

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07H 15/00	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/24448 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. Mai 1999 (20.05.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06590 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. Oktober 1998 (17.10.98) (30) Prioritätsdaten: 197 49 413.7 7. November 1997 (07.11.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO. KG [DE/DE]; D-65926 Frankfurt am Main (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LANG, Siegmund [DE/DE]; Rohrkamp 1b, D-38126 Braunschweig (DE). BRAKE- MEIER, Andreas [DE/DE]; Celler Strasse 73, D-38114 Braunschweig (DE). WULLBRANDT, Dieter [DE/DE]; Zum Lindenhof 11, D-65719 Hofheim (DE). SEIF- FERT-STÖRIKO, Andreas [DE/DE]; Herderstrasse 48, D-65719 Hofheim (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>

(54) Title: NEW SOPHOROSELIPIDS, METHOD FOR THEIR PRODUCTION AND USE

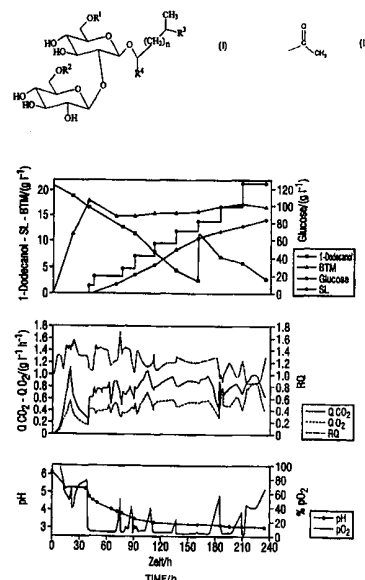
(54) Bezeichnung: NEUARTIGE SOPHOROSELIPIDE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG

(57) Abstract

The invention relates to sophoroselipids of formula (I) wherein R^4 represents H, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, n is an integer number from 2 to 27, R^1 and R^2 represent, independently from each other, H or a group of formula (II), and R^3 represents H or $-OH$. The invention also relates to a method for producing sophoroselipids of formula (I) wherein R^1 , R^2 , R^3 and n have the aforementioned meanings and R^4 represents $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ or $-CH_2CH_2CH_3$. According to this method, a yeast capable of secreting a sophoroselipid in the form of a lactone in the culture excess, is fermented in a culture medium containing a glycerin, a succinate, a mono-, di- and/or tri-saccharide and a lipid precursor, said sophoroselipid being then isolated from the culture solution. The inventive method is characterised in that the lipid precursor contains one or more 3-alkanols, 4-alkanols or an alkanone with a chain length from 6 to 30 carbon atoms or mixtures of said alkanols/alkanone. Furthermore, according to a variant of the aforementioned method for producing sophoroselipids of formula (I), wherein R^1 , R^2 , R^3 and n have the meanings aforementioned and R^4 represents $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ or $-CH_2CH_2CH_3$, the culture medium is maintained during fermentation under a reduced oxygen concentration. The new sophoroselipids may be used, e.g., as surfactants, cosmetics, disinfecting agents or pharmaceutical products.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft Sophoroselipide der Formel (I), worin R^4 H, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, n eine ganze Zahl von 2 bis 27, R^1 und R^2 unabhängig voneinander H oder Formel (II) und R^3 H oder $-OH$ bedeuten. Des weiteren wird ein Verfahren zur Herstellung von Sophoroselipiden gemäß Formel (I) offenbart, wobei die Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die oben genannte Bedeutung haben und R^4 $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ oder $-CH_2CH_2CH_3$ bedeutet, bei dem eine Hefe mit der Fähigkeit, Sophoroselipide in Form eines Lactons in den Kulturüberstand zu sezernieren, in einem Kulturmedium fermentiert wird, welches Glycerin, Succinat, ein Mono-, ein Di- und/oder ein Trisaccharid und einen Lipid-Precursor enthält, und anschließend das Sophoroselipid aus der Kulturlösung isoliert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Lipid-Precursor ein oder mehrere 3-Alkanole, 4-Alkanole oder Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30 Kohlenstoffatomen oder Mischungen dieser Alkanole/Alkanone aufweist. Zusätzlich wird eine Variante des obigen Verfahrens zur Herstellung von Sophoroselipiden gemäß Formel (I) beschrieben, wobei die Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die oben genannte Bedeutung haben und R^4 H, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ oder $-CH_2CH_2CH_3$ bedeutet, bei dem das Kulturmedium während der Fermentation unter einer verminderten Sauerstoffkonzentration gehalten wird. Die neuartigen Sophoroselipide können beispielsweise als Tensid, Kosmetika, Desinfektionsmittel oder Pharmazeutikum verwendet werden.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshjan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

Beschreibung

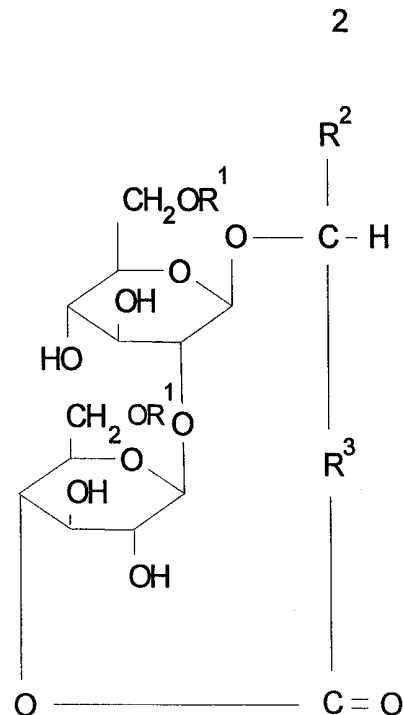
NEUARTIGE SOPHOROSELIPIDE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG

5 Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige Sophoroselipide, Verfahren zu deren biotechnologischer Herstellung und deren Verwendung als Tensid, Kosmetika, Desinfektionsmittel oder Pharmazeutikum.

10 Mikrobielle Glycolipide sind seit einigen Jahren als Biotenside mit vielfältigen Anwendungsperspektiven in der Kosmetik, dem Wasch- und Reinigungsmittelsektor, dem Lebensmittelbereich, der Medizin und dem Umweltschutz bekannt. Sie weisen im Vergleich zu chemischen Tensiden aufgrund ihrer biologischen Herkunft Vorteile wie zum Beispiel geringere Toxizität und eine allgemein bessere Abbaubarkeit auf. Sie werden von Bakterien, Hefen oder Pilzen bei Wachstum auf langkettigen
15 Erdölprodukten, auf pflanzlichen Ölen und Fetten oder deren Derivaten oder auf Mono- und Oligosacchariden gebildet. Eine gezielte Modifikation der molekularen Strukturen dieser Produkte durch Variation der Kohlenstoffquelle konnte bisher nur in geringem Maße erreicht werden. Seit seiner Entdeckung im Jahre 1961 gehört das Sophoroselipid zu den intensiv erforschten mikrobiellen Glycolipiden [P. A.
20 Gorin, J. F. T. Spencer und A. P. Tulloch; Can. J. Chem, 39 (1961), 846 - 855].

Das Sophoroselipid läßt sich verschiedenen Berichten zufolge durch verschiedene Hefen der Gattung *Candida* (*Torulopsis*) als Sekundärmetabolit mittels eines Substrats aus den oben angegebenen Kohlenstoffquellen herstellen. Als geeignete
25 Hefestämme sind *Candida bombicola*, *Candida bogoriensis*, *Candida magnoliae*, *Candida gropengiesseri* und *Candida apicola* beschrieben [R. Hommel, Biodegradation, 1, (1991), 107].

Die von der Gattung *Candida* gebildeten Sophoroselipide verfügen über eine
30 nachfolgend abgebildete Struktur (1).



$R^1 = -C(O)CH_3, H$

$R^2 = -CH_3, H$

$R^3 = -(CH_2)_n-, n = 13-16,$

$-(CH_2)_n-CH=CH-(CH_2)_n$

$n = 5-7$

Struktur 1

Neben diesem lactonischen Hauptprodukt mit sowohl glycosidischer als auch esterartig gebundener Hydroxyfettsäure werden in geringen Anteilen auch nicht cyclisierte Zwischenstufen gefunden. Die Hydroxyfettsäure kann je nach eingesetztem Substrat gesättigt, einfach aber auch mehrfach ungesättigt sein. Darüber hinaus sind die 6'-O- und 6''-O-Positionen der Glucose-Einheiten in unterschiedlichem Maß acetyliert. Bei diesen Sophoroselipiden beobachtet man nur geringe Unterschiede in den Fettsäuren der Nebenkette.

Zur Erzeugung eines Glycolipids mit amphiphiler Struktur, d. h. hoher Grenzflächenaktivität, müssen die Sophoroselipid-Lactone in die Sophoroselipid-Ester bzw. Amide über aufwendige Synthese- und Aufreinigungstufen umgewandelt

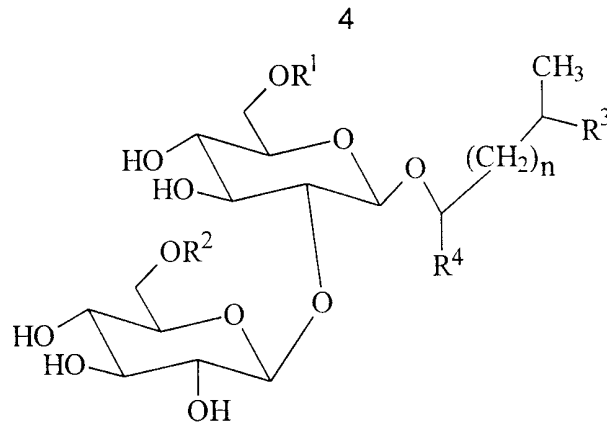
werden [S. Inoue, et al. US Patent. 4,215,213, 1990; Y. Ishigami, JP-Anmeldung: Toku Kai Hei 6-100581].

Es ist bekannt, daß bei der Fermentation von Hefen der Gattung Candida unter
5 Einsatz von 2-Alkanolen anstelle der pflanzlichen Öle und Fette, Fettsäuren bzw.
deren Alkylester, nicht cyclisierte Glucose- und Sophoroselipide mit
grenzflächenaktiven Eigenschaften zugänglich sind (siehe DE 195 18 982.5). Die
entsprechenden 2-Alkanole sind jedoch teuer oder aber aufwendig in ihrer
10 Herstellung. Es war bisher nicht möglich kostengünstigere, leichter zugängliche 1-
Alkohole zu verwenden, da von diesen bekannt ist, daß sie zu einem großen Teil in
die entsprechenden Säuren überführt werden, bevor sie zu Glycolipiden
umgewandelt werden (siehe beispielsweise D.F. Jones, R.Howe, J.Chem.Soc. -C-,
(1968), 2801-2808). Es gab lediglich Hinweise auf den Zugang zu diesen
15 Substanzen, die nie isoliert oder näher charakterisiert wurden (Davila, A.-M.,
Marchal, R., Vandecasteele, J.-P., J. Industr. Microbiol., (1994) 249-257).

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß auch bei der Verwendung von 3-
Alkanolen, 4-Alkanolen, 2-Alkanonen, 3-Alkanonen und 4-Alkanonen nicht cyclisierte
20 Glucose- und Sophoroselipide mit grenzflächenaktiven Eigenschaften zugänglich
sind.

Darüber hinaus ist die erfolgreiche Verwendung von 1-Alkoholen und Alkanalen zur
Gewinnung der neuartigen Produkte möglich, wenn das Kulturmedium während der
25 Fermentation der Mikroorganismen eine verminderte Sauerstoffkonzentration
aufweist.

Die Erfindung betrifft somit Verbindungen der Formel I,



I,

worin

R^4 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$,
 n eine ganze Zahl von 2 bis 27,
 R^1 und R^2 unabhängig voneinander H oder
 und
 R^3 H oder $-\text{OH}$ bedeuten.

O
 C
 CH_3

10 Bevorzugte Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung sind nachfolgend dargestellt.

1. Eine Verbindung der Formel I, worin R^4 H bedeutet, wobei R^1 und R^2 gemeinsam $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$,
 R^1 H und R^2 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$,
 R^1 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ und R^2 H oder
 R^1 und R^2 H bedeuten,
 R^3 H darstellt und wobei n eine ganze Zahl von 6 bis 14, vorzugsweise 8 bis 12 bedeutet.

2. Eine Verbindung der Formel I, worin R^4 $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ oder $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ bedeutet, wobei R^1 und R^2 gemeinsam $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$,
 R^1 H und R^2 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$,
 R^1 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ und R^2 H oder
 R^1 und R^2 H bedeuten,

R^3 H oder -OH darstellt und wobei n eine ganze Zahl von 6 bis 14, vorzugsweise 8 bis 12 bedeutet.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung von Sophoroselipide gemäß Formel I, wobei die Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die oben genannte Bedeutung haben und R^4 -CH₃, -CH₂CH₃ oder -CH₂CH₂CH₃ bedeutet, bei dem eine Hefe mit der Fähigkeit, Sophoroselipide in Form eines Lactons in den Kulturüberstand zu sezernieren, in einem Kulturmedium fermentiert wird, welches Glycerin, Succinat, ein Mono-, ein Di- und/oder ein Trisaccharid und einen Lipid-Precursor enthält, und anschließend das Sophoroselipid aus der Kulturlösung isoliert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Lipid-Precursor ein oder mehrere 3-Alkanole, 4-Alkanole oder Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30 Kohlenstoffatomen oder Mischungen dieser Alkanole/Alkanone aufweist.

Vorzugsweise beträgt die Kettenlänge des Alkanols/Alkanons 10 bis 18 Kohlenstoffatome, womit sich eine Verbindung der Formel I herstellen läßt, in welcher n eine ganze Zahl von 4 bis 14 bedeutet, besonders bevorzugt wird als Alkanon 2-Dodecanon oder 3-Dodecanon eingesetzt, wodurch sich eine Verbindung der Formel I mit n = 8 und R^4 = -CH₃ oder mit n = 7 und R^4 = -CH₂CH₃ herstellen läßt, wobei R^1 , R^2 und R^3 die oben genannte Bedeutung haben.

Die vorliegende Erfindung betrifft des weiteren ein Verfahren zur Herstellung von Sophoroselipide gemäß Formel I, wobei die Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die oben genannte Bedeutung haben und R^4 H, -CH₃, -CH₂CH₃ oder -CH₂CH₂CH₃ bedeutet, bei dem eine Hefe mit der Fähigkeit, Sophoroselipide in Form eines Lactons in den Kulturüberstand zu sezernieren, in einem Kulturmedium fermentiert wird, welches Glycerin, Succinat, ein Mono-, ein Di- und/oder ein Trisaccharid und einen Lipid-Precursor enthält, und anschließend das Sophoroselipid aus der Kulturlösung isoliert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Lipid-Precursor ein oder mehrere Alkanole, Alkanale oder Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30 Kohlenstoffatomen oder Mischungen dieser Alkanole/Alkanale/Alkanone aufweist und das Kulturmedium während der Fermentation unter einer verminderten Sauerstoffkonzentration gehalten wird.

Vorzugsweise beträgt die Kettenlänge des Alkanols/Alkanons/ Alkanals, 10 bis 18 Kohlenstoffatome, womit sich eine Verbindung der Formel I herstellen läßt, in welcher n eine ganze Zahl von 4 bis 15 bedeutet, bevorzugt wird ein 1-Alkanol oder ein Alkanal als Lipid-Precursor verwendet, besonders bevorzugt wird als Alkanol 1-Dodecanol eingesetzt, wodurch sich eine Verbindung der Formel I mit $n = 9$ und $R^4 = H$ herstellen läßt, wobei R^1 , R^2 und R^3 die oben genannte Bedeutung haben.

Unter Lipid-Precursor sind hierbei Verbindungen zu verstehen, die eine Alkylkette von 6 bis 30 Kohlenstoffatome und als funktionelle Gruppe mindestens eine Hydroxy- und/oder eine Carbonyl-Gruppe enthalten.

Beispiele für Lipid-Precursor sind 1-Alkanole, 2-Alkanole, 3-Alkanole, 4-Alkanole, Alkanale, 2-Alkanone, 3-Alkanone, 4-Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30 Kohlenstoffatome.

Beispiele für 1-Alkanole sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 1-Hexanol, 1-Octanol, 1-Decanol, 1-Undecanol, 1-Dodecanol, 1-Tetradecanol, 1-Pentadecanol, 1-Octadecanol, 1-Eicosanol oder 1-Triacontanol, bevorzugt ist 1-Dodecanol und 1-Tetradecanol.

Beispiele für 2-Alkanole sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 2-Hexanol, 2-Octanol, 2-Decanol, 2-Undecanol, 2-Dodecanol, 2-Tetradecanol, 2-Pentadecanol, 2-Octadecanol, 2-Eicosanol oder 2-Triacontanol, bevorzugt ist 2-Dodecanol und 2-Tetradecanol.

Beispiele für 3-Alkanole sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 3-Hexanol, 3-Octanol, 3-Decanol, 3-Undecanol, 3-Dodecanol, 3-Tetradecanol, 3-Pentadecanol, 3-Octadecanol, 3-Eicosanol oder 3-Triacontanol, bevorzugt ist 3-Dodecanol und 3-Tetradecanol.

Beispiele für 4-Alkanole sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 4-Octanol, 4-Decanol, 4-Undecanol, 4-Dodecanol, 4-Tetradecanol, 4-Pentadecanol,

4-Octadecanol, 4-Eicosanol oder 4-Triacontanol, bevorzugt ist 4-Dodecanol und 4-Tetradecanol.

Beispiele für Alkanale sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, Hexanal, Octanal, Decanal, Undecanal, Dodecanal, Tetradecanal, Pentadecanal, Octadecanal, Eicosanal oder Triacontanal, bevorzugt ist Dodecanal und Tetradecanal.

Beispiele für 2-Alkanone sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 2-Hexanon, 2-Octanon, 2-Decanon, 2-Undecanon, 2-Dodecanon, 2-Tetradecanon, 2-Pentadecanon, 2-Octadecanon, 2-Eicosanon oder 2-Triacontanon, bevorzugt ist 2-Dodecanon und 2-Tetradecanon.

Beispiele für 3-Alkanone sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 3-Hexanon, 3-Octanon, 3-Decanon, 3-Undecanon, 3-Dodecanon, 3-Tetradecanon, 3-Pentadecanon, 3-Octadecanon, 3-Eicosanon oder 3-Triacontanon, bevorzugt ist 3-Dodecanon und 3-Tetradecanon.

Beispiele für 4-Alkanone sind, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, 4-Octanon, 4-Decanon, 4-Undecanon, 4-Dodecanon, 4-Tetradecanon, 4-Pentadecanon, 4-Octadecanon, 4-Eicosanon oder 4-Triacontanon, bevorzugt ist 4-Dodecanon und 4-Tetradecanon.

Das Ausmaß der Bildung des neuartigen Strukturtyps, der insbesondere unter Verwendung von 1-Alkanolen/Alkanalen entsteht, ist an eine Begrenzung des Sauerstoffangebots während der Produktionsphase gebunden. Durch die Limitierung der Sauerstoffkonzentration des Kulturmediums mit Hilfe von geeigneten Methoden kann die ausbeuteminimierende Oxidation des Fettalkohols zur Fettsäure nahezu verhindert werden und so eine verstärkte Bildung der gewünschten Produkte bewirkt werden.

Geeignete Methoden zur Limitierung der Sauerstoffkonzentration sind beispielsweise, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, die Absenkung

der Begasungsrate und die Minderung der Rührerdrehzahl, wobei die Sauerstoffverarmung auch durch den Metabolismus der Hefen bewirkt werden kann. Die Sauerstoffkonzentration ist durch Messung des Sauerstoffpartialdrucks zugänglich. Dieser beträgt während der Produktbildungsphase der Fermentation 5 bis 40%, vorzugsweise 5 bis 15% des Sättigungswertes. Der Sättigungswert bezieht sich auf Luft (Sauerstoffanteil ca. 21%, bezogen auf das Volumen der Gasmischung), die unter Normaldruck bei der jeweiligen Fermentationstemperatur durch die Kulturlösung durchgeleitet wird. Er kann mit einer geeigneten Sonde zu Beginn der Fermentation bestimmt werden.

Bei dem Verfahren gemäß der vorliegenden Erfindung können alle Hefestämme fermentiert werden, welche die in der Literatur beschriebenen Sophoroselipide in Lactonform (Struktur 1) in den Kulturüberstand sezernieren.

Für das erfindungsgemäße Verfahren ist eine Hefe der Gattung *Candida* besonders geeignet, vorzugsweise wird *Candida bombicola*, *Candida bogoriensis*, *Candida magnoliae*, *Candida gropengiesseri* oder *Candida apicola* fermentiert, welche handelsüblich sind.

Als Kohlenstoffquelle sind Glucose oder Saccharose besonders geeignet.

Im folgenden wird die Erfindung detailliert beschrieben. Ferner wird sie durch den Inhalt der Patentansprüche bestimmt.

Durch den Einsatz von Alkanolen, Alkanalen oder Alkanonen mit Kettenlängen von C6 bis C30 als hydrophobe Kohlenstoffquelle neben einer weiteren Kohlenstoffquelle wie z.B. Glycerin, Succinat oder Mono-, Di- und Trisaccharide wie z.B. Saccharose, Mannose, Fructose, Glucose sowie D-Mannitol oder anderer Zuckeralkohole, vorzugsweise Glucose oder Saccharose, gelingt die Gewinnung von Sophoroselipiden mit einer Variation der Struktur des hydrophoben Molekülteils. Die aufgereinigten Produkte enthalten jeweils überwiegend Lipidkomponenten der Kettenlänge des jeweils eingesetzten Substrates, wobei letzteres entweder direkt in das Glycolipid (Verbindungen der Strukturen 2 mit $R^3 = H$) eingebaut wird oder nach

einer (ω -1)-Hydroxylierung als Alkandiol über eine glycosidische Bindung an die Zuckerkomponente gebunden ist (Verbindungen der Struktur 3 mit $R^3 = OH$). Auf diese Weise entstehen ausschließlich nichtionische Tenside mit typischer Tensidstruktur.

5

Die Produkte sind im Zuckerteil in der 6'-O- und 6''-O-Position der Glucoseeinheit nicht, mono- oder diacetyliert. Die Gewinnung der Verbindungen entsprechend den Strukturen 2 und 3 jeweils mit $n = 2$ bis 27 sind durch Variation der Kettenlänge der eingesetzten Alkanole oder Alkanale/Alkanone (C6 bis C30) möglich. Durch eine alkalische Hydrolyse können die acetylierten Sophoroselipiden in die nicht acetylierten Verbindungen überführt werden.

10

Demgemäß läßt sich beispielsweise beim Einsatz von

15

- 1-Hexanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 3$,
- 1-Octanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 5$,
- 1-Decanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 7$,
- 1-Undecanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 8$,
- 1-Dodecanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 9$,
- 1-Tetradecanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 11$,
- 1-Pentadecanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 12$,
- 1-Octadecanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 15$,
- 1-Eicosanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 17$

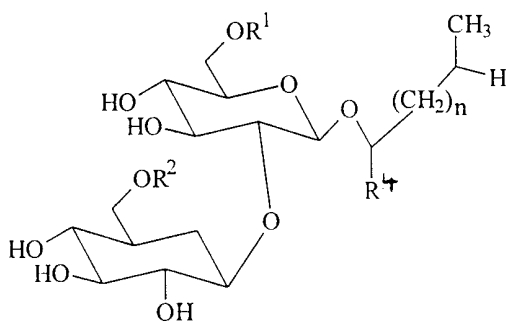
20

oder beim Einsatz von 1-Triacontanol eine Verbindung der Formel I mit $n = 27$ herstellen, wobei R^1 , R^2 , R^3 und R^4 die oben angegebene Bedeutung haben.

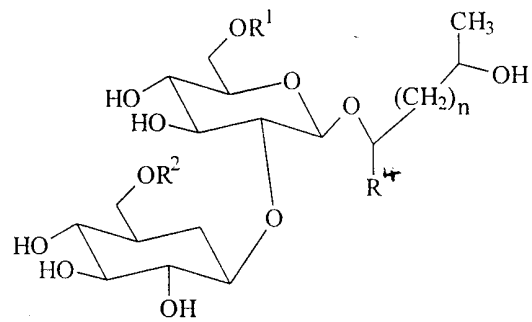
25

Die 1-Alkanole, die 3-Alkohole und die 4-Alkohole sowie die Alkanale, 2-Alkanone, 3-Alkanone und 4-Alkanone der Kettenlänge C6 bis C30 sind größtenteils käuflich zu erwerben, teils lassen sie sich aus den entsprechenden, wohlfeilen Alkenen darstellen. Die Alkohole sind des weiteren aus den Alkanonen sowie den Aldehyden erhältlich (Organikum, 16. Auflage, VEB-Deutscher Verlag der Wissenschaften 1986 oder anderes entsprechendes Lehrbuch der angewandten organischen Chemie).

30



Struktur 2



Struktur 3

2, 3: $n = 2-27$; $R^1, R^2 = H$ oder $-C(O)CH_3$;

$R^4 = H, CH_3, CH_2CH_3, CH_2CH_2CH_3$

2a: $n = 9$; $R^1, R^2 = -C(O)CH_3$; $R^4 = H$ (Verbindung 1,

5 siehe Beispiel 1)

2b: $n = 9$; $R^1, R^2 = H$; $R^4 = H$ (Verbindung 2,

siehe Beispiel 3)

Zur Isolierung der gebildeten Sophoroselipide der Strukturen 2 und 3 wird die
 10 Kulturlösung nach Abtrennen der Biomasse durch Zentrifugation oder Filtration mit
 einer Lauge neutralisiert und mit einem organischen Lösungsmittel wie z. B.
 Carbonsäureester, wie Essigsäureethylester, Essigsäurebutylester oder Ether, wie
 tert-Butylmethylether und Diethylether oder sonstige, dem Fachmann bekannte
 Lösungsmittel erschöpfend extrahiert. Die organischen Phasen werden abgetrennt,
 15 vereinigt und über einem Trockenmittel wie z.B. Natriumsulfat getrocknet. Nach
 Entfernen des Extraktionsmittels im Vakuum wird nach azeotroper Entfernung des
 Wassers ein gelb-braunes Rohprodukt erhalten.

Durch alkalische Verseifung mit Laugen (z.B. wäßrige NaOH) bzw. Alkanolaten (z.B.
 20 Natriummethanolat) können die in 6'-O- und 6''-O-Position acetylierten Produkte in
 die entsprechenden Hydroxyverbindungen umgewandelt werden.

Die eingesetzten Produzentenstämme werden in einem Medium mit Alkanolen, Alkanalen oder Alkanonen mit einer Kettenlänge von C6 bis C30, vorzugsweise C10 bis C18, fermentiert. Die Konzentration an Alkanolen, Alkanalen oder Alkanonen kann zu Beginn der Fermentation eingestellt werden bzw. durch kontinuierliche Nachdosierung entsprechend der Umsatzrate gewählt werden, wobei die Nachdosierung bevorzugt ist. Zur Bereitstellung einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle hat sich die Verwendung von Zuckern, vorzugsweise Glucose oder Saccharose, bewährt. Das Medium sollte außer der Kohlenstoffquelle noch eine oder mehrere Stickstoffquellen, Sulfat und Magnesium sowie Kalium-, Natrium-, Calcium- und Chloridionen, eine oder mehrere Phosphatquellen sowie ein das Wachstum förderndes komplexes Substrat wie z.B. Hefeextrat enthalten.

Der Zucker wird in Konzentrationen von 30 bis 200 g/l Nährlösung verwendet, wobei Konzentrationen zwischen 80 und 150 g/l zu bevorzugen sind.

Als Stickstoffquelle können dem Fachmann bekannte Stickstoffquellen, wie z. B. Harnstoff, Ammoniumchlorid oder Ammoniumsulfat in Konzentrationen von 0,1 bis 5 g/l Nährlösung verwendet werden, wobei vorzugsweise eine Konzentration von 0,5 - 2,5 g/l gewählt wird.

Als Phosphorquelle und zur Pufferung des Mediums wird ein 0,001 bis 0,1 molarer Natriumphosphat- oder Kaliumphosphatpuffer oder eine Mischung der beiden Metallionen eingesetzt.

Die optimale Temperatur zur Fermentation liegt im Bereich zwischen 20 und 40 °C, vorzugsweise 25 bis 30 °C.

Der pH-Wert ist ungeregt und sinkt während der Fermentation ab. Er wird zu Beginn der Fermentation auf einen Wert von etwa 5 bis 7, vorzugsweise 5,5 bis 6,5 durch den Puffer eingestellt. Der pH-Wert während der Produktbildungsphase liegt bevorzugt im Bereich von 2,5 bis 4.

Die wie oben erläutert gewonnenen Sophoroselipide bewirken bei deutlich erhöhter

Löslichkeit (Kettenlänge des Alkohols $< C_{22}$) relativ zu den klassischen Produkten eine größere Erniedrigung der Oberflächenspannung von Wasser.

5 Durch die Nutzung von primären Alkoholen, Aldehyden und Ketonen können die Kosten der Produkte erheblich reduziert werden, so daß sie in Anwendungsgebieten eingesetzt werden können, für die Produkte, die aus den 2-Alkoholen gewonnen werden können, zu teuer sind.

10 Die neuartigen Sophoroselipide haben eine hervorragende Oberflächen- und Grenzflächenaktivität. Sie sind sehr gut biologisch abbaubar und haben eine bakterizide Wirkung.

15 Die Produkte können als Tenside, Emulgatoren, Co-Tenside und als feuchtigkeitsspeicherndes Mittel verwendet werden. Sie besitzen daher Anwendungsperspektiven in dem Wasch- und Reinigungsmittelsektor. Da sie eine geringe Toxizität aufweisen, können sie zur Herstellung von Kosmetika dienen und im Lebensmittelbereich eingesetzt werden. Als biologisch abbaubare Biotenside können sie im Umweltschutz angewendet werden. Aufgrund ihrer mikrobiziden Wirkung können sie in der Medizin beispielsweise als Pharmazeutika oder als
20 Desinfektionsmittel Verwendung finden.

Aus dem Biotensid können des weiteren enantiomerenreine Alkohole gewonnen werden. Die Mikroorganismen wandeln die eingesetzten Ketone bzw. racemischen sekundären Alkohole in optisch aktive Alkohole um. Der erzielte Enantiomeren-
25 überschuß ist wesentlich größer als 95%.

Die Freisetzung der optisch aktiven Alkohole kann beispielsweise, ohne daß hierdurch eine Einschränkung erfolgen soll, durch saure Methanolyse erreicht werden.

30 Die Erfindung wird nachstehend an Ausführungsbeispielen näher erläutert.

Beispiel 1

Zur Produktion der Dodecyl-Sophoroside in einem 500 ml-Erlenmeyerkolben mit Schikanen werden 100 ml eines Kulturmediums der folgenden Zusammensetzung vorgelegt:

	Glucose·H ₂ O	150,00 g/l
	Natiumcitrat·3 H ₂ O	5,00 g/l
	Hefe-Extrakt (granuliert, Merck, Darmstadt)	4,00 g/l
10	Ammoniumchlorid	1,54 g/l
	Kaliumdihydrogenphosphat	1,00 g/l
	Magnesiumsulfat·7 H ₂ O	0,70 g/l
	Natriumchlorid	0,50 g/l
	Calciumchlorid·2 H ₂ O	0,27 g/l
15	Dikaliumhydrogenphosphat·3 H ₂ O	0,16 g/l

Das Medium wird mit der Hefe *Candida bombicola* ATCC 22214 beimpft und auf einer Rotations-Schüttelmaschine bei 100 Upm und einer Temperatur von 30°C inkubiert. Nach einer Kultivierungsdauer von 48, 72 und 96 h werden der Kulturlösung unter aseptischen Bedingungen jeweils 5 g/l 1-Dodecanol zugesetzt. Die Kulturführung zwischen und nach den Zugaben des Alkohols erfolgt unter unveränderten Bedingungen. Die gemessene Biotrockenmassenkonzentration zum Abbruch der Kultivierung beträgt 17 g/l. Über den gesamten Bereich der Kultivierung sinkt der pH-Wert der Kultursuspension ab. Nach einem Kultivierungszeitraum von 10 d ist die angebotene Menge des Alkohols umgesetzt; die Kultivierung wird daraufhin abgebrochen.

Zur Isolierung der Produkte wird die Kultursuspension mit 1N Natronlauge neutralisiert und anschließend zweimal mit dem doppelten Volumen Essigsäureethylester extrahiert. Die organischen Phasen werden abgetrennt, vereinigt und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abtrennen des Trockenmittels über einen Papierfilter wird das Lösungsmittel bei vermindertem

Druck am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das erstarrte, nahezu wasserfreie, gelbbraune Rohprodukt wird in einer Ausbeute von 8 g/l, entsprechend 0,53 g pro g 1-Dodecanol, erhalten.

Es enthält neben den Dodecyl-Sophorosiden (Verbindung 1: Formel I, worin $n = 9$; $R^1, R^2 = -C(O)CH_3$; $R^3 = H$ und $R^4 = H$ (molekulare Struktur 2a) und Verbindung 2: Formel I, worin $n = 9$; $R^1, R^2 = H$; $R^3 = H$ und $R^4 = H$ (molekulare Struktur 2b)) auch geringe Mengen des Sophoroselipidlactons und läßt sich an silyliertem Kieselgel (RP-18) im Laufmittelgemisch Methanol/Wasser 90:10 (v/v) dünnschichtchromatographisch in seine Einzelsubstanzen mit charakteristischen R_f -Werten trennen.

Mittels Kernresonanzspektroskopie und FAB-Massenspektrometrie sowie einer kombinierten gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analyse des hydrophoben Molekülteils (nach saurer Methanolyse) der Verbindungen kann belegt werden, daß den Einzelverbindungen die in den Abbildungen dargestellten molekularen Strukturen zugrundeliegen. Hauptprodukt der Kultivierung ist die **Verbindung 1** (molekulare Struktur 2a).

R_f (RP-18; Methanol/Wasser 90:10 v/v) 0,46 [Verbindung 1]

Spektroskopische Daten für Verbindung 1:

MS (FAB, Matrix Glycerin, neg.):

$m/z = 593$ (100, $[M-H]^+$), 551 (30, $[M-COCH_3]^+$), 509 (6, $[M-2 COCH_2-H]^+$)

Charakterisierung des Produktgemisches anhand der relativen Anteile seiner

Lipidkomponenten mittels GC-MS (FS = Fettsäure):

Glycolipidgemisch auf Basis **Glucose/1-Dodecanol**:

1-Dodecanol	69,8 %
FS C 12:0	10,0 %
FS 15-OH-C 16:0	1,1 %
FS 16-OH-C 16:0	1,4 %

15

	FS 17-OH-C 18:1	8,3 %
	FS 17-OH-C 18:0	5,5 %
	FS 18-OH-C 18:1	1,6 %
	FS 18-OH-C 18:0	0,4 %
5	FS C 16:0	0,2 %
	FS C 16:1	0,2 %
	FS C 18:0	0,1 %
	FS C 18:1	1,1 %
	Andere	0,3 %

10

Beispiel 2

Zur Produktion der Biotenside in einem Bioreaktor ($V_{\text{ges}} = 2,5 \text{ l}$) werden 2 l eines Kulturmediums der folgenden Zusammensetzung vorgelegt:

15

	Glucose-H ₂ O	140,00 g/l
	Natiumcitrat·3 H ₂ O	5,00 g/l
	Hefe-Extrakt (granuliert, Merck Darmstadt)	4,00 g/l
20	Ammoniumchlorid	1,54 g/l
	Kaliumdihydrogenphosphat	1,00 g/l
	Magnesiumsulfat·7 H ₂ O	0,70 g/l
	Natriumchlorid	0,50 g/l
	Calciumchlorid·2 H ₂ O	0,27 g/l
25	Dikaliumhydrogenphosphat·3 H ₂ O	0,16 g/l

Das Medium wird mit der Hefe *Candida bombicola* ATCC 22214 beimpft und bis zum vollständigen Entwickeln der Biomasse (18 g/l) für 40 h unter den angegebenen Bedingungen inkubiert. Nach abgeschlossenem Wachstum wird 1,5 g/l 1-Dodecanol über eine Dosagepumpe steril zugeführt. Die Hefekultur reagiert auf die Zudosage mit dem spontanen Absenken der Gelöst-Sauerstoffkonzentration von zuvor 75 auf 10% pO₂. Gleichzeitig steigen die Kohlendioxidbildungsrate und die

30

- Sauerstoffverbrauchsrate signifikant an. Nach weiterer Zugabe von 2 g/l 1-Dodecanol vergehen etwa 30 h bis zur vollständigen Metabolisierung des zugesetzten Fettalkohols. Die Verarmung der Substanz führt zum erneuten Ansteigen der Gelöst-Sauerstoffkonzentration und dem Absinken der
- 5 Sauerstoffverbrauchs- sowie der Kohlendioxidbildungsrate, ehe sich, bedingt durch die neuerliche Zugabe von 1-Dodecanol, die Verhältnisse vor der vollständigen Metabolisierung wiederherstellen. Unter mehrfachem Wiederholen derartiger Dodecanol-Dosagen wird bis zum Abbruch der Kultivierung fortgefahren. Nach 160 h
- 10 Kultivierungsdauer wird 50 g/l Glucose in fester, unsteriler Form nachdosiert, um eine Limitation dieser Energiequelle zu verhindern. Bereits 25 h nach der ersten Zudosage des Alkohols kann das neuartige Sophoroselipid in der Kulturbrühe mittels HPLC-Technik nachgewiesen werden. Seine Konzentration steigt bis zum Ende der Kultivierung auf 14,3 g/l (entsprechend 0,64 pro g 1-Dodecanol) an. Ferner sinkt der pH-Wert der Kultursuspension über den gesamten Produktbildungszeitraum ab.
- 15 Nach einem Kultivierungszeitraum von 235 h ist eine Gesamtmenge von 22,5 g/l des Alkohols umgesetzt, die Kultivierung wird daraufhin abgebrochen. Die Abbildung 1 faßt den Verlauf der Bioreaktorkultivierung anhand aller Analysenparameter zusammen.
- 20 In Abbildung 1 bedeuten BTM Biotrockenmasse, SL Sophoroselipid, Q CO₂ Kohlendioxidbildungsrate, Q O₂ Sauerstoffverbrauchsrate, R Q Respirationsquotient und pO₂ Sauerstoffpartialdruck, angegeben als Prozent des Sättigungswertes.
- Zur Isolierung der Produkte wird die Kultursuspension mit 1 N Natronlauge
- 25 neutralisiert und anschließend zweimal mit dem doppelten Volumen Essigsäureethylester extrahiert. Die organischen Phasen werden abgetrennt, vereinigt und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abtrennen des Trockenmittels über einen Papierfilter wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck am Rotationsverdampfer abdestilliert. Das Glycolipidrohprodukt wird in einer
- 30 Gesamtausbeute von 14,3 g/l erhalten.
- Wie mittels dünnschichtchromatographischer Untersuchungen an silyliertem Kieselgel (RP-18) im Laufmittelgemisch Methanol/Wasser 90:10 (v/v) ermittelt,

besteht das Produktgemisch aus den bereits unter Beispiel 1 beschriebenen Verbindungen.

5 **Beispiel 3**

Zur basischen Hydrolyse des nach Beispiel 2 gewonnenen Sophoroselipids werden 20 g des Glycolipidgemisches in 400 ml 1 N Natronlauge gelöst und unter Rühren für 4 h refluxiert.

10

Anschließend wird die Reaktionslösung mit konzentrierter Salzsäure auf pH 4 eingestellt und für 12 h auf 4°C abgekühlt. Der sich abscheidende Niederschlag wird über einen Papierfilter abgetrennt, mit 500 ml eiskaltem Wasser gewaschen und zur Umkristallisation (60°C → 4°C) erneut in 300 ml Wasser aufgenommen. Das

15

präzipitierte Produkt wird erneut abfiltriert und anschließend gefriergetrocknet.

Mittels chromatographischer Trennung an silyliertem Kieselgel (RP-18) im Laufmittelsystem Methanol/Wasser 80:20 (v/v) kann der Feststoff in zwei Substanzen getrennt werden. Die spektroskopischen Untersuchungen der aufgetrennten Substanzen belegen, daß die unpolarere Hauptkomponente die Struktur der **Verbindung 2** (molekulare Struktur 2b) aufweist. Die polarere Komponente ist das desacetylierte Sophoroselipid überwiegend mit freier 17-Hydroxyoctadecensäure als hydrophober Molekülkomponente.

20

R_f (RP-18: Methanol/Wasser 90:10 v/v): 0,54 [Verbindung 2]

25

Spektroskopische Daten für Verbindung 2:

MS (FAB, Matrix Glycerin, neg.):

m/z = 509 (100, [M-H]⁻), 347 (10, [M-Glucose + H₂O-H]⁻)

Beispiel 4

Zur Produktion der Alkyl-Sophoroside aus 2-, 3- und 4-Dodecanon sowie 4-Tetradecanol in einem 500 ml-Erlenmeyerkolben mit Schikanen werden je 100 ml eines Kulturmediums der folgenden Zusammensetzung vorgelegt:

	Glucose·H ₂ O	150,00 g/l
	Natiumcitrat·3 H ₂ O	5,00 g/l
	Hefe-Extrakt	4,00 g/l
10	Ammoniumchlorid	1,54 g/l
	Kaliumdihydrogenphosphat	1,00 g/l
	Magnesiumsulfat·7 H ₂ O	0,70 g/l
	Natriumchlorid	0,50 g/l
	Calciumchlorid·2 H ₂ O	0,27 g/l
15	Dikaliumhydrogenphosphat·3 H ₂ O	0,16 g/l

Das Medium wird mit der Hefe *Candida bombicola* ATCC 22214 beimpft und auf einer Rotations-Schüttelmaschine bei 100 Upm und einer Temperatur von 30°C inkubiert. Nach einer Kultivierungsdauer von 48, 72 und 96 h werden der Kulturlösung unter aseptischen Bedingungen jeweils 3,3 g/l der verschiedenen hydrophoben C-Substrate zugesetzt (Gesamtmenge 10 g/l). Die Kulturführung zwischen und nach den Zugaben der Substrate erfolgt unter unveränderten Bedingungen. Über den gesamten Bereich der Kultivierung sinkt der pH-Wert der Kultursuspension ab. Nach einem Kultivierungszeitraum von 12 d sind die angebotenen Mengen von 2- und 3- Dodecanon sowie 4-Tetradecanol rückstandslos umgesetzt; in der Kulturbrühe der 4-Dodecanon-Kultivierung bleiben Substratreste zurück. Alle Kultivierungen werden daraufhin abgebrochen.

Zur Isolierung der Produkte werden die Kultursuspensionen mit 1 N Natronlauge neutralisiert und anschließend zweimal mit dem doppeltem Volumen Essigsäureethylester extrahiert. Die organischen Phasen werden abgetrennt, vereinigt und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Abtrennen des

Trockenmittels über einen Papierfilter wird das Lösungsmittel bei vermindertem Druck am Rotationsverdampfer abdestilliert. Zur Entfernung der Substratrete wird das Produkt der 4-Dodecanon-Kultivierung wiederholt mit Hexan gewaschen. Die zurückbleibenden, eduktfreien und hochviskosen Rohprodukte werden zur azeotropen Entfernung des gebundenen Wassers mit n-Butanol versetzt. Anschließend wird bei vermindertem Druck erneut vollständig abdestilliert. Die Produktgemische werden mit folgenden Ausbeuten erhalten:

10	2-Dodecanon:	14 g/l	entsprechend 1,4 g pro g 2-Dodecanon
	3-Dodecanon:	17 g/l	entsprechend 1,7 g pro g 3-Dodecanon
	4-Dodecanon:	3 g/l	entsprechend 0,3 g pro g 4-Dodecanon
	4-Tetradecanol:	17 g/l	entsprechend 1,7 g pro g 4-Tetradecanol

Sie enthalten, mittels GC-MS bestimmt, in hohem Ausmaß die zu den Substraten homologen 2-, 3- bzw. 4-Alkanole als Lipidkomponenten neben mehr oder weniger geringen Mengen an Hydroxyfettsäuren.

Glycolipidgemisch auf Basis **Glucose/2-Dodecanon**:

20	2-Dodecanol	84,5 %
	FS 15-OH-C 16:0	0,3 %
	FS 16-OH-C 16:0	0,3 %
	FS 17-OH-C 18:1	4,1 %
	FS 17-OH-C 18:0	2,2 %
25	FS 18-OH-C 18:1	0,6 %
	FS C 16:0	0,9 %
	FS C 16:1	0,5 %
	FS C 18:1	5,0 %
	FS C 18:0	0,7 %
30	Andere	0,9 %

Glycolipidgemisch auf Basis **Glucose/3-Dodecanon**:

	3-Dodecanol	80,0 %
	2-Undecanol	3,4 %
5	FS 15-OH-C 16:0	0,6 %
	FS 16-OH-C 16:0	0,7 %
	FS 17-OH-C 18:1	7,5 %
	FS 17-OH-C 18:0	2,5 %
	FS 18-OH-C 18:1	1,2 %
10	FS 18-OH-C 18:0	0,2 %
	FS C 16:0	0,3 %
	FS C 16:1	0,3 %
	FS C 18:1	2,6 %
	FS C 18:0	0,3 %
15	Andere	0,4 %

Glycolipidgemisch auf Basis **Glucose/4-Dodecanon**:

	4-Dodecanol	41,5 %
20	Andere C12	22,0 %
	FS 15-OH-C 16:0	1,4 %
	FS 16-OH-C 16:0	1,1 %
	FS 17-OH-C 18:1	12,6 %
	FS 17-OH-C 18:0	1,6 %
25	FS 18-OH-C 18:1	0,3 %
	FS C 16:0	0,9 %
	FS C 16:1	1,3 %
	FS C 18:0	0,3 %
	FS C 18:1	3,7 %
30	Andere	8,4 %

Glycolipidgemisch auf Basis **Glucose/4-Tetradecanol**:

	4-Tetradecanol	23,8 %
	FS 15-OH-C 16:0	4,7 %
5	FS 16-OH-C 16:0	4,8 %
	FS 17-OH-C 18:1	39,9 %
	FS 17-OH-C 18:0	17,4 %
	FS 18-OH-C 18:1	6,5 %
	FS 18-OH-C 18:0	1,1 %
10	Andere	1,8 %

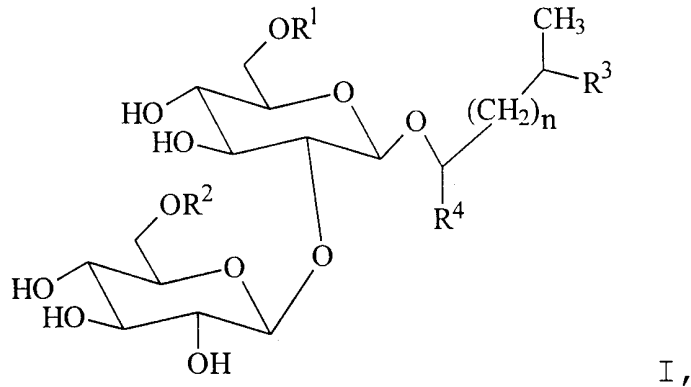
Beispiel 5

15 Das gemäß Beispiel 4 aus 2-Dodecanon erhaltene Sophoroselipid wurde verwendet, um den Enantiomerenüberschuß des Fettalkohols zu bestimmen. Das 2-Dodecanol wurde durch Freisetzung mittels saurer Methanolyse aus dem Sophoroselipid gewonnen. Zur Bestimmung des Enantiomerenüberschusses wurde der optische Drehwert des isolierten 2-Dodecanols bei 25 °C und einer Wellenlänge von 589 nm gemessen. Der Drehwert $[\alpha]^{25}_{589}$ beträgt +7,4 (5 g/100 ml gemessen in Ethanol) [$\leftarrow c = 5$].

25 In der Literatur wird ein Drehwert von +6,9 (5 g/100 ml gemessen in Ethanol bei 25 °C) für das (S)-2-Dodecanol angegeben (Kirchner et al., J. Am. Chem. Soc., 107, (1985), 7072-7076). Dies entspricht nach Angaben der Autoren einem Enantiomerenüberschuß von 95%. Hieraus ergibt sich, daß der Enantiomerenüberschuß des erfindungsgemäßen 2-Dodecanols wesentlich größer als 95% sein sollte.

Patentansprüche

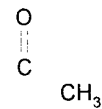
1. Sophoroselipide der Formel I,



5

worin

R^4 H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$,
 n eine ganze Zahl von 2 bis 27,
 R^1 und R^2 unabhängig voneinander H oder
 und
 R^3 H oder $-\text{OH}$ bedeuten.



10

15

2. Sophoroselipide nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß n eine ganze Zahl von 6 bis 14, insbesondere von 8 bis 12 bedeutet.

20

3. Verfahren zur Herstellung von Sophoroselipide gemäß Formel I, wobei die Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben und R^4 $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ oder $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ bedeutet, bei dem eine Hefe mit der Fähigkeit, Sophoroselipide in Form eines Lactons in den Kulturüberstand zu sezernieren, in einem Kulturmedium fermentiert wird, welches Glycerin, Succinat, ein Mono-, ein Di- und/oder ein Trisaccharid und einen Lipid-Precursor enthält, und anschließend das Sophoroselipid aus der Kulturlösung isoliert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Lipid-Precursor ein oder

25

mehrere 3-Alkanole, 4-Alkanole oder Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30 Kohlenstoffatomen oder Mischungen dieser Alkanole/Alkanone aufweist.

- 5 4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Kettenlänge
des Alkanols/Alkanons 10 bis 18 Kohlenstoffatome beträgt.
- 10 5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Alkanon ein 2-
Alkanon, ein 3-Alkanon, ein 4-Alkanon oder Mischungen hiervon eingesetzt
werden.
- 15 6. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Alkanon 2-
Dodecanon oder 3-Dodecanon eingesetzt wird.
- 20 7. Verfahren zur Herstellung von Sophoroselipide gemäß Formel I, wobei die
Reste R^1 , R^2 und R^3 und n die in Anspruch 1 genannte Bedeutung haben und
 R^4 H, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$ oder $-CH_2CH_2CH_3$ bedeutet, bei dem eine Hefe mit der
Fähigkeit, Sophoroselipide in Form eines Lactons in den Kulturüberstand zu
sezernieren, in einem Kulturmedium fermentiert wird, welches Glycerin,
25 Succinat, ein Mono-, ein Di- und/oder ein Trisaccharid und einen Lipid-
Precursor enthält, und anschließend das Sophoroselipid aus der Kulturlösung
isoliert wird, dadurch gekennzeichnet, daß der Lipid-Precursor ein oder
mehrere Alkanole, Alkanale oder Alkanone mit einer Kettenlänge von 6 bis 30
Kohlenstoffatomen oder Mischungen dieser Alkanole/Alkanale/Alkanone
25 aufweist und das Kulturmedium während der Fermentation unter einer
verminderten Sauerstoffkonzentration gehalten wird.
- 30 8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß der
Sauerstoffpartialdruck der Kulturlösung weniger als 40% des
Sättigungswertes, vorzugsweise weniger als 15% des Sättigungswertes
beträgt.
9. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipid-Precursor

ein 1-Alkanol oder ein Alkanal eingesetzt wird.

10. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Alkanol 1-Dodecanol eingesetzt wird.
- 5 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß eine Hefe der Gattung *Candida*, vorzugsweise *Candida bombicola*, *Candida bogoriensis*, *Candida magnoliae*, *Candida gropengiesseri* oder *Candida apicola*, fermentiert wird.
- 10 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 3 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß als Saccharid Glucose oder Saccharose eingesetzt wird.
- 15 13. Verwendung der Sophoroselipide gemäß einem der Ansprüche 1 und 2 oder hergestellt nach den Verfahren gemäß einem der Ansprüche 3 bis 12 als Tensid, Kosmetika, Desinfektionsmittel oder Pharmazeutikum.

1 / 1

Fig. 1