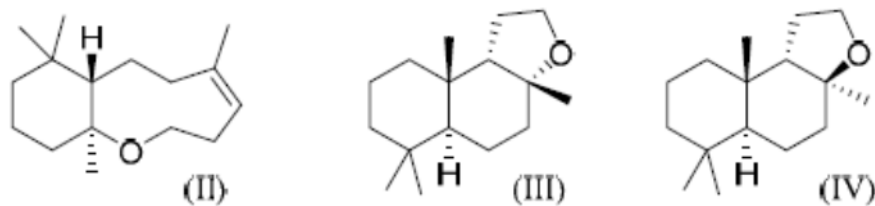


REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un proceso para preparar (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, caracterizado porque una mezcla de isómeros que comprende EEH se convierte enzimáticamente a (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, en donde la conversión enzimática se lleva a cabo usando una enzima escualeno-hopeno-ciclasa/homofarnesol-Ambrox-ciclasa (SHC/HAC) que tiene una secuencia de polipéptido de SEQ ID No. 21 para la producción de (-)-Ambrox y en donde la mezcla de isómeros que comprende EEH es seleccionada de uno o más de los siguientes grupos que consisten de [(3E,7E) y [(3Z,7E)] y/o [(3E,7E) y (3E,7Z)] y/o [(3Z,7E), (3E,7E) y (3E,7Z)] también designados como [EE:EZ], [EE:ZE] y [EE:EZ:ZE] respectivamente, en donde la conversión de homofarnesol a (-)-Ambrox toma lugar a una temperatura en el intervalo de 30°C a 60°C, a un pH en el intervalo de 4-8.
2. El proceso de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque usa células hospedadoras recombinantes que producen la enzima SHC/HAC.
3. El proceso de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, caracterizado porque la conversión de homofarnesol a (-)-Ambrox toma lugar en un intervalo de pH de 5.0 a 6.2.
4. El proceso de conformidad con la reivindicación 1 o reivindicación 2, caracterizado porque la conversión toma lugar a una temperatura de 35°C.
5. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque los pasos de reacción de bioconversión y crecimiento celular se llevan a cabo en el mismo recipiente de reacción.

6. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, caracterizado porque se produce (-)- Ambrox en mezcla con como un mínimo de uno o más de los subproductos (II), (IV) y/o (III)



7. El proceso de conformidad con las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque el (-)-Ambrox se aísla de la mezcla de reacción de bioconversión usando un solvente orgánico o un paso de extracción/destilación o filtración.

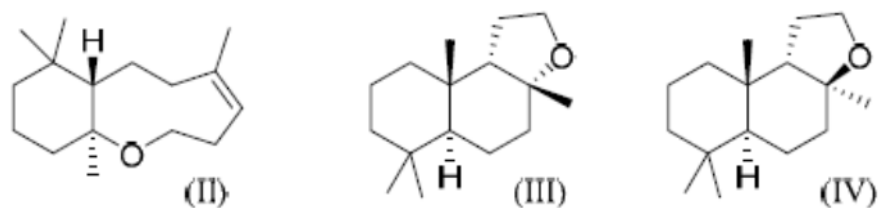
8. El proceso de conformidad con las reivindicaciones 1-7, caracterizado porque el (-)-Ambrox se aísla de la fase sólida de la mezcla de reacción de bioconversión usando un solvente orgánico o un paso de destilación con vapor/destilación.

9. El proceso de conformidad con la reivindicación 7 u 8, caracterizado porque el (-)-Ambrox se aísla de la mezcla de reacción usando un solvente orgánico.

10. El proceso de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque el solvente orgánico es etanol o tolueno.

11. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 7-10, caracterizado porque el (-)-Ambrox se cristaliza selectivamente usando un solvente orgánico definido como un solvente orgánico miscible en agua y/o no miscible en agua tal como heptano, éter terc-butílico de metilo, éter diisopropílico, tetrahidrofurano, acetato de etilo y/o mezclas de estos.

12. El proceso de conformidad con la reivindicación 11, caracterizado porque el (-)-Ambrox está sustancialmente libre de los subproductos (II), (IV) y/o (III)



13. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, caracterizado porque el (-)- Ambrox se produce en un intervalo de concentración de 125-200g/l.

14. Un producto de reacción que comprende (-)-Ambrox que se obtiene por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, caracterizado porque el (-)- Ambrox tiene un umbral de olor de 0.1 a 0.5ng/l y en donde la mezcla de isómeros que comprende EEH es seleccionada de uno o más de los siguientes grupos que consisten de [(3E,7E) y [(3Z,7E)] y/o [(3E,7E) y (3E,7Z)] y/o [(3Z,7E), (3E,7E) y (3E,7Z)] también designados como [EE:EZ], [EE:ZE] y [EE:EZ:ZE] respectivamente.

15. El producto de reacción que comprende (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 14 está en una forma sólida, en una forma amorfa o cristalina.

16. Un proceso para producir un producto que contiene (-)-Ambrox, en donde el producto es un producto de fragancia, un cosmético, un producto de limpieza, un producto detergente o un producto de jabón caracterizado porque comprende incorporar el (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 14 o 15 en el producto.

17. Una fragancia o cosmético o producto de cuidado de consumidor o composición de cuidado de consumidor, caracterizada porque comprende el (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 14 o 15 y uno o más componentes adicionales.

18. Un proceso para preparar (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, caracterizado porque una mezcla de isómeros que comprende EEH se convierte enzimáticamente a (-)-Ambrox o una mezcla que comprende (-)-Ambrox, en donde la conversión enzimática se lleva a cabo usando una enzima escualeno-hopeno-ciclasa/homofarnesol-Ambrox-ciclasa (SHC/HAC) que tiene una secuencia de polipéptido con al menos 70% de identidad de SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 o SEQ ID No. 4 para la producción de (-)-Ambrox y en donde la mezcla de isómeros que comprende EEH es seleccionada de uno o más de los siguientes grupos que consisten de [(3E,7E) y [(3Z,7E)] y/o [(3E,7E) y (3E,7Z)] y/o [(3Z,7E), (3E,7E) y (3E,7Z)] también designados como [EE:EZ], [EE:ZE] y [EE:EZ:ZE] respectivamente.

19. El proceso de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque se lleva a cabo usando una secuencia de polipéptido de enzima de SHC/HAC seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3, o SEQ ID No. 4.

20. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-19 caracterizado porque usa células hospedadoras recombinantes que producen la enzima SHC/HAC.

21. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 19 o 20, caracterizado porque la secuencia de nucleótidos que codifica la enzima SHC/HAC se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID No. 165, 166, 167, 168, o 169.

22. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-21, caracterizado porque la conversión de homofarnesol a (-)-Ambrox toma lugar a una temperatura de 30°C a 60°C, en un intervalo de pH de 4-8.

23. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-22, caracterizado porque la conversión de homofarnesol a (-)-Ambrox toma lugar usando uno o más de las condiciones de reacción para la enzima SHC/HAC tipo silvestre o enzimas de derivado de SHC/HAC como se expone en Tabla 24 o Tabla 24^a, preferiblemente en un intervalo de pH de 5.0 a 6.2, preferiblemente a una temperatura de 35°C.

24. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-23, caracterizado porque se produce (-)- Ambrox en mezcla con al menos uno o más de los subproductos (II), (IV) y/o (III).

25. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-24, caracterizado porque (-)-Ambrox se aísla de la mezcla de reacción de bioconversión usando un solvente orgánico o un paso de extracción/destilación o filtración.

26. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-25, caracterizado porque (-)-Ambrox se aísla de la fase sólida de la mezcla de reacción de bioconversión usando un solvente orgánico o un paso de destilación con vapor/destilación.

27. El proceso de conformidad con la reivindicación 25 o reivindicación 26, caracterizado porque el (-)-Ambrox se aísla de la mezcla de reacción usando un solvente orgánico, preferiblemente etanol o tolueno.

28. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 25-27, caracterizado porque el (-)-Ambrox se cristaliza selectivamente usando un solvente orgánico.

29. El proceso de conformidad con la reivindicación 28, caracterizado porque el (-)-Ambrox está sustancialmente libre de los subproductos (II), (IV) y/o (III).

30. El proceso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 18-29, caracterizado porque el (-)- Ambrox se produce en un intervalo de concentración de 125-120g/l.

31. Un producto de reacción que comprende (-)-Ambrox que se obtiene por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 18-30, caracterizado porque el (-)- Ambrox tiene un umbral de olor de 0.1 a 0.5ng/l y en donde la mezcla de isómeros que comprende EEH es seleccionada de uno o más de los siguientes grupos que consisten de [(3E,7E) y [(3Z,7E)] y/o [(3Z,7E), (3E,7E) y (3E,7Z)] también designados como [EE:EZ] y [EE:EZ:ZE] respectivamente.

32. El producto de reacción que comprende (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 31 está en una forma sólida, en una forma amorfa o cristalina.

33. Un proceso para producir un producto que contiene (-)-Ambrox, caracterizado porque comprende incorporar el (-)-Ambrox de conformidad con cualquiera de la reivindicación 31 o 32 en el producto.

34. El proceso de conformidad con la reivindicación 33, caracterizado porque el producto es un producto de fragancia, un cosmético, un producto de limpieza, un producto detergente o un producto de jabón.

35. Una fragancia o cosmético o producto de cuidado de consumidor, caracterizada porque comprende el (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 31 o 32.

36. Una fragancia o cosmético o composición de cuidado de consumidor, caracterizada porque comprende el (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 31 o 32 y uno o más componentes adicionales.

P-2017/14361

Reivindicaciones Modificadas para Respuesta Segundo Fondo

Noviembre 13, 2019

37. El uso de (-)-Ambrox de conformidad con la reivindicación 31 o 32 como parte de una fragancia o un cosmético, o un producto de cuidado de consumidor tal como un producto para el cuidado de ropa, artículos de tocador, cuidados de belleza y/o productos de limpieza.