



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108299453 B

(45) 授权公告日 2020.11.27

(21) 申请号 201810080722.0

C07C 39/19 (2006.01)

(22) 申请日 2018.01.28

C07C 37/70 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

C07C 37/72 (2006.01)

申请公布号 CN 108299453 A

C07C 37/82 (2006.01)

(43) 申请公布日 2018.07.20

审查员 黄清昌

(73) 专利权人 上海中医药大学

地址 201203 上海市浦东新区张江高科技

园区蔡伦路1200号

(72) 发明人 徐宏喜 郑丹 张洪 王宇

蒋嘉明 谭红胜

(74) 专利代理机构 上海海颂知识产权代理事务

所(普通合伙) 31258

代理人 何葆芳 马云

(51) Int. Cl.

C07D 493/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法,包括如下步骤:a)将补骨脂药材经粉碎后用石油醚提取,得补骨脂的石油醚粗提物;b)将补骨脂的石油醚粗提物上聚酰胺柱,以乙醇与水的混合溶液进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚以及补骨脂素与异补骨脂素的混合物;c)将补骨脂素与异补骨脂素的混合物上硅胶柱,用石油醚与乙酸乙酯的混合溶液进行洗脱,收集目标流份,减压浓缩,即得补骨脂素和异补骨脂素。本发明实现了补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的同时大量分离,且纯度均高于99%,解决了补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚同时分离的难题。

1. 一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法,其特征在于,包括如下步骤:

a) 将补骨脂药材经粉碎后用石油醚提取,得补骨脂的石油醚粗提物;

b) 将补骨脂的石油醚粗提物上聚酰胺柱,以乙醇与水的混合溶液进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚以及补骨脂素与异补骨脂素的混合物,具体为:用乙醇与水依照5:95~30:70的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂素与异补骨脂素的混合物;用乙醇与水依照35:65~55:45的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚;

c) 将补骨脂素与异补骨脂素的混合物上硅胶柱,用石油醚与乙酸乙酯的混合溶液进行洗脱,收集目标流份,减压浓缩,即得补骨脂素和异补骨脂素,具体为:用石油醚与乙酸乙酯依照30:1~10:1的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,分别得到补骨脂素和异补骨脂素。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤a)中,石油醚提取方式为超声提取或冷浸提取,每次提取时补骨脂药材与石油醚的液料比是(2~10)毫升/克,提取次数为2~5次。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤b)中,采用TLC薄层分析,收集目标流份。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于:步骤c)中,采用TLC薄层分析,收集目标流份。

一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法

技术领域

[0001] 本发明是涉及一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法,属于天然产品分离提纯技术领域。

背景技术

[0002] 补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实,又名破故纸、婆固脂、胡韭子,首见于《开宝本草》,分布于山西、陕西、安徽等地,具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻的功效。现代化学研究表明补骨脂主要含有糖苷、香豆素、黄酮、单萜酚类成分,具有抑菌、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、增强免疫等活性。

[0003] 补骨脂素 (Psoralen, CAS#: 66-97-7, 分子式为 $C_{11}H_6O_3$, 分子量为 186)、异补骨脂素 (Isopsoralen, CAS#: 523-50-2, 分子式为 $C_{11}H_6O_3$, 分子量为 186) 和补骨脂酚 (Bakuchiol, CAS#: 10309-37-2, 分子式为 $C_{18}H_{24}O$, 分子量为 256) 都是补骨脂中分离出来的主要活性成分,其中补骨脂素和异补骨脂素是补骨脂中香豆素类成分的代表,二者也是补骨脂及其相关制剂质量控制的主要指标,补骨脂酚是补骨脂中单萜酚类成分的代表。研究表明:补骨脂素对肿瘤生长具有抑制作用,异补骨脂素可以调节机体的内分泌,缓解更年期综合症,同时补骨脂素及异补骨脂素是具吸收紫外线性质的光敏性物质,也是抗白癜风的有効成分;补骨脂酚具有抗肿瘤、抗氧化、抗微生物、植物雌激素样作用等活性。因此,研究从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法具有重要意义。

[0004] 由于补骨脂素和异补骨脂素是一对同分异构体,两者的结构非常相似,极性、溶解度等理化性质也非常接近,因此给两者的分离提纯带来了很大困难;另外,补骨脂酚是一个油状液体,因此常规的重结晶等手段很难将其分离出来;此外,补骨脂中除了补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚以外,还有多种与其极性相似的活性物质,这也给三者的分离提纯带来了很大困难。上述原因导致很难将补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚同时从补骨脂中分离出来,目前从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚,通常是仅分离补骨脂素和异补骨脂素,或仅分离补骨脂酚。

[0005] 目前对补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素的分离纯化,主要是先有机溶剂提取,然后通过柱色谱法、HPLC法、超临界流体法、大孔树脂或高速逆流色谱法纯化,其中:柱色谱法、HPLC法、超临界流体法制备量小,难以实现大量分离纯化,实际应用价值小;大孔树脂法虽然工艺成熟,可以实现大量分离纯化,但是操作繁琐;高速逆流色谱法虽然具有分离量大、分离效率高的优点,但是高速逆流色谱法中溶剂系统的选择比较困难,缺乏理论指导。

[0006] 由于早期人们认为中药补骨脂的毒性作用与其中含有的成分补骨脂酚有关,因此,早期对于补骨脂的提取主要集中在补骨脂素和异补骨脂素上,而对补骨脂酚的提取工艺少有报道,随着近年来人们对补骨脂酚药理作用研究的深入,关于补骨脂酚的提取工艺也越来越多。传统的补骨脂酚的分离方法主要是先有机溶剂提取,然后通过HPLC法、硅胶柱、大孔树脂纯化。但是,HPLC法不仅制备量小,难以实现大量分离纯化,并且仪器成本高;

硅胶柱纯化虽然仪器成本较低,但是样品易在分离过程损失,产率较低,并且存在与补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂乙素等成分交叉的问题,所得补骨脂酚的纯度较低,而为了弥补这一缺陷就需要反复多次的纯化,例如:中国专利CN201510594624.5中公开了一种补骨脂酚提取物的制备方法,先通过石油醚对补骨脂药材进行提取,得到补骨脂提取物,提取物经一次硅胶柱层析,得到补骨脂酚粗品(纯度仅为30%),为了提高补骨脂酚的纯度,所得补骨脂酚粗品需再次经过硅胶柱层析,才能得到纯度大于98%的补骨脂酚纯品,虽然得到了高纯度的补骨脂酚,但是分离过程中由于硅胶易对样品产生不可逆吸附,导致方法需要反复用硅胶柱层析分离,样品容易损失且周期比较长,操作繁琐;大孔树脂操作复杂,例如:中国专利CN200910079502.7、200910084832.5中补骨脂经乙醇提取,水沉淀,滤液大孔树脂纯化,有机溶剂提取,提取液弃去,残渣水洗的方法得到补骨脂酚,虽然可以大量分离,得到的产品纯度可以达到90%以上,但是为了将补骨脂酚与补骨脂素和异补骨脂素分离,提高补骨脂酚纯度,需要经过水提醇沉、大孔树脂纯化后有机溶剂提取等分离纯化步骤,工艺复杂,不适用于大规模生产。

[0007] 由补骨脂素和异补骨脂素属于内酯类物质,在碱性条件下不稳定,容易开环成盐,因此有研究人员采用有机溶剂提取得到补骨脂粗提物,然后将粗提物用碱性水溶液溶解,最后用柱色谱法或大孔树脂进行纯化,从而分离纯化出补骨脂酚,例如:CN200680024989.3中公开了补骨脂酚的组合物及其制备方法,该方法中通过碱水处理,使提取物中补骨脂素和异补骨脂素开环成盐,与补骨脂酚分离,然后对去除补骨脂素和异补骨脂素的混合物通过柱层析进行纯化,虽然实现了补骨脂酚与补骨脂素和异补骨脂素的分离,但是工艺复杂,需要调节pH值,且含有补骨脂酚的粗提物长时间在强碱性体系中会造成原料中补骨脂酚的损失,所得补骨脂酚的收率较低,虽然得到的补骨脂酚的纯度在27%~100%范围内,但是实际大多数情况下得到的补骨脂酚的纯度较低,为了得到高纯度的补骨脂酚,难免需要反复多次的柱层析纯化,操作复杂,周期较长;中国专利CN200810182713.9、CN201510887523.7和文献(D101大孔吸附树脂法富集补骨脂中补骨脂酚的研究;刘二伟,王家龙,韩立峰;天津中医药大学学报;第31卷第2期第95-97页;2012年6月)中都分别报道了补骨脂酚的分离提纯方法,都是先用乙醇提取补骨脂,得到的提取物溶于碱水溶液,最后用大孔树脂进行纯化,虽然大孔树脂相较于柱色谱而言,分离量较大,但是该分离方法依旧工艺复杂,需要调节pH值,也依旧存在强碱性体系造成原料中补骨脂酚损失的问题,并且所得补骨脂酚的纯度也较低,例如:CN200810182713.9中所得补骨脂酚的纯度仅为40~90%,且含有2~10%的补骨脂黄酮类成分;CN201510887523.7中的中所得补骨脂酚的纯度在80%左右;文献中所得补骨脂酚的纯度在45.6%左右。

[0008] 除此以外,目前从补骨脂中分离补骨脂酚、补骨脂素和异补骨脂素时,通常是在针对性的富集补骨脂酚后,剩余部分往往弃之不用,造成资源浪费,例如:CN200680024989.3、CN200810182713.9、CN201510887523.7等对补骨脂提取物碱水处理,通常是将提取物中的补骨脂素和异补骨脂素开环成盐留在碱水溶液中弃之不用,而如果避免资源浪费,就需要对含有补骨脂素和异补骨脂素的碱水溶液重新加酸调节使溶液中的补骨脂素盐和异补骨脂素盐重新关环形成内酯,然后再用有机溶剂提取溶液中的补骨脂素和异补骨脂素,接着再进行纯化,操作更为复杂,不适用于大规模生产。

[0009] 综上所述:至今未见一种操作简单、可同时大量分离高纯度补骨脂素、异补骨脂素

和补骨脂酚的方法,以致影响了补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的药用价值的开发利用。

发明内容

[0010] 针对现有技术存在的上述问题,本发明的目的是提供一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法,以促进补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的药用价值的开发利用。

[0011] 为实现上述发明目的,本发明采用的技术方案如下:

[0012] 一种从补骨脂中分离补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚的方法,包括如下步骤:

[0013] a) 将补骨脂药材经粉碎后用石油醚提取,得补骨脂的石油醚粗提物;

[0014] b) 将补骨脂的石油醚粗提物上聚酰胺柱,以乙醇与水的混合溶液进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚以及补骨脂素与异补骨脂素的混合物;

[0015] c) 将补骨脂素与异补骨脂素的混合物上硅胶柱,用石油醚与乙酸乙酯的混合溶液进行洗脱,收集目标流份,减压浓缩,即得补骨脂素和异补骨脂素。

[0016] 作为优选方案,步骤a)中,石油醚提取方式为超声提取或冷浸提取,每次提取时补骨脂药材与石油醚的液料比是(2~10)毫升/克,提取次数为2~5次。

[0017] 作为优选方案,步骤b)中,用乙醇与水依照5:95~30:70(优选10:90~20:80)的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂素与异补骨脂素的混合物;用乙醇与水依照35:65~55:45(优选45:55~50:50)的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚。

[0018] 作为进一步优选方案,步骤b)中,采用TLC薄层分析,收集目标流份。

[0019] 作为优选方案,步骤b)中,聚酰胺柱选用60-100目或100-200目的聚酰胺柱材,进一步选用100-200目的聚酰胺柱材。

[0020] 作为优选方案,步骤b)中,聚酰胺柱分离时,聚酰胺柱材与补骨脂的石油醚粗提物的质量比5:1~20:1。

[0021] 作为优选方案,步骤c)中,用石油醚与乙酸乙酯依照30:1~10:1(以20:1为佳)的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,收集目标流份,减压浓缩,分别得到补骨脂素和异补骨脂素。

[0022] 作为进一步优选方案,步骤c)中采用TLC薄层分析,收集目标流份。

[0023] 作为优选方案,步骤c)中硅胶柱选用100-200目、200-300目或300-400目的硅胶柱材,进一步选用300-400目的硅胶柱材。

[0024] 作为优选方案,步骤c)中硅胶柱分离时,硅胶柱材与补骨脂素与异补骨脂素的混合物的质量比10:1~20:1。

[0025] 与现有技术相比,本发明具有如下显著性有益效果:

[0026] 本发明采用石油醚对补骨脂提取,得到的石油醚粗提物经过一步聚酰胺分离即可得到高纯度的补骨脂素与异补骨脂素的混合物以及纯度高于99%的补骨脂酚,所得的补骨脂素与异补骨脂素的混合物仅需一步硅胶柱分离即可得到纯度均高于99%的补骨脂素和异补骨脂素,解决了补骨脂素、异补骨脂素与补骨脂酚同时分离的难度,对补骨脂素、异补骨脂素和补骨脂酚药用价值的开发利用具有明显促进作用;另外,本发明分离量大,可以实现大量分离,适用于规模化生产,同时分离过程仅需两次分离即可分别得到纯度均大于

99%的补骨脂素、异补骨脂素与补骨脂酚,无需反复多次硅胶柱纯化,也无需反复调节pH值,操作简单、成本低廉、专属性强、产品损失小、得率高,对补骨脂中补骨脂素、异补骨脂素与补骨脂酚都充分提取利用,合理利用资源;综上所述可见:本发明相对于现有技术具有显著性进步和突出的有益效果。

附图说明

- [0027] 图1是本发明实施例1中提取的补骨脂的石油醚粗提物的UPLC分析图谱;
- [0028] 图2是本发明实施例1中分离出的补骨脂酚的UPLC分析图谱;
- [0029] 图3是本发明实施例1中分离出的补骨脂素的UPLC分析图谱;
- [0030] 图4是本发明实施例1中分离出的异补骨脂素的UPLC分析图谱。

具体实施方式

[0031] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。

- [0032] 下列实施中,聚酰胺柱材购自上海源叶生物科技有限公司(100-200目);
- [0033] 硅胶柱材选自青岛海洋化工有限公司柱层析硅胶(100-200目和300-400目);
- [0034] TLC薄层板选用烟台江友硅胶开发有限公司HSGF254薄层层析硅胶板;
- [0035] 聚酰胺和硅胶柱分离所用水为蒸馏水,乙醇、石油醚、乙酸乙酯为合成级;
- [0036] 液相用水为蒸馏水,乙腈为色谱级,甲酸为分析级;
- [0037] 补骨脂酚、补骨脂素和异补骨脂素标准品购买自上海源叶生物科技有限公司;
- [0038] 所有试剂均购自国药集团化学试剂有限公司;
- [0039] 本发明分离得到的补骨脂素、异补骨脂素与补骨脂酚的纯度是采用UPLC检测分析,具体检测分析条件为:
- [0040] Waters Acquity UPLC®HSS T3色谱柱((2.1*100mm,1.8μm);
- [0041] 柱温:40℃;
- [0042] 流动相:流动相A为乙腈,流动相B是体积分数为0.1%的甲酸水溶液;
- [0043] 梯度洗脱程序为:0~20min,5%~100%A;
- [0044] 流速:0.4mL/min;
- [0045] 检测波长:254nm。

[0046] 实施例1

[0047] a) 将500g补骨脂药材经粉碎后用5L石油醚进行冷浸提取,每次冷浸48小时,重复冷浸提取3次,合并浸提液,过滤,滤液减压浓缩,得到补骨脂的石油醚粗提物40g;

[0048] b) 对补骨脂的石油醚粗提物进行聚酰胺柱分离:首先将40g补骨脂的石油醚粗提物用乙醇溶解,然后与聚酰胺柱材(100-200目)按照质量比1:5的比例进行拌样,得到样品A,拌样后干法上聚酰胺柱,样品A与聚酰胺柱所用聚酰胺柱材的重量比为1:1;用乙醇与水依照5:95~30:70的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,TLC薄层分析,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂素与异补骨脂素的混合物3.6g(UPLC显示混合物中补骨脂素和异补骨脂素总含量约为90%);用乙醇与水依照35:65~55:45的体积比形成的混合溶液依次

进行梯度洗脱, TLC薄层分析, 收集目标流份, 减压浓缩, 得到补骨脂酚9.1g (产率为22.75%);

[0049] c) 对补骨脂素与异补骨脂素的混合物进行硅胶柱分离: 首先将3.6g补骨脂素与异补骨脂素的混合物用二氯甲烷溶解, 然后与硅胶(100-200目)按照质量比1:2的比例进行拌样, 得到样品B, 拌样后干法上硅胶柱, 样品B与硅胶柱所用硅胶(300-400目)的重量比为1:4; 用石油醚与乙酸乙酯依照30:1~10:1的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱, TLC薄层分析, 收集目标流份, 减压浓缩, 分别得到补骨脂素1.49g (产率为3.73%) 和异补骨脂素1.58g (产率为3.95%)。

[0050] 经UPLC检测分析: 所得补骨脂素的纯度为99.3%, 异补骨脂素的纯度为99.8%, 补骨脂酚的纯度为99.7%。

[0051] 图1为本实施例所获得的补骨脂的石油醚粗提物的UPLC分析图谱; 由图1可见: 补骨脂素和异补骨脂素的保留时间非常接近, 二者的分离难度很大;

[0052] 图2是本实施例分离出的补骨脂酚的UPLC分析图谱; 由图2可见: 采用本发明的分离方法, 可分离得到高纯度的补骨脂酚;

[0053] 图3是本实施例分离出的补骨脂素的UPLC分析图谱; 由图3可见: 采用本发明的分离方法, 可分离得到高纯度的补骨脂素;

[0054] 图4是本实施例分离出的异补骨脂素的UPLC分析图谱; 由图4可见: 采用本发明的分离方法, 可分离得到高纯度的异补骨脂素。

[0055] 实施例2

[0056] a) 将500g补骨脂药材经粉碎后用4L石油醚进行冷浸提取, 每次冷浸36小时, 重复冷浸提取5次, 合并浸提液, 过滤, 滤液减压浓缩, 得到补骨脂的石油醚粗提物45g;

[0057] b) 对补骨脂的石油醚粗提物进行聚酰胺柱分离: 首先将45g补骨脂的石油醚粗提物用乙醇溶解, 然后与聚酰胺柱材(100-200目)按照质量比1:3的比例进行拌样, 得到样品A, 拌样后干法上聚酰胺柱, 样品A与聚酰胺柱所用聚酰胺柱材的重量比为1:2; 用乙醇与水依照10:90~25:75的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱, TLC薄层分析, 收集目标流份, 减压浓缩, 得到补骨脂素与异补骨脂素的混合物4.3g (UPLC显示混合物中补骨脂素和异补骨脂素总含量约为90%); 用乙醇与水依照40:60~50:50的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱, TLC薄层分析, 收集目标流份, 减压浓缩, 得到补骨脂酚10.5g (产率为23.3%);

[0058] c) 对补骨脂素与异补骨脂素的混合物进行硅胶柱分离: 首先将4.3g补骨脂素与异补骨脂素的混合物用二氯甲烷溶解, 然后与硅胶(100-200目)按照质量比1:1的比例进行拌样, 得到样品B, 拌样后干法上硅胶柱, 样品B与硅胶柱所用硅胶(300-400目)的重量比为1:4; 用石油醚与乙酸乙酯依照30:1~10:1的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱, TLC薄层分析, 收集目标流份, 减压浓缩, 分别得到补骨脂素1.8g (产率为4%) 和异补骨脂素1.9g (产率为4.2%)。

[0059] 经UPLC检测分析: 所得补骨脂素的纯度为99.2%, 异补骨脂素的纯度为99.7%, 补骨脂酚的纯度为99.6%。

[0060] 实施例3

[0061] a) 将500g补骨脂药材经粉碎后用5L石油醚进行超声提取, 超声功率为85kHz, 每次

超声提取60分钟,溶剂温度为25℃,重复提取3次,合并提取液,过滤,滤液减压浓缩,得到补骨脂的石油醚粗提物48g;

[0062] b) 对补骨脂的石油醚粗提物进行聚酰胺柱分离:首先将48g补骨脂的石油醚粗提物用乙醇溶解,然后与聚酰胺柱材(100-200目)按照质量比1:3的比例进行拌样,得到样品A,拌样后干法上聚酰胺柱,样品A与聚酰胺柱所用聚酰胺柱材的重量比为1:2;用乙醇与水依照10:90~25:75的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,TLC薄层分析,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂素与异补骨脂素的混合物5.1g(UPLC显示混合物中补骨脂素和异补骨脂素总含量约为90%);用乙醇与水依照40:60~50:50的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,TLC薄层分析,收集目标流份,减压浓缩,得到补骨脂酚11.0g(产率为22.9%);

[0063] c) 对补骨脂素与异补骨脂素的混合物进行硅胶柱分离:首先将5.1g补骨脂素与异补骨脂素的混合物用二氯甲烷溶解,然后与硅胶(100-200目)按照质量比1:1的比例进行拌样,得到样品B,拌样后干法上硅胶柱,样品B与硅胶柱所用硅胶(300-400目)的重量比为1:4;用石油醚与乙酸乙酯依照30:1~15:1的体积比形成的混合溶液依次进行梯度洗脱,TLC薄层分析,收集目标流份,减压浓缩,分别得到补骨脂素2.1g(产率为4.4%)和异补骨脂素2.4g(产率为4.8%)。

[0064] 经UPLC检测分析:所得补骨脂素的纯度为99.4%,异补骨脂素的纯度为99.2%,补骨脂酚的纯度为99.3%。

[0065] 最后需要在此指出的是:以上仅是本发明的部分优选实施例,不能理解为对本发明保护范围的限制,本领域的技术人员根据本发明的上述内容做出的一些非本质的改进和调整均属于本发明的保护范围。

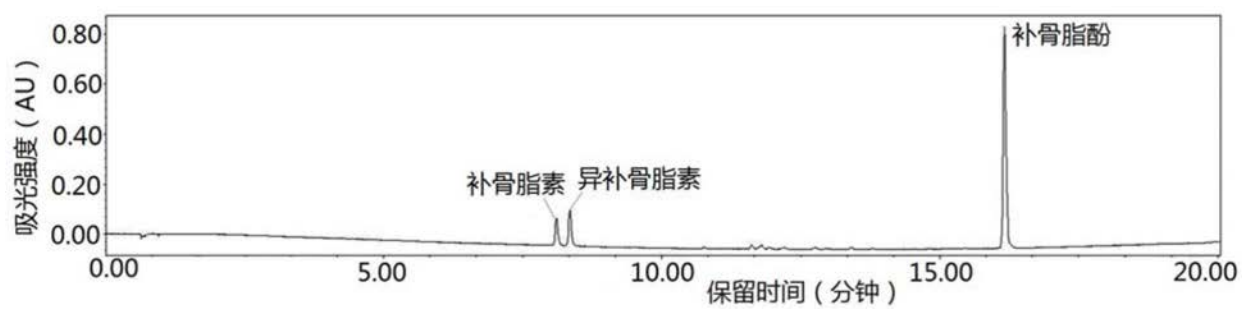


图1

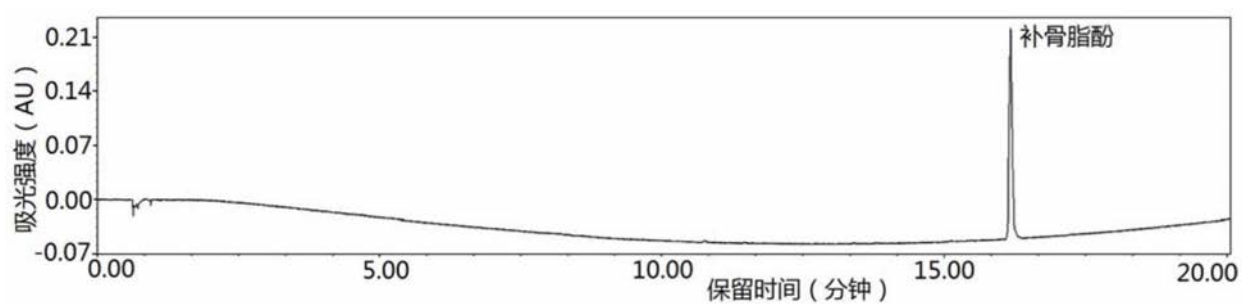


图2

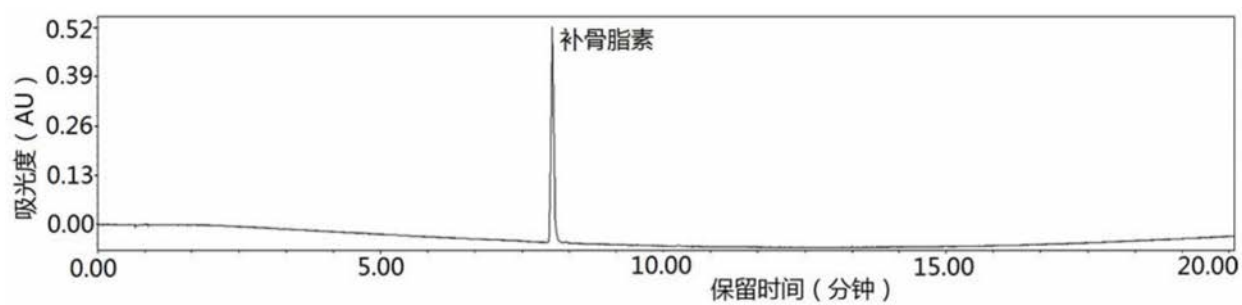


图3

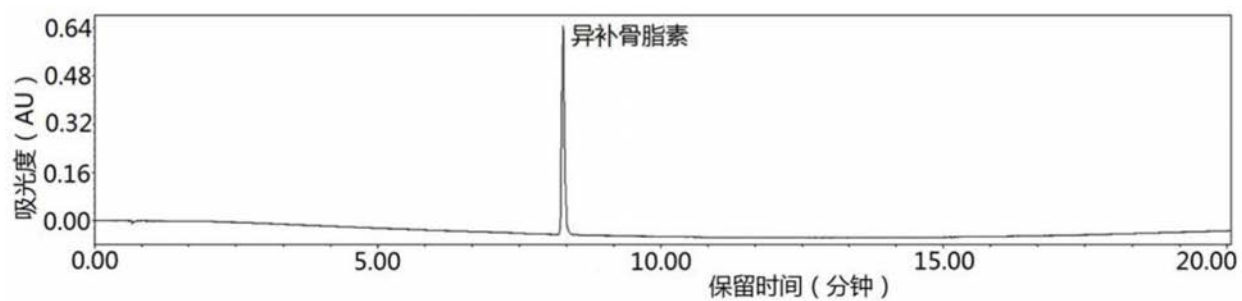


图4