



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105079116 B

(45)授权公告日 2019.03.01

(21)申请号 201510514629.2

A23L 33/00(2016.01)

(22)申请日 2015.08.20

A61P 1/00(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105079116 A

(43)申请公布日 2015.11.25

(73)专利权人 深圳大学

地址 518060 广东省深圳市南山区南海大道3688号粤海门广场A207

(72)发明人 苟德明 康康 吴志琴 王立岩
李荔 黄炼

(74)专利代理机构 广州容大专利代理事务所
(普通合伙) 44326

代理人 刘新年

(51)Int.Cl.

A61K 36/605(2006.01)

(56)对比文件

于黎鹏等,.脂质体经皮给药系统的研究进展.《实用药物与临床》.2014,第17卷(第2期),第217-221页.

陈娟等,.不同品种桑椹香气成分的GC-MS分析.《食品科学》.2010,第31卷(第18期),第239-243页.

李加兴等,.多烯酸植物油及其保健功效研究进展.《食品科学》.2014,第35卷(第21期),第350-354页.

审查员 何华山

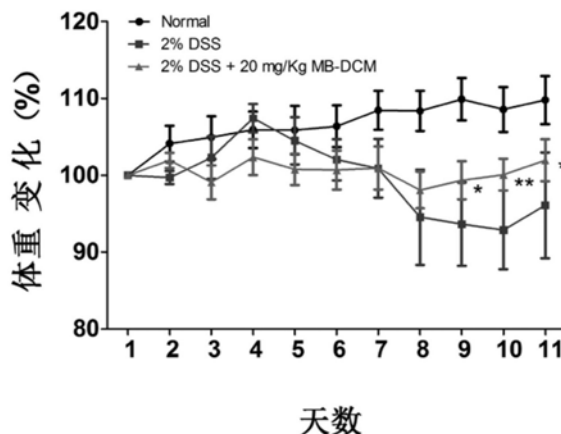
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

一种桑葚二氯甲烷提取物及其制备方法与应用

(57)摘要

本发明公开了一种桑葚二氯甲烷提取物及其制备方法和应用,所述桑葚二氯甲烷提取物是采用酸化乙醇法及有机溶剂萃取法从桑葚中提取而得的,该桑葚二氯甲烷提取物不仅在细胞水平具有较强的抗炎活性,而且能够对小鼠结肠炎具有显著的缓解作用;本发明所提供的桑葚二氯甲烷提取物的制备方法简单,适合大规模工业化生产,有望开发成新的抗炎保健品。



1. 一种桑葚二氯甲烷提取物的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1)、将新鲜的桑葚,搅碎,常温常压下用盐酸酸化的乙醇萃取过夜,收集上清萃取液,重复该步骤2~3次,减压回收乙醇,浓缩萃取液,旋转蒸干至质量不再改变,得到桑葚粗提物;

(2)、将桑葚粗提物溶于水中,再加入等体积的水饱和二氯甲烷进行萃取,收集下层二氯甲烷萃取液,重复该步骤2~3次,减压回收二氯甲烷,浓缩萃取液,旋转蒸干至质量不再改变,得到桑葚二氯甲烷提取物;

所述步骤(1)和(2)中所述萃取条件为:萃取温度为 $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 、萃取压力为100KPa、旋转蒸干的温度为 $50 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

2. 根据权利要求1所述的桑葚二氯甲烷提取物的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述盐酸酸化的乙醇为0.1%的盐酸酸化的80%乙醇。

3. 根据权利要求2所述的桑葚二氯甲烷提取物的制备方法,其特征在于,步骤(1)中所述盐酸酸化的乙醇的制备方法为:先配制终浓度为80%的乙醇溶液,再用盐酸酸化,使得盐酸终浓度为0.1%。

4. 权利要求1~3任一项所述的制备方法制备得到的桑葚二氯甲烷提取物。

5. 权利要求4所述的桑葚二氯甲烷提取物在制备预防肠炎的药品中的应用。

一种桑葚二氯甲烷提取物及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于植物提取技术领域,更具体地,本发明涉及一种桑葚二氯甲烷提取物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 炎症是由致病菌、有害刺激或物理损伤引起的适应性反应,是机体对感染或组织损伤所产生的一种防御措施。在炎症发生初期,这种防御机制是有益的,炎性细胞释放出相应的炎症因子,对损伤因子进行一系列的防御反应,如稀释和杀伤等,与此同时,所释放出的炎症因子参与机体损伤部位的修复和愈合;而在炎症反应过于剧烈或持久时,机体有益的炎症就会发生改变,并反过来诱发各种炎症相关疾病,甚至演变成慢性或持久性疾病。由慢性炎症反应产生的大量炎症介质被证实参与了许多疾病的病理过程,包括心血管疾病、类风湿性关节炎、癌症、红斑狼疮、糖尿病和强直性颈椎炎等。有许多因素都能诱发炎症,如感染、物理化学损伤刺激、毒素等,其中病原微生物感染是最常见的一类,如脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)。LPS是革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分之一,只有在细菌进行繁殖或死亡时才被释放出来,其致炎性极强。当受到革兰氏阴性菌感染使机体受到损伤时,大量的LPS被释放出来,随后与细胞膜上的Toll样受体4(Toll like receptor 4, TLR4)结合,进而与宿主细胞相互作用,通过细胞内信号通路的传递将刺激信号级联放大,最终引起一系列的炎症反应。LPS刺激机体后导致大量的生物活性因子的合成和释放,诸如:前列腺素(prostaglandin, PGs)、一氧化氮(nitric oxide, NO)等炎症介质,以及白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)等炎性细胞因子,使机体表现出多种炎症反应,严重时可引起全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)、脓毒性休克、多器官衰竭(multiple organ failure, MOF)甚至死亡。异常表达的炎性细胞因子(IL-1 β , IL-6, TNF- α 等)、环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)及核因子- κ B(Nuclear factor- κ B, NF- κ B)是分子水平上炎症癌变的诱因。因此,想要更好的预防或者治疗炎症引发的相关疾病,就需要抑制炎症介质的生成或阻断其生物学功能,而筛选抗炎活性物质及研究其作用机理,则可以成为开发新的预防和治疗癌症的重要手段。

[0003] 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类容易反复复发的胃肠道慢性疾病,包括克罗恩病(crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)两种疾病类型。从流行病学、免疫学及遗传学相关数据得出,IBD的病因很多且呈多元性,但至今仍未研究透彻。遗传、环境和微生物因素都参与了IBD的发展,肠道屏障的形态和功能的变化也与损伤性免疫反应相关。早期与基因相关的临床研究数据指出,双胞胎、直系亲属之间发病率更高。有研究指出,遗传因素所致的病例数量还不到总IBD数量的1/4,而环境因素在IBD的发生发展过程中的起更重要的作用。常见的环境因素包括病毒、细菌、饮食及压力等。在全球范围内,CD和UC的发病率都呈上升趋势。随着我国经济的快速发展,人们的饮食习惯发生了很大的改变,饮食结构更偏向于肉类、高脂肪和高胆固醇类食物,对蔬菜

水果的需求量持续下降。从而导致近年来,UC的发病率不断升高,且呈年轻化趋势。UC的临床症状包括腹部的痉挛或疼痛、腹泻、胃肠道出血、疲倦困乏、食欲不振及体重减轻等,长期以来,很可能会有诱发癌症。全球范围内使用中草药治疗IBD的数量不断增加,目前最重要的进入临床的有乳香黄连木树胶、直立委陵菜提取物、苦艾草、芦荟、小麦以及乳香提取物。中草药治疗法通过不同的机制从而表现出良好的治疗效果,包括增强免疫、抗氧化、抑制白三烯B4和NF- κ B信号通路以及抗血小板等。尽快开展大型的关于常用天然物质的双盲临床研究评估显得尤为重要。

[0004] 桑葚(mulberry)作为能滋阴补血、生津润燥的药食同源类食品,含有很多活性物,包括除了黄酮醇、花色苷、酚酸、氨基酸外,还有大量的微量元素及矿物质。桑葚作为药用始载于唐《新修本草》,其功效在许多中药著作中都有记载,如《本草纲目》、《本草拾遗》、《随息居饮食谱》等。桑叶、桑根皮和桑枝在传统中医中被用于治疗发热、护肝、明目、利尿和降血压等。还有研究表明桑果、桑根皮和桑枝皮被广泛用于治疗黄疸、肝炎、癌症、糖尿病、腹泻、高血压等。早在1993年桑葚已成为享有“既是食品又是药品”这一美称的农产品,具有很高的食用和药用价值,是开发功能性食品的优质原料。桑葚中含有丰富的黄酮类物质,主要是芦丁和槲皮素,其中芦丁含量较高。桑葚花色苷也是一类黄酮类化合物,对人体具有多种生理保健功能。有大量文献报道成熟的桑葚中含有大量的花色苷类化合物,其花色苷成分主要是矢车菊-3-O-葡萄糖苷(cyanidin-3-O-glucoside, C3G)和矢车菊-3-芸香苷(cyanidin-3-rutinoside, C3Y)。

[0005] 桑叶有效成分提取物的研究报道及专利申请已非常多,Chao等研究发现,桑葚的乙酸乙酯提取物能抑制LPS/IFN- γ 诱导引起的NO和PGE₂的分泌,同时能明显降低NF- κ B荧光素酶活性,由此说明桑葚提取物可能是通过抑制NF- κ B信号通路从而表现出抗炎活性。Oh等研究桑果白藜芦醇的抗炎活性时发现,白藜芦醇能抑制LPS诱导的人单核细胞THP-1产生IL-8,同时还可抑制I κ B的降解、NF- κ B的激活、ERK和p38MAPK的磷酸化作用和COX-2表达,表明桑果白藜芦醇可通过抑制NF- κ B和MAPK信号通路的激活从而起抗炎作用。Eo等研究桑根皮提取物(MRBE)的抗炎活性时,发现MRBE通过抑制iNOS的表达阻断NO的生成,还通过抑制I κ B α 的降解和ERK1/2的磷酸化进而阻断p65蛋白的核转运,最终表现出抗炎活性。

[0006] Eo等除了发现桑根皮提取物(MRBE)的抗炎活性外,还发现了其抗肿瘤活性,MRBE能通过诱导转录激活因子3(ATF3)的上调和细胞周期蛋白D1的下调进而抑制人结直肠癌SW480细胞的增殖和诱导其凋亡,且表现出良好的剂量效应。Chen等在对桑葚提取物中的C3G和C3Y的研究中发现,C3G和C3Y可抑制A549细胞的迁移和浸润,具有剂量依赖性。Huang等发现,桑葚花色苷能通过Ras/PI3K信号通路有效抑制黑色素瘤的转移。Kikuchi等的研究表明,从桑根皮中分离得到的albano1 A能抑制人白血病HL60细胞和人类黑色素瘤CRL1579细胞的增殖,IC₅₀分别为1.7 μ M和9.8 μ M,其中albano1 A通过诱导HL60细胞的凋亡从而抑制癌细胞的增殖。

[0007] 虽然有大量文献报道了桑葚不同提取物具有很强的抗炎及抗癌活性,但是桑葚二氯甲烷提取物的抗炎有效成分提取及相关研究报道目前尚未检索到。

发明内容

[0008] 有鉴于此,为了克服上述现有技术中存在的问题,本发明提供了一种桑葚二氯甲

烷提取物及其制备方法和应用。

[0009] 为了实现上述发明目的,本发明采取了以下技术方案:

[0010] 一种桑葚二氯甲烷提取物的制备方法,包括以下步骤:

[0011] (1)、将新鲜的桑葚搅碎,常温常压下用盐酸酸化的乙醇萃取过夜,收集上清萃取液,重复该步骤2~3次,减压回收乙醇,浓缩萃取液,旋转蒸干至质量不再改变,得到桑葚粗提物;

[0012] (2)、将桑葚粗提物溶于水中,再加入等体积的水饱和二氯甲烷进行萃取,收集下层二氯甲烷萃取液,重复该步骤2~3次,减压回收二氯甲烷,浓缩萃取液,旋转蒸干至质量不再改变,得到桑葚二氯甲烷提取物。

[0013] 在其中一些实施例中,步骤(1)中所述萃取条件为:萃取温度为 $25\pm 5^{\circ}\text{C}$,萃取压力为100KPa。

[0014] 在其中一些实施例中,步骤(1)中所述旋转蒸干的温度为 $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

[0015] 在其中一些实施例中,步骤(2)中所述萃取条件为:萃取温度为 $25\pm 5^{\circ}\text{C}$,萃取压力为100KPa。

[0016] 在其中一些实施例中,步骤(2)中所述旋转蒸干的温度为 $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

[0017] 在其中一些实施例中,步骤(1)和步骤(2)中的减压温度为 $50\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

[0018] 在其中一些实施例中,步骤(1)中所述盐酸酸化的乙醇为0.1%的盐酸酸化的80%乙醇。

[0019] 在其中一些实施例中,步骤(1)中所述盐酸酸化的乙醇的制备方法为:先配制终浓度为80%的乙醇溶液,再用盐酸酸化,使得盐酸终浓度为0.1%。

[0020] 本发明还提供了上述制备方法制备得到的桑葚二氯甲烷提取物。

[0021] 本发明还提供了上述桑葚二氯甲烷提取物在制备预防肠炎的保健品中的应用。

[0022] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0023] 本发明的桑葚二氯甲烷提取物是采用酸化乙醇法及有机溶剂萃取法从桑葚中提取而得的,该桑葚二氯甲烷提取物不仅在细胞水平具有较强的抗炎活性,而且能够对小鼠结肠炎具有显著的缓解作用;本发明所提供的桑葚二氯甲烷提取物的制备方法简单,适合大规模工业化生产,有望开发成新的抗炎保健品。

附图说明

[0024] 图1为试验例3中桑葚二氯甲烷提取物对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠体重的影响;其中,DSS:葡聚糖硫酸钠;DCM:二氯甲烷提取物;

[0025] 图2为试验例3中桑葚二氯甲烷提取物对DSS诱导的小鼠结肠长度的影响;其中,DSS:葡聚糖硫酸钠;DCM:二氯甲烷提取物。

具体实施方式

[0026] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合附图及具体实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0027] 实施例1一种桑葚二氯甲烷提取物的制备方法

[0028] 该实施例的桑葚二氯甲烷提取物的制备方法,包括以下具体步骤:

[0029] (1)、新鲜桑葚3.5Kg,洗净并自然晾干多余水分,加入0.1%盐酸酸化的80%乙醇溶液,匀浆后,25±5℃、100KPa条件下反应,24h后抽滤,收集滤液,此步骤重复三次,将三次的滤液混合,50±5℃减压回收乙醇,浓缩滤液至小体积,将浓缩后的滤液转移至小容器内,50±5℃旋转蒸干至浓缩物质量保持不变,称量得到初提物412.67g。

[0030] (2)、取370.13g初提物,用水将其溶解完全,再加入等体积的水饱和的二氯甲烷进行,上下颠倒混匀,25±5℃、100KPa条件下静置至溶剂分层,收集下层二氯甲烷萃取液,此步骤重复三次,将三次的萃取液混合,50±5℃减压回收二氯甲烷,浓缩滤液至小体积,将浓缩后的萃取液转移至小容器内,50±5℃蒸干至萃取物质量保持不变,称量得到二氯甲烷提取物6.54g。

[0031] 试验例1桑葚二氯甲烷提取物对RAW264.7巨噬细胞毒性及活力的影响、以及对脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)诱导的RAW264.7巨噬细胞炎症介质和炎症因子生成的影响

[0032] 采用2,4-二硝基苯肼比色法检测实施例1提取的桑葚二氯甲烷提取物对巨噬细胞乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)释放的影响,采用MTS法测定桑葚二氯甲烷提取物对巨噬细胞增殖的影响。

[0033] 采用Griess法检测RAW264.7巨噬细胞培养基上清液中NO含量,考察实施例1提取的桑葚二氯甲烷提取物对LPS诱导的RAW264.7细胞产生NO的抑制率;通过ELISA检测炎症因子的分泌,研究桑葚二氯甲烷提取物对炎症因子生成的影响。

[0034] 结果见表1所示。

[0035] 表1桑葚二氯甲烷提取物对巨噬细胞增殖及NO生成量的影响

[0036]

分组		NO 量 (μM)	细胞存活率 (%)
Blank		0.01 ± 0.14	
LPS (1 μg/ml)		28.91 ± 0.45	100.00 ± 2.41
Quercetin (12.5 μg/ml)		1.02 ± 0.08	88.66 ± 2.04
MB-DCM	25 μg/ml	19.94 ± 0.64	110.90 ± 0.84
	50 μg/ml	16.46 ± 0.88	110.42 ± 0.60
	100 μg/ml	9.28 ± 0.88	109.57 ± 0.46
	200 μg/ml	4.96 ± 0.78	95.90 ± 2.72

[0037] 注:Quercetin(槲皮素,阳性对照),MB(Mulberry,桑葚),DCM(dichloromethane extracts,二氯甲烷提取物)

[0038] 表1结果显示,桑葚二氯甲烷提取物在25~200μg/ml浓度范围内,均不影响RAW264.7细胞的正常增殖,即观察不到对细胞活性存在抑制作用;当浓度达到200μg/ml时,所有给药组细胞的存活率为95.90±2.72%,说明桑葚二氯甲烷提取物无细胞毒性;

[0039] NO生成量检测发现,当细胞未受到外界刺激时,细胞基本不表达NO,在LPS(1μg/ml)刺激24h后,巨噬细胞释放出大量的NO(28.91±0.45μM),表明LPS刺激RAW264.7巨噬细胞后,能诱导细胞释放大量炎性介质NO。与单纯LPS处理组相比,LPS处理的同时添加桑葚二氯甲烷提取物进行处理,当桑葚二氯甲烷提取物终浓度为25μg/ml、50μg/ml、100μg/ml和200μg/ml时,细胞NO生成量分别为19.94±0.64μM、16.46±0.88μM、9.28±0.88μM和4.96±

0.78 μ M。说明桑葚二氯甲烷提取物能够有效的抑制LPS诱导引起的NO的大量表达,且具有良好的剂量效应。

[0040] 试验例2桑葚二氯甲烷提取物对LPS诱导的RAW264.7巨噬细胞iNOS和COX-2表达、炎症因子IL-1 β 和IL-6表达的影响

[0041] 采用qRT-PCR检测iNOS、COX-2mRNA水平,进一步明确实施例1提取的桑葚二氯甲烷提取物对LPS诱导RAW264.7巨噬细胞产生NO的抑制作用能否通过调节iNOS及COX-2的表达而发挥作用的。

[0042] 采用采用qRT-PCR分别检测IL-1 β 和IL-6mRNA的表达水平,进一步明确实施例1提取的桑葚二氯甲烷提取物对LPS诱导RAW264.7巨噬细胞产生NO的抑制作用能否通过调节炎症因子的表达而发挥作用。

[0043] 结果见表2所示。

[0044] 表2桑葚二氯甲烷提取物处理组中iNOS、COX-2、IL-1 β 、IL-6的mRNA相对表达水平(二氯甲烷提取物处理组/LPS处理组)

[0045]

分组		iNOS	COX-2	IL-1 β	IL-6
Blank		0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.09 $\pm$ 0.04	0.00 $\pm$ 0.00
LPS(1 μ g/ml)		1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
MB-DC M	50 μ g/ml	0.81 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.06	0.69 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.04
	100 μ g/ml	0.77 $\pm$ 0.00	0.35 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.02	0.24 $\pm$ 0.01
	200 μ g/ml	0.60 $\pm$ 0.10	0.19 $\pm$ 0.00	0.23 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.01

[0046] 注:DCM(dichloromethane extracts,二氯甲烷提取物)

[0047] 表2结果显示,当细胞未受到刺激时,iNOS、COX-2、IL-1 β 和IL-6的mRNA表达水平非常低,LPS能够刺激细胞大量表达这四种基因。二氯甲烷提取物与LPS同时处理细胞后,四种基因的mRNA表达水平均显著下调,并且具有良好的剂量效应。说明二氯甲烷提取物能够有效抑制LPS诱导引起的iNOS、COX-2、IL-1 β 和IL-6的mRNA的高表达。

[0048] 试验例3桑葚二氯甲烷提取物对DSS诱导的小鼠结肠炎的影响

[0049] 实验方法:雄性Balb/C小鼠,6-8周龄,体重20-25g,正常对照组(n=6):不作任何处置,自由饮食及饮用蒸馏水。急性葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium,DSS)组(n=6)给予2%DSS(MW 36,000-44,000,Mpbio,USA)自由饮用7d,第8d换成蒸馏水,每日腹腔注射生理盐水。桑葚二氯甲烷提取物组(n=6),除给予2%DSS自由饮用外,每日腹腔注射实施例1的桑葚二氯甲烷提取物20mg/Kg,所有小鼠均于11d处死。

[0050] 实验结果:

[0051] 1.DSS诱导小鼠的一般情况的影响

[0052] 通过给予小鼠饮用2%DSS溶液建立小鼠急性肠炎模型。实验期间观察发现,和正常对照组小鼠相比,2%DSS模型组小鼠出现明显肉眼血便,小鼠体重明显下降,皮毛凌乱且无光泽,肛门周围出现脱毛现象且粘附少量血液;桑葚二氯甲烷处理组小鼠虽出现了不同程度的精神萎软、饮食量减少和大便性状发生变化,但症状较模型组小鼠相比均有所缓解。

[0053] 2.桑葚二氯甲烷提取物对DSS诱导小鼠的体重影响

[0054] 各组小鼠在11天内体重变化如图1所示。正常组小鼠体重变化随着实验天数的增

加呈现出上升趋势;与正常对照组相比,模型组小鼠体重在DSS诱导的前4天呈现上升趋势,最高达到 $107.41 \pm 1.84\%$,随后持续下降,第8天下降 $94.55 \pm 6.19\%$,随后停止DSS诱导,模型组小鼠体重持续下降,第10天体重仅 $92.89 \pm 5.12\%$,第11天才开始有所改善,体重上升至 $96.11 \pm 6.88\%$ 。与模型组比较,桑葚二氯甲烷处理组小鼠体重在整个诱导期间处于较平稳的状态,仅在第8天体重降至 $98.08 \pm 2.39\%$,诱导停止后小鼠体重持续上升,第10天体重恢复至 $100.09 \pm 2.07\%$ (vs $92.89 \pm 5.12\%$, $p < 0.01$),第11天体重回升至 $101.95 \pm 2.72\%$ (vs $96.11 \pm 6.88\%$, $p < 0.05$)。

[0055] 3. 桑葚二氯甲烷提取物对DSS诱导小鼠的外观形态及结肠长度变化的影响

[0056] 通过观察发现(图2):正常对照组小鼠结肠粘膜完整,无明显充血、水肿及溃疡形成,结肠较长,长度为 $104.23 \pm 2.65\text{mm}$;模型组小鼠结肠有缩短现象,且显著短于正常对照组($80.00 \pm 7.71\text{mm}$ vs $104.23 \pm 2.65\text{mm}$, $p < 0.001$),大部分可见粪便不成形,有臭味,充血、水肿现象严重;和模型组相比,桑葚二氯甲烷提取物组小鼠结肠缩短较轻($95.30 \pm 6.78\text{mm}$ vs $80.00 \pm 7.71\text{mm}$, $p < 0.001$),粘膜充血、水肿情况也有所减轻。

[0057] 以上结果均表明桑葚二氯甲烷提取物能够有效的预防及缓解DSS诱导引起的急性结肠炎。

[0058] 以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

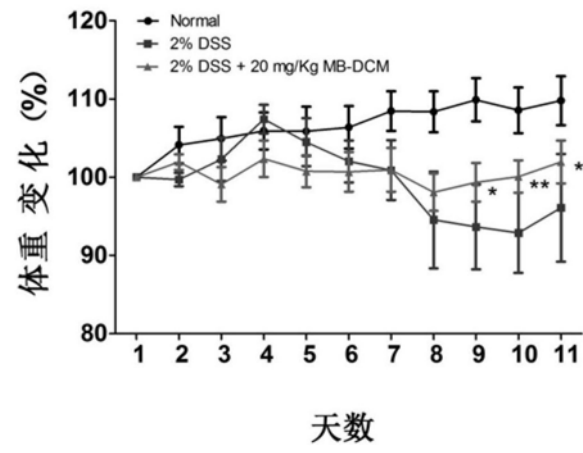


图1

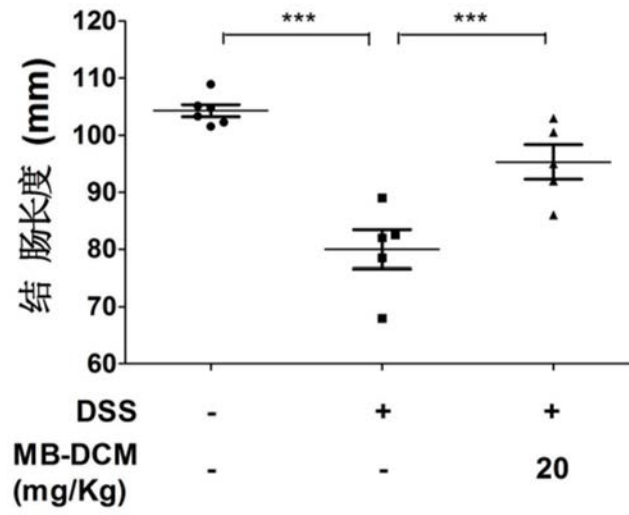


图2