



República Federativa do Brasil

Ministério da Indústria, Comércio Exterior

e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0809856-5 B1

(22) Data do Depósito: 27/03/2008

(45) Data de Concessão: 23/08/2016



(54) Título: COMPOSTO DE BLOQUEIO DE NOTA DESAGRADÁVEL (OFF-NOTE) AMARGA, COMPOSIÇÃO DE SABOR, PRODUTO CONSUMÍVEL E MÉTODO DE BLOQUEIO DE NOTAS DESAGRADÁVEIS EM PRODUTOS CONSUMÍVEIS

(51) Int.Cl.: C07C 53/134; C07C 53/136; C07C 57/26; A23L 2/56; A23G 4/00; A61K 8/36; C07C 403/20

(30) Prioridade Unionista: 30/03/2007 US 60/909,143, 30/07/2007 US 60/962,515

(73) Titular(es): GIVAUDAN SA

(72) Inventor(es): IOANA MARIA UNGUREANU, NICOLE ERNA IRENE BRUNE, JAY PATRICK SLACK, KIMBERLEY H. GRAY, CHRISTOPHER TODD SIMONS, JENNY ELLEN EVANS PENNIMPEDE

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
"COMPOSTO DE BLOQUEIO DE NOTA DESAGRADÁVEL ("OFF-NOTE") AMARGA, COMPOSIÇÃO DE SABOR, PRODUTO CONSUMÍVEL E MÉTODO DE BLOQUEIO DE NOTAS DESAGRADÁVEIS EM PRODUTOS CONSUMÍVEIS".

CAMPO TÉCNICO

[001] A presente invenção refere-se a compostos que permitem mascarar ou bloquear notas desagradáveis (*"off-notes"*) indesejáveis em produtos consumíveis e o método de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-notes"*) que emprega esses compostos em produtos consumíveis.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[002] Proporcionados são os seguintes:

(1) Um composto de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) selecionado de um ou mais de ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil) but-2-enoico, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético, ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil) butanoico, ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil) ciclopropanocarboxílico; ácido (E)-3-(1-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)ciclopropil) acrílico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclo-hex-3-enil)but-2-enoico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-3-enoico, ácido(E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-2-enoico, ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil) ciclopropanocarboxílico, ácido 2,2-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 2-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropil) propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, ácido 3,3-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, e ácido 4-(1-metil-

biciclo[3.1.0]hexan-2-il)butanoico, ácido (E)-1-(2-(1-metilbiciclo[3.1.0]hexan-2-il)vinil)ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)vinil)ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-4-(1-metilbiciclo[3.1.0]hexan-2-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]hept-6-en-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(8-metilespiro[2.5]oct-7-en-4-il)but-2-enoico, ácido 1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)etil)ciclopropanocarboxílico, ácido 2-((6,7-dimetilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,4-dimetilbiciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbiciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, ácido 2-(1-((7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)ciclopropil)acético e ácido 4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)butanoico.

(2) O composto de bloqueio de notas desagradáveis conforme descrito neste relatório, incluindo em (1), selecionado de um ou mais de ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclohexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclohexil)propanoico, ácido 4-propilciclohexanocarboxílico e ácido 2-(3,4-dimetilciclohexil)acético.

(3) Uma composição de sabor compreendendo um ingrediente consumível que proporciona nota desagradável e um ou mais dos compostos de bloqueio de notas desagradáveis listados neste relatório, incluindo em (1) e (2).

(4) Um artigo consumível compreendendo:

(a) um ou mais ingredientes em uma concentração suficiente para proporcionar uma nota desagradável (*"off-note"*), e

(b) um ou mais dos compostos de bloqueio de notas desagradáveis listados neste relatório, incluindo em (1) e (2).

(5) Um artigo consumível conforme descrito neste relatório,

incluindo em (4), em que um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis é selecionado de um ou mais de edulcorante, edulcorante artificial, bebida, goma de mascar, nutracêutico e farmacêutico.

(6) Um artigo consumível conforme descrito neste relatório, incluindo em (4), em que um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis é um edulcorante artificial selecionado de um ou mais de aspartame, acessulfame K, sacarina, sucralose e ciclamato de sódio.

(7) Um artigo consumível conforme descrito neste relatório, incluindo em (4), em que um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis compreende um edulcorante selecionado de um ou mais de esteviosídeo, extrato de limão ("*swingle*"), glicerrizina, perilartina, di-hidrocalcona de naringina, di-hidrocalcona de neoesperidina, mogrosídeo V, rubusosídeo, extrato de amora-preta (*rubus*) e rebaudiosídeo A.

(8) Um artigo consumível conforme descrito neste relatório, incluindo em (4), em que o ingrediente que proporciona "*off-note*" compreende um artigo consumível selecionado de um ou mais de cacau, café, cafeína, teobromina, dicetopiperazinas, vitaminas, aminoácidos, vitamina B, caseína, proteína de soja, ibuprofeno, ácido salicílico, glicoronolactona, acetaminofeno, dextrometorfano, naringina, taurina, macrolídeo (incluindo bioxina e eritomicina), paracetamol, ácido acetilsalicílico, cimetidina, ranitidina, amoxicilina, acetaminofeno, cefalosporinas, quássia, propileno glicol, triacetina, sais de potássio, sais de zinco, loperamida, limonina, flavonoides, isoflavonas (incluindo, genisteína e diadzeína), polifenol (incluindo, catequina e epicatequina), óleo de menta, D-mentol, proteína vegetal hidrolisada, peptídeos amargos, conservantes (incluindo, ácido benzoico, sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio),

ácido cítrico, quinina, ureia (contida em gomas de mascar), óleos essenciais (incluindo, tomilho, sálvia, manjeriço, menta), produtos de reação de Maillard (incluindo aminas cíclicas produzidas de pirrolidina/glicose, alanina/xilose, prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), cerveja, lúpulos, humulona, trans-iso-humulona, lupulona e hulupona.

(10) Um método de bloqueio de notas desagradáveis ("*off-notes*") em um artigo consumível que compreende misturar com o artigo consumível (a) um ou mais ingredientes que proporcionam "*off-note*" em uma concentração suficiente para proporcionar uma nota desagradável, e (b) um ou mais dos compostos de bloqueio de notas desagradáveis ("*off-note*") listados neste relatório, incluindo em (1) e (2).

(11) Um método conforme descrito neste relatório, incluindo em (10), em que um ou mais ingredientes que proporcionam nota desagradável é selecionado do grupo que consiste em edulcorante, edulcorante artificial, bebida, goma de mascar, nutracêuticos e produtos farmacêuticos.

(12) Um método conforme descrito neste relatório, incluindo em (10) e (11), em que o ingrediente que proporciona "*off-note*" compreende um ou mais edulcorantes artificiais selecionados de aspartame, acessulfame K, sacarina, sucralose e ciclamato de sódio.

(13) Um método conforme descrito neste relatório, incluindo em (10) a (12), em que o ingrediente que proporciona "*off-note*" compreende um ou mais edulcorantes selecionados de esteviosídeo, extrato de limão, glicerrizina, perilartina, di-hidrocalcona de naringina, di-hidrocalcona de neoesperidina, mogrosídeo V, rubusosídeo, extrato de amora-preta (*rubus*) e rebaudiosídeo A.

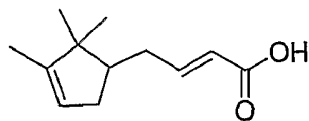
(14) Um método conforme descrito neste relatório, incluindo em (10) a (13), em que o ingrediente que proporciona "*off-note*" compreende um ou mais artigos consumíveis selecionados de cacau, café,

cafeína, teobromina, dicetopiperazinas, vitaminas, aminoácidos, vitamina B, caseína, proteína de soja, ibuprofeno, ácido salicílico, glicorolactona, acetaminofeno, dextrometorfano, naringina, taurina, macrolídeo (incluindo bioxina e eritomicina), paracetamol, ácido acetilsalicílico, cimetidina, ranitidina, amoxicilina, acetaminofeno, cefalosporinas, quássia, propileno glicol, triacetina, sais de potássio, sais de zinco, loperamida, limonina, flavonoides, isoflavonas (incluindo, genisteína e diadzeína), polifenol (incluindo, catequina e epicatequina), óleo de menta, D-mentol, proteína vegetal hidrolisada, peptídeos amargos, conservantes (incluindo, ácido benzoico, sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio), ácido cítrico, quinina, ureia (contida em gomas de mascar), óleos essenciais (incluindo tomilho, sálvia, manjerição, menta), produtos de reação de Maillard (incluindo aminas cíclicas produzidas de pirrolidina/glicose, alanina/xilose, prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), cerveja, lúpulos, humulona, trans-iso-humulona, lupulona e hulupona.

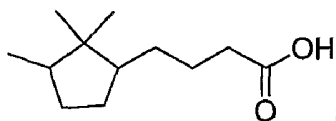
DESCRIÇÃO DETALHADA

[003] Os compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) proporcionados neste relatório incluem os seguintes compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*): ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil) but-2-enoico, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético, ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil) butanoico e ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil) ciclopropanocarboxílico.

[004] As estruturas químicas desses compostos são indicadas abaixo:

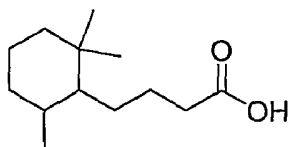


ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico (incluindo ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico) e ácido (Z)-4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico)



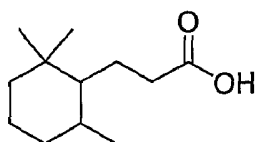
tanoico

ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil) bu-



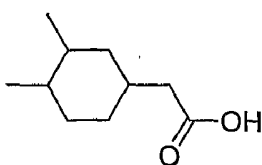
tanoico

ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil) bu-

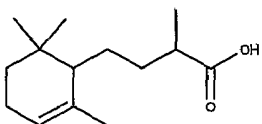


hexil)propanoico

ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-

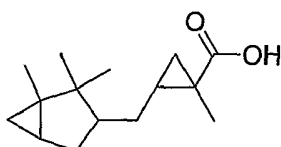


ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético



2-enil)butanoico

ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-



ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbiciclo

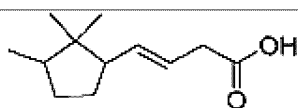
[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico.

[005] Sem desejar estar ligado à teoria, a presença de 1 a 3 grupos ciclopropila na parte do anel 5 ou anel 6 do composto de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) e/ou o ligante que liga o anel ao grupo ácido tende a aumentar a atividade de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*). De acordo com certas modalidades, esses compostos são particularmente úteis para bloquear a atividade de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) de sabor amargo. Além disso, estruturas de anel 5 (ciclopentano) tendem a apresentar atividades maiores que as estruturas de anel 6 (ciclo-hexano) relacionadas.

[006] De acordo com certas modalidades, os seguintes grupos de compostos poderão ser também úteis para bloquear notas desagradáveis (*"off-note"*) em artigos consumíveis:

[007] Um ou mais compostos selecionados de ácido (E)-3-(1-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)ciclopropil)acrílico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclo-hex-3-enil)but-2-enoico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-3-enoico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-2-enoico, ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico, ácido 2,2-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 2-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il) metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0] hexan-3-il)metil)ciclopropil)propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, ácido 3,3-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil) butanoico e ácido 4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)butanoico.

[008] As estruturas químicas desses compostos são mostradas abaixo.

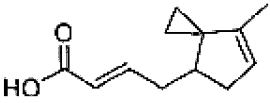
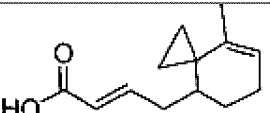
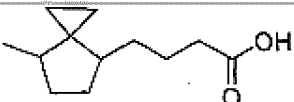
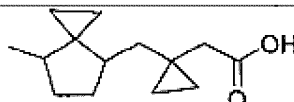
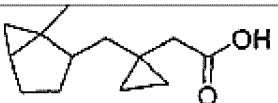
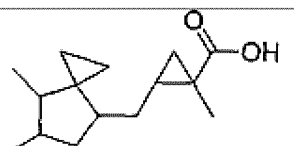
Estrutura	Nome
	ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-3-enoico

Estrutura	Nome
	ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-2-enoico
	ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclo-hex-3-enil)but-2-enoico
	ácido 2,2-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico
	ácido 3,3-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico
	ácido 4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)butanoico
	ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico
	ácido 2-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico
	ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético
	ácido 2-(1-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropil)propanoico
	ácido (E)-3-(1-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)ciclopropil)acrílico

[009] De acordo com modalidades adicionais, o seguinte grupo de compostos poderá também ser útil no bloqueio de notas desagradáveis ("off-note") em artigos consumíveis:

[0010] ácido (E)-1-(2-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)vinil) ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)vinil) ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]hept-6-en-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro [2.4]heptan-4-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(8-metilespiro[2.5]oct-7-en-4-il)but-2-enoico, ácido 1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)etil)ciclopropanocarboxílico, ácido 2-((6,7-dimetilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, ácido 2-(1-((7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)ciclopropil)acético e ácido 4-(7-metilespiro[2.4] heptan-4-il)butanoico.

[0011] As estruturas químicas desses compostos são mostradas abaixo.

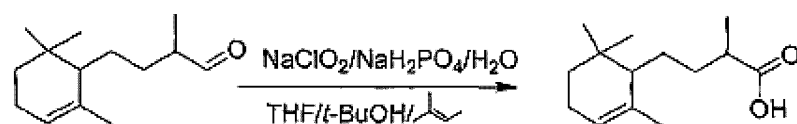
Estrutura	Nome
	ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]hept-6-en-4-il)but-2-enoico
	ácido (E)-4-(8-metilespiro[2.5]oct-7-en-4-il)but-2-enoico
	ácido 4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)butanoico
	ácido 2-(1-((7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)ciclopropil)acético
	ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético
	ácido 2-((6,7-dimetilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico

Estrutura	Nome
	ácido 1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)etil)ciclopropanocarboxílico
	ácido (E)-1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)vinil)ciclopropanocarboxílico
	ácido 2-(1-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)propanoico
	ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-3-enoico
	ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-2-enoico
	ácido (E)-4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)but-3-enoico
	ácido (E)-1-(2-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)vinil)ciclopropanocarboxílico

[0012] A maioria dos compostos pode ser sintetizada facilmente por meio de métodos bem-conhecidos no estado da técnica, ou conforme indicados abaixo ou nos exemplos neste relatório.

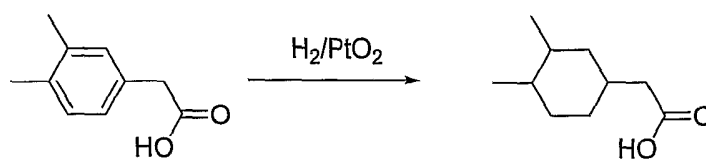
[0013] Síntese de ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanoico:

[0014] ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanoico pode ser sintetizado em uma etapa de 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanal analogamente à via de síntese conforme descrita por Ochiai e outros, 1989, *Journal of Organic Chemistry*, 54(20) 4832-40.



[0015] Síntese de ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético:

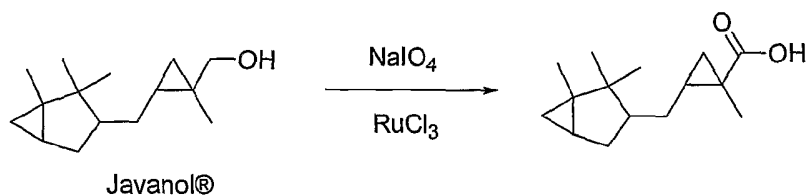
[0016] ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético pode ser sintetizado a partir de ácido 2-(3,4-dimetilfenil)acético conforme indicado abaixo usando hidrogênio e óxido de platina (H_2/PtO_2) como catalisador analogamente à via de síntese conforme descrita por Gault e outros (1958), *Compt. Rend.* 246, 123-5.



[0017] ácido 2-(3,4-dimetilfenil)acético ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético

[0018] Síntese de ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbicyclo[3.1.0]hexan-3-il) metil)ciclopropanocarboxílico:

[0019] O composto pode ser sintetizado partindo de (1-metil-2-((1,2,2-trimetilbicyclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropil)metanol (*aka Javanol®*) usando cloreto de rutênio(III) e periodato de sódio analogamente à via de síntese conforme descrita por Hart e outros, 2003, *Journal of Organic Chemistry* 68(1), 187-190. *Javanol®* é comercialmente disponível de *Givaudan, Vernier*, Suíça.



[0020] A síntese de compostos adicionais é descrita nos exemplos 2a a 2d neste relatório abaixo.

[0021] O restante de compostos pode ser sintetizado analogamente, como será visível àquele versado na técnica.

[0022] Uma triagem de receptores com análise de resposta a concentração foi realizada e a partir de resultados de concentração inibitória CI_{50} (CI) valores podem ser calculados por meio de regressão não-linear usando a função $f(x) = (a-d)/(1+(x/C)^{nh}) + d$; com a = sinal míni-

mo, d = sinal máximo, nh = coeficiente de Hill, $C = CI_{50}$ e x = concentração de antagonista. CI_{50} é a concentração molar de um antagonista que produz 50% da resposta inibitória máxima possível em relação a esse antagonista. Um antagonista mais potente apresentará um valor CI_{50} inferior.

[0023] A maioria dos compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) descritos neste relatório, e em particular, por exemplo, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético, ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanoico e ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo [3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico apresentam uma CI_{50} na faixa de aproximadamente 0,1 a 20 micromolar quando testados com o receptor de sabor amargo TAS2R44.

[0024] Em relação a maior parte de aplicações alimentícias, uma CI_{50} baixa [micromolar] de 0,05 a 10 é desejável, contudo, CI_{50} de 10 a 25 é ainda boa e acima de 25 poderá ser também ainda aceitável dependendo da aplicação.

[0025] Vários ingredientes alimentícios (incluindo ingredientes naturalmente contidos em alimentos ou aditivos misturados a alimentos, incluindo ingredientes aromatizantes) proporcionam notas desagradáveis (*"off-notes"*) indesejáveis. Notas desagradáveis particularmente indesejáveis são as notas desagradáveis amargas, *"off-notes"* metálicas, *"off-notes"* prolongadas tipo alcaçuz e adstringentes. O termo *"off-notes"* refere-se a um gosto desagradável posterior que se desenvolve ao longo do tempo após consumo de artigos consumíveis.

[0026] Outros exemplos particulares são as notas desagradáveis (*"off-notes"*) amargas e/ou metálicas e/ou adstringentes e/ou "artificiais" e/ou notas desagradáveis (*"off-note"*) excessivamente doce

(quando opostas ao sabor de açúcar "mais limpo") que se associam a vários edulcorantes artificiais, incluindo aspartame, Acessulfame K, sacarina, sucralose e ciclamato de sódio. Algumas vezes essas notas desagradáveis (*"off-notes"*) de edulcorantes artificiais são descritas coletivamente como notas desagradáveis (*"off-notes"*) amargas.

[0027] Exemplos adicionais de ingredientes que proporcionam *"off-notes"* são edulcorantes que ocorrem naturalmente, incluindo esteviosídeo, extrato de limão, glicerrizina, perilartina, di-hidrocalcona de naringina, di-hidrocalcona de neoesperidina, mogrosídeo V, rubusosídeo, extrato de amora-preta, e rebaudiosídeo A.

[0028] Exemplos ainda adicionais de ingredientes que proporcionam *"off-notes"* incluem cacau, café, cafeína, teobromina, dicetopiperazinas, vitaminas, aminoácidos, vitamina B, caseína, proteína de soja, ibuprofeno, ácido salicílico, glicoronolactona, acetaminofeno, dextrometorfano, naringina, taurina, macrolídeo (incluindo bioxina e eritomicina), paracetamol, ácido acetolsalicílico, cimetidina, ranitidina, amoxicilina, acetaminofeno, cefalosporinas, quássia, propileno glicol, triacetina, potássio, zinco, loperamida, limonina, flavonoides, isoflavonas (incluindo genisteína e diadzeína), polifenol (incluindo catequina e epicatequina), óleo de menta, D-mentol, proteína vegetal hidrolisada, peptídeos amargos, conservantes (incluindo ácido benzoico, sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio), ácido cítrico, quinina, ureia (contida em gomas de mascar), óleos essenciais (incluindo tomilho, sálvia, manjerição, menta), produtos de reação de Maillard (incluindo, aminas cíclicas produzidas de pirrolidina/glicose, alanina/xilose, prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), cerveja, lúpulos, humulona, trans-isohumulona, lupulona e hulupona.

[0029] A adição de bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-notes"*) bloqueará ou mascarará as notas desagradáveis (*"off-notes"*) e

as tornarão menos visíveis ou não-notáveis. Edulcorantes artificiais, desse modo liberarão seu sabor amargo/metálico e/ou sua doçura excessivamente doce prolongada e em vez disso sabor mais similar a açúcar real (sacarose).

[0030] Aspartame é o nome de éster aspartil-fenilalanino-1-metílico, um dipeptídeo. É conhecido sob vários nomes de marcas registradas, incluindo *Equal®* e *Canderel®*. Na União Europeia, é também conhecido sob o número E (código aditivo) E951.

[0031] Acessulfame-Potássio (AceK) é o sal de potássio de 2,2-dióxido de 6-metil-1,2,3-oxatiazino-4(3H)-ona, uma N-sulfonilamida. É também conhecido como Acessulfame K ou AceK, ou sob vários nomes de marcas registradas, incluindo *Sunett®* e *Sweet One®*. Na União Europeia é também conhecido sob o número E (código aditivo) E950.

[0032] Sacarina é o sal de Na de 1,1-dióxido de 1,2-benzisotiazol-3(2H)-ona, uma N-sulfonamida. É também conhecida sob vários nomes de marcas registradas, incluindo *Sweet'n low®*.

[0033] Sucralose é o nome de 4-cloro-4-desóxi- α -D-galactopiranosida 6-dicloro-1,6-didesóxi- β -D-fruto-furanosila, o qual é um clorodesóxi-açúcar. É também conhecido pelo nome comercial *Splenda®*. Na União Europeia, é também conhecido sob o número E (código aditivo) E955. Sucralose apresenta uma nota desagradável ("off-note") (também designada gosto residual) que é uma nota desagradável ("off-note") similar a alcaçuz prolongada algumas vezes também descrita como amarga.

[0034] Os bloqueadores de notas desagradáveis ("off-note") podem ser adicionados a artigos consumíveis para bloquear as "off-notes" indesejáveis de ingredientes presentes nesses artigos consumíveis ou adicionados a tais produtos consumíveis.

[0035] Podem-se formar composições de sabor para adição a arti-

gos consumíveis que proporcionam os bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-notes"*) e um ingrediente que proporciona *"off-note"* para adição a produtos consumíveis, e excipientes opcionalmente de grau alimentício. Alternativamente, os bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-note"*) podem ser diretamente adicionados a produtos consumíveis.

[0036] Em particular, os bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-note"*) podem ser adicionados a composições de sabor ou diretamente a produtos consumíveis para bloquear as *"off-notes"* indesejáveis de ingredientes que proporcionam *"off-notes"*, incluindo edulcorantes naturais e artificiais adicionados a tais produtos consumíveis.

[0037] Artigos consumíveis incluem todos os produtos alimentícios, aditivos alimentícios, nutracêuticos, farmacêuticos e qualquer produto colocado na boca, incluindo goma de mascar, produtos para cuidados orais e produtos para higiene oral, incluindo, mas sem se limitar aos mesmos, produtos cereais, produtos de arroz, produtos de tapioca, produtos de sagu, produtos de padaria, produtos de biscoito, produtos de pastelaria, produtos de pão, produtos de confeitaria, produtos de sobremesa, gomas, gomas de mascar, antissépticos bucais, fios dentais, canudinhos aromatizados ou revestidos com aroma, recipientes de alimento/bebida aromatizados ou revestidos com aroma, chocolates, sorvetes, produtos de mel, produtos de melaço, produtos de lêvedo, fermento em pó, produtos de sal e especiarias, produtos saborosos, produtos de mostarda, produtos de vinagre, molhos (condimentos), produtos de tabaco, charutos, cigarros, alimentos processados, frutas cozidas e produtos vegetais, carnes e produtos de carnes, geléias, gelatinas, molhos de frutas, produtos de ovo, produtos lácteos e laticínios, iogurtes, produtos de queijo, produtos de manteiga e substitutos de manteiga, produtos substitutos do leite, produtos de soja, óleos comestíveis e produtos de gordura, medicamentos, be-

bidas, bebidas gaseificadas, bebidas alcoólicas, cervejas, refrigerantes, águas minerais e gasosas e outras bebidas não-alcoólicas, bebidas com sabor de frutas, sucos de frutas, café, café artificial, chá, cacau, incluindo formas que exigem reconstituição, extratos alimentícios, extratos vegetais, extratos de carne, condimentos, nutracêuticos, gelatinas, gomas farmacêuticas e não-farmacêuticas, comprimidos, pastilhas em forma de losango, gotas, emulsões, elixires, xaropes e outras preparações para produção de bebidas, e combinações destas.

[0038] Por exemplo, em artigos consumíveis contendo potássio, o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adicionado para suprimir o amargor e a "*off-note*" metálica associada a potássio.

[0039] Em produtos de café e cacau, o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado à cafeína, teobromina, e/ou dicetopiperazinas presentes nesses produtos.

[0040] Em produtos de queijo, em particular, em produtos de queijo modificados por enzima, o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a peptídeos amargos presentes nesses produtos de queijo.

[0041] Em produtos de soja, o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adicionado para suprimir as notas desagradáveis ("*off-notes*") de amargor e sabor de feijão cru associadas a peptídeos, isoflavonas tais como, genisteína e diadzeína presentes nesses produtos.

[0042] Em produtos de HVP (proteína vegetal hidrolisada), o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a peptídeos amargos presente nesses produtos.

[0043] Em ingredientes funcionais usados em alimentos fortificados, o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") poderá ser adi-

cionado para suprimir o amargor associado a vitaminas e aminoácidos presentes nesses produtos.

[0044] Em produtos farmacêuticos, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a ativos, ou aditivos amargos presentes nesses produtos.

[0045] Em produtos consumíveis contendo solventes; o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a propileno glicol, triacetina, ou etanol, presentes nesses produtos.

[0046] Em produtos cítricos, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a naringina presente nesses produtos.

[0047] Em neutracêuticos e ervas medicinais, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a ativos, ou aditivos presentes nesses produtos.

[0048] Em produtos consumíveis contendo polifenóis tais como catequina e epicatequina, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a esses ingredientes.

[0049] Em produtos consumíveis contendo conservantes tais como sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a esses conservantes.

[0050] Em produtos consumíveis contendo zinco e outros suplementos minerais, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor e *"off-notes"* metálicas associadas a esses suplementos minerais.

[0051] Em produtos consumíveis contendo óleo de menta ou mentol (por exemplo, D-mentol) e ácido cítrico acima de 7%, o bloqueador

de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a essa combinação de ingredientes.

[0052] Em produtos consumíveis contendo quinina, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a quinina.

[0053] Em produtos consumíveis contendo edulcorantes artificiais (por exemplo, aspartame, sacarina, acessulfame K, sucralose, ciclamato), por exemplo, bebidas, um bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a edulcorantes artificiais.

[0054] Em gomas de mascar, gomas de mascar tipo dental particulares, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado à ureia contida em gomas de mascar.

[0055] Em produtos consumíveis contendo óleos essenciais (por exemplo, tomilho, sálvia, manjerição e menta), o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a esses óleos essenciais.

[0056] Em produtos consumíveis contendo vegetais ou ervas ou seus extratos, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a esses ingredientes.

[0057] Em produtos consumíveis contendo produtos de reação de Maillard (isto é, aminas cíclicas produzidas de prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a produtos de reação de Maillard.

[0058] Em cervejas e produtos consumíveis contendo cerveja ou lúpulos, o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) poderá ser adicionado para suprimir o amargor associado a lúpulos.

EXEMPLOS

[0059] Os exemplos seguintes são apresentados para descrever os compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) em detalhes adicionais e para ilustrar os métodos de empregar os compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*) para bloquear ou de outra maneira mascarar *"off-notes"* em produtos consumíveis. Os

[0060] exemplos são ilustrativos e não devem ser interpretados como limitando os compostos, produtos consumíveis ou métodos de modo algum.

Exemplo 1

Avaliação sensorial em vários produtos consumíveis

[0061] Bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-notes"*) conforme descritos neste relatório são testados por meio de júri de 6 a 10 provadores sensíveis ao sabor amargo.

[0062] Pergunta-se a provadores que descrevam as diferenças em notas desagradáveis (*"off-notes"*) e notas amargas entre o produto com 0,001% (p/p) de bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) a não ser que de outra maneira estabelecido e um controle sem bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*).

A) Bebida Energética Dietética contendo Aspartame/Acessulfame-K

[0063] A bebida energética dietética continha taurina, acessulfame K, aspartame, sucralose, glicoronolactona, cafeína, vitaminas do grupo B (niacina, ácido pantotênico, B6, B12), aroma, sacarose, glicose, corantes.

[0064] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é menos amarga comparada com a de controle.

B) Bebida energética edulcorada com sacarose/glicose

[0065] A bebida energética dietética contém taurina, glicoronolac-

tona, cafeína, vitaminas do grupo B (niacina, ácido pantotênico, B6, B12), aroma, sacarose, glicose, corantes.

[0066] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) apresenta menos *"off-notes"*, é menos amarga, e menos adstringente comparada com a de controle.

C) Café de baixo teor de açúcar gelado

[0067] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é menos amarga, e menos adstringente comparada com a de controle.

D) Bebida Nutricional Aromatizada com Baunilha Comercial

[0068] Bebida nutricional aromatizada com baunilha contendo caseinato de cálcio, isolato de proteína de soja, caseinato de sódio, vitaminas e minerais.

[0069] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é menos gredosa apresenta notas desagradáveis (*"off-notes"*) induzidas por proteína/vitamina reduzidas, e é menos adstringente comparada com a de controle.

E) Refrigerante tipo cola edulcorado com sacarina

[0070] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é menos amarga e apresenta um gosto residual reduzido comparado com a de controle.

F) Xarope farmacêutico aromatizado com menta contendo Loperamida

[0071] O xarope continha 1 mg de HCl loperamida por porção de 7,5 ml. O bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é usado em uma concentração de 0,004% (p/p).

[0072] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é menos amarga com especialmente o gosto residual amargo prolongado reduzido.

G) Xarope diário para tosse

[0073] O xarope diário para tosse contém 325 mg de acetaminofe-

no, 10 mg de dextrometorfano HBr, 5 mg de HCl fenilefrina por porção de 15 ml.

[0074] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é menos amarga.

H) Chocolate Escuro

[0075] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é menos amarga.

I) Chocolate para Cozimento (100% Cacau, Não-edulcorado)

[0076] O bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é usado em uma concentração de 0,002% (p/p).

[0077] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é menos metálica, menos amarga, especialmente o amargor similar a alcaloide/cafeína é reduzido embora o amargor inicial quente e amadurado fosse retido.

J) Café supertorrado

[0078] Café é fermentado e torrado em um forno por 3 horas. O bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é usado em uma concentração de 0,0005% (p/p).

[0079] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é menos amarga.

K) Iogurte não-gorduroso natural edulcorado com Aspartame/Acessulfame-K

[0080] O iogurte continha 0,0193% (p/p) de aspartame e 0,0083% (p/p) de acessulfame-K. O bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é usado em uma concentração de 0,00175% (p/p).

[0081] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") apresenta menos "*off-notes*" comparada com a de controle.

L) Refrigerante tipo cola edulcorado com Aspartame/Acessulfame-K

[0082] O bloqueador de notas desagradáveis ("*off-note*") é usado

em uma concentração de 0,0063% (p/p).

<u>Refrigerante Cola</u>	<u>% (em peso)</u>
Benzoato de Sódio	0,026
Aspartame	0,043
Acessulfame-K	0,017
Cafeína	0,011
Ácido Fosfórico (85%)	0,043
Ácido Cítrico (corte a 50% em água)	0,017
Cor Caramelo	0,085
Água	Equilíbrio a 100

[0083] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) apresenta menos *"off-notes"* do que a de controle.

M) Refrigerante tipo cola edulcorado com sucralose

O bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) é usado em uma concentração de 0,0035% (p/p).

<u>Refrigerante Cola de sucralose</u>	<u>% (em peso)</u>
Benzoato de Sódio	0,03
Sucralose (corte a 25% em água)	0,06
Cafeína	0,01
Ácido Fosfórico (85%)	0,08
Cor Caramelo	0,09
Água	Equilíbrio a 100

[0084] Verificou-se que a amostra contendo o bloqueador de notas desagradáveis (*"off-note"*) apresenta menos *"off-notes"* e é menos amarga do que a de controle.

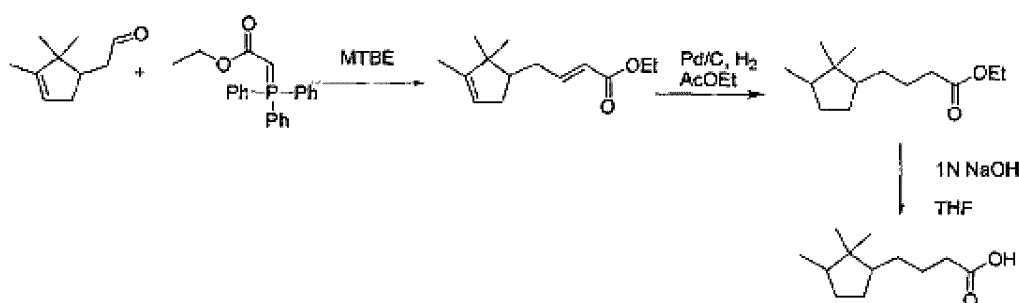
Exemplos 2a-2xy

Síntese de compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*)

Exemplo 2a

Síntese de ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico:

[0085] Ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico foi sintetizado em três etapas; a primeira etapa reage 2-(2,2,3-trimetilciclopent-3-en-1-il)acetaldeído (*aka* aldeído canfolênico) com 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila, na segunda etapa o último foi submetido a um procedimento de hidrogenação para formar ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, e na terceira etapa, a partir do último, formou-se ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil) butanoico na presença de hidróxido de sódio (NaOH) e tetra-hidrofurano (THF).



Etapa 1 (formação de 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila):

[0086] A um balão de fundo redondo de 250 ml seco a chama, aldeído canfolênico (10,0 g, 65,7 mmols) e éter metil terciária-butilico (MTBE) (100 ml) foram adicionados para fornecer uma solução e o balão foi lentamente esfriado a 0°C em um banho de água gelada. (Carbetoximetileno)trifenil-fosforano (22,8 g, 66,0 mmols) foi lentamente adicionado à solução. A mistura reacional foi agitada a 0°C por 20 minutos, em seguida agitada sob temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas. Após a reação ser completada, a mistura reacional foi reduzida até metade de seu volume a vácuo e 100 ml de hexanos foram adicionados. O balão contendo a mistura reacional e hexanos foi em seguida colocado em um banho de gelo por 30 minutos. A mistura reacional foi então filtrada por meio de um *plug* de papel-filtro, celite, sílica e areia e lavada três vezes, primeiro com hexanos, em seguida Hexanos/MTBE 9:1 e em seguida 1:1. Os eluatos combinados foram

concentrados a vácuo e purificados via cromatografia de coluna rápida (Hexanos/Acetato de Etila (AcOEt) 1:8) para fornecer 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila (13,1 g, 89%) como um óleo. Os dados de RMN são indicados abaixo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 6,92 (dd, $J = 10,5, 7,5$ Hz, 1H), 5,79 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 5,13 (s, 1H), 4,13 (m, 2H), 2,3 (m, 2H), 2,1 (m, 1H), 1,8 (m, 2H), 1,52 (s, 3H), 1,24 (t, $J = 15, 3\text{H}$), 0,91 (s, 3H), 0,71 (s, 3H);

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 166,1; 148,6; 147,8; 121,5; 121,3; 59,6; 48,9; 46,2; 35,2; 32,9; 25,5; 19,5; 14,0; 12,2; EM m/z 222.

Etapa 2 – Procedimento de hidrogenação:

[0087] A um balão de fundo redondo de três gargalos com uma barra agitadora cheio com nitrogênio. Paládio tipo *Degussa* sobre carvão vegetal Pd/C (1,5 g, Pd a 10%) foi adicionado como catalisador. O catalisador foi coberto com água destilada (8 ml) e 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentenil)butanoico (10,0 g, 44,9 mmols) em acetato de etila (AcOEt) (200 ml) foram adicionados ao balão de reação. O balão foi cheio com hidrogênio e a reação foi processada sob balões de hidrogênio que foram recarregados conforme necessário. Após 17 horas sob temperatura ambiente, verificou-se que a reação foi completada por meio de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG/EM). A mistura reacional foi filtrada por meio de um *plug* celite. As camadas orgânicas foram concentradas a vácuo e purificadas via cromatografia de coluna instantânea AcOEt/Hexanos (gradiente 0 a 40%) para fornecer 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoato de etila, ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil) butanoico como um óleo incolor (7,48 g, 74%). Os dados de RMN são indicados abaixo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 4,18 (q, $J = 7,14$, 2H), 2,34 (m, 2H), 1,82 (m, 3H), 1,56 (m, 5H), 1,30 (t, $J = 7,2$, 3H), 0, (m, 2H),

0,99 (s, 3H), 0,86 (d, $J = 5,4$, 2H), 0,52 (s, 3H);

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 173,8; 60,1; 50,6; 45,2; 42,2; 34,8; 30,1; 30,0; 28,1; 25,6; 24,3; 14,3; 14,2; 13,8; EM m/z 226.

Etapa 3 – Reação de Saponificação

[0088] 4-(2,2,3-Trimetilciclopentil)butanoato de etila (5 g, 22 mmols) foi adicionado a THF (25 ml) em um balão de fundo redondo. NaOH aquoso 1 N (25 ml) foi em seguida adicionado ao balão e a mistura reacional foi submetida a refluxo a 110°C por 8 horas. Sob conclusão da reação, a mistura reacional foi diluída com NaOH 1 N (25 ml) e a camada aquosa lavada duas vezes com MTBE (50 ml x 2). A camada aquosa foi tratada com HCl aquoso 1,0 N até que atingisse um pH de aproximadamente 3 (por exemplo, de 2 a 4), em seguida extraída três vezes com AcOEt (50 ml x 3). Os extratos de AcOEt combinados foram concentrados a vácuo e purificados via cromatografia de coluna instantânea com (gradiente a 0-40%) para fornecer ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico como um óleo incolor (3,82 g, 87%). Os dados de RMN são indicados abaixo.

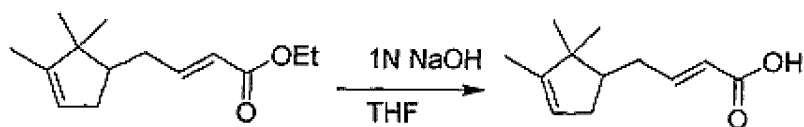
RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 11,22 (br s, 1H), 2,37 (m, 2H), 1,75 (m, 3H), 1,49 (m, 4H), 1,17 (m, 3H), 0,86 (s, 3H), 0,84 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 0,52 (s, 3H);

RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 179,9; 50,6; 45,2; 42,2; 34,4; 30,1; 30,0; 28,1; 25,0; 24,0; 14,3; 13,8; EM m/z 198.

Exemplo 2b

Síntese de ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico:

Ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico foi sintetizado em duas etapas; a primeira etapa reage aldeído canfolênico com 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila conforme descrito acima neste relatório, e na segunda etapa, a partir do último, formou-se ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico na presença de NaOH e THF (ver reação abaixo).



[0089] 4-(2,2,3-Trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoato de etila (2,0 g, 9,0 mmols) foi adicionado a THF (10 ml) em um balão de fundo redondo de 50 ml. NaOH aquoso 1 N (10 ml) foi em seguida adicionado ao balão, e a mistura reacional foi submetida a refluxo a 83°C por 19 horas. Sob conclusão da reação, a mistura reacional foi diluída com NaOH 1 N (10 ml) e a camada aquosa foi lavada duas vezes com MTBE (10 ml x 2). A camada aquosa foi tratada com HCl aquoso 1,0 N até que atingisse um pH de aproximadamente 3 (por exemplo de 2 a 4), em seguida extraída três vezes com AcOEt (10 ml x 3). Os extratos AcOEt combinados foram concentrados a vácuo e purificados via cromatografia de coluna instantânea com MTBE-hexanos (gradiente a 5-20%) para fornecer ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil-3-enil)but-2-enoico (1,58 g) como um óleo viscoso (1,58 g, 90%). Os dados de RMN são indicados abaixo.

RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 11,47 (br s, 1H), 7,15 (m, 1H), 5,90 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 5,23 (s, 1H), 2,39 (m, 3H), 1,91 (m, 2H), 1,62 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 0,827 (s, 3H);

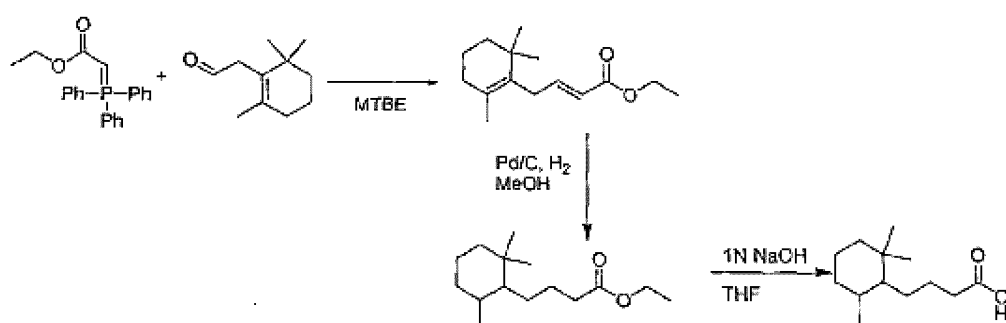
RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ 171,3; 152,2; 148,3; 121,9; 120,9; 49,1; 46,9; 35,4; 33,4; 25,8; 19,7; 12,5; EM m/z 194.

Exemplo 2c

Síntese de ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico:

[0090] Ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico foi sintetizado em três etapas: partindo de 2-(2,6,6-trimetilciclo-hex-1-enil)acetaldeído, análogo ao procedimento de etapa 3 descrito para ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil) butanoico acima neste relatório, com a exceção que AcOEt foi substituído por metanol (MeOH) na etapa 2, conforme indicado acima.

[0091] A primeira etapa forma 4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-1-enil)but-2-enoato de (E)-etila, a segunda etapa forma 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil) butanoato de etila, a terceira forma ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico. A maioria do produto compreende ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico), e ácido (Z)-4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico) está presente em uma concentração de até 10% (p/p) na mistura isomérica.

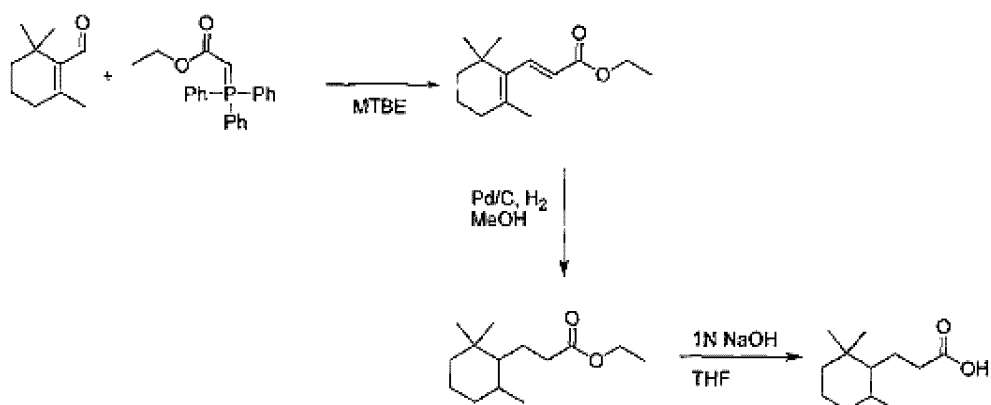


Exemplo 2d

Síntese de ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico

[0092] Ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico foi sintetizado em três etapas partindo de 2,6,6-trimetilciclo-hex-1-enocarbaldeído, análogo ao procedimento de etapa 3 descrito para ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil) butanoico e ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico acima neste relatório, conforme indicado abaixo.

[0093] A primeira etapa formou 3-(2,6,6-trimetilciclo-hex-1-enil)acrilato de (E)-etila, a segunda etapa formou 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoato de etila, a terceira formou o produto ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil) propanoico.



Exemplo 3

Ensaio de receptor de sabor amargo TAS2R44 para determinação de Cl_{50}

1) Geração de vetor de expressão humano TAS2R44

[0094] O gene de TAS2R44 humano de comprimento completo foi amplificado por reação em cadeia de polimerase (RCP) usando iniciadores específicos a gene que transpõe a região total de codificação conforme descrita *in* WO 2004/029087.

[0095] O cDNA de TAS2R44 foi subclonado em um cassete de expressão baseado em cada um dos seguintes plasmídeos/vetores de expressão: pcDNA3.1Zeo (*Invitrogen*). Esses vetores contêm dentro de seus sítios múltiplos de clonagem, a codificação de sequência de nucleotídeos em relação ao primeiro 45 aminoácidos do receptor de somatostatina de rato subtipo 3 (etiqueta (*tag*) RSS) para facilitar direcionamento de superfície celular do transgene (ID. SEQ. No. 4) e a codificação de sequência de nucleotídeos em relação a epitopo de glicoproteína D de vírus de herpes simples (HSV) (epitopo HSV em direção aminoterminal a carboxiterminal, etiqueta (*tag*) HSV). (SEQ ID N°: 3) para facilitar detecção imunocitoquímica.

[0096] O constructo TAS2R44 contém etiqueta (*tag*) RSS, TAS2R44 e a etiqueta (*tag*) HSV que são fundidas *in frame* para per-

mitir tradução para a proteína de receptor e o cDNA de receptor resultante.

[0097] Esse vetor de expressão transfectado é chamado pcDNA3.1Zeo-TAS2R44 (SEQ ID N°: 1) e permite expressão da proteína TAS2R44 (SEQ ID N°: 2).

2) Geração de uma linhagem celular estavelmente expressando Gα16-gustducin44 e TAS2R44.

[0098] Uma linhagem celular que estavelmente expressa o receptor de sabor amargo humano (TAS2R44) foi gerada transfectando pcDNA3.1Zeo-TAS2R44 em células HEK293T/Gα16-gustducin 44 (ambas formadas conforme descritas em 1) acima. A linhagem celular de hospedeiro HEK-293T é comercialmente disponível da *American Tissue Culture Collection* (catálogo No.CRL-1573).

Transfecção foi realizada como segue:

[0099] No dia 0, as células HEK293T/Gα16-gustducin 44 foram semeadas em uma placa de 6 poços sob uma densidade de 900.000 células por poço e desenvolvidas da noite para o dia em meio de crescimento seletivo (DMEM com soro fetal bovino inativado a calor a 10% (v/v), L-glutamina 2 mM, penicilina 100 unidades/ml, estreptomicina 100 µg/ml, G418 200 µg/ml e zeocina 200 µg/ml). No 1º dia, o meio foi alterado com 2 ml de meio de crescimento sem antibiótico e sem soro. 10 µl de Lipofectamina 2000 foram dissolvidos em 250 µl de DMEM e incubados por 5 minutos sob temperatura ambiente. Em paralelo, 4 µg de DNA de vetor TAS2R44 foram dissolvidos em 250 µl de DMEM. Essas duas soluções resultantes são misturadas e incubadas por 20 minutos sob temperatura ambiente antes de serem adicionadas às células para o meio de cultura celular. Após 4 horas, o meio é substituído com meio de crescimento contendo soro, sem antibiótico.

[00100] As células foram incubadas em atmosfera umidificada (37°C, CO₂ a 5%).

[00101] Após 24 horas, as células foram replaqueadas em meio de crescimento seletivo e foram adicionalmente incubadas em uma atmosfera umidificada (37°C, CO₂ a 5%).

[00102] Após 2 a 4 semanas de cultura (substituindo meio conforme necessário), colônias resistentes a zeocina foram selecionadas e expandidas.

[00103] O clone selecionado foi testado com êxito em relação à expressão funcional de TAS2R44.

3) Ensaio de Fluo-4 Cálcio

[00104] Fluo-4 AM (*Invitrogen*) é um indicador fluorescente de dinâmica intracelular de cálcio (alteração na concentração) e permite monitorar alterações na concentração de cálcio, particularmente, um aumento na resposta para ativação de receptor que ocorre após exposição de agonista.

[00105] No dia 0, a linhagem celular HEK293T, estavelmente expressando G α 16-gustducin44 e TAS2R44 formada conforme descrita sob 2) foi semeada em meio de crescimento sem antibiótico (padrão DMEM com soro fetal bovino inativado a calor a 10% (v/v), L-glutamina 2 mM-padrão DMEM com soro fetal bovino inativado a calor a 10% (v/v), L-glutamina 2 mM, 100 unidades/ml de penicilina, e 100 µg/ml de estreptomicina) em placas de 96 poços de parede negra/fundo claro, revestidas com poli(etilenimina) (0,005% v/v) sob uma concentração de 15.000 células por poço e incubada por 48 horas em atmosfera umidificada (37°C, CO₂ a 5%).

[00106] No momento quando do ensaio, o meio de crescimento foi descartado e as células foram adicionalmente incubadas em uma atmosfera umidificada (37°C, CO₂ a 5%) por 1 hora com 50 µl de tampão de carregamento que consiste em 1,5 µM de Fluo-4 AM e 2,5 µM de probenicida (*Sigma-Aldrich*) em DMEM.

[00107] Posteriormente, a placa de 96 poços foi lavada 5 vezes

com 200 μ l de tampão de ensaio (NaCl 130 mM, KCl 5 mM, HEPES 10 mM, CaCl_2 2 mM e dextrose 5 mM, pH 7,4) por poço, usando uma lavadora de placas automatizada (*BioTek*). A placa foi adicionalmente incubada por 30 minutos sob temperatura ambiente no escuro para permitir desesterificação completa do Fluo-4. Posteriormente, a placa foi lavada 5 vezes com 200 μ l de tampão de ensaio por poço, e reconstituída com 180 μ l de tampão de ensaio por poço.

[00108] Para leitura do ensaio, a placa foi colocada em uma Leitora de Placa de Imagem Fluorométrica (*Fluorometric Imaging Plate Reader*) (FLIPR) (FLIPR-TETRA[®], *Molecular Devices*), e ativação de receptor foi iniciada por meio de adição de 20 μ l de uma solução de estoque de agonista concentrada dez vezes mais (para fornecer a concentração final de agonista desejada quando adicionada ao volume de tampão de ensaio de 180 microlitros), a qual foi preparada em tampão de ensaio.

[00109] Fluorescência foi continuamente monitorada por 20 segundos para fornecer uma linha de referência de sinal (calculada a média para fornecer F_0) antes de adição de agonista e por 120 segundos após adição de agonista. A alteração no sinal dividida por F_0 fornece $\Delta F/F_0$ indicado na tabela, com ΔF sendo o sinal máximo que ocorre dentro dos 120 segundos menos o sinal mínimo (que ocorre dentro dos 120 segundos; após adição de agonista).

[00110] Todos os dados foram coletados a partir de pelo menos dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

[00111] Realizou-se uma análise de resposta para concentração e valores de CI_{50} foram calculados por regressão não-linear usando a função $f(x) = (a-d)/(1+(x/C)^{nh}) + d$; com a = sinal mínimo, d = sinal máximo, nh = coeficiente de Hill, $C = \text{CI}_{50}$, e x = concentração de antagonista. CI_{50} é a concentração molar de um antagonista que produz 50% da resposta inibitória/eficaz máxima possível em relação a esse anta-

gonista. Um antagonista mais potente apresentará um valor inferior de Cl_{50} .

[00112] Os sinais de cálcio obtidos foram corrigidos em relação à resposta de células que expressam apenas a subunidade α de Proteína G ($G\alpha_{16}$ -gustducin44) e normalizados à fluorescência de células antes do estímulo usando $\Delta F/F_0$ ($F_{\max} - F_{\min}/F_0$).

Exemplo 4

Determinação de Cl_{50} de bloqueadores de notas desagradáveis ("off-note"), sacarina

[00113] Os seguintes bloqueadores de notas desagradáveis ("off-note") foram testados: ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético, ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanoico e ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbicyclo[3.1.0]hexan-3-il)metil) ciclopropanocarboxílico.

[00114] O método foi realizado conforme descrito no exemplo 3, usando sacarina como agonista. As células são expostas a uma concentração constante de sacarina (0,5 mM) e a um ajuste de diferentes concentrações do bloqueador de notas desagradáveis ("off-note"). Realizou-se um ensaio de fluo-4 cálcio conforme descrito acima no exemplo 3 e forneceu uma Cl_{50} [micromolar] dentro da faixa de 0,05 a 25.

[00115] Isso significa que os bloqueadores de notas desagradáveis ("off-note") inibiram a resposta do receptor de sabor amargo TAS2R44 e serão úteis para bloquear sabor amargo.

Exemplo 5

Determinação de Cl_{50} para bloqueadores de notas desagradáveis ("off-note"), Acessulfame K

[00116] O método foi realizado conforme descrito no exemplo 4, trocando sacarina por Acessulfame K (0,8 mM) como agonista. Uma

Cl₅₀ dentro da mesma faixa foi determinada. Isso significa que os bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-note"*) inibiram a resposta do receptor de sabor amargo TAS2R44 e serão úteis para bloquear sabor amargo.

Exemplo 6

Determinação de Cl₅₀ para bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-note"*), sucralose

[00117] Realizou-se o método testando ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico conforme descrito no exemplo 4, trocando sacarina por sucralose (50 mM) como agonista. Uma Cl₅₀ dentro da mesma faixa foi determinada. Isso significa que os bloqueadores de notas desagradáveis (*"off-note"*) inibiram a resposta do receptor de sabor amargo TAS2R44 e serão úteis para bloquear sabor amargo.

Exemplo 7

Avaliação sensorial de ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)but-2-enoico

[00118] Testou-se o bloqueador de sabor amargo (13 ppm) em água com sucralose em concentrações de 1 mM, 3 mM e 7 mM por meio de um júri de indivíduos sensíveis a sabor amargo (15) em duas réplicas por cada concentração. As amostras foram comparadas com controles negativos sem bloqueador de sabor amargo e provadores foram instruídos a escolher a amostra menos amarga em um teste de escolha forçada.

[00119] Verificou-se que o bloqueador de sabor amargo significativamente reduz amargor (22/30 provadores escolhem a amostra com bloqueador de sabor amargo como menos amarga).

[00120] As sequências empregadas nos constructos e métodos descritos neste relatório

[00121] podem ser encontradas na listagem de sequência abaixo

neste relatório.

[00122] Embora os compostos, produtos consumíveis e métodos tenham sido descritos acima juntamente com modalidades ilustrativas, deve-se entender que outras modalidades similares poderão ser usadas, ou modificações e adições poderão ser produzidas às modalidades descritas para realização da mesma função sem desviar-se destas. Adicionalmente, todas as modalidades descritas não estão necessariamente na alternativa, à medida que várias modalidades da invenção poderão ser combinadas para proporcionar as características desejadas. Variações podem ser feitas por aquele versado na técnica sem desviar-se do espírito e escopo da invenção. Portanto, os compostos, produtos consumíveis e métodos não devem ser limitados a qualquer modalidade única, mas de preferência construída na amplitude e escopo de acordo com a recitação das reivindicações anexas.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

```

<110>      Givaudan SA

<120>      COMPOSTOS ORGÂNICOS SENSORIAIS DE BLOQUEIO DE NOTAS
            DESAGRADÁVEIS ("OFF-NOTE")

<130>      30310/PCT

<160>      4

<170>      PatenteIn versão 3.3

<210>      1

<211>      1113

<212>      DNA

<213>      Artificial

<220>

<223>      DNA artificial

<220>

<221>      CDS

<222>      (1)..(1113)

<400>      1
atg gcc gct gtt acc tat cct tca tcc gtg cct acg acc ttg gac cct
48
Met Ala Ala Val Thr Tyr Pro Ser Ser Val Pro Thr Thr Leu Asp Pro
1              5              10              15

```

ggg aat gca tcc tca gcc tgg ccc ctg gac acg tcc ctg ggg aat gca
96

Gly Asn Ala Ser Ser Ala Trp Pro Leu Asp Thr Ser Leu Gly Asn Ala
20 25 30

tct gct ggc act agc ctg gca gga ctg gct gtc agt ggc gaa ttc atg
144

Ser Ala Gly Thr Ser Leu Ala Gly Leu Ala Val Ser Gly Glu Phe Met
35 40 45

aca act ttt ata ccc atc att ttt tcc agt gtg gta gtg gtt cta ttt
192

Thr Thr Phe Ile Pro Ile Ile Phe Ser Ser Val Val Val Val Leu Phe
50 55 60

gtt att gga aat ttt gct aat ggc ttc ata gca ttg gta aat tcc att
240

Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser Ile
65 70 75 80

gag cgg gtc aag aga caa aag atc tct ttt gct gac cag att ctc act
288

Glu Arg Val Lys Arg Gln Lys Ile Ser Phe Ala Asp Gln Ile Leu Thr
85 90 95

gct ctg gcg gtc tcc aga gtt ggt ttg ctc tgg gta tta tta tta aat
336

Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Asn
100 105 110

tgg tat tca act gtg ttt aat cca gct ttt tat agt gta gaa gta aga
384

Trp Tyr Ser Thr Val Phe Asn Pro Ala Phe Tyr Ser Val Glu Val Arg
115 120 125

act act gct tat aat gtc tgg gca gta acc ggc cat ttc agc aac tgg
432

Thr Thr Ala Tyr Asn Val Trp Ala Val Thr Gly His Phe Ser Asn Trp
130 135 140

ctt gct act agc ctc agc ata ttt tat ttg ctc aag att gcc aat ttc
480

Leu Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn Phe
145 150 155 160

tcc aac ctt att ttt ctt cac tta aag agg aga gtt aag agt gtc att
528

Ser Asn Leu Ile Phe Leu His Leu Lys Arg Arg Val Lys Ser Val Ile
165 170 175

ctg gtg atg ctg ttg ggg cct tta cta ttt ttg gct tgt caa ctt ttt

576

Leu Val Met Leu Leu Gly Pro Leu Leu Phe Leu Ala Cys Gln Leu Phe
 180 185 190

gtg ata aac atg aaa gag att gta cgg aca aaa gaa tat gaa gga aac
 624

Val Ile Asn Met Lys Glu Ile Val Arg Thr Lys Glu Tyr Glu Gly Asn
 195 200 205

atg act tgg aag atc aaa ttg agg agt gca gtg tac ctt tca gat gcg
 672

Met Thr Trp Lys Ile Lys Leu Arg Ser Ala Val Tyr Leu Ser Asp Ala
 210 215 220

act gta acc acg cta gga aac tta gtg ccc ttc act ctg acc ctg cta
 720

Thr Val Thr Thr Leu Gly Asn Leu Val Pro Phe Thr Leu Thr Leu Leu
 225 230 235 240

tgt ttt ttg ctg tta atc tgt tct ctg tgt aaa cat ctc aag aag atg
 768

Cys Phe Leu Leu Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys Met
 245 250 255

cag ctc cat ggt aaa gga tct caa gat ccc agc acc aag gtc cac ata
 816

Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Val His Ile
 260 265 270

aaa gct ttg caa act gtg atc ttt ttc ctc ttg tta tgt gcc gtt tac
 864

Lys Ala Leu Gln Thr Val Ile Phe Phe Leu Leu Leu Cys Ala Val Tyr
 275 280 285

ttt ctg tcc ata atg ata tca gtt tgg agt ttt ggg agt ctg gaa aac
 912

Phe Leu Ser Ile Met Ile Ser Val Trp Ser Phe Gly Ser Leu Glu Asn
 290 295 300

aaa cct gtc ttc atg ttc tgc aaa gct att aga ttc agc tat cct tca
 960

Lys Pro Val Phe Met Phe Cys Lys Ala Ile Arg Phe Ser Tyr Pro Ser
 305 310 315 320

atc cac cca ttc atc ctg att tgg gga aac aag aag cta aag cag act
 1008

Ile His Pro Phe Ile Leu Ile Trp Gly Asn Lys Lys Leu Lys Gln Thr
 325 330 335

ttt ctt tca gtt ttg cgg caa gtg agg tac tgg gtg aaa gga gag aag
 1056

37/38

Phe Leu Ser Val Leu Arg Gln Val Arg Tyr Trp Val Lys Gly Glu Lys
340 345 350
cct tca tct cca tgc ggc cgc cag cct gaa ctc gct cct gaa gac ccg
1104
Pro Ser Ser Pro Cys Gly Arg Gln Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro
355 360 365
gaa gat taa
1113
Glu Asp
370
<210> 2
<211> 370
<212> PRT
<213> Artificial
<220>
<223> Constructo Sintético
<400> 2
Met Ala Ala Val Thr Tyr Pro Ser Ser Val Pro Thr Thr Leu Asp Pro
1 5 10 15
Gly Asn Ala Ser Ser Ala Trp Pro Leu Asp Thr Ser Leu Gly Asn Ala
20 25 30
Ser Ala Gly Thr Ser Leu Ala Gly Leu Ala Val Ser Gly Glu Phe Met
35 40 45
Thr Thr Phe Ile Pro Ile Ile Phe Ser Ser Val Val Val Val Leu Phe
50 55 60
Val Ile Gly Asn Phe Ala Asn Gly Phe Ile Ala Leu Val Asn Ser Ile
65 70 75 80
Glu Arg Val Lys Arg Gln Lys Ile Ser Phe Ala Asp Gln Ile Leu Thr
85 90 95
Ala Leu Ala Val Ser Arg Val Gly Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Asn
100 105 110
Trp Tyr Ser Thr Val Phe Asn Pro Ala Phe Tyr Ser Val Glu Val Arg
115 120 125
Thr Thr Ala Tyr Asn Val Trp Ala Val Thr Gly His Phe Ser Asn Trp
130 135 140
Leu Ala Thr Ser Leu Ser Ile Phe Tyr Leu Leu Lys Ile Ala Asn Phe
145 150 155 160
Ser Asn Leu Ile Phe Leu His Leu Lys Arg Arg Val Lys Ser Val Ile
165 170 175
Leu Val Met Leu Leu Gly Pro Leu Leu Phe Leu Ala Cys Gln Leu Phe
180 185 190

Val Ile Asn Met Lys Glu Ile Val Arg Thr Lys Glu Tyr Glu Gly Asn
 195 200 205
 Met Thr Trp Lys Ile Lys Leu Arg Ser Ala Val Tyr Leu Ser Asp Ala
 210 215 220
 Thr Val Thr Thr Leu Gly Asn Leu Val Pro Phe Thr Leu Thr Leu Leu
 225 230 235 240
 Cys Phe Leu Leu Leu Ile Cys Ser Leu Cys Lys His Leu Lys Lys Met
 245 250 255
 Gln Leu His Gly Lys Gly Ser Gln Asp Pro Ser Thr Lys Val His Ile
 260 265 270
 Lys Ala Leu Gln Thr Val Ile Phe Phe Leu Leu Leu Cys Ala Val Tyr
 275 280 285
 Phe Leu Ser Ile Met Ile Ser Val Trp Ser Phe Gly Ser Leu Glu Asn
 290 295 300
 Lys Pro Val Phe Met Phe Cys Lys Ala Ile Arg Phe Ser Tyr Pro Ser
 305 310 315 320
 Ile His Pro Phe Ile Leu Ile Trp Gly Asn Lys Lys Leu Lys Gln Thr
 325 330 335
 Phe Leu Ser Val Leu Arg Gln Val Arg Tyr Trp Val Lys Gly Glu Lys
 340 345 350
 Pro Ser Ser Pro Cys Gly Arg Gln Pro Glu Leu Ala Pro Glu Asp Pro
 355 360 365

Glu Asp
 370

<210> 3
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Virus de herpes simples
 <400> 3

tgcggccgcc agcctgaact cgctcctgaa gacccggaag attaa 45

<210> 4
 <211> 144
 <212> DNA
 <213> rat
 <400> 4

atggccgctg ttacctatcc ttcattccgtg cctacgacct tggaccctgg gaatg-
 catcc 60

tcagcctggc ccctggacac gtccctgggg aatgcatctg ctggcactag cctggca-
 gga 120

ctggctgtca gtggcgaatt catg
 144

REIVINDICAÇÕES

1. Composto de bloqueio de nota desagradável ("*off-note*") amarga, caracterizado por ser selecionado de um ou mais de:

ácido 4-(2,2, 3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético, ácido 2-metil-4-(2,6,6-trimetilciclo-hex-2-enil)butanoico, ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico; ácido (E)-3-(1-(2,2,3-trimetilciclopent-3-enil)ciclopropil)acrílico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclo-hex-3-enil)but-2-enoico, ácido (E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-3-enoico, ácido(E)-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)but-2-enoico, ácido 1-metil-2-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropanocarboxílico, ácido 2,2-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 2-((1,4-dimetilbíciclo [3.1.0]hexan-2-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,2,2-trimetilbíciclo[3.1.0]hexan-3-il)metil)ciclopropil)propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, ácido 3,3-dimetil-4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, e ácido 4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il) butanoico, ácido (E)-1-(2-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)vinil) ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)vinil)ciclopropanocarboxílico, ácido (E)-4-(1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]hept-6-en-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4] heptan-4-il)but-3-enoico, ácido (E)-4-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)but-2-enoico, ácido (E)-4-(8-metilespiro[2.5]oct-7-en-4-il)but-2-enoico, ácido 1-(2-(7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)etil)ciclopropanocarboxílico, ácido 2-((6,7-dimetilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)-1-metilciclopropanocarboxílico, ácido 2-(1-((1,4-dimetilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)propanoico, ácido 2-(1-((1-metilbíciclo[3.1.0]hexan-2-il)metil)ciclopropil)acético, áci-

do 2-(1-((7-metilespiro[2.4]heptan-4-il)metil)ciclopropil)acético e ácido 4-(7-metilespiro[2.4] heptan-4-il)butanoico.

2. Composto de bloqueio de nota desagradável (*"off-note"*) amarga de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por ser selecionado do grupo que consiste em ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico, ácido 4-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)butanoico, ácido 3-(2,2,6-trimetilciclo-hexil)propanoico, ácido 4-propilciclo-hexanocarboxílico, ácido 2-(3,4-dimetilciclo-hexil)acético e misturas destes.

3. Composição de sabor, caracterizada por compreender um ingrediente consumível que proporciona nota desagradável (*"off-note"*), e um ou mais compostos de bloqueio de nota desagradável (*"off-note"*), como definido na reivindicação 1 ou 2.

4. Produto consumível, caracterizado por compreender:

a) um ou mais ingredientes em uma concentração suficiente para proporcionar uma nota desagradável (*"off-note"*), e

b) um ou mais compostos de bloqueio de notas desagradáveis (*"off-note"*), como definido na reivindicação 1 ou 2.

5. Produto consumível de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) ser selecionado do grupo que consiste em edulcorante, edulcorante artificial, bebida, goma de mascar, nutracêutico e farmacêutico.

6. Produto consumível de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) compreender um edulcorante artificial selecionado do grupo que consiste em aspartame, Acessulfame K, sacarina, sucralose, ciclamato de sódio, e misturas dos mesmos.

7. Produto consumível de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas

desagradáveis ("*off-note*") compreender um edulcorante selecionado do grupo que consiste em, incluindo esteviosídeo, extrato de limão, glicerrizina, perilartina, di-hidrocalcona de naringina, di-hidrocalcona de neoesperidina, mogrosídeo V, rubusosídeo, extrato de amora preta (*rubus*) e rebaudiosídeo A, e misturas dos mesmos.

8. Produto consumível de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis ("*off-note*") compreender um produto consumível selecionado do grupo que consiste em cacau, café, cafeína, teobromina, dicetopiperazinas, vitaminas, aminoácidos, vitamina B, caseína, proteína de soja, ibuprofeno, ácido salicílico, glicoronolactona, acetaminofeno, dextrometorfano, naringina, taurina, macrolídeo (incluindo bioxina e eritomicina), paracetamol, ácido acetilsalicílico, cimetidina, ranitidina, amoxicilina, acetaminofeno, cefalosporinas, quássia, propileno glicol, triacetina, sais de potássio, sais de zinco, loperamida, limonina, flavonoides, isoflavonas (incluindo, genisteína e diadzeína), polifenol (incluindo, catequina e epicatequina), óleo de menta, D-mentol, proteína vegetal hidrolisada, peptídeos amargos, conservantes (incluindo, ácido benzoico, sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio), ácido cítrico, quinina, ureia (contida em gomas de mascar), óleos essenciais (incluindo, tomilho, sálvia, manjerição, menta), produtos de reação de Maillard (incluindo aminas cíclicas produzidas de pirrolidina/glicose, alanina/xilose, prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), cerveja, lúpulos, humulona, trans-iso-humulona, lupulona e hulupona, e misturas dos mesmos.

9. Método de bloqueio de notas desagradáveis ("*off-note*") em produtos consumíveis, caracterizado por compreender: misturar com o produto consumível (a) um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis ("*off-note*") em uma concentração suficiente

para proporcionar uma nota desagradável (*"off-note"*), e (b) um ou mais compostos de bloqueio de nota desagradável (*"off-note"*), como definido na reivindicação 1 e 2.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) ser selecionado do grupo que consiste em edulcorante, edulcorante artificial, bebida, goma de mascar, nutracêutico e farmacêutico.

11. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) compreender um edulcorante artificial selecionado do grupo que consiste em aspartame, acessulfame K, sacarina, sucralose, ciclamato de sódio, e misturas dos mesmos.

12. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) compreender um edulcorante selecionado do grupo que consiste em, incluindo esteviosídeo, extrato de limão, glicerrizina, perillartina, di-hidrocalcona de naringina, di-hidrocalcona de neoesperidina, mogrosídeo V, rubusosídeo, extrato de amora-preta (*rubus*) e rebaudiosídeo A, e misturas dos mesmos.

13. Método de acordo com a reivindicação 9, caracterizado por um ou mais ingredientes que proporcionam notas desagradáveis (*"off-note"*) compreender um produto consumível selecionado do grupo que consiste em cacau, café, cafeína, teobromina, dicetopiperazinas, vitaminas, aminoácidos, vitamina B, caseína, proteína de soja, ibuprofeno, ácido salicílico, glicoronolactona, acetaminofeno, dextrometorfano, naringina, taurina, macrolídeo (incluindo bioxina e eritomicina), paracetamol, ácido acetilsalicílico, cimetidina, ranitidina, amoxicilina, acetaminofeno, cefalosporinas, quássia, propileno glicol, triacetina, sais de potássio, sais de zinco, loperamida, limonina, flavonoides, isoflavonas

(incluindo, genisteína e diadzeína), polifenol (incluindo, catequina e epicatequina), óleo de menta, D-mentol, proteína vegetal hidrolisada, peptídeos amargos, conservantes (incluindo, ácido benzoico, sorbato de potássio, polissorbato 80, lactato de sódio e potássio, benzoato de sódio), ácido cítrico, quinina, ureia (contida em gomas de mascar), óleos essenciais (incluindo, tomilho, sálvia, manjerição, menta), produtos de reação de Maillard (incluindo aminas cíclicas produzidas de pirrolidina/glicose, alanina/xilose, prolina/sacarose ou alanina/xilose, por exemplo, dicetopiperazinas), cerveja, lúpulos, humulona, trans-iso-humulona, lupulona e hulupona, e misturas dos mesmos.