



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110215475 B

(45) 授权公告日 2021. 10. 26

(21) 申请号 201910517895.9

(22) 申请日 2019.06.14

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 110215475 A

(43) 申请公布日 2019.09.10

(73) 专利权人 华南理工大学

地址 510640 广东省广州市天河区五山路
381号

(72) 发明人 任娇艳 高立

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限公司 44102

代理人 何淑珍 江裕强

(51) Int. Cl.

A61K 36/54 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102872195 A, 2013.01.16

钟益宁等. 肉桂枝叶非挥发部分总多酚测定及其体外抗菌作用.《中成药》.2016,第36卷(第10期),2297-2300.

乔丽萍等. 酚酸生物活性研究进展.《中国食品学报》.2013,第13卷(第10期),144-152.

张海晴等. 桂枝中酚类提取物潜在作用靶点的探索.《南京中医药大学学报》.2019,第35卷(第03期),319-325.

审查员 江雪芹

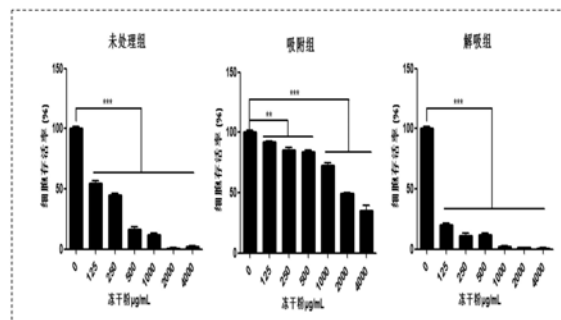
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚及其制备方法与应用

(57) 摘要

本发明公开了一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚及其制备方法与应用。该方法包括：将桂枝粉碎，过筛，得到桂枝粉末，将桂枝粉末加入乙醇溶液中，混匀，加热进行提取处理，得到提取液；将提取液离心取上清液，过滤取滤液，浓缩，冷干得到冻干粉；将冻干粉加入水中，混匀，得到混合液，将大孔树脂加入混合液中，进行吸附处理，抽滤取滤渣，将滤渣加入乙醇溶液中，进行解吸处理，得到解吸液；将解吸液抽滤，取滤液，浓缩，冷冻干燥得到所述具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚。本发明提供的桂枝提取物具有抑制人结肠癌细胞SW620增殖的活性，可用于制备治疗结肠癌药物的开发，为中药配伍应用于临床抗肿瘤药物研究提供实验基础和科学依据。



1. 具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚在制备抑制肠癌细胞增殖的药物中的应用, 其特征在于所述桂枝多酚的制备方法包括如下步骤:

(1) 将桂枝粉碎, 过筛, 得到桂枝粉末, 然后将桂枝粉末加入乙醇溶液中, 混合均匀, 加热进行提取处理, 得到提取液; 所述乙醇溶液的体积百分比浓度为80%-100%; 所述桂枝粉末与乙醇溶液的质量体积比为50-100:1 mg/mL; 加热进行提取处理的温度为60-90摄氏度, 所述加热进行提取处理的时间为1-3h;

(2) 将步骤(1)所述提取液进行离心处理, 取上清液, 过滤取滤液, 浓缩, 冷冻干燥得到冻干粉;

(3) 将步骤(2)所述冻干粉加入水中, 所述冻干粉与水的质量体积比为10-30:1mg/mL, 混合均匀, 得到混合液, 将大孔树脂加入混合液中, 进行吸附处理, 抽滤取滤渣, 将滤渣加入乙醇溶液中, 置于摇床中进行解吸处理, 得到解吸液; 所述乙醇溶液的体积分数为80%-100%, 所述冻干粉与乙醇溶液的质量体积比为10-50: 1mg/mL; 所述置于摇床中进行解吸处理的摇床转速为50-200 rpm; 所述解吸处理的温度为20-25℃, 解吸处理的时间为0.15-12h; 所述大孔树脂的型号选自AB-8、D101及ADS-17; 大孔树脂与混合液的质量体积比为20-100:1mg/mL;

(4) 将步骤(3)所述解吸液抽滤, 取滤液, 浓缩, 冷冻干燥得到所述具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚。

2. 根据权利要求1所述的应用, 其特征在于, 步骤(1)所述桂枝粉末的粒度为20-100目。

3. 根据权利要求1所述的应用, 其特征在于, 步骤(2)所述离心处理的速率为4000-6000 rpm, 离心处理的时间为10-15min。

4. 根据权利要求1所述的应用, 其特征在于, 步骤(3)所述吸附处理是在摇床中进行的, 所述摇床的转速为50-200 rpm; 所述吸附处理的温度为20-25摄氏度, 吸附处理的时间为3-15h。

5. 根据权利要求1~4任一项所述的应用, 其特征在于, 步骤(2)、步骤(4)所述浓缩的方式包括减压浓缩, 所述减压浓缩的温度为50-65℃; 步骤(2)、步骤(4)所述冷冻干燥的方式包括真空冷冻干燥。

一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于桂枝提取技术领域,具体涉及一种具有抑制肠癌细胞增殖作用的桂枝多酚及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 大肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,主要包括结肠癌和直肠癌,近年来发病率及死亡率逐年上升,根据ACS《2015癌症统计》数据显示,死亡率仅次于肺癌,约为47%。我国结肠癌发病率、死亡率在全部恶性肿瘤中均位居第5位,其中新发病例37.6万,死亡病例19.1万;发病率和死亡率在35岁之后快速增长,至80岁以上达到高峰;城市地区远高于农村,且发现时已属于中晚期,严重威胁到了结肠癌患者的身体健康和正常生活。

[0003] 目前临床上用于治疗肠癌的药物以化学药品为主,化疗在杀伤肿瘤的同时对机体正常组织器官也有一定程度的毒副作用。随着现代医学的发展,越来越多从中药中提取的有效成分已应用于临床治疗,得益于中草药高效的药理活性以及毒副作用小等优点。

[0004] 我国中草药的使用已有上千年历史,丰富的中草药资源为研制抗癌药物提供了重要的物质基础。Liu等研究发现丹参对人肝癌细胞Hep G2具有细胞毒性作用,能显著抑制Hep G2细胞增殖及引起细胞凋亡。以丹参为主要原料制成的丹参注射剂和丹参制剂等在已在临床上广泛用于抗肿瘤。已有大量研究证实莪术挥发油具有抗肿瘤作用,吴皓等的研究表明莪术醇能通过抑制PI3K/AKT通路诱导人肝癌HepG2细胞凋亡,并且莪术已被作为抗肿瘤药用于肝癌、子宫颈癌和白血病的化疗。赵行宇等研究发现从喜树中提取出的喜树碱可以通过激活线粒体依赖途径,并活化作用底物PARP以诱导宫颈癌HeLa细胞凋亡从而发挥抗肿瘤作用;已有临床试验将喜树碱应用于宫颈癌、肺癌及其他癌症的化疗,成效显著。

[0005] 桂枝为樟科植物肉桂的干燥嫩枝,始载于《神农本草经》,味辛、甘,性温,具有散寒解表、温通经脉、通阳化气之功效。现代药理研究表明,桂枝中含有以桂皮醛为主的挥发性成分,另外还含有有机酸类、香豆素、鞣质类、甾体类、糖类等活性成分。在临床实践过程中形成了一系列以桂枝为主药的经典方剂,如桂枝汤、黄芪桂枝五物汤、桂枝茯苓丸等,已广泛应用于临床上治疗心力衰竭、免疫性疾病、子宫肌瘤等疾病。但是,目前桂枝主要以未经纯化的粗水提物的形式配伍其他中药在临床应用,其中化学成分及其复杂,难以明确其中除有效成分外是否还含有其他可引起副作用的成分,且具体作用机制尚未阐明。若对其进行一定程度的纯化,在富集有效成分的同时保证药效的发挥,则利于减小用药剂量,能够为探究其中活性物质的具体作用机制以为新药的研发奠定基础。

发明内容

[0006] 为了克服现有技术存在的上述不足,本发明的目的是提供一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚及其制备方法与应用。本发明提供的桂枝提取物具有抑制肠癌细胞的功效,且制备方法简单,有望用于研制治疗肠癌的药物,开拓了治疗肠癌药物的新途径。

[0007] 本发明目的是为了解决抗肠癌药物的制备中现有技术所存在的不足,克服传统的化疗药物所引起的免疫功能受损、产生抗药性等副作用,提供一种桂枝提取物(桂枝多酚)的制备方法,以应用于制备抑制肠癌细胞细胞增殖的药物。

[0008] 本发明的目的至少通过如下技术方案之一实现。

[0009] 本发明提供的一种具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚的制备方法,包括如下步骤:

[0010] (1) 用粉碎机将药材桂枝粉碎,过筛,得到桂枝粉末,然后将桂枝粉末加入乙醇溶液中,混合均匀,在水浴锅中加热进行提取处理(浸提),得到提取液;

[0011] (2) 将步骤(1)所述提取液放入离心机中进行离心处理,取上清液,过滤取滤液(粗提液),浓缩得到浓缩液,冷冻干燥得到冻干粉;

[0012] (3) 将步骤(2)所述冻干粉加入去离子水中(复溶),混合均匀,得到混合液,将大孔树脂(干基)加入混合液中,进行吸附处理(用大孔树脂静态吸附),抽滤取滤渣,将滤渣加入乙醇溶液中,置于摇床中进行解吸处理(利用乙醇溶液吸附大孔树脂所吸附的物质),得到解吸液;

[0013] (4) 将步骤(3)所述解吸液抽滤,取滤液,浓缩,冷冻干燥得到冻干粉,冻干粉含有所述具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚(桂枝多酚含量为60%-89%)。

[0014] 进一步地,步骤(1)所述桂枝粉末的粒度为20-100目;所述乙醇溶液的体积百分比浓度为80%-100%;所述桂枝粉末与乙醇溶液的质量体积比为50-100:1mg/mL。

[0015] 优选地,所述提取处理,可以进行多次提取,第一次提取处理,固液分离,得到第一次提取液与第一次滤渣,将第一次滤渣重新加入水中,重新加热至60-80℃,加热时间为1-3h,进行下一轮提取,固液分离,然后得到第二次提取液与第二次滤渣;以此类推,可以反复对枳实粉末进行提取,充分利用枳实粉末中的有效成分,然后将提取液合并再进行下一步骤;所述提取处理的次数为1-3次。

[0016] 进一步地,步骤(1)所述加热进行提取处理的温度为60-90摄氏度,所述加热进行提取处理的时间为1-3h。

[0017] 进一步地,步骤(2)所述离心处理的速率为4000-6000rpm,离心处理的时间为10-15min。

[0018] 进一步地,步骤(3)所述冻干粉与水的质量体积比为10-30:1mg/mL。

[0019] 进一步地,所述大孔树脂使用前需要进行预处理,先在水乙醇中浸泡24h以活化,再用蒸馏水洗涤至无乙醇味,抽滤分离得到预处理后的大孔树脂。

[0020] 进一步地,步骤(3)所述大孔树脂的型号包括AB-8、D101、NKA-9及ADS-17;大孔树脂与混合液的质量体积比为20-100:1mg/mL;所述吸附处理是在摇床中进行的,所述摇床的转速为50-200rpm;所述吸附处理的温度为20-25摄氏度,吸附处理的时间为3-15h。

[0021] 进一步地,步骤(3)所述乙醇溶液的体积分数为80%-100%,所述冻干粉与乙醇溶液的质量体积比为10-50:1mg/mL;所述置于摇床中进行解吸处理的摇床转速为50-200rpm;所述解吸处理的温度为20-25℃,解吸处理的时间为0.15-12h。

[0022] 进一步地,步骤(2)、步骤(4)所述浓缩的方式包括减压浓缩,所述减压浓缩的温度为50-65℃;步骤(2)、步骤(4)所述冷冻干燥的方式包括真空冷冻干燥。

[0023] 本发明提供一种由上述的制备方法制得的具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚。

[0024] 本发明提供的具有抑制肠癌细胞增殖的桂枝多酚能够应用于制备抑制肠癌细胞增殖的药物中。

[0025] 与现有技术相比,本发明具有如下优点和有益效果:

[0026] (1) 本发明提供的制备方法步骤简单,经大孔树脂吸附并经乙醇解吸后,得到的桂枝提取物具有抑制肠癌细胞的功效,可用于制备治疗肠癌的中药提取物,开拓了治疗肠癌中药原料的新途径,有一定的经济效益和社会效益。

附图说明

[0027] 图1是未处理组、吸附后组及解吸组物质(冻干粉定量)对人结肠癌SW620细胞增殖的影响图;

[0028] 图2是未处理组、吸附后组及解吸组物质(多酚定量)对人结肠癌SW620细胞增殖的影响图;

[0029] 图3是不同浓度下各组桂枝提取物对人结肠癌SW620细胞形态的影响图。

具体实施方式

[0030] 以下结合附图和实例对本发明的具体实施作进一步说明,但本发明的实施和保护不限于此。需指出的是,以下若有未特别详细说明之过程,均是本领域技术人员可参照现有技术实现或理解的。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,视为可以通过市售购买得到的常规产品。

[0031] 实施例1

[0032] 一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚的制备方法,包括如下步骤:

[0033] 用粉碎机将桂枝原料制成粉末,过20目筛,按照50:1mg/mL的料液比例加入体积分数为95%的乙醇溶液2000mL,在80℃水浴锅中提取1h,提取2次;将醇提物放入离心机中在5000r/min条件下离心10min除去固体残渣;粗提液减压真空浓缩后真空冷冻干燥,得到桂枝冻干粉(即后面实施例5测试用的未经树脂处理的桂枝提取物);将桂枝冻干粉用去离子水复溶配制成25mg/mL的桂枝粉末溶液,按照20mL桂枝粉末溶液加2g已活化的ADS-17大孔树脂的比例进行静态吸附,于摇床中在25℃、200rpm条件下吸附10h;将吸附后的大孔树脂抽滤得到滤液和滤渣(此处的滤液冷冻干燥后,即为后面实施例5测试用的经树脂吸附后的桂枝提取物),将滤渣加入20mL体积分数为95%乙醇溶液中,于摇床中在25℃、200rpm条件下解吸2h,抽滤除去解吸后的树脂,收集乙醇解吸液,在60℃下减压浓缩以除去乙醇,将浓缩液真空冷冻干燥,得到冻干粉(即后面实施例5测试用的从树脂中解吸出的桂枝提取物),其中,所述具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚含量为89.00%。

[0034] 实施例2

[0035] 一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚的制备方法,包括如下步骤:

[0036] 用粉碎机将桂枝原料制成粉末,过60目筛,按照100:1mg/mL料液比例加入无水乙醇1000mL,在75℃水浴锅中提取2h;将醇提物放入离心机中在4000r/min条件下离心15min除去固体残渣;粗提液减压真空浓缩后真空冷冻干燥;将桂枝冻干粉用去离子水复溶配制成25mg/mL的溶液,按照20mL桂枝溶液加2g已活化的AB-8大孔树脂的比例进行静态吸附,于摇床中在25℃、100rpm条件下吸附8h;将吸附后的大孔树脂抽滤除去液体,分别加入20mL体

积分数为95%乙醇溶液,于摇床中在25℃、100rpm条件下解吸8h,抽滤除去解吸后的树脂,收集乙醇解吸液,在55℃下减压浓缩以除去乙醇,将浓缩液真空冷冻干燥,得到冻干粉,其中,所述具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚含量为60.27%。

[0037] 实施例3

[0038] 一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚的制备方法,包括如下步骤:

[0039] 用粉碎机将桂枝原料制成粉末,过40目筛,按照80:1mg/mL的料液比例加入体积分数为90%乙醇的乙醇溶液1250mL,在80℃水浴锅中提取1.5h;将醇提物放入离心机中在6000r/min条件下离心12min除去固体残渣;粗提液减压真空浓缩后真空冷冻干燥;将桂枝冻干粉用去离子水复溶配制成25mg/mL的溶液,按照20mL桂枝溶液加2g已活化的D101大孔树脂的比例进行静态吸附,于摇床中在25℃、50rpm条件下吸附10h;将吸附后的大孔树脂抽滤除去液体,分别加入20mL体积分数为95%乙醇溶液,于摇床中在25℃、50rpm条件下解吸10h,抽滤除去解吸后的树脂,收集乙醇解吸液,在50℃下减压浓缩以除去乙醇,将浓缩液真空冷冻干燥,得到冻干粉,其中,所述具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚含量为83.12%。

[0040] 实施例4

[0041] 一种具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚的制备方法,包括如下步骤:

[0042] 用粉碎机将桂枝原料制成粉末,过80目筛,按照50mg/mL的料液比例加入体积分数为95%的乙醇溶液2000mL,在85℃水浴锅中提取2h;将醇提物放入离心机中在5000r/min条件下离心15min除去固体残渣;粗提液减压真空浓缩后真空冷冻干燥;将桂枝冻干粉用去离子水复溶配制成25mg/mL的溶液,按照20mL桂枝溶液加2g已活化的ADS-17大孔树脂的比例进行静态吸附,于摇床中在25℃、150rpm条件下吸附15h;将吸附后的大孔树脂抽滤除去液体,分别加入20mL体积分数为95%乙醇溶液,于摇床中在25℃、150rpm条件下解吸5h,抽滤除去解吸后的树脂,收集乙醇解吸液,在60℃下减压浓缩以除去乙醇,将浓缩液真空冷冻干燥,得到冻干粉,其中,所述具有抑制肠癌细胞增殖活性的桂枝多酚含量为85.27%。

[0043] 实施例5桂枝多酚抑制人结肠癌细胞增殖的实验研究

[0044] 1. 实验材料

[0045] 1.1 实验材料

[0046] 实施例1中未经树脂处理的桂枝提取物(未处理组)、经树脂吸附后的桂枝提取物(吸附后组)及从树脂中解吸出的桂枝提取物(解吸组),分别以冻干粉定量用含有10%胎牛血清的细胞完全培养基配制成125、250、500、1000、2000、4000 μ g/mL溶液(Eg:125 μ g/mL=1mL培养基中含125 μ g桂枝冻干粉);以多酚定量用含有10%胎牛血清的细胞完全培养基配制成15.62、31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 μ g/mL溶液(Eg:125 μ g/mL=1mL培养基中含15.62 μ g桂枝总多酚)0.22 μ m滤膜过滤除菌。

[0047] 1.2 实验试剂

[0048] DMEM高糖培养基(GIBCO公司)、胎牛血清(GIBCO公司)、双抗(GIBCO公司)、胰酶(GIBCO公司)、CCK8试剂盒(Dojindo公司)

[0049] 1.3 实验器材

[0050] CO₂培养箱(Sigma公司)、倒置显微镜(Olympus公司)、SynergyH1M酶标仪(BIO-TEK公司)、离心机(Thermo公司);万分之一电子天平(上海安亭科学仪器有限公司)。

[0051] 2. 实验方法

[0052] 2.1 细胞培养

[0053] 从液氮中取出人结肠癌SW620细胞,置于37℃恒温水浴中解冻,加入9倍体积的无血清DMEM高糖培养基,混匀,在1200r/min转速下离心5min,除去上清液,加入含10% (V/V) 胎牛血清和1% (V/V) 双抗的DMEM高糖培养基重悬细胞,将细胞接种于上述培养基中,放入37℃、含5% CO₂培养箱中培养,2天传代1次,取对数生长期的细胞进行实验。

[0054] 2.2 CCK-8法检测细胞增殖

[0055] 实验分组如下:

[0056] (1) 以冻干粉定量:

[0057] ①未处理组:实施例1中大孔树脂吸附前的桂枝粗提物;②吸附组:实施例1中大孔树脂吸附后水溶液中的桂枝粗提物;③解吸组:实施例1中大孔树脂用乙醇解吸出的桂枝提取物;④对照组:SW620细胞和含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基;⑤空白组:含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基。

[0058] (2) 以多酚(福林酚法测定)定量:

[0059] ①未处理组:实施例1中大孔树脂吸附前的桂枝粗提物;②吸附组:实施例1中大孔树脂吸附后水溶液中的桂枝粗提物;③解吸组:实施例1中大孔树脂用乙醇解吸出的桂枝提取物;④对照组:SW620细胞和含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基;⑤空白组:含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基。

[0060] 将细胞丰度为85%-90%的SW620细胞用胰酶消化,制成细胞浓度 2.0×10^4 个/mL的细胞悬液,在96孔板中每孔加入100μL上述细胞悬液,最外周的孔加入100μL PBS缓冲液(pH 7.4, 1×),置于CO₂培养箱中培养16h,使细胞完全贴壁。

[0061] 贴壁后,按照上述两种定量方式(冻干粉定量和多酚定量)对未处理组、吸附组、解吸组分别加入100μL药液,同时设置对照组和空白组。置于CO₂培养箱中继续孵育24h后,吸除孔内全部培养基,每孔加入100μL含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基和10μL CCK-8溶液,置于CO₂培养箱中继续孵育2h后,用酶标仪测定在450nm处的吸光度(OD)值,每组取4个复孔平均值。

[0062] 按照肿瘤细胞生长存活率(%) = $\frac{OD_{\text{药物组}} - OD_{\text{空白组}}}{OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}}} \times 100\%$ 公式计算桂枝

提取物对人结肠癌SW620细胞增殖的影响。

[0063] 3. 数据处理

[0064] 数据结果采用SPASS 24.0软件对试验数据进行统计学分析,P<0.05为有统计学意义。

[0065] 4. 实验结果

[0066] 实施例1中未处理组、吸附组、解吸组中桂枝多酚的含量分别为:18.90%、2.84%、89.00%。桂枝提取物对人结肠癌SW620细胞的增殖具有抑制作用,且呈现剂量依赖效应(如图1所示)。当以冻干粉进行定量时,在同样的剂量下,三个实验组对人结肠癌SW620细胞增殖的抑制效果均为:解吸组>吸附后组>未处理组。吸附后的物质在最高浓度4000μg/mL下SW620细胞的存活率为34.94%,而解吸组在最低浓度125μg/mL时的细胞存活率已下降至

20.08%，抑制人结肠癌SW620细胞增值效果显著强于吸附后组。由于这其组成成分的主要差异来源于多酚含量，故可初步推断由大孔树脂ADS-17富集得到的桂枝多酚为抑制人结肠癌SW620细胞增殖的主要有效物质。

[0067] 以多酚含量为基准进行定量进一步验证的结果，如图2所示，在同样的多酚浓度下，三个组分的桂枝提取物对人结肠癌SW620细胞增殖的抑制效果相近，此结果进一步表明，桂枝多酚为抑制人结肠癌SW620细胞增殖的活性物质，且在15.625 μ g/mL的多酚浓度下抑制率接近50%，即具有显著 ($p<0.001$) 的抑制增殖效果。

[0068] 细胞形态的改变从表观上可反映出其在外界刺激下细胞活性、生理功能已受到影响。通过细胞形态变化来看，如图3所示，当加入实施例1中解吸组以多酚定量的桂枝提取物后，在15.625 μ g/mL的多酚浓度下，人结肠癌SW620细胞形态即发生显著变化，表现为细胞棱角全部消失，收敛变圆，细胞之间部分粘连成团。当达到125.00 μ g/mL的多酚浓度时，细胞总数明显减少，部分细胞出现漂浮，失去贴壁生长能力。以250.00 μ g/mL的多酚浓度作用时，细胞全部收敛成圆点状，体积显著减小，完全失去人结肠癌SW620细胞的正常形态。实施例2、实施例3及实施例4的效果与实施例1相似，可参照图1、图2及图3。

[0069] 5. 实验结论

[0070] 经过本发明制备得到的桂枝多酚具有显著抑制人结肠癌SW620细胞增殖的活性，且抑制效果呈现剂量依赖效应。

[0071] 以上实施例仅为本发明较优的实施方式，仅用于解释本发明，而非限制本发明，本领域技术人员在未脱离本发明精神实质下所作的改变、替换、修饰等均应属于本发明的保护范围。

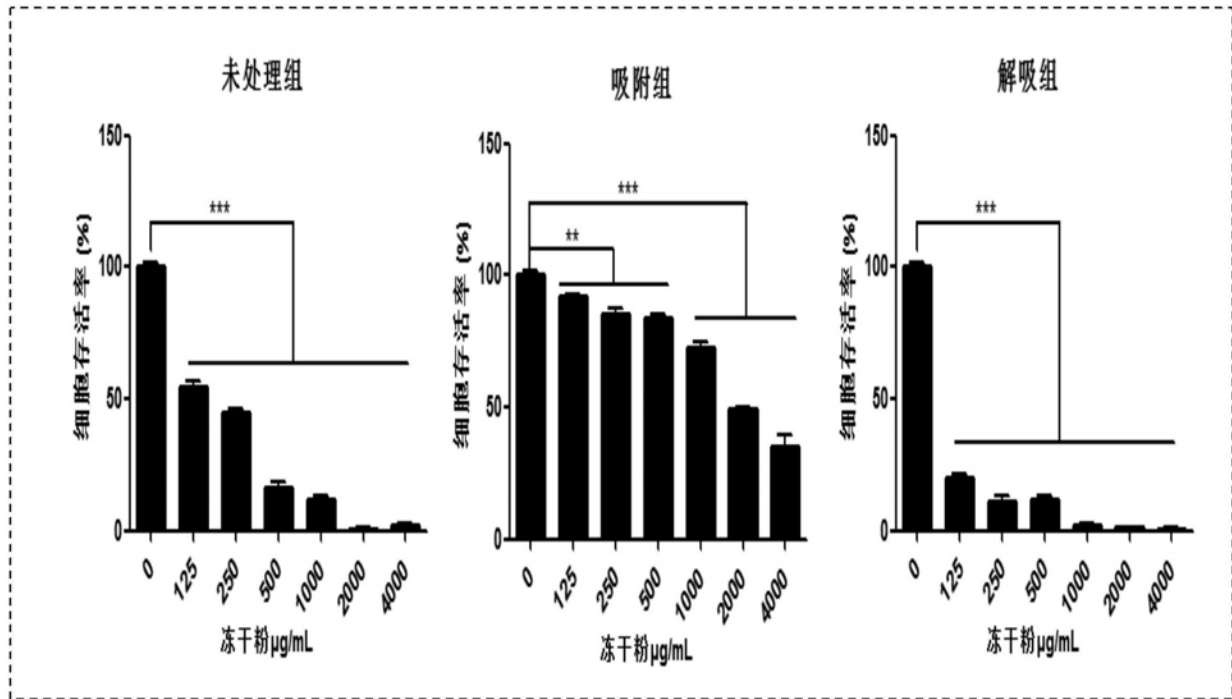


图1

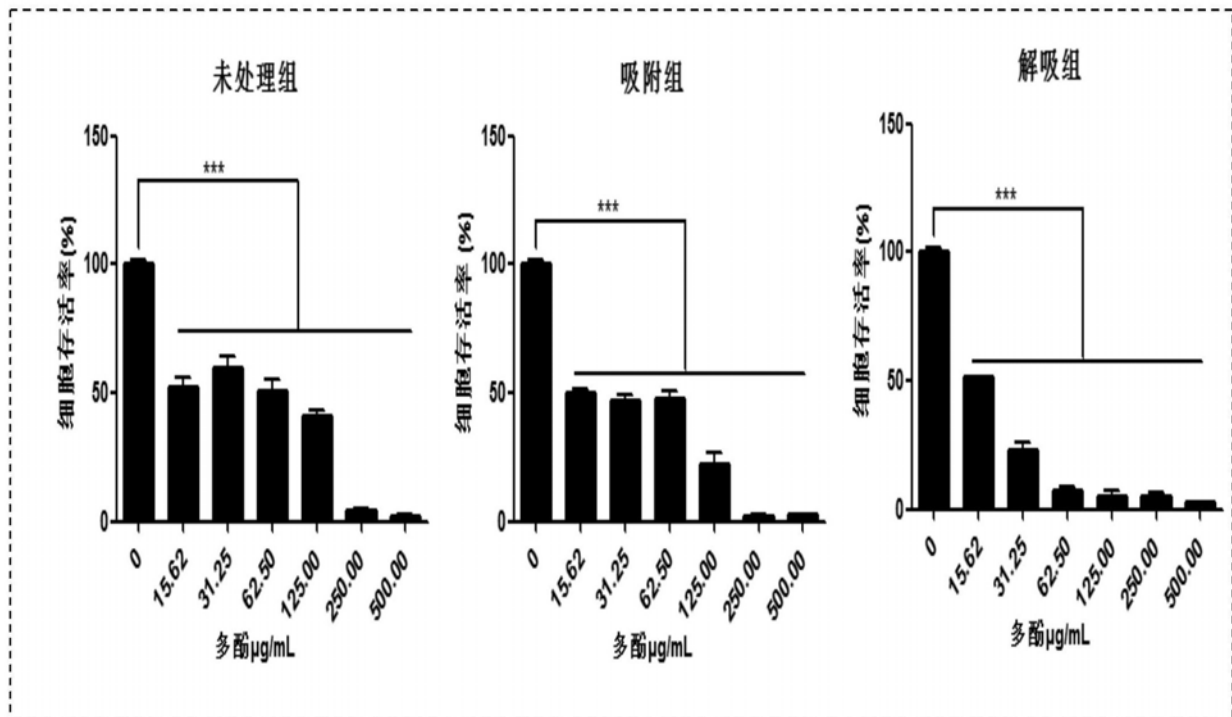


图2

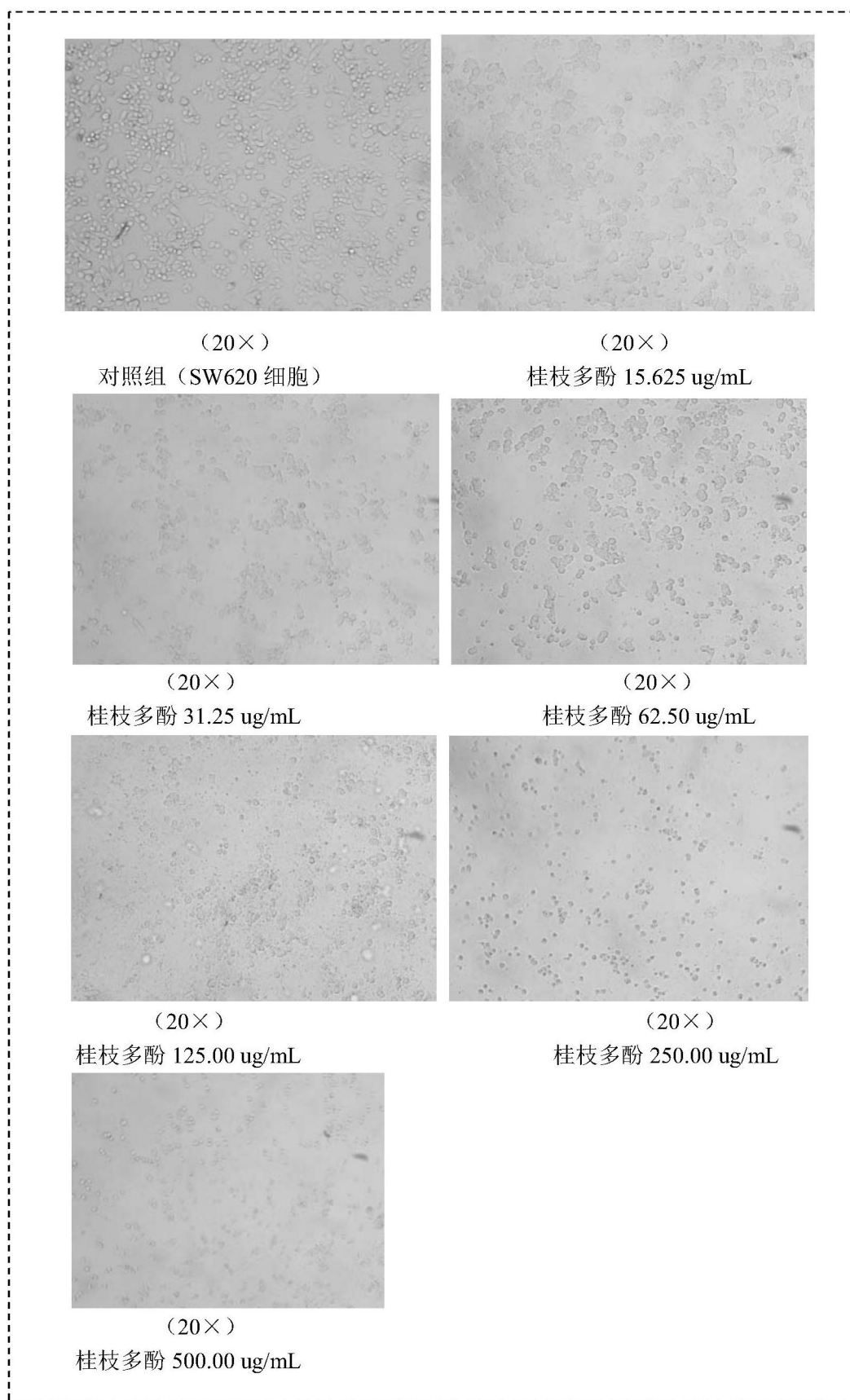


图3