

灵芝孢子多糖对荷瘤小鼠的免疫调节作用

冯 鹏^{1,2}, 赵 丽^{3*}, 赵 卿³, 钱一帆⁴, 吴 东¹, 孙予罕¹¹中国科学院山西煤炭化学研究所, 太原 030001; ²中国科学院研究生院, 北京 100039;³中国药科大学生理学教研室, 南京 210009; ⁴南京中科集团股份有限公司, 南京 210008)

摘 要 目的: 研究灵芝孢子多糖对荷艾氏腹水癌(EC)和S₁₈₀肉瘤小鼠的免疫调节作用。方法: 研究灵芝孢子多糖对EC荷瘤小鼠体液免疫功能及网状内皮系统吞噬功能的影响, 并采用流式细胞术研究灵芝孢子多糖对S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠外周血淋巴细胞亚群CD3⁺CD8⁺杀伤性T淋巴细胞、CD3⁺CD4⁺辅助性T淋巴细胞、CD4⁺CD25⁺调节性T淋巴细胞的影响, 以及对S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠自然杀伤细胞(NK细胞)活性的影响。结果: 灵芝孢子多糖明显提高EC荷瘤小鼠的血清半数溶血值, 并显著提高荷瘤小鼠的廓清指数K及吞噬系数 α 值。此外灵芝孢子多糖对S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠外周血杀伤性T淋巴细胞亚群和辅助性T淋巴细胞亚群有一定的增强作用, 但对调节性T淋巴细胞亚群并无明显作用。灵芝孢子多糖还可增强S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠NK细胞的杀伤活性。结论: 灵芝孢子多糖可以提高荷艾氏腹水癌和S₁₈₀肉瘤小鼠的免疫系统功能。

关键词 灵芝孢子多糖; 体液免疫; 网状内皮系统吞噬; T细胞亚群; NK细胞

中图分类号 R965 文献标识码 A 文章编号 1000-5048(2007)02-0162-05

Immunomodulatory effects of *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides on tumor-bearing miceFENG Peng^{1,2}, ZHAO Li³, ZHAO Qing³, QIAN Yi-fan⁴, WU Dong¹, SUN Yu-han¹¹Shaanxi Research Institute of Coal Chemistry Academy of Sciences, Taiyuan 030001; ²Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039; ³Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ⁴Nanjing Zhongke Group Co., Ltd, Nanjing 210008, China

Abstract Aim: To investigate the immunomodulatory effects of *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides (GLSPs) on EC and S₁₈₀ tumor-bearing mice. **Methods:** Effects of GLSPs on the humoral immune function and the endothelial system (RES) phagocytosis function of EC tumor-bearing mice were assessed. Moreover, CTL, TH cells and regulatory T cells in the peripheral blood lymphocyte of NK cells in S₁₈₀ tumor-bearing mice were detected by flow cytometry and the activity of S₁₈₀ tumor-bearing mice was examined. **Results:** GLSPs could elevate the humoral immune function as well as the clearance exponent K and phagocytose quotient α of EC tumor-bearing mice. GLSPs also increased CTL and TH cells in the peripheral blood lymphocyte of S₁₈₀ tumor-bearing mice with no effect on regulatory T cells. In addition, GLSPs could strengthen the activity of NK cells in S₁₈₀ tumor-bearing mice. **Conclusion:** GLSPs could strengthen the immune system of the EC and S₁₈₀ tumor-bearing mice.

Key words *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides; humoral immunity; RES phagocytose; T cell subset; NK cells

灵芝是担子菌纲多孔菌科(Polyporaceae)灵芝属(*Ganoderma*)真菌赤芝 *Ganoderma lucidum* 的总称, 具有扶正固本等功效。灵芝孢子是灵芝发育后期弹射出来的种子, 将其集中起来后呈细末状, 通称为灵芝孢子粉, 其主要成分有多糖、腺嘌呤、核苷、有机锗、三萜类、麦角甾醇、维生素、胡萝卜素及微量元素等, 具有抗肿瘤、耐缺氧、提高免疫力、抗

氧化等作用。灵芝孢子经净制、破壁粉碎、制粒脱脂后得灵芝孢子颗粒, 再经水提、醇沉、干燥即得多糖。灵芝具有益气养阴, 扶正固本的功效^[1], 与放疗、化疗合用有助于降低放疗、化疗药物的毒性, 并可改善患者症状及生存质量。灵芝孢子多糖是灵芝中的有效成分之一。本文旨在研究灵芝孢子多糖对免疫系统的调节作用, 为灵芝孢子多糖在临床

肿瘤辅助治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试药

灵芝孢子多糖 (*Ganoderma lucidum* spores polysaccharides, GLSPs) (南京中科集团股份有限公司, 批号: 20060101, 含量以无水葡萄糖计不少于 55%); 双灵固本散 (Sunrecome) (上海绿谷集团有限公司, 批号: 20060104); 印度墨汁 (北京四中化工厂, 批号: 050301)。环磷酰胺 (CTX) (江苏恒瑞医药股份有限公司, 批号: 06060121)。

Ficoll-Paque Plus (Amersham Biosciences); PE-Cy5-anti-mouse CD3 mAb, FITC-anti-mouse CD8 mAb, PE-anti-mouse CD4 mAb 和 FITC-anti-mouse CD25 mAb (BD PharMingen (San Diego, CA)); FITC-anti-mouse CD3 mAb (Biolegend (San Diego, CA)); RPMI-1640 (GIBCO BRL), 24、96-well plate (Costar)。CFSE (carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, Sigma, USA), PI (Propidium iodide, Sigma, USA), RPMI-1640 (GIBCO BRL), 24 孔板 (Costar)。

1.2 细胞培养

小鼠 T 淋巴细胞瘤 YAC-1 细胞株 (中科院上海细胞所); 以含 100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素、10% 新生牛血清的 RPMI 1640 常规传代培养。

1.3 动物

ICR 小鼠, 18~22 g, 雌雄各半 (中国药科大学实验动物中心)。合格证号: SCXK (苏) 2004-0010。

1.4 灵芝孢子多糖对 EC 荷瘤小鼠体液免疫功能的影响^[2]

取小鼠 60 只, 按体重随机分为 6 组, 雌雄各半。实验设: 空白对照组 (生理盐水), EC 荷瘤组 (生理盐水), 灵芝孢子多糖设高、中、低 (160、80、40 mg/kg) 3 个剂量组, 双灵固本散组 (1 g/kg)。灌胃给药, 每天 1 次, 共给药 14 次。于给药第 6 天, 除空白对照组外, 其余各组小鼠接种 EC 实体型瘤^[3]。于给药第 10 天各组小鼠腹腔注入绵羊红细胞 (0.5 mL/只) 进行初次免疫, 末次给药 1 h 后, 测定并计算血清半数溶血值 HC₅₀。

1.5 灵芝孢子多糖对 EC 荷瘤小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响^[4]

取小鼠 60 只, 按体重随机分为 6 组, 雌雄各半。实验分组及给药方式同“1.4”项。于给药第 6

天时, 除空白对照组外, 其余各组小鼠接种 EC 实体型瘤。于末次给药后 1 h, 尾静脉注射印度墨水 (1:3 稀释) 0.05 mL/10 g, 于注入墨水后 1 min 及 5 min 时用定量采血管从小鼠眼眶后静脉丛取血 20 μL, 立刻吹入 0.1 % Na₂CO₃ 液 2 mL 中, 于 680 nm 处比色, 于 5 min 采血后立即处死小鼠, 并取肝、脾称合重, 按下式计算廓清指数 *K* 及吞噬系数 α 值。所得数据进行统计学处理 (*t* 检验)。

$$K = (\log A_1 - \log A_5) / (t_5 - t_1)$$

$$\alpha = (\text{体重} / \text{肝脾合重}) \times (K)^{1/3}$$

1.6 灵芝孢子多糖对 S₁₈₀ 肉瘤荷瘤小鼠外周血淋巴细胞亚群的影响^[5]

取小鼠 50 只接种 S₁₈₀ 实体型^[3], 接种后 24 h 称重, 并随机分为 5 组, 雌雄各半。实验设: S₁₈₀ 荷瘤组 (生理盐水), 灵芝孢子多糖设高、中、低 (160, 80, 40 mg/kg) 3 个剂量组, 灌胃给药, 环磷酰胺 (CTX) 组 (25 mg/kg), 腹腔注射给药, 每天 1 次, 共给药 7 次。末次给药 1 h 后眼眶静脉丛取血, 依照 Ficoll 试剂说明书, 提取外周血淋巴细胞, 悬浮于 PBS 100 μL 中 (每管约 10⁶ 个), 加入 FITC 标记的 CD3 和 PE 标记的 CD4 抗体各 1 μL (检测 CD4 亚群 T 细胞), 或者加入 FITC 标记的 CD8 和 PE-Cy5 标记的 CD3 抗体各 1 μL (检测 CD8 亚群 T 细胞), 或者加入 PE 标记的 CD4 抗体和 FITC 标记的 CD25 抗体各 1 μL (检测调节性 T 细胞), 混匀, 4 °C 孵育 30 min, PBS 洗 2 次, 将细胞悬于含 0.5% 多聚甲醛的 PBS 400 μL 中, 用 FAC Scalibur 分析。每次试验均设置不染抗体的细胞对照, 以便确定细胞的本底荧光。

1.7 灵芝孢子多糖对 S₁₈₀ 肉瘤荷瘤小鼠 NK 细胞活性的影响^[6]

取小鼠 60 只接种 S₁₈₀ 实体型, 接种后 24 h 称重, 并随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半。实验设: 空白对照组 (生理盐水), S₁₈₀ 荷瘤组 (生理盐水), 灵芝孢子多糖设高、中、低 (160, 80, 40 mg/kg) 3 个剂量组, 双灵固本散组 (1 g/kg), 灌胃给药, 每天 1 次, 共给药 7 次。于末次给药后 1 h, 将小鼠无菌取脾, PBS 5 mL 冲洗脾细胞, 注射器吸取, 200 目过滤。1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 加 NH₄Cl-Tris 3 mL, 冰上放置 5 min, 期间翻转混匀, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清。PBS 洗细胞, 1 000 r/min 离心 5 min, RPMI 1640 完全培养基悬

浮,计数。

用完全培养基将 YAC-1 细胞配制成每毫升 2×10^7 个细胞悬液,加入 2.5 mmol/L CFSE 的二甲亚砷储备液,使其终浓度为 2.5 μ mol/L。在 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min 后,迅速用完全培养基 10 mL 中和 1000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min,收集细胞,并继续用完全培养基洗涤两次,计数调成一定浓度待用。将制备好的不同处理组的脾细胞计数调成一定浓度,与 YAC-1 细胞按效应细胞:靶细胞为 200:1、100:1 和 50:1 的数目比例接种到 24 孔培养板中,37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h,收集细胞用 PBS 洗 1 次,继而悬于 PBS 100 μ L 中,然后加入 PI (终浓度 1 μ g/mL) 染色,室温孵育 10 min,补加 PBS 300 μ L,上机分析。在流式细胞仪上将 FL1 通道的阳性的细胞设置门(gate),然后分析门内 FL3 通道的荧光,以 FL3 通道的阳性细胞的百分比来评价 NK 细胞杀伤靶细胞的程度。

2 实验结果

2.1 灵芝孢子多糖对 EC 荷瘤小鼠体液免疫功能的影响

与空白对照组相比,EC 荷瘤组的血清半数溶

Tab.2 Effect of GLSPs on reticuloendothelial system of EC-tumor bearing mice($\bar{x}\pm s, n=10$)

Group	Dose (mg/kg)	K ($\times 10^{-2}$)	α	Liver quot (g/100 g)	Spleen quot (g/100 g)
Control	—	8.45 $\pm$ 2.36 **	7.52 $\pm$ 0.91 *	5.26 $\pm$ 0.96	0.63 $\pm$ 0.25
EC-tumor bearing model	—	5.31 $\pm$ 2.20	6.12 $\pm$ 1.39	5.44 $\pm$ 0.78	0.72 $\pm$ 0.21
GLSPs	160	8.54 $\pm$ 2.07 **	8.17 $\pm$ 1.54 **	4.87 $\pm$ 0.72	0.64 $\pm$ 0.31
	80	8.06 $\pm$ 2.64 *	7.28 $\pm$ 1.02 *	5.26 $\pm$ 0.45	0.66 $\pm$ 0.21
	40	6.34 $\pm$ 2.04	6.91 $\pm$ 1.29	5.26 $\pm$ 0.67	0.56 $\pm$ 0.17
Sunrecome	1 000	8.85 $\pm$ 2.62 **	7.98 $\pm$ 1.64 *	4.90 $\pm$ 0.75	0.74 $\pm$ 0.22

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs EC-tumor bearing model group

2.3 灵芝孢子多糖对 S₁₈₀ 肉瘤荷瘤小鼠外周血淋巴细胞亚群的影响

1) 灵芝孢子多糖对 S₁₈₀ 肉瘤荷瘤小鼠外周血 CD3⁺CD8⁺ 细胞即杀伤性 T 淋巴细胞亚群的数量有一定的增强作用,尤其以 160 mg/kg 组较为明显(从对照组的 5.6% 增加到 19.1%),80 mg/kg 组增加程度次之为 10.6%,而 40 mg/kg 组则增加很少,为 7.6%。阳性对照组的环磷酰胺则可降低杀伤性 T 淋巴细胞的数目(从对照组的 5.6% 到 3.7%)。结果见图 1。

血值(HC₅₀)明显下降($P<0.01$)。与 EC 荷瘤组相比,灵芝孢子多糖(160, 80 mg/kg)和双灵固本散均可显著提高 EC 荷瘤小鼠的血清半数溶血值($P<0.01$, $P<0.05$)。结果见表 1。

Tab.1 Effect of *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides (GLSPs) on serum erythrocytolysin of EC-tumor bearing mice($\bar{x}\pm s, n=10$)

Group	Dose (mg/kg)	Weight (g)		HC ₅₀
		Pre-dose	After-dose	
Control	—	19.00 $\pm$ 1.05	26.91 $\pm$ 1.34	330.97 $\pm$ 29.29 **
EC-tumor bearing model	—	19.00 $\pm$ 1.15	27.04 $\pm$ 1.71	279.09 $\pm$ 34.32
GLSPs	160	18.90 $\pm$ 1.10	27.11 $\pm$ 1.53	320.28 $\pm$ 26.84 **
	80	19.30 $\pm$ 1.25	27.22 $\pm$ 1.86	315.72 $\pm$ 29.15 *
	40	19.10 $\pm$ 1.10	26.50 $\pm$ 2.24	306.29 $\pm$ 56.87
Sunrecome	1 000	19.20 $\pm$ 1.23	27.14 $\pm$ 2.41	324.37 $\pm$ 39.35 *

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs EC-tumor bearing model group

2.2 灵芝孢子多糖对 EC 荷瘤小鼠网状内皮系统吞噬功能的影响

与空白对照组相比,EC 荷瘤组小鼠的廓清指数 K 及吞噬系数 α 值有明显降低($P<0.01$, $P<0.05$)。与 EC 荷瘤组相比,灵芝孢子多糖(160, 80 mg/kg)、双灵固本散(1 000 mg/kg)可显著提高小鼠的廓清指数 K 及吞噬系数 α 值($P<0.01$, $P<0.05$)。结果见表 2。

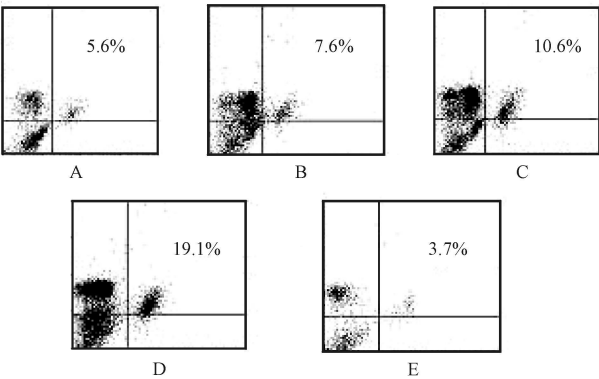


Fig.1 Effect of *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides (GLSPs) on CD3⁺CD8⁺ T cells of S₁₈₀-tumor bearing mice

A: S₁₈₀-tumor bearing model group; B: GLSPs (40 mg/kg); C: GLSPs (80 mg/kg); D: GLSPs (160 mg/kg); E: Cyclophosphamide (CTX)

2)灵芝孢子多糖对 S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠外周血 CD³+CD⁴+细胞即辅助性 T 淋巴细胞亚群的数量也有一定的增强作用,可从对照组的 25.7%增加到 45.3%(160 mg/kg),80 mg/kg 组和 40 mg/kg 组次之,增加至 38.1%和 32.8%。而作为阳性对照组的 CTX,则降低辅助性 T 细胞亚群的数目(从对照组的 25.7%降到 21%)。结果见图 2。

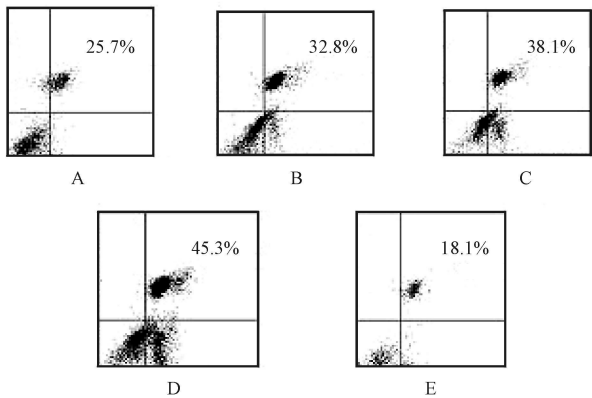


Fig-2 Effect of GLSPs CD³+CD⁴+ T cells of S₁₈₀tumor bearing mice
A: S₁₈₀tumor bearing model group; B: GLSPs (40 mg/kg); C: GLSPs (80 mg/kg); D: GLSPs (160 mg/kg); E: Cyclophosphamide (CTX)

3)灵芝孢子多糖对 S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠外周血 CD⁴+CD²⁵+细胞即调节性 T 淋巴细胞亚群没有明显的增强作用,表明灵芝孢子多糖发挥抗肿瘤活性不是通过促进荷瘤小鼠外周血调节性 T 淋巴细胞亚群的数目来实现的。结果见图 3。

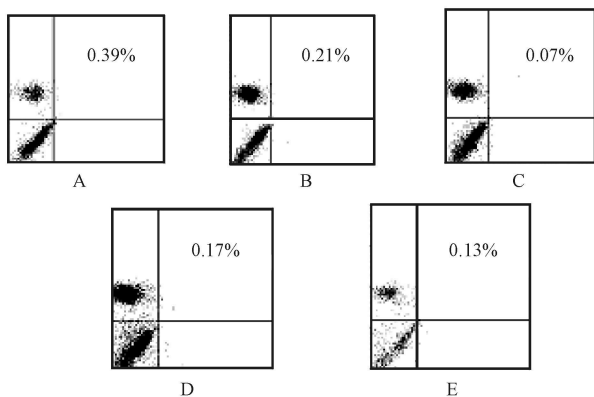


Fig-3 Effect of GLSPs on CD⁴+CD²⁵+ T cells of S₁₈₀tumor bearing mice
A: S₁₈₀tumor bearing model group; B: GLSPs (40 mg/kg); C: GLSPs (80 mg/kg); D: GLSPs (160 mg/kg); E: CTX

2.4 灵芝孢子多糖对 S₁₈₀肉瘤荷瘤小鼠 NK 细胞活性的影响

灵芝孢子多糖可增强荷瘤小鼠 NK 细胞的活性,在不同的效应细胞/靶细胞的比例条件下, NK

细胞均有杀伤 YAC-1 细胞的活性不同,呈现出剂量依赖关系,并且这种作用较阳性药双灵固本散稍强。结果见表 3。

Tab.3 Effect of GLSPs on activity of NK cells of S₁₈₀tumor bearing mice

Group	Dose (mg/kg)	Activity of NK cells		
		200:1	100:1	50:1
Control	—	23.64	19.74	18.52
S ₁₈₀ tumor bearing model	—	24.93	21.68	20.64
GLSPs	40	33.74	32.56	30.29
	80	42.52	38.85	34.04
	160	58.04	48.10	42.20
Sunrecome	1 000	50.13	45.55	37.77

3 讨 论

灵芝孢子具有杀伤癌细胞^[7],拮抗环磷酰胺引起的小鼠血红蛋白与白细胞下降、巨噬细胞吞噬能力下降和 SGPT 升高,抑制⁶⁰Co 照射引起的白细胞减少,激活并提高特异性杀伤细胞(CTL)和非特异性杀伤细胞(NK、LAK)的抗肿瘤作用、增强单核-巨噬细胞吞噬功能^[8]等作用,显示出灵芝孢子在调节免疫功能、抗肿瘤方面的良好应用前景。灵芝孢子多糖是灵芝孢子中的主要有效成分,本实验结果表明其可显著提高荷瘤小鼠的体液免疫功能和网状内皮系统的吞噬功能,并且对荷瘤小鼠的外周血的 T 细胞亚群中的杀伤性 T 细胞和辅助性 T 细胞均有一定的激活作用,而且对荷瘤小鼠的 NK 细胞具有一定的激活组,由此可见灵芝孢子多糖有可能通过增强机体的免疫系统从而达到杀灭肿瘤细胞的功效,并且对肿瘤的化疗有一定的辅助作用,有望成为不良反应小且效果良好的抗肿瘤药物。

参 考 文 献

[1] 张炯炯(Zhang JJ). 灵芝孢子的开发和应用[J]. 湖南中医药导报 (Hunan Guiding J Tradit Chin Med Pharmacol), 2000, 6(5): 21—22.

[2] 周淑英(Zhou SY), 卢振初(Lu ZC), 王 俏(Wang Q). 黄芪多糖抗肿瘤作用的实验研究[J]. 药物生物技术 (Pharm Biotechnol), 1995, 2(2): 22—25.

[3] 徐叔云(Xu SY), 卞如濂(Bian RL), 陈 修(Chen X). 药理实验方法学[M]. 第 3 版, 北京:人民卫生出版社, 2002: 1 757.

[4] 黄林清(Huang LQ), 周世文(Zhou SW), 张诗平(Zhang SP), 等. 蚕蛹多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 解放军药理学学报 (Pharm J Chin PLA), 2002, 18 (1): 11—12.

[5] Lim HY, Joo HJ, Choi JH, et al. Increase expression of cyclo-oxygenase-2 protein in human gastric carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2000,

6(2);519—525.

[6] Marcussen-Ståhl M, Cederbrant K. A flow-cytometric NK-cytotoxicity assay adapted for use in rat repeated dose toxicity studies[J]. Toxicology, 2003, 193(3):269—279.

[7] 陈雪华(Chen XH), 朱正纲(Zhu ZG), 马安伦(Ma AL), 等. 灵芝孢子粉对荷 HAC 肝癌小鼠抗肿瘤的试验性研究[J]. 上海免疫学杂志(Shanghai J Immunol), 2000, 20(2):101—103.

[8] 刘克明(Liu KM), 李怡岚(Li YL), 张明月(Zhang MY), 等. 破壳灵芝孢子粉对昆明小鼠免疫功能的影响[J]. 医学动物防治(Chin J Pest Control), 1999, 15(2):74—77.

• 校园信息 •

中国药科大学 2006 年 7~12 月获授权的专利

序号	发明人	发明名称	专利号
1	宋梅, 平其能, 肖衍宇	含水飞蓟提取物的前体脂质体制剂及其制备方法	ZL200410014407.6
2	余伯阳, 刘吉华, 邱声祥, 李星	降低有毒成分含量的咪唑提取物及含其组合物与制备方法	ZL200410013894.4
3	朱家璧, 陈志鹏, 张克军	盐酸维拉帕米择时缓释制剂	ZL200410014300.1
4	张奕华, 陈莉, 田季德, 郭青龙	齐墩果酸偶联衍生物及其药物用途	ZL200410041376.3
5	宗莉, 陆峰, 胡雅芳	布洛芬精氨酸可待因复方制剂	ZL200410016416.9
6	平其能, 张灿, 张宏娟, 丁娅, 程耀	壳聚糖衍生物及其制备方法与在制药中的应用	ZL03112981.1
7	吉民, 戴德哉, 华维一, 戴茵, 刘立刚, 黄敏	吡唑羧酸类内皮素受体拮抗剂	ZL03112799.1
8	宗莉, 郑青山, 盛玉成, 张淑云, 曹翠珍	一种复方镇痛药物组合物及其用途	ZL200410044801.4
9	高向东, 谭仁祥, 杨晓兵, 孙诚	一种多糖及其制法和用途	ZL200310106520.2
10	高向东, 杨晓兵, 韩方, 姚文兵, 刘晓妮	一种多糖的硫酸酯化衍生物及其制法和用途	ZL200410103087.1
11	王广基, 朱萱萱, 刘建平, 赵陆华	一种治疗口腔黏膜病的药物组合物及其制备方法	ZL200310106130.5
12	李萍, 盛亮洪, 李睿岩, 李松林, 王伟	一种中药有效成分的检测方法	ZL200410041115.1
13	李萍, 盛亮洪, 李睿岩, 李松林, 齐炼文	一种中药有效成分的检测方法	ZL200410041024.8
14	尹莉芳, 张陆勇, 陈光	甘草酸二铵的缓释制剂	ZL200410066144.3
15	姚其正, 王秋娟, 吕刚, 周卫芬, 唐锋, 毛利姆	具有一氧化氮抑制剂作用的嘌呤衍生物	ZL200310106588.0
16	张奕华, 敖桂珍, 季晖, 邓钢, 彭司勋	对甲磺酰基苯丙烯酸衍生物及其制备方法与抗炎作用	ZL200410062957.5
17	刘建平, 马旭	一种稳定长效的银杏酯胶胶囊及其制备方法	ZL200510037667.X
18	叶湘武, 张迪清	益气复脉制剂及其制备方法	ZL200410021920.8
19	胡一桥, 夏霖, 张钧寿, 倪沛洲, 唐伟方	盐酸非洛普的缓释制剂及其制备方法	ZL200410041200.8
20	王广基, 朱萱萱, 刘建平, 赵陆华	一种治疗口腔黏膜病的药物组合物及其制备方法	ZL200310106130.5
21	华维一, 柳红, 吉民, 蒋华良, 陈凯先, 嵇汝运	烷磺酰胺苯烷胺类化合物及其制备方法与药物用途	ZL01132148.2
22	袁胜涛, 郭青龙, 濮存海, 张陆勇	一种治疗胃癌的中药及其制备工艺	ZL200510038885.5

(孙立冰)