

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局



(43) 国际公布日:  
2004年12月23日(23.12.2004)

PCT

(10) 国际公布号:  
WO 2004/110465 A1

(51) 国际分类号<sup>7</sup>: A61K 35/64, A61P 35/00, A61B 6/00

(21) 国际申请号: PCT/CN2003/000465

(22) 国际申请日: 2003年6月16日(16.06.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 北京中亚深蓝生物技术开发有限公司(BEIJING ZHONGYA SENLEN BIO-TECHNOLOGY DEVELOPMENT LTD.) [CN/CN]; 中国北京市宣武区马连道南1号依莲轩C座1101号, Beijing 100055 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 章宏远(ZHANG, Hongyuan) [CN/CN]; 陈志芳(CHEN, Zifang) [CN/CN]; 王术军(WANG, Shujun) [CN/CN]; 钟钦文(ZHONG, Qinwen) [CN/CN]; 中国北京市宣武区马连道南1号依莲轩C座1101号, Beijing 100055 (CN)。

(74) 代理人: 北京元中知识产权代理有限责任公司(BEIJING YUANZHONG INTELLECTUAL PROPERTY AGENT LTD.); 中国北京市西城区北

三环中路甲29号2号楼尊邸1103室, Beijing 100029 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

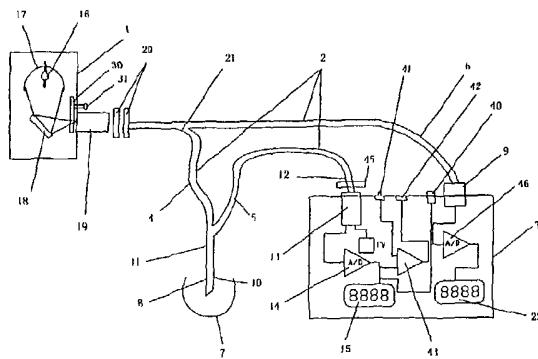
(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:  
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: AN EXTRACT OF FAECES BOMBYCIS AND THE PREPARATION METHOD THEREOF, AS WELL AS AN APPARATUS FOR DIAGNOSING OR TREATING MALIGNANT TUMOURS

(54) 发明名称: 蚕砂提取物及其制备方法、诊断或治疗恶性肿瘤的装置





---

**(57) 摘要**

本发明涉及一种蚕砂的提取物、其制备方法，及其在制备诊断或治疗恶性肿瘤试剂或药物上的用途，以及诊断或治疗早期恶性肿瘤的装置。该蚕砂的提取物的水溶液在  $365\text{nm} \pm 15\text{nm}$  的光源激发下能产生  $660\text{nm} \pm 15\text{nm}$  的特征荧光。蚕砂的提取物是将蚕砂皂化、提取、酸化、成盐制备的；诊断或治疗肿瘤的装置将光发生装置（1）发出的紫外光经过滤装置（20）滤光后，通过光纤分别传送到位于靶组织（7）的输入光导纤维（4）的探测端部（8）和检测装置（3）中的探测器（9）内，荧光采集光导纤维（5）的输入端（10）接收靶组织（7）发出的荧光，输出端（12）与检测装置（3）中用于检测荧光强度的光电倍增管（13）相连接，光电倍增管（13）输出的荧光信号经处理后显示在荧光显示窗口（15）。

## 蚕砂提取物、其制备方法、用途及诊断或治疗恶性肿瘤的装置

### 发明领域

本发明涉及一种蚕砂的提取物、其制备方法、及其在制备诊断或治疗恶性肿瘤，特别是早期恶性肿瘤试剂或药物上的用途，以及一种诊断或治疗恶性肿瘤，特别是早期恶性肿瘤的装置。

### 背景技术

自 70 年代，已经证明恶性肿瘤组织中存在与正常组织的自体荧光不同的特征 10 荧光，科学家试图通过荧光光谱仪观察并记录肿瘤组织的特征荧光，来鉴别、诊断恶性肿瘤。

筑波大学的蔡承熹等人认为，在 5145A 的氩离子激光器作为激发光源的激发下，正常标本和含肿瘤细胞标本产生不同的特征荧光，二种荧光的光谱不同，因此可以通过分析光谱来确定是否存在恶性肿瘤；该方案的明显的缺陷是氩离子激光器产生的蓝绿可见和被激发的荧光在可见光光谱段叠加。

CN85100242 公开的也是一种光谱分析方法，该方案希望克服因为激发光源能量弱导致灵敏度低的缺陷，其公开的方法改进了光源和传输系统，光源采用 3000 - 4000A 的近紫外光，既避免激发荧光光谱的叠加，又可以大大提高激发光源的能量，最大程度地激发肿瘤组织的自体荧光，便于肉眼观察和光谱诊断。

20 CN97106273 认为，光谱分析法太复杂，提出一种通过正常和异常组织之间荧光值的比值来诊断癌症的方法。

但如 CN85100242 公开的凭借肉眼观察或光谱分析的方法及装置在诊断恶性肿瘤时，用肉眼观察可能由于色彩失真而导致的误诊，光谱分析所用的装置存在着成本高、对操作者业务水平要求高的缺陷，限制其使用，特别是该装置中对于光 25 处理系统中的分色系统、电路系统和扫描系统的要求较高，容易使信号失真（参见 ZL87105948 背景技术部分）。CN97106273 中公开的方法及装置，其检测过程及结果一方面受到肿瘤自体荧光以及正常组织的自体荧光的干扰，另一方面由于异常组织的发展从初期到后期，其荧光值和正常值之间差异性低，因此准确性不高。这就导致通过测定固有荧光正常值与同一被测者自身异常部位测出的固有荧光异 30 常值及它们的比率值来诊断肿瘤，将受所设定的正常部位干扰，导致严重的偏差甚至影响检测和诊断结果。

EP1610616、JP59-40869 提出利用光敏物质血 咪衍生物 (HPD) 在肿瘤细胞中间的聚积，采用荧光灯、泵浦染料激光器照射得到 HPD 被激发的荧光，以此来判断是否存在肿瘤。

5 CN87103403 认为，上述方法的缺陷是功率小，不能照射深层；该方案提出一种新的医用脉冲激光装置，并指出诊断用 405nm 波长、治疗用 630nm 波长的激光光源，该方案同样使用光敏剂 HPD，并再次指出，405nm 能够有效激发 HPD 特有的荧光，且该组织输出的平均功率和峰值适中。

实际上，HPD 的过敏性是很强的，注入 HPD 会在其后的数天内不能见光，这在一般性检查以及肿瘤检查中是令人无法接受的。

10 CN94106907 认为，现有技术的气体激光很难有一致的波长和简单的波长调节；因此提出了选用 HPD/PH1126/NPE6 作为光敏剂，采用波长可控的激光机产生激发光，通过像分析诊断肿瘤。

但是以激光为激励光源的缺陷是设备庞大、造价高，使用要求高。

15 现有技术和本发明的研究人员都认为，选用对肿瘤具有亲和力的光敏剂比单纯比较被激发的正常组织荧光和肿瘤组织荧光具有更多的优点，因为这样就避免了肿瘤特征荧光值在肿瘤发展的不同阶段之间的变化，直接测量光敏剂的被激发的荧光将使得检测更加灵敏。

即使这样，如何得到尽可能大的灵敏度仍然是研究人员追求的目标。获得尽可能大的灵敏度是单纯通过光敏剂或检测仪器之一难以达到的。

20 蚕砂是蚕粪便的干燥物，其中含有大量的叶绿素酸盐、蛋白质和果胶，是提取叶绿素酸盐的便宜、易得的原料。一般蚕砂通过酸碱处理，脱去镁及以酯键相连的植醇等结构，降解为相对稳定的叶绿酸混合物。其水溶液在红光激发下能产生 660nm 左右橙红色荧光，对于肿瘤具有选择性摄入和光敏特性（胡龙勤等. 叶绿素衍生物在医药上的应用 《国外医学. 合成药、生物药、制剂分册》，1987，8：146）。但该混合物不够稳定，且其单体化合物难以得到。

CN92103649.3 公开了一种应用酶工程技术从蚕砂中制取叶绿素酸盐的方法，主要通过将蚕砂预处理后在水解酶等作用下水解，经皂化、置换等工艺得到叶绿素酸盐。

30 CN93103432.9 公开了一种用于光敏疗法的中药光敏剂及其生产工艺，含有叶绿三酸及其聚合物 60—80%。其生产工艺为以蚕砂为原料，采用丙酮混合提取，再经乙醇加 NaOH 皂化，然后酸化去镁，最后先由硅胶 G 拌和吸附，再分别以石油

醚、乙醇进行洗脱除杂质、蒸馏水溶解蒸发精制得成品。该光敏剂诊治效果好，临床应用方便，且生产工艺简单易行，原料廉价易得。

CN00121046.7 公开了天然绿色着色剂叶绿素锌的制备工艺，是将蚕砂用有机溶剂浸提、上层液浓缩后皂化，用乙酸锌对皂化液进行置换，经后处理得油溶叶绿素锌。

但上述方法在预处理过程中，都使用有机溶剂浸提，再进一步降解、处理，影响产物在组织内的亲和力和潴留等综合性能。此外现有技术的蚕砂提取物最佳激发波长在 405 nm 左右，为了有效激发光敏剂，要求能产生 405 nm 左右光的激发光源，限制了使用，因此开发在体内停留时间短、在肿瘤组织内潴留浓度高、  
10 激发波长适当的新型光敏剂，对于癌症的早期诊断和及时治疗是非常有意义的。

### 发明内容

本发明的主要目的在于提供一种蚕砂提取物，是一种检测荧光用的光敏剂，该蚕砂提取物在体内肿瘤细胞中摄入好、潴留部位明显，尤其在特定的光源激发  
15 下产生强烈的特征荧光，通过对该特征荧光的检测和亮度的测定，能够识别细胞的变异，因而可以诊断组织的早期癌变以及恶性肿瘤。

本发明的另一个目的在于提供上述蚕砂提取物的制备方法，该方法简单易行，得到有效的具有检测特异性的光敏组合物。

本发明的再一个目的在于提供上述蚕砂提取物在制备诊断或治疗早期恶性肿瘤试剂或药物上的用途。  
20

本发明还有一个目的在于提供一种诊断或治疗早期恶性肿瘤的装置，该装置能够产生激发本发明蚕砂提取物产生特征荧光的激励光及接收、检测和处理该特征荧光的检测系统，能够高效、高准确率地分辨组织的早期癌变（癌前期病变）；另外该装置激发光源的辐照度可调，使得检测结果重现性高，此外该装置结构简单、生产成本低，操作及诊断容易。  
25

本发明的目的可以通过以下方式得以实现：

一种蚕砂提取物，是蚕砂降解物的钠或钾盐，其水溶液在  $365 \pm 15\text{nm}$  的近紫外光源激发下在  $660\text{nm} \pm 15\text{nm}$  的波长下具有最强的荧光。优选激发波长为  $365 \pm 10\text{nm}$ ，发射波长  $660\text{nm} \pm 10\text{nm}$ 。更优选激发波长为  $365\text{nm}$ ，发射波长  $660\text{nm}$ 。

30 本发明的蚕砂提取物中包括母核为二氢卟吩的具有环戊酮结构的二氢卟啉类的钠或钾的配合物，其含量约为 30-58wt%，优选含量为 40-50wt%。

本发明的蚕砂提取物的有效成分为脱镁叶绿酸 a、脱镁叶绿酸 b、焦脱镁叶绿酸 a、紫红素-18、二氢卟吩 P<sub>6</sub>、二氢卟吩 e<sub>6</sub>、二氢卟吩 e<sub>4</sub>等脱镁叶绿环类及其盐的混合物。

优选本发明的蚕砂提取物其水溶液在  $365 \pm 15\text{nm}$  的近紫外光源激发下在 5  $660\text{nm} \pm 15\text{nm}$  的波长范围内与空白对照相比具有至少 8 - 12 倍的荧光值比率；优选的激发波长为  $365 \pm 10\text{nm}$ , 发射波长  $660\text{nm} \pm 10\text{nm}$ , 至少 9 - 12 倍的荧光值比率；更优选激发波长为  $365\text{nm}$ , 发射波长  $660\text{nm}$ , 至少 10 - 12 倍的荧光值比率。

本发明的蚕砂提取物的制备方法包括：将蚕砂或粗蚕砂提取物皂化、后处理和成盐，其中的皂化在醇和碱的水溶液中加热下进行，后处理为过滤、浓缩并用 10 非极性有机溶剂提取皂化液以弃去不皂化物，用酸酸化皂化液；再成盐得到蚕砂降解物的盐。

上述粗蚕砂提取物为采用现有技术的方法通过碱和/或酸降解蚕砂制备的。

用非极性有机溶剂提取皂化液的浓缩液中的不皂化物是为了充分提取其中的酯溶性及其他不皂化物物质，得到完全水溶的产物。

15 在本发明的一个优选实施例中，蚕砂提取物是通过下述方法制备的蚕砂提取物：将蚕砂皂化、提取、酸化、碱化成盐，其中：

- 1) 蚕砂提取物皂化后过滤，将滤液浓缩，得浓缩液；
- 2) 用非极性有机溶剂提取浓缩液中的不皂化物，去溶剂得皂化液；
- 3) 用酸酸化皂化液，沉淀出酸化的皂化物；
- 20 4) 将沉淀出的酸化皂化物与碱或盐反应，得到叶绿素酸盐后过滤，将滤液浓缩，得浓缩的蚕砂提取物液；

制备过程中，皂化是在蚕砂中加入 1-8 倍的醇和 5-40wt% 碱的水溶液至 PH 值为 9-12，在加热回流下进行。

其中的碱为 NaOH 或 KOH, NaOH 或 KOH 的用量为蚕砂重量的 3-30wt%。

25 皂化的时间为 4-10 小时。

将皂化液过滤后，将滤液浓缩至原液体积的 1/2 至 1/5。其中的醇为甲醇、乙醇、丙醇或丁醇，优选乙醇。

PH 优选控制在 9.5-10.5，更优选 PH 为 10。

在用非极性有机溶剂提取浓缩液中的酯溶性物质前，还可以首先用水溶解浓缩液，然后再用非极性有机溶剂提取溶解液中没有被皂化的物质或酯溶性杂质，弃溶剂层，取下层皂化液，溶剂回收再利用。

溶解浓缩液的水的用量以及提取时溶剂的用量为浓缩液的 1-15 倍，提取次数为 1-4 次，或提取至提取液无色。

其中，提取所用的非极性有机溶剂为石油醚、乙醚、正己烷、环己烷、四氯化碳、氯仿、苯或取代苯，优选石油醚、乙醚、正己烷、环己烷；最优选石油醚。

5 提取后用酸酸化下层皂化液，至 PH 为 3-5，弃上清液，收取沉淀出的酸化的皂化物。

酸化采用盐酸、硫酸、硝酸的稀溶液，优选盐酸。且优选酸化至 PH 为 3.5-4.5。

最后将沉淀出的酸化皂化物与氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾反应成盐后过滤，将滤液浓缩或进一步干燥得到蚕砂提取物。

10 成盐反应优选在醇和 1-30wt% 的碱或盐的水溶液中进行，醇的用量为蚕砂的 1-5 倍，碱或盐的用量为蚕砂的 1-25wt%。

反应在 PH 9-12 下进行，优选的 PH 为 9-10。

反应后加热回收乙醇，剩余物过滤、浓缩得到膏状浓缩提取物，再采用现有技术中公开的方法干燥或制成各种制剂。

15 成盐反应一般在室温下充分搅拌就可以完成。如果有必要，也可以加热。

本发明的制备方法中，由于直接将蚕砂皂化，皂化后采用非极性溶剂提取其中的酯溶性杂质，然后酸化、成盐等方法，去除蚕砂中的镁、蛋白和酯溶性杂质，将蚕砂充分降解为脱镁叶绿酸 a、脱镁叶绿酸 b、焦脱镁叶绿酸 a、紫红素-18、二氢卟吩 P<sub>6</sub>、二氢卟吩 e<sub>6</sub>、二氢卟吩 e<sub>4</sub> 等脱镁叶绿环类盐的混合物，得到叶绿素酸盐含量高的蚕砂提取物，在 365±15nm 的近紫外光源激发下在 660nm±15nm 的波长下具有最强的荧光。本发明的蚕砂提取物在水中能够完全溶解，有利于在体内肿瘤组织中特异的聚集、吸收，而在正常组织内则容易消化及排除，无任何毒副作用。

对于现有技术中公开的碱降解得到的各种粗提物，将其用非极性有机溶剂提取后酸化、成盐，也可以得到接近本发明性质的产品，如中国专利申请 93103432.9 中公开的制备方法中，在酸化前提取，酸化后加入碱或盐成盐，也可以得到本发明的蚕砂提取物。

30 本发明的蚕砂提取物液采用现有技术的方法干燥，可以得到干燥的蚕砂提取物，加入蒸馏水可以配制为一定的浓度的溶液，并根据现有技术的方法，辅以药剂学上可接受的辅料，制备为药剂学上可接受的任何剂型，如散剂、胶囊、丸剂、片剂、口服液、注射液、喷雾剂或涂敷剂。

在临幊上，早期的肿瘤组织很难和正常组织区分，这就是采用自体荧光误诊率高的原因，虽然现有技术提出了在波长可调的激光激发下采用脱镁叶绿酸和叶绿三酸作为光敏剂具有更高的灵敏度（CN94106907），但是，本发明提出的采用近紫外光（例如汞灯产生）激发本发明所述的蚕砂提取物，具有更加显著的特异性和高灵敏度，而且大大简化检测装置和对于操作者诊断水平的要求。  
5

大量的动物实验表明，本发明的蚕砂提取物作为光敏剂仅仅在一定时间内停留在肿瘤细胞或癌前期病变等处，因此，理论上讲，能否检测到荧光就意味着有或没有肿瘤细胞，但实际上正常细胞和肿瘤细胞本身也能够在近紫外光的激发下发出荧光，在近紫外光激发下，注入的光敏剂的荧光值与正常细胞被激发产生的  
10 荧光值的比值越大，就意味着灵敏度更高、检测结果更加准确，本发明所述的光敏剂在所述的近紫外光的激发下具有正常细胞至少 5—12 倍甚至更高的荧光亮度值。

作为一种光敏剂，本发明的蚕砂提取物在检测的同时，还可以通过杀灭癌细胞进行光动力学治疗。  
15

本发明提取物在同样强度的紫外光辐照强度下产生荧光亮度更高的原因有二，其一是所需的激发能量更低，其二是所述的蚕砂提取物对肿瘤的特异性和亲和力更强，因此在肿瘤部位聚积的浓度更高。  
20

当然，获得这样的显著差异必不可少的是本发明所述诊断或治疗早期恶性肿瘤的装置的配合。  
25

本发明所述的装置包括：辐照度可调的、输出紫外光的光发生装置、光传输装置、紫外辐照度检测装置和荧光检测装置，光传输装置包括输入光导纤维、荧光采集光导纤维和输入光检测光导纤维；光发生装置发出的紫外光经与之相连的输入光导纤维和输入光检测光导纤维分别被传送到位于靶组织的输入光导纤维的探测端部和荧光检测装置中用于检测光发生装置发出的紫外辐照度的光电探测器内，荧光采集光导纤维的输入端与接近靶组织的输入光导纤维的探测端部分同轴混排为复合纤维，并将靶组织产生的特征荧光经荧光采集光导纤维的输出端传递至荧光检测装置中用于检测荧光亮度的光电倍增管，光电倍增管输出的荧光信号经电子线路处理后将荧光亮度以数字形式显示在荧光亮度显示窗口上，或光电倍增管输出的荧光信号经电子线路处理后输出到用于记录或数据处理的记录仪或计算机。  
30

紫外辐照度的光电探测器接收的紫外光经电路转换后，将紫外辐照度以数字形式显示在探测器中的紫外显示器上，或输出到用于记录或数据处理的记录仪或计算机内。

光电探测器探测紫外光的波长范围为 320—400nm。

5 在光发生装置内，或光发生装置与输入光导纤维连接之处或输入光导纤维的输入端部设置一第一滤光装置。经滤光片滤色后，传送到输入光导纤维输入端的为  $365 \pm 15\text{nm}$  的窄带紫外辐射，优选输入  $365 \pm 10\text{nm}$  的窄带紫外辐射。

所述第一滤光装置为两个滤光片。

在荧光采集光导纤维的输出端与荧光检测装置中的光电倍增管之间设置一二滤光装置。第二滤光装置为仅允许 600—750nm 波长的红荧光通过的滤光片，其目的在于滤除紫外辐射光、自体荧光和其他散射或叠加等各种杂光对检测精度的干扰，避免紫外辐射光、自体荧光干扰检测结果。优选检测装置检测波长 610—700nm 处的荧光亮度，更优选的波长为  $650 \pm 15\text{nm}$ 。

本发明的诊断或治疗早期恶性肿瘤的装置的中的荧光检测装置中的光电倍增管的响应范围为 300—850nm，阳极灵敏度 100—300A/lm。

光发生装置输出辐照度在大于 0 至小于  $1.999\text{mW/cm}^2$  的辐照度可调的近紫外光。如果第一滤光装置设置在光发生装置之内，则光发生装置输出波长为  $365 \pm 15\text{nm}$ 、辐照度为大于 0 至  $1.999\text{mW/cm}^2$  的辐照度可调的近紫外光。

光发生装置包括：设置在其内的一发出光源的高压汞灯、一抛物面镜、一反射镜和一滤光装置，高压汞灯发出的辐射光经抛物面镜汇聚到反射镜上，经反射镜反射、聚焦至滤光装置，经滤光装置过滤后，至输入光导纤维的输入端。其中高压汞灯、抛物面镜和反射镜设置在机箱内，滤光装置设置在机箱内、输入光导纤维的输入端或输入光导纤维内的某一位置。

为了便于连接，在机箱的光输出的侧壁上设置一石英光棒，石英光棒的一端接收紫外光，另一端与光导纤维的输入端直接相连或通过滤光装置与光导纤维的输入端连接。这样经反射镜反射的紫外光聚焦至石英光棒，经第一滤光装置进入输入光导纤维的输入端。当然第一滤光装置也可以设置在石英光棒接收紫外光的一侧。

抛物面镜的内表面覆盖有只反射紫外光而将其他长波的光都穿过的反射膜。

30 所述光发生装置还设置有增、减光的控制器，使光发生装置输出辐照度大于 0 小于  $1.999\text{mW/cm}^2$  的近紫外光。在本发明的一个实施例中，控制器类似一个可控

电源开关，通过控制输入电流的大小实现光的增减，在本发明的另一个实施方式中，在石英光棒的前部设置有可调节大小的窗口控制光的增减。在本发明的优选实施方式中，通过控制抛物面反光碗光束会聚点上的楔形光栏进行紫外光量的调节。

5 光发生装置还设置有冷却用的风扇。

其中输入光导纤维和输入光检测光导纤维具有一个共同的光输入端口。所述光导纤维均为石英光导纤维，但也可以将其中的荧光采集光纤改为玻璃纤维。

自输入光导纤维的接近靶组织的探测端部和荧光采集光导纤维的输入端部至其上 0.3—1mm 处，输入光导纤维和荧光采集光导纤维两束纤维同轴混排设置，也 10 可以根据检测的被检测部位在体内的深度而定。

所述荧光检测装置检测的红荧光的亮度范围为 0—1999cd/m<sup>2</sup>。

优选荧光检测装置中光电倍增管输出的荧光的电信号经过电子线路（A/D 转换器）处理后，将荧光的亮度显示在荧光亮度显示器上。这时，荧光检测装置中还进一步包括一个荧光信号模拟输出端口，模拟输出端口的一端与 A/D 转换器的 15 输出端相连，另一端与记录仪或与计算机相连接，用于通过记录仪记录或计算机处理数据。

具体诊断过程为：提前将本发明的蚕砂提取物通过注射、口服或雾化等方式注入到人体内，用复合纤维代替内窥镜的活检装置并探入体内或体表，利用光发生装置发出的、经输入光导纤维传导的一定辐照度、波长  $365 \pm 15\text{nm}$  的非激光光源对可疑的部位（靶组织）进行照射，激发进入异常组织（靶组织）的蚕砂提取物产生强烈的特征荧光，荧光采集光导纤维将荧光传送至光电倍增管，经过电子线路（A/D 转换器）处理后，将荧光的亮度显示在荧光亮度显示器上，通过对荧光的识别和亮度测定来判别是否出现癌变、结合内窥镜观察肿瘤的位置和大小，实现早期癌症的诊断。检测时，可以在 0 至  $1.999\text{mW/cm}^2$  的范围内调整紫外光的 20 辐照度，显示在整个量程内的紫外亮度，也可以将紫外光的辐照度固定在一个固定的数值，这样可以得到高的重现率，且便于同一患者的跟踪。

25 本发明的装置也可以单独使用。

本发明的研究人员意外地发现，按本发明所述方法制备的，不同于现有技术指出的脱镁叶绿酸和叶绿三酸的蚕砂提取物，配合本发明所述的装置并采用所述的各项参数，在动物实验中，对于胃癌模型小鼠及健康小鼠对照实验发现，肿瘤组其组织的荧光值与正常组组织内的荧光值之间的比值在 8 倍以上，进一步的对 30

比实验发现，现有技术中的各种光敏剂对于胃癌模型小鼠及健康小鼠其荧光值之间的比值小于3倍。这种差异突显出本发明装置和光敏剂的高度灵敏性。一个月内跟踪检测三次还发现，采用本发明的蚕砂提取物及其装置在检测癌变的同时还具有改善病变组织的作用，特别是对于早期的组织变异，效果尤其明显，说明本发明的蚕砂提取物同时还具有光动力学上的治疗效果。另外使用本发明的蚕砂提取物无须避光等其他条件，使用方便、无毒副作用，患者容易接受。

本发明装置的特点之一是，在传输近紫外光的光纤的适当部位，设置一近紫外光辐照检测装置，该检测装置实际得到了光纤中近紫外光的辐照度，经电路转换后，将紫外光的辐照度以数字形式显示在探测器中的紫外显示器上。对同一组10织的不同部位或不同器官可以准确调节紫外光辐照强度，并在同一或不同个体的检测中始终将紫外光的辐照度固定在一个特定的数值上，这样检测结果具有重现性，并有利于治疗效果及病变发展的跟踪检查。特点之二是不采用光谱分析的方法诊断恶性肿瘤。

该检测装置的优点是，在逐步增加紫外光辐照强度过程中，可以直接检测光15敏剂被激发的荧光值也相应增加；另外对不同的部位或器官可以准确调节紫外光辐照度，确保在同一光源的使用期限内，紫外光辐照度通过调整而能够始终保持一致。

而这，很好地克服了现有技术的缺陷，即，激发光的辐照度过大导致的本底20值过大无法检测，和激发光的辐照度过小导致荧光亮度太低检测不到。这两种情况都直接影响检测结果的准确性。此外本发明的装置还克服了现有技术中激发光的辐照度不能够调整而导致的随着使用时间的增加，紫外辐照度降低，而装置中其他条件不变，检测结果不具有重现性或容易出现漏检的缺点。

进一步，本发明中在检测装置中设置有一报警装置，报警装置内预设定检测模型。当荧光亮度超过诊断模型规定量时，报警装置通过其连接的蜂鸣器报警，25即可诊断为癌变，采用这种方式，能够简化检测过程，进一步降低对于检测操作人员业务水平的要求。

虽然生物体内存在自体荧光，但至今为止，尚未有正常组织的自体荧光超过30600nm的报道。本发明中在荧光采集光纤的输出端与检测装置中的光电倍增管之间设置一仅允许600—750nm波长的红荧光通过的第二滤光片，滤除了紫外辐射光、自体荧光，排除了各种因素对于检测结果的影响，因此可以确定所检测到的荧光都是靶组织内光敏剂发出的荧光。本发明装置对于荧光亮度的分辨率为

0.01cd/m<sup>2</sup>, 又由于本发明光敏剂的在变异组织的强选择性亲和、吸附，正常组织内的正常代谢，因此即使对于早期的细胞变异，检测的准确率可以达到98%。

其中所述光敏剂优选采用本发明所述的蚕砂提取物。用量为 0.1-100 μg/kg 体重，未吸收的蚕砂提取物 12 小时后自然从体内排出。在癌变部位滞留 12-24 小时。

本发明的装置配合内窥镜进行肉眼分辨，由于其荧光值更高，因此比现有技术更加容易分辨和定位。

本发明可适用于各种癌症的早期诊断，尤其是已经具有内窥镜检测的各器官内癌变的检测及早期诊断，如可疑肺癌、胃癌、膀胱癌、子宫癌、前列腺癌、直肠癌，皮肤癌等部位的检测及癌前期病变的诊断。特别是采用本发明的蚕砂提取物作为光敏剂时，由于其灵敏度高，即使早期的轻微组织变异都能够产生滞留，能极大提高早期癌变组织的诊断率。

本发明的装置克服了现有技术中采用激光光源及光谱分析设备庞大、价格昂贵、使用不便的缺陷，以及紫外光源检测不准确的，操作水平要求高的缺陷，提供的诊断或治疗早期恶性肿瘤的装置体积小，价格便宜，操作简单，通过特征荧光的绝对值诊断恶性肿瘤和早期癌变，通过动物实验证明准确率极高。

### 具体实施方式

下面结合附图和具体实施例详细描述本发明，所述实施例用于描述本发明，而不是限制本发明。

#### 附图说明

图 1 是本发明诊断或治疗肿瘤装置的原理图

图 2 是本发明诊断或治疗肿瘤装置的结构图

图 3 是本发明诊断或治疗肿瘤装置的另一实施例的结构图

25

#### 实施例 1

取 1kg 蚕砂粉末，先用 5000ml 甲醇浸没，再加入 20wt% 的 NaOH 溶液 250ml，控制 PH 值在 10 左右，回流下搅拌 8 小时，抽滤，收取滤液，浓缩至原液的三分之一，加入浓缩液 5 倍量的热水充分搅拌，静止，取上清液，加入等体积的环己烷萃取不皂化物至环己烷层无色，分液，取下层皂化液，加入浓度为 20wt% 的 HCl 调 PH 至 3 左右，离心收取沉淀，沉淀物加 15wt% 的 NaOH 溶液 200ml 及 95% 的乙醇 2000ml 搅拌溶解，PH 控制在 11 左右，搅拌加热回收乙醇，过滤，弃沉淀，滤液

浓缩，浓缩物经干燥得 18g 左右墨绿色蚕砂提取物粉末。

1g 墨绿色蚕砂提取物粉末加 100ml 蒸馏水溶解，采用制剂学上的现有工艺制成含量为 100mg/ml 的注射液。

#### 实施例 2

5 取 1kg 40 目蚕砂粉末，加 95%乙醇 3000ml 和 10%的 NaOH 800ml 溶液，搅拌回流，反应过程中控制 PH 值在 11 左右，回流 6 小时，抽滤，收取滤液，浓缩至原液的四分之一，加入 10 倍量的热水充分搅拌，静止，分取上清液，加入等体积的石油醚萃取不皂化物至石油醚层无色，分液，取下层皂化液，加 30%HCl 调 PH 至 4 左右，有沉淀析出，离心收取沉淀，沉淀物加 10%的 NaOH 溶液 200ml 及 95%  
10 的乙醇 1500ml 溶解，PH 控制在 10 左右，充分搅拌后，加热回收乙醇，过滤，滤液浓缩，浓缩物经干燥得 20g 墨绿色蚕砂提取物粉末。

上述蚕砂提取物粉末加入淀粉等辅料，根据现有技术的方法制备为有效成分含量为 5mg/片的片剂或 5mg/袋的颗粒。

#### 实施例 3

15 取 1kg 蚕砂粉末，加 100ml 水软化，再加 70%乙醇 8000ml 和 30%的 KOH 水溶液 200ml，搅拌回流，反应过程中控制 PH 值在 12 左右，回流 4 小时，抽滤，收取滤液，浓缩至原液的一半，加入 12 倍量的热水充分搅拌，静止，分取上清液，加入等体积的苯萃取不皂化物至苯层无色，分液，合并下层皂化液，下层皂化液加 5%硫酸调 PH 至 5 左右，有沉淀析出，离心收取沉淀，沉淀物加 10%的 NaOH 溶液 100ml 及 95%的乙醇 1000ml 溶解，PH 控制在 9 左右，搅拌，加热减压回收乙  
20 酒，过滤，滤液浓缩至得到膏状蚕砂提取物。

取膏状蚕砂提取物加蒸馏水，采用制剂学上的现有工艺制备为 3-20mg/ml 口服液。采用荧光光度法测定含量。

#### 实施例 4

25 取 1kg 蚕砂粗粉，加 500ml 水软化，再加 95%乙醇 1000ml 和 5%的 NaOH 溶液 300ml，搅拌回流，反应过程中控制 PH 值在 9.5 左右，回流 10 小时，抽滤，收取滤液，除乙醇，加入 15 倍量的热水充分搅拌，静止，分取上清液，加入 3 倍体积的苯萃取不皂化物至苯层无色，分液，取下层皂化液，加 30%的 NaOH (或 KOH) 溶液 100ml 及 95%的乙醇 3000ml，使 PH 控制在 10 左右，抽滤，收取滤液，减压下  
30 加热除乙醇，加 30%盐酸调 PH 至 5.5 左右，析出沉淀，离心，收取沉淀，水洗沉淀物，干燥，得到 30g 墨绿色蚕砂提取物粉末。

上述蚕砂提取物粉末加入辅料，根据现有技术的方法制备为片剂或喷雾剂。

#### 实施例 5

取 1kg 蚕砂粗粉，加 95%乙醇 2000ml 和 8%的 NaOH 溶液，搅拌回流，反应过程中控制 PH 值在 9.0 左右，回流 6 小时，抽滤，收取滤液，除乙醇，加入 2 倍量的热水充分搅拌，静止，分取上清液，加入 3 倍体积的石油醚萃取不皂化物至石油醚层无色，分液，取下层皂化液，加 30%的 NaCO<sub>3</sub>溶液 300ml 及 95%的乙醇 3000ml，使 PH 控制在 10 左右，抽滤，收取滤液，减压下加热除乙醇，加 30%盐酸调 PH 至 5.5 左右，析出沉淀，离心，收取沉淀，水洗沉淀物，干燥，得到 30g 墨绿色蚕砂提取物粉末。

上述实施例中，成盐一步中也可以将 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 改为 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaHCO<sub>3</sub> 或 KHCO<sub>3</sub>，得到相应的蚕砂降解的叶绿环类的 K 或 Na 盐。

#### 实验例 1

##### 含量测定：

称取蚕砂提取物粉末 10mg 加生理盐水配制成 100ml，得 0.1mg/ml 的标准溶液，分别配制成分别配置成以下浓度 50ug/ml、30ug/ml、10ug/ml、8ug/ml、5ug/ml、3ug/ml、1ug/ml、0.1ug/ml、0.05ug/ml。

激发条件；激发波长为 365nm，带宽均为 10nm。以 650nm 处的荧光亮度为纵坐标，浓度为横坐标制作标准曲线，分别用不同浓度测定其荧光强度值，制成标准曲线。

取样品 3.5mg 左右，精密称定，置 10ml 量瓶中加生理盐水溶解并稀释至刻度，摇匀，精密吸取 0.1ml 供试溶液，加生理盐水 9.9ml，摇匀，测定荧光强度，通过查标准曲线来计算样品含量。

#### 实验例 2

##### 本实验例涉及本发明蚕砂提取物的毒性

采用实施例 1 的方法制备的蚕砂提取物。

动物：昆明种小鼠，雌雄各半。

最大给药量测定，取上述健康小鼠 60 只，随机分为两组，雌雄各半，给药组小鼠一次口服本发明的蚕砂提取物 25g/kg，对照组不服用任何药物，记录以上两组给药前后第四天及第十天的体重与临床表现，结果表明，小鼠一次口服最大剂量的蚕砂提取物 25g/kg，未出现死亡，未发现与给药有关的临床表现，也未发现给药对体重的影响，说明人临床拟用剂量是一个安全剂量。

### 实施例 6

参见图 1、2。图 1 中，输入光导纤维和输入光检测光导纤维被统称为激发光纤、荧光采集光导纤维也就是收集光纤，其中的光电转换所用装置为光电倍增管。本发明的诊断或治疗恶性肿瘤的装置包括：输出可调辐照度紫外光的光发生装置 5 1、光传输装置 2 和检测装置 3，检测装置 3 中包括紫外辐照度检测装置和荧光检测装置。光传输装置包括输入光导纤维 4、荧光采集光导纤维 5 和输入光检测光导纤维 6；输入光导纤维 4 和输入光检测光导纤维 6 具有一个共同的光输入端部 21。光发生装置 1 发出的紫外光经与之相连的输入光导纤维 4 和输入光检测光导纤维 6 的端部分别被传送到位于靶组织 7 的输入光导纤维的探测端部 8 和检测装置 10 3 中用于检测光发生装置 1 发出的紫外光辐照度的紫外辐照度检测装置中的光电探测器 9 内，荧光采集光导纤维 5 的输入端 10 与接近靶组织 7 的输入光导纤维的探测端部 8 部分同轴混排为复合纤维 11，荧光采集光导纤维 5 的输出端 12 与检测装置 3 中用于检测荧光强度的荧光检测装置中的光电倍增管 13 相连接，光电倍增管 13 输出的荧光信号经电子线路 14 处理后显示在荧光亮度显示窗口 15 上。

参见图 3，在本发明的另一个实施方式中，检测装置 3 包括两个独立设置的紫外辐照度检测装置 300 和荧光检测装置 301。而图 2 中，紫外辐照度检测装置和荧光检测装置共同设置在检测装置 3 中。

在荧光采集光导纤维的输出端与荧光检测装置中的光电倍增管之间设置一第二滤光装置 45。第二滤光装置 45 为仅允许 600—750nm 波长的红荧光通过的滤光片，以防止紫外辐射进入光电倍增管冲淡荧光信号的纯度。

光发生装置包括一发出光源的高压汞灯 16、一抛物面镜 17、一反射镜 18、石英光棒 19 和滤光装置 20，高压汞灯 16 发出的辐射光经抛物面镜 17 汇聚后投射至呈 45 度角设置的反射镜 18 上，经反射后至石英光棒 19，经光过滤装置 20 过滤后，波长为  $365 \pm 15\text{nm}$  的窄带紫外辐射进入具有共同输入端口的输入光导纤维 4 和荧光检测光导纤维 6 的输入端。抛物面镜 17 的内表面覆盖有只反射 330—400nm 波长的近紫外光而将其他光透过的反射膜。滤光装置 20 包括两个滤光片，经滤光片滤色后，传送到输入光导纤维输入端的为  $365 \pm 15\text{nm}$  的窄带紫外辐射，优选  $365 \pm 10\text{nm}$ 。

在本发明的一个实施例中，光发生装置内的高压汞灯 16 电连接一个可调控制开关（图中未示），通过控制输入电流的大小调整输出近紫外光的辐照度从 0 到  $1.999\text{mW/cm}^2$ 。在本发明的另一个实施例中，在石英光棒 19 的前部设置有类似于

照相机快门的可调节进光量的窗口以控制光的增减，也可以参照图 1 所示在石英光棒 19 的前部设置一挡光片 30，挡光片 30 呈扇形、半圆形或楔形光栏，通过面板上的旋扭 31 的旋转带动挡光片 30 转动，以控制输出紫外光的辐照度。

作为一种变换，还可以在反射镜 18 与其反射光束的汇聚点之间的光路内，  
5 设置一遮光板，通过旋钮控制遮光板动作，部分遮挡光线，以控制输出紫外光的辐  
照度（图中未示）。

输入光导纤维 4、输入光检测光导纤维 6 和荧光采集光导纤维 5 为石英光导  
纤维。输入光导纤维的接近靶组织的探测端部和荧光采集光导纤维的输入端部至  
其上 0.5m 处二者同轴混排设置为复合纤维 8，光纤被放置在软管内，复合纤维 8  
10 部分的直径为  $2 \pm 0.15\text{nm}$ 。检测装置 3 的光电倍增管 13 优选响应范围为 300–850nm，  
倍增极 8–15 级，阳极灵敏度 100–300A/1m，电压 1000V，暗电流 1–10nA 的光电倍增  
管，在本发明的优选实施方式中，光电倍增管为北京核仪器厂生产的型号为 GBB24  
15 的光电倍增管，光电倍增管 13 检测的红荧光的亮度范围为 0–1999cd/m<sup>2</sup>。检测装  
置 3 中光电倍增管 13 输出的荧光的电信号经过电子线路 14(A/D 转换器)处理后，  
将荧光亮度显示在荧光亮度显示器 15 上。其中荧光亮度的分辨率为 0.01 cd/m<sup>2</sup>。  
荧光亮度显示器 15 指示的准确度为  $\pm 10\%$ 。

在本发明的另一种实施方式中，荧光采集光导纤维 5 为玻璃纤维。

紫外光强度的光电探测器 9 通过输入光检测光导纤维 6 接收光发生装置 1 发  
出的紫外光，经电路转换 (A/D 转换器 46)，将该紫外光的辐照度以数字形式显示  
20 在检测装置 3 中的紫外显示器 22 上。深入人体分支的传光束出端 1cm 处的紫外辐  
照度从 0 至 1.999mW/cm<sup>2</sup> 可以按需要调节。紫外显示器 22 指示的准确度为  $\pm 10\%$ 。  
进一步检测装置 3 中紫外辐照度检测装置中还设置有紫外信号模拟输出端口，用  
于通过记录仪记录或计算机处理数据。

光电探测器 9 为硅光电管，进入硅光电管的光经过 ZWB、QB21 两个滤光片滤  
光。在本发明的优选实施方式中，光电探测器 9 为北京师范大学光电仪器厂生产  
25 的型号为 UV-A 光电探测器。

在本发明的另一个实施方式中，检测装置 3 包括一个荧光信号模拟输出端口  
40，模拟输出端口的一端与 A/D 转换器 14 的输出端相连，另一端与记录仪或计算  
机相连接（图中未示），用于通过记录仪记录或计算机处理数据。也可以模拟输  
30 出端口 40 和荧光亮度显示器 15 同时设置。

本发明中在检测装置中设置有一阀值可调的报警装置 41，报警装置的电路 43 内预设定检测模型。当荧光亮度超过诊断模型规定量时，报警装置通过其连接的峰鸣器 42 报警，即可诊断为癌变，采用这种方式，能够简化检测过程，进一步降低对于检测操作人员业务水平的要求。

5 在本发明的另一个实施方式中，荧光亮度检测分为三个量程，通过检测装置的面板上的按钮控制选择量程。

本发明的紫外光辐照度检测装置采用紫外标准辐照仪定标，荧光亮度检测装置定标光源为 A 光源加 1.5mm 厚的 CB550 滤光片。

至于光源内各结构的固定方式，可以参考 ZL97106273.0 ZL85100424  
10 Z100216974.6 中的内容。

经动物实验及临床实验表明，本发明的光敏剂及检测装置，对于恶性肿瘤检测的准确率可达 92-98%，对于癌前期病变的检出率可达 89-93%。该仪器结构简单、操作容易，成本低，是一种有前途的医用诊断、治疗仪。

15

20

25

30

## 权 利 要 求

1. 一种蚕砂提取物，其特征在于所述的蚕砂提取物是蚕砂降解物的钠或钾盐，其水溶液在  $365 \pm 15\text{nm}$  的近紫外光源激发下在  $660\text{nm} \pm 15\text{nm}$  的波长范围内与空白对照比具有 8 - 12 倍的荧光值比率；优选的激发波长为  $365 \pm 10\text{nm}$ ，发射波长  $660\text{nm} \pm 10\text{nm}$ ，9 - 12 倍的荧光值比率；更优选激发波长为  $365\text{nm}$ ，发射波长  $660\text{nm}$ ，10 - 12 倍的荧光值比率；  
5
2. 根据权利要求 1 所述的蚕砂提取物，其特征在于所述的提取物包括脱镁叶绿酸 a、脱镁叶绿酸 b、焦脱镁叶绿酸 a、紫红素-18、二氢卟吩 P<sub>6</sub>、二氢卟吩 e<sub>6</sub>、  
10 二氢卟吩 e<sub>4</sub> 等母核为二氢卟吩的具有环戊酮结构的二氢卟吩类的钠或钾的配合物，配合物的含量约为 30-58wt%，优选含量为 40-50wt%。  
15
3. 一种蚕砂提取物，是通过下述方法制备的：将蚕砂皂化、提取、酸化、成盐，其中：
  - 1) 蚕砂提取物皂化后过滤，将滤液浓缩，得浓缩液；
  - 2) 用非极性有机溶剂提取浓缩液中的不皂化物，去溶剂得皂化液；
  - 3) 用酸酸化皂化液，沉淀出酸化的皂化物；
  - 4) 将沉淀出的酸化皂化物与碱或盐反应，得到叶绿素酸盐后过滤，将滤液浓缩，得浓缩的蚕砂提取物液；  
20
4. 根据权利要求 3 所述的蚕砂提取物，其中皂化是在蚕砂中加入 1-8 倍的醇和浓度为 5-40wt% 的碱的水溶液至 PH 值为 9-12，及加热回流下进行，反应时间为 4-10 小时。  
25
5. 根据权利要求 3 或 4 所述的蚕砂提取物，其中步骤 2) 中，用 3-15 倍的水溶解浓缩液，用非极性溶剂提取溶解液上清液中没有被皂化的物质，取下层皂化液。  
30
6. 根据权利要求 5 所述的蚕砂提取物，步骤 3) 中，用酸酸化皂化液，至 PH 至 3-5，弃上清液，收取沉淀出的酸化皂化物。
7. 根据权利要求 6 所述的蚕砂提取物，将沉淀出的酸化皂化物与氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钾、碳酸钠、碳酸氢钠、碳酸氢钾反应成盐后过滤，将滤液浓缩或进一步干燥得到蚕砂提取物。
8. 一种诊断或治疗肿瘤的装置，包括：辐照度可调的、输出紫外光的光发生装置、光传输装置、辐照度检测装置和荧光检测装置，光传输装置包括输入光导

纤维、荧光采集光导纤维和输入光检测光导纤维；光发生装置发出的紫外光经与之相连的输入光导纤维和输入光检测光导纤维分别被传送到位于靶组织的输入光导纤维的探测端部和荧光检测装置中用于检测光发生装置发出的紫外辐照度的探测器内，荧光采集光导纤维的输入端与接近靶组织的输入光导纤维的探测端部分同轴混排为复合纤维，并将靶组织的光敏剂产生的特征荧光经荧光采集光导纤维的输出端传递至荧光检测装置中的光电倍增管中，光电倍增管输出的荧光信号经电子线路处理后将荧光亮度以数字形式显示在荧光亮度显示窗口上，或光电倍增管输出的荧光信号经电子线路处理后输出到用于记录或数据处理的记录仪或计算机。

10 9. 根据权利要求 8 所述的诊断或治疗肿瘤的装置，其中紫外辐照度的探测器接收的紫外辐照度经电路转换后，将紫外辐照度以数字形式显示在探测器中的紫外显示器上，或输出到用于记录或数据处理的记录仪或计算机内。

10. 根据权利要求 8 或 9 所述的装置，在光发生装置内，或光发生装置与输入光导纤维连接之处或输入光导纤维的输入端部设置一第一滤光装置。

15 11. 根据权利要求 8 或 9 所述的装置，根据权利要求 1 或 2 所述的装置，在荧光采集光导纤维的输出端与荧光检测装置中的光电倍增管之间设置一第二滤光装置。

12. 根据权利要求 8-10 所述的诊断或治疗肿瘤的装置，其中光发生装置输出的近紫外光大于 0 至  $1.999\text{mW/cm}^2$  范围内可调，检测装置的光电倍增管检测的红荧光的亮度范围为  $0-1999\text{cd/m}^2$ 。  
20

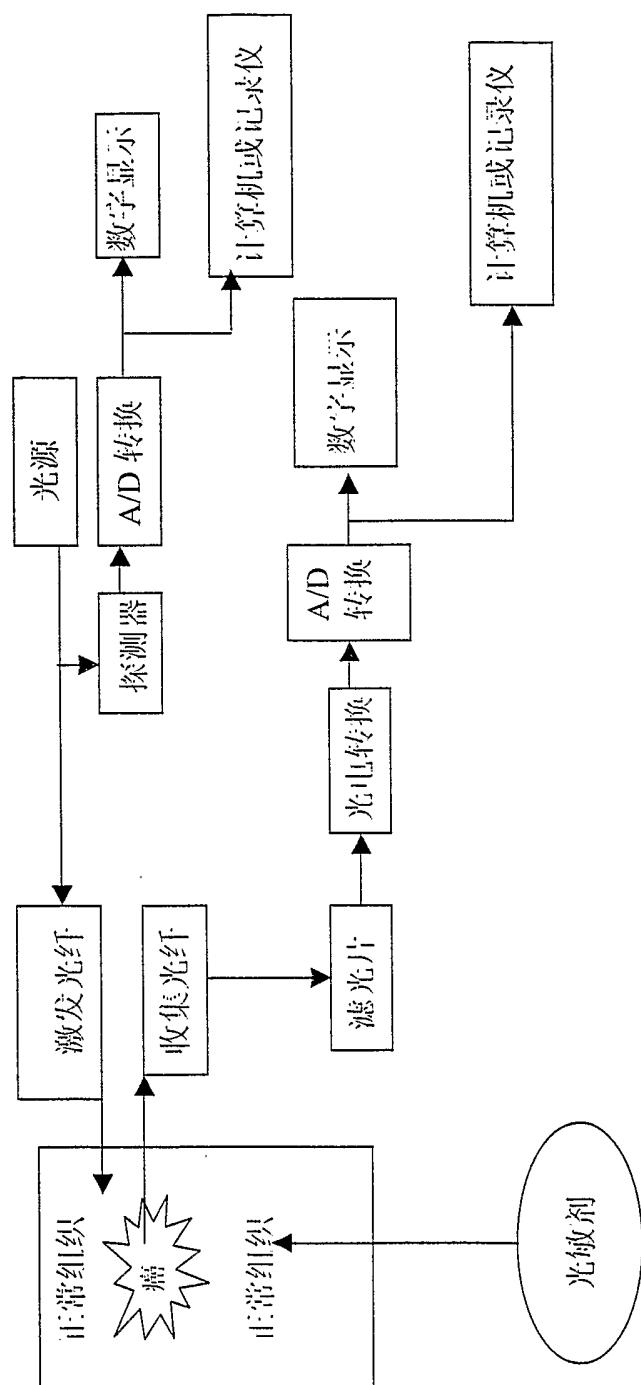
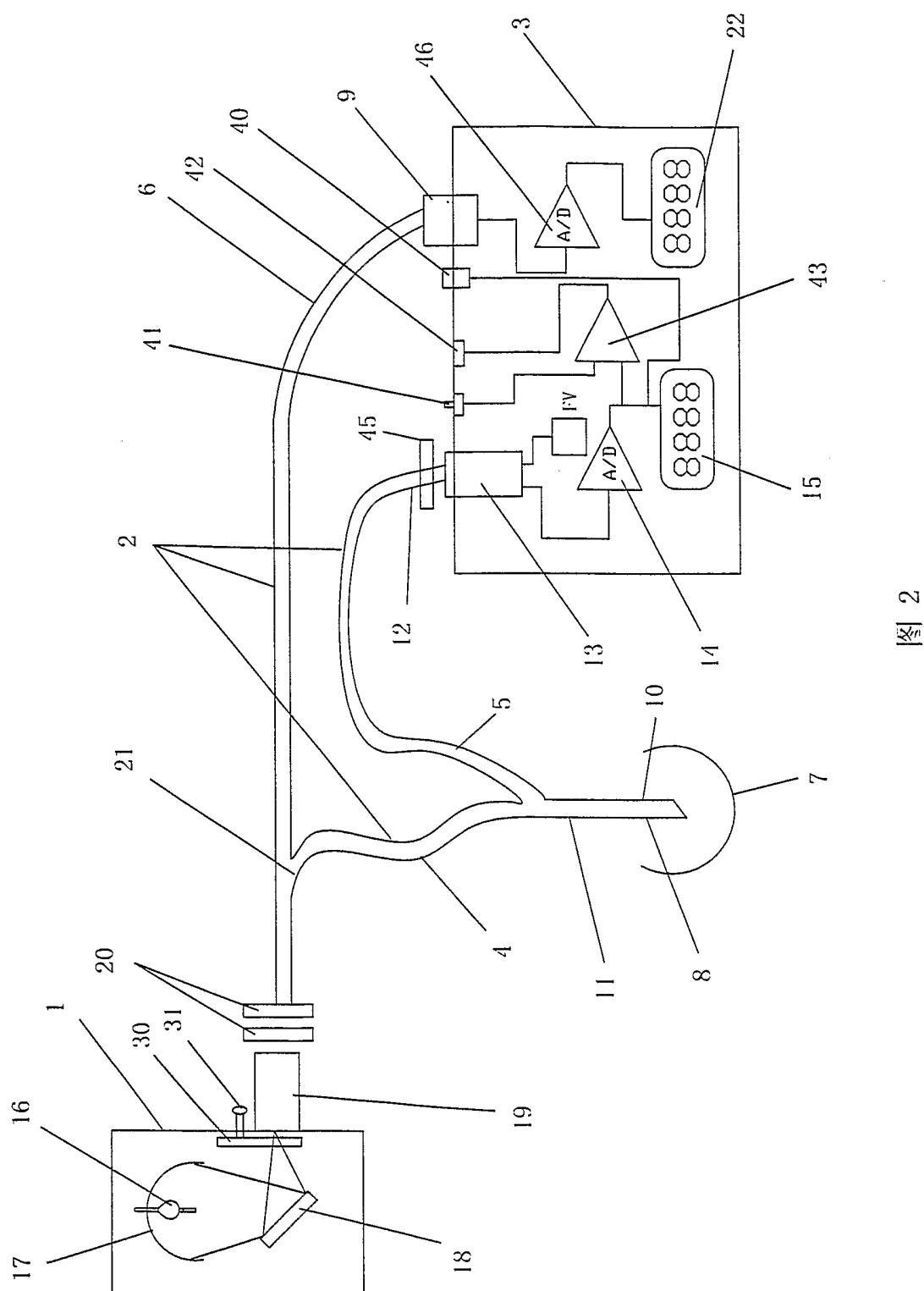
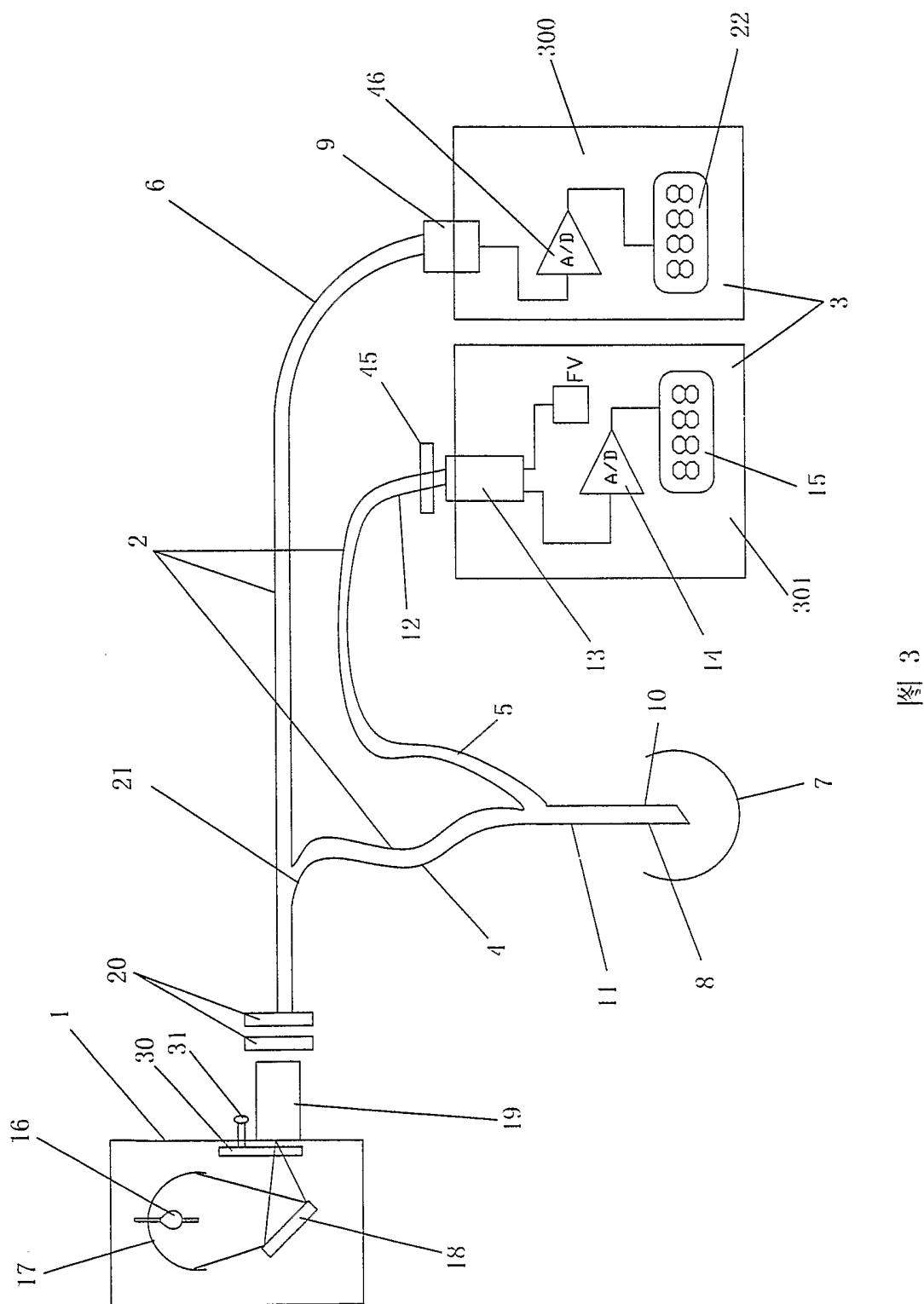


图 1



[§] 2



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN03/00465

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC<sup>7</sup> A61K35/64, A61P35/00, A61B6/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC<sup>7</sup> A61K35/64, A61P35/00, A61B6/00, 6/12, A61B5/00, 5/06, 10/00, A61B1/06, 1/07, 1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Chinese Patent

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT WPI EPODOC PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1092981A(ZHEJIANG INST TRADITIONAL CHINESE MEDICINE) 05 Oct 1994 (05.10.94) Whole Document	1-7
A	US20020072677A1 (Eva Sevick-Muraca ) 13 Jun 2002 (13. 06. 02) Whole Document	8-12
A	GB2254417A (Bijan Jouza) 07 Oct 1992 (07. 10. 92) Whole Document	8-12
A	GB2203831A(The Academy of Applied Science Inc) 26 Oct 1988 (26.10.88) Whole Document	8-12
A	JP8280692A(MATSUSHITA DENKI SANGYO KK) 29 Oct 1996 (29. 10. 96) Whole Document	8-12
A	JP9149891A (FUJI PHOTO FILM CO LTD) 10 Jun 1997 (10. 06. 97) Whole Document	8-12

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
01 Mar 2004(01.03.04)

Date of mailing of the international search report  
18 · MAR 2004 (18 · 03 · 2004)

Name and mailing address of the ISA/CN  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District,  
100088 Beijing, China  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer  
YUE,Xuelian  
Telephone No. 60285266 62085812

印张  
草稿

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN03/00465

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members	Publication date
CN1092981A	05-10-1994	CN1048403B	19-01-2000
US20020072677A1	13-06-2002	None	
GB2254417A	07-10-1992	None	
GB2203831A	26-10-1988	None	
JP8280692A	29-10-1996	None	
JP9149891A	10-06-1997	None	

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN03/00465

## A. 主题的分类

IPC<sup>7</sup> A61K35/64, A61P35/00, A61B6/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC<sup>7</sup> A61K35/64, A61P35/00, A61B6/00, 6/12, A61B5/00, 5/06, 10/00, A61B1/06, 1/07, 1/00

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

中国专利文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

CNPAT WPI EPODOC PAJ

## C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时; 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	CN1092981A (浙江省中医药研究院) 05.10月 1994(05.10.94) 全文	1-7
A	US20020072677A1 (Eva Sevick-Muraca ) 13.6月 2002 (13.06.02) 全文	8-12
A	GB2254417A (Bijan Jouza) 07.10月 1992 (07.10.92) 全文	8-12
A	GB2203831A(The Academy of Applied Science Inc) 26.10月 1988 (26.10.88) 全文	8-12
A	JP8280692A(松下电器产业株式会社) 29.10月 1996 (29.10.96) 全文	8-12
A	JP9149891A (富士株式会社) 10.6月 1997 (10.06.97) 全文	8-12

 其余文件在 C 栏的续页中列出。 见同族专利附件。

\* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇  
引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引  
用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相  
抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的  
发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件  
结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时,  
权利要求记载的发明不具有创造性

“&amp;” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

01. 3月 2004 (01.03.04)

国际检索报告邮寄日期

18·3月 2004 (18·03·2004)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

受权官印  
张潇

电话号码: 86-10-62085266-62085812

国际检索报告  
关于同族专利成员的情报

国际申请号  
PCT/CN03/00465

检索报告中引用的专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN1092981A	05-10-1994	CN1048403B	19-01-2000
US20020072677A1	13-06-2002	无	
GB2254417A	07-10-1992	无	
GB2203831A	26-10-1988	无	
JP8280692A	29-10-1996	无	
JP9149891A	10-06-1997	无	