(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 727 739**

(51) Int. Cl.:

A23L 23/00 (2006.01)
A23L 23/10 (2006.01)
A23L 27/20 (2006.01)
A23L 27/10 (2006.01)
A23L 27/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.06.2016** **PCT/EP2016/064334**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2016** **WO16207174**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2016** **E 16730425 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019** **EP 3313200**

(54) Título: **(5R)-(SS-D-Glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona como molécula de umami**

(30) Prioridad:

24.06.2015 EP 15173646

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.10.2019

(73) Titular/es:

SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH

(72) Inventor/es:

SCHOPP, SILKE y
MONTEIRO DE ARAUJO SILVA, MARIA

(74) Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 727 739 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

(5R)-(SS-D-Glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona como molécula de umami

La presente invención se refiere al uso de una composición para gusto y/o sabor a umami que mejore un producto alimenticio.

Muchos alimentos que se consumen hoy en día son ricos en sabor a umami. Umami representa el sabor del aminoácido L-glutamato y 5'-ribonucleótidos tales como guanosina 5'-monofosfato (GMP) y 5'-inosina monofosfato (IMP) y algunas veces también se llama el quinto sabor. La palabra umami proviene del japonés y significa delicioso y el gusto a umami puede describirse como "sabroso", "caldoso" o "a carne". La sensación de umami se debe a la activación de células receptoras de gusto reunidas en papillas gustativas, distribuidas a través de diferentes papilas de la lengua y el epitelio del paladar (Chandrashekar et al., 2006, Nature, 444, 288-294). Su efecto es balancear el gusto y completar el sabor total de un platillo. Además, umami mejora la palatabilidad de una amplia variedad de productos alimenticios. El glutamato que existen naturalmente puede encontrarse, por ejemplo, en muchas preparaciones alimenticias de carne y vegetales (Ghirri et al., 2012, International Journal of Food Sciences y Nutrition, 63(7), 872-881.).

Umami o sabroso, el gusto a carne de un producto alimenticio puede lograrse además y/o mejorarse adicionando por separado glutamato monosódico (MSG) y/o los ribonucleótidos GMP e IMP en esas recetas culinarias. Hechos productos mejoradores del gusto que comprenden tal MSG y/o ribonucleótidos han sido desarrollados por la industria alimenticia y se encuentran disponibles mundialmente en el comercio. Una amplia variedad de mejoradores de gusto listos para usar se encuentra disponible, por lo tanto, para diversas aplicaciones culinarias diferentes y en diversas formas diferentes, tales como pastas, polvos, líquidos, cubos comprimidos o gránulos.

La adición de esos aditivos culinarios ayuda a proporcionar propiedades deliciosas y mejoradas de gusto atractivo a los productos alimenticios a los cuales se han añadido. Realmente, en todo el mundo, el sabor delicioso y el gusto atractivo se perciben como uno de los atributos claves de una comida de alta calidad. Sin embargo, en muchas partes del mundo, la adición de MSG y/o ribonucleótidos ha recibido mala prensa y se percibe cada vez más negativamente por parte de los consumidores. Aunque MSG y esos ribonucleótidos existen en la naturaleza en muchos productos alimenticios, tales como en los tomates y productos cárnicos y se ha probado que son seguros por varias organizaciones, incluida la Organización Mundial de la Salud (WHO por World Health Organisation) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA por European Food Safety Authority), una publicación en el New England Journal of Medicine (Kwok, RHM, 1968 New England Journal of Medicine, 278 (14), 796) provocó especulación entre los consumidores acerca de efectos perjudiciales de MSG y ribonucleótidos, lo cual condujo a que muchos consumidores rechazaran productos que contenían grandes cantidades de tales compuestos adicionados. Por lo tanto, existe una gran necesidad de soluciones industriales que permitan reducir el uso de MSG y ribonucleótidos adicionados al alimento o productos mejoradores del gusto sin que, no obstante, se comprometa el gusto a umami y todavía se asegure la superioridad en sabor de tales productos culinarios.

La solicitante ha explorado extractos de materiales vegetales, preferiblemente guisantes verdes, para este propósito y ha encontrado que tales extractos son efectivos para el gusto a umami y/o para mejorar el sabor. La publicación WO2013/092296 describe un procedimiento para preparar una composición saborizante que tiene sabor/justo a umami y un contenido de MSG de menos de 1 % en peso (% en peso del total de la materia seca).

Aunque el guisante ha sido estudiado intensamente (por ejemplo, Jakobsen, H. B. et al. (1998) Aroma Volatiles of Blanched Green Peas [Volátiles de aroma de guisantes verdes escaldados] (Pisum sativum L.); J. Agric. Food Chem. 46, 3727-3734), casi no ha habido investigación sobre el mejoramiento de sabor y/o propiedades de umami del guisante verde.

Se han comparado compuestos volátiles extraídos de guisantes escaldados y no escaldados (Barilko-Pikielna, N., Kostyra, E. (2007), Sensory interaction of umami substances with model food matrices y its hedonic effect [Interacción sensorial de sus estancias de umami con matrices alimenticias modelo y su efecto hedonista]; Food Quality and Preference, 18(5), 751-758). Ha sido evaluada la intensidad de umami de la sopa de guisantes (Maga, J. A. (1987) Organoleptic properties of umami substances [Propiedades organolépticas de sustancias de umami]; Food Science and Technology (New York, NY, Estados Unidos), 20, 255-269). Este estudio consideró la posibilidad de mejorar el sabor del guisante adicionando MSG, pero no indicó un sabor a umami intrínseco. Además, se encontró que la adición de ribonucleótidos disminuyó la intensidad de umami.

Diferentes publicaciones de Liu, Teh-Yung; Castelfranco, Paul A. (Archives of Biochemistry and Biophisics, Volumen: 123, número: 3, páginas: 645-6, Journal, 1968), Miyamoto, K. (Plant Science Letters, 37 (1984) 47-51), Miyamoto, K. (Plant Growth Regulation, Volumen: 11, número: 4, páginas: 411-17, Journal, 1992), Zemlyanukhin, A. A. (Biochemie und Phisiologie der Pflanzen, Volumen: 179, número: 8, páginas: 679-84, Journal, 1984) han evaluado el papel de la isosuccinimida β-glucósido en el proceso de crecimiento de guisantes (retoños de guisantes). Por lo tanto, se conoce (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona como compuesto, especialmente provenientes de guisantes, pero no como un compuesto que realza umami y/o sabor.

Resumen de la invención

El objeto de la presente invención es mejorar el estado de la técnica y proporcionar una alternativa o solución mejorada al estado de la técnica para superar al menos algunos de los inconvenientes descritos antes. Particularmente, el objeto de la presente invención es proporcionar una alternativa o una solución mejorada para mejorar el gusto y/o sabor a umami de un producto alimenticio, preferiblemente para el gusto a umami de un producto alimenticio.

El objeto de la presente invención se logra por medio de objeto de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan aún más allá la idea de la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención proporciona en un primer aspecto el uso de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona para mejorar el gusto y/o el sabor a umami de un producto alimenticio, preferiblemente para el gusto a umami de un producto alimenticio.

Otros aspectos más de la presente invención se refieren a uso de una composición que comprende (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona en una cantidad de al menos 100 ppm, preferiblemente de al menos 150 ppm, preferiblemente de al menos 200 ppm, preferiblemente de al menos 250 ppm, preferiblemente de al menos 300 ppm, preferiblemente de al menos 350 ppm, preferiblemente de al menos 400 ppm, más preferiblemente de al menos 500 ppm, entre 100 ppm y 2000 ppm, entre 150 ppm y 2000 ppm, preferiblemente entre 200 ppm y 2000 ppm, entre 200 ppm y 1000 ppm, entre 250 ppm y 1000 ppm, entre 500 ppm y 2000 ppm, o entre 500 ppm y 1000 ppm de la composición total para mejorar el sabor y/o gusto a umami de un producto alimenticio, preferiblemente para el gusto a umami de un producto alimenticio.

Los inventores encontraron sorprendentemente que (5R)-(-β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona proporciona un gusto a umami y/o mejora el sabor de un producto alimenticio, preferiblemente gusto a umami de un producto alimenticio. La evidencia de esto se proporciona en la sección de ejemplos más adelante. Esta permite reducir aún más las cantidades de MSG y/o ribonucleótidos en productos alimenticios culinarios sin comprometer la riqueza del sabor y/o reducir el gusto típico y bien deseado a umami de dichos productos. También permiten generar concentrados alimenticios de sabor a umami que tienen mucho menos o no tienen MSG y/o ribonucleótidos y todavía proporcionan un gusto a umami fuerte típico si se aplica a producto alimenticio. Incluso permite generar tales concentrados alimenticios sabrosos de umami que son más fuertes y más concentrados en proporcionar un gusto de umami a producto alimenticio al aplicarse.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al uso de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona para gusto a umami y/o mejorar el sabor de un producto alimenticio, preferiblemente para gusto a umami de un producto alimenticio. Tal producto alimenticio puede ser un producto alimenticio listo para comer. También puede ser un concentrado de sabor usado para condimentar o aliñar otro producto alimenticio adicional. De manera ventajosa puede usarse (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona para adicionarse a un condimento, una ayuda de cocina o un producto concentrado alimenticio. De esta manera, la fuerza de proporcionar un gusto de umami a otro producto alimenticio adicional se mejora en dicho condimento, ayuda de cocina o producto concentrado alimenticio.

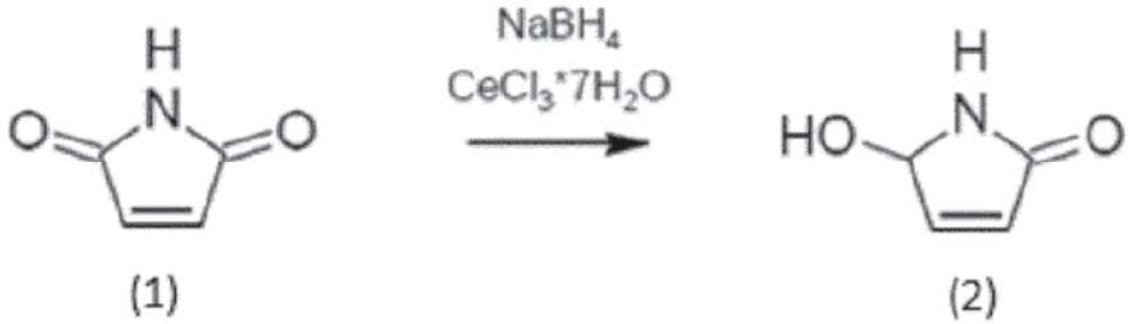
Otros aspectos de la presente invención también se refieren a uso de una composición que comprende (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona en una cantidad de al menos 100 ppm, preferiblemente de al menos 150 ppm, preferiblemente de al menos 200 ppm, preferiblemente de al menos 250 ppm, preferiblemente de al menos 300 ppm, preferiblemente de al menos 350 ppm, preferiblemente de al menos 400 ppm, más preferiblemente de al menos 500 ppm, entre 100 ppm y 2000 ppm, entre 150 ppm y 2000 ppm, preferiblemente entre 200 ppm y 2000 ppm, entre 200 ppm y 1000 ppm, entre 250 ppm y 1000 ppm, entre 500 ppm y 2000 ppm, o entre 500 ppm y 1000 ppm de la composición total para gusto a umami y/o mejorar el favor de un producto alimenticio, preferiblemente para gusto a umami de un producto alimenticio. De manera ventajosa, tal producto alimenticio puede ser un producto alimenticio listo para comer.

También se proporciona un procedimiento para el gusto a umami y/o mejorar el sabor de un producto alimenticio culinario, preferiblemente para el gusto a umami de un producto alimenticio, el cual comprende la etapa de adicionar dicho compuesto o la composición que comprende dicho compuesto a producto alimenticio. El producto alimenticio puede ser un producto alimenticio listo para comer o un concentrado de sabor. El compuesto de la invención puede proporcionar de manera inherente un gusto a umami a alimento, lo cual significa que el compuesto mismo tiene un gusto a umami. De manera alternativa o adicional, el compuesto puede mejorar el gusto a umami de un alimento, lo que significa que el compuesto puede no tener él mismo un gusto a umami, pero puede producir o incrementar el gusto a umami de un alimento que se proporciona por otros compuestos ya existentes en ese producto alimenticio.

Como un ejemplo, la concentración final de dicho compuesto en el producto alimenticio es de al menos 100 ppm, preferiblemente al menos 150 ppm, preferiblemente de al menos 200 ppm, preferiblemente de al menos 250 ppm, preferiblemente de al menos 300 ppm, preferiblemente de al menos 350 ppm, preferiblemente de al menos 400 ppm,

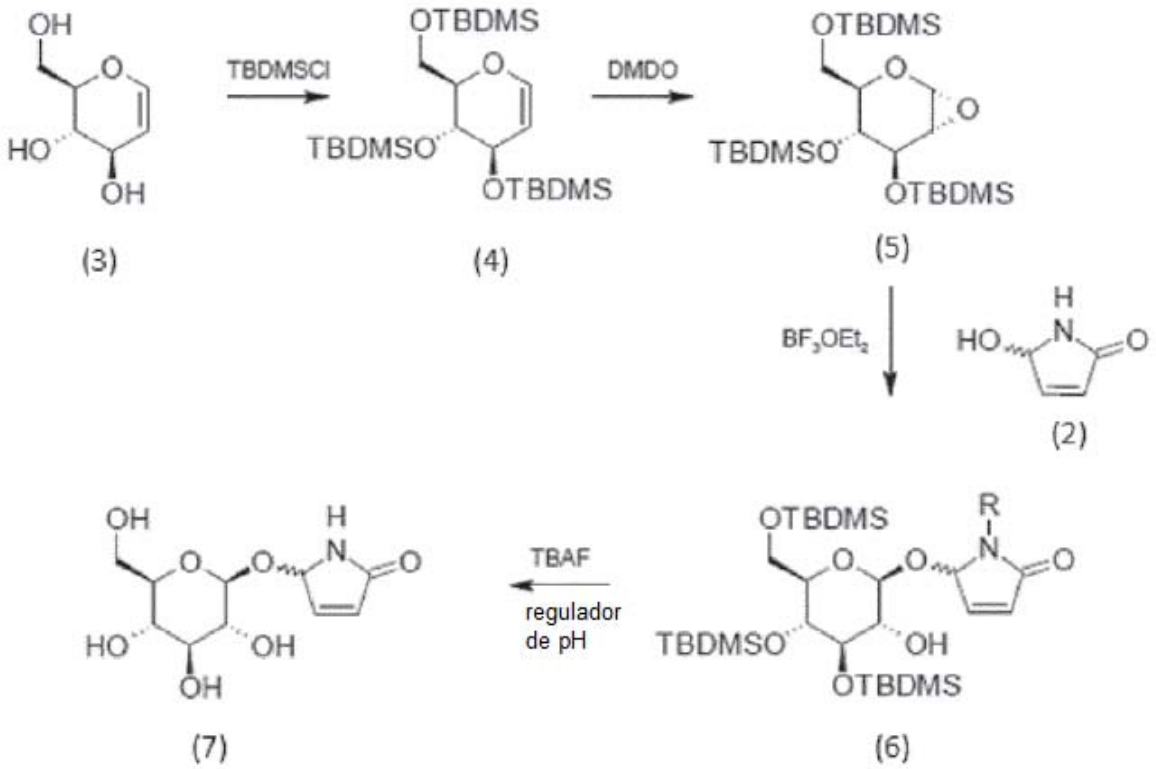
más preferiblemente de al menos 500 ppm, entre 100 ppm y 2000 ppm, entre 150 ppm y 2000 ppm, preferiblemente entre 200 ppm y 2000 ppm, entre 200 ppm y 1000 ppm, entre 250 ppm y 1000 ppm, entre 500 ppm y 2000 ppm, o entre 500 ppm y 1000 ppm de la composición total. Esto permite ventajosamente generar, por ejemplo, productos condimentos alimenticios y productos concentrados de sabor que transmiten un fuerte gusto a umami al aplicar a otro producto alimenticio.

(5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona según el presente objeto puede prepararse tal como sigue.



Esquema de reacción 1

Un compuesto de fórmula (2) puede obtenerse tal como se muestra en el esquema de reacción 1. La reacción de la maleimida (1) comercialmente disponible según el procedimiento descrito por K. Takabe y colaboradores, 2002, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 707-709 con $NaBH_4$ y $CeCl_3$ hidrato da lugar a un compuesto de fórmula (2).



Esquema de reacción 2

Puede obtenerse (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (β-R), así como también (5S)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (β-S), (5R)-(α-D-glucopiranosiloxi)-1,5-di-hidro-2H-pirrol-2-ona (α-R), (5S)-(α-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (α-S), tal como se muestra en el esquema de reacción 2.

D-Glucopiranosilo (3) comercialmente disponible fue protegido según un procedimiento descrito en Shuto y colaboradores, 2000, JOC, 65, 18, 5554 y J. Lellouche y S. Koeller, 2001, JOC, 66, 693-696 con un grupo TBDMS para dar lugar a un compuesto de fórmula (4).

La epoxidación con DMDO según el procedimiento escrito por R.L. Halomb y S.J. Danishefsky, 1989, JACS, 111, 6661-6666 conduce a un compuesto de fórmula (5). El epóxido (5) puede hacerse reaccionar por una glicosilación beta-selectiva con aglicona (2) según un procedimiento descrito por Halcomb y Danishefsky, 1989, JACS, 111, 17, 6661-6666 para producir un compuesto de fórmula (6) usando trifluoruro de boro - eterato de dietilo como condición ácida de Lewis. El epóxido (5) también puede hacerse reaccionar por una glicosilación alfa-selectiva con aglicona (2) según un procedimiento descrito por Halcomb y Danishefsky, 1989, JACS, 111, 17, 6661-6666 para producir un compuesto de fórmula (6) usando solución de cloruro de zinc(II) como condición ácida de Lewis. Los diferentes diaestereoisómeros α-S, β-S, α-R y β-R pueden separarse por medio de cromatografía flash.

En la última etapa, los grupos protectores pueden retirarse según un procedimiento descrito por Y. Kaburagi y Y. Kishi, 2007, Org. Lett., 9, 4, 723-726 para producir un compuesto de fórmula (7) especialmente con la configuración α-S, β-S, α-R o β-R.

La persona experta en la técnica sabe que si existe una cantidad de centros reactivos en un compuesto inicial o intermedio puede ser necesario bloquear uno o más centros reactivos temporalmente con grupos protectores para permitir que proceda específicamente una reacción en el centro de reacción deseado.

Los compuestos según el presente objeto se aíslan y purifican de una manera conocida per se, por ejemplo, destilando el disolvente al vacío y re cristalizando el residuo obtenido a partir de un disolvente adecuado o sometiéndolos a uno de los procedimientos de purificación habituales, tales como cromatografía de columna sobre un material de soporte adecuado.

Los diastereoisómeros puros y los enantiómeros puros de los compuestos de fórmula (I) y las sales de los mismos pueden obtenerse, por ejemplo, mediante síntesis asimétrica usando compuestos iniciales quirales en síntesis y/o separando mezclas enantioméricas y diaestereoisoméricas obtenidas en la síntesis. Preferiblemente, los compuestos diaestereoisoméricos puros y enantioméricos puros del presente objeto son obtenibles usando compuestos iniciales quirales en síntesis y/o separando mezclas enantioméricas y diastereoisoméricas que han sido obtenidas durante la síntesis. Las mezclas enantioméricas y diastereoisoméricas pueden separarse en enantiómeros puros y diastereoisómeros puros mediante procedimientos conocidos por una persona experta en la materia. Preferiblemente, las mezclas diastereoisoméricas se separan mediante cristalización, en particular cristalización fraccional, o por cromatografía. Las mezclas enantioméricas puede separarse, por ejemplo, formando diastereoisómeros con un agente quiral auxiliar, aislando los diaestereoisómeros obtenidos y retirando el agente quiral auxiliar. Como agentes quirales auxiliares pueden usarse, por ejemplo, ácidos quirales para separar bases enantioméricas y pueden usarse bases quirales para separar ácidos enantioméricos a través de la formación de sales diastereoisoméricas.

Además, los derivados diastereoisoméricos, tales como los ésteres diastereoisoméricos, pueden formarse a partir de mezclas enantioméricas de alcoholes o mezclas enantioméricas de ácidos, respectivamente, usando respectivamente ácidos quirales o alcoholes quirales como agentes quirales auxiliares. Adicionalmente, pueden usarse complejos diastereoisoméricos o clatratos diastereoisoméricos para separar mezclas enantioméricas. De manera alternativa, pueden separarse mezclas enantioméricas usando columnas de separación quiral en cromatografía. Otro procedimiento adecuado para el aislamiento de enantiómeros es la separación enzimática.

Se usan las siguientes abreviaturas: min: minutos, h: hora(s), DCM: diclorometano, THF: tetrahidrofurano, EA: acetato de etilo, mp.: Punto de fusión, bp: punto de ebullición, RT: temperatura del cuarto (20 a 25°C), temperatura ambiente: 20 a 25°C, TLC: cromatografía de capa delgada, ^{1}H-RMN: espectroscopia de resonancia magnética nuclear de ^{1}H (las desviaciones químicas se reportan como ppm frente a tetrametilsilano en calidad de estándar interno; las constantes de acoplamiento J se reportan en Hz). Las desviaciones químicas (en ppm) se expresaron con respecto a una referencia interna (TMS o TSP). Las multiplicidades se reportan tal como sigue: s = singlete, d= doblete, t= triplete, q= cuadruplete, m= multiplete, ds= doblete de septeto, bs= singlete amplio.

Ejemplo 1: 5-Hidroxi-1,5-dihidropirrol-2-ona (2) Reactivos:

Nombre	Distribuidor /LOT	M [g/mol]	m/V	n [mmol] /eq
Maleimida	Alfa Aesar 10178816	97,1	24,3 g	250 mmol 1 eq
Cloruro de cerio(III)	Alfa Aesar 61300246	372,6	93,2 g	250 mmol 1 eq
Borohidruro de sodio		37,8	9,5 g	250 mmol 1 eq
Metanol			250 mL	

Procedimiento:

24,3 g de maleimida se disolvieron en 250 mL de metanol y se adicionaron 93,2 g de cloruro de cerio (III) heptahidrato y la mezcla de reacción se agitó durante 5 min a temperatura ambiente. La solución incolora se enfrió a 0°C y se adicionaron 9,5 g de $NaBH_4$ en porciones a 0°C (suspensión incolora, espumada, exotérmica, duración: 3 h). La mezcla de reacción se agitó durante 40 min a 0°C

Se agregaron 125 mL de agua helada y el disolvente fue retirado a presión reducida hasta sequedad por debajo de 40°C. El residuo fue extraído con metanol; el filtrado fue tratado con carbón activado y filtrado a través de un tapón de sílice (lavada con metanol).

La evaporación del disolvente a presión reducida por debajo de 40°C dio lugar a un aceite negro (residuos de carbón).

Cromatografía de columna (sílice 60, CH_2Cl_2/MeOH 10/1) produjo 20,0 g de sólido incoloro

Rendimiento: 81 %

Análisis:

TLC: R_F (producto) = 0,24 (sílice60); CH_2Cl_2/MeOH 10/1 v/v; UV_{254} Punto de fusión: 99-101 °C

^{1}H-RMN (500 MHz, MeOD) δ: 7,04 (1H, d), 6,05 (1H, d), 5,59 (1H, d)

Ejemplo 2: 3,4,6-tri-O-TBDMS-D-glucal (4)

Reactivos:

Nombre	Distribuidor/ LOT	M [g/mol]	m/V	n [mmol] /eq
D-glucal		146,1	35,1 g	240 mmol
ter-Butildimetilsililo		150,7	181 g	1200 mmol
Imidazol	Alfa Aesar	68,1	163 g	2400 mmol
DMF, seco			960 mL	

Procedimiento:

35,1 g de D-glucal se disolvieron en 640 mL de DMF seco, luego se adicionaron 163 g de imidazol seguido por la adición de 181 g de tBDMSCl. Se usaron 320 mL de DMF seco para enjuagar los objetos de vidrio en el matraz de reacción (solución amarilla). La mezcla de reacción fue citada a 60 °C durante 18 h (TLC). La mezcla de reacción fue vertida a 160 mL de agua y se extrajo con éter dietílico (3x350 mL). La fase orgánica fue lavada con agua (3x350 mL) y finalmente secada con Na_2SO_4. La suspensión filtrada fue evaporada al vacío.

Masa = 141 g de líquido incoloro.

El residuo fue purificado mediante cromatografía de columna (sílice60, ciclohexano/diclorometano) Masa de la fracción de producto = 120,9 g de aceite incoloro

Rendimiento: cuantitativo

Análisis:

TLC: R_F (producto) = 0,4; R_F(glucal) = 0; sílice60, ciclohexano/CH_2Cl_2 3/1; tinción de Hanessian

^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 6,32 (1H, dd), 4,69 (1H, ddd), 3,99 (1H, dtd), 3,93 (1H, dd), 3,90-3,87 (1H, m), 3,79 (1H, td), 3,76 (1H, dd), 0,90 (9H, s), 0,89 (18H, ds), 0,10 (6H, s), 0,08 (6H, ds), 0,06 (6H, ds)

^{13}C-RMN (101 MHz, $CDCl_3$) δ: 143,1, 101,5, 80,2, 70,4, 66,9, 61,9, 26,1, 26,0 (2C), 18,6, 18,2,18,1, -4,1, -4,2, -4,3, -4,6, -5,0, -5,1

Ejemplo 3: 1,2-Anhidro-3,4,6-tri-O-TBDMS-α-D-glucopiranosa (5)

Reactivos:

Nombre	Distribuidor	M	m/V	n
3,4,6-tri-O-ter-butildimetilsilil-D-glucal		488,9	13,6 g	27,8 mmol 1 eq
Solución DMDO en acetona alrededor 0,05 mmol/L			645 mL	ca. 32 mmol
Diclorometano, seco			350 mL	

Procedimiento:

Se disolvieron 13,6 g de glucal en 350 mL de CH_2Cl_2 seco. La solución se enfrió a 0°C en un baño de hielo. De una vez se adicionaron 645 mL de solución helada de DMDO (-20°C) a la solución agitada. La mezcla de reacción fue mezclada a 0°C durante 20 min, TLC (sílice60; ciclohexano/diclorometano 3/1 v/v; tinción de Hanessian): conversión completa. El disolvente fue evaporado a T < 25°C (aspirador de agua + corriente de argón). Se retiró el agua manualmente por medio de un gotero, luego el producto se disolvió en CH_2Cl_2 y se secó con Na_2SO_4. Después de la filtración, el disolvente fue retirado a presión reducida por debajo de 25°C. 14 g de aceite incoloro. El producto crudo fue usado inmediatamente dentro de la siguiente etapa de reacción.

Rendimiento: cuantitativo

Análisis:

TLC: R_F (producto) = 0; R_F (TBDMS-glucal) = 0,4; sílice60; ciclohexano/CH_2Cl_2 3/1; tinción de Hanessian

^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 4,89 (1H, d), 3,95 (1H, dd), 3,78-7,76 (2H, m), 3,55-3,45 (2H, m), 2,91 (1H, dd), 0,95 (9H, s), 0,89 (18H, ds), 0,20 (6H, s), 0,14 (3H, s), 0,10 (3H, s) 0,07 (3H, s), 0,01 (3H, s)

Ejemplo 4: 5-(3,4,6-tri-O-TBDMS-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (6)

Reactivos:

Nombre	Distribuidor	M	m/V	n
1,2-Anhidro-3,4,6-tri-O-ter-butidimetilsilil-α-D-glucopiranosa		504,9	14,0 g	27,7 mmol 1 eq
5-hidroxi-1,5-dihidro-2*H*-pirrol-		99,1	3,43 g	34,6 mmol
Trifluoruro de boro eterato de dietilo		141,9	4,44 mL	36,0 mmol
THF, seco	Applichem		250 mL	

Procedimiento:

Se disolvieron 14,0 g de epóxido en 200 mL de THF seco, luego se adicionaron 3,43 g de aglicona a temperatura ambiente. La solución fue enfriada a -78°C, luego se adicionaron 4,44 mL de BF_3OEt por medio de una jeringa desechable. La mezcla fue agitada a -78°C durante 1 h, luego se calentó lentamente a -50°C y se agitó durante 15 min. La solución fue enfriada nuevamente a < -65°C y se agregaron 30 mL de solución saturada de $NaHCO_3$ a esta temperatura. Se dejó calentar la mezcla a -20°C y la mezcla de reacción fue vertida en 140 mL de solución saturada de $NaHCO_3$, 140 mL de agua y 100 ml de acetato de etilo. La capa orgánica fue separada y la fase de agua fue extraída con acetato de etilo (2x40 mL). Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con salmuera y secadas con Na_2SO_4. Después de la filtración se evaporó el disolvente. El residuo aceitoso (13,7 g) fue purificado mediante cromatografía flash (sílice60; ciclohexano/acetato de etilo 3/1).

Fracción A = 2,58 g

Fracción A/B = 3,07 g

Fracción B = 2,70 g

Se purificaron nuevamente las fracciones A y B por separado mediante cromatografía flash (sílice60; ciclohexano/acetato de etilo 3/1).

Fracción A1 = 1,36 g α-S, rendimiento = 8 %

Fracción A2 = 1,07 g β-S, rendimiento = 6 %

Fracción B1 = 1,18 g β-R, rendimiento = 7 %

Fracción B2 = 0,66 g α-R, rendimiento = 4 %

Análisis:

α-S:

^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7,17 (1H, bs), 6,94 (1H, d), 6,14 (1H, d), 5,54 (1H, d), 5,08 (1H, d), 3,96-3,93 (2H, m), 3,79 (1H, dt), 3,67 (1H, t), 3,53 (1H, m), 3,42 (1H, t), 2,40 (1H, d), 1,56-1,25 (9H, m), 0,94-0,87 (18H, m), 0,16-0,10 (18H, m)

α-R:

^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7,15 (1H, d), 6,40 (1H, bs), 6,13 (1H, d), 5,81 (1H, d), 5,04 (1H, d), 3,91-3,88 (2H, m), 3,81 (1H, m), 3,67 (1H, dt), 3,55-3,53 (2H, m), 3,00 (1H, d), 1,56-1,25 (9H, m), 0,93-0,87 (18H, m), 0,14-0,10 (18H, m)

β-S (natural invertido)

^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 7,01 (1H, d), 6,74 (1H, bs), 6,18 (1H, d), 5,80 (1H, s), 4,84 (1H, d), 3,99 (1H, dd), 3,91 (1H, dd), 3,67 (1H, t), 3,85 (1H, t), 3,82 (1H, t), 3,75 (1H, m), 3,50 (1H, t), 2,62 (1H, b), 0,98-0,94 (27H, m), 0,19-0,11 (18H, m)

β-R (natural idéntico)

^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$) δ: 6,97 (1H, d), 6,78 (1H, bs), 6,13 (1H, d), 5,55 (1H, s), 4,80 (1H, d), 3,91 (1H, dd), 3,83 (1H, dd), 3,78 (1H, t), 3,69 (2H, m), 3,49 (1H, t), 2,52 (1H, b), 0,94-0,89 (27H, m), 0,15-0,10 (18H, m)

Ejemplo 5: 5-(α-D-glucopiranosil)-dihidromaleimida (7)

Reactivos:

Nombre	Distribuidor /LOT	M [g/mol]	m/V	n [mmol]/eq
5-(3,4,6-Tri-O-TBDMS-D-glucopiranosil)-dihidromaleimid a		604,0	1000 mg	1,66 mmol 1 eq
Fluoruro de tetra-n-butilamonio en THF 1 M	Alfa Aesar		10 mL	9,93 mmol 6 eq
THF, seco			40 mL	
Carbonato de calcio			2,7 g	
Dowex 50WX8			8,3 g	
Metanol			20 mL	

Procedimiento:

A 1000 mg de material inicial se adicionaron 10 mL de TBAF en THF de 1 M a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada durante 30 minutos, luego fue diluida con 40 mL de THF seco. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente, mientras controlaba cada 15 minutos por medio de TLC (sílice60 $CHCl_3$/MeOH 4/1 y 2/1 v/v). Un indicio de glucosa indicó el fin de la reacción.

A la mezcla de reacción se adicionaron 2,7 g de $CaCO_3$, 8,3 g de Dowex 50WX8 y 20 mL de MeOH. La suspensión se agitó durante 30 min, se filtró a través de una almohadilla de celita y se lavó con MeOH. La evaporación del disolvente produjo 0,6 g de sólido marrón. La purificación con SC (sílice60, $CHCl_3$/MeOH 7/2) produjo 135 mg de producto puro más 60 mg de fracción impura con glucosa.

Rendimiento: 30%

Análisis:

α-S:

^{1}H-RMN (500 MHz, MeOD) δ: 7,19 (1H, d), 6,10 (1H, d), 5,68 (1H, s), 5,04 (1H, d), 3,90 (1H, d), 3,74 (1H, dt), 3,65-3,57 (2H, m), 3,44 (1H, dd), 3,24 (1H, dt)

Diastereoisómero obtenido por la desprotección de punto inferior α-R:

^{1}H-RMN (500 MHz, MeOD) δ: 7,19 (1H, d), 6,12 (1H, d), 5,73 (1H, s), 5,07 (1H, d), 3,88-3,83 (1H, m), 3,70-3,58 (3H, m), 3,42 (1H, dd), 3,28 (1H, dt)

Ejemplo 6: 5R-(β-D-glucopiranosil)-dihidromaleimida (7)

Reactivos:

Nombre	Distribuidor/ LOT	M [g/mol]	m/V	n [mmol] /eq
5R-(3,4,6-Tri-O-TBDMS-β-D-glucopiranosil)-dihidromaleimida		604,0	1,5 g	2,48 mmol 1 eq
Fluoruro de tetra-n-butilamonio en	Alfa Aesar		14,9 mL	14,9 mmol 6 eq
Ácido acético		60,1	896 mg	14,9 mmol
THF, seco			150 mL	

Procedimiento:

Se disolvieron 1,5 g de glucósido protegido en 100 mL de THF seco. Se diluyeron 14,9 de solución de TBAF de 1 M en THF con 25 mL de THF seco y se adicionaron 0,896 mg de ácido acético. Esta mezcla con pH regulado fue adicionada en una porción (el matraz fue enjuagado con 25 mL de THF seco). La mezcla de reacción fue agitada por una noche, luego se concentró el disolvente al vacío a 1/10 de su volumen original (T < 40°C).

El residuo fue purificado por medio de cromatografía de columna (sílice60, THF/H_2O 99/1). Se aislaron 460 mg de polvo marrón claro.

Rendimiento: 71 %

Análisis:

β-R

TLC: R_F (producto) = 0,1; R_F (intermedio) = 0,5; R_F (material inicial) > 0,9; sílice60; $CHCl_3$/MeOH 4/1; tinción de Hanessian

RMN-1H, 500MHz en D2O/MeOD (ppm): 3,3-3,5 (m, parcialmente superpuesto por MeOH, H-2, H-3, H-4, H- 5); 3,75 (m, 1H, H-6A); 3,95 (m, 1H, H-6B); $,60 (d, 1H, H-1, J 1/2 = 7,9 Hz); 5,85 (s, 1H, H-7); 6,23 (d, 1H, H-9, J 8/9 = 5,7Hz); 7,28 (d, 1H, H-8, J 8/9 = 5,7Hz).

Diastereoisómero obtenido por la desprotección de β-S

RMN-1H, 500MHz en MeOD (ppm): 3,2 (dd, 1H, H-2, J1/2 = 7,8Hz, J 2/3 = 9Hz); 3,27 (dd, 1H, H-3, J 2/3 = 9Hz, J 3/4 = 9,5Hz); 3,32 (m, 1H, H-5); 3,36 (t, 1H, H-4, J 3/4 = 9,5Hz, J 4/5 = 9,5Hz); 3,66 (dd, 1H, H-6A, J 5/6A = 6Hz, J 6A/6B = 11,8Hz); 3,89 (dd, 1H, H6B, J 5/6B =2,3Hz, J 6A/6B = 11,8Hz); 4,48 (d, 1H, H-1, J 1/2 = 7,8Hz); 5,83 (dd, 1H, H-7, J 7/8 = 1,5Hz, J 7/9 = 1Hz); 6,08 (dd, 1H, H-9, J 7/9 =1Hz, J 8/9 = 6Hz); 7,13 (dd, 1H, H-8, J 7/8 = 1Hz, J 8/9 = 6Hz).

Ejemplo 7: Evaluación sensorial de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona

Los ensayos sensoriales se realizaron en un cuarto de panel sensorial a 20-25°C. El panel sensorial consistió en 5 a 8 personas entrenadas. La degustación técnica fue medida versus una muestra de control. A los degustadores se solicitó evaluar los diferentes productos según la intensidad de umami en una escala de 3 puntos (sin umami, umami y umami intenso). Adicionalmente, a los degustadores se solicitó describir objetivamente el prototipo con comentarios.

Tabla 1: Degustación en agua

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
100	5	3	0	Sensación de boca llena, sensación redonda
250	3	4	1	Sensación redonda
500	1	6	1	Umami, sensación redonda

La tabla 1 muestra un umbral de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona a una concentración de 250 mg/l que es correspondiente a 957 µmol/l, preferiblemente a una concentración de 500 mg/l que es correspondiente a 1914 µmol/l. Glutamato monosódico (MSG) tiene un umbral de 1500 µmol/l.

Tabla 2: Degustación en cloruro de sodio al 0.2% y azúcar al 0.04%)

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
0	6	1	0	Dulce
200	3	4	0	Dulce, aguado
500	2	3	2	Más redondo, más dulce

Tabla 3: Degustación en cloruro de sodio al 0.2% y azúcar al 0.04% y MSG al 0.08%

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
0	4	2	0	Umami, dulce
200	0	1	5	Similar a pollo, redondo
500	0	3	3	Redondo, boca llena, artificial

Tabla 4: Degustación en cloruro de sodio al 0.2% y azúcar al 0.04% e IMP + GMP al 0.015%

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
0	6	1	0	-
200	4	3	0	Similar a caldo, con salivación
500	3	4	0	Redondo, diferente de la referencia

La tabla 2, la tabla 3 y la tabla 4 muestran la propiedad de mejoramiento de umami de la (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona.

Ejemplo 8: Ejemplos comparativos con los estereoisómeros de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona

Los estereoisómeros han sido ensayados para intensidad de umami, tal como se ha descrito en el ejemplo 7.

Tabla 5: Degustación de (5R)-(α-D-glucopiranosiloxi)-1,5-di-hidro-2H-pirrol-2-ona (alfa-R) en agua

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
200	5	0	0	Amargo, astringente
400	5	0	0	Muy amargo, químico
800	5	0	0	químico

Tabla 6: Degustación de (5S)-(α-D-glucopiranosil-oxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (alfa-S) en agua

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
100	5	0	0	químico, astringente
250	4	1	0	Más salado
500	5	0	0	Metálico, amargo

Tabla 7: Degustación de (5S)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona (beta-S) en agua

C; mg/l	Sin umami	Umami	Umami intenso	comentarios
100	5	0	0	-
200	5	0	0	amargo
500	4	1	0	Acre, desinfectante

Ninguno de los estereoisómeros de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona han mostrado una intensidad de umami en agua en ninguna concentración.

Ejemplo 9: Composiciones de condimentos

Se prepararon sopa de tomate disolviendo en 6 g de polvo de base de tomate (receta detallada mostrada en la tabla 8) en 500 mL de agua caliente. Se adicionó (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona a 500 mg/L (500 ppm) a las sopas.

Tabla 8: composiciones de polvo de sopa de tomate

Ingrediente	Cantidad (% en peso)
Extracto de levadura	1.8
Azúcar blanco	17.5
Saborizantes	31.5
Polvo de tomate	1.5
Harina de trigo	28

Almidón de maíz	12.5
Goma guar	0.6
Especias en polvo	3.6
Maltodextrina	1.9
Aceite de girasol	1.1
Total	100%

El panel sensorial concluyó que la sopa de tomate con y sin la (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona fue percibida significativamente diferente; y la adición de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona en una cantidad de 500 ppm incrementó significativamente el gusto sabroso, gusto de umami de aquella sopas.

REIVINDICACIONES

1. Uso de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona para mejorar el gusto y/o sabor de umami de un producto alimenticio.

2. Uso de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona según la reivindicación 1 en una cantidad de al menos 200 ppm, preferiblemente de al menos 250 ppm.

3. Uso de (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona según una de las reivindicaciones 2-3, donde (5R)-(β-D-glucopiranosiloxi)-1,5-dihidro-2H-pirrol-2-ona es un extracto de material vegetal.

4. El uso según la reivindicación 3, donde el material vegetal se selecciona de guisante, frijol, maíz, tomate, soja, trigo, cebolla o remolacha, preferiblemente guisante.