



(51) МПК  
*C12P 17/04* (2006.01)  
*C07D 307/32* (2006.01)  
*A23L 1/23* (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2007120504/10**, **02.11.2005**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**02.11.2005**

Приоритет(ы):  
 (30) Конвенционный приоритет:  
**03.11.2004 FR 0411721**

(43) Дата публикации заявки: **10.12.2008** Бюл. № 34

(45) Опубликовано: **20.01.2011** Бюл. № 2

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **WILSON R. Stephen, Silicon-mediated skipped diene synthesis. Application to the melon fly pheromone, journal of organic chemistry, 53(20), 4682-93, 1988. OHINATA K, Oriental fruit fly and melon fly: biological and chemical studies of smoke produced by males, Journal of environmental science and health. Part A, Environmental science and engineering, (см. прод.)**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **04.06.2007**

(86) Заявка РСТ:  
**FR 2005/002729 (02.11.2005)**

(87) Публикация заявки РСТ:  
**WO 2006/048550 (11.05.2006)**

Адрес для переписки:  
**103735, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО "Союзпатент", пат.пов. И.С.Саломатиной**

(72) Автор(ы):  
**ЗУККА Жозеф (FR),  
 МАН Жан (FR)**

(73) Патентообладатель(и):  
**В. МАН ФИС (FR)**

## (54) ГАММА-УНДЕЦЕНОЛАКТОН, СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ В КОСМЕТИКЕ ИЛИ В КАЧЕСТВЕ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ

(57) Реферат:  
 Изобретение относится к биотехнологии. Гамма-ундеценолактон, отвечающий формуле (I), в котором лактоновое кольцо может нести непредельную связь между углеродом №2 и углеродом №3 и предпочтительно является насыщенным и в

котором R1 является C<sub>7</sub>-алкенильной группой, несущей одну ненасыщенную связь в положении C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, или C<sub>7</sub>-алкинильной группой, содержащей несколько ненасыщенных связей, включая одну ненасыщенную алкеновую связь в положении C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, и по меньшей мере одну вторую

ненасыщенную алкеновую связь в положении, отличном от C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>. При этом указанный гамма-ундеценолактон содержит асимметричный углерод в позиции 4 и может иметь конфигурацию (R) или (S). Гамма-

ундеценолактон обладает вкусоароматическими свойствами и может применяться в качестве отдушки в парфюмерных изделиях и как ароматизатор в пищевых продуктах. 9 н. и 9 з.п. ф-лы.

(56) (продолжение):

А 14(2). 197-216, реферат. US 4950607 А, 21.08.1990. US 5457036 А, 10.10.1995. SU 9691140 А3, 23.10.1982.

R U 2 4 0 9 6 7 7 C 2

R U 2 4 0 9 6 7 7 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*C12P 17/04* (2006.01)  
*C07D 307/32* (2006.01)  
*A23L 1/23* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2007120504/10, 02.11.2005**

(24) Effective date for property rights:  
**02.11.2005**

Priority:

(30) Priority:  
**03.11.2004 FR 0411721**

(43) Application published: **10.12.2008 Bull. 34**

(45) Date of publication: **20.01.2011 Bull. 2**

(85) Commencement of national phase: **04.06.2007**

(86) PCT application:  
**FR 2005/002729 (02.11.2005)**

(87) PCT publication:  
**WO 2006/048550 (11.05.2006)**

Mail address:  
**103735, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO  
"Sojuzpatent", pat.pov. I.S.Salomatinov**

(72) Inventor(s):

**ZUKKA Zhozef (FR),  
MAN Zhan (FR)**

(73) Proprietor(s):

**V. MAN FIS (FR)**

**(54) GAMMA-UNDECENOLACTON, METHOD FOR PRODUCING, AND APPLICATION IN COSMETICS OR AS FOOD ADDITIVE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: gamma-undecenolacton meeting formula (I) wherein a lacton ring can carry a nonlimiting link between carbon No.2 and carbon No.3 and is preferentially saturated, and wherein R<sub>1</sub> is C<sub>7</sub>-alkenyl group carrying one unsaturated link in the position C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, or C<sub>7</sub>-alkynyl group containing a number of unsaturated links, including

one unsaturated alkene link in the position C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, and at least one second unsaturated alkene link in the position different from C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>. Said gamma-undecenolacton contains asymmetric carbon in position 4 and can have configuration (R) or (S).

EFFECT: gamma-undecenolacton exhibits flavor-aromatic properties and can be applied as a scent in perfumery products and as an aromatiser in foodstuff.

18 cl, 9 ex

RU 2 409 677 C2

RU 2 409 677 C2

Объектом настоящего изобретения являются новый лактон, а именно гамма-ундеценолактон; его биологический, в частности стереоспецифичный, синтез каждого из его изомеров (R) или (S); и его применение, в частности, в области пищевой промышленности и парфюмерной промышленности.

5 Потребительское общество все больше стремится потреблять «природные» продукты, поэтому производители, использующие пахучие соединения или одоранты, сосредоточивают свои усилия на разработке «природных» ароматизирующих веществ и препаратов. К их числу могут быть отнесены только вещества, идентифицированные  
10 в природе; поэтому их в настоящее время получают либо из растений, либо из микроорганизмов; последние находят все большее применение, и в настоящее время биотехнологические способы позволяют синтезировать природные молекулы при небольших затратах. Такими молекулами являются гамма-лактоны.

15 Гамма-лактоны являются ароматическими молекулами, обеспечивающими запах и вкус многочисленных природных продуктов. Например, гамма-гепталактон известен своим запахом и вкусом лесного ореха или карамели. Гамма-ноналактон имеет консистентный аромат сливок или кокосового ореха; гамма-декалактон и гамма-ундекалактон имеют запах и вкус персика или абрикоса.

20 Гамма-лактоны существуют в естественном состоянии в двух энантиоморфных формах (R) и (S), причем энантиомер (R) является доминирующим.

Гамма-лактоны могут быть получены синтетическим путем или путем биосинтеза при помощи микроорганизмов. Так, в документе EP 371568 описан способ получения  
25 гамма-лактонов при помощи микроорганизмов, разрешенных для производства пищевых продуктов, таких как *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaromyces hansenii* или *Candida boidinii*.

В US 5112903 указано, что гамма-лактон и, в частности, его оптические изомеры (R) и (S) можно использовать для формирования запахов и вкуса сливочного масла, и  
30 описан способ для повышения потребительского аромата или вкуса вещества путем добавления существенных количеств оптически активных гамма-окталактонов и смеси различных соединений, которые являются субпродуктами описанного способа. Согласно способу, описанному в US 5112803, на основе каприловой кислоты путем биосинтеза при помощи штаммов бактерий рода *Syncephalastratum* sp. или *Mortierella*  
35 sp. можно получать оба изомера (R) и (S) гамма-окталактона; однако этот способ не является энантиоселективным.

В пищевой промышленности и в парфюмерной промышленности гамма-лактоны играют важную роль, и получение продуктов, обладающих разными  
40 органолептическими свойствами, стало важной задачей в промышленном масштабе.

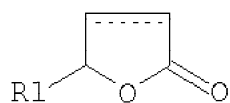
Объектом настоящего изобретения является новый гамма-лактон, в именно гамма-ундеценолактон, который обладает ароматическими и вкусовыми свойствами, сравнимыми со свойствами известных гамма-лактонов, но отличающийся от них, в частности, запахом и вкусом ананасов и фруктов страсти.

45 Известно, что хиральность летучих молекул может быть причиной разных восприятий на уровне обоняния и что не все оптические изомеры гамма-лактонов обладают одними и теми же органолептическими свойствами, вследствие этого возрастает значение получения отдельного оптического изомера гамма-лактона, в частности, если это получение осуществляют согласно способу, по меньшей мере, в  
50 такой же мере эффективно и даже более эффективно, чем известные способы, и при конкурентных материальных затратах.

Другой задачей настоящего изобретения является создание эффективного,

экономичного способа синтеза гамма-ундеценолактона биологическим путем и, в частности, способа стереоспецифичного синтеза каждого из оптических изомеров (R) и (S) гамма-ундеценолактона.

Гамма-ундеценолактон в соответствии с настоящим изобретением отвечает формуле (I):



(I)

в которой лактоновое кольцо может нести непредельную связь между углеродом № 2 и углеродом № 3 и в которой R1 является C<sub>7</sub>-алкенильной или C<sub>7</sub>-алкинильной группой, несущей, по меньшей мере, одну непредельную группу, в частности, C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>-алкенильную непредельную группу, при этом R1 в случае необходимости является замещенной группой.

Согласно предпочтительному варианту осуществления R1 содержит только одну непредельную группу. Предпочтительно этой непредельной группой является алкенильная непредельная группа.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения R1 содержит несколько непредельных групп, среди которых непредельная C<sub>10</sub>-алкенильная группа и, по меньшей мере, одна другая непредельная алкенильная группа с углеродом, отличным от C<sub>7</sub>.

Согласно частному варианту осуществления изобретения R1 является алкенильной группой, содержащей 7 атомов углерода, возможно, замещенной, несущей только одну непредельную связь, находящуюся в C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>.

Согласно другому предпочтительному варианту осуществления изобретения R1 не замещена атомом галогена, в частности брома или хлора.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения R1 является группой C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>, предпочтительно группой CH<sub>2</sub>=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, и лактоновое кольцо является насыщенным.

Согласно другому варианту осуществления настоящего изобретения R1 содержит только одну алкинильную непредельную связь, предпочтительно на углероде 10.

Под замещенным алкенилом, или алкинилом, или алкилом следует понимать алкенил, или алкинил, или алкил, по меньшей мере, один атом углерода которого несет, по меньшей мере, одну замещающую группу. Под замещающей группой следует понимать, в частности, гидроксильную группу, кетогруппу, тиогруппу, алкильную группу или алкенильную группу.

Гамма-ундеценолактон в соответствии с настоящим изобретением содержит асимметричный углерод в позиции 4 и может иметь конфигурацию (R) или (S).

Изобретение касается как (R)-гамма-ундеценолактона, так и (S)-гамма-ундеценолактона, а также смеси в любых пропорциях этих двух оптических изомеров, в частности рацемической смеси.

Объектом настоящего изобретения является получение гамма-ундеценолактона формулы (I) биологическим путем и, в частности, его биосинтез при помощи микроорганизмов на основе, по меньшей мере, одного субстрата, в частности ундециленовой кислоты или одного из ее сложных эфиров, предпочтительно метилового или этилового эфиров, при помощи культуры микроорганизмов соответствующего штамма, выбранного из штаммов, обеспечивающих C<sub>4</sub>-

гидроксилирование субстрата.

Это получение содержит следующие этапы:

а) селекция соответствующего штамма,

б) культивирование указанного штамма в соответствующей питательной среде, при этом перед указанным культивированием в случае необходимости осуществляют этап предварительного культивирования штамма,

в) добавление субстрата, который может быть трансформирован в гамма-ундеценолактон формулы (I),

г) биоконверсия субстрата в гамма-ундеценолактон формулы (I),

д) выделение полученного таким образом гамма-ундеценолактона формулы (I).

Соответствующими штаммами микроорганизмов, используемыми на этапе а) для биосинтеза гамма-ундеценолактона в соответствии с настоящим изобретением, являются штаммы, обеспечивающие специфическое гидроксилирование субстрата, в частности С<sub>4</sub>-гидроксилирование.

Если получаемый в результате биосинтеза продукт предназначен для пищевой промышленности, предпочтительными, естественно, являются штаммы пищевого назначения. Среди штаммов, обеспечивающих стереоспецифичное гидроксилирование, можно указать, в частности, штаммы рода *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Mortierella* sp. Поскольку все эти штаммы принадлежат к классу 1 микроорганизмов и некоторые из них являются пищевыми, их применение не создает особых проблем как при промышленном производстве лактона, так и для его возможного применения в индустрии питания.

Согласно частному варианту осуществления настоящего изобретения используемым штаммом является штамм рода *Aspergillus* sp., предпочтительно *Aspergillus oryzae*, из которых можно упомянуть следующие коллекционные штаммы:

*Aspergillus oryzae* DSMZ 1861, *Aspergillus oryzae* DSMZ 1864, *Aspergillus oryzae* DSMZ 1147, *Aspergillus oryzae* DSMZ 63303, *Aspergillus oryzae* CBS 570.65, *Aspergillus oryzae* CBS 819.72, *Aspergillus oryzae* CBS 110.27, *Aspergillus oryzae* VMF 88093.

Среди них предпочтительными являются *Aspergillus oryzae* DSMZ 1861 и *Aspergillus oryzae* CBS 110.27.

Согласно другому частному варианту осуществления используемым штаммом является штамм рода *Mortierella* sp., для которого можно упомянуть следующие коллекционные виды:

*Mortierella isabellina* DSMZ 1414, *Mortierella isabellina* CBS 100559, *Mortierella isabellina* CBS 221.29, *Mortierella isabellina* CBS 194.28, *Mortierella isabellina* CBS 208.32, *Mortierella isabellina* CBS 224.35, *Mortierella isabellina* CBS 560.63, *Mortierella isabellina* CBS 167.80, *Mortierella isabellina* CBS 493.83, *Mortierella isabellina* CBS 309.93, *Mortierella isabellina* CBS 250.95, *Mortierella isabellina* CBS 109075, *Mortierella ramanniana* CBS 112.08, *Mortierella ramanniana* CBS 219.47, *Mortierella ramanniana* CBS 243.58, *Mortierella ramanniana* CBS 478.63, *Mortierella ramanniana* CBS 852.72, *Mortierella ramanniana* CBS 366.95, *Mortierella ramanniana* CBS 101226. Среди них предпочтительными являются штаммы *Mortierella isabellina*, в частности *Mortierella isabellina* DSMZ 1414, *Mortierella isabellina* CBS 100559 и *Mortierella isabellina* CBS 221.29.

Действительно, авторы изобретения неожиданно обнаружили, что применение штамма рода *Aspergillus* sp. приводит к селективному получению (R)-гамма-ундеценолактона и что применение штамма рода *Mortierella* sp. приводит к селективному получению (S)-гамма-ундеценолактона.

Согласно варианту осуществления настоящего изобретения исключаются из изобретения штаммы *Yarrowia lipolytica*, так как они не способны вызвать гидроксילирования по С<sub>4</sub>. Предпочтительно все штаммы, которые не могут специфично и стереоспецифично производить С<sub>4</sub>-гидроксילование, исключаются из настоящего изобретения.

Не связывая себя какой-либо теорией, можно предусмотреть, чтобы условия культивирования штаммов могли играть роль в указанной стереоспецифичности, а также в количественном аспекте биоконверсии.

Культивирование, осуществляемое на этапе b) способа в соответствии с настоящим изобретением, содержит получение культуры, предпочтительно в полуконцентрированном виде, например, путем клеточной амплификации в соответствующей питательной среде. Этому культивированию может предшествовать предварительное культивирование штаммов в первой питательной среде, более адаптированной для первых этапов размножения штамма.

Условия культивирования, применяемые в стереоспецифичном способе в соответствии с настоящим изобретением, должны быть такими, чтобы они могли привести к получению мицелия, который содержит вздутия, заполненные включениями (в частности, пероксисомами). Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения полученная клеточная культура содержит мицелий в виде «компота», состоящий из содержащих перегородки нитей без конидиоспор и содержащий набухшие структуры, заполненные этими включениями (в частности, пероксисомами). Действительно, условия культивирования должны быть специально адаптированными, чтобы избежать спорообразования в мицелии.

Кроме того, авторы изобретения смогли убедиться, что физиологическое состояние мицелия, полученного, в частности, за счет применений условий культивирования, описанных в настоящей заявке (мицелий с перегородками, содержащий вздутия и утолщения, заполненные включениями, в частности пероксисомами), может иметь большое влияние на производительность реакции и может позволить получить больший выход по сравнению с известными аналогами. Физиологическое состояние мицелия может также влиять на стереоспецифичность реакции.

Таким образом, согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения этап b) способа в соответствии с настоящим изобретением является этапом культивирования штамма в соответствующей питательной среде, позволяющей получить мицелий с перегородками, содержащий вздутия и утолщения, заполненные включениями, в частности пероксисомами. Предпочтительно питательная среда, используемая в соответствии с изобретением, не содержит пептона. Предпочтительно питательная среда в соответствии с настоящим изобретением содержит солод и/или дрожжевой экстракт. Согласно предпочтительному варианту осуществления мицелий, используемый на этапе c), является концентрированным. Предпочтительно концентрация мицелия, используемого для этапа c), находится в пределах от 5 до 15 г/л, предпочтительно от 6 до 12 г/л и еще предпочтительнее - от 7 до 10 г/л.

Было также особо отмечено, что получению (S)-гамма-лактона при помощи штамма *Mortierella* во многом благоприятствует как в плане стереоспецифичности, так и в плане выхода применение описанного выше набухшего мицелия, заполненного включениями; действительно, применение такого мицелия может обеспечить получение продукта реакции, имеющего большую вращательную способность по абсолютной величине, чем известные аналоги; с другой стороны, выход, достигаемый способом в соответствии с настоящим изобретением и, в частности, путем применения

описанного выше набухшего мицелия, заполненного включениями, позволяет достигать более высокой производительности по сравнению с известными решениями.

Этап с) способа состоит в добавлении субстрата к клеточной культуре. Согласно изобретению биологический синтез гамма-ундециенолактона позволяет использовать любой соответствующий субстрат и предпочтительно ундециленовую кислоту или один из ее сложных эфиров. Среди других предпочтительных субстратов можно указать все замещенные производные ундециленовой кислоты или ее сложных эфиров. Наиболее предпочтительными субстратами являются ундециленовая кислота, метиловый эфир и этиловый эфир ундециленовой кислоты. Разумеется, что субстратом может быть любой соответствующий субстрат, в частности смесь ундециленовой кислоты и одного или нескольких из ее сложных эфиров.

Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения субстрат добавляют к мицелию методом дозировки или дозированной подачи. Согласно предпочтительному варианту осуществления ундециленовую кислоту добавляют в смеси с вспомогательным веществом, например маслом, в частности любым классическим пищевым маслом, таким как соевое, кукурузное, подсолнечное или другое масло, или синтетические триглицериды жирных кислот с короткими цепочками, такие как миглиоль, предпочтительным является подсолнечное масло, гидрогенированное или обогащенное олеиновой кислотой перед введением в контакт с мицелием. Присутствие вспомогательного вещества позволяет, в частности значительно снизить коррозионное или токсическое действие субстрата, в частности ундециленовой кислоты. Согласно варианту осуществления изобретения синтез в соответствии с настоящим изобретением с применением штамма *Mortierella isabellina* осуществляют в среде, не содержащей минерального масла.

Предпочтительно субстрат добавляют в концентрациях от 0,3 до 2,5 г/л/ч. Предпочтительно количество масла, предпочтительно растительного масла, смешиваемого с субстратом, составляет от 100 до 500 г/л, предпочтительно от 150 до 300 г/л.

В среду одновременно с субстратом добавляют также источник сахара, предпочтительно источник глюкозы, чтобы обеспечить энергетические ресурсы клеток. Предпочтительно концентрация добавляемой глюкозы находится в пределах от 0,3 до 0,4 г/л/ч.

В зависимости от потребностей во время добавления субстрата и в течение всего последующего цикла биоконверсии можно производить регулирование рН путем добавления любого соответствующего основания. Предпочтительно рН находится в пределах от 4,5 до 8,5, предпочтительно от 5,5 до 8 и еще предпочтительнее - от 6 до 7,5.

Предпочтительно в ходе биоконверсии температуру поддерживают в пределах от 27 до 30°C. Продолжительность биоконверсии может составлять от 30 до 120 часов, предпочтительно от 48 до 72 часов.

Биоконверсия субстрата в гамма-ундециенолактон, осуществляемая на этапе d) способа в соответствии с настоящим изобретением, является этапом лактонизации, которому предшествует реакция C<sub>4</sub>-гидроксилирования субстрата, производимая штаммом. Для осуществления этого гидроксилирования требуется наличие источника кислорода. Этим источником кислорода предпочтительно является газ, содержащий кислород, предпочтительнее воздух или кислород. Газ растворяется в относительно большом количестве в реакционной среде.

Согласно предпочтительному варианту осуществления и, как известно из



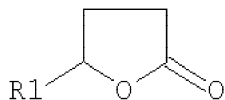
предшествующего уровня техники, для контроля за образованием пены во время биоконверсии используют противовспенивающие средства, в частности силиконовые масла или полимеры полиэтиленгликоля, этерифицированные жирными кислотами.

5 После осуществления биоконверсии, то есть специфического и стереоспецифического гидроксилирования по С<sub>4</sub>, следует этап е) способа, который состоит в выделении гамма-ундеценолактона путем экстрагирования, при этом экстрагирование гамма-ундеценолактона осуществляют при помощи любого соответствующего средства. Предпочтительно экстрагирование гамма-ундеценолактона осуществляют путем  
10 гидродистилляции с возможной последующей этерификацией, предназначенной для последующего удаления непрореагировавшего субстрата.

В альтернативном варианте экстрагирование гамма-ундеценолактона осуществляют путем экстрагирования в растворителе после отверждения среды.

15 Согласно варианту способа в соответствии с настоящим изобретением этап е) способа не осуществляют и вместо него осуществляют этап е'), во время которого способ продолжают до конца этапа d) путем восстановления *in situ* полученного гамма-ундеценолактона перед экстрагированием, чтобы получить, например, соответствующий гамма-ундеценолактон. Согласно частному варианту  
20 осуществления восстановление можно остановить для получения гамма-ундеценолактона, содержащего меньше непердельных связей, чем гамма-ундеценолактон, полученный в результате биоконверсии на этапе d). Согласно этому второму варианту осуществления способ в соответствии с настоящим изобретением продолжают по завершении этапа d), прекращая регулирование рН ферментера и  
25 добавляя в реактор активные сухие дрожжи, которыми могут быть пекарские дрожжи, винные дрожжи или пивные дрожжи, и источник сахара, в частности глюкозы. Когда рН достигает значения 5,5, его поддерживают на уровне 5,5 при помощи соответствующего основания, например при помощи соды. Осуществляют инкубацию,  
30 чтобы произошло восстановление, предпочтительно в течение 12-24 часов, затем выделяют гамма-лактон в условиях, описанных для этапа е). Согласно другому варианту гамма-ундеценолактон можно восстановить в гамма-ундекалактон при помощи свежей культуры восстановительного микроорганизма или микроорганизма,  
35 по крайней мере, помещенного в условия восстановления, например *Saccharomyces cerevisiae*, или *Pichia etchelsii*, или *Pichia pastoria*, или *Hansenula polymorpha*, или *Bacillus subtilis*, или *Lactobacillus brevis*.

Согласно частному варианту осуществления изобретения восстановление на этапе е') приводит к получению гамма-ундеценолактона и этот гамма-ундеценолактон  
40 отвечает формуле:



45 в которой R1 является С<sub>7</sub>-алкильной группой, возможно замещенной. Под замещенным алкилом следует понимать алкил, по меньшей мере, один атом углерода которого несет, по меньшей мере, одну замещающую группу. Под замещающей группой следует понимать, в частности, гидроксильную группу, кетогруппу, тиоловую группу, алкильную группу или алкенильную группу.

50 Согласно предпочтительному варианту осуществления изобретения R1 является группой С<sub>7</sub>Н<sub>13</sub>, предпочтительно СН<sub>2</sub>=СН-СН<sub>2</sub>-СН<sub>2</sub>-СН<sub>2</sub>-СН<sub>2</sub>-СН<sub>2</sub>-СН<sub>2</sub>-.

Гамма-ундеценолактон, полученный согласно данному частному варианту осуществления, содержит в позиции 4 асимметричный углерод той же конфигурации,

что и углерод молекулы гамма-ундеценолактона, производным от которой он является, при этом реакция восстановления не приводит к изменению стереоизомерии молекулы.

5 Можно также осуществить этап e'), позволяющий получить более насыщенный (R)- или (S)-гамма-ундеценолактон или (R)- или (S)-гамма-ундекалактон в зависимости от стереохимии гамма-ундеценолактона, полученного на этапе d).

10 Эти насыщенные лактоны, (R)-гамма-ундекалактон и (S)-гамма-ундекалактон, можно использовать по тому же назначению, что и их ненасыщенные гомологи: эти гамма-лактоны обладают такими свойствами запаха и вкуса, которые позволяют их использовать во всех областях производства парфюмерии или пищевой ароматизации, в частности при производстве духов, отдушек, косметических композиций или пищевых композиций или в качестве пищевых добавок.

15 В рамках настоящего изобретения слово «парфюмерия» обозначает не только парфюмерию в обычно смысле этого термина, но также и другие области, в которых запах продуктов играет важную роль. Речь может идти о парфюмерных композициях в обычном смысле термина, таких как пахучие основы и концентраты, одеколон, туалетная вода, духи и аналогичные продукты; топические, в частности  
20 косметические, композиции, такие как кремы для лица и тела, тальк в порошке, масла для волос, шампуни, капиллярные лосьоны, соли и масла для ванн, гели для душа и для ванн, туалетное мыло, средства против пота и дезодоранты для тела, лосьоны и кремы для бритья, мыла, кремы, зубные пасты, полоскания для рта, помады и аналогичные продукты; и бытовые средства, такие как размягчающие средства,  
25 моющие средства, отбеливатели, освежители воздуха и аналогичные продукты.

Термин «одорант» используют для обозначения соединения, выделяющего запах.

30 Под пищевой ароматизацией следует понимать любое применение соединений в соответствии с настоящим изобретением для ароматизации любого пищевого жидкого или твердого пищевого продукта, используемого в качестве питания для человека или корма для животных, в частности напитков, молочных продуктов, мороженого.

35 (R)- или (S)-гамма-ундеценолактон или смесь (R) и (S), а также (R)- или (S)-гамма-ундекалактон или смесь (R) и (S) можно использовать в парфюмерных композициях для придания им экзотических, цветочных или фруктовых запахов, что позволило заявителю зарегистрировать товарный знак под названием «Tropicalone®». В зависимости от назначения (S)-энантиомер, или (R)-энантиомер, или смесь обоих энантиомеров используют в количествах, определяемых специалистом.

40 Предпочтительно продукты, полученные в соответствии с настоящим изобретением, используют в количествах, находящихся в пределах от 0,0025 мас.% до 10 мас.% по отношению к общей массе композиции, в которой они присутствуют. Они могут входить в композицию в твердом виде или в жидком виде, в частности в композицию гелей, кремов, помад и/или аэрозолей.

45 Продукты в соответствии с настоящим изобретением можно также использовать в композиции, которая сама является пахучей, или в композиции, в которой пахучее вещество используют для маскирования или нейтрализации некоторых запахов.

50 Другие преимущества и отличительные признаки настоящего изобретения будут более очевидны из приведенных ниже примеров, которые предназначены иллюстрировать изобретение, не ограничивая его объема.

Пример 1. Этап а: - селекция штаммов

Сначала производят посев всех коллекционных штаммов на агаровой среде MGY и осуществляют их инкубацию в течение 72 часов при температуре 27°C; затем

производят посев этих штаммов в колбах Эрленмейера емкостью 1 л, содержащих 100 мл солодовой среды 1x и осуществляют инкубацию в течение 24 часов при 27°C. Затем в питательную среду добавляют субстрат в виде ундециленовой кислоты (5 г/л в 10 дозах) и культуру выдерживают еще в течение 48-120 часов при 27°C.

После оценки пахучести и анализов концентрации гамма-ундеценолактона в средах отбирают наиболее подходящие штаммы; в данном случае такими штаммами оказались *Mortierella isabellina* CBS 100559, *Mortierella isabellina* CBS 221.29, *Aspergillus oryzae* DSMZ 1861 и *Aspergillus oryzae* CBS 110.27, которые впоследствии использовали для тестов оптимизации в ферментерах.

Пример 1. Этап b: - Получение клеточных культур

Производят посев штамма *Mortierella isabellina* CBS 100559, или *Mortierella isabellina* CBS 221.29, или *Aspergillus oryzae* DSMZ 1861, или *Aspergillus oryzae* CBS 110.27 (исходный материал = пробирка, замороженная до - 80°C) на агаровой среде MGY и осуществляют инкубацию при температуре 27°C в течение 30 часов.

Производят посев указанной предварительной культуры, помещают в 5 л солодовой среды 1x в ферментере емкостью 6 л:

Экстракт солода	165 г
Экстракт дрожжей	25 г
H <sub>2</sub> O в достаточном количестве	5 л
pH	6,5

*Mortierella isabellina*

Инкубацию производят при 27°C, 500 об/мин, объемный коэффициент в минутах воздуха 0,05, pH свободный, в течение 30 часов.

*Aspergillus oryzae*

Инкубацию производят при 20°C, 500 об/мин, объемный коэффициент воздуха в минутах 0,05, pH свободный, в течение 30 часов, затем при 25°C, 500 об/мин, объемный коэффициент в минутах воздуха 0,05, pH свободный, в течение 24 часов. В обоих случаях должны получить мицелий, содержащий множество больших вздутий, заполненных включениями (в частности, пероксисомами).

После этого готовят 125 л солодовой среды 1,5x в ферментере емкостью 300 л:

Экстракт солода	6,188 кг
Экстракт дрожжей	0,938 кг
H <sub>2</sub> O в достаточном количестве	125 л

Среду стерилизуют в течение 40 минут при температуре 121°C. Ферментер и его принадлежности являются стерильными и находятся под давлением. Температура является стабильной и поддерживается в значении 27°C. Сбрасывают давление и поддерживают расход воздуха в значении 3,5 л/л/ч, то есть примерно равным 0,6 м<sup>3</sup>/ч. В стерильных условиях соединяют основание (NaOH 10 N), кислоту (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85%) и пеногаситель и 5-литровый ферментер, который служит в качестве инокулюма. Скорость перемешивания устанавливают на 325 об/мин, активируют пеногаситель, затем производят посев в инокулюме (5 л), pH свободный. Скорость перемешивания поддерживают на 325 об/мин и насыщение воздухом доводят до 2,2 м<sup>3</sup>/ч (объемный коэффициент в минутах 0,3). Выращивание продолжают в течение 24 часов таким образом, чтобы получить примерно 10 г/л сухого веса мицелия: этот мицелий должен быть в виде «компота» и состоять из нитей, содержащих множество вздутий и утолщений без спор.

Пример 2. Этапы с и d: Конверсия ундециленовой кислоты при помощи штаммов *Mortierella* sp.

Сразу после достижения необходимого количества и качества мицелия подают ундециленовую кислоту при расходе 0,3 г/л/ч в течение 6 часов, затем при расходе 0,53 г/л/ч в течение 72 часов, что в сумме составляет 40 г/л. Эту ундециленовую кислоту подают в смеси с гидрогенированным подсолнечным маслом (1/4 кислоты-3/4 масла); это масло подают при расходе 0,9 г/л/ч, затем 1,53 г/л/ч. Параллельно непрерывно подают глюкозу при расходе 0,36 г/л/ч в течение 72 часов. Во время всего периода ферментации рН поддерживают на уровне 7,5 при помощи NaOH 5 N. Скорость повышают до 505 об/мин и производят аэрацию при объемном коэффициенте в минуту 1, то есть с расходом 3,5 м<sup>3</sup>/ч. Конверсию продолжают в течение 72 часов.

Получают выход гамма-ундеценолактона в 6,5 г/л, который имеет (S)-стереоизомерию.

Пример 3. Этапы с и d: Конверсия ундециленовой кислоты при помощи штаммов *Aspergillus* sp.

Сразу после достижения необходимого количества и качества мицелия подают ундециленовую кислоту при расходе 0,3 г/л/ч в течение 6 часов, затем при расходе 0,53 г/л/ч в течение 72 часов, что в сумме составляет 40 г/л. Эту ундециленовую кислоту подают в смеси с гидрогенированным подсолнечным маслом (1/4 кислоты -3/4 масла). Параллельно непрерывно подают глюкозу при расходе 0,36 г/л/ч в течение 72 часов. Во время всего периода ферментации рН поддерживают на уровне 6,5 при помощи NaOH 5 N. Аэрацию производят при объемном коэффициенте в минуту 0,5, то есть с расходом 6 м<sup>3</sup>/ч. Конверсию продолжают в течение 80 часов. Получают выход гамма-ундеценолактона в 0,5 г/л, который имеет (R)-стереоизомерию.

Пример 4. Этап e: экстрагирование - очистка

Производят подкисление при рН 1,5 с применением 1 л 85%-ной фосфорной кислоты. Производят нагрев до температуры свыше 100°C в течение 30 минут, чтобы лактон в основном находился в своей циклической форме, а не в открытой форме гидроксикислоты. Лактон дозируют, добавляют экстрагирующий растворитель (предпочтительно циклогексан) и перемешивают в течение 1 часа при температуре окружающей среды. Производят центрифугирование и выделяют органическую фазу. Производят дозировку лактона. Растворитель концентрируют и таким образом получают маслянистый «сырой» продукт. Производят вакуумную дистилляцию. Получают «обессмоленный» лактон и истощенное масло. Затем осуществляют очистку путем вакуумного фракционирования лактона. Получают чистый продукт >99%, который является либо гамма-ундеценолактоном (>99% S), если использовали штамм *Mortierella* sp., либо гамма-ундеценолактоном (>99% R), если использовали штамм *Aspergillus* sp.

Пример 5. Этап e': восстановление гамма-ундеценолактона в гамма-ундекалактон.

Вместо того чтобы остановить реакцию после биоконверсии примера 3, действуют следующим образом.

Прекращают регулирование рН в ферментере. В среду добавляют: 200 г/л выпускаемых в продажу активных сухих пекарских дрожжей (то есть 30 кг дрожжей) и 100 г/л глюкозы (то есть 15 кг сухой глюкозы или 30 кг 50%-ного сиропа глюкозы). Начиная с момента, когда рН достигает значения 5,5, его поддерживают в значении 5,5 при помощи основания NaOH 5 N. Производят инкубацию в течение 12-24 часов при 30°C, 325 об/мин, аэрация объемный коэффициент в минуту 0,5. В зависимости от варианта получают (S)-гамма-ундекалактон или (R)-гамма-

ундекалактон. После этого осуществляют экстрагирование и очистку согласно примеру 4.

Пример 6. Оценка (S)-гамма-ундеценолактона в парфюмерии

(8)-гамма-ундеценолактон чистотой 99% был протестирован на ломтике хлеба и в растворе (5% в этиловом спирте): верхняя лактоновая часть приобретает ярко выраженный аспект альдегида лактона типа Aldehyde Intreleven (фирмы IFF).

Срединная лактоновая часть имеет очень сильный природный запах мякоти ананаса.

Он был также протестирован в композиции, которой он придает очень интересный оттенок фруктов и свежего морского воздуха, например в следующей композиции:

Фенилэтиловый спирт	150 г
Калон	1 г
Цитронеллол	20 г
Дипропиленгликоль	50 г
Галаксолид	200 г
Дигидрометил жасмонат	150 г
Гелионал	15 г
Индол	2г
Бета-ионон	15 г
ИзоЕ супер	150 г
Лилиал	130 г
Линалол	49 г
Мелонал	3 г
Метил ионантем	15 г
Гамма-ундеценолактон (Tropicalone ®)	50 г

Пример 7. Оценка (S)-гамма-ундеценолактона в пищевой ароматизации

(S)-гамма-ундеценолактон чистотой 99% был протестирован в количестве 10 частей на миллион в минеральной воде: он придает оттенок лесного воздуха и фруктов, существенно отличающийся от аромата любого другого лактона, до сих пор использовавшегося в композиции: если сравнивать его с (R)-гамма-декалактоном, (R)-дельта-декалактоном и (R)-дельта-додекалактоном, то при той же дозировке (10 частей на миллион) его свойства оказываются ближе к кокосовому ореху, лесному аромату с оттенками ананаса и фрукта страсти.

В сладкой воде (10 частей на миллион) он выделяет также оттенки молочного характера, очень консистентные и сладкие. При концентрации 10 частей на миллион он представляет интерес в композиции за счет неповторимого молочного аспекта, приближающегося к сгущенному молоку.

Он был протестирован также на аромат сливок при концентрации 0,5 частей на миллион и 1 часть на миллион: во рту он придает лучшее ощущение при концентрации 0,5 частей на миллион, смягчая вкус сливок и придавая неповторимый оттенок сгущенного молока.

Пример 8. Оценка (S)-гамма-ундекалактона в пищевой ароматизации

(S)-гамма-ундекалактон с чистотой 99%, протестированный на ломтике хлеба, по сравнению с (R)-гамма-ундекалактоном имеет менее консистентные оттенки, более натуральные и более близкие к «персику».

При оценке в минеральной воде с концентрацией 10 частей на миллион он проявляет характерный вкус персика и абрикоса.

Пример 9. Оценка (S)-гамма-ундекалактона в композиции в пищевой ароматизации

В аромате экзотических фруктов добавление гамма-ундеценолактона повышает оттенок «экзотики», например в следующей композиции:

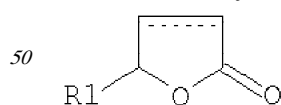
	Розен оксид	10,4 г
	Фенил оксид	10,4 г
	Фенилпропиловый альдегид	20,7 г
5	Нерил ацетат	0,30 г
	Гамма-ундекалактон	1 г
	Гамма-ноналактон	1 г
	Стиракс	6,2 г
	Ацетил метил карбинол	10,4 г
	Дельта-додекалактон	10,4 г
10	Гамма-додекалактон	10,4 г
	Капроновая кислота	20,7 г
	Фуранеол	21,75 г
	Терпентиновое масло	31,1 г
	Гексиловый спирт	41,5 г
15	Кариофиллен	51,8 г
	Парацимол	0,2 г
	Цитронеллил пропионат	6,2 г
	Нерол	20,7 г
	Гексил капронат	20,7 г
20	Цитрал 1,3-цис-3-гексенол	103,6 г
	Триацетин	599,25 г
	Гамма-ундеценолактон (Tropicalone ®)	1,5 г

Такой же эффект в аромате фрукта страсти:

25	Бутиловый спирт	1,00 г
	Гексиловый спирт	1,00 г
	Гексанол 1 этил 2	1,60 г
	Каприловый спирт	2,10 г
	Дамасценон	3,10 г
30	Бутил бутират	4,70 г
	Бета-ионон	21 г
	Цис-3-гексенил ацетат	52,60 г
	Гептил бутират	78,9 г
	Гамма-декалактон	79 г
35	Капроновая кислота	105 г
	Бутил изовалериат	105,10 г
	Дельта-ноналактон	1,00 г
	Гексил капронат	42 г
	Эфирное масло бразильского апельсина	131 г
	Бутил ацетат	1,00 г
40	n-масляная кислота	1,60 г
	Бензойная кислота	52,60 г
	Этил бутират	157,7 г
	Цис-3-гексенол	157,7 г
	Гамма-ундеценолактон	2,5 г
45		

### Формула изобретения

1. Гамма-ундеценолактон, соответствующий формуле (I)



(I)

в котором лактоновое кольцо может нести ненасыщенную связь между углеродным атомом №2 и углеродным атомом №3, и в котором R1 является C<sub>7</sub>-алкенильной группой, несущей одну ненасыщенную связь в положении C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, или C<sub>7</sub>-алкинильной группой, содержащей несколько ненасыщенных связей, включая одну ненасыщенную алкеновую связь в положении C<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>, и, по меньшей мере, одну вторую ненасыщенную алкеновую связь в положении, отличном от C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub>.

2. Гамма-ундеценолактон по п.1, в котором асимметричный углеродный атом в положении 4 имеет (R) конфигурацию.

3. Гамма-ундеценолактон по п.1, в котором асимметричный углеродный атом в положении 4 имеет (S) конфигурацию.

4. Гамма-ундеценолактон по любому из пп.1-3, в котором лактоновое кольцо не содержит ненасыщенной связи, а R1 является C<sub>7</sub>H<sub>13</sub> группой, предпочтительно CH<sub>2</sub>=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-.

5. Способ получения гамма-ундеценолактона по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что биосинтез указанного гамма-лактона проводится микробиологическим путем с помощью микроорганизма, выбранного из *Aspergillus* sp. или *Mortierella* sp., способных к гидроксированию субстрата в положении C<sub>4</sub> с использованием в качестве субстрата ундециленовой кислоты или одного из ее сложных эфиров, предпочтительно метилового или этилового эфира.

6. Способ по п.5, включающий следующие стадии:

а) выбор штамма, способного к гидроксированию субстрата в положении C<sub>4</sub>,

б) культивирование выбранного микроорганизма в подходящей питательной среде, причем указанному культивированию необязательно предшествует стадия предварительного культивирования выбранного микроорганизма,

в) добавление субстрата, способного к конверсии в гамма-ундеценолактон формулы (I) по п.1,

г) биоконверсия субстрата в гамма-ундеценолактон формулы (I),

е) извлечение образовавшегося гамма-ундеценолактона формулы (I).

7. Способ по п.5 или 6, отличающийся тем, что указанный субстрат добавляют на стадии (в) виде смеси, по меньшей мере, с одним вспомогательным продуктом промышленного производства, предпочтительно выбираемым из масел, в частности подсолнечного масла, которое является гидрогенизированным или имеет высокое содержание олеиновой кислоты; миглиоля либо глюкозы или смеси перечисленных ингредиентов.

8. Способ по п.5 или 6, отличающийся тем, что стадия (е) состоит в экстрагировании гамма-ундеценолактона гидродистилляцией, необязательно с последующей этерификацией и удалением непрореагировавшего субстрата.

9. Способ по п.5 или 6, отличающийся тем, что стадия (е) состоит в экстрагировании растворителем гамма-ундеценолактона, полученного по завершении стадии (д).

10. Способ по п.5 или 6, в котором стадия (е) предшествует стадия (е'), заключающаяся в *in situ* восстановлении ундеценолактона, полученного по завершении стадии (д), таким образом, чтобы получить гамма-ундеценолактон, который имеет меньше ненасыщенных связей, чем гамма-ундеценолактон, полученный биоконверсией на стадии (д).

11. Способ по п.5 или 6, отличающийся тем, что штамм микроорганизмов, используемый на стадии (а), выбирается из штаммов рода *Aspergillus* sp., предпочтительно *Aspergillus oryzae*, или из штаммов рода *Mortierella* sp., предпочтительно *Mortierella isabellina*.

12. Парфюмерная композиция, отличающаяся тем, что содержит ундеценолактон по любому из пп.1-4.

13. Пищевая композиция, отличающаяся тем, что она содержит ундеценолактон по любому из пп.1-4.

5 14. Пищевая добавка, отличающаяся тем, что она содержит ундеценолактон по любому из пп.1-4.

15. Применение ундеценолактона по любому из пп.1-4 для производства парфюмерных изделий, пахучих веществ или композиций либо косметических композиций, либо ароматической пищевой добавки и/или пищевой добавки с приятным вкусом.

16. Применение ундеценолактона по любому из пп.1-4 в качестве пищевого ароматизатора.

17. Применение *Aspergillus oryzae* для биосинтеза (R)-гамма-ундеценолактона по п.2.

15 18. Применение *Mortierella isabellina* для биосинтеза (S)-гамма-ундеценолактона по п.3.

20

25

30

35

40

45

50