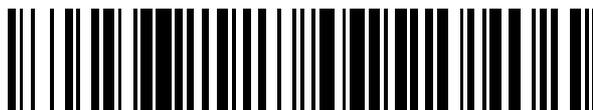


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 441 810**

51 Int. Cl.:

A24B 15/30 (2006.01)

A24B 13/00 (2006.01)

A24B 15/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.01.2011 E 11700880 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2013 EP 2523568**

54 Título: **Componentes y materiales derivados del tabaco**

30 Prioridad:

15.01.2010 US 688294

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

06.02.2014

73 Titular/es:

**R. J. REYNOLDS TOBACCO COMPANY (100.0%)
401 North Main Street
Winston-Salem, NC 27101-3804 , US**

72 Inventor/es:

**COLEMAN III, WILLIAM MONROE;
DUBE, MICHAEL FRANCIS y
LAWSON, DARLENE MADELINE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 441 810 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

Componentes y materiales derivados del tabaco

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a productos elaborados o derivados del tabaco, o que incorporan tabaco de otra forma y que están previstos para el consumo humano. De interés particular son los ingredientes o componentes obtenidos o derivados a partir de plantas o partes de plantas de las especies de *Nicotiana*.

Antecedentes de la invención

10 Los artículos para fumar populares, tales como cigarrillos, tienen una estructura con forma de cilindro e incluyen una carga, rollo o columna de material fumable, tal como tabaco picado (p. ej. en forma de relleno picado) rodeado por una envoltura de papel formando de esta forma lo que se denomina "cilindro de tabaco". Normalmente, un cigarrillo tiene un elemento de filtro cilíndrico alineado en una relación de principio a fin con el cilindro de tabaco. Típicamente, un elemento de filtro comprende un filtro de acetato de celulosa plastificado limitado por un material de papel conocido como "envoltura de tapón". Algunos cigarrillos incorporan un elemento de filtro que tiene varios segmentos y uno de estos segmentos puede comprender partículas de carbono activado. Típicamente, el elemento de filtro está
15 unido a un extremo del cilindro de tabaco usando un material de envoltura limitante conocido como "papel boquilla". También se ha hecho adecuado perforar el papel boquilla y la envoltura de tapón con el fin de proporcionar la dilución del humo directo inhalado con aire ambiente. Un cigarrillo se emplea por el fumador encendiendo uno de sus extremos y quemando el cilindro de tabaco. El fumador recibe entonces el humo directo en su boca inhalando por el extremo opuesto (p. ej., el extremo del filtro) del cigarrillo.

20 El tabaco usado en la elaboración del cigarrillo se usa típicamente en forma mezclada. Por ejemplo, algunas mezclas populares de tabaco, denominadas generalmente "mezclas estadounidenses", comprenden mezclas de tabaco curadas en atmósfera artificial, tabaco *Burley* y tabaco *Oriental*, y en muchos casos, algunos tabacos procesados tales como tabaco reconstituido y tallos de tabaco procesados. La cantidad precisa de cada tipo de tabaco en una mezcla de tabaco usada para la elaboración de una marca de tabaco particular varía de una marca a otra. Sin embargo, en muchas mezclas de tabaco, el tabaco curado en atmósfera artificial constituye una proporción relativamente grande de la mezcla, mientras que el tabaco *Oriental* constituye una proporción relativamente pequeña de la mezcla. Véanse, por ejemplo, *Tobacco Encyclopedia*, Voges (Ed.) págs. 44-45 (1984), Browne, *The Design of Cigarettes*, 3ª Ed., pág. 43 (1990) y *Tobacco Production, Chemistry and Technology*, Davis *et al.* (Eds.), pág. 346 (1999).

30 El tabaco también puede disfrutarse en la forma denominada "sin combustión". Productos de tabaco sin combustión particularmente populares se emplean introduciendo alguna forma de tabaco procesado o formulación que contiene tabaco en la boca del usuario. Varios tipos de productos de tabaco sin combustión se describen en las patentes estadounidenses N° 1.376.586 de Schwartz; 3.696.917 de Levi; 4.513.756 de Pittman *et al.*; 4.528.993 de Sensabaugh Jr. *et al.*; 4.624.269 de Story *et al.*; 4.987.907 de Townsed; 5.092.352 de Sprinkle III *et al.*; y 5.387.269
35 de White *et al.*; en las publicaciones de solicitud de patente estadounidense N° 2005/0244521 de Strickland *et al.* y 2009/0293889 de Kumar *et al.*; PCT WO 04/095959 de Arnap *et al.*; PCT WO 05/063060 de Atchley *et al.*; PCT WO 05/004480 de Engstrom; PCT WO 05/016036 de Bjorkholm; y PCT WO 05/041699 de Quinter *et al.*, cada uno de cuyos documentos se incorporan como referencia en la presente memoria. Véanse, por ejemplo, los tipos de formulaciones, ingredientes y metodologías de procedimiento para tabaco sin combustión descritos en las patentes
40 estadounidenses N° 6.953.040 de Atchley *et al.* y 7.032.601 de Atchley *et al.*

Un tipo de producto de tabaco sin combustión se denomina "tabaco en polvo". Los tipos representativos de productos de tabaco en polvo húmedo, denominados generalmente como "*snus*", han sido elaborados en Europa, particularmente en Suecia, por compañías tales como Swedish Match AB, Fiedler & Lundgren AB, Gustavus AB, Skandinavisk Tobakskompagni A/S y Rocker Production AB. Los productos de *snus* disponibles en Estados Unidos han sido comercializados bajo las marcas registradas Camel Snus Frost, Camel Snus Original y Camel Snus Spice por R. J. Reynolds Tobacco Company. Véase, por ejemplo, Bryzgalov *et al.*, 1N1800 *Life Cycle Assessment, Comparative Life Cycle Assessment of General Loose and Portion Snus* (2005). Además, algunos estándares de calidad asociados con la elaboración del *snus* se han agrupado en el denominado estándar Gothia. Productos de tabaco sin combustión representativos también se han elaborado con las marcas registradas Oliver Twist por House of Oliver Twist A/S; Copenhagen, SkoalDry, Rooster, Red Seal, Husky y Revel por U.S. Smokeless Tobacco Co.; "taboka" por Philip Morris USA; Levi Garrett, Peachy, Taylor's Pride, Kodiak, Hawken Wintergreen, Grizzly, Dental, Kentucky King y Mammoth Cave por Conwood Company, LLC; y Camel Orbs, Camel Sticks y Camel Strips por R. J. Reynolds Tobacco Company.

55 A lo largo de los años, se han propuesto varios métodos de tratamiento y aditivos para alterar el carácter total o la naturaleza de los materiales de tabaco usados en los productos de tabaco. Por ejemplo, se han usado aditivos o procedimientos de tratamiento con el fin de alterar la química o las propiedades sensoriales del material de tabaco o, en el caso de materiales de tabaco para fumar, para alterar la química o las propiedades sensoriales del humo directo generado por los artículos para fumar, incluyendo el material de tabaco. Los atributos sensoriales del humo

del cigarrillo pueden ser mejorados incorporando materiales saborizantes en varios componentes del cigarrillo. Los ejemplos de aditivos saborizantes incluyen el mentol y los productos de las reacciones de Maillard, tales como pirazinas, aminoazúcares y compuestos de Amadori. Véase también, Leffingwell *et al.*, *Tobacco Flavoring for Smoking Products*, R. J. Reynolds Tobacco Company (1972), que se incorpora como referencia en la presente memoria. En algunos casos, los procedimientos de tratamiento que implican el uso de calor pueden impartir al tabaco procesado un color deseado o un carácter visual, propiedades sensoriales deseadas, o una naturaleza física o textura deseadas. Varios procedimientos para preparar composiciones aromáticas y con sabor para usarlos en composiciones de tabaco se describen en las patentes estadounidenses N° 3.424.171 de Rooker; 3.476.118 de Luttich; 4.150.677 de Osborne Jr. *et al.*; 4.986.286 de Roberts *et al.*; 5.074.319 de White *et al.*; 5.099.862 de White *et al.*; 5.235.992 de Sensabaugh Jr.; 5.301.694 de Raymond *et al.*; 6.298.858 de Coleman III *et al.*; 6.325.860 de Coleman III *et al.*; 6.438.624 de Coleman III *et al.*; 6.440.223 de Dube *et al.*; 6.499.489 de Coleman III; y 6.591.841 de White *et al.*; la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 2004/0173228 de Coleman III y la solicitud estadounidense número de serie N° 12/191.751 de Coleman III *et al.*, presentada el 14 de Agosto de 2008.

Los atributos sensoriales del tabaco sin combustión también pueden ser mejorados mediante la incorporación de algunos materiales saborizantes. Véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitud de patente estadounidenses N° 2002/0162562 de Williams; 2002/0162563 de Williams; 2003/0070687 de Atchley *et al.*; 2004/0020503 de Williams; 2005/0178398 de Breslin *et al.*; 2006/0191548 de Strickland *et al.*; 2007/ 0062549 de Holton Jr. *et al.*; 2007/0186941 de Holton Jr. *et al.*; 2007/0186942 de Strickland *et al.*; 2008/0029110 de Dube *et al.*; 2008/0029116 de Robinson *et al.*; 2008/0029117 de Mua *et al.*; 2008/0173317 de Robinson *et al.*; 2008/0209586 de Neilsen *et al.*

Sería deseable proporcionar métodos para alterar el carácter y la naturaleza del tabaco (y de las composiciones y formulaciones del tabaco) útiles en la elaboración de artículos para fumar y/o productos de tabaco sin combustión.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona materiales de las especies de *Nicotiana* (p. ej., materiales derivados del tabaco) que comprenden componentes aislados de plantas de las especies de *Nicotiana* útiles para su incorporación en composiciones de tabaco usadas en varios productos de tabaco, tales como artículos para fumar y productos de tabaco sin combustión. La invención también proporciona métodos para aislar componentes de las especies de *Nicotiana* (p. ej., materiales de tabaco) y métodos para procesar dichos componentes y los materiales de tabaco que incorporan estos componentes. Por ejemplo, los materiales derivados del tabaco se pueden preparar sometiendo al menos una porción de una planta de tabaco (p. ej., hojas, tronco, raíces o tallos), pero lo más preferiblemente al menos una porción de la flor del tabaco, a un procedimiento de separación que típicamente puede incluir múltiples etapas secuenciales de extracción con el fin de aislar los componentes deseados del material de tabaco.

El uso de materiales derivados de *Nicotiana* (p. ej., derivados del tabaco) de la presente invención permite la preparación de composiciones de tabaco para artículos para fumar o composiciones de tabaco sin combustión que se derivan esencialmente o incluso totalmente de materiales de *Nicotiana*. Por ejemplo, una composición de tabaco puede incorporar tabaco en alguna forma y al menos un material derivado del tabaco de forma que al menos aproximadamente 80 por ciento en peso, más típicamente al menos aproximadamente 90 por ciento en peso, o incluso al menos aproximadamente 95 por ciento en peso (expresado en peso seco), de dicha composición de tabaco consiste en material derivado del tabaco.

En un aspecto, la invención proporciona una composición de tabaco para usarla en un artículo para fumar o una composición de tabaco sin combustión que comprende un aditivo derivado de una flor de las especies de *Nicotiana* (p. ej., tabaco *Virginia*, tabaco *Burley*, o *N. alata*). El aditivo puede ser una flor de las especies de *Nicotiana* o una de sus partes en forma en partículas o en forma de un aislado de flor derivado de una flor de las especies de *Nicotiana*. El aislado de flor está en forma de un extracto de una flor de las especies de *Nicotiana* o en forma de un aislado de flor transformado químicamente. Las transformaciones químicas incluyen reacción ácido/base, hidrólisis, tratamiento térmico, tratamiento enzimático y combinaciones de dichas etapas. La transformación química produce típicamente un cambio en la composición química del aislado de tabaco, tal como un aumento en la cantidad de algunos compuestos que tienen características sensoriales adecuadas (p. ej. compuestos aromáticos o con sabor).

En un modo de realización, el aislado de flor está en forma de un extracto de una flor tratado enzimáticamente de las especies de *Nicotiana*. Ejemplos de disolventes incluyen los hidrocarburos, tales como heptano y hexano.

El aislado de tabaco contiene típicamente uno o más compuestos útiles para mejorar las características sensoriales de las composiciones de tabaco a las que se añade el aislado de tabaco. Los ejemplos de compuestos incluyen heptanol, octanoato de metilo, ácido 2-metilpropiónico, ácido 2-metilbutírico, 4-cetoisoforona, ácido 4-metilpentanoico, ácido hexanoico, alcohol bencílico, linalool, alcohol fenético, acilato de dodecilo, nerolidol, ácido octanoico, eugenol, metoxieugenol, 5-acetoximetil-2-furfural, farnesal, farnesol, 1-hexadecano, 1-octadeceno, fitol, acetovanilina, cinamaldehído, alcohol cinamílico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, ácido oleico, ácido linoléico, benzoato de metilo, salicilaldehído, salicilato de bencilo, cembrenedioles, isoforona, oximas, solavetivona, thunbergol, vanilina, acrilato de dodecilo, benzaldehído, benzoato de bencilo, escaral, acetofenona, cariofileno y aristolona.

La invención también proporciona artículos para fumar y composiciones de tabaco sin combustión que incluyen los aditivos derivados de una flor descritos en la presente memoria. Por ejemplo, la invención puede proporcionar una composición de tabaco en la que el aditivo está en forma de una formulación de envoltura o una formulación de cobertura aplicada a la lámina de tabaco o en la que el aditivo se añade a un material de tabaco reconstituido. Los artículos para fumar o las composiciones de tabaco sin combustión que incorporan un aditivo derivado de una flor de la invención comprenderán típicamente entre aproximadamente 5 ppm y aproximadamente 5 por ciento en peso del aditivo derivado de una flor con respecto al peso seco total del material de tabaco en el artículo para fumar o el producto de tabaco sin combustión.

En otro aspecto la invención proporciona un método para preparar un aditivo derivado de una flor de las especies de *Nicotiana* para su adición a una composición de tabaco, comprendiendo dicho método: i) recibir una flor recolectada o una de sus partes; ii) procesar la flor recolectada o su parte mediante al menos una entre subdividir la flor recolectada o su parte para formar un material en partículas derivado de una flor o separar un aislado derivado de una flor a partir de la flor recolectada sometiendo a la flor recolectada o una de sus partes a extracción en un disolvente, cromatografía, destilación, filtración, recristalización, reparto entre disolventes, o una combinación entre ellos; y iii) añadir el material en partículas derivado de una flor o el aislado derivado de una flor producidos en la etapa ii) a la composición de tabaco adaptada para su uso en un artículo para fumar o una composición de tabaco sin combustión.

En todavía otro modo de realización, la invención proporciona un método para preparar un aditivo derivado de una flor de las especies de *Nicotiana* para su adición a una composición de tabaco, comprendiendo el método separar un aislado derivado de una flor de una flor de las especies de *Nicotiana*, comprendiendo dicha etapa de separación una o más de las etapas siguientes: i) recoger los componentes en fase de vapor del espacio superior que rodea a una flor viva; y ii) aislar los componentes de la flor recolectada sometiendo a la flor recolectada o a una de sus partes a extracción en un disolvente, cromatografía, destilación, filtración, recristalización, reparto entre disolventes, o una combinación entre ellos.

Los ejemplos de etapas de separación incluyen la extracción en un disolvente de una flor recolectada o una de sus partes usando un disolvente orgánico, o sometiendo a una flor recolectada o a una de sus partes a un tratamiento enzimático para formar un material derivado de una flor tratado enzimáticamente, y a continuación someter al material derivado de una flor tratado enzimáticamente a extracción en un disolvente para formar un aislado de tabaco. En un modo de realización, la etapa de separación comprende congelar una flor recolectada o una de sus partes para formar un material derivado de una flor congelado, procesar la flor congelada en forma de partículas, someter al material derivado de una flor en partículas a un tratamiento enzimático para alterar químicamente el material derivado de una flor en partículas, y extraer el material derivado de una flor en partículas con un disolvente orgánico para producir un aislado de tabaco. Los ejemplos de tratamientos enzimáticos incluyen el tratamiento con una glicosidasa o una glucosidasa.

En un modo de realización adicional, se prepara un aislado derivado de una flor pre-tratando una flor recolectada para liberar los compuestos enlazados glicosídicamente antes de la etapa de separación adaptada para proporcionar un aislado derivado de una flor. Por ejemplo, un material de flor de tabaco puede ser pre-tratado mediante un tratamiento enzimático (p. ej. glicosidasa o glucosidasa) o sometido a hidrólisis ácida o básica, y a continuación sometido a extracción en un disolvente. El pre-tratamiento aumenta la extracción de algunos compuestos adecuados que están presentes en la flor, al menos en parte, en forma de un glicósido.

Descripción detallada de los modos de realización preferidos

La presente invención se describirá a continuación más a fondo. Esta invención puede realizarse, sin embargo, de muy diferentes formas y no debería interpretarse como limitada a los modos de realización descritos en la presente memoria; más bien, estos modos de realización se proporcionan de forma que esta descripción sea minuciosa y completa y expresar totalmente el alcance de la invención para los expertos en la técnica. Como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones, las formas en singular “uno”, “una”, “él” y “la” incluyen sus respectivos plurales a menos que el contexto lo indique claramente de otra forma. Con respecto al “porcentaje en peso seco” o “expresado en peso seco” se refiere al peso basándose en los ingredientes secos (es decir, todos los ingredientes excepto el agua).

La selección de la planta de las especies de *Nicotiana* puede variar; y, en particular, los tipos de tabaco o tabacos pueden variar. Los tabacos que pueden emplearse incluyen los tabacos curados en atmósfera artificial o *Virginia* (p. ej., K326), *Burley*, curado al sol (p. ej., tabacos *Indian Kurnool* y *Oriental*, incluyendo los tabacos *Katerini*, *Prelip*, *Komotini*, *Xanthi* y *Yambol*), *Maryland*, negro, negro curado al fuego, negro curado al aire (p. ej., tabacos *Pasanda*, *Cubano*, *Jatin* y *Bezuki*), ligero curado al aire (p. ej., tabacos *North Wisconsin* y *Galpao*), tabaco indio curado al aire, *Red Russian* y *Rustica*, así como otros tabacos raros o de especialidad. Las descripciones de los diferentes tipos de tabaco, prácticas de cultivo y prácticas de recolección se describen en *Tobacco Production, Chemistry and Technology*, Davis *et al.* (Eds.) (1999) que se incorpora como referencia en la presente memoria. Varios tipos representativos de plantas de las especies de *Nicotiana* se describen en Goodspeed, *The Genus Nicotiana (Chronica Botanica)* (1954); las patentes estadounidenses N° 4.660.577 de Sensabaugh *et al.*; 5.387.416 de White *et al.* y 7.025.066 de Lawson *et al.*; y las publicaciones de solicitud de patente estadounidense N° 2006/0037623 de

Lawrence Jr. y 2008/0245377 de Marshall *et al.*; cada una de los cuales se incorpora en la presente memoria como referencia. De particular interés son *N. alata*, *N. arentsii*, *N. excelsior*, *N. forgetiana*, *N. glauca*, *N. glutinosa*, *N. gossei*, *N. kawakamii*, *N. knightiana*, *N. langsdorffii*, *N. otophora*, *N. setchelli*, *N. sylvestris*, *N. tomentosa*, *N. tomentosiformis*, *N. undulata* y *N. xsanderae*. También son de interés *N. africana*, *N. amplexicaulis*, *N. benavidesii*, *N. bonariensis*, *N. debneyi*, *N. longiflora*, *N. maritima*, *N. megalosiphon*, *N. occidentalis*, *N. paniculata*, *N. plumbaginifolia*, *N. raimondii*, *N. rosulata*, *N. rustica*, *N. simulans*, *N. stocktonii*, *N. suaveolens*, *N. tabacum*, *N. umbrática*, *N. velutina* y *N. wigandioides*. Otras plantas de las especies de *Nicotiana* incluyen *N. acaulis*, *N. acuminata*, *N. attenuata*, *N. benthamiana*, *N. cavicola*, *N. vlevelandii*, *N. cordifolia*, *N. corymbosa*, *N. fragans*, *N. goodspeedii*, *N. linearis*, *N. miersii*, *N. nudicaulis*, *N. obtusifolia*, *N. occidentalis* subespecie *Hersperis*, *N. pauciflora*, *N. petunioides*, *N. quadrivalvis*, *N. repanda*, *N. rotundifolia*, *N. solanifolia* y *N. spegazzinii*.

Las especies de *Nicotiana* se puede obtener usando técnicas de modificación genética o de cruzamiento (por ejemplo, las plantas de tabaco pueden manipularse genéticamente o cruzarse para aumentar o disminuir la producción de componentes, características o atributos). Véanse, por ejemplo, los tipos de modificaciones genéticas de plantas descritas en las patentes estadounidenses N° 5.539.093 de Fitzmaurice *et al.*; 5.668.295 de Wahab *et al.*; 5.705.624 de Fitzmaurice *et al.*; 5.884.119 de Weigl; 6.730.832 de Domínguez *et al.*; 7.173.170 de Liu *et al.*; 7.208.659 de Colliver *et al.* y 7.230.160 de Benning *et al.*; la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 2006/0236434 de Conkling *et al.*; y la PCT WO 2008/103935 de Nielsen *et al.*

Para la preparación de productos de tabaco sin combustión y fumables, es típico que las plantas recolectadas de las especies de *Nicotiana* sean sometidas a un procedimiento de curado. La descripción de varios tipos de procedimientos de curado para distintos tipos de tabaco se describen en *Tobacco Production, Chemistry and Technology*, Davis *et al.* (Eds) (1999). Los ejemplos de técnicas y condiciones para curado del tabaco curado en atmósfera artificial se describen en Nestor *et al.*, *Beitrag Tabakforsch. Int.* 20, 467-475 (2003) y la patente estadounidense N° 6.895.974 de Peele, que se incorporan en la presente memoria como referencia. Las técnicas representativas y las condiciones para el tabaco curado al aire se describen en Roton *et al.*, *Beitrag Tabakforsch. Int.* 21, 321-330 (2005), que se incorpora en la presente memoria como referencia. Algunos tipos de tabaco pueden ser sometidos a tipos alternativos de procedimientos de curado, tales como curado al fuego o curado al sol. Preferiblemente, los tabacos recolectados que han sido curados se envejecen a continuación.

Al menos una parte de la planta de las especies de *Nicotiana* (p. ej., al menos una porción de la parte del tabaco) se puede emplear en una forma inmadura. Es decir, la planta, o al menos una parte de la planta, puede ser recolectada antes de alcanzar un estado normalmente considerado como desarrollado o maduro. De este modo, por ejemplo, la planta de tabaco puede ser recolectada cuando la planta de tabaco está en el punto de un brote, cuando está comenzando la formación de la hoja, cuando está comenzando la floración o similares.

Al menos una parte de la planta de las especies de *Nicotiana* (p. ej., al menos una porción de la parte del tabaco) puede emplearse en forma madura. Es decir, la planta, o al menos una parte de la planta, puede ser recolectada cuando la planta (o una parte de la planta) alcanza un punto que generalmente se considera como maduro, sobremadurado o desarrollado. De este modo, por ejemplo, mediante el uso de técnicas de recolección de tabaco usadas generalmente por los granjeros, las plantas de tabaco *Oriental* pueden ser recolectadas, las plantas de tabaco *Burley* pueden ser recolectadas o las hojas de tabaco *Virginia* pueden ser recolectadas o preparadas por pisos foliares.

Después de la recolección, la planta de las especies de *Nicotiana*, o una de sus partes, puede utilizarse en forma verde (p. ej., el tabaco puede usarse sin ser sometido a un procedimiento de curado). Por ejemplo, el tabaco en forma verde puede ser congelado, liofilizado, sometido a irradiación, amarilleado, secado, cocido (por ejemplo, tostado, frito o hervido), o sometido de otra forma a almacenamiento o tratamiento para su uso posterior. Dicho tabaco también puede ser sometido a condiciones de envejecimiento.

Según la presente invención, un producto de tabaco incorpora un tabaco que está combinado con alguna forma de la flor o de una planta de al menos una especie de *Nicotiana*. Es decir, una parte del producto de tabaco puede estar compuesto por alguna forma de la flor de una especie de *Nicotiana*, tal como partes o piezas de la flor, o de materiales procesados que incorporan flores o sus componentes procesados. Al menos una porción del producto de tabaco puede estar compuesta por componentes derivados de la flor, tales como componentes recogidos después de someter a la flor a reacción química o después de someter a los componentes recogidos de la flor a reacción química (p. ej., condiciones de reacción ácido/base o tratamiento enzimático).

La flor es la estructura reproductiva característica (p. ej., estructura productora de semillas) de la planta de las especies de *Nicotiana*. Por ejemplo, una flor de tabaco es la característica flor de la planta de tabaco. Las flores de varios tipos representativos de las especies de *Nicotiana* se describen en Schiltz *et al.*, *Les plantes du G. Nicotiana* en *Collection a L'Institut du Tabac de Bergerac*, 2ª Ed. (Seita) (1991).

Las especies de *Nicotiana* pueden elegirse por el tipo de flor que producen. Por ejemplo, las plantas se pueden elegir en función de aquellas plantas que producen flores de tamaño relativamente grande, numerosas flores, flores que incorporan niveles relativamente elevados de los componentes específicos deseados, y similares.

Las especies de planta de *Nicotiana* pueden cultivarse en condiciones agronómicas de forma que se promueva el desarrollo de la flor. Las plantas de tabaco pueden cultivarse en invernaderos, cámaras de crecimiento o al aire libre en campos, o en cultivos hidropónicos.

- 5 La flor se recoge de las especies de planta de *Nicotiana*. La forma en la que se recoge la planta puede variar. La recolección de las flores se ha denominado tradicionalmente "selección". De esta forma, la flor se separa del resto de la planta mediante corte o rotura del tallo o pedículo del resto de la planta. Alternativamente, los componentes de la flor se pueden aislar recogiendo los componentes en fase de vapor del espacio superior en la proximidad de una flor viva (es decir, una flor que no ha sido cortada o recolectada de la planta), de forma que se capturan los componentes en fase de vapor del espacio superior de una cámara de crecimiento que contiene una flor viva.
- 10 Se pueden emplear varias partes o porciones de la flor. Por ejemplo, se puede recolectar virtualmente toda la flor (p. ej., la flor entera) y usarse como tal. Alternativamente, se pueden recolectar o separar varias partes o piezas de la flor para usarlas después de la recolección. Por ejemplo se pueden aislar para posterior uso o tratamiento los pétalos, corola, sépalos, receptáculo, anteras, filamentos, estigma, estambres, estilo, pistilo, pedúnculo, ovario y varias combinaciones de ellos.
- 15 El tiempo de recolección durante el ciclo de la vida de la flor puede variar. Por ejemplo, la flor puede ser recolectada cuando está en forma de un brote, cuando está cerrada antes de la floración, durante la floración o después de que la floración sea completa. El tiempo de recolección puede afectar al rendimiento de algunos compuestos deseables aislados de la flor, siendo menos preferida la recolección tardía en la sesión de crecimiento hacia el final de la vida de la planta.
- 20 La planta puede recolectarse en diferentes momentos del día. Por ejemplo, la flor puede recolectarse durante las horas de la mañana o durante las horas de la tarde (es decir, durante las horas con luz solar) o durante el tiempo nocturno (es decir, cuando está oscuro). La flor puede recolectarse cuando está seca o cuando está húmeda (es decir, después de haber sido expuesta a la lluvia o a irrigación).
- 25 El procesamiento después de la recolección de la flor puede variar. Después de la recolección, la flor, o una parte de ella, puede usarse de forma verde (p. ej., la flor puede usarse sin ser sometida a un procedimiento de curado). Por ejemplo, la flor se puede usar sin ser sometida a condiciones de almacenamiento, manipulación o procesamiento importantes. En algunas situaciones, es preferible que la flor fresca sea utilizada prácticamente de forma inmediata después de la recolección. Alternativamente, por ejemplo, una flor en forma verde puede ser refrigerada o congelada para su uso posterior, liofilizada, sometida a irradiación, amarilleada, curada (p. ej., usando técnicas de secado al aire o técnicas que emplean aplicación de calor), calentada o cocida (por ejemplo, tostada, frita o hervida), o sometida de otra forma a almacenamiento o tratamiento para su uso posterior.
- 30 La flor recolectada puede ser procesada físicamente. La flor puede ser separada en partes o piezas individuales (p. ej., los pétalos pueden ser retirados de la parte restante de la flor). La flor o sus partes pueden subdividirse adicionalmente en partes o piezas (p. ej., la flor puede ser triturada, cortada, desmenuzada, pulverizada, molida o molturada en piezas o partes que pueden caracterizarse como piezas de tipo de relleno, gránulos, partículas o polvos finos). La flor, o sus partes, pueden ser sometidas a fuerzas o presión externa (p. ej., siendo prensada o sometida a tratamiento con rodillos). Cuando se utilizan dichas condiciones de procesamiento, la flor puede tener un contenido de humedad que se aproxime a su contenido de humedad natural (p. ej., su contenido de humedad inmediatamente después de la recolección), un contenido de humedad obtenido añadiendo humedad a la flor, o un contenido de humedad que se obtiene secando la flor. Por ejemplo, las piezas o la flor en polvo, pulverizada, molida o molturada pueden tener contenidos de humedad de menos de aproximadamente 25 por ciento en peso, a menudo menos de aproximadamente 20 por ciento en peso y frecuentemente menos de aproximadamente 15 por ciento en peso. De esta forma, partes o piezas de la flor pueden ser usadas como tal como componentes de productos de tabaco, o procesadas adicionalmente.
- 35 La flor recolectada puede ser sometida a otros tipos de condiciones de procesamiento. Por ejemplo, los componentes de la flor pueden ser separados uno de otro, o fraccionados de otra forma en clases químicas o mezclas de compuestos individuales. Los procedimientos de separación típicos pueden incluir una o más etapas de procedimiento (p. ej., extracción en disolvente usando disolventes polares, disolventes orgánicos o fluidos supercríticos), cromatografía, destilación, filtración, recristalización y/o reparto entre disolventes. Los ejemplos de disolventes o vehículos de extracción y separación incluyen agua, alcoholes (p. ej., metanol o etanol), hidrocarburos (p. ej., heptano y hexano), dietil éter, cloruro de metileno y dióxido de carbono supercrítico. Los ejemplos de las técnicas útiles para extraer los componentes de las especies de *Nicotiana* se describen en las patentes estadounidenses N° 4.144.895 de Fiore; 4.150.677 de Osborne Jr. *et al.*; 4.267.847 de Reid; 4.289.147 de Wildman *et al.*; 4.351.346 de Brummer *et al.*; 4.3359.059 de Brummer *et al.*; 4.506.682 de Muller; 4.589.428 de Keritsis; 4.605.016 de Soga *et al.*; 4.716.911 de Poulouse *et al.*; 4.727.889 de Niven Jr. *et al.*; 4.887.618 de Bernasek *et al.*; 4.941.848 de Clapp *et al.*; 4.967.771 de Fagg *et al.*; 4.986.286 de Roberts *et al.*; 5.005.593 de Fagg *et al.*; 5.018.540 de Grubbs *et al.*; 5.060.669 de White *et al.*; 5.065.775 de Fagg; 5.074.319 de White *et al.*; 5.099.862 de White *et al.*; 5.121.757 de White *et al.*; 5.131.414 de Fagg; 5.131.415 de Munoz *et al.*; 5.148.819 de Fagg; 5.197.494 de Kramer; 5.230.354 de Smith *et al.*; 5.234.008 de Fagg; 5.243.999 de Smith; 5.301.694 de Raymond *et al.*; 5.318.050 de Gonzalez-Parra *et al.*; 5.343.879 de Teague; 5.360.022 de Newton; 5.435.325 de Clapp *et al.*; 5.445.169 de Brinkley
- 60

et al.; 6.131.584 de Lauterbach; 6.298.859 de Kierulff *et al.*; 6.772.767 de Mua *et al.*; y 7.337.782 de Thompson. Véanse también, los tipos de técnicas de separación descritas en Brandt *et al.*, *LG-GC Europe*, pág. 2-5 (Marzo 2002) y Wellings, *A Practical Handbook of Preparative HPLC* (2006), que se incorporan como referencia en la presente memoria. Además, la flor o sus componentes pueden ser sometidos a los tipos de tratamiento descritos en Ishikawa *et al. Chem. Pharm. Bull.* 50, 501-507 (2002); Tienpont *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 46-55 (2002); Ochiai, *Gerstel Solutions Worldwide* 6, 17-19 (2006); Coleman III *et al.*, *J. Sci. Food and Agric.* 84, 1223-1228 (2004); Coleman III *et al.*, *J. Sci. Food and Agric.* 85, 2645-2654 (2005); Pawliszyn, Ed. *Applications of Solid Phase Microextraction, RSC Chromatography Monographs* (Royal Society of Chemistry, UK) (1999); Sahraoui *et al.*, *J. Chrom.* 1210, 229-233 (2008) y 5.301.694 de Raymond *et al.*

5 Se pueden aislar los componentes de la flor, o las porciones de la flor. Como se usa en la presente memoria, un "componente aislado" o "aislado de flor" es un compuesto o mezcla compleja de compuestos separados de la flor de una planta de las especies de *Nicotiana*. El componente aislado puede ser un único compuesto, una mezcla homogénea de compuestos similares (p. ej., isómeros de un compuesto de aroma), o una mezcla homóloga de compuestos distintos (p. ej., una mezcla compleja de varios compuestos de diferentes tipos, preferiblemente con atributos sensoriales deseables).

10 Se pueden emplear procedimientos secuenciales de separación para purificar y refinar el aislado de flor de una forma adecuada. Por ejemplo, un extracto en disolvente de una flor de las especies de *Nicotiana* se puede someter a etapas de separaciones adicionales para cambiar la composición química del extracto, tal como aumentar la cantidad relativa de algunos compuestos deseables, tal como algunos sabores o compuestos aromáticos. En un modo de realización, un extracto de flor se procesa usando destilación molecular que típicamente implica destilación a vacío a una presión de menos de aproximadamente 0,01 torr.

15 Los ejemplos de tipos de componentes que pueden estar presentes en los aislados de flor incluyen terpeno, sesquiterpenos, diterpenos, ésteres (p. ej., ésteres terpenoides y ésteres de ácido graso), alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, lactonas, anhídridos, fenoles, quinonas, éteres, nitrilos, aminas, amidas, imidas, nitroalcanos, nitrofenoles, nitroarenos, heterociclos que contienen nitrógeno, lactamas, oxazoles, aza-arenos, compuestos que contienen azufre, alcaloides (p. ej. nicotina), pigmentos plástidos (p. ej., clorofila o carotenoides), lípidos (p. ej., fitoesteroles) y sus derivados. Ejemplos adicionales de componentes representativos que pueden emplearse se describen como diluyentes naturales del alquitrán en el documento PCT WO 2007/012980 de Lipowicz.

20 Los componentes de la flor se someten a condiciones de forma que estos componentes (sea como parte de la flor o en forma de componente aislado) sufran una transformación química. Por ejemplo, los aislados de flor que han sido separados de la flor pueden tratarse para producir una transformación química o mezclarse con otros ingredientes. Las transformaciones químicas o la modificación del aislado de flor pueden producir cambios en algunas propiedades químicas y físicas de estos aislados de flor (p. ej., los atributos sensoriales de estos aislados). Los ejemplos de procedimientos de modificación química pueden realizarse por reacción ácido/base, hidrólisis, calentamiento (p. ej., un tratamiento térmico en el que el aislado de flor se somete a una temperatura elevada tal como una temperatura de al menos aproximadamente 50°C o al menos aproximadamente 75°C o al menos aproximadamente 90°C), y tratamientos enzimáticos (p. ej. usando glucosidasa o glucocidasa); y como tales, los componentes del aislado de flor pueden someterse a esterificación, transesterificación, conversión isomérica, formación de acetal, descomposición de acetal, reacciones de azúcar invertido y similares. Los ejemplos de tipos de ingredientes adicionales que se pueden mezclar con los aislados de flor incluyen saborizantes, ingredientes de relleno, aglomerantes, ajustadores de pH, agentes amortiguadores, colorantes, ayudas para la disgregación, antioxidantes, humectantes y conservantes.

25 Las flores y componentes de los aislados de flor son útiles como aditivos para composiciones de tabaco, particularmente composiciones de tabaco incorporadas en artículos para fumar o productos de tabaco sin combustión. La adición de los aislados de flor a las composiciones de tabaco puede mejorar la composición de tabaco de varias formas, dependiendo de la naturaleza del aislado de flor y del tipo de la composición de tabaco. Los ejemplos de aislados de flor pueden servir para proporcionar sabor y/o aroma a un producto de tabaco (p. ej., composición que altera las características sensoriales de las composiciones de tabaco o del humo derivado de ellas).

30 Varios compuestos que tienen características de sabor y aroma característicos pueden aislarse a partir de las flores de plantas de las especies de *Nicotiana*. Algunos de estos compuestos se pueden considerar volátiles en condiciones ambientales normales de temperatura, humedad y presión del aire. Los compuestos preferidos presentan atributos sensoriales positivos a concentraciones relativamente bajas. Por ejemplo, una flor adecuada puede proporcionar compuestos tales como 4-ectoisoforona, fitol, alcohol fenético, alcohol bencílico, linalool, varios isómeros de cembreno, varios cembrenodiolos, isoforona, benzoato de metilo, salicilaldehído, salicilato de bencilo, metoxieugenol, thunbergol, varios ácidos carboxílicos, varias oximas, benzaldehído, benzoato de bencilo, escaral, acetofenona, cariofileno, cinamalaldehído, alcohol cinámico, varios isómeros de ciclohexeno-butanona, solavetivona, farnesol, farnesol y similares. Los ejemplos de compuestos adicionales incluyen 1,8-cineol, cis-3-hexen-1-ol, salicilato de metilo, b-ionona, acetovanillona, b-damascona, b-damasconona, dihidroactinidiolida, vanillilacetona, esclareolida, esclareol, cis-abienol, isómeros del cembreno, isómeros del cembratriendiol (p. ej., α -cembratriendiol, β -cembratriendiol), megastigmatrienonas, norsolanadiona, solanona, óxido de cariofileno, derivados del ionol y

similares. Cada uno de estos tipos de compuestos puede ser aislado en forma relativamente pura. Véanse, por ejemplo, Ragusa *et al.*, *Phytochemistry* 63, 265-284 (2003) y Bauer *et al.*, *Common Fragrance and Flavor Materials, Preparation, Properties and Uses*, VCH, República Federal de Alemania (1985). Además, se pueden enlazar compuestos que tienen características de sabor y aroma distintivas, tal como en forma de compuestos enlazados glicosídicamente. Muchos compuestos de interés diferentes pueden estar presentes en las flores de tabaco en forma del glicósido, tal como benzaldehído, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, etilacetofenona, 4-cetoisofenona, acetato de bencilo, 1,8-cineol, linalool, geraniol, eugenol, nerolidol, cembrenodiol, terpineol, megastigmatrienonas y otros compuestos mencionados en la presente memoria. Véanse, por ejemplo, Snook *et al.*, *Phytochemistry* 31, 1639-1647 (1992); Loughrin *et al.*, *Phytochemistry* 31, 1537-1540 (1992); Kodama *et al.*, *Agric. Bio. Chem.* 45, 941-944 (1981); Matsumura *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.* 50, 66-72 (2002); e Ishikawa *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.* 50, 501-507 (2002).

Los compuestos enlazados glicosídicamente, que se refieren a compuestos deseables tales como compuestos con sabor o aromáticos que están en forma de glicósidos, pueden ser difíciles de eliminar de la flor del tabaco mediante extracción en un disolvente. Por esta razón, la liberación y aislamiento de los compuestos de interés puede ser mejorada por pretratamiento de la flor del tabaco usando un procedimiento adaptado para liberar el compuesto deseado disponible para una extracción más eficiente a partir de la flor. Se puede usar cualquier procedimiento adaptado para romper los enlaces glicosídicos. En un modo de realización, como se describe en el ejemplo 2, se puede usar un tratamiento enzimático (p. ej., usando una glicosidasa o una glucocidasa) para liberar los glicósidos de una flor de tabaco para aumentar la extracción de algunos compuestos. En otro modo de realización, como se describe en el ejemplo 3, se puede usar hidrólisis ácida o básica para liberar los glicósidos de una flor de tabaco para aumentar el rendimiento de algunos compuestos con sabor. La hidrólisis ácida o básica generalmente implica el tratamiento de la flor de tabaco con un ácido fuerte (p. ej., ácido clorhídrico o ácido sulfúrico) o una base fuerte (p. ej., hidróxido de sodio) en presencia de agua. Véase *Synthesis and Characterization of Glycosides*, Brito-Arias, Springer, páginas 304-313 (2007). Si se desea, en lugar del pretratamiento de la flor completa para liberar los glicósidos, el material de la flor puede someterse primero a un procedimiento de separación para concentrar los glicósidos, tal como como por eliminación de los materiales altamente insolubles a partir de la biomasa de la planta antes del pretratamiento.

La forma del aislado de flor puede variar. Típicamente, el aislado de flor está en forma de sólido, líquido o semi-sólido o gel. El aislado de flor se puede usar en forma real, absoluta o pura. Las formas sólidas del aislado de flor incluyen las formas de secado por pulverización o secado por liofilización. Las formas líquidas del aislado de flor incluyen aislados contenidos en vehículos disolventes acuosos u orgánicos.

La flor, la flor procesada y los aislados de flor pueden emplearse en varias formas. La flor recolectada o el aislado de flor se pueden emplear como un componente de los tabacos procesados. Por una parte, la flor, o sus componentes, se pueden emplear en una formulación de revestimiento para aplicación en una banda de tabaco (p. ej. usando los tipos de formas y métodos descritos en la patente estadounidense 4.819.668 de Shelar, que se incorpora en la presente memoria como referencia) o en una formulación de cobertura. Alternativamente, la flor, o sus componentes, se pueden emplear como un ingrediente de un material de tabaco reconstituido (p. ej., usando los tipos de procedimientos de reconstitución de tabaco descritos de forma general en las patentes estadounidenses N° 5.143.097 de Sohn; 5.159.942 de Brinkley *et al.*; 5.598.868 de Jakob; 5.715.844 de Young; 5.724.998 de Gellatly; y 6.216.706 de Kumar. La flor, o sus componentes, también pueden ser incorporados en un filtro de un cigarrillo (p. ej., en el tapón del filtro, la envoltura de tapón o el papel de la boquilla) o incorporados en el papel de envoltura del cigarrillo, preferiblemente en la superficie interior, durante el procedimiento de elaboración del cigarrillo.

La flor de *Nicotiana*, la flor procesada y los aislados de flor pueden incorporarse en los artículos para fumar. Las mezclas de tabaco representativas, los diferentes componentes distintos del tabaco y los cigarrillos representativos elaborados a partir de ellos se describen en las patentes estadounidenses N° 4.836.224 de Lawson *et al.*; 4.924.888 de Perfetti *et al.*; 5.056.537 de Brown *et al.*; 5.220.930 de Gentry; y 5.360.023 de Blakley *et al.*; la solicitud de patentes estadounidense 2002/0000235 de Shafer *et al.*; y la PCT WO 02/37990. Estos materiales de tabaco también se pueden emplear para la elaboración de los tipos de cigarrillos que se describen en las patentes estadounidenses N° 4.793.365 de Sensabaugh; 4.917.128 de Clearman *et al.*; 4.947.874 de Brooks *et al.*; 4.961.438 de Korte; 4.920.990 de Lawrence *et al.*; 5.033.483 de Lawrence *et al.*; 5.033.483 de Clearman *et al.*; 5.074.321 de Gentry *et al.*; 5.105.835 de Drewett *et al.*; 5.178.167 de Riggs *et al.*; 5.183.062 de Clearman *et al.*; 5.211.684 de Shannon *et al.*; 5.247.949 de Deevi *et al.*; 5.551.451 de Riggs *et al.*; 5.285.798 de Banerjee *et al.*; 5.593.792 de Farrier *et al.*; 5.595.577 de Bensalem *et al.*; 5.816.263 de Counts *et al.*; 5.819.751 de Barnes *et al.*; 6.095.153 de Beven *et al.*; 6.311.694 de Nichols *et al.*; y 6.367.481 de Nichols *et al.*; la publicación de solicitud de patente estadounidense N° 2008/0092912 de Robinson *et al.*; y la PCT WO 97/48294 y PCT WO 98/16125. Véanse, también, los tipos de cigarrillos comercializados descritos en *Chemical and Biological Studies on New Cigarette Prototypes that Heat Instead of Burn Tobacco*, 12:5, pág. 1-58 (2000).

La flor de *Nicotiana*, la flor procesada y los aislados de flor se pueden incorporar en los productos de tabaco sin combustión, tales como rape húmedo suelto, rape seco suelto, tabaco para mascar, piezas de tabaco aglomerado (p. ej. con forma de píldoras, comprimidos, esferas, monedas, gránulos, obloide o granos), bandas de tabaco extruido o conformado, piezas, barras, cilindros o bastoncillos, polvos molidos finamente divididos, aglomerados molidos o finamente divididos o piezas y componentes pulverizados, piezas con forma de copos, piezas de tabaco

5 procesado moldeadas, piezas de tabaco que contienen chicle, rollos de película con forma de cinta, películas o
bandas fácilmente solubles en agua o dispersables en agua (véase, p. ej., la publicación de solicitud de patente
estadounidense N° 2006/0198873 de Chan *et al.*) o materiales similares a las cápsulas que poseen una capa
10 exterior (p. ej., una capa exterior dura o plegable que puede ser de naturaleza transparente, incolora, traslúcida, o
muy coloreada) y una región interior que tiene tabaco o sabor a tabaco (p. ej., un fluido newtoniano y un fluido
tixotrópico que incorporan tabaco en alguna forma). Varios tipos de productos de tabaco sin combustión se
describen en las patentes estadounidenses N° 1.376.586 de Schwartz; 3.696.917 de Levi; 4.513.756 de Pittman *et*
15 *al.*; 4.528.993 de Sensabaugh Jr. *et al.*; 4.624.269 de Story *et al.*; 4.987.907 de Townsend; 5.092.352 de Sprinkle III
et al.; y 5.387.416 de White *et al.*; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense N° 2005/0244521 de
Strickland *et al.* y 2008/0186730 de Engstrom *et al.*; la PCT WO 05/016036 de Bjorkhlom y la PCT WO 05/041699 de
Quinter *et al.* Véanse también los tipos de formulaciones de tabaco sin combustión, ingredientes y metodologías de
procesamiento descritos en las patentes estadounidenses n° 6.953.040 de Atchley *et al.* y 7.032.601 de Atchley *et*
20 *al.*; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense N° 2002/0162562 de Williams; 2002/0162563 de
Williams; 2003/0070687 de Atchley *et al.*; 2004/0020503 de Williams, 2005/0178398 de Breslin *et al.*; 2006/0191548
de Strickland *et al.*; 2007/0062549 de Holton Jr. *et al.*; 2007/0186941 de Holton Jr *et al.*; 2007/0186942 de Strickland
25 *et al.*; 2008/0029110 de Dube *et al.*; 2008/0029116 de Robinson *et al.*; 2008/0029117 de Mua *et al.*; 2008/0173317 de
Robinson *et al.*; y 2008/0209586 de Neilsen *et al.*

La cantidad de flor o de aislado de flor añadida a la composición de tabaco, o incorporada de otra forma en la
composición de tabaco o en el producto de tabaco puede depender de la función deseada de dicho componentes de
20 la flor, la elaboración química de dicho componente, y el tipo de composición de tabaco a la que se añade el
componente de la flor. La cantidad añadida a la composición de tabaco puede variar, pero típicamente no excede de
aproximadamente 5 por ciento en peso con respecto al peso seco total de la composición de tabaco a la que se
añade la flor o el aislado de flor. Cuando se emplea la flor en un artículo para fumar, la cantidad de flor típicamente
25 será al menos de aproximadamente 5 ppm, generalmente al menos aproximadamente 10 ppm, y a menudo al
menos aproximadamente 100 ppm, con respecto al peso seco total del material de tabaco en el artículo para fumar;
pero típicamente será de menos de aproximadamente 5 por ciento, generalmente menos de 2 por ciento y a menudo
menos de aproximadamente 1 por ciento, con respecto al peso seco total del material de tabaco en el artículo para
fumar. Cuando la flor se emplea en un producto de tabaco sin combustión, la cantidad de flor será típicamente de
30 menos de al menos aproximadamente 5 ppm, generalmente al menos aproximadamente 10 ppm y a menudo al
menos aproximadamente 100 ppm, con respecto al peso seco total del material de tabaco en el producto de tabaco
sin combustión; pero será típicamente menos de aproximadamente 5 por ciento, generalmente menos de 2 por
ciento, y a menudo menos de aproximadamente 1 por ciento, con respecto al peso seco total del material de tabaco
en el producto de tabaco sin combustión.

Parte experimental

35 Los aspectos de la presente invención se ilustran más completamente mediante los siguientes ejemplos, que se
describen para ilustrar algunos aspectos de la presente invención y no deben ser considerados como limitantes de
ella.

Ejemplo 1

40 Flores de *N. alata* vivas que habían sido cultivadas en una cámara de crecimiento con un régimen de iluminación de
16 horas de día y 8 horas de noche se recogen durante el momento que representa la iluminación nocturna (es
decir, aproximadamente a las 10 pm). Estas flores se ponen inmediatamente en contacto con un disolvente orgánico
con el fin de proporcionar una mezcla. Es decir, aproximadamente 5 a 6 flores recogidas recientemente se mezclan
con aproximadamente 50 mL de heptano en un matraz de extracción y de esta forma se obtienen un total de ocho
matraces de extracción que contienen aproximadamente idéntica cantidad de ingredientes.

45 Cada una de las mezclas se somete inmediatamente a condiciones de extracción. Es decir, cada uno de los
matraces de extracción se procesa durante aproximadamente 20 minutos usando un sistema de extracción
acelerado con microondas (p. ej., un MARSX modelo N° 907600 disponible en CEM Corp. MARSX) que puede ser
ajustado a 69°C. De esta forma, se extraen varios componentes florales a partir de las flores y se disuelven o se
dispersan en el heptano.

50 Los matraces de extracción se enfrían a menos de 10°C durante un periodo aproximado de 2 horas. A continuación,
el heptano se elimina de las muestras a aproximadamente 40°C usando técnicas de evaporación rotatoria y una
corriente de nitrógeno seco, de forma que se obtiene un volumen final de aproximadamente 2 mL. El extracto turbio
resultante se filtra a continuación a través de un autovial de PTFE Whatman de 0,45 µM, y se añade una pequeña
cantidad de sulfato de sodio seco al extracto recogido para eliminar el agua residual. El extracto claro, ligeramente
55 amarillo verdoso, resultante se analiza a continuación usando técnicas de cromatografía de gases/espectrometría de
masas (GC/MS).

Los componentes extraídos de la flor que se identifican como picos usando el análisis por GC/MS incluyen varias
ceras (p. ej., hidrocarburos de cadena larga), ácidos carboxílicos y ésteres de ácidos carboxílicos, así como varios
otros componentes que presentan atributos sensoriales. Estos componentes incluyen isómeros de heptanol,

metiloctanoato, ácido 2-metilpropiónico, ácido 2-metilbutírico, 4-cetoisoforona, ácido 4-metilpentanoico, ácido hexanoico, alcohol fenilico, acilato de dodecilo nerolidol, ácido octanoico, eugenol, 5-acetoximetil-2-furfural, isómeros del farnesal, 1-hexadecano, 1-octadeceno, fitol, acetovanillina, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, ácido oleico, ácido linoléico, vainillina, acrilato de dodecilo y aristolona.

5 Ejemplo 2

Se recogen flores de *N. alata* vivas que habían sido cultivadas en una cámara de crecimiento con un régimen de iluminación de 16 horas de día y 8 horas de noche. Estas flores se congelan inmediatamente en nitrógeno líquido; y a continuación se retiran, se machacan y se pulverizan con un mortero y su mano mientras que se exponen a nitrógeno líquido. Las flores machacadas resultantes, que pesan de aproximadamente 20 g a aproximadamente 32 g en base a su peso húmedo, se someten a tratamiento enzimático usando 100 mg de β -glucosidasa de almendras (> 2 unidades/mg). Las suspensiones se colocan en un baño de agua a 45°C durante 48 horas, después de lo cual se realiza la extracción con hexano. El hexano se evapora hasta aproximadamente 2,0 mL. A continuación se analiza el extracto en hexano por GC-MS.

Como componentes del extracto se identifican benzaldehído, alcohol bencílico, alcohol fenilico, acetato de bencilo y linalool; y la cantidad de estos compuestos en el extracto está a niveles más elevados en comparación con un extracto similar no sometido a tratamiento enzimático. Se cree que el tratamiento enzimático de la flor puede aumentar la liberación de algunos compuestos con sabor y aroma deseables, lo que produce una etapa de extracción en disolvente más productiva. Como se ha indicado, se obtuvieron cantidades mayores de algunos compuestos sometiendo primero a la flor a un tratamiento enzimático y a continuación tratando el material resultante con un disolvente.

Ejemplo 3

Se recogen flores de *N. alata* vivas y bien se procesan inmediatamente como se ha descrito anteriormente, bien al día siguiente después de almacenamiento en un refrigerador a 4°C o bien se liofilizan antes de procesamiento adicional. Cada uno de los tres tipos de materia prima obtenidos de las flores se divide en dos o más de los siguientes grupos de tratamiento: agua (control), HCl 2,5N o 5N y NaOH 3N. Se muelen las flores liofilizadas y se añaden 2,5 g de material floral a un matraz de extracción en microondas además de 10 mL de agua o HCl 2,5N. El material en el matraz se incuba durante 30 minutos a temperatura ambiente. Para las flores procesadas inmediatamente o al día siguiente, se colocan 5 flores enteras en un matraz de extracción por microondas junto con 1 mL de agua, de HCl 5N o NaOH y se incuban durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después del periodo de incubación para todos los grupos de tratamiento, se añaden 50 mL de hexano y una barra de agitación de carbono a cada matraz, los matraces se sellan y los matraces se calientan en un microondas a una temperatura de 69°C durante 20 minutos (la rampa de aumento de temperatura es de 10 minutos). A continuación, las muestras se enfrían en un frigorífico durante una hora. El hexano se evapora hasta aproximadamente 2,0 mL en cada matraz. El extracto en hexano se analiza a continuación por GC-MS.

El pretratamiento de las flores bien con un ácido o bien con una base aumenta el rendimiento de la extracción de algunos compuestos deseables en comparación con la muestra de control, incluyendo compuestos tales como alcohol fenilico, alcohol bencílico, eugenol, 4-cetoisoforona y megastigmatrienona. Este resultado sugiere que algunos compuestos deseables están presentes en las flores de tabaco en forma de alcóxidos que no se extraen fácilmente en un disolvente sin destrucción del enlace glicosídico por pretratamiento, tal como mediante hidrólisis ácida o básica. El procesamiento de las flores frescas en el mismo día que la recolección produce una concentración mayor en la extracción de algunos compuestos deseables, en comparación con las muestras liofilizadas o las muestras procesadas al día siguiente.

Muchas modificaciones y otros modos de realización de la invención serán evidentes a los expertos en la técnica que esta invención se refiere al beneficio de las enseñanzas presentadas en la descripción precedente. Por lo tanto, se debe entender que la invención no debe limitarse a los modos de realización específicos descritos y que se pretende que las modificaciones y otros modos de realización deben estar incluidos en las reivindicaciones adjuntas. Aunque en la presente memoria se incluyen términos específicos, estos se usan solo en un sentido genérico y descriptivo y no con un objetivo de limitación.

REIVINDICACIONES

- 1.- Una composición de tabaco para usarla en un artículo para fumar o en una composición de tabaco sin combustión que comprende un aislado de flor derivado de una flor de las especies de *Nicotiana*, en la que el aislado de flor está en forma de un aislado de flor transformado químicamente, eligiéndose la transformación química entre reacción ácido/base, hidrólisis, tratamiento térmico, tratamiento enzimático y sus combinaciones.
- 2.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que la transformación química libera al menos una porción de un compuesto enlazado glicosídicamente en la flor de las especies de *Nicotiana*.
- 3.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que la composición de tabaco comprende un aislado de flor en forma de un extracto de una flor tratada enzimáticamente de las especies de *Nicotiana*.
- 4.- La composición de tabaco según la reivindicación 3, en la que la flor tratada enzimáticamente es una flor tratada con una glicosidasa o una glucosidasa.
- 5.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que el aislado de flor transformado químicamente es un aislado de flor que ha sido sometido a una reacción elegida entre esterificación, transesterificación, conversión isomérica, formación de acetal, descomposición de acetal y reacciones de azúcar invertido.
- 6.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que el aislado de flor se mezcla con uno o más ingredientes adicionales elegidos entre saborizantes, ingredientes de relleno, aglomerantes, ajustadores de pH, agentes amortiguadores, colorantes, ayudas para la disgregación, antioxidantes, humectantes y conservantes.
- 7.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que la especie de *Nicotiana* se elige entre el grupo que consiste en *N. alata*, *N. arentsii*, *N. excelsior*, *N. forgetiana*, *N. glauca*, *N. glutinosa*, *N. gossei*, *N. kawakamii*, *N. knightiana*, *N. langsdorffi*, *N. otophora*, *N. setchellii*, *N. sylvestris*, *N. tomentosa*, *N. tomentosiformis*, *N. undulata*, *N. xsanderæ*, *N. africana*, *N. amplexicaulis*, *N. benavidesii*, *N. bonariensis*, *N. debneyi*, *N. longiflora*, *N. maritima*, *N. megalosiphon*, *N. occidentalis*, *N. paniculata*, *N. plumbaginifolia*, *N. raimondii*, *N. rosulata*, *N. rustica*, *N. simulans*, *N. stocktonii*, *N. suaveolens*, *N. tabacum*, *N. umbrática*, *N. velutina*, *N. wigandioides*, *N. acaulis*, *N. acuminata*, *N. attenuata*, *N. benthamiana*, *N. cavicola*, *N. vlevelandii*, *N. cordifolia*, *N. corymbosa*, *N. fragans*, *N. goodspeedii*, *N. linearis*, *N. miersii*, *N. nudicaulis*, *N. obtusifolia*, *N. occidentalis subespecie Hersperis*, *N. pauciflora*, *N. petunioides*, *N. quadrivalvis*, *N. repanda*, *N. rotundifolia*, *N. solanifolia* y *N. spegazzinii*.
- 8.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que la composición de tabaco comprende un aislado de flor que comprende uno o más compuestos elegidos entre el grupo que consiste en heptanol, octanoato de metilo, ácido 2-metilpropiónico, ácido 2-metilbútrico, 4-cetoisoforona, ácido 4-metilpentanoico, ácido hexanoico, alcohol bencílico, linalool, alcohol fenético, acilato de dodecilo, nerolidol, ácido octanoico, eugenol, metoxieugenol, 5-acetoximetil-2-furfural, farnesal, farnesol, 1-hexadecano, 1-octadeceno, fitol, acetovanillina, cinamaldehído, alcohol cinámico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico, ácido oleico, ácido linolénico, benzoato de metilo, salicilaldehído, salicilato de bencilo, cembrenodiol, isoforona, oximas, solavetivona, thunbergol, vanillina, acrilato de dodecilo, cembrenol, benzaldehído, benzoato de bencilo, escaral, acetofenona, cariofileno, isómeros de ciclohexeno-butanona, aristolona, 8-cineol, cis-3-hexen-1-ol, salicilato de metilo, b-ionona, acetovanillona, b-damascona, b-damascenona, dihidroactinidiolida, vanillilacetona, esclareolida, esclareol, cis-abienol, isómeros del cembreno, isómeros del cembratrienodiol, megastigmatrienonas, norsolanadiona, solanona, óxido de cariofileno y derivados del ionol.
- 9.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que la composición de tabaco comprende un aislado de flor en forma líquida, secado por pulverización o secado por liofilización.
- 10.- La composición de tabaco según la reivindicación 1, en la que el aislado de flor está en forma de una formulación de envoltura o una formulación de cobertura aplicada a una lámina de tabaco o en forma de un aditivo para un material de tabaco reconstituido.
- 11.- Un producto de tabaco en la forma de un artículo para fumar o de un producto de tabaco sin combustión que comprende una composición de tabaco según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
- 12.- El artículo para fumar según la reivindicación 11, en la que la cantidad de aislado de flor en la composición de tabaco está entre aproximadamente 5 ppm y aproximadamente 5 por ciento en peso con respecto al peso seco total del material de tabaco en el artículo para fumar o el producto de tabaco sin combustión.
- 13.- Un método para preparar un aditivo derivado de una flor de las especies de *Nicotiana* para añadir a una composición de tabaco, comprendiendo el método:
- recibir una flor recolectada o una de sus partes;
 - procesar la flor recolectada o una de sus partes separando un aislado de flor a partir de la flor recolectada, comprendiendo la etapa de separación tratar la flor recolectada o una de sus partes para liberar al menos una parte de un compuesto enlazado glicosídicamente en ella y formar un material de la flor tratado, y a

continuación extraer el material de la flor tratado con un disolvente para producir un aislado de tabaco, eligiéndose el disolvente entre disolventes polares, disolventes orgánicos y fluidos supercríticos; y

iii) añadir el aislado de flor producido en la etapa ii) a una composición de tabaco adaptada para su uso en un artículo para fumar o una composición de tabaco sin combustión.

5 14.- El método según la reivindicación 13, en el que la flor recolectada, su parte, o el aislado de flor se transforma químicamente por reacción ácido/base, hidrólisis, tratamiento térmico, tratamiento enzimático o una combinación de ellos.

10 15.- El método según la reivindicación 13, en el que la etapa de separación comprende someter a la flor recolectada o una de sus partes a un tratamiento enzimático para aumentar la liberación de compuestos saborizantes o aromáticos a partir de la flor recolectada o una de sus partes, y someter al material de la flor tratado enzimáticamente a extracción en disolvente para formar el aislado de tabaco.

16.- El método según la reivindicación 15, en el que el tratamiento enzimático comprende el tratamiento de la flor recolectada o una de sus partes con una glicosidasa o con una glucocidasa.

15 17.- El método según la reivindicación 13, en el que la etapa de separación comprende congelar una flor recolectada o una de sus partes para formar un material de la flor congelada, procesar la flor congelada en forma de partículas, someter el material de la flor en partículas a un tratamiento enzimático para alterar químicamente el material de la flor en partículas y extraer el material de la flor en partículas con un disolvente orgánico para producir el aislado de tabaco.

20 18.- El método según la reivindicación 13, en el que el tratamiento para liberar al menos una parte de un compuesto enlazado glicosídicamente es un tratamiento enzimático, hidrólisis ácida o hidrólisis básica.

19.- El método según la reivindicación 13, en el que la etapa de separación comprende además la destilación molecular del aislado de flor.

20.- El método según la reivindicación 13, en el que la etapa de separación comprende concentrar los compuestos enlazados glicosídicamente en la flor recolectada o una de sus partes antes de la etapa de tratamiento.

25