

## 意见陈述书正文

---

尊敬的国家知识产权局：

申请人收到了国家知识产权局对申请号为 202010461468.6 发出的第一次审查意见通知书。申请人首先感谢审查员对完善本专利申请所作的辛勤劳动，申请人仔细阅读了审查意见通知书正文，按通知书的要求进行了修改，申请人提出以下意见，希望和审查员商榷：

### 一、关于权利要求 1 的创造性

修改后的权利要求 1 与对比文件 1 的区别在于：1) 本申请明确选定低温等离子体，对比文件 1 并未限定等离子体的类型。而低温等离子体与普通等离子体原理完全不一样。因此本申请可能出现文件 1 无法预料的结果；2) 本申请的方案中，低温等离子体处理的处理时间在 10-50s 之间，正是基于防止高能量对多糖结构的破坏，得到的结果是文件 1 无法预料的结果。3) 本申请是低功率改性，对比文件的功率是 100-200 W；

基于区别技术特征 1)，等离子体(Plasma)是一种部分离子化的气体状物质，其中主要含有离子、电子、亚稳态分子、原子、自由基以及光子。由于它们是分子在频繁的碰撞中所发生的高能量的活性粒子，特别是其中的-OH 自由基，可以引发在一般条件下无法进行的化学反应。而这些高活性粒子还与高分子材料表面的改性关系密切。用常规等离子体处理生物大分子，虽然可以诱导所需的化学基团，改变物质的表面微观形貌，改善聚合物表面亲水性以及可粘合性等，但引发等离子体所需的高温很容易破坏生物大分子的高级结构，导致其药理活性丧失。低温等离子体是一种低温下平衡的等离子体，电子与离子或中性粒子的碰撞中几乎没有能量的损失，且整体温度接近于室温，用它处理材料，不但易于操作，高效安全，还能有效避免高温条件下对生物大分子结构的破坏。

可见，等离子体类型不同，其作用的机理完全不同。对比文件 1 并未限定等离子体的类型，本申请明确限定低温等离子体，因此，保证了处理的机理一

致；这就导致改性的目的和结果均与对比文件 1 差异很大，本申请的技术效果是对比文件 1 无法预料的，具体的区别见表 1

表 1

	技术	目的	结果	原理
本发明	低温等离子体	增加多糖的水溶性，扩大多糖的应用范围	多糖长链未打断，保持了原有多糖的结构。通过低温等离子体处理后其水溶性显著增强，改变了长期以来长链高分子量多糖的弊病，使其利用水溶性增加，更利于与受体的结合，从而发挥其生物活性。	利用低温等离子体电离气体产生的活性基团，对多糖进行接枝
对比文件 1	等离子体（不限于冷等离子体）	改善多糖活性	多糖长链打断，得到粒径更小的多糖	利用等离子体的高能量破坏多糖的长链

对比文件 1 明确指出它的技术会导致多糖长链断裂，必将形成新的多糖或低聚糖，而这将导致多糖的活性发生改变。而本申请未破坏原有多糖的结构和活性，这是文件 1 无法预料的结果。

因此，对比文件 1 采用等离子体改性多糖，最终导致了多糖主链破坏，多糖的大分子降解，生成新的化合物，已经将原有的多糖改变为了另一种多糖或低聚糖。而本申请采用的改性方法则是在不破坏母核结构的基础上对分子进行修饰，从而达到增加溶解性，增加与受体结合能力等我们所需要的功能，改性后得到的多糖仍然是原有多糖。主体结构并未破坏。

如将对比文件 1 的技术方案应用于我们的金钗石斛多糖，将会得到另一种长链被打断的多糖或低聚糖，即得到新的多糖，而不是目前本申请改性前的金钗石斛多糖。而一旦长链断裂，将得到的多糖是否还具有活性，仍需考证。目前本申请的改性方案处理后得到的金钗石斛多糖除了水溶性增强之外，分子量并未出现大的改变，因此改性后仍是原来的金钗石斛多糖。

即，采用本申请的处理方式，会导致与对比文件 1 完全不一样的结果，这是文件 1 无法预料的结果。因此，两者具有本质的区别。且此前并未见文献报道相关内容，因此本申请相对于对比文件 1 具有预料不到的技术效果。

基于区别技术特征 2)，低温等离子体处理的几个条件因素，对处理的结果影响非常大。在一定的范围内进行调节，并不会引发难以预计的结果。但超过一定范围，其产生的结果难以预料。

处理时间对改性结果影响非常大。处理时间越长，处理对象接受到的高能量粒子轰击越多，越容易使多糖的一级结构受到破坏，导致多糖降解，无法保持其原有的结构和活性。对比文件 1 采用的时间在 3-5min 的范围内，其导致的结果是多糖的长链断裂。

在本申请的实验中发现一旦低温等离子体的处理时间超过 60s，也必将导致多糖结构出现重大的改变，从而出现与对比文件 1 类似的结果。得到粒径更小，长链被破坏的多糖。而处理时间控制在我们申请的 10-50s 之间，则并未出现多糖长链的断裂。可见处理时间在 10-50s 之间的范围内时期产生改性的效果，与对比文件 1 完全不同，是文件 1 无法预料的，因此本申请相对于对比文件 1 具有预料不到的技术效果。

基于区别技术特征 3)，本申请是低功率改性，对比文件的功率是 100-200 W，功率较高。因此本申请对比文件 1 创新。本申请的电压在 1kV 左右，电流在 6~10mA，根据等离子体放电的“电压时序图”( 下图 )，大致可推算“放电功率”在

10W 以下，因此，是低功耗的冷等离子体改性处理。远优于“对比文件 1”的相应指标“100~200W”。

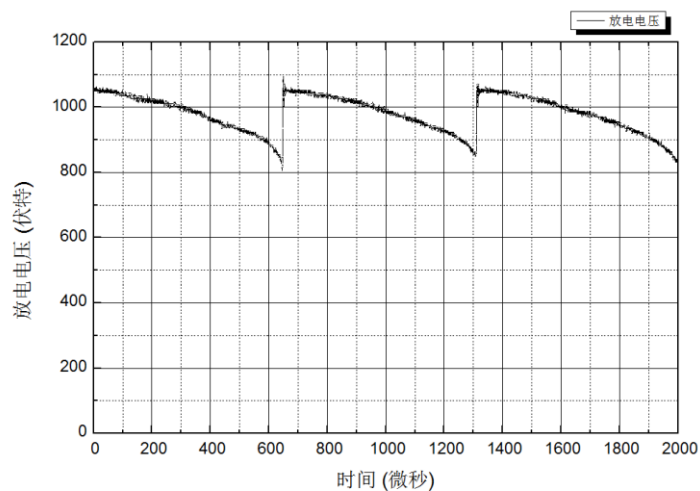


图 1：电压时序图

此外，本申请仅采用低温等离子体处理，避免了对比文件 1 采用的超声波处理对多糖的结构的影响（大量文献显示，超声波处理会导致多糖降解，破坏多糖结构）。同时，避免使用超声波，也简化了改性流程。

对比文件 2 给出了金钗石斛多糖具体提取方法，但是，多糖定义是超过 10 个的单糖组成的聚合糖高分子碳水化合物，故多糖类化合物是一个混合物。科研人员通常通过分子量来对多糖进行归类，但由于多糖是混合物，其分子量有大有小，小到数千，大到数万，数十万，数百万，数千万，数亿等等。所以不同的方法会获得不同分子量段的多糖，本发明采用以下工艺进行制备金钗石斛中的一种多糖：

金钗石斛粉末（过 40 目筛）—石油醚（60-90℃）微沸回流提取—蒸馏水微

沸回流提取—sevage 试剂萃取—除去乙醇沉淀 ( 体积达到 40% ) —收集乙醇沉淀 ( 体积达到 60% ) —丙酮、乙酸乙酯、无水乙醇试剂洗涤—大孔树脂 AB-8 纯化—透析—冷冻干燥。

通过该流程制备的金钗石斛多糖分子量为  $M_w=7.44\times10^5\text{Da}$ ，如果改变其中任何一步可能会获得其他分子量段的金钗石斛多糖，都不会获得分子量为  $M_w=7.44\times10^5\text{Da}$  的金钗石斛多糖。故本工艺是独一无二的，不是简单的调整，如果改变其中任何一步而得的多糖分子量是多少？是完全无法预期，故本技术具有创新性。

对比文件 2 ( 如下表 2 )，本技术也有本质不同。文件 2 是先制备金钗石斛总混合多糖，然后采用凝胶柱进行分离，而本技术是先采用乙醇分级分离后采用大孔树脂 AB-8 进行进一步分离纯化，不是对文件 2 的简单调整，结果是完全无法预期的。

表 2

步骤	对比文件 2	本技术	说明
脱脂	8-15 倍有机溶剂	石油醚( 60-90℃ )  微沸	文件 2 未指明用何种有机溶剂，无法确定和准确重复脱脂效果
提取	50℃提取后 100℃	蒸馏水微沸回流  提取	文件 2 去掉 50℃水提取液，这会导致多糖成分的大量损失

醇沉	加入适量的乙醇	收集 60%乙醇沉淀	乙醇浓度不同，所获得多糖的分子量段截然不同，结果不可预期
纯化	凝胶柱	大孔树脂 AB-8	两种方法原理完全不同，凝胶柱主要是用于吸附水中阴、阳离子，对有机物的吸附能力很弱，而大孔树脂 AB-8 具有吸附、过滤作用，能去除有机物质、腐殖酸、木质磺酸、铁、色素等

对比文件 3 处理对象形态、等离子体作用方式与本申请均不一样；本申请的低温等离子体是在空气中处理的，直接在多糖表面接枝。而对比文件 3 则是在液体的环境中处理，低温等离子体产生的高能量粒子在进入液体后，能量将会被大大吸收，导致处理效果大大减弱。也无法直接在多糖表面接枝。因此，两者作用方式差异很大，必将出现文件 3 无法预料的结果。

本申请的方案中，处理时间在 10-50s 之间，对比文件 3 的处理时间为 10-60min，低温等离子体处理的几个条件因素，对处理的结果影响非常大。在一定的范围内进行调节，并不会引发难以预计的结果。但超过一定范围，其产生的结果难以预料。

处理时间对改性结果影响非常大。处理时间越长，处理对象接受到的高能量粒子轰击越多，越容易使多糖的一级结构受到破坏，导致多糖降解，无法保持其原有的结构和活性。对比文件 3 用的时间在 10-60min 的范围内，其导致的结果是多糖的长链断裂。因此，本申请相对于对比文件 3 具有预料不到的技术效果。

现有技术中认为多糖的生物活性与其主链有着密切的关系，改性而不破坏其主链才能维持其原有的活性。因此，本申请相对于对比文件 1-3 以及公知常识具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。

## 二、关于权利要求 2-7 的创造性

在权利要求 1 具有创造性的前提下，其从属权利要求 2-7 也必然具有创造性。

## 四、关于权利要求 8 的创造性

权利要求 8 与权利要求 1 具有单一性，在权利要求 1 具有创造性的前提下，权利要求 7 也必然具有创造性。

## 五、关于权利要求 9 的创造性

在权利要求 7 具有创造性的前提下，其从属权利要求 8 也必然具有创造性。

综上所述，本申请文件公开的技术方案具有突出的实质性特点和显著的进步，因而具有创造性。如有问题，望及时联系申请人或代理人，给予再次答复的机会，联系电话：13551134124。

请审查员继续审查。

致礼

申请人：四川农业大学

2021 年 11 月 10 日