(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
2017 年 9 月 14 日 (14.09.2017)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2017/152718 A1

(51) 国际专利分类号:
*A61K 9/08* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
*A61K 33/00* (2006.01) *A61P 39/06* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2017/071589

(22) 国际申请日: 2017 年 1 月 18 日 (18.01.2017)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201610126960.1 2016 年 3 月 8 日 (08.03.2016) CN

(72) 发明人; 及
(71) 申请人 : 刘学武 (LIU, Xuewu) [CN/CN]; 中国广东省深圳市福田区福田区莲花街道景田东路润丰园 B 栋 902 室, Guangdong 518034 (CN)。

(72) 发明人: 刘学燕 (LIU, Xueyan); 中国宁夏回族自治区银川市兴庆区海宝西区 14-4-602, Ningxia 750004 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:
— 关于发明人身份(细则 4.17(i))
— 关于申请人有权申请并被授予专利(细则 4.17(ii))
— 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则 4.17(iii))
— 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

WO 2017/152718 A1

(54) Title: INJECTION COMPRISING CHLORINE DIOXIDE AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) 发明名称 : 包含二氧化氯的注射剂及其制备方法

(57) Abstract: Disclosed are an injection comprising chlorine dioxide for use in the therapeutic goals of promoting the regeneration of stem cells *in vivo*, and being anti-tumour and anti-ageing, etc., and a preparation method therefor. The injection has a high pharmacodynamic effect and low toxic and side effects, can achieve tumour ablation, and can promote *in situ* tissue regeneration. In particular, the injection can stimulate the immune response during ablation of the target tumour, and can induce the immune system to inhibit or eliminate distal tumours and metastatic tumours.

(57) 摘要: 一种用于促进体内干细胞再生、抗肿瘤和抗衰老等治疗方向中的包含二氧化氯的注射剂及其制备方法。该注射剂具有高的药效作用，低的毒副作用，可以消融肿瘤，促进原位组织再生，特别在消融目标肿瘤时能够激起免疫反应，诱导免疫系统抑制或消灭远端肿瘤与转移性肿瘤。

# 包含二氧化氯的注射剂及其制备方法

## 技术领域

本发明涉及促进体内干细胞再生、抗肿瘤和抗衰老等治疗方向中包含二氧化氯的注射剂，特别涉及具有较高药效和较低毒副作用，并能长期保存的注射用制剂以及制备方法。

## 背景技术

中国专利 CN103040860A 首次提出通过直接给药可以启动体内干细胞实现再生，从而治疗相应疾病，其中有提及包含二氧化氯的注射剂。中国专利 CN 103720709A 首次提出通过直接给药可以清理目标组织衰老细胞和消融肿瘤细胞，从而通过给予包含二氧化氯制剂用于抗衰老和抗肿瘤，即用于治疗衰老性疾病和治疗癌症，其中有提及包含二氧化氯的注射剂。以上两文件均首次提出将二氧化氯溶液制成注射剂用于治疗疾病。然而一般情况下，如果作为长期保存的溶液，气体的二氧化氯容存于溶液之浓度有限；如果在使用前现场配制，无法将二氧化氯前体和其他反应物排除，使制备的二氧化氯溶液有较多的杂质，以至于可能会导致作为注射剂的溶液无法满足安全性要求。

一般地，通过水溶液溶解二氧化氯将非常有限，二氧化氯在 20 摄氏度的情况下的溶解度大约是 2.9g/L，若使用生理盐水溶液溶解二氧化氯，其较纯水的二氧化氯溶解度更低。因此现有技术较难制备浓度超过 3mg/ml 二氧化氯溶液且能较长时间保存。但是作为消毒物质用于消毒，一般也不需要更高浓度的二氧化氯溶液，因此过去制备高浓度二氧化氯溶液并无必要。而作为注射剂，本领域技术人员也未曾想到提高其浓度，比如以上两专利提到的制备包含二氧化氯制剂的方法是：通过合乎规范，并且浓度在 99.9% 以上二氧化氯气体的制备方式（优选为亚氯酸盐与酸反应）产生二氧化氯气体。通过将该二氧化氯气体向水溶液中鼓泡并溶解从而制备 500 ～ 2900ppm（0.05% w/w -2.9mg/ml）的二氧化氯溶液，此溶液可以作为仅含二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂的注射剂。

另外，一般使用二氧化氯溶液的方法是现场制备，中国专利 CN 103402621 A 公开了一种二硫酸盐和亚氯酸盐混合制备较高浓度的稳定的二氧化氯溶液。而更普遍的现场制备二氧化氯溶液的方法是，由二氧化氯前体，比如将亚氯酸钠和酸混合反应生成二氧化氯，二氧化氯直接容存在该混合溶液中，在短时间内二氧化氯可以保持较高浓度，比如 2%（w/w），可以通过稀释或不稀释而直接使用二氧化氯，这种情况下，混合溶液除二氧化氯之外，还有其他的杂质。在一般使用中，并没有不利影响，但是作为注射剂可能会带来不安全因素。而为了更充分的反应，往往要加入过量的酸，使混合溶液的 pH 值较低，有可能使其无法作为注射人体的注射剂。

## 发明内容

本发明人经过试验发现，含有较低浓度二氧化氯注射剂无法实现包括促进再生、抗衰老和治疗癌症等方面的显著治疗作用，或者相比于较高浓度（比如二氧化氯浓度为 0.5-20mg/ml）显现不出明显的治疗效果。另外，为了追求高浓度，以现有技术手段，即现场配制约 2%（w/w）浓度的二氧化氯溶液，会带来未反应的二氧化氯前体，和其他反应物，比如使用亚氯酸钠和柠檬酸混合后，所制备的二氧化氯溶液除了二氧化氯，还包含亚氯酸钠，柠檬酸钠，氯化钠等，这可能不是等渗溶液，过量的杂质会使注射剂不安全。同时过量的酸带来过低的 pH 值也存在安全风险。

本发明发现了现有技术的缺陷是，现有安全性较好的二氧化氯注射剂因二氧化氯浓度较低，所以在药效上不明显或不高，而药效上较高的二氧化氯注射剂，即因产生二氧化氯的混合反应过程而带入的各种杂质和低 pH 值有明显的毒副作用。本发明以上发现并提出以下解决该缺陷的方案共同构成本发明实际解决的技术问题。

因为发现了现有技术的以上缺陷，因此有必要开发出含二氧化氯的注射剂，该注射剂平衡了二氧化氯制剂的药效和毒副作用的关系，既提高了二氧化氯制剂的药效，又降低了其毒副作用。更具体的为，这样的注射剂包含较高浓度的二氧化氯，不含有多余的杂质，其 pH 值也为注射剂可接受的范围。本发明发现了以上现有技术的缺陷之后，进一步需要发明解决以上现有技术缺陷的方案。很显然

通常的做法就是在可作为注射剂溶液中溶解更多的二氧化氯。但是，因为人们公知二氧化氯在常温下的溶解度只有 2.9g/L，因此制备更高浓度的二氧化氯溶液且可以作为注射剂使用，需要本发明人更多的创造性劳动。

本发明人为了实现二氧化氯的更显著药效作用，并排除杂质和低 pH 值的不利因素而进行了深入研究和试验，结果发现，首先，通过合乎规范，浓度在 99.9% 以上二氧化氯气体的制备方法产生二氧化氯气体；其次，通过将该二氧化氯气体引入到较低温度介质（如 11 摄氏度以下的空气或鼓泡进入 11 摄氏度以下的冷的生理盐水溶液或包含其他使用药学上允许的通常注射剂中使用的添加剂的溶液），溶解到较低温度的介质中，其溶解二氧化氯浓度可以不受二氧化氯溶解度的限制，从而制备出包含较高浓度二氧化氯的注射剂，且没有无关的杂质和保持中性 pH 值。

除此之外，本发明人惊奇的发现，本发明提供的较高浓度二氧化氯注射剂除了能够在直接注射组织附近产生相应的药效作用，比如消融肿瘤，促进原位组织再生，还具有对免疫系统的积极影响，比如通过消融肿瘤，能够激起免疫反应，引起免疫系统抑制或消灭远端肿瘤或转移性肿瘤。这一对免疫系统起到积极作用并透过免疫系统发挥全身性药效作用的药理学现象是本领域技术人员所未预见到的。

基于以上的发现和描述，本发明内容具体为：首先，本发明提供了一种包含超过溶解度的二氧化氯溶液（注射剂），在这种注射剂中，二氧化氯的浓度为 3mg/ml—100%（w/w），不含有产生二氧化氯气体反应过程的其他物质，这里的其他物质包括二氧化氯前体、酸和其他反应产物，比如用亚氯酸钠与柠檬酸产生反应生成气体二氧化氯的反应。本发明提供的二氧化氯注射剂不含有因反应直接带来的如亚氯酸钠、柠檬酸和柠檬酸钠等超出需要的杂质。该二氧化氯注射剂优选为二氧化氯的浓度为 5mg/ml-25mg/ml，更优选为 8mg/ml-20mg/ml。该注射剂仅包含二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂，而无其他物质。

这种二氧化氯溶液作为注射剂长期避光保存于零下20摄氏度至11摄氏度之间的环境。优选避光保存于零下18摄氏度至9摄氏度条件下。更优选避光保存于2摄氏度至8摄氏度的条件下。

该二氧化氯溶液作为注射剂在使用前可以包含药学上允许的通常注射剂中使用的添加剂的稀释溶液稀释至目标浓度，然后进行身体注射。

其次，本发明提供了一种制备较高浓度的二氧化氯注射剂的方法。

该制备方法由以下过程构成：

1、通过合乎规范的方法生产浓度约在 99.9%的二氧化氯气体。生产高纯度二氧化氯气体的方法已经被本领域技术人员所知晓，比如，较常的做法是用二氧化氯前体（亚氯酸盐）和酸反应生成二氧化氯气体。另外还有将二硫酸盐与亚氯酸盐混合反应产生二氧化氯气体。

2、二氧化氯气体经由以上反应制得后，通过管道引入到零下 20 摄氏度至 11 摄氏度的低温介质中，该引入到的介质可以是直接引入到空气，氮气等气体介质或可以是鼓泡进入包含药学上允许的通常注射剂中使用的添加剂的稀释溶液（比如生理盐水）。并且，在该过程中二氧化氯气体的进入低温介质的方向为自上而下。特别地，在零下 20 摄氏度至 0 摄氏度可以选择气体介质；在零下 2 摄氏度至 11 摄氏度之间可以选择在此温度下仍然是液体的可作为注射剂的溶液，比如在 1-5 摄氏度下选择用生理盐水。

3、当该介质为气体介质时，收集二氧化氯得到浓度接近于 100%的二氧化氯注射剂；当该介质为液体介质时，升高容存有二氧化氯的液体介质温度至不超过 20 摄氏度，待二氧化氯均匀容存于液体介质中后，获得一定浓度二氧化氯注射剂。

本发明发现了现有技术的缺陷之外，还提供了一种高浓度二氧化氯注射剂，且提供了制备该注射剂的方法。关于本发明的积极效果，可以概括为：本发明发现，一般使用的高浓度二氧化氯是简单的将各类反应物混合后制得二氧化氯溶液，即没有排除生产二氧化氯反应中的各种物质，特别是二氧化氯前体、酸，或者其 pH 值特别地低，以至于作为注射剂对于人体是不安全的。本发明人试验了通常制备的二氧化氯溶液作为注射剂对于试验动物是高毒性的。同时本发明人发现通常通过将生产的二氧化氯气体通入溶液中制备的二氧化氯溶液受制于溶解度，在室温的条件下为 2.9mg/ml 以下，如果将此作为注射剂基本不具备明显的药效作用。本发明除了发现以上两点现有技术的缺陷之外，本发明提供的较高浓度二氧化氯注射剂及其制备方式可以有效的解决以上两个缺陷，最大可能实现二

氧化氯的药效作用，但又没有特别的因杂质和低 pH 值而产生的毒副作用。此外，本发明人更是发现了本发明提供的较高浓度二氧化氯注射剂，除了能够在直接注射组织附近产生相应的药效作用，比如消融肿瘤，促进原位组织再生，还具有对免疫系统的积极影响，比如通过消融肿瘤，能够激起免疫反应，诱导免疫系统抑制或消灭远端肿瘤与转移性肿瘤。

## 具体实施方式

下面结合具体实施方式对本发明作进一步描述。

本发明人通过试验发现已有技术问题为：现有包含二氧化氯的注射剂或者含有二氧化氯浓度较低达不到预期的药效，或者包含了二氧化氯反应前或反应后的物质使人体用途的注射剂不安全。现有技术提及的包含二氧化氯注射剂的制备方法分为两种：

1、将反应制得的高纯二氧化氯气体通入水溶液中，但是因为受到溶解度的限制，通常只能制备浓度低于 2.9g/L 的二氧化氯溶液。在一个实施例中，本发明人通过试验发现，2g/L 的这种二氧化氯注射剂在药效上，显然不如 15g/L（或 15mg/ml）的二氧化氯注射剂。

2、将二氧化氯前体（比如亚氯酸钠）与酸（比如柠檬酸）混合可以产生于短期内浓度达到 1%-10%（w/w）的二氧化氯溶液。在一个实施例中，1.5%（w/w）的这种二氧化氯注射剂对于试验动物具有明显的毒性，在另一个实施例中，通过加入 pH 调节剂将混合溶液的 pH 值调整为 7，二氧化氯的浓度降低为 1%（w/w），用于注射剂注射依然发现对试验动物具有明显的毒性。

为了解决这些技术问题所揭示的缺陷。本发明提供了一种包含超过溶解度的二氧化氯溶液的注射剂，其中二氧化氯溶液的浓度为 3mg/ml—100%（w/w），该注射剂优选为二氧化氯的浓度为 5mg/ml-25mg/ml，更优选为 8mg/ml-20mg/ml。该注射剂仅包含二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂，而无其他物质。

进一步，这种注射剂不含各种通常制备二氧化氯的二氧化氯前体或超过注射剂容许含量的非二氧化氯反应物，二氧化氯前体可以举出例如亚氯酸碱金属盐、亚氯酸碱土类金属盐。作为亚氯酸碱金属盐，可以举出例如亚氯酸钠、亚氯酸钾、亚氯酸锂；作为亚氯酸碱土类金属盐，可以举出例如亚氯酸钙、亚氯酸镁、亚氯

酸钡；非二氧化氯的反应物可以举出例如超过 1%的柠檬酸钠，超过 1%的氯化钠，柠檬酸钾，硫酸钠等。

在一个实施例中，本发明人通过试验发现，本发明提供的较高浓度的二氧化氯注射剂除了可以直接消融肿瘤，还可以通过引起免疫系统的免疫反应抑制远端肿瘤和转移性肿瘤。这说明本发明提供的较高浓度二氧化氯注射剂不单单具备在目标组织原位的药效作用，还具有建立或提高全身性的免疫系统的免疫作用的药效。

进一步，所述的通常注射剂使用的添加剂是作为可药用的固态或液态载体，可列举溶剂、稳定剂、助溶解剂、乳化剂、悬浊剂、缓冲剂、等渗剂、着色剂、基质、增稠剂、赋形剂、润滑剂、粘合剂、崩解剂、调理剂、发泡剂、高吸水性树脂、表面活性剂、渗透促进剂和 PH 调节剂等，但并不限于这些。

具体实例包括去离子水、乳糖、白糖、果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖醇等糖或糖醇；结晶纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素、低取代羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、醋酸羟丙基甲基纤维素琥珀酸酯、羟甲基纤维素、羟甲基纤维素钙、羟甲基纤维素钠、交联羟甲基纤维素钠、羟甲基乙基纤维素、乙酸邻苯二酸纤维素等纤维素及其相关衍生物；玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉、马铃薯淀粉、环糊精、支链淀粉等点功夫及其相关衍生物；琼脂、藻酸钠、阿拉伯胶、明胶、胶原、虫胶、黄蓍胶、黄原胶等天热高分子（海藻类、植物粘质、蛋白质等）；聚乙烯吡咯烷酮、氨基烷基甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、羟基乙烯基共聚物、聚乙烯醇、二甲基聚硅氧烷等合成高分子；橄榄油、可可油、巴西棕榈蜡、牛油、硬化油、大豆油、芝麻油、山茶油、亚麻籽油、石蜡、液体石蜡、黄蜂蜡、白色凡士林、椰子油、微晶蜡等油脂类；硬脂酸、硬脂酸铝、硬脂酸钙、硬脂酸镁、柠檬酸三乙酯、三乙酯甘油酯、中链脂肪酸三甘油酯、硬脂、肉豆蔻酸异丙酯等脂肪酸及其衍生物；乙醇、甘油、硬脂醇、鲸蜡醇、丙二醇、聚乙二醇等醇和多元醇；氧化锌、磷酸氢钙、沉降碳酸钙、合成硅酸铝、硅酸酐、高岭土、干燥氢氧化铝凝胶、合成水滑石、氧化钛、滑石、膨润土、硅酸铝镁、硫酸铝钾、次没食子酸铋、次水杨酸铋、乳酸钙、柠檬酸钠、氯化钠、碳酸氢钠等无机物质和金属盐化合物；蔗糖脂肪酸酯、硬脂酸聚烃氧酯、氢化蓖麻油聚氧乙烯醚、聚氧乙烯聚氧丙烯二醇、倍

伴油酸脱水山梨醇酯、三油酸脱水山梨醇酯、单硬脂酸脱水山梨醇酯、但棕榈酸脱水山梨醇酯、单月桂酸脱水山梨醇酯、聚山梨醇酯、单硬脂酸甘油酯、十二烷基硫酸钠、聚桂醇等表面活性剂；二甲基亚砜及其类似物、氮酮类化合物、吡咯酮衍生物、醇类化合物及脂肪酸类化合物等渗透促进剂；色素；香料等。但并不限于这些。

进一步，这种注射剂的 pH 值为 4 至 8。优选为 5-7.5。

进一步，这种二氧化氯溶液作为注射剂长期避光保存于零下20摄氏度至11摄氏度之间的环境。优选避光保存于零下18摄氏度至9摄氏度条件下。更优选避光保存于2摄氏度至8摄氏度的条件下。

本发明所述的含有超过溶解度的二氧化氯注射剂，其制备方法包括以下步骤：

1、通过合乎规范的方法生产浓度在 99.9%的二氧化氯气体。生产高纯度二氧化氯气体的方法已经被本领域技术人员所知晓，比如，较常的做法是通过二氧化氯前体（亚氯酸盐）和酸的反应生成二氧化氯气体。另外还有二硫酸盐与亚氯酸盐混合反应产生二氧化氯气体。

2、二氧化氯气体经由以上反应制得后，通过管道引入到零下 20 摄氏度至 11 摄氏度的介质中，该引入到的介质可以是直接引入到空气，氮气等气体介质或可以是鼓泡进入包含药学上允许的通常注射剂中使用的添加剂的稀释溶液（比如生理盐水）。并且，该过程中二氧化氯气体的进入低温介质的方向为自上而下。特别地，在零下 20 摄氏度至 0 摄氏度可以选择气体介质；在零下 2 摄氏度至 11 摄氏度之间可以选择在此温度下仍然是液体的可作为注射剂溶液，比如在 1-5 摄氏度下选择用生理盐水。

通过控制时间，经过以上步骤后，可以制备3mg/ml-100%（w/w）浓度的二氧化氯溶液或纯二氧化氯，根据实际需要，可以稀释到目标浓度，作为注射剂用于疾病治疗。

本发明中的含二氧化氯的注射剂的给药方式，可以通过任何一种能到达预期组织的途径给药，比如，可以经由静脉点滴、静脉注射、动脉注射、肌肉注射、皮下注射、皮内注射、心内注射、腹腔注射、鞘内注射、关节内注射、穿刺注射、直肠给药、舌下给药、鼻腔给药、经皮给药、吸入或者局部给药到目标的器官或组织等，但不限于这些。

《中国药典制剂通则》中的任何制剂都能够作为本发明中的包含二氧化氯注射剂的扩展剂型。本发明方法中的包含二氧化氯注射剂作为药物的剂型的实例包括直接用于体内的注射剂（包括混悬液、乳剂）；软膏剂（包括油脂性软膏、乳剂型软膏（霜）、水溶性软膏等）、吸入剂、液剂制剂（包括滴眼剂、滴鼻剂等）、栓剂、贴剂、糊剂、洗剂等外用剂；或片剂（包括糖衣、薄膜、胶衣）、液体制剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂（包括细粒级）、丸剂、糖浆剂、含片等。

**实施例**

实施例 1：含 15mg/ml 二氧化氯注射剂的制备

将 28%的亚氯酸钠溶液与 50%柠檬酸溶液混合于反应釜中，引导管至盛有 1 摄氏度的含 0.9%氯化钠的生理盐水溶液中，导管入口没入生理盐水中。恒定温度 85 摄氏度加热反应釜 30 分钟，二氧化氯鼓泡进入生理盐水中，始终通过外部设备保持该生理盐水处于恒定温度 1 摄氏度。30 分钟之后将混合溶液转移至密闭容器中，置于 20 摄氏度以下环境中，待二氧化氯与生理盐水均匀混合后，放置于 2-8 摄氏度冰箱内保存。经测定以上制备出浓度为 15mg/ml 的二氧化氯溶液。该溶液可以作为注射剂分装于 10ml 的玻璃瓶中，并于 2-8 摄氏度环境中避光保存。

实施例 2：含二氧化氯注射剂的毒性试验

**二氧化氯注射剂制备：注射剂 A，**即二氧化氯前体与酸混合制得浓度大约 1.5%的注射液。用去离子水配置浓度为 7.47%亚氯酸钠和 1.59%氯化钠的混合溶液，制备出第一份溶液；用去离子水配置浓度为 16.7%的柠檬酸溶液，制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液，混合，等待溶液混合静止 3～5 分钟。经检测二氧化氯浓度大约 1.5%，pH 大约为 2.1，30 分钟内用于注射。**注射剂 B，**即二氧化氯前体与酸混合后加氢氧化钠调节 pH 值至 7 的注射液。用去离子水配置浓度为 7.47%亚氯酸钠和 1.59%氯化钠的混合溶液，制备出第一份溶液；用去离子水配置浓度为 16.7%的柠檬酸溶液，制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液，混合，等待溶液混合静止 3～5 分钟，加入 10%氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7。经检测二氧化氯浓度大约 1%，30 分钟内用于注射。**注射剂 C**，即含 15mg/ml 二氧化氯和生理盐水注射剂，按照实施例 1 的方法制备。

**动物：**昆明小鼠雌、雄各半，18-22g，SPF 级动物。

**剂量及给药途径和方法：**注射剂 A、B、C，三组，每组雌雄小鼠各 5 只每日皮下注射 0.3ml/只（高）和 0.1ml/只(低)，连续 7 天，注射后观察动物表现。

**结果：**注射剂 A 注射第一天，0.3ml/只(高)剂量死亡小鼠 9 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 5 只；第二天，0.3ml/只（高）剂量死亡小鼠 1 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 5 只。

注射剂 B 注射第一天，0.3ml/只（高）剂量死亡小鼠 7 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 4 只；第二天，0.3ml/只（高）剂量死亡小鼠 2 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 2 只；第三天，0.3ml/只（高）剂量死亡小鼠 1 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 3 只；第五天，0.3ml/只（高）剂量死亡小鼠 0 只，0.1ml/只(低)死亡小鼠 1 只。

注射剂 C,第一至第七天，均未见有小鼠死亡。

**结论：**注射剂 C 是相对安全的。说明通过通常方法混合亚氯酸钠和酸反应制备二氧化氯溶液作为注射剂是不安全的，其中混合后除二氧化氯之外的其他杂质和低 pH 值是毒性的主要因素。因此本发明提供的含二氧化氯注射剂是相当安全的，或者说毒性较低。

实施例 3：含二氧化氯注射剂药效试验

**二氧化氯注射剂：**注射剂 A，即按照常规方法在室温下制备包含二氧化氯溶液，作为注射剂，二氧化氯浓度 2mg/ml。通过合乎规范，并且浓度在 99.9%以上二氧化氯气体的制备方式（亚氯酸盐与酸反应）产生二氧化氯气体。通过将该二氧化氯气体向常温生理盐水溶液中鼓泡并溶解从而制备 2mg/ml（大约 2000ppm）的二氧化氯溶液。注射剂 B，即含 8mg/ml 二氧化氯和生理盐水注射剂。按照实施例 1 的方法制备 15mg/ml 溶液，然后用生理盐水稀释至 8mg/ml。注射剂 C，即含 15mg/ml 二氧化氯和生理盐水注射剂。按照实施例 1 的方法制备。

**动物：**C57 小鼠，雄，16-18g，SPF 级动物，中国药品生物制品检定所实验动物中心提供。

**试验方法：**每只小鼠右后腋下皮下接种 $3\times10^6$ B16 黑色素肿瘤细胞，然后随机分为 4 组，每组 10 只。接种黑色素瘤第 8 天开始，注射剂 A\B\C 瘤内注射组，瘤内注射，每只 0.2ml，剂量为 2\8\15mg/ml，每 4 日 1 次，共 3 次。肿瘤模型组瘤内注射 0.9%氯化钠注射液（每只 0.2ml）为对照观察。实验时间 20 天，实

验组末次给药后 4 天，处死动物（10 只），称体重后完整剥离瘤结并称瘤重，计算肿瘤抑制率。

**统计方法：**体重和瘤重数据用 $\overline{X}\pm S$ 表示，组间比较采用 $t$ 检验，$p$ 值<0.05 为差异显著，$p$ 值<0.01 为差异非常显著，有统计学意义。

**药效判定标准：**肿瘤抑制率＝｛1－（给药组平均瘤重 T/对照组平均瘤重 C）｝×100%

**结果：**

**表 1 二氧化氯液瘤内注射对小鼠移植性黑色素瘤 B16 的作用**

| 组别 | 剂量 (mg/ml) | 动物数（只） | 给药途经次数 | 体重（X±s，g）前 | 后 | 瘤重（X±s,g） | 肿瘤抑制率(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 模型对照组 | - | 10 | Q4D it×3 | 17.9±0.7 | 19.7±0.9 | 3.98±0.41 | - |
| 注射剂 A 组 | 2.0 | 10 | Q4D it×3 | 17.7±0.4 | 19.4±1.8 | 3.01±1.43 | 24.37* |
| 注射剂 B 组 | 8.0 | 10 | Q4D it×3 | 17.8±0.5 | 19.5±1.3 | 1.01±0.23 | 74.62** |
| 注射剂 C 组 | 15.0 | 10 | Q4D it×3 | 17.9±0.6 | 19.6±1.0 | 0.41±0.34 | 89.69** |

*注：Q4D 代表 每 4 日 1 次，*代表 p 值<0.05，**代表 p 值<0.01*

**结论：**含二氧化氯注射剂在治疗恶性肿瘤中，其肿瘤抑制率具有剂量依赖关系，且在 8mg/ml 之上的剂量对于肿瘤抑制作用更明显。因此本发明提供的含二氧化氯注射剂具有更理想的药效作用。

实施例 4：含二氧化氯注射剂直接消融肿瘤和引起免疫系统反应抑制肿瘤作用。

**二氧化氯注射剂：注射剂 A**，即按照常规方法在室温下制备包含二氧化氯溶液，作为注射剂，二氧化氯浓度 2.5mg/ml。通过合乎规范，并且浓度在 99.9% 以上二氧化氯气体的制备方式（亚氯酸盐与酸反应）产生二氧化氯气体。通过将该二氧化氯气体向常温生理盐水溶液中鼓泡并溶解从而制备 2.5mg/ml（大约 2500ppm）的二氧化氯溶液。**注射剂 B**，即含 8mg/ml 二氧化氯和生理盐水注射剂。按照实施例 1 的方法制备 15mg/ml 溶液，然后用生理盐水稀释至 8mg/ml。注射剂 C，即含 15mg/ml 二氧化氯和生理盐水注射剂。按照实施例 1 的方法制备。

**动物：**C57 小鼠，雄，16-18g，SPF 级动物，中国药品生物制品检定所实验动物中心提供。

**试验方法：**每只小鼠右后腋下皮下接种 $1\times10^6$ B16 细胞，同时每只小鼠静脉接种 $5\times10^5$ B16 细胞，建立肺转移模型，然后随机分为 4 组，每组 9 只。接种黑色素瘤第 8 天开始，注射剂 A\B\C 瘤内注射组，瘤内注射，每只 0.2ml，剂量为 2.5\8\15mg/ml，每 4 日 1 次，共 4 次。肿瘤模型组瘤内注射 0.9%氯化钠注射液（每只 0.2ml）为对照观察。实验时间 28 天，第 21 天每组取 3 只动物检测炎症细胞因子，第 28 天处死全部动物（6 只），摘除肺组织，计数 B16 在肺组织转移数，完整剥离瘤结并称瘤重，计算肿瘤抑制率。

**统计方法：**肺转移计数和瘤重数据用 $\overline{X}\pm S$ 表示，组间比较采用 $t$ 检验，$p$ 值<0.05 为差异显著，$p$ 值<0.01 为差异非常显著，有统计学意义。

**药效判定标准：**肿瘤抑制率＝｛1－（给药组平均瘤重 T/对照组平均瘤重 C）｝×100%

**结果：**

**表 2 二氧化氯瘤内注射对小鼠皮下移植性黑色素瘤 B16 和肺转移肿瘤的作用**

| 组别 | 剂量 (mg/ml) | 动物数（只） | 给药途经 次数 | 肺转移点数（X±s，g） 转移数 | 显著性 | 瘤重 （X±s, g） | 肿瘤抑制率(%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 模型对照组 | - | 6 | Q4D it×4 | 15±7 | - | 3.53±0.45 | - |
| 注射剂 A 组 | 2.5 | 6 | Q4D it×4 | 14±7 | - | 2.21±0.53 | 37.39* |
| 注射剂 B 组 | 8.0 | 6 | Q4D it×4 | 3±1 | ** | 0.71±0.13 | 79.89** |
| 注射剂 C 组 | 15.0 | 6 | Q4D it×4 | 0±0 | ** | 0.11±0.07 | 96.88** |

*注：Q4D 代表 每 4 日 1 次，*代表 p 值<0.05，**代表 p 值<0.01*

用 ELISA 方法检测外周血炎症细胞因子 IL-1β（单位：pg/ml），用 ELISA 方法检测肿瘤组织中肿瘤坏死因子 TNF-α（单位：pg/ml/40 μg protein）。

表 3 不同组别 C57 小鼠炎症细胞因子 IL-1β 和肿瘤坏死因子 TNF-α检测结果

| 组别 | N | IL-1β （X±s） | TNF-α（X±s） |
|---|---|---|---|
| 注射剂 C 组 | 3 | 98.75±10.22** | 170±30** |
| 注射剂 B 组 | 3 | 79.34±5.66* | 145±32** |
| 注射剂 A 组 | 3 | 64.60±28.36 | 94±32* |
| 模型对照组 | 3 | 60.00±9.644 | 35±12 |

*注：*代表 p 值<0.05，**代表 p 值<0.01*

该结果说明，相比于 2.5mg/ml 的一般二氧化氯溶液，本发明的较高浓度二氧化氯注射剂能够显著提升抗肿瘤免疫细胞释放细胞因子的数量，从而显著抑制未注射组织肿瘤的生长，也即抑制远端和转移性肿瘤发展。发明人判断，较高浓度二氧化氯可以使肿瘤细胞发生凋亡或坏死，而肿瘤细胞的凋亡或坏死可以呈递特异性抗原，激起免疫细胞的识别并产生相应的免疫反应，从而抑制远端肿瘤和转移性肿瘤（Krysko DV, Garg AD, Kaczmarek A, Krysko O, Agostinis P, Vandenabeele P.. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* (2012) 12(12):860 - 75）。

**结论：**含二氧化氯的注射剂在治疗恶性肿瘤中，其肿瘤抑制率具有剂量依赖关系，且在 8mg/ml 之上的剂量对于肿瘤抑制作用更明显。同时，剂量为 2.5mg/ml 的二氧化氯注射剂对转移性肿瘤没有抑制作用，而在 8mg/ml 之上的剂量对非注射部位肿瘤和转移性肿瘤具有明显的抑制作用。且该抑制作用是通过引起免疫系统的免疫反应而带来的。

实施例 5：含二氧化氯注射剂制备与保存试验

将 28%的亚氯酸钠溶液和 30%盐酸溶液混合于具有唯一出气口的反应釜中，用导管接通该反应釜的出气口至另一储存 PBS（注射液磷酸缓冲液）溶液中，导管没入 PBS 溶液中，该 PBS 溶液的温度为 1 摄氏度，且通过外部制冷设备使其恒定在该温度。加热反应釜至 85 摄氏度，并向混合亚氯酸钠溶液和盐酸溶液的反应釜中（通过进气口进入混合溶液液面下）鼓入氮气，使生成的二氧化氯气体跟随氮气鼓泡进入冷的 PBS 溶液之中，一段时间后，将二氧化氯与 PBS 溶液转移至密闭的玻璃容器中，在 20 摄氏度的条件下观察，待二氧化氯与 PBS 均匀混合后，放置于 2-8 摄氏度冰箱内保存。经测定以上制备出浓度为 20mg/ml 的二氧化氯溶液。该溶液作为注射剂分装于 10ml 的玻璃瓶中，并于 2-8 摄氏度环境中避光保存。

将以上制备的装于 10ml 玻璃瓶的二氧化氯注射剂分别储存在温度 5 摄氏度和温度 23℃的暗室中，比较不同温度之下，二氧化氯注射剂稳定性。在 100 天期间内在 1、22 和 100 天后以分光光度法测量各样品中的 $ClO_2$ 含量。结果为：

| | 5 摄氏度条件保存 | 23℃条件下保存 |
|---|---|---|
| 1 天 | 20mg/ml (100%) | 20mg/ml (100%) |

| | | |
|---|---|---|
| 22 天 | 19.6mg/ml (98%) | 19mg/ml (95%) |
| 100 天 | 18.5mg/ml (92.5%) | 13.2mg/ml (66%) |

说明本发明的含二氧化氯注射剂更适于保存于较低温度之下，这样二氧化氯浓度降低较少，或该注射剂能更长期保存。

实施例 6：含二氧化氯注射剂制备与保存试验

将 35%的亚氯酸钠溶液和 40%硫酸溶液混合于具有唯一出气口的反应釜中，用导管接通该反应釜的出气口至另一温度为零下 10 摄氏度空容器中，且导管进入该容器是自上而下，该容器内仅有温度为零下 10 摄氏度的空气，且通过外部制冷设备使其恒定在该温度。向混合亚氯酸钠溶液和盐酸溶液的反应釜中（通过进气口进入混合溶液液面下）鼓入氮气，使生成的二氧化氯气体跟随氮气鼓泡进入低温容器中，一段时间后，二氧化氯会以固体或液体的形式附着于容器底部，通过合乎规范的方法，将该二氧化氯转移至密闭的玻璃或金属容器中，并放置于零下 20 至零下 10 摄氏度冰箱内保存。经测定以上制备出的二氧化氯为接近于 100%二氧化氯。该二氧化氯作为注射剂分装于 10ml 的玻璃瓶中，每一瓶分装 0.2g 纯二氧化氯，并于零下 20 至零下 10 摄氏度环境中避光保存。作为注射剂用于病人时，用生理盐水稀释后，马上注射。比如用 10 毫升生理盐水注射于该 10ml 保存二氧化氯的玻璃瓶中，会得到相应浓度的二氧化氯注射剂，待二氧化氯均匀溶解于生理盐水之中，马上可以进行身体注射。

将以上制备的装于 10ml 玻璃瓶的二氧化氯注射剂分别储存在温度零下 10 摄氏度和温度 5℃的暗室中，比较不同温度之下，该二氧化氯注射剂稳定性。在 100 天期间内在 1、22 和 100 天后以精密天平称重测量各样品中的 $ClO_2$ 重量。结果为：

| | 零下 10 摄氏度条件保存 | 5℃条件下保存 |
|---|---|---|
| 1 天 | 200mg (100%) | 200mg (100%) |
| 22 天 | 198mg (99%) | 190mg (95%) |
| 100 天 | 192mg (96%) | 168mg (84%) |

说明本发明的较高浓度的二氧化氯注射剂更适于保存于较低温度之下，特别是不是以溶液形式存在下的二氧化氯注射剂，零下 10 摄氏度保存较 5 摄氏度保存具有更好的稳定性。

实施例 7：含 3mg/ml、5mg/ml、25mg/ml 二氧化氯注射剂的制备

将 28%的亚氯酸钠溶液与 50%柠檬酸溶液混合于反应釜中，引导管至盛有 1 摄氏度的含 0.9%氯化钠的生理盐水溶液中，导管入口没入生理盐水中。恒定温度 90 摄氏度加热反应釜 30 分钟，二氧化氯鼓泡进入生理盐水中，始终通过外部设备保持该生理盐水处于恒定温度 1 摄氏度。40 分钟之后将混合溶液转移至密闭容器中，置于 20 摄氏度下，待二氧化氯与生理盐水均匀混合后，放置于 2-8 摄氏度冰箱内保存。经测定以上制备出浓度为 25mg/ml 的二氧化氯溶液，经过生理盐水稀释，继续制备出 3mg/ml 和 5mg/ml 的二氧化氯溶液。该溶液可以作为注射剂分装于 10ml 的玻璃瓶中，并于 2-8 摄氏度环境中避光保存。

# 权 利 要 求 书

1. 一种包含二氧化氯的注射剂，其特征在于：二氧化氯浓度为 3mg/ml—100%（w/w），该注射剂仅含有二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂，而无其他物质。

2.权利要求 1 的制剂，其特征在于，这种注射剂不含制备二氧化氯的二氧化氯前体，二氧化氯前体可以是亚氯酸钠、亚氯酸钾、亚氯酸锂、亚氯酸钙、亚氯酸镁、亚氯酸钡。

3. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，这种注射剂不含超过注射剂容许含量的非二氧化氯反应物，超过注射剂容许含量的非二氧化氯反应物可以是超过 1%的柠檬酸钠，或超过 1%的氯化钠，或超过 1%的柠檬酸钾，或超过 1%的硫酸钠。

4. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，这种注射剂避光保存于零下 20 摄氏度至 11 摄氏度之间的环境。

5. 权利要求 4 的制剂，其特征在于，这种注射剂避光保存于零下 18 摄氏度至 9 摄氏度条件下。

6. 权利要求 5 的制剂，其特征在于，这种注射剂避光保存于 2 摄氏度至 8 摄氏度的条件下。

7. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，其二氧化氯浓度为 5mg/ml-25mg/ml，该注射剂仅含有二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂，而无其他物质。

8. 权利要求 7 的制剂，其特征在于，其二氧化氯的浓度为 8mg/ml-20mg/ml，该注射剂仅含有二氧化氯和通常注射剂中使用的添加剂，而无其他物质。

9. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，注射用浓溶液，供临用前稀释后注射。

10. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，这种注射剂可以经由静脉点滴、静脉注射、动脉注射、肌肉注射、皮下注射、皮内注射、心内注射、腹腔注射、鞘内注射、关节内注射、穿刺注射、直肠给药、舌下给药、鼻腔给药、经皮给药、吸入或者局部给药到目标的器官或组织等。

11. 权利要求 1 的制剂，其特征在于，其可以扩展为扩展剂型，该扩展剂型可以是直接用于体内的注射剂（包括混悬液、乳剂）；软膏剂（包括油脂性软膏、乳剂型软膏（霜）或水溶性软膏）；吸入剂、液剂制剂（包括滴眼剂或滴鼻剂）、栓剂、贴剂、糊剂或洗剂外用剂；片剂（包括糖衣、薄膜、胶衣）、液体制剂、

胶囊剂、颗粒剂、散剂（包括细粒级）、丸剂、糖浆剂和含片。

12. 制备含二氧化氯的注射剂的方法，其过程包括以下步骤：

1）生产二氧化氯气体；

2）经导管将二氧化氯气体引入到零下 20 摄氏度至 11 摄氏度的介质中；

3）当该介质为气体介质时，收集二氧化氯得到浓度接近于 100%的二氧化氯注射剂；当该介质为液体介质时，升高容存有二氧化氯的液体介质温度至不超过 20 摄氏度，待二氧化氯均匀容存于液体介质中后，获得一定浓度二氧化氯注射剂。

13. 权利要求 12 的方法，其特征在于，将二氧化氯气体引入到的低温介质可以是气体介质，也可以是液体介质。

14. 权利要求 12 的方法，其特征在于，吸收二氧化氯气体的低温介质为 1 摄氏度至 5 摄氏度的生理盐水。

15. 权利要求 12 的方法，其特征在于，通过导管将二氧化氯引入到低温介质的方向为自上而下。

16. 权利要求 12 的方法，其特征在于，低温介质是液体介质，可以在引入二氧化氯气体之前添加通常注射剂中使用的添加剂，也可以在引入二氧化氯气体之后添加通常注射剂中使用的添加剂。

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
**PCT/CN2017/071589**

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

A61K 9/08 (2006.01) i; A61K 33/00 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61P 39/06 (2006.01) i

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)

A61K; A61P

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

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

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CNTXT, CA, EMBASE, PUBMED, SPRINGERLINK, ELSEVIER SCIENCE DIRECT, GOOGLE scholar, baidu scholar: chlorine dioxide, low tempreture, chlorine, oxide, CLO2, gas, concentration, inject+, temperature, hypothem+, subzero, saline

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| Y | CN 103040860 A (LIU, Xuewu), 17 April 2013 (17.04.2013), claims 1-2 and 7-8, and description, page 7, paragraphs [0041]-[0049] and page 14, paragraphs [0114]-[0117] | 1-16 |
| Y | CN 103720709 A (LIU, Xuewu), 16 April 2014 (16.04.2014), claims 1-2, and description, paragraphs [0040]-[0048] | 1-16 |
| Y | CN 104261350 A (GUANGXI UNIVERSITY), 07 January 2015 (07.01.2015), embodiments 1-3 | 1-16 |
| Y | CN 101746731 A (GUANGXI BOSSCO ENVIRONMENTAL PROTECTION TECHNOLOGY CO., LTD.), 23 June 2010 (23.06.2010), abstract, and embodiments 1-3 | 12-16 |
| A | CN 104586880 A (ZHOU, Weiwen), 16 May 2015 (16.05.2015), claim 1, and description, paragraphs [0007] and [0136]-[0137] | 1-16 |

☐ 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 | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 06 April 2017 (06.04.2017) | **28 April 2017 (28.04.2017)** |
| Name and mailing address of the ISA/CN:<br>State Intellectual Property Office of the P. R. China<br>No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao<br>Haidian District, Beijing 100088, China<br>Facsimile No.: (86-10) 62019451 | Authorized officer<br>**DOU, Bojian**<br>Telephone No.: (86-10) **62411125** |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
**PCT/CN2017/071589**

| Patent Documents referred in the Report | Publication Date | Patent Family | Publication Date |
|---|---|---|---|
| CN 103040860 A | 17 April 2013 | US 2015335678 A1 | 26 November 2015 |
| | | IN 201501912 P2 | 24 June 2016 |
| | | JP 2016500114 A | 07 January 2016 |
| | | EP 2926819 A1 | 07 October 2015 |
| | | WO 2014082514 A1 | 05 June 2014 |
| CN 103720709 A | 16 April 2014 | None | |
| CN 104261350 A | 07 January 2015 | CN 104261350 B | 17 February 2016 |
| CN 101746731 A | 23 June 2010 | CN 101746731 B | 14 September 2011 |
| CN 104586880 A | 16 May 2015 | None | |

# 国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2017/071589

A. 主题的分类

A61K 9/08(2006.01)i；A61K 33/00(2006.01)i；A61P 35/00(2006.01)i；A61P 39/06(2006.01)i

按照国际专利分类(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(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

WPI, EPODOC, CNPAT, CNKI, CNTXT, CA, EMBASE, PUBMED, SPRINGERLINK, ELSEVIER SCIENCE DIRECT, GOOGLE scholar, baidu scholar: 二氧化氯，气体，浓度，注射，低温，零下，盐水，chlorine, oxide, CL02, gas, concentration, inject+, temperature, hypothem+, subzero, saline

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 |
|---|---|---|
| Y | CN 103040860 A (刘学武) 2013年 4月 17日 (2013 - 04 - 17)<br>权利要求1-2，7-8，说明书第7页第[0041]-[0049]段，第14页第[0114]-[0117]段 | 1-16 |
| Y | CN 103720709 A (刘学武) 2014年 4月 16日 (2014 - 04 - 16)<br>权利要求1-2，说明书第[0040]-[0048]段 | 1-16 |
| Y | CN 104261350 A (广西大学) 2015年 1月 7日 (2015 - 01 - 07)<br>实施例1-3 | 1-16 |
| Y | CN 101746731 A (广西博世科环保科技有限公司) 2010年 6月 23日 (2010 - 06 - 23)<br>摘要，实施例1-3 | 12-16 |
| A | CN 104586880 A (周伟文) 2015年 5月 16日 (2015 - 05 - 16)<br>权利要求1，说明书第[0007]、[0136]-[0137]段 | 1-16 |

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或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（如具体说明的）

“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，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“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，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

| 国际检索实际完成的日期 | 国际检索报告邮寄日期 |
|---|---|
| 2017年 4月 6日 | 2017年 4月 28日 |
| ISA/CN的名称和邮寄地址<br>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)<br>中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088<br>传真号 (86-10)62019451 | 受权官员<br>豆波建<br>电话号码 (86-10)62411125 |

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2017/071589

| 检索报告引用的专利文件 | | | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 | | | 公布日<br>(年/月/日) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CN | 103040860 | A | 2013年 4月 17日 | US | 2015335678 | A1 | 2015年 11月 26日 |
| | | | | IN | 201501912 | P2 | 2016年 6月 24日 |
| | | | | JP | 2016500114 | A | 2016年 1月 7日 |
| | | | | EP | 2926819 | A1 | 2015年 10月 7日 |
| | | | | WO | 2014082514 | A1 | 2014年 6月 5日 |
| CN | 103720709 | A | 2014年 4月 16日 | | 无 | | |
| CN | 104261350 | A | 2015年 1月 7日 | CN | 104261350 | B | 2016年 2月 17日 |
| CN | 101746731 | A | 2010年 6月 23日 | CN | 101746731 | B | 2011年 9月 14日 |
| CN | 104586880 | A | 2015年 5月 16日 | | 无 | | |