

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 926**

51 Int. Cl.:

**C07C 45/40** (2006.01)

**C07C 47/225** (2006.01)

**C07C 47/115** (2006.01)

**C11B 9/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.11.2015 PCT/EP2015/076702**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.06.2016 WO16087179**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.11.2015 E 15797961 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018 EP 3227255**

54 Título: **Intermedios y procedimiento para la preparación de bloques de construcción de aceite de sándalo**

30 Prioridad:

**02.12.2014 EP 14195835**

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

**22.04.2019**

73 Titular/es:

**FIRMENICH SA (100.0%)  
1, route des Jeunes, P.O. Box 239  
1211 Geneva 8, CH**

72 Inventor/es:

**KNOPFF, OLIVER y  
FONTENY, FABIEN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 709 926 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Intermedios y procedimiento para la preparación de bloques de construcción de aceite de sándalo

### Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de la síntesis orgánica y, más específicamente, se refiere a un procedimiento para la preparación de una fracción de terpenos oxidados que ha probado que va a ser particularmente útil en la preparación de bloques de construcción de aceite de sándalo.

### Técnica anterior

- 10 La fracción de terpenos oxidados (I) son composiciones novedosas de materia, y son materiales de partida útiles para la preparación de bloques de construcción de aceite de sándalo, de una manera breve y eficaz.

El aceite de sándalo es un ingrediente perfumante bien conocido, que está presente de manera natural que comprende una serie de alcoholes alílicos de sesquiterpeno. Sin embargo, debido a una causa natural el mismo es sometido a una variación en cantidad y calidad de la producción, y por lo tanto existe una necesidad de una producción alternativa de aceite sintético o natural así como de bloques de construcción para prepararlo o reconstituirlo.

De manera reciente, se han descrito procedimientos biotecnológicos para producir el aceite de hidrocarburos de sesquiterpenos relacionado (es decir, el aceite como se define para la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) aquí posteriormente) utilizando células hospederas/microorganismos que expresan santalenos sintetas recombinantes (por ejemplo, WO 2011/000026 o WO 2010/067309). Sin embargo, estos procedimientos no permiten que, ni sugieren cómo, convertir el aceite de hidrocarburos de sesquiterpenos en análogos de aceite de sándalo, o bloques de construcción de aceite de sándalo (es decir, mantener la proporción apropiada de cada constituyente tan cerca como sea posible del aceite natural, mientras que se convierte un alqueno en un alcohol alílico).

Realmente, las terpenos sintetas permiten preparar fracciones que contienen varios hidrocarburos de sesquiterpenos (es decir, una mezcla de varios hidrocarburos de sesquiterpenos diferentes) y no un hidrocarburo de sesquiterpeno puro. Ahora, cada constituyente de tales fracciones de hidrocarburos de sesquiterpenos tiene una estructura química significativamente diferente, con diferentes velocidades de reacción, una posible quimioselectividad de los grupos reactivos que vuelve a la química necesaria para producir análogos de aceite de sándalo, extremadamente desafiante.

Por lo que respecta al mayor conocimiento del inventor, la técnica previa describe una serie de procedimientos para convertir químicamente un hidrocarburo de sesquiterpeno relevante en un compuesto intermedio útil (es decir, un aldehído como se describe en la invención, la fracción de terpenos oxidados (I)), pero esta química siempre se ha llevado a cabo sobre un hidrocarburo de sesquiterpeno puro. Por ejemplo se pueden citar:

- Semmeler *et al*, en Chem.Ver., 1907, 40, 3321: este documento describe la ozonólisis del  $\alpha$ -santaleno, y del  $\beta$ -santaleno por separado, pero el rendimiento (no descrito) debe haber sido bastante bajo considerando que los mismos reportan grandes dificultades en la recuperación de "un aldehído";
- Bradfield *et al*, en J.C.S., 1935, 309: este documento describe la ozonólisis del  $\alpha$ -santaleno puro y del  $\beta$ -santaleno, y sugiere que el  $\beta$ -santaleno produce una cantidad considerable de CH<sub>2</sub>O, lo que indica que el grupo exo-metileno del  $\beta$ -santaleno también ha sido fijado;
- Snowden *et al*, en Helv.Chim.Acta, 1981, 64, 25: en donde el *epi*- $\beta$ -santaleno se oxida en (I-A) utilizando OsO<sub>4</sub>, NaIO<sub>4</sub>.

5 Ninguno de estos procedimientos sugiere una manera industrial para convertir una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos en un bloque de construcción de aceite de sándalo relevante o en un compuesto intermedio del mismo, como una fracción de terpenos oxidados (I). De hecho, la enseñanza de estas técnicas previas incluso podría desalentar el trabajo sobre la mezcla de varios hidrocarburos de sesquiterpenos diferentes.

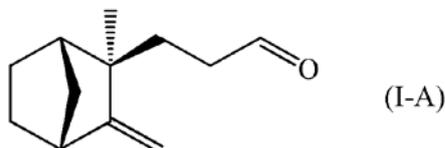
10 Por lo que respecta al mayor conocimiento del inventor, la técnica previa solamente describe un procedimiento para convertir una mezcla de hidrocarburos de sesquiterpenos en el análogo de aceite de sándalo correspondiente (US4510319). Sin embargo, este procedimiento utilizó mezclas desprovistas de bergamotenos, que es un sustrato muy sensible, utilizó reactivos tales como el  $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , los cuales no son para nada adecuados industrialmente puesto que se pueden producir compuestos intermedios halogenados.

El objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento más industrial para la preparación de los bloques de construcción de aceite de sándalo a partir de la mezcla relevante de terpenos.

### 15 Descripción de la invención

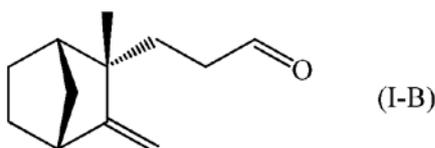
Un primer objeto de la presente invención es una composición de materia que consiste de una fracción de terpenos oxidados (I) que comprende:

- desde 15 hasta 40 % p/p de 3-((1S,2R,4R)-2-metil-3-metilenobicyclo[2.2.1]heptan-2-il)propanal, de la fórmula



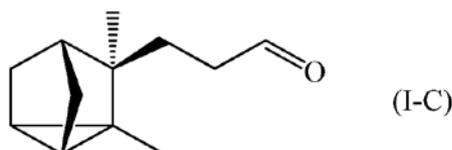
20 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (I-A) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %;

- desde 1 hasta 8 % p/p de 3-((1S,2S,4R)-2-metil-3-metilenobicyclo[2.2.1]heptan-2-il)propanal, de la fórmula



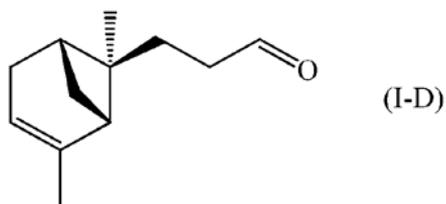
25 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (I-B) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %;

- desde 40 hasta 60 % p/p de 3-((1S,3R,4S)-2,3-dimetilbicyclo[2.2.1.0<sup>2,6</sup>]heptan-3-il)propanal, de la fórmula



30 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (I-C) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %; y

- desde 5 hasta 20 % p/p de 3-((1S,5S,6R)-2,6-dimetilbicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-il)propanal, de la fórmula



en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (I-D) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior a 95 %; siendo la relación p/p con respecto al peso total de la fracción de terpenos oxidados (I).

- 5 Por razones de claridad, es bien entendido por una persona con experiencia en la técnica que la suma de la cantidad de los compuestos (I-A) a (I-D) es como máximo del 100 % y como mínimo del 65 % (como se obtiene por la cantidad mínima descrita) y que si la suma total es inferior al 100 %, la cantidad restante puede estar constituida por otros compuestos, preferentemente los derivados de la oxidación de otros hidrocarburos de sesquiterpenos naturales, tales como los farnesenos, curcumeno, bisabolenos,  $\alpha$ -pineno, canfeno y/o limoneno
- 10 (por ejemplo, véase posteriormente el texto con respecto al origen del material de partida utilizado en la preparación de tal fracción de terpenos oxidados). De acuerdo con una modalidad particular, los compuestos (I-A) a (I-D) no se toman en cuenta para al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % p/p con respecto al peso total de la fracción de terpenos oxidados.
- 15 Por razones de claridad, es bien entendido por una persona con experiencia en la técnica que la expresión "e.e." tiene el significado de la técnica, es decir "exceso enantiomérico".

Un objeto adicional de la presente invención incluye un procedimiento original para producir la fracción de terpenos oxidados a través de la oxidación de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos, preferentemente producida por la fermentación utilizando santalenos terpenos sintasas, así como el uso de la fracción de terpenos oxidados para producir bloques de construcción de aceite de sándalo.

20

En vista de lo anterior, se puede observar fácilmente que el compuesto (I-A) es un precursor del (-)-(Z)- $\beta$ -santalol, (I-B) es un precursor del (-)-(Z)-*epi*- $\beta$ -santalol, (I-C) es un precursor del (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol y (I-D) es un precursor del (Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol. Por lo tanto el presente procedimiento presenta la ventaja de proporcionar un aceite que ya comprende de una sola vez todos los constituyentes principales del aceite natural, como lo contrario de todos los procedimientos de la técnica previa y los compuestos intermedios que podrían permitir producir solamente uno o máximo 2 de los constituyentes a la vez.

25

De acuerdo con una modalidad particular de la invención, la fracción de terpenos oxidados (I) comprende:

30

- desde 20 hasta 35 % p/p del compuesto de la fórmula (I-A);
- desde 1 hasta 5 % p/p del compuesto de la fórmula (I-B);
- desde 40 hasta 55 % p/p del compuesto de la fórmula (I-C); y
- desde 10 hasta 20 % p/p del compuesto de la fórmula (I-D).

35 De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, la fracción de terpenos oxidados (I) se caracteriza por una relación % p/p (IC)/(ID) comprendida entre 4/1 y 2/1 (por ejemplo entre 50 %/13 % y 30 %/15 %).

De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, la fracción de terpenos oxidados (I) se caracteriza por una relación % p/p (IC)/(IA) comprendida entre 3/1 y 1/1 (por ejemplo entre 60 %/20 % y 30 %/30 %).

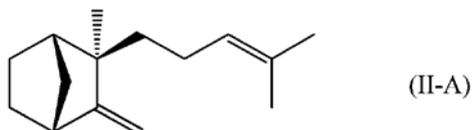
40

La fracción de terpenos oxidados (I) se puede preparar ventajosamente por medio de un

procedimiento que comprende la siguiente etapa de hacer reaccionar

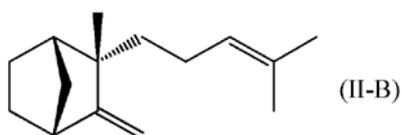
- una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) que comprende

i) desde 10 hasta 30 % p/p de (1S,2R,4R)-2-metil-3-metileno-2-(4-metilpent-3-en-1-il)-biciclo[2.2.1]heptano (también conocido como (-)-β-santaleno), de la fórmula



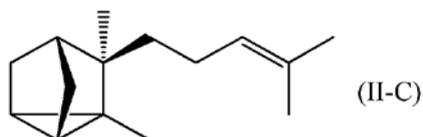
5 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (II-A) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %;

10 ii) desde 1 hasta 6 % p/p de (1S,2S,4R)-2-metil-3-metileno-2-(4-metilpent-3-en-1-il)biciclo[2.2.1]heptano (también conocido como (+)-epi-β-santaleno), de la fórmula



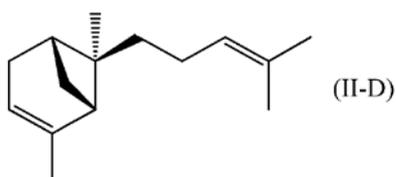
15 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (II-B) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %;

iii) desde 20 hasta 50 % p/p de (2S,4S,7R)-1,7-dimetil-7-(4-metilpent-3-en-1-il)tríciclo[2.2.1.0<sup>2,6</sup>]heptano (también conocido como (+)-α-santaleno), de la fórmula



20 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (II-C) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %; y

iv) desde 20 hasta 40 % p/p de (1S,5S,6R)-2,6-dimetil-6-(4-metilpent-3-en-1-il)biciclo[3.1.1]hept-2-eno (también conocido como (-)-α-trans-bergamoteno), de la fórmula



25 en donde las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta, el compuesto (II-D) preferentemente tiene un e.e. de al menos el 80 %, 90 % o superior al 95 %;

siendo la relación p/p con respecto al peso total de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II).

30 - con ozono en condiciones reductoras.

De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) comprende:

- desde 15 hasta 30 % p/p del compuesto de la fórmula (II-A);
- desde 1 hasta 6 % p/p del compuesto de la fórmula (II-B);
- 5 - desde 20 hasta 40 % p/p del compuesto de la fórmula (II-C); y
- desde 20 hasta 40 % p/p del compuesto de la fórmula (II-D).

De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) se caracteriza por una relación % p/p (II-C)/(II-D) comprendida entre 2/1 y 1/2 (por ejemplo entre 40 %/20 % y 20 %/40 %).

- 10 De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) se caracteriza por una relación % p/p (II-C)/(II-A) comprendida entre 3/1 y 1/1 (por ejemplo entre 60 %/20 % y 30 %/30 %).

Por razones de claridad, es bien entendido por una persona con experiencia en la técnica que la suma de la cantidad de los compuestos (II-A) a (II-D) es como máximo del 100 % y como  
 15 mínimo del 65 % (como se obtiene por la cantidad mínima descrita) y que si la suma total es inferior al 100 %, la cantidad restante puede estar constituida por otros compuestos de terpeno, tales como farnesenos, curcumeno, bisabolenos,  $\alpha$ -pineno, canfeno y/o limoneno (por ejemplo, véase posteriormente el texto con respecto al origen de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos). De acuerdo con una modalidad particular, los compuestos (II-A) a (II-D) no se  
 20 toman en cuenta para al menos el 80 %, 85 %, 90 %, 95 % p/p con respecto al peso total de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II).

Como se mencionó anteriormente, el sustrato (II) se hace reaccionar con ozono, un agente oxidante. Por razones de claridad, por la expresión "bajo condiciones reductoras" se entiende  
 25 por una persona con experiencia en la técnica que el compuesto intermedio de trioxolano formado, para obtener aldehídos, se trata con al menos un agente reductor, que es bien conocido por una persona con experiencia en la técnica. Tal tratamiento con un agente reductor se puede llevar a cabo durante el trabajo de la manera acostumbrada. Como ejemplos no limitantes de los agentes reductores se pueden citar uno de los siguientes: un sulfito, tal  
 30 como un sulfito alcalino (por ejemplo, sulfito de sodio o de potasio, bisulfito de sodio) o un sulfuro de dialquilo de  $C_{2-6}$  tal como el sulfuro de dimetilo, trifenilfosfina,  $H_2$  y Pd/C,  $P(OMe)_3$ ,  $MeO(SO)OMe$ ,  $MeSSMe$ , etc. En particular se puede citar un sulfito, tal como un sulfito alcalino (por ejemplo sulfito de sodio o de potasio, bisulfito de sodio) o un sulfuro de dialquilo de  $C_{2-6}$  tal como el sulfuro de dimetilo.

El procedimiento de oxidación se puede llevar a cabo en la presencia o ausencia de un  
 35 disolvente. Cuando se requiere o se utiliza un disolvente por razones prácticas, entonces cualquier disolvente en donde la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos es soluble y que es de uso común en las reacciones de oxidación u ozonólisis puede ser utilizado para los propósitos de la invención. Los ejemplos no limitantes incluyen disolventes de hidrocarburos saturados de  $C_{6-10}$  tales como el hexano o ciclohexano, éteres o ésteres saturados de  $C_{4-10}$  tales  
 40 como el AcOEt, tetrahidrofurano, dioxano o MTBE, ácidos carboxílicos saturados de  $C_{2-5}$  tales como un ácido o el ácido propiónico, disolventes polares saturados de  $C_{1-5}$  tales como los alcoholes primarios o secundarios tales como el isopropanol, metanol o etanol, cetonas saturadas de  $C_{2-6}$  tales como la butanona o isobutilmetilcetona, alcanos clorados de  $C_{1-3}$ , tales como el cloroformo o diclorometano, o mezclas de los mismos. La elección exacta del  
 45 disolvente es una función de la naturaleza de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos exacta y de la velocidad de reacción requerida y la persona con experiencia en la técnica es muy capaz de seleccionar el disolvente más conveniente en cada caso para optimizar la reacción de oxidación.

El disolvente se puede agregar al medio de la reacción en un intervalo amplio de

concentraciones. Como ejemplos no limitantes, se pueden citar como cantidades del disolvente aquellas que varían desde 50 % hasta 500 % p/p, con respecto a la cantidad de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos utilizada.

5 La temperatura a la cual se puede llevar a cabo la oxidación está comprendida entre -100 °C y 40 °C, más preferentemente en el intervalo de entre -80 °C y 0 °C. Por supuesto, una persona con experiencia en la técnica también es capaz de seleccionar la temperatura preferida como una función del punto de fusión y de ebullición de los productos de partida y finales, así como del tiempo de la reacción o conversión deseado.

10 El agente oxidante, un parámetro esencial del procedimiento, se puede agregar al medio de la reacción en un intervalo amplio de concentraciones. Como ejemplos no limitantes, se pueden citar como valores de concentración del agente oxidante aquellos que varían desde 0,2 equivalentes molares hasta 1,5 equivalentes molares, con respecto a la cantidad de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II). De manera preferente, la concentración del agente oxidante estará comprendida entre 0,5 equivalentes molares y 1,2 equivalentes molares. No  
15 hace falta decir que la concentración óptima del agente oxidante dependerá, como lo sabe la persona con experiencia en la técnica, de la naturaleza de esta última, de la naturaleza de la composición exacta de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos, de la conversión deseada, así como del tiempo de la reacción deseado.

20 El agente reductor, un parámetro esencial del procedimiento, se puede agregar al medio de la reacción en un intervalo amplio de concentraciones. Como ejemplos no limitantes, se pueden citar como valores de concentración del agente reductor aquellos que varían desde 0,2 equivalentes molares hasta 3 equivalentes molares, con respecto a la cantidad de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II). De manera preferente, la concentración del agente reductor estará comprendida entre 0,9 equivalentes molares y 2,5 equivalentes molares. No  
25 hace falta decir que la concentración óptima del agente reductor dependerá, como lo sabe la persona con experiencia en la técnica, de la naturaleza de esta última, de la naturaleza de la composición exacta de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos, de la conversión deseada, así como del tiempo de la reacción deseado.

30 La fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) se puede obtener ya sea mezclando los hidrocarburos de sesquiterpenos puros conjuntamente en la cantidad deseada, o de manera más interesante la misma se puede obtener como una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos producida por medio de la fermentación utilizando células hospederas, tales como las células microbianas, modificadas genéticamente para convertir las fuentes de carbono económicas (tal como el azúcar) en la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos  
35 deseada utilizando una (+)- $\alpha$ -santaleno(-)- $\beta$ -santaleno sintasa como se describe en WO 2011/000026 o en WO 2010/067309. La ventaja de utilizar una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) obtenida por medio de la fermentación es evidente ya que la misma permite un fácil acceso al material de partida.

40 De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores del procedimiento de la invención, el procedimiento se caracteriza además porque la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) se obtiene en una etapa previa en donde se pone en contacto una terpeno sintasa (como se conoce de la técnica previa) con el difosfato de farnesilo (FPP) para producir la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II).

45 El procedimiento de oxidación de la invención, de manera muy sorprendente, proporciona las siguientes ventajas:

- excelentes rendimientos de los compuestos (I-A) a (I-C), mientras que se conserva la relación inicial p/p entre los (I-A) hasta (I-C),
- solamente se permite la reducción de la cantidad del compuesto (I-D) presente en el producto final con respecto a la cantidad de (II-D) presente en la fracción de hidrocarburos

de sesquiterpenos, modulando por esto el (Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol presente en los bloques de construcción de aceite de sándalo final.

Estas son ventajas importantes puesto que, en la producción de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos que utilizan santalenos sintasas expresadas de forma recombinante en microorganismos, los datos de la técnica previa muestran que el (-)- $\alpha$ -trans-bergamoteno se produce generalmente en cantidades que exceden las cantidades del (Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol encontrado generalmente en el aceite de sándalo natural, que obviamente no es adecuado. Por lo tanto, el procedimiento actual permite lograr mayores flexibilidades en la especificación de la producción de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos.

Además, como se mencionó anteriormente, los rendimientos provistos de los (I-A) a (I-C) son excelentes, a pesar de que los (I-A) y (I-B) tienen otros dobles enlaces que pueden ser oxidados y por lo tanto disminuir el rendimiento.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso de la fracción de terpenos oxidados (I) como el material de partida para preparar los bloques de construcción del aceite de sándalo. Realmente, los productos principales presentes en el aceite de sándalo natural son (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol ((2S,4S,7R)-(Z)-5-(2,3-dimetiltriciclo[2.2.1.0<sup>2,6</sup>]hept-3-il)-2-metilpent-2-en-1-ol), (-)-(Z)- $\beta$ -santalol ((1S,2R,4R)-(2Z)-2-metil-5-[2-metil-3-metileno-biciclo[2.2.1]hept-2-il]pent-2-en-ol), (-)-(Z)-*epi*- $\beta$ -santalol ((1S,2S,4R)-(2Z)-2-metil-5-[2-metil-3-metileno-biciclo[2.2.1]hept-2-il]pent-2-en-1-ol), (Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol ((2S,4S,7R)-(Z)-5-(2,6-dimetilbiciclo[3.1.1]hept-2-en-6-il)-2-metilpent-2-en-1-ol), y así la totalidad de los productos que se puedan obtener directamente por los constituyentes de la fracción de terpenos oxidados (I).

Por razones de claridad, por "bloque de construcción de aceite de sándalo" se entiende una composición de materia que comprende:

- a) desde 20 hasta 35 % p/p, preferentemente desde 20 hasta 30 % p/p, de (-)-(Z)- $\beta$ -santalol
  - b) desde 1 hasta 8 % p/p, preferentemente desde 2 hasta 6 % p/p, de (-)-(Z)-*epi*- $\beta$ -santalol
  - c) desde 40 hasta 80 % p/p, preferentemente desde 45 hasta 65 % p/p, de (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol, y
  - d) desde 3 hasta 25 % p/p, preferentemente desde 5 hasta 20 % p/p, de (Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol
- siendo la relación p/p con respecto al peso total del bloque de construcción de aceite de sándalo.

De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores del procedimiento de la invención, tal bloque de construcción de aceite de sándalo se caracteriza por

- una relación % p/p (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol/(Z)- $\alpha$ -trans-bergamotol comprendida entre 10/1 y 3/1, o incluso 5/1, (por ejemplo entre 60 %/6 % y 50 %/10 %); y/o
- una relación % p/p (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol/(-)-(Z)- $\beta$ -santalol comprendida entre 3/1 y 3/2 (por ejemplo entre 60 %/30 % y 30 %/20 %).

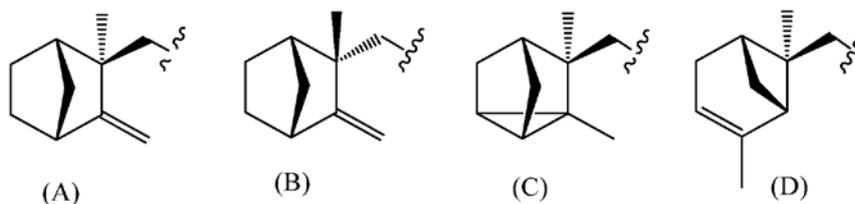
Por razones de claridad, es bien entendido por una persona con experiencia en la técnica que la suma de la cantidad de los constituyentes a) a d) es como máximo del 100 % y como mínimo del 64 % (como se obtiene por la cantidad mínima descrita) y que si la suma total es inferior al 100 %, la cantidad restante puede estar constituida por otros compuestos, preferentemente derivados de otros terpenos naturales. La varianza en la cantidad de los diversos constituyentes a) a d) se debe a la varianza observada en el aceite natural, que depende de las especies botánicas utilizadas para producir el aceite y las condiciones de crecimiento (por ejemplo el clima).

Tal composición de materia se considera como un bloque de construcción puesto que se puede

utilizar, de acuerdo con el conocimiento general de la perfumería, para formular la reconstitución del aceite de sándalo, por ejemplo agregando ingredientes de perfumería adicionales. Sin embargo, también se entiende que los bloques de construcción también se pueden utilizar como tales para impartir una nota de olor del tipo del sándalo.

- 5 La conversión de la fracción de terpenos oxidados (I) en bloques de construcción de aceite de sándalo se puede llevar a cabo utilizando cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica, como por ejemplo aquellos descritos en EP 10213 y/o WO 08/120175.

Por razones de claridad en el avance, se hará referencia adicional a la fracción de terpenos oxidados (I) también por "composición de materia de la fórmula R-CH<sub>2</sub>CHO", en donde R  
10 representa los grupos de la fórmula:



y la expresión "composición de materia" indica que se hace referencia a una composición de los cuatro posibles compuestos en una relación p/p como se indicó anteriormente para la fracción de terpenos oxidados (I). De manera semejante, cuando se hace referencia adicional a una "composición de materia de la fórmula R-", se entiende nuevamente una composición de materia de los cuatro compuestos posibles, y en una relación p/p, como se define para R-CH<sub>2</sub>CHO, la única diferencia podría estar en el grupo CH<sub>2</sub>CHO que puede ser transformado en otro.  
15

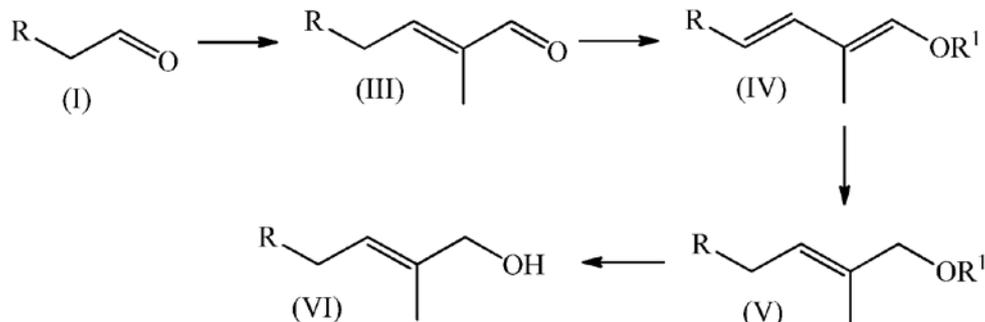
Un ejemplo no limitante, típicamente, la fracción de terpenos oxidados (I) se puede convertir en un bloque de construcción de aceite de sándalo, llevando a cabo las siguientes reacciones:  
20

- a) unir una fracción de terpenos oxidados (I), de la fórmula R-CH<sub>2</sub>CHO, con un propionaldehído (condensación de Aldol) para obtener una composición de materia del aldehído R-CH<sub>2</sub>CH=CMeCHO (III);
- b) convertir la composición de materia del aldehído R-CH<sub>2</sub>CH=CMeCHO (III) en la composición de materia correspondiente del dienol R-CH=CH-CMe=CHOR<sup>1</sup> (IV), en donde R<sup>1</sup> representa un grupo alquilo, alqueniilo o acilo de C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o un grupo sililo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>;
- c) reducir la composición de materia del dienol R-CH=CH-CMe=CHOR<sup>1</sup> (IV) en la composición de materia del precursor R-CH<sub>2</sub>CH=CMe-CH<sub>2</sub>OR<sup>1</sup> (V), en donde R<sup>1</sup> es como se define en la fórmula (V), y la porción de CH<sub>2</sub>CH=CMe-CH<sub>2</sub>OR<sup>1</sup> (V) está en la forma de cualquiera de sus estereoisómeros o mezclas de los mismos; y
- d) transformar la composición de materia del precursor R-CH<sub>2</sub>CH=CMe-CH<sub>2</sub>OR<sup>1</sup> (V) en una composición de materia del precursor R-CH<sub>2</sub>CH=CMe-CH<sub>2</sub>OH (VI) (el bloque de construcción de aceite de sándalo), y la porción de CH<sub>2</sub>CH=CMe-CH<sub>2</sub>OH está en la forma de cualquiera de sus estereoisómeros o mezclas de los mismos.  
30

Por razones de claridad, por la expresión "la porción .... está en la forma de cualquiera de sus estereoisómeros o mezclas de los mismos" para la composición (V) o (VI), en el presente contexto significa que el doble enlace carbono-carbono está en la forma de un isómero E o Z o de una mezcla de los mismos. De acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores de la invención, los compuestos (I) son aquellos que están en la forma de la mezcla de los isómeros E y Z y el isómero Z se toma en cuenta para al menos 85 % p/p de la mezcla, o incluso al menos 95 %, o incluso al menos 98 %.  
40

El procedimiento anterior también se describe en el esquema de reacción 1.

**Esquema 1:** Conversión de la fracción de terpenos oxidados (I) en el bloque de construcción de aceite de sándalo



5

Las etapas a) a e) se pueden llevar a cabo de acuerdo con los procedimientos estándar bien conocidos por una persona con experiencia en la técnica.

Por ejemplo, se puede citar el siguiente procedimiento para cada etapa:

- etapa a) de acuerdo con EP 10213;  
 10 etapa b) de acuerdo con Simmons *et al.* en Helv.Chim.Acta, 1988, 71, 1000;  
 etapa c) de acuerdo con Shibasaki *et al.*, en J.Org.Chem., 1988, 53, 1227 (en donde se describe la hidrogenación [1,4] de un derivado del acetato de dienol) o de acuerdo con WO 08/120175; y  
 15 etapa d) es una hidrólisis del éster simple que es bien conocida por una persona con experiencia en la técnica.

Se proporciona un ejemplo de tal procedimiento en los ejemplos que se describen aquí posteriormente.

## Ejemplos

20 La invención, en todas sus modalidades, será descrita ahora con mayor detalle por medio de los siguientes ejemplos, en donde las abreviaturas tienen el significado usual en la técnica, las temperaturas se indican en grados centígrados (°C); los datos del espectro de RMN se registraron en  $CDCl_3$  con una máquina de 400 MHz o 125 MHz para  $^1H$  o  $^{13}C$  respectivamente, los desplazamientos químicos  $\delta$  se indican en ppm con respecto a TMS como estándar, las constantes de unión J se expresan en Hz.

25 Una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) que comprende:

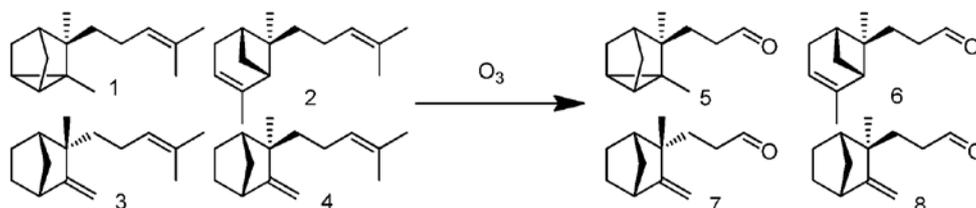
- aproximadamente 19,5 % p/p del compuesto de la fórmula (II-A);
- aproximadamente 2,5 % p/p del compuesto de la fórmula (II-B);
- aproximadamente 33,4 % p/p del compuesto de la fórmula (II-C)
- aproximadamente 38,4 % p/p del compuesto de la fórmula (II-D); y
- 30 - aproximadamente 5 % p/p de  $\beta$ -(Z)-farneseno

(% p/p que es con respecto al peso total de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II)) se obtuvo utilizando células de *E. coli* modificadas para sobreproducir el difosfato de farnesilo (FPP) a partir de una ruta de mevalonato heteróloga y coexpresando una terpeno sintasa derivada de las plantas. La modificación genética y el uso de las células hospederas de *E. coli*  
 35 se han descrito previamente en WO 2013064411 o en *J.Am.Chem.Soc.* 2012, 134:18900-18903. De manera breve, se construyó un plásmido de expresión que contiene dos operones compuestos de los genes que codifican las enzimas para una ruta biosintética de mevalonato

completa. Un primer operón sintético que consiste de uno de los genes de acetoacetil-CoA tiolasa de *E. coli* (*atoB*), una HMG-CoA sintasa de *Staphylococcus aureus* (*mvaS*), una HMG-CoA reductasa de *Staphylococcus aureus* (*mvaA*) y una FPP sintasa de *Saccharomyces cerevisiae* (*ERG20*) se sintetizó *in vitro* (DNA2.0, Menlo Park, CA, E.U.A.) y clonado en el vector pACYCDuet-1 (Invitrogen) produciendo pACYC-29258. Un segundo operón que contiene una mevalonato quinasa (*MvaK1*), una fosfomevalonato quinasa (*MvaK2*), una mevalonato difosfato descarboxilasa (*MvaD*), y una isopentenil difosfato isomerasa (*idi*) se amplificó a partir del ADN genómico de *Streptococcus pneumoniae* (ATCC BAA-334) y se subclonó en el segundo sitio de multiclonación de pACYC-29258 que proporciona el plásmido pACYC-29258-4506. Por consiguiente este plásmido contiene los genes que codifican todas las enzimas de la ruta biosintética que conduce desde el acetil-CoA hasta el FPP. Las células de *E. coli* (BL21 Star<sup>TM</sup>(DE3), Invitrogen) se co-transformaron con los plásmidos pACYC-29258-4506 y un derivado de pETDuet-1 (Invitrogen): pETDuet-SCH10-Tps8201-opt que contiene una versión optimizada en los codones (para la expresión en *E. coli*) de un ADNc que codifica para una (+)- $\alpha$ -santaleno/(-)- $\beta$ -santaleno sintasa de *Santalum album* (ejemplo 6 en WO2010067309). Las células recombinantes resultantes se utilizaron para producir la fracción de terpeno deseada utilizando cultivos de densidad celular elevada, alimentados en lotes en biorreactores a escala de laboratorio como se describe esencialmente (*J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134:18900-18903). La fracción de sesquiterpeno se purificó a partir del caldo de fermentación utilizando un procedimiento corriente abajo basado en una extracción líquido/líquido y una destilación fraccionada. Este procedimiento produce una fracción de sesquiterpeno de > 90 °C de pureza.

### Ejemplo 1

#### Preparación de la fracción de terpenos oxidados (I) – ozonólisis



En un matraz de ozonización de 500 ml, se enfrió una solución de 19.6 g (95 mmol) de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) descrita anteriormente en diclorometano (200 ml) a -78 °C. Se activó el ozono (5.47 g, 1.2 eq.) a través de la solución a -78 °C. Después, la solución se purgó con oxígeno durante 10 minutos y después con nitrógeno durante 15 minutos. Se dejó que la mezcla regresara a 0 °C y se agregó una solución de sulfito de sodio (24 g, 2.0 eq.) en agua (250 ml) previamente enfriada a 0 °C. La mezcla se agitó durante 10 minutos a 0 °C y 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la decantación, las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con Et<sub>2</sub>O. Las capas orgánicas se lavaron con agua y después con salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO<sub>4</sub> y se filtraron. Los disolventes se removieron bajo *vacío* y el residuo (aceite amarillo) se purificó por cromatografía ultrarrápida (eluyente ciclohexano/AcOEt) para dar 8.9 g (rendimiento total del 53 %) de la fracción de terpenos oxidados (I) que comprende los compuestos (IA)/(IB)/(IC)/(ID) en el % p/p de 26/3/49/15, respectivamente.

Rendimiento del compuesto (I-A), calculado sobre (II-A): 71 %

Rendimiento del compuesto (I-C), calculado sobre (II-C): 75 %

Rendimiento del compuesto (I-D), calculado sobre (II -D): 21 %

**Ejemplo 2**Preparación de un bloque de construcción de aceite de sándalo

La fracción de terpenos oxidados (I) obtenida en el ejemplo 1 se convirtió de acuerdo con el esquema 1 y WO 08/120175.

5 Aldol etapa a): propanal 3 equivalentes molares, benzoato de hexahidroazepinio 1.0 M en agua 0.4 eq., tolueno, 110 °C, 4 horas; rendimiento = 74%

Éster de dienol etapa b): Ac<sub>2</sub>O 3 equivalentes molares, Et<sub>3</sub>N 1 equivalente molar, AcOK 0.22 equivalentes molares, 120 °C, 4 horas; rendimiento = 84%

10 Reducción de dienol etapa c): ácido maleico 0.16 equivalentes molares, RuCp\*(COD)BF<sub>4</sub> 0.01 equivalentes molares, acetona, H<sub>2</sub>, 4 bares, 60 °C, 4 horas

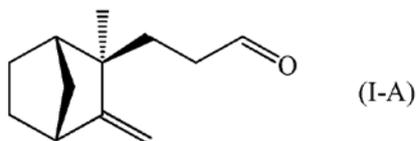
Hidrólisis de la etapa d): K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1.2 equivalentes molares, MeOH, 1 hora a temperatura ambiente; rendimiento = 68 % sobre la etapa d) y c)

15 En el bloque de construcción de aceite de sándalo final obtenido, la relación de los diversos alcoholes alílicos de sesquiterpenos corresponde a la misma relación de los compuestos correspondientes en la fracción de terpenos oxidados (I) obtenida en el ejemplo 1.

## REIVINDICACIONES

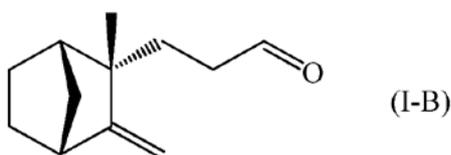
1. Una composición de materia que consiste de una fracción de terpenos oxidados (I), que comprende:

- 5 - desde 15 hasta 40 % p/p de 3-((1S,2R,4R)-2-metil-3-metilenobicyclo[2.2.1]heptan-2-il)propanal, de fórmula



en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

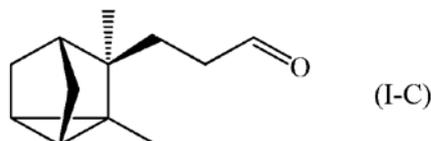
- desde 1 hasta 8 % p/p de 3-((1S,2S,4R)-2-metil-3-metilenobicyclo[2.2.1]heptan-2-il)propanal, de fórmula



10

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

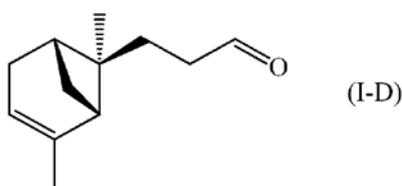
- desde 40 hasta 60 % p/p de 3-((1S,3R,4S)-2,3-dimetilbicyclo[2.2.1.0<sup>2,6</sup>]heptan-3-il)propanal, de fórmula



15

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta; y

- desde 5 hasta 20 % p/p de 3-((1S,5S,6R)-2,6-dimetilbicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-il)propanal, de fórmula



20

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

siendo la relación p/p con respecto al peso total de la fracción de terpenos oxidados (I).

2. Una composición de conformidad con la reivindicación 1, **caracterizada porque** comprende:

- 25 - desde 20 hasta 35 % p/p del compuesto de la fórmula (I-A);  
 - desde 1 hasta 5 % p/p del compuesto de la fórmula (I-B);  
 - desde 40 hasta 55 % p/p del compuesto de la fórmula (I-C); y  
 - desde 10 hasta 20 % p/p del compuesto de la fórmula (I-D).

3. Una composición de conformidad con la reivindicación 1, en la que dicha composición está **caracterizada porque** comprende:

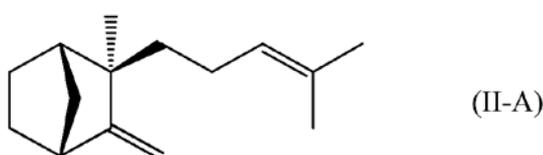
- una relación % p/p (I-C)/(I-D) comprendida entre 4/1 y 2/1; y/o
- una relación % p/p (I-C)/(I-A) comprendida entre 3/1 y 1/1.

4. Una composición de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dichos compuestos (I-A), (I-B), (I-C) y (I-D) tienen un e.e. de al menos el 80 %.

5. Un procedimiento para la preparación de una composición de materia, como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende la siguiente etapa de hacer reaccionar:

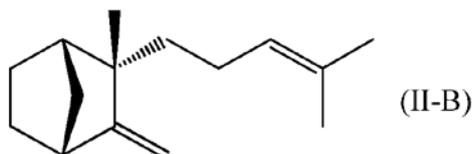
- una fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) que comprende

10 i) desde 10 hasta 30 % p/p de (1S,2R,4R)-2-metil-3-metileno-2-(4-metilpent-3-en-1-il)-biciclo[2.2.1]heptano (también conocido como (-)-β-santaleno), de fórmula



en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

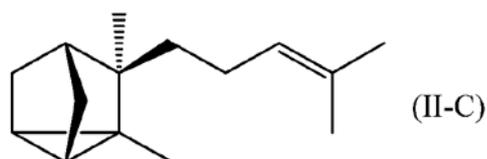
ii) desde 1 hasta 6 % p/p de (1S,2S,4R)-2-metil-3-metileno-2-(4-metilpent-3-en-1-il)biciclo[2.2.1]heptano (también conocido como (+)-epi-β-santaleno), de fórmula



15

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

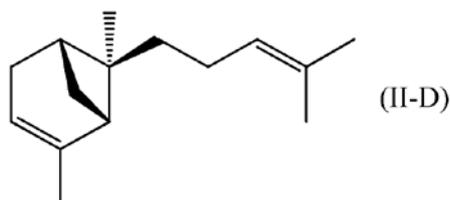
iii) desde 20 hasta 50 % p/p de (2S,4S,7R)-1,7-dimetil-7-(4-metilpent-3-en-1-il)tricyclo[2.2.1.0<sup>2,6</sup>]heptano (también conocido como (+)-α-santaleno), de fórmula



20

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta; y

iv) desde 20 hasta 40 % p/p de (1S,5S,6R)-2,6-dimetil-6-(4-metilpent-3-en-1-il)biciclo[3.1.1]hept-2-eno (también conocido como (-)-α-trans-bergamoteno), de fórmula



25

en la que las líneas en negrita y de rayas indican una configuración absoluta;

siendo la relación p/p con respecto al peso total de la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II);

- con ozono en condiciones reductoras.

6. Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 5, en el que la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) está **caracterizada porque** comprende:

- una relación % p/p (II-C)/(II-D) comprendida entre 2/1 y 1/2; y/o
- 5 - una relación % p/p (II-C)/(II-A) comprendida entre 3/1 y 1/1.

7. Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 5, **caracterizado porque** dicha condición reductora se lleva a cabo tratando el medio de la reacción con un sulfito alcalino o un sulfuro de dialquilo de C<sub>2-6</sub>.

10 8. Un procedimiento de conformidad con la reivindicación 5, **caracterizado porque** la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II) se obtiene en una etapa previa en el que una terpeno sintasa está en contacto con el difosfato de farnesilo (FPP) para producir la fracción de hidrocarburos de sesquiterpenos (II).

15 9. Uso de la fracción de terpenos oxidados (I), como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, como el material de partida para preparar un bloque de construcción de aceite de sándalo.

10. Uso de conformidad con la reivindicación 9, **caracterizado porque** dicho bloque de construcción de aceite de sándalo es una composición de materia que comprende:

- e) desde 20 hasta 35 % p/p, preferentemente desde 20 hasta 30 % p/p, de (-)-(Z)- $\beta$ -santalol
- f) desde 1 hasta 8 % p/p, preferentemente desde 2 hasta 6 % p/p, de (-)-(Z)-*epi*- $\beta$ -santalol
- 20 g) desde 40 hasta 80 % p/p, preferentemente desde 45 hasta 65 % p/p, de (+)-(Z)- $\alpha$ -santalol, y
- h) desde 3 hasta 25 % p/p, preferentemente desde 5 hasta 20 % p/p, de (Z)- $\alpha$ -trans-bergatomol.