, aminoácidos, drogas ou agentes farmacêuticos com sabor amargo, acidulantes ou similares), em que as drogas podem estar na forma sólida, líquida, gelatinosa ou gasosa, como pílulas, comprimidos, *sprays*, cápsulas, xaropes, pastilhas, trociscos, pós e similares; produtos de higiene pessoal, como outras composições orais usadas na cavidade oral, como agentes refrescantes bucais, agentes colutórios, agentes enxaguatórios bucais, cremes dentais, cremes para clareamento dental, dentríficos, pulverizadores bucais, agentes de branqueamento dental e similares; suplementos dietéticos, produtos de tabaco, incluindo produtos de tabaco com/sem fumaça, como rapé, cigarros, cachimbos e tabaco de charutos, e todas as formas de tabaco, como tabaco de enchimento desfiado, tabaco em

folha, tabaco em talo, tabaco em caule, tabaco homogeneizado em folha curada, aglutinantes reconstituídos e tabaco reconstituído a partir de pó, cortes ou fontes de éter do tabaco em folha, prensado ou em outras formas, substitutos do tabaco formulados a partir de materiais sem tabaco, tabaco de mascar; alimentos para animais; e produtos nutracêuticos, que incluem qualquer alimento ou porção de um alimento que ofereça benefícios medicinais ou à saúde, incluindo a prevenção e o tratamento de doenças (por exemplo, doenças cardiovasculares e níveis elevados de colesterol no sangue, diabetes, osteoporose, inflamações ou doenças autoimunes).

10                   Em geral, a quantidade de edulcorante presente em uma composição adocicada varia muito, dependendo do tipo específico da composição que pode ser acrescida de edulcorante e da sua propriedade de doçura desejada. Aqueles normalmente versados na técnica podem discernir facilmente a quantidade apropriada de edulcorante que deve ser adicionada à

15                   composição que pode ser acrescida de edulcorante. Em modalidades particulares, os edulcorantes podem ser adicionados às composições adocicadas em uma quantidade que varia de cerca de 0,5 mg a cerca de 50 mg de edulcorante por quilograma (kg) ou litro (l) de composição que pode ser acrescida de edulcorante. Em outras modalidades particulares, aqueles

20                   versados na técnica podem determinar a quantidade dos produtos derivados de rebaudiosídeo A a fim de obter uma propriedade de doçura desejada usando os dados sensoriais e os potenciais calculados fornecidos nos exemplos anexos abaixo.

                  A presente invenção é ilustrada ainda pelos exemplos a seguir,

25                   que não devem ser interpretados de forma alguma como uma imposição de limitações ao seu escopo. Ao contrário, deve ser claramente compreendido que se pode recorrer a várias outras modalidades, modificações e seus equivalentes, cujas descrições, mediante leitura, podem servir como sugestões para aqueles versados na técnica, sem se afastar do princípio da presente

invenção e/ou do escopo das reivindicações anexas. Salvo disposição em contrário, o peso está representado em porcentagem (%).

## EXEMPLOS

### Exemplo 1

5 Soluções de rebaudiosídeo A foram preparadas por meio da dissolução de uma composição de rebaudiosídeo A (5 g, > 97% de pureza) em 0,1 M de solução de ácido fosfórico (200 mL) em pH 2. As soluções preparadas foram degradadas a  $80 \pm 5^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após a degradação, o sobrenadante foi decantado do precipitado esbranquiçado restante e então

10 purificado com 25 – 50 mL de metanol (MeOH). O precipitado foi dissolvido isoladamente em 100 mL de MeOH e diluído com água a 200 mL do volume total anterior.

Uma análise preliminar do sobrenadante e do precipitado foi feita por meio de uma coluna Synergi Hydro mantida a  $55^\circ\text{C}$  e de um sistema

15 de fase móvel ternária. As condições para análise estão resumidas na Tabela 2. As análises por HPLC foram realizadas por meio de um sistema Alliance 2695 Waters acoplado a um Detector de Arranjo de Diodos (PDA) Waters 996 ou um Detector de Aerossol Carregado (CAD) ESA Corona. A análise da amostra final foi realizada por meio de uma coluna Synergi Hydro

20 Phenomenex (4,6 x 250 mm).

**Tabela 2: Condições para QC do método de HPLC**

Parâmetro	Descrição		
Fase Móvel	0,1 M de acetato de amônio ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ) (A)		
	0,1% (v/v) de ácido acético ( $\text{HOAc}$ ) (B)		
	Acetonitrila ( $\text{MeCN}$ ) (C)		
Vazão (mL/min)	1		
Volume de Injeção ( $\mu\text{L}$ )	20 – 100		
Deteção	UV-Vis, a 210/215 nm ou CAD		
Descrição do Gradiente	% A	% B	% C
0 – 5 min	21	50	29
5 – 9 min	21	50 – 46	29 – 33
9 – 29 min	21	46	33
29 – 39 min	21 – 3	46 – 7	33 – 90
39 – 43 min	3	7	90
43 – 43,1	3 – 21	7 – 50	90 – 29

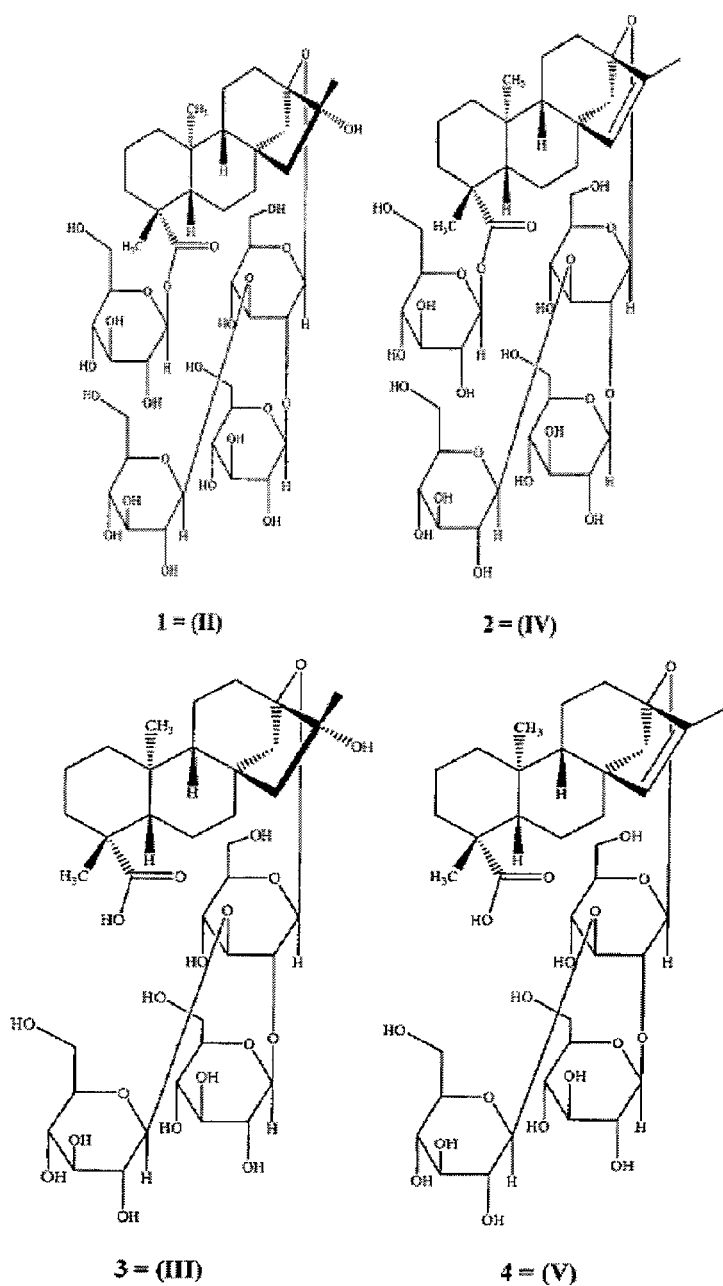
Os tempos de retenção dos componentes-alvo e suas

concentrações relativas após a degradação foram determinados por meio da análise preliminar descrita acima e estão resumidos na Tabela 3.

**Tabela 3: Amostra de Composição Derivada de Rebaudiosídeo A**

Amostra de Componente	$t_R$ (min)	RRT	Percentual de Área (%)
Rebaudiosídeo A	11,00	1,0	1,2
amostra "a"	5,64	0,51	2,5
amostra "b"	11,78	1,07	29,7
amostra "c"	10,78	0,98	3,3
amostra "d"	19,31	1,76	40,3

O sobrenadante e o precipitado isolados do sobrenadante e do precipitado dos derivados de rebaudiosídeo A foram processados com um Delta Prep LC Waters Modelo 2000/4000 acoplado a um detector UV-Vis ajustado em 215 nm. As separações por HPLC de fase reversa foram realizadas por meio de uma coluna (77 x 250 mm) Symmetry C18 Waters (10 µm) com fases móveis pré-misturadas (A) 75:25 água/acetonitrila (MeCN) e (B) 60:40 água/MeCN e separações de fase normal foram realizadas por meio de duas colunas (77 x 250 mm e 77 x 300 mm) de sílica Kromasil Akzo Novel (10 µM). O método consistiu de um gradiente de 60 minutos de 100% A 100% B, com uma vazão de 150 mL/min. Após a dissolução do sobrenadante e do precipitado, as soluções foram injetadas diretamente na coluna preparativa por meio de um filtro de linha em aço inoxidável de 20 µm. Três frações preparativas foram coletadas na purificação com as seguintes composições de analitos: (1) produto derivado 1, (2), uma mistura dos produtos derivados 2 e 3 e rebaudiosídeo A residual, e (3) uma mistura do produto derivado 4 e rebaudiosídeo A residual. As estruturas químicas dos quatro produtos derivados são como a seguir. O primeiro número representa o identificador do exemplo (por exemplo, produto derivado 1, 2, 3 ou 4), enquanto o algarismo romano representa o número da fórmula química correspondente estabelecido anteriormente.



O produto derivado 4 foi isolado, primeiramente, do precipitado, enquanto os analitos restantes (1, 2 e 3) foram isolados, primeiramente, do sobrenadante. As frações coletadas da purificação preparativa foram concentradas posteriormente por meio da extração em fase sólida (SPE). As soluções aquosas foram carregadas diretamente em uma coluna Symmetry C18, de 77 mm, equilibrada com 95:5 água/MeCN. A coluna foi lavada com um volume de coluna de 95:5 água/MeCN e, em seguida, a amostra foi eluída da coluna em 15:85 água/MeCN. As frações

foram posteriormente concentradas a vácuo, a 30-35°C, por meio de um Evaporador Rotativo Buchi modelo R-114. As amostras foram liofilizadas por um mínimo de 12 horas por meio de um liofilizador Flexi-Dry Personal Kinetics ou Savant SuperModulo Kinetics.

5                   Após a purificação de cada produto derivado, cada composto foi caracterizado com  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , COSY (espectroscopia de correlação), e HSQC (correlação quântica heteronuclear única), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) e análise de espectrometria de massa (MS). Os dados de RMN foram gerados em um instrumento Bruker DRX 500 MHz  
10 com uma sonda capilar de detecção inversa com uma célula de fluxo de 10  $\mu\text{m}$ . As amostras de cada produto derivado com variação de tamanho de 100  $\mu\text{g}$  a 0,5 mg foram dissolvidas em 0,5 mL de  $\text{CD}_3\text{OD}$ , e os espectros foram relacionados ao sinal residual do solvente ( $\delta_{\text{H}}$  3,30,  $\delta_{\text{C}}$  49,0 para  $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Os dados de espectrometria de massa foram gerados com um espectrômetro de  
15 massa triplo quadrupolo Sciex API 2000 LC/MS/MS equipado com uma fonte de ionização TurbolonSpray. Cada produto derivado foi diluído com 1:1:0.01 acetonitrila- $\text{H}_2\text{O}$ -HOAc e introduzido via infusão por meio da bomba de seringa interna. As amostras foram diluídas para produzir uma razão s/n suficiente, tipicamente de 0,1 mg/mL.

#### 20 *Purificação do Produto Derivado 1*

A primeira fração de analitos obtida por meio da fase reversa, descrita anteriormente, forneceu um produto derivado 1 com pureza >95% (área sob a curva, AUC). A solução foi posteriormente concentrada a vácuo e liofilizada. Antes da liofilização final, a amostra foi dissolvida em 250 mL de  
25 80:20 água/etanol (EtOH) e filtrada por meio de uma peneira de aço inoxidável para remover o particulado das amostras.

O produto derivado 1 foi identificado como  $\beta$ -D-glicopiranosil éster do ácido 13-[(2-O- $\beta$ -D-glicopiranosil-3-O- $\beta$ -D-glicopiranosil- $\beta$ -D-glicopiranosil)oxi]-16-hidróxi cauren-18-oico.  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$  0,86 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 0,90 (m, 1H, C<sub>9</sub>-H), 0,98 (s, 3H, C<sub>20</sub>-H), 1,07 (m, 1H, C<sub>3</sub>-H), 1,10 (m, 1H, C<sub>5</sub>-H), 1,20 (s, 3H, C<sub>19</sub>-H), 1,25 (s, 3H, C<sub>17</sub>-H), 1,36 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,42 (d,  $J=13,7$  Hz, 1H, C<sub>15</sub>-H), 1,43 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,58 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,58 (d,  $J=13,7$  Hz, 1H, C<sub>15</sub>-H), 1,64 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,74 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,79 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,80 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,83 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 1,84 (m, 1H, C<sub>14</sub>-H), 1,92 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,97 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,98 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 2,02 (d,  $J=11,5$  Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 2,05 (d,  $J=11,9$  Hz, 1H, C<sub>3</sub>-H), 3,15 (m, 1H, C<sub>40</sub>-H), 3,27 (m, 1H, C<sub>34</sub>-H), 3,37 (m, 1H, C<sub>22</sub>-H), 3,65 (m, 1H, C<sub>28</sub>-H), 3,73 (m, 1H, C<sub>29</sub>-H), 4,67 (d,  $J=7,8$  Hz, 1H, C<sub>33</sub>-H), 4,70 (d,  $J=8,2$  Hz, 1H, C<sub>27</sub>-H), 4,88 (d,  $J=7,8$  Hz, 1H, C<sub>39</sub>-H), 5,37 (d,  $J=8,2$  Hz, 1H, C<sub>21</sub>-H); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  16,0, 19,8, 20,5, 22,1, 22,8, 28,6, 30,6, 38,7, 41,5, 42,3, 43,0, 44,7, 55,7, 56,1, 58,1, 75,1, 75,7, 78,7, 79,9, 87,5, 87,9, 95,4, 96,9, 103,6, 103,9, 178,3; MS (ESI) calculado para C<sub>44</sub>H<sub>72</sub>O<sub>24</sub>: 985,03, encontrado em: ([M]<sup>+</sup>)985,5, ([M]<sup>-</sup>) 983,6.

#### 15 *Purificação dos Produtos Derivados 2 e 3*

A segunda fração de analitos que contém produtos derivados 2 e 3 e rebaudiosídeo A residual foi liofilizada. O liofilizado foi preparado para reprocessamento por meio da dissolução das alíquotas de 250 mg em 25 mL de 50:50 água/EtOH. As soluções foram processadas por uma purificação secundária de fase inversa por meio de uma coluna (50 x 250 mm) pré-embalada Symmetry C18 Waters e de fase móvel em condições isocráticas de 73:27 água/MeCN. A vazão foi mantida a 70 mL/min. Três frações purificadas foram coletadas da purificação secundária: (1) produto derivado 3, (2) rebaudiosídeo A não degradado, e (3) produto derivado 2. As frações isoladas dos produtos derivados 2 e 3 foram concentradas a vácuo e, posteriormente, liofilizadas. Antes da liofilização final, cada amostra foi dissolvida em 150 mL de água e filtrada por meio de uma peneira de aço inoxidável para remover o particulado da amostra.

O produto derivado 2 foi identificado como  $\beta$ -D-glucopiranosil

éster do ácido 13-[(2-*O*-β-*D*-glicopiranosil-3-*O*-β-*D*-glicopiranosil-β-*D*-glicopiranosil)oxi] caur-15-en-18-oico. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 0,85 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 0,86 (m, 1H, C<sub>9</sub>-H), 0,97 (s, 3H, C<sub>20</sub>-H), 1,05 (m, 1H, C<sub>3</sub>-H), 1,11 (m, 1H, C<sub>5</sub>-H), 1,21 (s, 3H, C<sub>19</sub>-H), 1,42 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,48 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,50 (m, 2H, C<sub>6</sub>-H, C<sub>11</sub>-H), 1,6 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,62 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,66 (m, 2H, C<sub>11</sub>-H, C<sub>12</sub>-H), 1,67 (m, 1H, C<sub>14</sub>-H), 1,71 (s, 3H, C<sub>17</sub>-H), 1,83 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,84 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 1,96 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 2,13 (d, *J*=12,2 Hz, 1H, C<sub>3</sub>-H), 2,22 (d, *J*=9,6 Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 3,25 (m, 1H, C<sub>40</sub>-H), 3,27 (m, 1H, C<sub>34</sub>-H), 3,35 (m, 1H, C<sub>22</sub>-H), 3,38 (m, 2H, C<sub>30</sub>-H, C<sub>41</sub>-H), 3,46 (m, 1H, C<sub>23</sub>-H), 3,61 (m, 1H, C<sub>28</sub>-H), 3,73 (m, 1H, C<sub>29</sub>-H), 4,64 (d, *J*=8,5 Hz, 1H, C<sub>27</sub>-H), 4,66 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>33</sub>-H), 4,80 (d, *J*=8,2 Hz, 1H, C<sub>39</sub>-H), 5,12 (s, 1H, C<sub>15</sub>-H), 5,39 (d, *J*=8,9 Hz, 1H, C<sub>21</sub>-H); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 12,1, 15,8, 19,9, 21,5, 28,7, 30,5, 38,8, 40,5, 41,6, 48,4, 48,9, 57,9, 75,2, 79,9, 87,2, 95,4, 96,9, 103,4, 104,0, 136,9; MS (ESI) calculado para C<sub>44</sub>H<sub>70</sub>O<sub>23</sub>: 967,01, encontrado em: ([M]<sup>+</sup> 967,4, [M]<sup>-</sup>) 965,8.

O produto derivado 3 foi identificado como ácido 13-[(2-*O*-β-*D*-glucopiranosil-3-*O*-β-*D*-glucopiranosil-β-*D*-glucopiranosil)oxi]-16-hidróxi cauren-18-oico. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 0,86 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 0,93 (t, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>9</sub>-H), 0,98 (s, 3H, C<sub>20</sub>-H), 1,0 (m, 1H, C<sub>3</sub>-H), 1,04 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,07 (m, 1H, C<sub>5</sub>-H), 1,17 (s, 3H, C<sub>19</sub>-H), 1,27 (s, 3H, C<sub>17</sub>-H), 1,37 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,42 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,42 (d, *J*=13,7 Hz, 1H, C<sub>15</sub>-H), 1,58 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,60 (d, *J*=13,7 Hz, 1H, C<sub>15</sub>-H), 1,65 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,8 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,82 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,84 (m, 1H, C<sub>14</sub>-H), 1,85 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,86 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 1,94 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,97 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,98 (d, *J*=10,0 Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 2,12 (d, *J*=12,6 Hz, 1H, C<sub>3</sub>-H), 3,12 (dd, *J*=8,2 e 8,9 Hz, 1H, C<sub>40</sub>-H), 3,25 (m, 1H, C<sub>34</sub>-H), 3,64 (m, 1H, C<sub>28</sub>-H), 3,74 (t, *J*=8,5 Hz, 1H, C<sub>29</sub>-H), 4,66 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>33</sub>-H), 4,75 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>27</sub>-H), 4,91 (d, *J*=8,2 Hz, 1H, C<sub>39</sub>-H); MS (ESI) calculado para C<sub>38</sub>H<sub>62</sub>O<sub>19</sub>: 822,89, encontrado em: ([M]<sup>+</sup>) 823,6, ([M]<sup>-</sup>) 821,7.

*Purificação do Produto Derivado 4*

Após a concentração da fração de analito que contém o produto derivado 4 e rebaudiosídeo A, um precipitado esbranquiçado é formado na solução. A solução foi filtrada a vácuo por meio de papel de filtro qualitativo Whatman N° 1. O filtrado foi seco a 40°C por aproximadamente 5 horas. A amostra foi preparada para o reprocessamento por meio da dissolução de alíquotas de 250 mg em 13:87 diclorometano (DCM)/EtOH com sonicação. A amostra foi posteriormente diluída a 250 mL com heptano antes da injeção. As soluções foram processadas por meio de uma coluna (77 mm) de sílica Kromasil Asko Novel (10 µm) com condições isocráticas de 70:30 heptano/EtOH com 0,1% de ácido acético. A vazão foi mantida a 140 mL/min. As frações isoladas do produto derivado 4 foram concentradas a vácuo e, posteriormente, liofilizadas. Antes da liofilização final, a amostra foi dissolvida em 350 mL de 13:87 DCM/EtOH e filtrada por meio de uma peneira de aço inoxidável para remover o particulado da amostra.

O produto derivado 4 foi identificado como ácido 13-[(2-*O*-β-*D*-glucopiranosil-3-*O*-β-*D*-glucopiranosil-β-*D*-glucopiranosil)oxi] caur-15-en-18-oico. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 0,86 (m, 2H, C<sub>1</sub>-H, C<sub>9</sub>-H), 0,99 (s, 3H, C<sub>20</sub>-H), 1,02 (m, 1H, C<sub>3</sub>-H), 1,08 (m, 1H, C<sub>5</sub>-H), 1,17 (s, 3H, C<sub>19</sub>-H), 1,42 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,50 (m, 2H, C<sub>7</sub>-H, C<sub>11</sub>-H), 1,52 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,58 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,68 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,69 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,72 (s, 3H, C<sub>17</sub>-H), 1,83 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,86 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 1,90 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 2,10 (d, *J*=11,9 Hz, 1H, C<sub>3</sub>-H), 2,23 (d, *J*=10,0 Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 3,13 (t, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>40</sub>-H), 3,26 (m, 1H, C<sub>34</sub>-H), 3,35 (m, 1H, C<sub>41</sub>-H), 3,39 (m, 1H, C<sub>30</sub>-H), 3,60 (m, 1H, C<sub>28</sub>-H), 3,72 (t, *J*=7,9 Hz, 1H, C<sub>29</sub>-H), 4,65 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>33</sub>-H), 4,66 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>27</sub>-H), 4,82 (d, *J*=7,8 Hz, 1H, C<sub>39</sub>-H), 5,14 (s, 1H, C<sub>15</sub>-H); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 12,2, 16,1, 19,9, 21,6, 29,0, 30,4, 38,7, 40,4, 41,8, 41,2, 44,4, 47,9, 48,8, 57,4, 70,0, 75,1, 76,0, 80,1, 87,5, 91,4, 96,6, 103,4, 104,0, 137,0, 143,7, 181,4; MS (ESI) calculado para C<sub>38</sub>H<sub>60</sub>O<sub>18</sub>: 804,87, encontrado em: ([M]<sup>+</sup>) 805,6, ([M]<sup>-</sup>) 803,6.

### *Caracterização da Propriedade de doçura do Produto Derivado*

Os produtos derivados de rebaudiosídeo A foram caracterizados como possuindo um potencial edulcorante intenso. Em particular, o potencial edulcorante dos produtos derivados de rebaudiosídeo A 3 e 4 a 500, 1.000 e 5.000 ppm foi determinado e estabelecido em cerca de 100 a cerca de 300 vezes em relação à sacarose em níveis de doçura semelhantes, enquanto os produtos derivados de rebaudiosídeo A 1 e 2 a 500, 1.000 e 5.000 ppm foram estabelecidos em cerca de 5 a cerca de 25 vezes em relação ao potencial edulcorante da sacarose em níveis de doçura semelhantes. Além disso, os produtos derivados de rebaudiosídeo A 3 e 4 apresentam um sabor doce puro, semelhante ao açúcar. Portanto, os produtos derivados de rebaudiosídeo A são apropriados para uso como edulcorantes em composições que podem ser acrescidas de edulcorantes.

### **Exemplo 2**

Uma solução de rebaudiosídeo A (100 mg, >97% de pureza) foi preparada com 0,1 M de ácido fosfórico aquoso (200 mL) em pH 2. A solução foi aquecida a 80°C por 24 horas. Uma amostra da mistura derivativa foi então analisada por meio de LC-MS (cromatografia líquida/espectrometria de massas). A análise por LC-MS foi realizada com um quadrupolo simples Sciex API 150 EX com uma fonte de ionização Ionspray operando em modo positivo, e um ELSD (detector de espalhamento de luz por evaporação) Sedere Sedex 75 operando a 50°C e a 3,5 bar. O método de LC-MS resumido na Tabela 4 usou uma coluna dC<sub>18</sub> (4,6 x 250 mm, 5 µm) Waters.

**Tabela 4: Método de LC-MS Usado para Análise de Mistura Derivativa**

Parâmetro	Descrição	
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O (0,1% de TFA) (A)	
	Acetonitrila (MeCN) (B)	
Vazão (mL/min)	1,0	
Volume de Injeção (µL)	50	
Detecção	UV-Vis a 220 nm, ELSD, e MSD (+ESI <i>m/z</i> 100-2000)	
Descrição do Gradiente	% A	% B
0-14 min	80	20
15-19 min	50	50
20-23 min	10	90

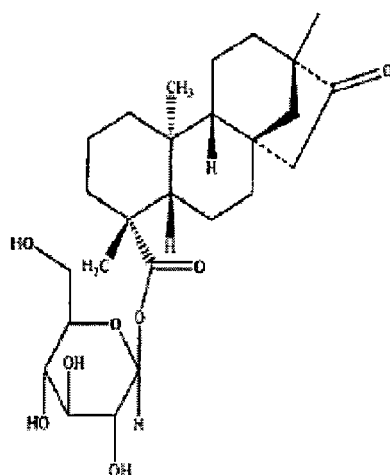
O ELSD detectou picos individuais em 10,58, 15,52 e 20,22 minutos, o que representou os produtos derivados 1, 4 e 5, respectivamente. Os produtos derivados 2 e 3 produziram um pico amplo e menos definido em 12,80-13,00 minutos. A caracterização subsequente, incluindo os métodos RMN e MS descritos no exemplo 1, confirmou as atribuições dos picos.

A purificação de cada amostra foi realizada por HPLC. Uma coluna (10  $\mu$ m) Phenomenex Prodigy C<sub>18</sub> (10 x 250 mm) foi usada, e a Tabela 5 resume as condições do método de HPLC. Uma injeção de pequena escala com um ELSD em linha indicou um padrão cromatográfico semelhante ao observado por LC-MS. Para o isolamento, o ELSD foi colocado fora de linha e a mistura de degradação foi dissolvida em 15 mL de MeCN-H<sub>2</sub>O (1:1). A mistura de degradação foi separada ao longo de oito injeções de 2,0 ml cada.

**Tabela 5: Condições do Método de HPLC para o Isolamento do Produto Derivado**

Parâmetro	Descrição	
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O (0,1% de TFA) (A)	
	Acetonitrila (MeCN) (B)	
Vazão (mL/min)	5,0	
Volume de Injeção ( $\mu$ L)	400	
Deteção	UV-Vis, a 226 nm	
Descrição do Gradiente	% A	% B
0 – 29 min	95	5
30 – 35 min	0	100

O método de HPLC da Tabela 5 produziu apenas 4 picos, que apareceram em 11,4, 12,9, 14,6 e 18,2 minutos. A caracterização posterior indicou que os produtos derivados 1 e 4 corresponderam aos picos em 11,4 e 14,6 minutos, respectivamente. 10,6 mg do produto derivado 1 e 4,6 mg do produto derivado 4 foram coletados. O produto derivado 5 foi eluído em 18,2 minutos e 4,2 mg foram coletados. Conforme descrito anteriormente, a estrutura do produto derivado 5 foi elucidada com RMN e MS. A estrutura do produto derivado 5 foi identificada como:



5 = (IX)

O produto derivado 5 foi identificado como  $\beta$ -*D*-glucopiranosil éster do ácido 13-metil-16-oxo-17-norcauren-18-oico.  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  0,81 (s, 3H,  $\text{C}_{17}\text{-H}$ ), 0,94 (s, 3H,  $\text{C}_{20}\text{-H}$ ), 0,97 (m, 1H,  $\text{C}_1\text{-H}$ ), 1,08 (m, 1H,  $\text{C}_3\text{-H}$ ), 1,22 (m, 1H,  $\text{C}_5\text{-H}$ ), 1,23 (m, 4H,  $\text{C}_{11}\text{-H}$ ,  $\text{C}_{19}\text{-H}$ ), 1,24 (m, 1H,  $\text{C}_9\text{-H}$ ), 1,38 (m, 1H,  $\text{C}_2\text{-H}$ ), 1,43 (rn, 1H,  $\text{C}_{12}\text{-H}$ ), 1,45 (m, 1 H,  $\text{C}_{14}\text{-H}$ ), 1,49 (m, 1H,  $\text{C}_7\text{-H}$ ), 1,53 (m, 1H,  $\text{C}_{12}\text{-H}$ ), 1,56 (m, 1H,  $\text{C}_{14}\text{-H}$ ), 1,68 (m, 2H,  $\text{C}_7\text{-H}$ ,  $\text{C}_{11}\text{-H}$ ), 1,71 (m, 1H,  $\text{C}_1\text{-H}$ ), 1,84 (rn, 1H,  $\text{C}_{15}\text{-H}$ ), 1,90 (m, 3H,  $\text{C}_2\text{-H}$ ,  $\text{C}_6\text{-H}$ ), 2,18 (d,  $J=13,7$  Hz, 1H,  $\text{C}_3\text{-H}$ ), 2,63 (dd,  $J=3,3$ , 18,9 Hz, 1H,  $\text{C}_{15}\text{-H}$ ), 3,33 (m, 1H,  $\text{C}_{22}\text{-H}$ ), 3,68 (dd,  $J=3,0$ , 12,2 Hz, 1H,  $\text{C}_{26}\text{-H}$ ), 3,82 (d,  $J=12,2$  Hz, 1H,  $\text{C}_{26}\text{-H}$ ), 5,39 (d,  $J=8,2$  Hz, 1H,  $\text{C}_{21}\text{-H}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  13,8, 19,6, 19,9, 21,2, 22,4, 28,8, 38,6, 38,4, 40,6, 42,2, 49,2, 54,9, 55,5, 58,3, 62,2, 95,3 para  $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_8$  ( $[\text{M}]^+$ ) 480,59. Encontrado em: MS (ESI): ( $[\text{M}]^+$ ) 481,1, ( $[\text{M}]^-$ ) 479,0.

O pico de HPLC em 12,4 minutos representou os produtos derivados 2 e 3 e rebaudiosídeo A não degradado. Portanto, um segundo método de HPLC foi usado para isolar os produtos derivados 2 e 3. O segundo método de HPLC é uma modificação do primeiro método descrito anteriormente. O segundo método usou um gradiente muito superficial de 80:20 (A:B) para 70:30 (A:B), que foi aplicado durante 40 minutos. Uma alíquota de 10 mg do material coletado em 12,4 minutos do primeiro método

de HPLC foi dissolvida em 2,0 mL de MeOH, e 1,0 mL desta solução foi injetado por execução. Duas injeções foram aplicadas e os dois picos observados por ELSD e UV foram coletados e secos. Os picos em 32,4 e 35,4 minutos corresponderam aos produtos derivados 3 e 2, respectivamente. O segundo método de HPLC produziu 3 mg do produto derivado 3 e 3,3 mg do produto derivado 2. As técnicas de caracterização posteriores descritas anteriormente, incluindo RMN e MS, foram usadas para confirmar todas as atribuições de pico.

### **Exemplo 3**

10 Amostras de bebidas simuladas foram preparadas com rebaudiosídeo A para simular formulações usadas em refrigerantes comerciais. As bebidas simuladas foram preparadas por meio da combinação de água deionizada pré-refrigerada, ingredientes secos, ácido fosfórico e rebaudiosídeo A (500 mg/L) em uma caldeira de aço inoxidável com um  
15 misturador de hélice em pH 2,8. As bebidas simuladas foram então envasadas a frio em contêineres, carbonatadas e seladas. As amostras de bebidas simuladas foram armazenadas a 40°C por 10 semanas. O armazenamento das amostras de bebidas simuladas produziu dois produtos derivados adicionais: os produtos derivados 6 e 7.

20 Os produtos derivados 6 e 7 foram isolados da solução de bebidas simuladas de 10 semanas, primeiramente, por meio da combinação de 5 frascos contendo a solução de bebidas simuladas de 10 semanas (volume total ~250 mL) e da secagem das amostras com um evaporador rotativo operado sob pressão reduzida. Uma série de etapas de cromatografia líquida  
25 foi usada para isolar os produtos derivados 6 e 7. O material concentrado foi dissolvido em 6,0 mL de H<sub>2</sub>O antes da separação por HPLC. A análise por HPLC foi realizada com uma coluna (250 x 10 mm, 10 µm) Phenomenex Prodigy C<sub>18</sub>. As condições para a análise por HPLC estão resumidas na Tabela 6.

**Tabela 6: Condições para a Análise por HPLC**

Parâmetro	Descrição	
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O (0,02% de HOAc, 0,08% de NH <sub>4</sub> OH) (A)	
	Acetonitrila (B)	
Vazão (mL/min)	5,0	
Volume de Injeção (4)	500	
Detecção	UV-Vis, a 210 nm	
Gradiente, Tempo (min.)	% A	% B
0,0	75	25
8,5	75	25
10,0	71	29
15,5	70	30
17,5	66	34
23,5	66	34
25,5	48	52
28,5	48	52
29,5	30	70
35,0	30	70
35,1	75	25
45,0	75	25
46,0	75	25

O produto derivado 6 demonstrou eluir em 20,9 minutos e o produto derivado 7 demonstrou eluir em 28,3 minutos. Ambos os picos de HPLC foram coletados e secos em N<sub>2</sub>. Cada pico foi analisado com LC-MS.

- 5 A análise por LC-MS foi realizada com um quadrupolo simples Sciex API 150 MCA com uma fonte de ionização Ionspray operando em modo negativo. Um detector Sedere Sedex 75 ELS foi usado a 50°C e a 3,5 bar. A análise da amostra foi realizada por meio de uma coluna (4,6 x 250 mm, 4 µm) Phenomenex Synergi Hydro RP. A Tabela 7 resume o método de LC-MS.

10

**Tabela 7: Método de LC-MS para os Produtos Derivados 6 e 7**

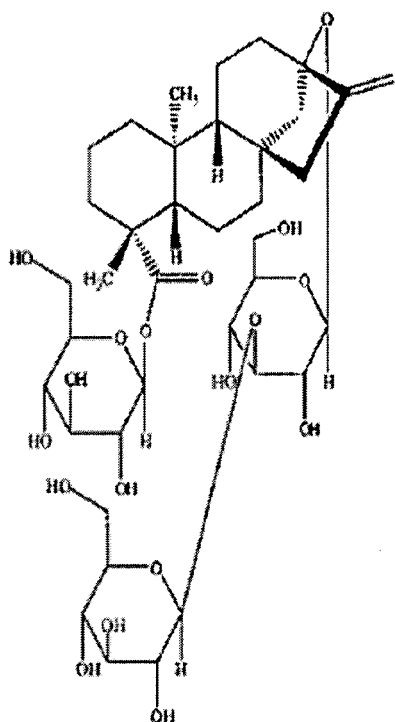
Parâmetro	Descrição	
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O (5 mM de NH <sub>4</sub> OAc) (A)	
	Acetonitrila (B)	
Vazão (mL/min)	1,0	
Volume de Injeção (A)	50	
Detecção	UV-Vis, a 220 nm, ELSD e MSD (-ESI <i>m/z</i> 100-2000)	
Gradiente, Tempo (min.)	% A	% B
0,0	75	25
8,5	75	25
10,0	71	29
15,5	70	30
17,5	66	34
23,5	66	34
25,5	48	52
28,5	48	52
29,5	30	70
35,0	30	70
35,1	75	25
45,1	75	25

Embora a LC-MS tenha confirmado a pureza do produto derivado 7, o produto derivado 6 apresentou rebaudiosídeo A residual. Portanto, um segundo ciclo de separação por HPLC, usando a mesma coluna descrita anteriormente, foi usado para coletar uma amostra pura do produto derivado 6. A Tabela 8 resume o segundo método de HPLC usado para isolar a amostra pura do produto derivado 6.

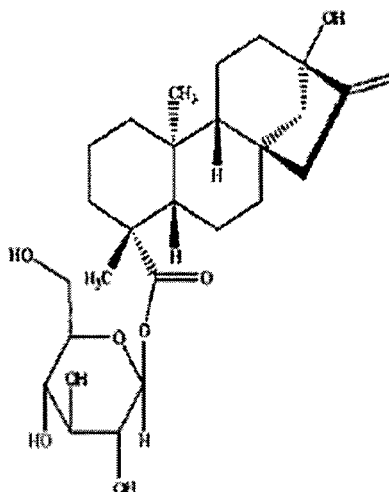
**Tabela 8: Método de HPLC para Isolamento do Produto Derivado 6**

Parâmetro	Descrição		
Fase Móvel	H <sub>2</sub> O (0,08% de NH <sub>4</sub> OAc, 0,02% de HOAc) (A)		
	Acetonitrila (MeCN) (B)		
	H <sub>2</sub> O (0,05% de HOAc) (C)		
Vazão (mL/min)	5,0		
Volume de Injeção (A)	500		
Deteção	UV-Vis, a 199 nm		
Gradiente, Tempo (min.)	% A	% B	% C
0,0	60	25	15
8,5	60	25	15
10,0	57	29	14
15,5	56	30	14
17,5	53	34	13
23,5	53	34	13
25,5	0	52	48
28,5	0	52	48
29,5	0	70	30
35,0	0	70	30
35,1	60	25	15
45,0	60	25	15
46,0	60	25	15

Durante a segunda análise por HPLC, o produto derivado 6 eluiu em 21,2 minutos. A amostra foi coletada e seca para análise. Os produtos derivados 6 e 7 foram caracterizados com RMN e MS, conforme descrito anteriormente. As estruturas dos produtos derivados 6 e 7 foram determinadas como:



6 = (X)



7 = (VII)

O produto derivado 6 foi identificado como  $\beta$ -D-glucopiranosil éster do ácido 13-[(3-O- $\beta$ -D-glucopiranosil- $\beta$ -D-glucopiranosil)oxi] caur-16-en-18-oico.  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  0,85 (m, 1H,  $\text{C}_1\text{-H}$ ), 0,98 (m, 1H,  $\text{C}_9\text{-H}$ ), 0,99 (s, 3H,  $\text{C}_{20}\text{-H}$ ), 1,06 (m, 1H,  $\text{C}_3\text{-H}$ ), 1,12 (d,  $J=11,5$  Hz, 1H,  $\text{C}_5\text{-H}$ ), 1,21 (s, 3H,  $\text{C}_{19}\text{-H}$ ), 1,42 (m, 1H,  $\text{C}_2\text{-H}$ ), 1,43 (m, 1H,  $\text{C}_7\text{-H}$ ), 1,46 (m, 1H,  $\text{C}_{12}\text{-H}$ ), 1,54 (d,  $J=12,2$  Hz, 1H,  $\text{C}_{14}\text{-H}$ ), 1,55 (m, 1H,  $\text{C}_7\text{-H}$ ), 1,67 (m, 1H,  $\text{C}_{11}\text{-H}$ ), 1,81 (m, 1H,  $\text{C}_{11}\text{-H}$ ), 1,83 (m, 1H,  $\text{C}_6\text{-H}$ ), 1,87 (m, 1H,  $\text{C}_1\text{-H}$ ), 1,94 (m, 1H,  $\text{C}_2\text{-H}$ ), 2,02 (m, 1H,  $\text{C}_{12}\text{-H}$ ), 2,05 (m, 1H,  $\text{C}_{15}\text{-H}$ ), 2,08 (m, 1H,  $\text{C}_6\text{-H}$ ), 2,14 (d,  $J=16,3$  Hz, 1H,  $\text{C}_{15}\text{-H}$ ), 2,16 (d,  $J=12,6$  Hz, 1H,  $\text{C}_3\text{-H}$ ), 2,27 (d,  $J=12,2$  Hz, 1H,  $\text{C}_{14}\text{-H}$ ), 3,13 (t,  $J=7,8$  Hz, 1H,  $\text{C}_{40}\text{-H}$ ), 3,26 (m, 1H,  $\text{C}_{34}\text{-H}$ ), 3,35 (m, 2H,  $\text{C}_{22}\text{-H}$ ,  $\text{C}_{41}\text{-H}$ ), 3,39 (m, 1H,  $\text{C}_{30}\text{-H}$ ), 3,72 (t,  $J=7,9$  Hz, 1H,  $\text{C}_{29}\text{-H}$ ), 4,65 (d,  $J=7,8$  Hz, 1H,  $\text{C}_{33}\text{-H}$ ), 4,82 (s, 1H,  $\text{C}_{17}\text{-H}$ , d,  $J=7,8$  Hz, 1H,  $\text{C}_{39}\text{-H}$ ), 5,11 (s, 1H,  $\text{C}_{17}\text{-H}$ ), 5,36 (d,  $J=8,2$  Hz, 1H,  $\text{C}_{21}\text{-H}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  12,2, 16,1, 19,9, 21,6, 29,0, 30,4, 38,7, 40,4, 41,8, 41,2, 44,4, 47,9, 48,8, 57,4, 70,0, 75,1, 76,0, 80,1, 87,5, 91,4, 96,6, 103,4, 104,0, 137,0, 143,7, 181,4 para  $\text{C}_{38}\text{H}_{60}\text{O}_{18}$  ( $[\text{M}]^+$ ) 804,87. Encontrado em: MS (ESI): ( $[\text{M}]^+$ ) 805,6,

([M]<sup>-</sup>) 8031,6.

O produto derivado 7 foi identificado como β-D-glucopiranosil éster do ácido 13-hidróxi-caur-16-en-18-oico. <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 0,85 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 0,98 (m, 1H, C<sub>9</sub>-H), 0,99 (s, 3H, C<sub>20</sub>-H), 1,06 (m, 1H, C<sub>3</sub>-H), 1,12 (d, J=11,5 Hz, 1H, C<sub>5</sub>-H), 1,21 (s, 3H, C<sub>19</sub>-H), 1,42 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 1,43 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,46 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 1,54 (d, J=12,2 Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 1,55 (m, 1H, C<sub>7</sub>-H), 1,67 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,81 (m, 1H, C<sub>11</sub>-H), 1,83 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 1,87 (m, 1H, C<sub>1</sub>-H), 1,94 (m, 1H, C<sub>2</sub>-H), 2,02 (m, 1H, C<sub>12</sub>-H), 2,05 (m, 1H, C<sub>15</sub>-H), 2,08 (m, 1H, C<sub>6</sub>-H), 2,14 (d, J=16,3 Hz, 1H, C<sub>15</sub>-H), 2,16 (d, J=12,6 Hz, 1H, C<sub>3</sub>-H), 2,27 (d, J=12,2 Hz, 1H, C<sub>14</sub>-H), 3,26 (m, 1H, C<sub>34</sub>-H), 3,35 (m, 1H, C<sub>22</sub>-H), 3,37 (m, 1H, C<sub>28</sub>-H), 4,54 (d, J=7,4 Hz, 1H, C<sub>27</sub>-H), 4,56 (d, J=7,4 Hz, 1H, C<sub>33</sub>-H), 4,82 (s, 1H, C<sub>17</sub>-H), 5,11 (s, 1H, C<sub>17</sub>-H), 5,36 (d, J=8,2 Hz, 1H, C<sub>21</sub>-H); <sup>13</sup>CRMN (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 16,0, 19,9, 22,9, 28,6, 38,7, 41,6, 42,4, 45,0, 48,4, 54,8, 58,4, 95,5, 98,9, 104,6, 105,1; para C<sub>38</sub>H<sub>60</sub>O<sub>18</sub> ([M]<sup>+</sup>) 804,87. Encontrado em: MS (ESI): ([M]<sup>+</sup>) 805,3, ([M]<sup>-</sup>) 803,5.

#### **Exemplo 4**

A intensidade de doçura dos produtos derivados de rebaudiosídeo A mencionados anteriormente foi analisada por meio da comparação da intensidade de doçura de uma amostra de água contendo uma quantidade determinada de sacarose com uma segunda amostra de água contendo uma quantidade idêntica de um produto derivado de rebaudiosídeo A. Os dados sensoriais e os potenciais calculados resultantes são fornecidos na Tabela 9 a seguir.

**Tabela 9: Intensidade de doçura do Produto Derivado de**

#### **Rebaudiosídeo A**

Edulcorante	Quantidade da Amostra (% sacarose ou produto derivado em peso)	Intensidade de doçura do Produto Derivado (comparado à quantidade equivalente de sacarose)
Produto Derivado 1 (II)	3,6	30
Produto Derivado 2 (IV)	1,1	20
Produto Derivado 3 (III)	9,7	190
Produto Derivado 4 (V)	6	120

Os dados sensoriais indicaram que os produtos derivados de rebaudiosídeo A apresentaram intensidades de doçura que variam de cerca de 30 a 120 vezes em comparação com a sacarose. Por exemplo, uma solução de 3,6% em peso de um produto derivado de rebaudiosídeo 1 (II) em água é pelo menos 30 vezes mais doce que uma solução de água com a mesma porcentagem em peso de sacarose. Portanto, acredita-se que os produtos derivados 1 (II), 2 (IV), 3 (III) e 4 (V) podem ser misturados com rebaudiosídeo A, esteviosídeo ou outros glicosídeos de esteviol para modular o gosto do edulcorante. Os produtos derivados 1 (II), 2 (IV), 3 (III) e 4 (V) também podem ser misturados com outros edulcorantes naturais não calóricos, como mogrosídeo IV, mogrosídeo V, edulcorante de *Lo Han Guo*, monatina, taumatina, brazeína, miraculina, curculina ou suas misturas. Ao combinar os produtos derivados de rebaudiosídeo A com esses edulcorantes, o sabor indesejável ou gosto residual comumente atribuído a esses edulcorantes pode ser reduzido e/ou eliminado.

A qualidade de doçura dos produtos derivados de rebaudiosídeo A 1 (II), 2 (IV), 3 (III) e 4 (V) também foi avaliada e comparada com a do rebaudiosídeo A, rebaudiosídeo B, rebaudiosídeo F e da sacarose em temperatura ambiente. Para cada atributo, os edulcorantes receberam um escore numa escala linear não estruturada de 15 pontos. A Tabela 10 mostra os escores médios e os resultados da ANOVA calculados para cada atributo após duas repetições por edulcorante. Um teste de comparação múltipla, o LSD de Fisher a 5%, auxiliou na análise comparativa dos escores. As amostras marcadas com a mesma letra para um atributo específico não foram significativamente diferentes ao nível de confiança de 95%.

**Tabela 10: Atributos Sensoriais do Produto Derivado de Rebaudiosídeo A**

Atributo	Sacarose	Produto Derivado de Rebaudiosídeo A				Amostras Comparativas			Valor p	Valor LSD
		1 (II)	2 (IV)	3 (III)	4 (V)	Reb. A	Reb. B	Reb. F		
Aroma Total*	0,40	0,17	0,09	0,09	0,19	0,16	0,28	0,29	0,73	0,380
Aroma Doce Aromático*	0,24	0,04	0,00	0,08	0,00	0,14	0,00	0,18	0,22	0,221
Aroma Envelhecido*	0,11	0,10	0,06	0,00	0,09	0,00	0,26	0,00	0,34	0,233
Sabor Total	10,73 <sup>a</sup>	3,14 <sup>c</sup>	3,58 <sup>c</sup>	10,02 <sup>a</sup>	6,44 <sup>b</sup>	9,88 <sup>a</sup>	4,20 <sup>c</sup>	5,38 <sup>b</sup>	0,00	1,066
Doçura	10,45 <sup>a</sup>	1,54 <sup>d</sup>	1,14 <sup>d</sup>	9,73 <sup>a</sup>	6,04 <sup>b</sup>	9,59 <sup>a</sup>	3,55 <sup>c</sup>	4,98 <sup>b</sup>	0,00	1,097
Amargor	1,47 <sup>c</sup>	2,28 <sup>bcd</sup>	2,86 <sup>ab</sup>	2,90 <sup>ab</sup>	2,08 <sup>cde</sup>	3,43 <sup>a</sup>	1,72 <sup>de</sup>	2,64 <sup>be</sup>	0,00	0,644
Sabor Doce Aromático	1,12 <sup>a</sup>	0,06 <sup>c</sup>	0,19 <sup>bc</sup>	0,77 <sup>ab</sup>	0,75 <sup>ab</sup>	0,71 <sup>ab</sup>	0,54 <sup>abc</sup>	0,59 <sup>abc</sup>	0,02	0,592
Sabor de Alcaçuz Negro	0,13 <sup>d</sup>	0,00 <sup>d</sup>	0,07 <sup>d</sup>	1,84 <sup>ab</sup>	1,40 <sup>bc</sup>	2,31 <sup>a</sup>	0,89 <sup>c</sup>	0,88 <sup>c</sup>	0,00	0,582
Sabor Envelhecido	0,50	1,01	1,21	0,63	0,77	0,89	0,92	1,14	0,17	0,549
Sabor Metálico	1,04	0,71	0,82	1,02	0,87	0,97	0,82	1,13	0,77	0,508
Sensação Anestésiante	0,57	0,38	0,97	1,09	0,90	0,76	0,54	0,98	0,10	0,532
Sensação de Ardência	1,06	1,11	1,45	1,15	1,23	1,29	0,97	1,35	0,25	0,388
Adstringência	3,03 <sup>ab</sup>	2,38 <sup>c</sup>	2,90 <sup>ab</sup>	3,27 <sup>a</sup>	3,01 <sup>ab</sup>	3,14 <sup>ab</sup>	2,79 <sup>bc</sup>	3,28 <sup>a</sup>	0,00	0,455
Refrescância	0,38 <sup>bc</sup>	0,29 <sup>bc</sup>	0,12 <sup>c</sup>	0,57 <sup>b</sup>	0,70 <sup>ab</sup>	1,10 <sup>a</sup>	0,57 <sup>b</sup>	0,57 <sup>b</sup>	0,00	0,443
Gosto Residual Total	5,05 <sup>b</sup>	2,18 <sup>d</sup>	2,35 <sup>d</sup>	5,72 <sup>ab</sup>	5,24 <sup>b</sup>	6,34 <sup>a</sup>	3,54 <sup>c</sup>	3,89 <sup>c</sup>	0,00	0,823
Doçura Residual	4,76 <sup>b</sup>	0,70 <sup>d</sup>	0,41 <sup>d</sup>	5,38 <sup>ab</sup>	4,85 <sup>b</sup>	5,91 <sup>a</sup>	3,11 <sup>c</sup>	3,34 <sup>c</sup>	0,00	0,855
Amargor Residual	0,97 <sup>d</sup>	1,32 <sup>cd</sup>	1,82 <sup>ab</sup>	1,75 <sup>abc</sup>	1,38 <sup>bcd</sup>	2,21 <sup>a</sup>	1,07 <sup>d</sup>	1,70 <sup>bc</sup>	0,00	0,460
Alcaçuz Negro	0,26 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	1,37 <sup>a</sup>	1,25 <sup>a</sup>	1,47 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,75 <sup>b</sup>	0,00	0,431
Doce Aromático de gosto posterior	1,01 <sup>a</sup>	0,09 <sup>d</sup>	0,20 <sup>cd</sup>	0,68 <sup>abc</sup>	0,83 <sup>ab</sup>	0,50 <sup>bcd</sup>	0,46 <sup>bcd</sup>	0,46 <sup>bcd</sup>	0,00	0,493
Gosto Envelhecido Residual*	0,58	0,56	0,74	0,41	0,47	0,48	0,63	0,81	0,53	0,414
Gosto Metálico Residual	0,67	0,67	0,88	0,83	0,63	0,80	0,47	0,88	0,69	0,480

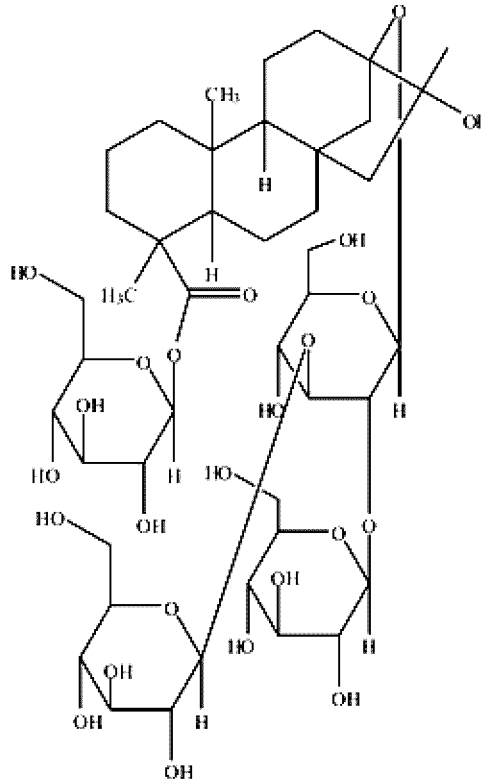
\* Mais de 50% das respostas a este atributo foram zero para todos os produtos

Conforme ilustrado pelos resultados anteriores, os produtos derivados de rebaudiosídeo A 1 (II), 2 (IV), 3 (III) e 4 (V) possuem inúmeros atributos sensoriais que não são significativamente diferentes da sacarose (isto é, ambos os produtos derivados de rebaudiosídeo A 2 (IV) e 4 (V) apresentaram 8 características que não diferem significativamente da sacarose). Mais concretamente, o sabor e a doçura total do produto derivado de rebaudiosídeo 2 (IV) são comparáveis aos de sacarose, indicando que este, provavelmente, seria um edulcorante não calórico substituto imediatamente aceito.

Embora a invenção tenha sido descrita em detalhe com relação a suas modalidades específicas, será apreciado que aqueles versados na técnica, ao atingirem a compreensão do acima exposto, poderão facilmente conceber alterações, variações e equivalentes dessas modalidades. Dessa maneira, o escopo da presente invenção deve ser avaliado bem como as reivindicações anexas e quaisquer de seus equivalentes.

## REIVINDICAÇÕES

1. Edulcorante **caracterizado pelo** fato de que compreende um composto com fórmula química:



em que o composto compreende mais do que 50% em peso do edulcorante.

2. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 75% em peso do edulcorante.

3. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 85% em peso do edulcorante.

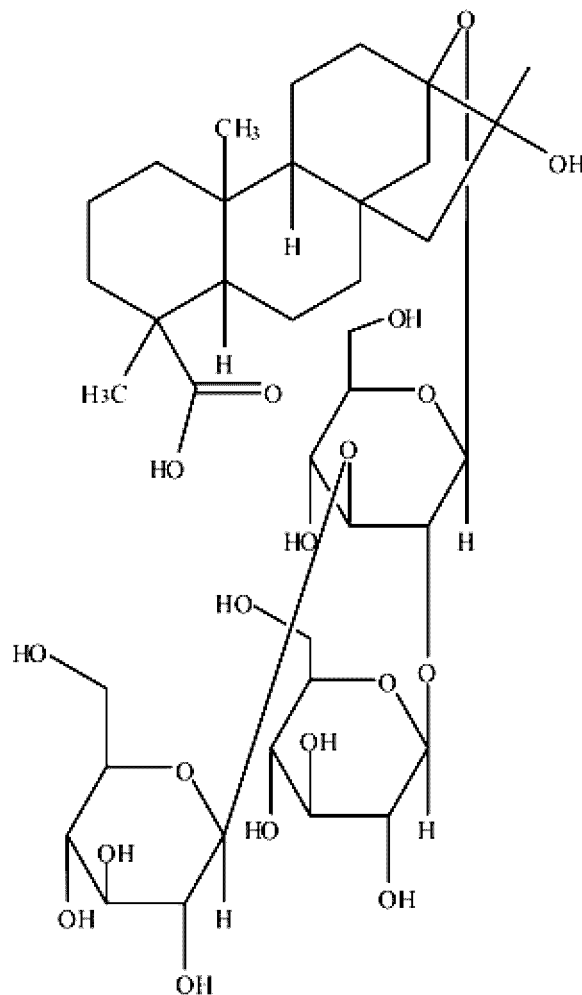
4. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do

que 95% em peso do edulcorante.

5. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 97% em peso do edulcorante.

6. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 99% em peso do edulcorante.

7. Edulcorante **caracterizado pelo** fato de que compreende um composto com fórmula química:



em que o composto compreende mais do que 50% em peso do

edulcorante.

8. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 75% em peso do edulcorante.

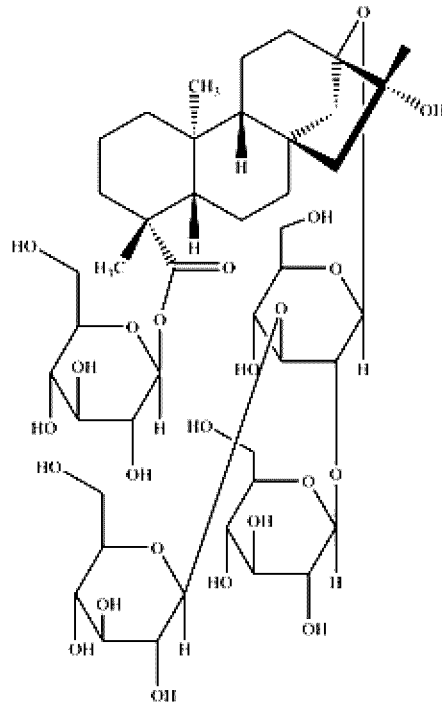
9. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 85% em peso do edulcorante.

10. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 95% em peso do edulcorante.

11. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 97% em peso do edulcorante.

12. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que o composto compreende mais do que 99% em peso do edulcorante.

13. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** fato de que a fórmula química tem a seguinte configuração estereoquímica:



14. Edulcorante, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado pelo** fato de que a fórmula química tem a seguinte configuração estereoquímica:

