



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0720149-4 A2



(22) Data de Depósito: 26/11/2007
(43) Data da Publicação: 04/02/2014
(RPI 2248)

(51) Int.Cl.:
A24B 15/30
A24D 3/14

(54) Título: POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, KIT, MÉTODOS PARA PREPARAR UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, PARA DETERMINAR SE UM PRODUTO DE TABACO CONTÉM NITROSAMINAS, PARA QUANTIFICAR A QUANTIDADE DE NITROSAMINAS EM UM PRODUTO DE TABACO, PARA TRATAR UM PRODUTO DE TABACO PARA REDUZIR O NÍVEL DE UM COMPONENTE ALVO NO MESMO E PARA FABRICAR UM MATERIAL DE TABACO, ARTIGO PARA FUMAR, E, FILTRO PARA FUMAR

(57) Resumo:

(30) Prioridade Unionista: 07/12/2006 SE 0602625-6

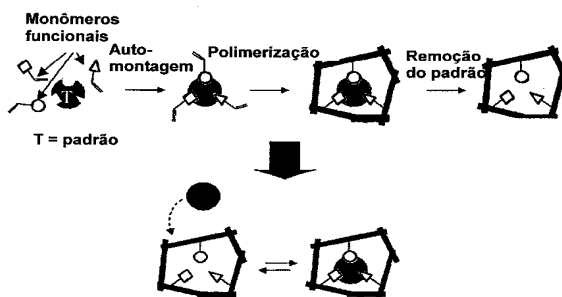
(73) Titular(es): British American Tobacco (Investments) Limited

(72) Inventor(es): Anthony Rees, Ecevit Yilmaz, Johan Billing

(74) Procurador(es): Momsen, Leonardos & CIA.

(86) Pedido Internacional: PCT EP2007062781 de 26/11/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2008/068153de 12/06/2008



“POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, KIT, MÉTODOS PARA PREPARAR UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, PARA DETERMINAR SE UM PRODUTO DE TABACO CONTÉM NITROSAMINAS, PARA QUANTIFICAR A QUANTIDADE DE NITROSAMINAS EM UM PRODUTO DE TABACO, PARA TRATAR UM PRODUTO DE TABACO PARA REDUZIR O NÍVEL DE UM COMPONENTE ALVO NO MESMO E PARA FABRICAR UM MATERIAL DE TABACO, ARTIGO PARA FUMAR, E, FILTRO PARA FUMAR”

CAMPO DA INVENÇÃO

De uma forma geral, a presente invenção diz respeito a polímeros molecularmente impressos e ao uso dos polímeros na bioanálise e separação dos metabólitos de nicotina. Mais especificamente, a invenção diz respeito a polímeros molecularmente impressos tendo especificidade para com as nitrosaminas específicas para tabaco, e inclui métodos de usar os polímeros para tratar do tabaco, de substitutos do tabaco, e de seus derivados, para reduzir neles o nível de compostos alvo.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Nos campos das ciências médicas, dietéticas, ambientais e químicas existe uma necessidade crescente quanto à separação seletiva de substâncias específicas das misturas complexas de substâncias relacionadas. O objetivo pode ser a extração quantitativa de um certo composto ou compostos, a avaliação de sua concentração ou a remoção seletiva de um composto alvo de uma mistura de múltiplos componentes.

Os controles da saúde mais rigorosos têm aumentado a demanda por métodos que permitam a quantificação sensível e seletiva de produtos nocivos e metabólitos de certas substâncias cotidianas em uso muito difundido. De particular preocupação são os compostos químicos relacionados ao uso dos produtos com base no tabaco, compostos estes que se acham ou originalmente presentes nas próprias folhas do tabaco bruto ou gerados durante o processo de fumar. Compostos contendo nitroso, tais como

as nitrosaminas, são considerados como sendo de especial significância a este respeito.

Com o objetivo de reduzir a ocorrência de riscos relacionados ao fumo, certos produtos farmacêuticos foram produzidos contendo apenas a substância neuroativa, a nicotina, o produto químico reivindicado sendo responsável pelos aspectos de dependência do material fumável.

Entre as formulações de nicotina para a terapia de cessação do ato de fumar, a goma de mascar de nicotina tem encontrado o uso mais disperso. O controle da qualidade requerido durante a produção inclui a monitoração dos níveis de nicotina, bem como a monitoração dos produtos primários de oxidação da nicotina, cotinina, miosmina, nicotina-cis-N-óxido, nicotina-trans-N-óxido e beta-nicotirina. A quantificação da nornicotina, da anatabina e da anabasina é também desejável, se não necessária. Métodos e materiais melhorados para tal monitoração e quantificação são necessários na técnica. O uso de tais substitutos do cigarro podem causar metabólitos da nicotina de nitrosamina a serem produzidos in vivo por processos metabólicos naturais durante a permanência da nicotina dentro dos tecidos do corpo. Os níveis destes metabólitos permanecem abaixo das concentrações em que a maioria dos procedimentos analíticos pode desempenhar-se quantitativamente. Assim, além dos métodos e materiais para uso durante a fabricação do produto, permanece uma necessidade de meios melhorados para monitorar os níveis baixos dos metabólitos de nicotina in vivo.

Juntamente com as necessidades sentidas em relação a produtos mais novos, os produtos tradicionais do tabaco também necessitam de métodos e materiais para quantificar, reduzir ou remover componentes do tabaco ou do fumo do tabaco. Tais componentes incluem as nitrosaminas (TSNAs) específicas para tabaco e seus precursores alcalóides: 4-(metilnitrosamino)-(3-piridil)-1-butanona ("NNK"), 4-(metilnitrosamino)-(3-piridil)butanal ("NNA"), N-nitrosonornicotina ("NNN"), N-nitrosoanabasina

(“NAB”), N-nitrosoanatabina (“NAT”), 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (“NNAL”), 4-(metilnitrosamino)-4-(3-piridil)-1-butanol (“iso-NNAL”) e ácido 4-(metilnitrosamino)-4-(3-piridil)butanóico (“iso-NNAC”).

Para quantificar apropriadamente a quantidade de tais compostos presentes nos fluidos biológicos humanos, métodos estão sendo desenvolvidos para analisar os alcalóides, especialmente os produtos de decomposição nitrosilados e metabólitos no tabaco. Os métodos de separação ou extração cromatográficos existentes usados para esta análise carecem da robustez, da sensibilidade e da velocidade requerida a fim de manipular o grande número de amostras geradas quando da triagem da população geral. Com os métodos existentes, a baixa concentração das nitrosaminas, tipicamente presentes em picogramas por mililitro, demanda a preparação extensiva de amostras com extrações de múltiplas etapas e frequentemente derivação química (por exemplo a deuteração antes da espectrometria de massa) do analito antes da análise. Uma razão para esta complexidade é que os materiais de separação existentes não são seletivos como, por exemplo, um anticorpo ou receptor biológico pode ser quanto aos metabólitos em questão, mas, ao invés disso, contam com as propriedades físico-químicas como a carga ou a hidrofobicidade dos metabólitos para o procedimento de separação. Estas propriedades físico-químicas podem ser compartilhadas por muitas outras moléculas irrelevantes na amostra. Um método rápido e simples para a análise das TSNA's é, portanto, uma necessidade analítica médica significativa não encontrada.

Durante os anos recentes, numerosos relatos de reconhecimento seletivo das pequenas moléculas com materiais preparados pela impressão molecular (polímeros molecularmente impressos ou MIPs) têm aparecido. Os MIPs são polímeros tendo sítios reativos adaptados para ligarem-se seletivamente com os compostos alvo. Materiais molecularmente impressos não covalentemente preparados têm sido usados para o

reconhecimento quiral de uma variedade de pequenas moléculas, incluindo medicamentos terapêuticos, açúcares, bases nucleotídicas, e pesticidas, bem como hormônios esteróides e peptídicos. A alta afinidade e a seletividade para com o analito alvo apresentadas por alguns dos materiais impressos têm justificado uma comparação com as fases de imunoafinidade (IA) correspondentes. Ao contrário das últimas fases, entretanto, os materiais MIPs são fáceis de se preparar, estáveis na maioria dos meios e reutilizáveis através de longos períodos de tempo. As aplicações dos materiais MIPs na cromatografia, a separação (contínua ou em grupos), a sensibilidade química ou em ensaios específicos acham-se, portanto, sob pesquisa.

Outra aplicação é a extração de fase sólida (SPE) dos analitos presentes em baixas concentrações nas amostras biológicas, ou nas matrizes complexas. A SPE pode levar ao enriquecimento seletivo e purificação de um analito a níveis não obtíveis com os métodos existentes. As extrações de fase sólida molecularmente impressas (MISPE) têm sido usadas na bioanálise, na análise de alimentos e na análise ambiental. Nestes exemplos, o enriquecimento seletivo e a purificação do analito são obtidos, resultando em precisão mais elevada e uma redução do limite de detecção (LOD) nas subsequentes quantificação cromatográfica (por exemplo, HPLC) ou espectrométrica de massa.

Em vista de sua alta seletividade, combinada com boa afinidade para com a molécula alvo ou um grupo de moléculas alvo, os MIPs têm atraído considerável interesse da indústria de alimentos, como uma ferramenta para melhorar a qualidade dos alimentos. Isto requer o uso de um MIP para remoção seletiva dos componentes indesejáveis da matriz alimentar. Tendo em vista que estes componentes se acham frequentemente presentes em baixas concentrações, a capacidade de saturação do MIP é tipicamente um fator não limitativo.

De acordo com a WO 05/112670, que fica especificamente

aqui incorporado como referência, pode ser preferível ter material de MIPs capaz de seletivamente absorver os derivados de nicotina nitrosilada mais comuns das matrizes complexas, tais como a urina, dando recuperação quantitativa e por esse meio levando a baixos erros na estimativa das concentrações químicas. Os exemplos da WO 05/112670 são limitados aos MIPs preparados com o uso de monômeros padrões acídicos ou altamente acídicos tais como o ácido metacrílico (MAA), o ácido trifluorometacrílico (TFMAA), o ácido 4-vinilbenzóico, e o ácido 4-vinil benzeno sulfônico.

Além da quantificação, é igualmente bem conhecido tentar-se reduzir os efeitos nocivos de se consumir material contendo tabaco, substitutos do tabaco ou misturas destes, mediante a redução dos níveis dos compostos alvo. Tais reduções podem ser feitas no próprio material ou em um derivado deste, tal como um extrato do material. A redução pode também ser efetuada nos produtos de decomposição térmica do material, isto é, a fumaça principal e secundária obtida por combustão, ou os aerossóis produzidos pelo aquecimento do material a uma temperatura abaixo de sua temperatura de combustão.

Um método bem conhecido para esta espécie de redução é fazer o contato dos produtos de decomposição térmica do material com um filtro que adsorva os componentes indesejáveis dele. Um método alternativo envolve a extração de solventes do material, por exemplo como apresentado na especificação da patente dos Estados Unidos US-5601097. De acordo com aquela especificação, o conteúdo de proteína do material do tabaco é reduzido pelo tratamento do tabaco com uma solução contendo um tensoativo para extrair polipeptídeos, separando-se a solução, removendo-se o tensoativo e os polipeptídeos da solução, e recombinação da solução com o material do tabaco. A especificação da Patente Internacional WO 01/65954 apresenta um processo no qual o tabaco é colocado em contato com um fluido de extração supercrítico, tal como o dióxido de carbono supercrítico, para seletivamente

reduzir ou eliminar as nitrosaminas.

Estes processos são igualmente aplicáveis tanto ao próprio tabaco quanto aos substitutos do tabaco, isto é, materiais naturais ou sintéticos tendo características semelhantes às do tabaco natural, que possibilitem sejam consumidos de uma maneira semelhante ao tabaco, quer mediante o fumo, a mastigação, a inalação ou de outra forma.

Tem-se tentado remover a nicotina do fumo do tabaco com o uso dos MIPs, como relatado em Liu, Y. et al., *Molecularly imprinted Solid-Phase Extraction Sorbent for Removal of Nicotine from Tobacco Smoke*, *Analytical Letters*, Volume 36, nº 8, pp. 1631-1645 (2003). O MIP descrito no artigo foi designado para a nicotina, e não os metabólitos de nicotina mais tóxicos, tais como as nitrosaminas. Não está claro se o MIP foi de fato seletivo quanto à nicotina, como o método científico produtor dos dados que faltavam nos elementos chave de controle da verificação. Como descrito na WO 05/112670, os MIPs seletivos quanto às TSNAs podem ser usados para tratar dos produtos do tabaco e por esse meio reduzir os níveis de um ou mais compostos contendo nitroso do produto do tabaco. Tais MIPs ainda encontram uso na análise e quantificação das TSNAs in vivo, comumente em relação ao consumo dos produtos do tabaco, e na preparação e avaliação dos produtos não de tabaco. Assim, apesar dos avanços, permanece uma necessidade na técnica quanto a novos MIPs e métodos de empregá-los no campo da nicotina e dos metabólitos da nicotina.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção atende às necessidades na técnica, por prover MIPs únicos que sejam particularmente seletivos quanto aos compostos contendo nitroso.

Os MIPs da invenção podem ser obtidos pela copolimerização de um monômero ou monômeros funcionais neutros e um reticulador hidrofóbico na presença de um análogo estrutural de uma nitrosamina, em um

meio de polimerização contendo um iniciador de radical livre, após o que o gabarito é removido do MIP.

A invenção inclui o uso dos MIPs para extrações analíticas e preparativas, em cromatografia, para o pré-tratamento analítico da amostra, em sensores químicos, ou como um filtro de fase sólida para extração das TSNAs das substâncias ou dispositivos contendo nicotina.

De acordo com uma forma de realização, um polímero molecularmente impresso seletivo para pelo menos uma nitrosamina específica para tabaco (TSNA), é fornecido, o polímero tendo sido preparado com o uso de materiais contendo uma TSNA ou um seu análogo estrutural, um monômero funcional neutro, e um reticulador hidrofóbico. O análogo estrutural de uma TSNA pode ser um análogo de enamina de uma TSNA ou um análogo de amida de uma TSNA, por exemplo um análogo de formamida de uma TSNA. O monômero funcional neutro pode ser selecionado do grupo consistindo de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), acrilamida, metacrilamida, monoacrilado de glicerol e monometacrilato de glicerol. O reticulador hidrofóbico pode ser selecionado do grupo consistindo de dimetacrilato de etileno glicol (EDMA), trimetacrilato de trimetilolpropano (TRIM) e divinilbenzeno (DVB). Na forma de realização da invenção, o polímero pode ser seletivo para NNK, NNA, NNN, NAB, NAT, NNAL, iso-NNAL ou iso-NNAC.

De acordo com uma outra forma de realização da invenção, um artigo próprio para fumar é provido, compreendendo um material para fumar e um polímero molecularmente impresso de acordo com a forma de realização descrita acima.

De acordo com uma outra forma de realização da invenção, um filtro para fumar pode compreender um polímero molecularmente impresso de acordo com o acima.

De acordo com uma outra forma de realização da invenção,

um kit pode compreender um polímero molecularmente impresso de acordo com o acima, e instruções para uso do polímero molecularmente impresso para dentre detectar, quantificar e separar nitrosaminas em uma amostra.

De acordo com uma outra forma de realização da invenção,
5 um método para preparar um polímero seletivo molecularmente impresso quanto às TSNA's é fornecido, compreendendo copolimerizar pelo menos um monômero funcional neutro e pelo menos um reticulador hidrofóbico na presença de pelo menos um análogo estrutural da TSNA em um meio de polimerização contendo pelo menos um iniciador de radical livre para
10 produzir um polímero molecularmente impresso ligado a um análogo estrutural da TSNA e remover o análogo estrutural da TSNA do polímero molecularmente impresso.

Em conformidade com uma outra forma de realização da invenção, um método para reduzir o nível de pelo menos uma TSNA, em um
15 produto do tabaco, é fornecido, compreendendo tratar o produto do tabaco com um polímero molecularmente impresso de acordo com a invenção. O produto de tabaco pode ser produzido pela decomposição térmica de um material contendo tabaco, um substituto do tabaco ou uma mistura destes, por exemplo pelo aquecimento do material até uma temperatura abaixo de sua
20 temperatura de combustão, mediante a combustão do material, ou mediante o contato de um material contendo tabaco, um substituto do tabaco ou uma mistura destes com um solvente.

De acordo com uma outra forma de realização da invenção, um método para fabricar um material de tabaco é fornecido, compreendendo
25 as etapas de tratar de um material contendo tabaco, substituto do tabaco ou uma mistura destes com um solvente, para produzir um extrato, fazendo o contato do extrato com um polímero molecularmente impresso de acordo com a invenção, de modo a reduzir o seu nível no extrato, e combinar o extrato tratado com o material de tabaco extraído.

Neste relatório descritivo, “produto do tabaco” significa um material contendo tabaco (incluindo a folha do tabaco ou o talo do tabaco), ou um substituto do tabaco, ou uma mistura do tabaco com os substitutos do tabaco, e derivados de tal material, incluindo extratos do material, o fumo produzido pela decomposição térmica do material e os aerossóis produzidos pelo aquecimento do material abaixo da sua temperatura de combustão.

Quando o produto do tabaco for um derivado produzido pela decomposição térmica do material contendo tabaco ou um substituto do tabaco, a decomposição pode ser efetuada pela combustão do material, como em um cigarro convencional, ou pelo aquecimento do material a uma temperatura abaixo de sua temperatura de combustão, de acordo com um processo usado em alguns produtos alternativos do tabaco conhecidos, de modo a produzir um aerossol que seja inalado pelo consumidor.

Alternativamente, o produto do tabaco pode ser um derivado produzido pelo material de contato contendo tabaco ou um substituto do tabaco com um solvente. Em particular, a invenção provê um método para fabricar um material para fumar, compreendendo as etapas de extrair o material fumável com um solvente, tratar o extrato com um MIP seletivo para pelo menos um composto de nitroso e combinando-se o extrato tratado com o material fumável.

Neste processo, o material fumável pode estar em qualquer forma conveniente, por exemplo finos, hastes, fragmentos, lâmina cortada, hastes fragmentadas, ou qualquer combinação destas. O solvente pode ser aquoso ou não aquoso, tal como metanol, etanol ou um meio de extração de fluido supercrítico, tal como o dióxido de carbono supercrítico líquido. A extração pode ser realizada sob quaisquer condições que favoreçam a extração dos compostos do tabaco contendo nitrogênio.

A invenção também inclui um artigo para fumar contendo tabaco ou substituto do tabaco, e um MIP seletivo para a remoção de pelo

menos um composto contendo nitroso do seu produto de decomposição térmica.

O artigo para fumar da invenção pode tomar qualquer forma convencional, por exemplo um cigarro, charuto ou cigarrilha. Em particular, o
5 artigo para fumar pode compreender um bastão de material para fumar opcionalmente em um envoltório, com ou sem um filtro. O envoltório pode ser de papel, de folha de tabaco, de tabaco reconstituído ou um substituto do tabaco. Alternativamente, quando, por exemplo, o artigo para fumar se destine a produzir baixas emissões de fumaça secundária, ou mais baixos níveis de
10 produtos de pirólise na fumaça principal, o envoltório pode ser composto de material inorgânico não combustível, tal como um material de cerâmica. O filtro pode ser de qualquer material adequado, por exemplo de acetato de celulose fibrosa, polipropileno ou polietileno, ou de papel.

O material para fumar é preferivelmente o tabaco, mas pode
15 ser um substituto do tabaco, tal como material para fumar não tabaco. Exemplos de materiais para fumar não tabaco são o material vegetal secado e curado, incluindo materiais de frutas, e um material para fumar sintético tal como pode ser produzido de alginatos e uma substância geradora de aerossol, tal como o glicerol. O material para fumar pode também compreender uma
20 mistura de tabaco e materiais para fumar não tabaco. Quando o material para fumar compreender tabaco, o tabaco pode ser de qualquer tipo adequado, ou uma mistura deste, incluindo a lâmina ou haste curadas ao ar, curadas no fogo, curadas no fumeiro, ou lâmina ou haste curadas ao sol, e pode ter sido processado com o uso de qualquer processo apropriado. Por exemplo, o
25 tabaco pode ser cortado, fragmentado, expandido ou reconstituído. O material para fumar pode também incluir aditivos convencionais, tais como melhoradores, colorantes, umectantes (tais como o glicerol e o propileno glicol), cargas inertes (tais como o giz), e aromatizantes (tais como o açúcar, alcaçuz e cacau).

A invenção pode também ser aplicada ao tabaco que se pretenda para consumo oral ou nasal mediante aspiração, mastigação ou ingestão nasal, ao invés do fumo. Tais produtos incluem rapé, tabaco em pó úmido e tabaco de mastigação.

5 O MIP pode ser incorporado no material fumável. Consequentemente, a invenção inclui material para fumar contendo um MIP seletivo para a remoção de pelo menos uma nitrosamina específica para tabaco dos produtos de decomposição térmica do material fumável. Alternativamente, quando o artigo para fumar compreenda um bastão de
10 material fumável em um envoltório, o MIP pode ser incorporado no envoltório. A invenção, portanto, inclui material de envoltório para artigos para fumar, compreendendo um polímero molecularmente impresso seletivo para a remoção de um componente alvo dos produtos de decomposição térmica de um material para fumar. O envoltório pode ser um material à base
15 de celulose, tal como um papel ou um material à base de tabaco, tal como o tabaco reconstituído.

Os artigos para fumar preferidos da invenção são os cigarros, compreendendo um bastão de tabaco, envoltório, e um filtro incluindo um MIP seletivo para a remoção de pelo menos uma nitrosamina específica para
20 tabaco dos produtos de decomposição térmica de um material fumável.

A invenção também inclui um filtro para fumar compreendendo um MIP seletivo para a remoção de pelo menos uma nitrosamina específica para tabaco dos produtos de decomposição térmica de um material para fumar. O filtro para fumar pode ser produzido
25 separadamente do artigo para fumar, por exemplo na forma de uma piteira de cigarros ou de charuto, ou ele pode ser integrado no artigo para fumar, por exemplo na forma de um cigarro com uma ponta de filtro.

Os filtros para fumar na forma de pontas de filtro podem ser de qualquer construção convencional. Por exemplo, um filtro do tipo “dálmata”

compreendendo uma seção de material de filtro fibroso, tal como o acetato de celulose, o MIP estando na forma particulada e distribuído na totalidade da seção. Alternativamente o filtro pode ser na forma de um filtro do tipo de “cavidade”, compreendendo seções múltiplas em que o MIP possa situar-se entre duas seções adjacentes do material de filtro fibroso. O filtro para fumar pode também compreender outros materiais adsorventes tais como a resina de troca de íons, um zeólito, sílica, alumina ou amberita.

Em uso, a fumaça passa através do filtro, o MIP seletivamente adsorve e retém os compostos alvos da fumaça, e a fumaça filtrada é liberada para o fumante.

Os filtros do fumo e os artigos para fumantes de acordo com a invenção podem incluir meios para proteger o MIP contra o fumo ou reduzir sua exposição ao fumo quando em uso. Isto pode ser obtido em vários meios diferentes. Por exemplo, o filtro do fumo pode compreender um elemento de filtro para adsorver materiais do vapor ou da fase particulada do fumo. Tais elementos de filtro podem compreender um adsorvente geral tal como carvão ativado, o qual pode estar em qualquer forma conveniente, tal como filamentos, partículas, grânulos, pano ou papel. O elemento de filtro pode também ser um adsorvente seletivo tal como uma resina de troca de íons, um zeólito, sílica, alumina ou amberita. O meio para proteger o MIP pode incluir dois ou mais de tais elementos de filtro de diferentes composições, por exemplo um primeiro elemento de filtro de acetato de celulose, e um segundo elemento de filtro de carvão ativado. O fornecimento de múltiplos elementos de filtro nos filtros para fumar e os artigos de fumantes é bem conhecido, e qualquer configuração convencional do filtro, e métodos associados de construção, podem ser usados.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A Figura 1 mostra uma delineação do procedimento para a síntese de um polímero impresso;

A Figura 2 mostra nitrosaminas específicas para tabaco;

A Figura 3 mostra análogos isoestéricos de nitrosaminas;

A Figura 4A mostra exemplos de análogos alvo à base de amida e de sulfonamida;

5 A Figura 4B mostra um análogo alvo de enamina (MPAPB) usado como um padrão para preparar um MIP para extração de NNAL;

A Figura 5 mostra a estrutura química do metacrilato de 2-hidroxietila.

10 A Figura 6 mostra a estrutura química do dimetacrilato de etileno glicol;

A Figura 7 mostra os resultados da extração de N-nitrosopiperidina e nicotina em que o padrão 1 é formamida, o padrão 2 é enamina, e o padrão 3 é sulfonamida;

15 A Figura 8 mostra o percentual de TSNA e nicotina extraídas da solução aquosa;

A Figura 9 mostra o percentual de TSNA liberado após uma lavagem com água;

A Figura 10 mostra o percentual das TSNA e nicotina extraídas da solução aquosa;

20 A Figura 11 mostra o percentual das TSNA liberadas após uma lavagem com água;

A Figura 12 mostra o percentual de nicotina não retida após cinco cargas separadas de amostras;

25 A Figura 13 mostra o percentual de NNN não retido após cinco cargas separadas de amostras;

A Figura 14 mostra o percentual de NNK não retido após cinco cargas separadas de amostras;

A Figura 15 mostra o percentual de NAT não retido após cinco cargas separadas de amostras;

A Figura 16 mostra o percentual de NAB não retido após cinco cargas separadas de amostras;

A Figura 17 é uma elevação lateral, seção transversal parcialmente longitudinal e vista afastada parcialmente quebrada de um artigo de fumante com um filtro para fumar de acordo com a invenção; e

A Figura 18 é uma vista similar à da Figura 17, de um artigo de fumante com um filtro para fumar alternativo de acordo com a invenção.

Nos desenhos, os aspectos semelhantes são dados como numerais de referência.

10 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A impressão molecular tipicamente consiste das seguintes etapas: (1) um composto padrão, que pode ser a molécula alvo ou um seu análogo estrutural, é deixado interagir com um monômero ou monômeros funcionais selecionados, em solução, para formar um complexo monomérico padrão; (2) o complexo monomérico padrão é copolimerizado com um monômero reticulador resultando em uma matriz polimérica incorporando o composto padrão; (3) o composto padrão é extraído da matriz polimérica para formar um MIP, que pode ser usado para ligação seletiva da molécula alvo.

Antes da etapa (3), quando o MIP é preparado como um polímero sólido (ou monólito), ele é tipicamente moído e peneirado para se obter uma fração de tamanho desejado de material particulado. Quando preparado por métodos de polimerização ou em suspensão ou em emulsão, tais moagem e peneiramento são desnecessário tendo em vista que o tamanho de partícula pode ser controlado dentro dos limites desejados durante o processo de polimerização. O material particulado preparado por qualquer dos métodos acima mencionados pode ser adensado em uma coluna cromatográfica ou de extração de fase sólida e usado para separação cromatográfica do padrão dos outros componentes de uma mistura, incluindo moléculas com estruturas ou funcionalidades semelhantes.

Os sítios reativos sobre o polímero molecularmente impresso expostos pela remoção do composto padrão, serão, em uma configuração estereoquímica, apropriados para reação com moléculas recentes da molécula alvo. Como um resultado, o polímero molecularmente impresso pode ser usado para ligação seletiva da molécula alvo.

A via ‘não covalente’ foi amplamente usada para gerar sítios de ligação molecularmente impressos. Isto faz uso da automontagem não covalente do composto padrão e monômeros funcionais para formar o complexo de monômero padrão, seguido pela polimerização de radicais livres na presença de um monômero de reticulação e, finalmente, a extração do composto padrão. A impressão covalente, na qual a molécula padrão e um monômero ou monômeros adequados sejam covalentemente ligados entre antes da polimerização, pode também ser realizada de acordo com métodos conhecidos. As propriedades de ligação dos MIPs formados por qualquer dos métodos acima, podem ser examinadas pela religação da molécula padrão.

A polimerização é realizada na presença de um solvente formador de poros, um porogênio. De modo a estabilizar as interações eletrostáticas entre os monômeros funcionais e o composto padrão, o porogênio é frequentemente escolhido dentre solventes apróticos de polaridade baixa a moderada. Os compostos padrão frequentemente apresentam solubilidade moderada a elevada nos meios de polimerização e estes, ou seus análogos estruturais, podem, portanto, ser utilizados diretamente neste procedimento padrão.

Embora seja possível usar a própria molécula alvo como o padrão, um análogo estrutural da molécula alvo é comumente preferido, porque: (a) a molécula alvo pode ser instável sob as condições de polimerização ou pode inibir a polimerização; (b) a molécula alvo pode não estar disponível em quantidades suficientes por causa da complexidade de sua síntese ou do custo, ou de ambos; (c) o padrão pode ser insolúvel ou

fracamente solúvel na mistura de pré-polimerização; (d) o MIP pode permanecer contaminado por baixos níveis da molécula alvo retida nas regiões fracamente acessíveis da matriz polimérica, a qual pode sangrar do MIP durante o uso; e/ou (e) o(s) analito(s) alvo(s) pode(m) apresentar um

5 risco significativo à saúde e não deve(m) ser usado(s) como padrão(ões). No caso dos compostos de nitroso, particularmente os compostos conhecidos como TSNA's descritos abaixo, é frequentemente mais conveniente usar seus análogos funcionais como compostos padrão. Por exemplo, a sulfonamida, a enamina ou a amida, por exemplo a formamida, os derivados dos TSNA's,

10 podem ser compostos padrão; ver a Figura 2 quanto aos exemplos destes.

Quando o MIP é derivado com o uso de um análogo funcional do composto alvo, o análogo funcional deve ser isoestérico e, preferivelmente, também isoeletrônico com o composto alvo, ou ele pode conter uma subestrutura do composto alvo em que fortes interações podem ser

15 prováveis.

Como aqui usado, um "análogo estrutural" de uma molécula não é idêntico à molécula original, mas é, em parte ou no todo, semelhante a parte ou a toda a molécula original em termos de conformação molecular, distribuição de elétrons ou outras características.

20 Os compostos contendo nitroso, particularmente as nitrosaminas, que têm a fórmula geral $O=N-N(R_1)(R_2)$ acham-se entre os numerosos ingredientes do tabaco e do fumo de tabaco que têm sido sugeridos como tendo efeito nocivo sobre os consumidores. De interesse para a presente invenção é o grupo de nitrosaminas que ocorrem naturalmente no tabaco, as

25 TSNA's, ver Figura 2.

Análogos isoestéricos possíveis objetivando as nitrosaminas são observados na Figura 3. As moléculas mostradas são todas derivados da amina precursora e podem ser sintetizadas em uma etapa única da amina secundária e do aldeído correspondente ou do cloreto de ácido. Os modelos

moleculares da enamina (Figura 4B) apresentaram uma boa complementaridade estérica com NNAL.

Os MIPs descritos na WO 05/112670 apresentam resultados promissores quando usados para análise e extração de numerosos metabólitos de nicotina das soluções analíticas, dos fluidos corporais e dos materiais de tabaco. Entretanto, como as TSNA's apresentam um campo específico e estreito de interesse, a pesquisa de acordo com os novos meios para recuperar estes compostos dos vários materiais está progredindo. A esse respeito, a formação dos MIPs com o uso dos novos materiais e métodos tem sido avaliada.

O projeto dos novos MIPs iniciou com a escolha de um padrão adequado. Como observado acima, o padrão comunica seletividade ao polímero e deve, de forma ideal, ser quimicamente estável, prontamente disponível, fácil de se manipular, e comunica propriedades de ligação seletiva. Como um objetivo da invenção é reduzir a exposição do ser humano às nitrosaminas, elas não foram padrões potenciais. Ao invés, as formamidas, as enaminas e as sulfonamidas (ver Figura 2) puderam ser usadas para substituir o grupo nitroso, dadas suas geometria e posse de uma carga negativa parcial na mesma posição.

O monômero, o reticulador e as condições de polimerização (por exemplo, o solvente ou o porogênio, o iniciador e a temperatura) também influenciam as propriedades do MIP final. Os monômeros avaliados foram o MAA ácido, bem como o monômero neutro 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA); ver a Figura 5. O reticulador, que eventualmente compõe a massa do polímero, também influencia se o polímero for hidrofílico ou hidrofóbico. Assim sendo, o reticulador hidrofílico PETRA e o hidrofóbico EDMA foram avaliados; ver a Figura 6. Para a polimerização, tanto a iniciação térmica quanto a fotoquímica foram avaliadas. As experiências iniciais indicaram que os MIPs hidrofóbicos neutros impressos com uma enamina ou sulfonamida e

preparados com o uso da polimerização UV, apresentaram resultados surpreendentes. A análise de acompanhamento foi conduzida, a qual incluiu um MIP ácido e um hidrofílico para comparação. Os resultados são resumidos abaixo.

5 Como explicação e não como limitação, a invenção será ainda descrita, em mais detalhes, com referência a vários exemplos. A invenção refere-se às moléculas padrão, aos materiais poliméricos projetados para ligar as TSNA's presentes nos sistemas orgânicos ou aquosos, e finalmente o uso dos referidos materiais, por exemplo, nas separações analíticas ou
10 preparativas em cromatografia, para pré-tratamento analítico das amostras, e nos sensores químicos. A menos que de outra forma descrito, os materiais são comercialmente disponíveis ou podem ser preparados por técnicas convencionais.

EXEMPLO 1

15 PREPARAÇÃO DOS MIPs PARA AVALIAÇÃO

Doze diferentes MIPs foram preparados, os quais representavam todas as possíveis combinações de três padrões (formamida, enamina e sulfonamida), dois monômeros (ácido e neutro), e dois reticuladores (hidrofílico e hidrofóbico). Com o uso de uma mistura a 1:1 de
20 N-nitrosopiperidina e (-)-nicotina em água, os MIPs foram avaliados. Polímeros de referência não impressos foram também gerados e avaliados sob condições semelhantes. Os resultados são resumidos na Figura 7. Exemplos da preparação dos padrões de enamina e piridina carbinol, bem como outra descrição dos métodos que podem ser usados para os fins da presente
25 invenção, podem ser encontrados na WO 05/112670.

Como é evidente da Figura 7, os MIPs com o uso dos monômeros ácidos, ligam grandes quantidades de nicotina. Para as aplicações em que as TSNA's devam ser separadas enquanto os níveis de nicotina devam permanecer não afetados, então, um tal monômero é menos

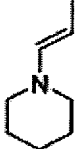
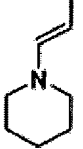
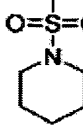
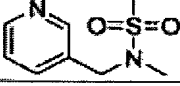
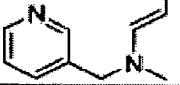
preferido. Além disso, é evidente que os MIPs com um reticulador hidrofóbico são melhores em ligar a nitrosamina do que os MIPs hidrofílicos.

EXEMPLO 2

PREPARAÇÃO DOS MIPs PARA COMPARAÇÃO ANALÍTICA

5 Em vista do desempenho surpreendentemente positivo dos MIPs hidrofóbicos neutros, como resumido na Figura 7, os MIPs hidrofóbicos neutros impressos com padrões de enamina ou de sulfonamida, e polimerizados com o uso de UV, foram selecionados para outra análise. Para
10 comparação, o MIP hidrofílico de melhor desempenho foi também incluído na amostra. Sete MIPs foram preparados com o uso dos parâmetros resumidos na Tabela 1.

TABELA 1

Nome	Padrão	Monômero	Reticulador
MIP 1		HEMA	EDMA
MIP 2		PETRA	PETRA
MIP 3		HEMA	EDMA
MIP 4	análogo de NNAL	HEMA	EDMA
MIP 5	análogo de NNAL	HEMA	EDMA
MIP 6		HEMA	EDMA
MIP 7		HEMA	EDMA

EXEMPLO 3

AValiação DOS MIPs SELECIONADOS COM MISTURAS DE TSNA/

15 NICOTINA

As colunas de SPE foram preparadas, cada uma contendo 25 mg dos MIPs 1 a 7. A cada coluna, foi adicionado 1 ml de solução aquosa contendo 0,30 µg/ml total de TSNA e 0,2 µg/ml de nicotina. A HPLC foi usada para se determinar a quantidade de TSNA que não havia sido extraída em cada coluna, levando-se em conta o cálculo do material extraído; ver a Figura 8. 1 ml de água foi então passado através de cada coluna, e a quantidade de TSNA liberada, caso tenha havido, foi determinada; ver a Figura 9. Cada uma das Figuras 8 e 9 representa a média de duas experiências.

Com base no forte desempenho dos MIPs neutros, hidrofóbicos, a avaliação quanto aos MIPs 1 e 3 a 7 foi repetida com o uso de 1 ml da solução de teste contendo 0,30 µg/ml total de TSNA e 4 µg/ml de nicotina em tampão de fosfato de pH 6,3 (intensidade iônica de 0,09). Os resultados são apresentados nas Figuras 10 e 11, em que ambas representam uma média de duas experiências. Como pode ser observado, os MIPs 1, 3 e 4 se desempenharam melhor por terem retido 100 % da TSNA, enquanto deixaram passar a maior parte da nicotina não sobrecarregada.

O desempenho dos MIPs 1, 3 e 4 foi também avaliado em pH 5,3 e 7,3. À medida em que o pH aumentava, a retenção da nicotina aumentava de aproximadamente 10 % a 30 %, indicando que quando a nicotina não deve ser afetada, o desempenho ótimo é alcançado com o uso de pH levemente ácido. Um MIP ácido formado com o uso do MMA de monômero ácido e o reticulador hidrofóbico EDMA, foi também avaliado com o uso das mesmas condições em pH 6,3, e reteve cerca de 90 % da nicotina.

A regeneração dos MIPs foi realizada com o uso de um TFA a 0,5 % em lavagem de MeOH. Outras misturas de ácido/álcool podem ser usadas também.

EXEMPLO 4

AValiação DOS MIPs SELETOS COM TSNA_s ESPECÍFICOS E NICOTINA

Após encontrar o desempenho surpreendentemente positivo dos MIPs 1, 3 e 4 nas experiências acima descritas, uma outra avaliação foi conduzida, as colunas de SPE foram preparadas com 25 mg de MIP moído, e cinco cargas de solução de teste em 1 ml cada foram carregadas nas colunas. A solução de teste foi de cerca de 80 ng/ml cada de NNN, NNK, NAT, 40 ng/ml de NAS e 4 µg/ml de nicotina, em tampão de fosfato, pH 6,3 (intensidade iônica de 0,09). Após a carga de cada amostra, a quantidade de nicotina não retida e de cada TSNA foi determinada com o uso de HPLC. Um polímero não impresso de controle foi também avaliado. Os resultados são apresentados nas Figuras 12 a 16. Como observado nas figuras, cerca de 10 % da nicotina é ligada pelos MIPs na primeira etapa de carga. Isto satura o MIP com nicotina e a adição de mais amostra na coluna não resulta em uma outra retenção significativa de nicotina, a NNN é mais fracamente ligada ao MIP e a decomposição é observada na segunda etapa de carga. Cada um dos MIPs 1, 3 e 4 é excelente em reter a NNK, NAB e NAT. Assim, a combinação de monômero funcional neutro, padrão de enamina ou sulfonamida, com o reticulador hidrofóbico, resulta em uma retenção surpreendentemente elevada da TSNA de uma amostra mista, enquanto retém apenas uma quantidade mínima de nicotina.

Tais MIPs são particularmente atrativos para aplicações em que as TSNA_s devam ser removidas de uma amostra, porém a nicotina não deva ser afetada, tal como o tratamento do tabaco ou do fumo de tabaco par remover as TSNA_s. Além disso, tais MIPs podem ser utilizados em uma capacidade analítica para medir a quantidade de TSNA em uma amostra de um produto ou de uma amostra de um paciente. Em tais casos, se a nicotina for um componente de interesse, a quantidade de nicotina retida pelo MIP pode ser quantificada, e outros métodos, por exemplo, os MIPs específicos da

nicotina, podem ser usados para quantificar a quantidade remanescente de nicotina na amostra. A outra etapa de avaliar os níveis de nicotina podem ser feita antes ou subsequente ao uso dos MIPs específicos da TSNA da presente invenção.

5 EXEMPLO 5

USO DE UM MIP DA INVENÇÃO NO TRATAMENTO DOS EXTRATOS DE TABACO

O polímero produzido de acordo com os parâmetros descritos acima pode ser incorporado em uma coluna de SPE, e a coluna pode ser
 10 condicionada quando necessário. Os monômeros funcionais neutros usados no polímero podem ser, por exemplo, HEMA, acrilamida, metacrilamida, N-metacrilamida, monoacrilato de glicerol, monometacrilato de glicerol ou 2-(4-vinilfenil)-1,3-propanodiol. Reticuladores hidrofóbicos podem ser, por exemplo, EDMA, TRIM, DVB, m-diisopropenilbenzeno, dimetacrilato de
 15 tetrametileno glicol, tetracrilato de pentaeritritol, N,N'-metilenobisacrilamida, N,N'-etilenobisacrilamida, N,N'-butilenobisacrilamida, N,N'-hexametilenobis acrilamida. Outros materiais aplicáveis são conhecidos. Ver, por exemplo, Molecularly Imprinted Material: Science and Technology, Yan, M; Ramström, O.; Editores, Marcel Dekker, New York, 2005.

20 Folhas de tabaco cortadas ou desfibradas podem ser extraídas com água por 15 a 25 minutos em 60 °C. O tabaco é separado da solução por filtração e secado. A solução é passada através da coluna de SPE e a TSNA é absorvida do extrato. A coluna é então drenada e a solução é concentrada por evaporação de película, o concentrado é então re combinado com o tabaco
 25 extraído e secado ao ar. O desempenho do MIP pode ser avaliado eluindo-se os compostos ligados do MIP com o uso de 2 x 1 ml de metanol contendo 0,5 % de TFA e o extrato é analisado com o uso de HPLC-UV.

EXEMPLO 6

USO DE UM MIP DA INVENÇÃO NO TRATAMENTO DOS EXTRATOS

DE TABACO

Com o uso de um processo contínuo de extração, a folha de tabaco desfibrada do tipo Mistura US é carregado em uma primeira câmara de extração na qual o dióxido de carbono supercrítico é alimentado. Após o
5 contato do tabaco, o dióxido de carbono é alimentado em uma segunda câmara de extração contendo um MIP de acordo com a invenção. Tendo entrado em contato com o polímero, o dióxido de carbono é retornado à primeira câmara de extração e entra em contato novamente com o tabaco. O processo cíclico continua até que o conteúdo de TSNA do tabaco tenha sido
10 reduzido a um nível desejado, depois do que o dióxido de carbono é ventilado do sistema, e o tabaco é removido da primeira câmara. O MIP na segunda câmara é então regenerado para reutilização.

EXEMPLO 7

USO DE UM MIP DA INVENÇÃO PARA ANÁLISE DE AMOSTRAS

15 Uma coluna de SPE é preparada pela adição de 25 mg de MIP de acordo com a invenção. Uma amostra de teste é adicionada à coluna, por exemplo 5 ml de urina humana potencialmente contendo TSNAs. A amostra é deixada passar através da coluna, que deve então ser submetida a vácuo para remover todo o líquido e garantir que o material de MIP esteja seco. Uma
20 lavagem pode ser conduzida para remover quaisquer compostos que venham a interferir e que possam ser não especificamente associados com o MIP, por exemplo 1 ml de água destilada. Após a secagem, as TSNAs podem ser recuperadas do MIP com o uso, por exemplo, de 1 ml de DCM, e quantificadas com o uso de HPLC.

EXEMPLO 8

USO DE UM MIP DA INVENÇÃO EM ARTIGOS PARA FUMAR

Com referência aos desenhos, as Figuras 17 e 18 ilustram artigos para fumar na forma de cigarros tendo um bastão 1 do tabaco envolvido em um envoltório 2 ligado a um filtro para fumar 3 por meio de um

papel de extremidade 4. Para clareza, o papel de extremidade 4 é mostrado separado do envoltório 2, mas na prática ele permanece em contato íntimo.

Na Figura 17, o filtro para fumar 3 compreende três elementos de filtro cilíndricos 3a, 3b e 3c. O primeiro elemento de filtro 3a na
5 extremidade que se leva à boca tem 7 mm de comprimento, é composto de fibra bruta de acetato de celulose impregnada com 7 % em peso de plastificante de triacetina tendo uma queda de pressão calibrada de água de 25 mm estendida em seu comprimento. O segundo elemento de filtro 3b, posicionado centralmente, é uma cavidade de 5 mm de comprimento
10 contendo 150 mg de grânulos de carvão ativado. O terceiro elemento de filtro 3c adjacente ao bastão 1 tem 15 mm de comprimento, tem uma pressão calibrada de água de 90 mm estendida em seu comprimento, e compreende 80 mg de fibra bruta de acetato de celulose. A fibra bruta é impregnada com 4 % em peso de triacetina e tem 80 mg de MIP específico para as TSNAs, como
15 aqui descrito, distribuídos igualmente na totalidade do seu volume em um estilo “Dálmata”.

O cigarro mostrado na Figura 18 é semelhante àquele da Figura 17, exceto que o filtro para fumar 3 tem quatro elementos de filtro cilíndricos coaxiais 3a, 3b, 3c e 3d. O primeiro elemento de filtro 3a na
20 extremidade da boca do cigarro tem 5 mm de comprimento, e é composto de fibra bruta de acetato de celulose impregnada com 7 % em peso de plastificante de triacetina. O segundo elemento de filtro 3b, posicionado adjacente ao primeiro elemento de filtro 3a, é uma cavidade de 5 mm de comprimento contendo 200 mg de MIP específico para as TSNAs, produzido
25 como descrito neste relatório descritivo. O terceiro elemento de filtro 3c adjacente ao segundo elemento de filtro 3b tem 10 mm de comprimento e compreende fibra bruta de acetato de celulose impregnada com 7 % em peso de triacetina. O quarto elemento de filtro 3d situa-se entre o terceiro elemento de filtro 3c, tem 7 mm de comprimento e compreende 80 mg de carvão

ativado granular. Um anel de orifícios de ventilação 5 é formado no papel 4 da extremidade em um plano radial A-A que libera ar dentro do terceiro elemento de filtro 3c a cerca de 3 mm a jusante da junção com o quarto elemento 3d de filtro 5 quando o fumo é inalado através do cigarro.

5 A exposição acima citada foi apresentada meramente para ilustrar a invenção e não se pretende seja limitativa. Tendo em vista que modificações das formas de realização apresentadas incorporando o espírito e a substância da invenção, podem ocorrer às pessoas habilitadas na técnica, a invenção deve ser interpretada de modo a incluir tudo dentro do escopo das
10 reivindicações anexas e seus equivalentes.

REIVINDICAÇÕES

1. Polímero molecularmente impresso, caracterizado pelo fato de ser seletivo para pelo menos uma nitrosamina específica para tabaco, em que dito polímero molecularmente impresso foi preparado usando um gabarito de nitrosamina específica para tabaco ou um análogo isoestérico do mesmo.

2. Polímero molecularmente impresso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que dita pelo menos uma nitrosamina é derivada de nicotina, nornicotina, anabasina ou anatabina.

3. Polímero molecularmente impresso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polímero foi preparado usando um análogo isoestérico de uma nitrosamina de nicotina como um gabarito.

4. Polímero molecularmente impresso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polímero foi preparado usando 4-(metilpropenil-amino)-1-piridin-3-il-butan-1-ol como um gabarito.

5. Polímero molecularmente impresso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polímero foi preparado usando piridina carbinol como um gabarito.

6. Polímero molecularmente impresso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o polímero foi preparado usando um composto que inclui uma subestrutura da nitrosamina específica para tabaco.

7. Kit, caracterizado pelo fato de que compreende:
um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6; e

instruções para o uso do polímero molecularmente impresso para realizar pelo menos um dentre detectar, quantificar e separar nitrosaminas em uma amostra.

8. Método para preparar um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que compreende:

- 5 copolimerizar pelo menos um monômero funcional e pelo menos um reticulador na presença do pelo menos um gabarito de nitrosamina específica para tabaco ou um análogo isoestérico do mesmo em um meio de polimerização contendo pelo menos um iniciador de radical livre para produzir um polímero molecularmente impresso ligado a um gabarito de nitrosamina específica para tabaco ou um análogo isoestérico do mesmo; e
- 10 remover dito gabarito ou análogo isoestérico do mesmo do polímero molecularmente impresso.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o monômero funcional exibe uma funcionalidade ácida.

10. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o monômero funcional é selecionado do grupo consistindo de ácido metacrílico (MAA), TFMAA, ácido vinilbenzóico, e ácido itacônico.

11. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o reticulador é selecionado do grupo consistindo de dimetacrilato de etileno glicol (EDMA), trimetacrilato de trimetilolpropano (TRIM), e tetra-acrilato de pentaeritritol.

12. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o análogo estrutural é selecionado do grupo consistindo de 4-(metilpropenil-amino)-1-piridin-3-il-butan-1-ol (4MPAPB) e piridina carbinol.

13. Método para preparar um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que compreende:

co-polimerizar uma mistura de polimerização e pelo menos um gabarito de nitrosamina específica para tabaco ou um análogo isoestérico do

mesmo em um meio de reação homogêneo; e

recuperar partículas suspensas do meio de reação.

14. Método para preparar um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo fato de que compreende:

co-polimerizar uma mistura de polimerização e pelo menos um gabarito de nitrosamina específica para tabaco ou um análogo isoestérico do mesmo em um meio de reação heterogêneo; e

recuperar material polimerizado do meio de reação heterogêneo.

15. Método para determinar se um produto de tabaco contém nitrosaminas, caracterizado pelo fato de que compreende:

reagir o gabarito com um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, sob condições que iriam permitir ligação de nitrosaminas presentes no gabarito ao polímero molecularmente impresso; e

avaliar se o polímero molecularmente impresso se ligou a quaisquer nitrosaminas, em que uma avaliação resultando na observação de polímero molecularmente impresso ligado à nitrosaminas indica que a amostra contém nitrosaminas.

16. Método para quantificar a quantidade de nitrosaminas em um produto de tabaco, caracterizado pelo fato de que compreende:

reagir a amostra com um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, sob condições que iriam permitir ligação de nitrosaminas presentes na amostra ao polímero molecularmente impresso; e

medir a quantidade de nitrosaminas ligadas ao polímero molecularmente impresso.

17. Método para tratar um produto de tabaco para reduzir o

nível de um componente alvo no mesmo, caracterizado pelo fato de que compreende tratar o produto de tabaco com um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.

5 18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o produto de tabaco é produzido pela decomposição térmica de um material contendo tabaco, um substituto do tabaco ou uma mistura destes.

10 19. Método de acordo com a reivindicação 18, caracterizado pelo fato de que o produto de tabaco é produzido pelo aquecimento do material a uma temperatura abaixo da sua temperatura de combustão.

20. Método de acordo com a reivindicação 18 ou 19, caracterizado pelo fato de que o produto de tabaco é produzido pela combustão do material.

15 21. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o produto de tabaco é produzido pelo contato de um material contendo tabaco, um substituto do tabaco ou uma mistura destes com um solvente.

22. Método para fabricar um material de tabaco, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

20 extrair um material contendo tabaco, substituto do tabaco ou uma mistura destes com um solvente;

colocar em contato o extrato com um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, de modo a reduzir o seu nível no extrato; e

25 combinar o extrato tratado com o material de tabaco extraído.

23. Artigo para fumar, caracterizado pelo fato de que compreende:

um material para fumar; e

um polímero molecularmente impresso como definido em

qualquer uma das reivindicações 1 a 6, encontrado nos produtos de decomposição térmica do material para fumar.

24. Artigo para fumar de acordo com a reivindicação 23, caracterizado pelo fato de que o polímero molecularmente impresso é seletivo para pelo menos uma nitrosamina volátil encontrada na fase vapor dos produtos de decomposição térmica do material para fumar.

25. Filtro para fumar, caracterizado pelo fato de que compreende um polímero molecularmente impresso como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6.

26. Filtro para fumar de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que o polímero molecularmente impresso é seletivo para pelo menos uma nitrosamina volátil encontrada na fase vapor dos produtos de decomposição térmica do tabaco ou um substituto de tabaco.

Figura 1

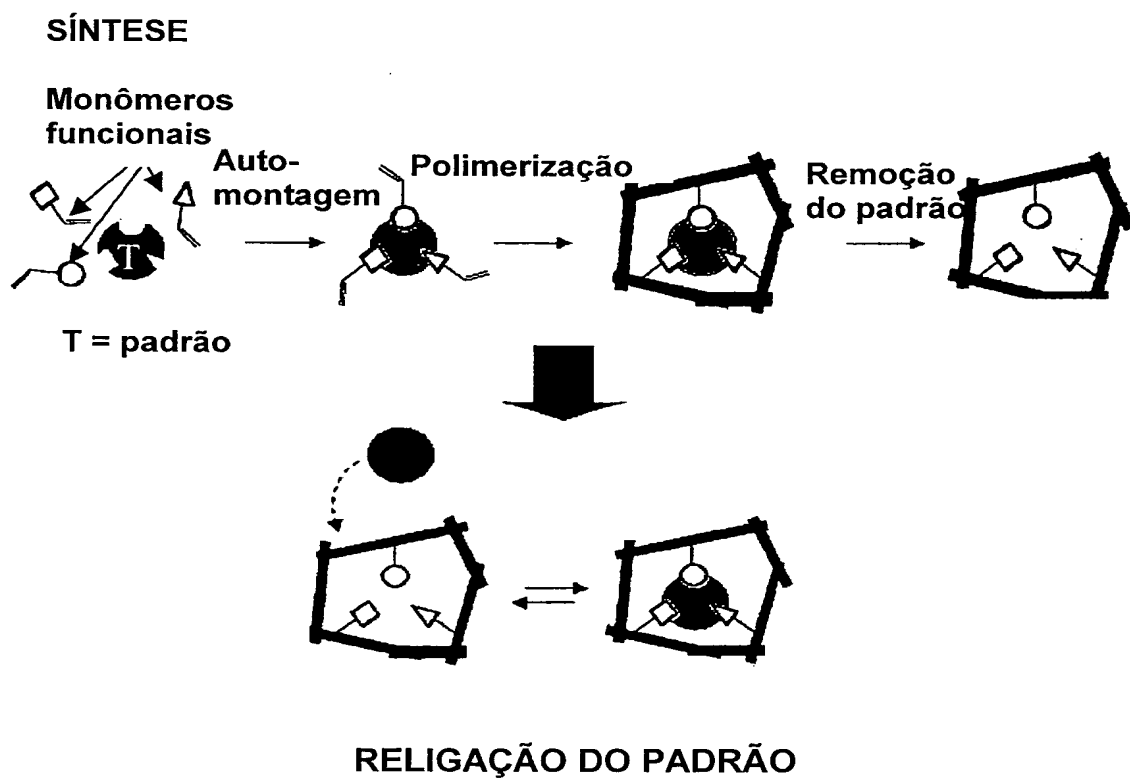


Figura 2

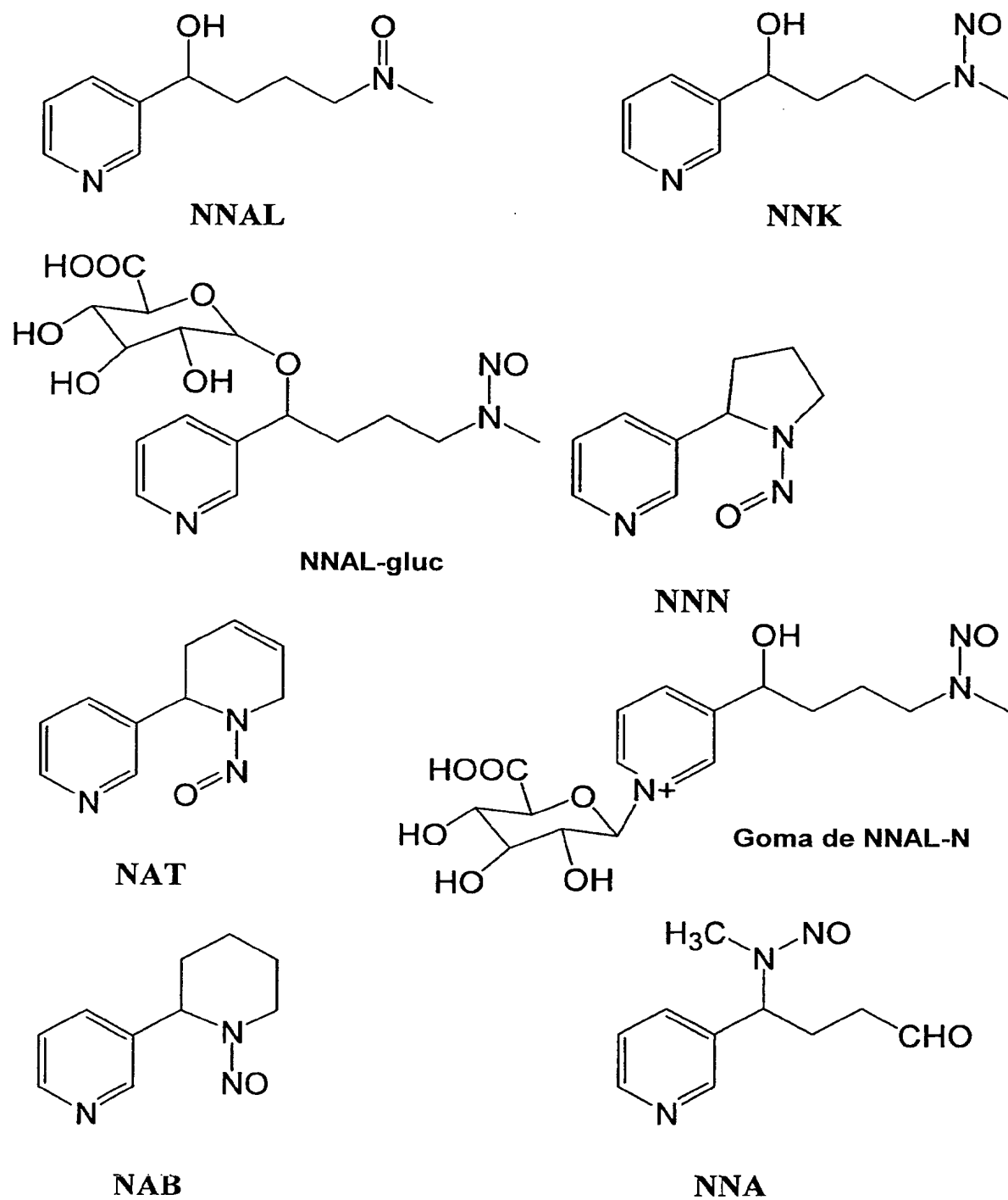


Figura 3

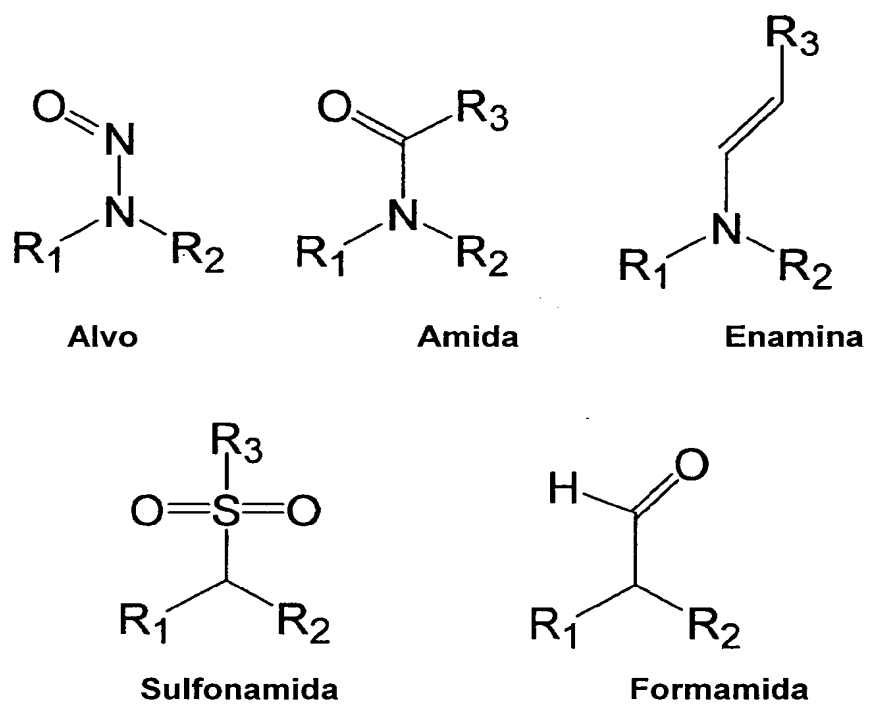


Figura 4

Figura 4a

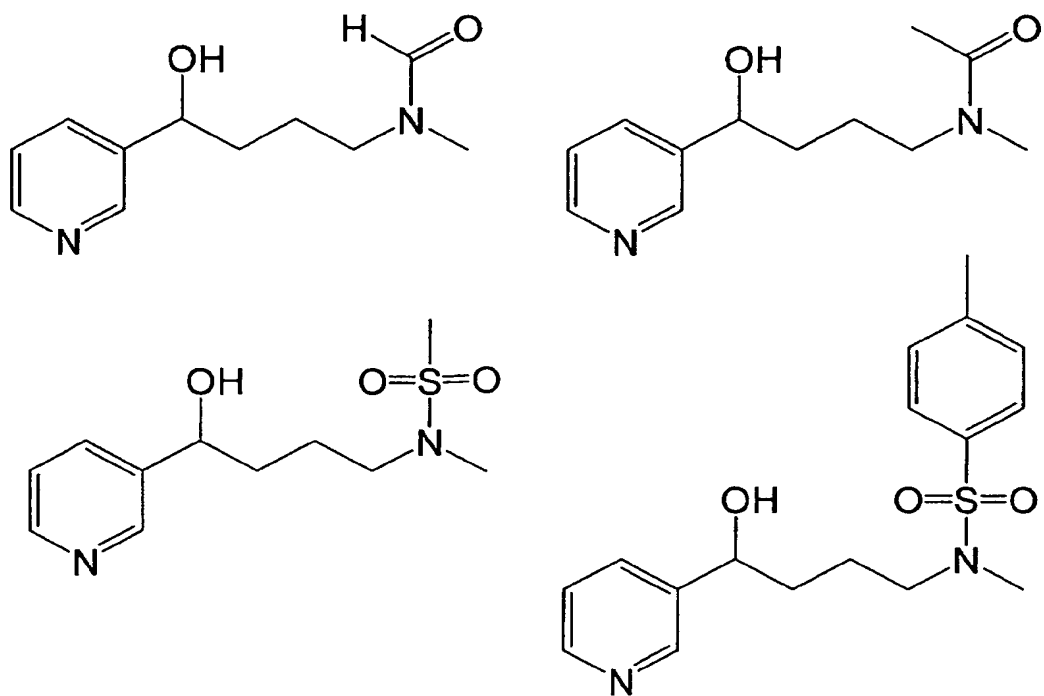


Figura 4b

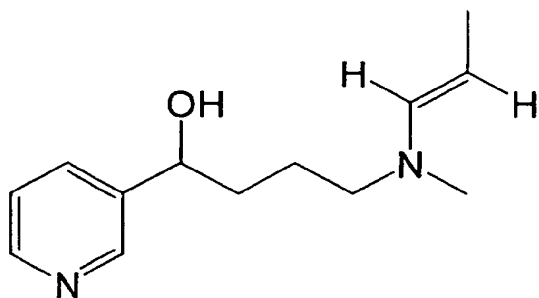
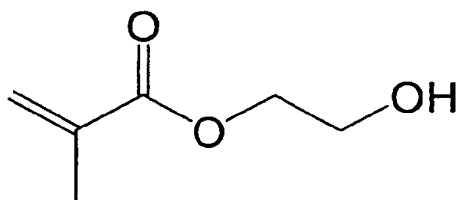
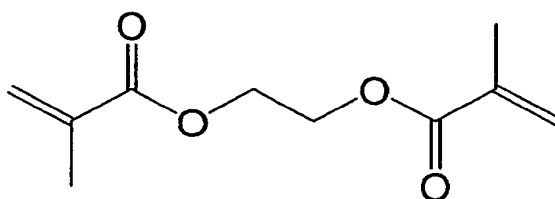


Figura 5



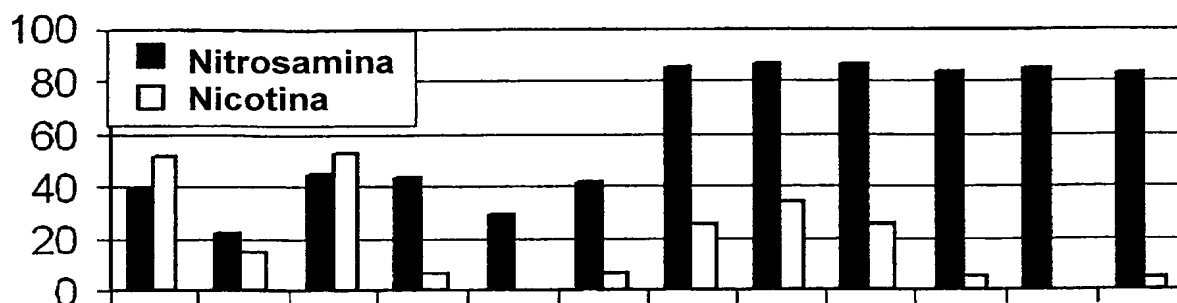
Metacrilato de 2-hidróxi (HEMA)
(HEMA)

Figura 6

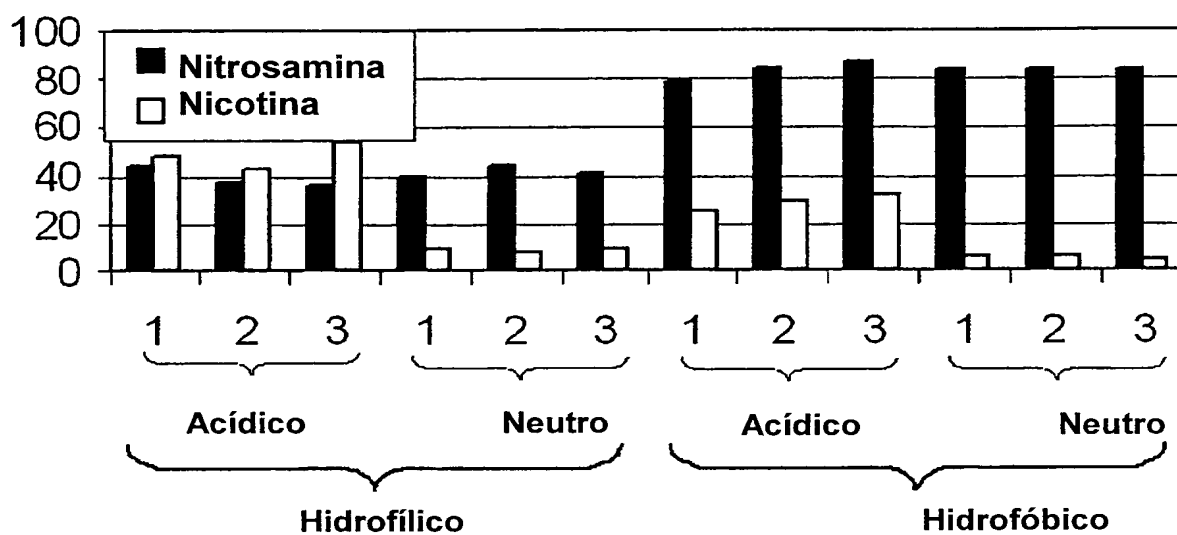


Dimetacrilato de etileno glicol
(EDMA)

Figura 7



Polímero de referência não impresso



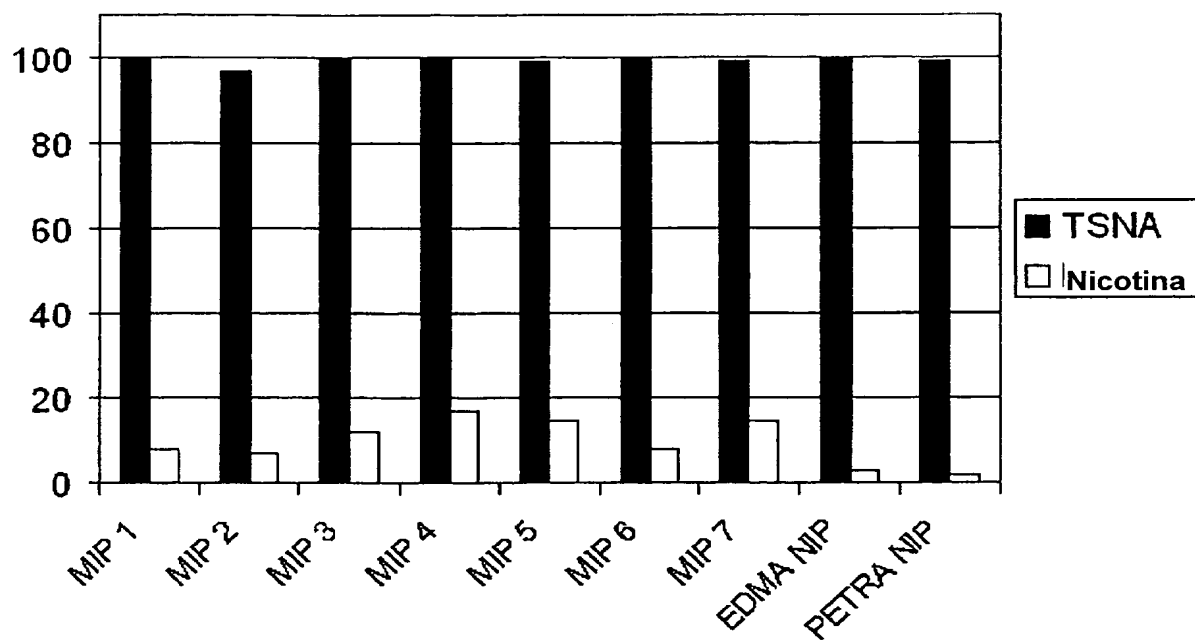


Figura 8

Figura 9

Figura 9

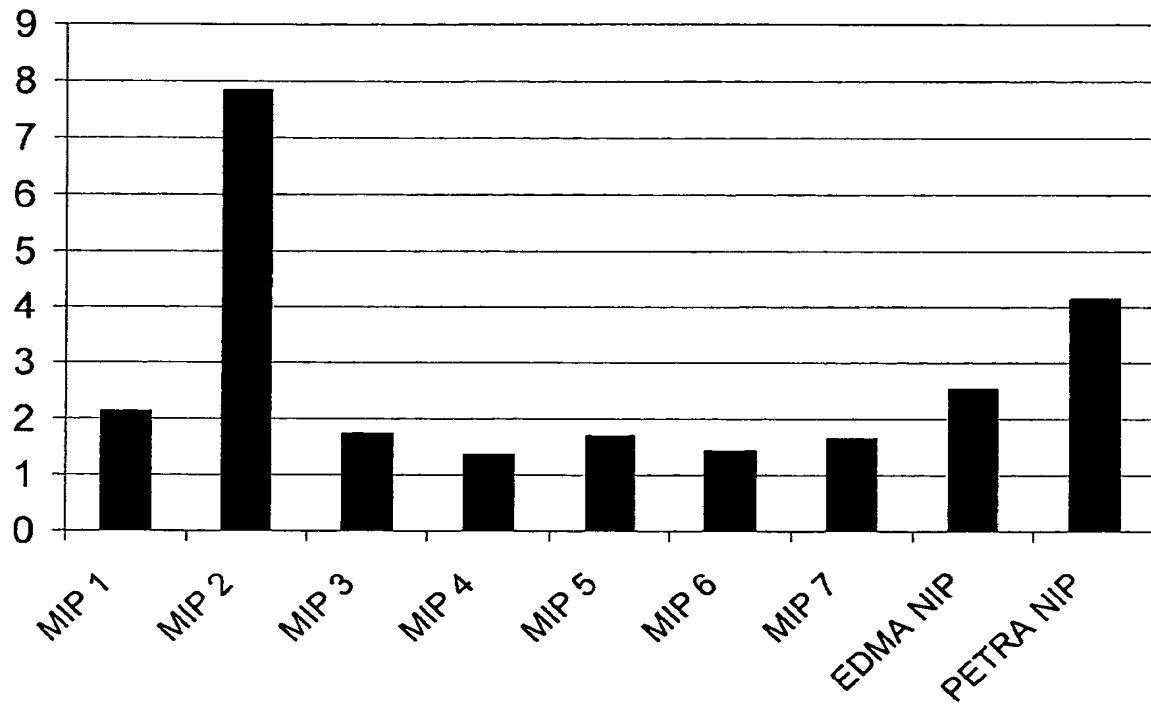


Figura 10

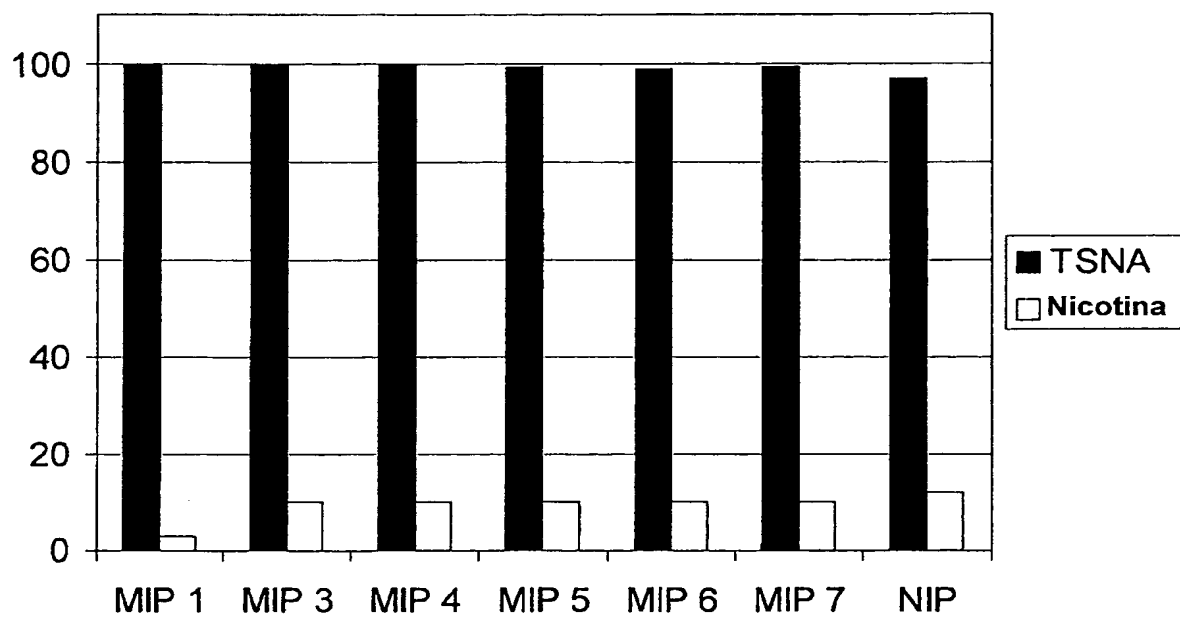


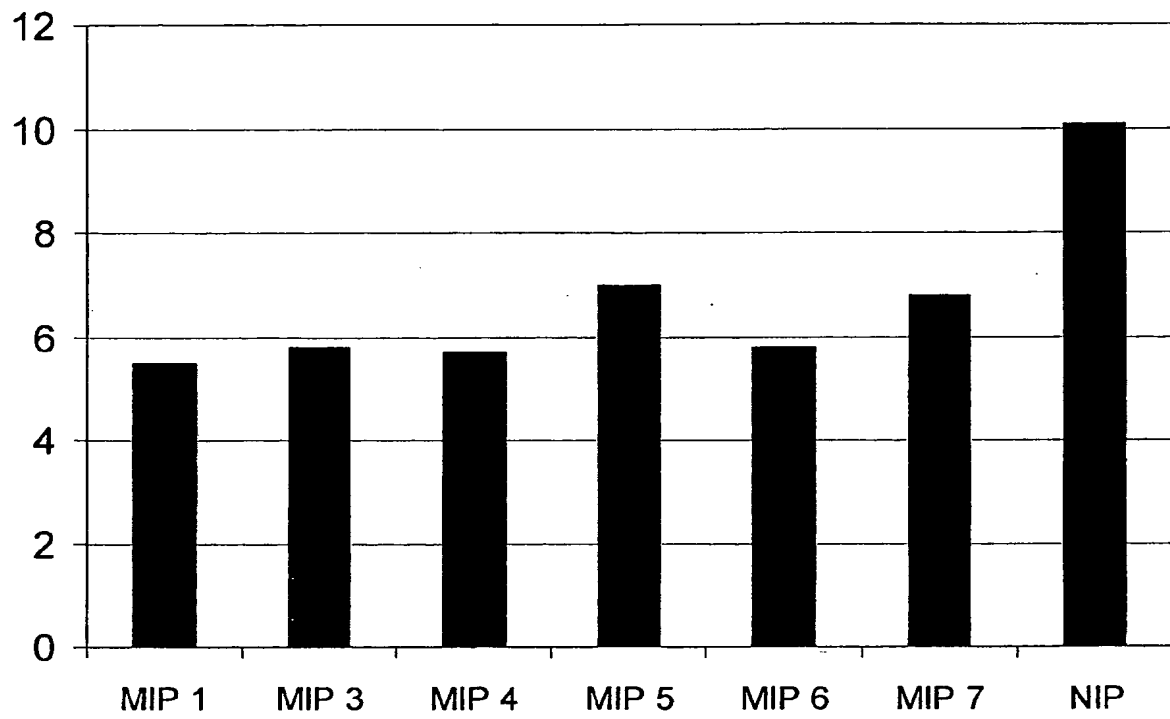
Figura 11

Figura 12

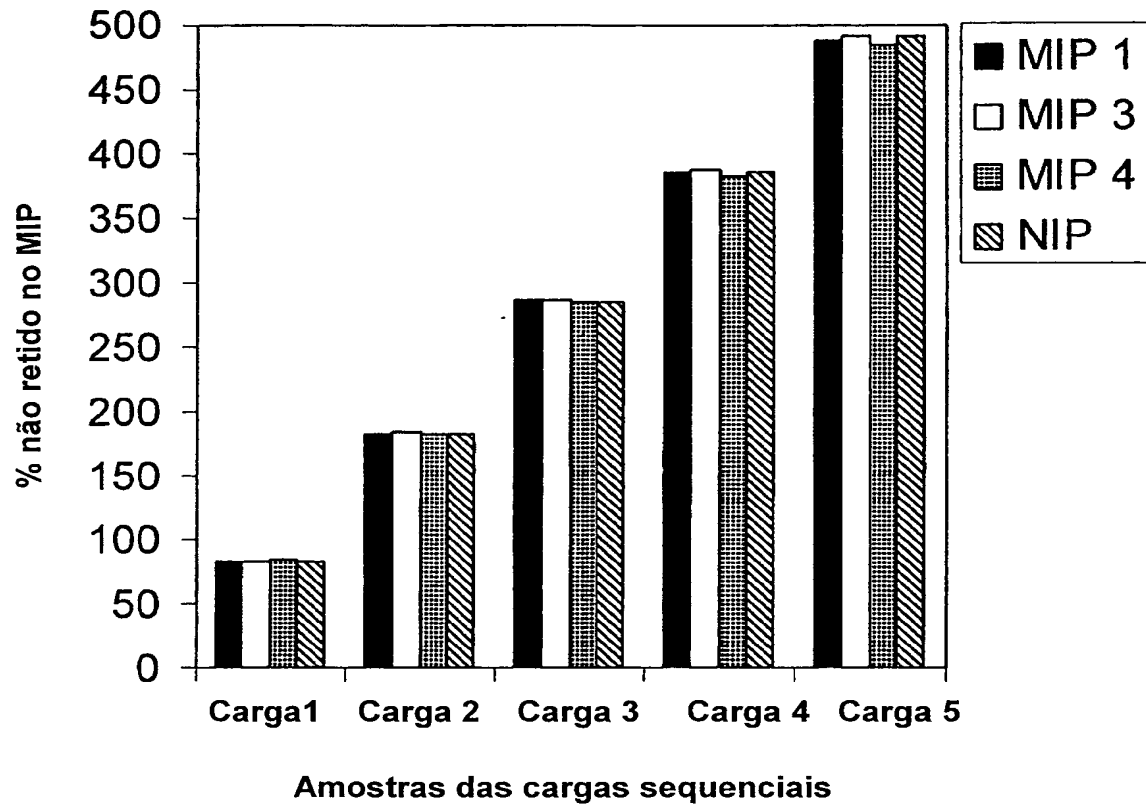


Figura 13

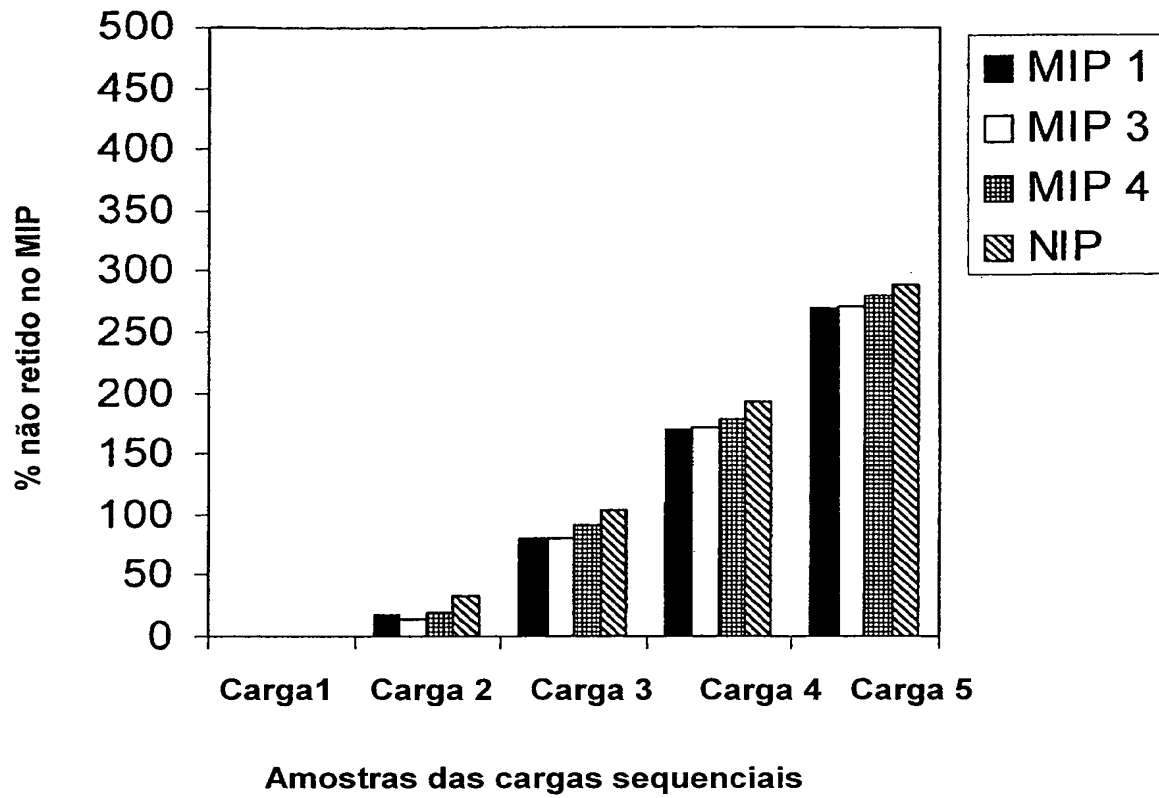


Figura 14

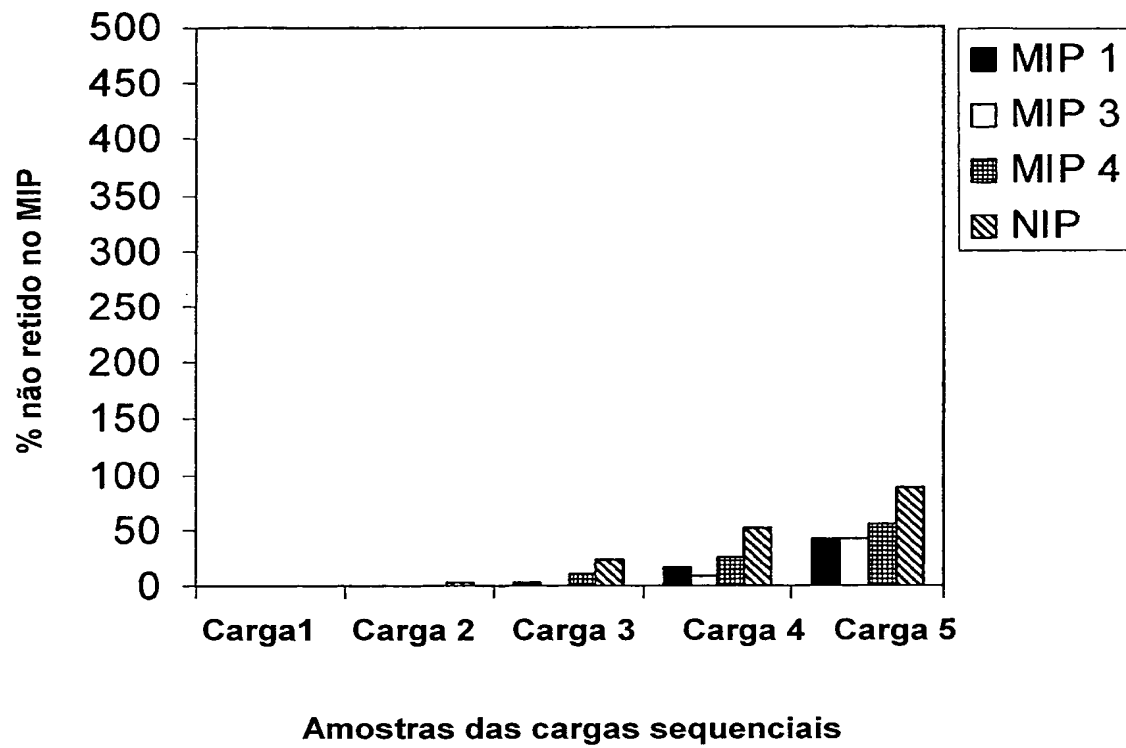


Figura 15

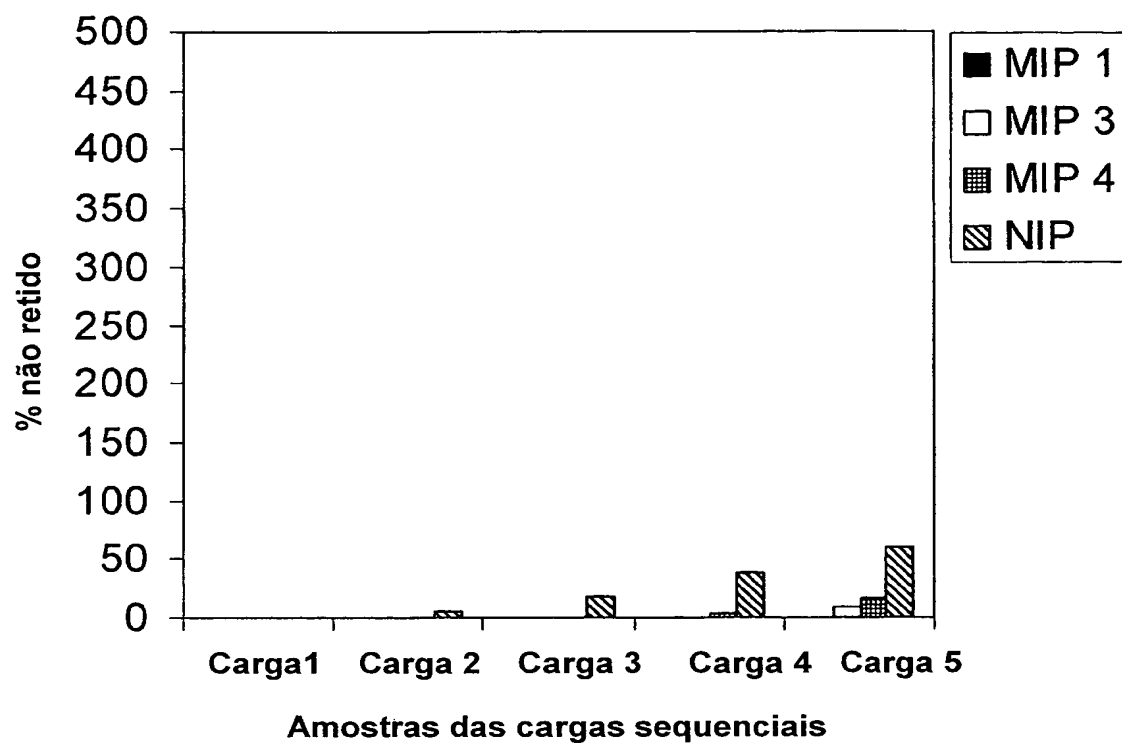


Figura 14

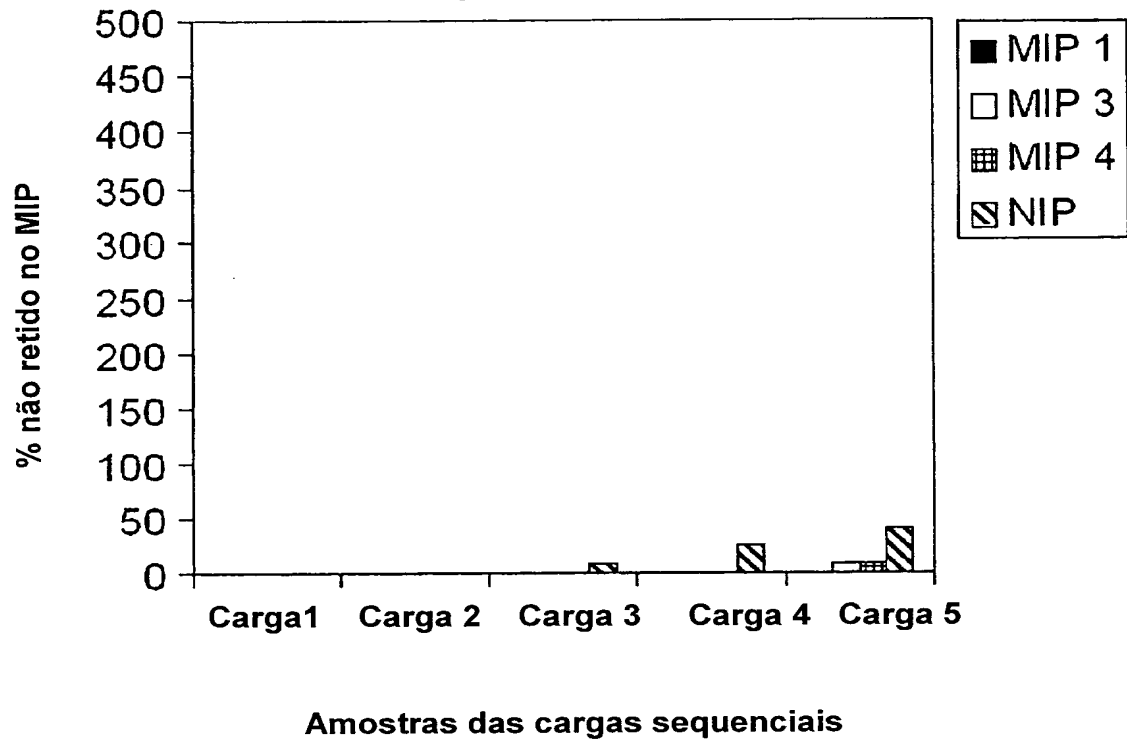


Figura 17

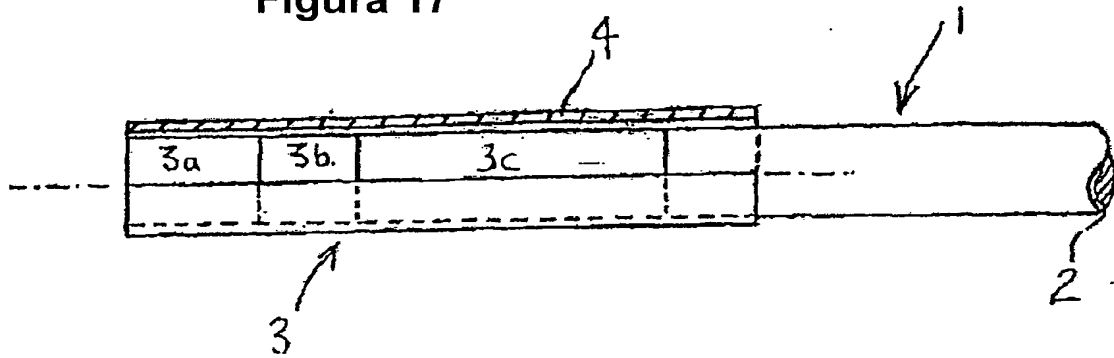
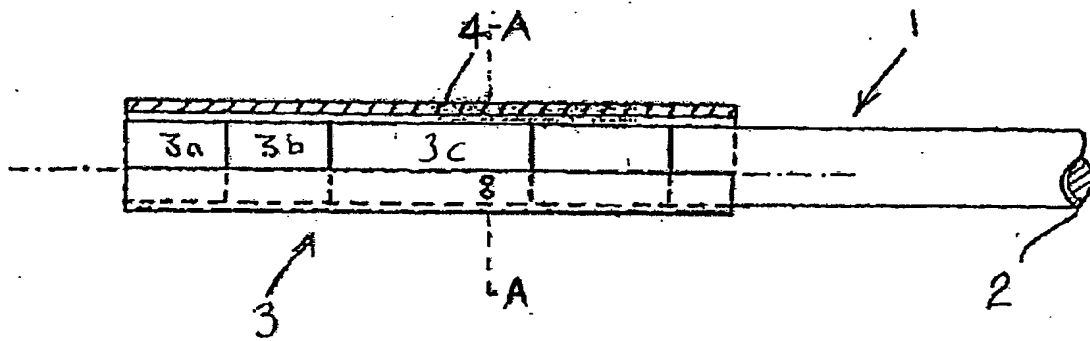


Figura 18



RESUMO

“POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, KIT, MÉTODOS PARA PREPARAR UM POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO, PARA DETERMINAR SE UM PRODUTO DE TABACO CONTÉM
5 NITROSAMINAS, PARA QUANTIFICAR A QUANTIDADE DE NITROSAMINAS EM UM PRODUTO DE TABACO, PARA TRATAR UM PRODUTO DE TABACO PARA REDUZIR O NÍVEL DE UM COMPONENTE ALVO NO MESMO E PARA FABRICAR UM MATERIAL DE TABACO, ARTIGO PARA FUMAR, E, FILTRO PARA FUMAR”

10 Uma classe de polímeros molecularmente impressos que especificamente reconhece e se liga a TSNAs, é útil, por exemplo na análise e separação das TSNAs dos fluidos biológicos. Tais polímeros são também úteis nos métodos de tratar e fabricar produtos e materiais de tabaco.