

## 木豆叶提取物对人的类成骨细胞 TE85成骨功能和体外破骨细胞分化的影响

郑元元<sup>1</sup>, 杨京<sup>1</sup>, 陈迪华<sup>2</sup>, 孙兰<sup>1\*</sup>

(中国医学科学院、中国协和医科大学 1.基础医学研究所,北京 100005; 2.药用植物研究所,北京 100094)

**摘要:** 木豆素是从天然植物木豆叶中提取的单体化合物,结构类似乙烯雌酚。本文观察木豆素及4种木豆叶提取物总成分(32-1, 35-1, 35-2和35-3)对人的类成骨细胞 HOS TE85成骨功能、间质矿化及体外破骨细胞分化的影响。以木豆叶提取物作用于细胞48 h,观察细胞增殖、<sup>3</sup>H-脯氨酸掺入量及碱性磷酸酶活性;用抗酒石酸酸性磷酸酶(TRAP)染色法观察体外破骨细胞形成;作用于细胞18 d,用茜素红染色法观察细胞间质矿化。结果表明,作用于细胞48 h后,木豆素可促进细胞增殖,在 $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时细胞数增加57.7%,<sup>3</sup>H-脯氨酸掺入量增加98.5%。35-1和35-3还可明显增加碱性磷酸酶活性。长时程作用后,32-1和35-3可明显增加成骨细胞间质矿化程度。木豆素( $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )对破骨细胞形成有明显的抑制作用,抑制率为22.8%,32-1( $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )的抑制率为37.9%。木豆素及木豆叶提取物都具有刺激成骨细胞骨形成、促进细胞间质矿化及抑制破骨细胞形成的活性,提示木豆素在骨细胞上有类雌激素样作用,具有抗骨质疏松新药的研究前景。

**关键词:** 木豆叶提取物;成骨细胞;破骨细胞;细胞增殖;碱性磷酸酶

中图分类号: R282.71; R965 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2007)04-0386-06

## Effects of the extracts of *Cajanus cajan* L. on cell functions in human osteoblast-like TE85 cells and the derivation of osteoclast-like cells

ZHENG Yuan-yuan<sup>1</sup>, YANG Jing<sup>1</sup>, CHEN Di-hua<sup>2</sup>, SUN Lan<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100005, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

**Abstract:** The cajanine (longistylin A-2-carboxylic acid) is isolated and identified from extracts of *Cajanus cajan* L. (ECC), which structure is similar to diethylstilbestrol. The regulation properties of the cajanine and other four extracts of *Cajanus cajan* L. (32-1, 35-1, 35-2, and 35-3) were tested in human osteoblast-like (HOS) TE85 cells and marrow-derived osteoclast-like cells. By using MTT assay to test the change of cell proliferation, <sup>3</sup>H-proline incorporation to investigate the formation of collagen, and by measuring alkaline phosphatase (ALP) activity, bone formation in HOS TE85 cell was evaluated after pretreated for 48 hours. Bone marrow cells were cultured to examine the derivation of osteoclast cells (OLCs), which were stained with tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). The long term effect (pretreated for 18 days) on promoting mineralized bone-like tissue formation was tested by Alizarin red S staining in HOS TE85 cells. After the treatment with cajanine ( $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) for 48 hours, cell number increased significantly (57.7%). <sup>3</sup>H-Proline incorporation also statistically increased (98.5%) in those cells. Significant change of ALP activity was also found ( $P < 0.01$ ) in 35-1 and 35-3 treated cells (they were 66.2% and 82.4% in the concentration of  $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , respectively). The long term (18 days) effects of 32-1 and 35-3 on promoting mineralized bone-like tissue formation in HOS TE85 cell

收稿日期: 2006-10-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20172072).

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-65296403, E-mail: sunlan@pumc.edu.cn

were obvious. There were much more red blots over the field of vision compared with that of control group. After the treatment of cajanine, derived-osteoclast cells appeared later and much less compared with control. The inhibition of cajanine was 22.8% while it was 37.9% in 32-1 treated cells in the dose of  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . It is obvious that cajanine and ECCs promoted the osteoblast cells proliferation and mineralized bone-like tissue formation in HOS TE85 cells, while inhibited derivation of osteoclast cells. All of these suggested that cajanine has the estrogen-like action on osteoblast and osteoclast, which could be developed as anti-osteoporosis drugs.

**Key words:** extracts from *Cajanus cajan* L.; osteoblast; osteoclast; cell proliferation; alkaline phosphatase

豆科木豆属植物木豆 (*Cajanus cajan* L.)的化学特点及药理学作用早在二十多年前已有研究<sup>[1]</sup>,但对其类雌激素样作用方面的研究未见报道。本实验室前期研究发现,将木豆叶芪类提取物总成分用于去卵巢骨丢失大鼠模型中,可在不影响血清雌激素水平、不刺激子宫增生的条件下,降低血清 FSH 和 LH 含量,并明显抑制大鼠股骨干骺端的骨丢失;对股骨的作用与小剂量的雌激素接近<sup>[2]</sup>。在整体动物模型上,显示出良好的天然植物雌激素样生物活性<sup>[3]</sup>。

本研究取木豆叶的多个活性化合物组分及单体成分木豆素,在体外培养的人类成骨细胞系 HOS TE85 和分离的骨髓细胞中,从骨形成和骨吸收两方面观察其促成骨作用和抑制破骨细胞形成的作用,以揭示其在整体模型动物中改善骨小梁结构的作用机制。

## 材料与方 法

**木豆素及总成分的提取和鉴定** 本研究共观察了 5 种木豆叶提取物的作用。其中,木豆素为单体化合物,32-1 为广西红花木豆叶总成分,35-1 为广西黄花木豆叶总成分,35-2 为海南黄花木豆叶总成分,35-3 为广西白花木豆叶总成分。分别将木豆叶原料粉碎,80%乙醇加热回流提取,减压浓缩得绿色醇膏,用硅胶拌样,干燥、脱脂,氯仿洗脱,使芪类总成分含量为 50%<sup>[1,4]</sup>。木豆素的提取:将已用硅胶拌样后的绿色醇膏凉干研细,先后以石油醚和二氯甲烷连续洗脱得洗脱液,以少量冷二氯甲烷搅拌过滤,所得滤饼即为木豆素 ( $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ,白色结晶,熔点  $176 \sim 178 \text{ }^\circ\text{C}$ )。

**药品与试剂** 人的骨髓肉瘤细胞株 HOS TE85 具有成骨细胞特征,由美国旧金山大学提供。McCoy's 5A 培养基,破骨细胞培养基 DMEM 为 Invitrogen 公司产品。国产胎牛血清由中国医学科

学院基础医学细胞中心提供。17 $\beta$ 雌二醇 (Sigma 公司),以无水乙醇配成  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,冰箱  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。临用前以培养基稀释至所需浓度。1,25(OH) $_2$ D $_3$  (Fluka 公司);大鼠集落细胞刺激因子 GM-CSF (PeproTech 公司);MTT (Sigma 公司);抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 试剂盒 (中国医学科学院血液研究所);碱性磷酸酶 (ALP) 试剂盒 (北京北化康泰临床试剂有限公司); $^3\text{H}$ 脯氨酸 (中国原子能研究院)。

**MTT 法检测 HOS TE85 细胞增殖** 以细胞数  $1 \times 10^5$  接种于 96 孔板中,每孔  $200 \mu\text{L}$  细胞液,McCoy's 5A 培养基中加入 15% 去固醇胎牛血清 (CS-FCS)<sup>[5]</sup>。24 h 后,加入 17 $\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 或木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。继续培养 48 h 后,每孔加入 MTT 溶液 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )  $20 \mu\text{L}$ , $37 \text{ }^\circ\text{C}$  继续孵育 4 h。终止培养,小心吸弃孔内培养上清液。每孔加入二甲基亚砜 (DMSO,分析纯)  $150 \mu\text{L}$ ,振荡 10 min。以 490 nm 波长测定各孔吸收度值。

**$^3\text{H}$ 脯氨酸掺入法检测胶原蛋白形成** 以细胞数  $5 \times 10^5$  接种于 24 孔板中,每孔  $900 \mu\text{L}$  细胞液,24 h 后加入 17 $\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 或木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。48 h 后加入  $^3\text{H}$ 脯氨酸 ( $3.7 \times 10^3 \text{ Bq}$ ),8 h 后以  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.4) 洗细胞 3 遍。每孔加入  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 1 mL,静止 15 min 后,吸出孔中液体加入闪烁杯中,再加入闪烁液 7 mL,用液体闪烁计数器检测放射量。

**细胞碱性磷酸酶活性的检测** 以细胞数  $5 \times 10^5$  接种于 24 孔板中,每孔  $900 \mu\text{L}$  细胞液。24 h 后加入 17 $\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 或木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。48 h 后弃上清液,以生理盐水冲洗细胞 2 次。用细胞刮擦器取下细胞,超声破膜,每次 10 s,共 3 次, $15\ 000 \times \text{g}$

离心 30 min (4 °C)。按照碱性磷酸酶检测试剂盒操作。用分光光度计测量吸收度值,按照标准曲线转化为金氏单位,考马斯亮蓝法测定样本蛋白量,实验结果以  $U \cdot mg^{-1}(\text{protein})$  表示。

茜素红染色观察骨矿化<sup>[6]</sup> 以细胞数  $5 \times 10^4$  接种于 24 孔板中,加入  $17\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )或木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}, 1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。空白对照组加入等量培养液。每组 3 孔,连续给药 18 d。去培养基,用福尔马林-甲醇水 (1:1:1.5, v/v/v) 固定 2 h。PBS 洗 3 次后,茜素红 (alizarin red S, pH 4.0) 染色 5 min,用去离子水洗净,晾干。显微镜下观察照相。

破骨细胞体外分离及诱导分化<sup>[7]</sup> 取 Wistar 大鼠 (体重 170 ~ 180 g),拉颈处死。75%乙醇浸泡 10 min,无菌取股骨,分离周围组织,切断股骨两端骨髓,用 5 mL 无菌注射器吸取 D-Hanks 液 5 mL 冲洗骨髓腔,离心收集冲洗液。室温  $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,用 D-Hanks 液冲洗 2 次细胞。细胞稀释成  $5 \times 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ,以 DMEM 诱导培养基 [20% FCS,  $1.25 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$  GM-CSF,  $1 \times 10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ],置 24 孔板中培养。每 2 ~ 3 d 换液 1 次。加入  $17\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )或木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}, 1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。每组 6 孔。给药 6 d 后,细胞固定,抗酒石酸酸性磷

酸酶 (TRAP) 染色 (按试剂盒步骤操作) 并照相。

破骨细胞计数以 TRAP 阳性、胞核 3 个以上为标准细胞。每孔随机选取 10 个视野,将破骨细胞数目相加,计算每组 6 孔细胞数的平均值与标准差。

统计学方法 所有计量资料的实验结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用 SPSS 统计软件进行 t 检验。

## 结果

### 1 木豆叶提取物对 HOS TE85 成骨细胞功能的影响

1.1 细胞增殖 (MTT)  $17\beta$ 雌二醇 ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、木豆素和木豆叶提取物 ( $1 \times 10^{-9}, 1 \times 10^{-8}$  或  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 作用于细胞 48 h,  $17\beta$ 雌二醇不刺激细胞增殖,而木豆叶各提取物均可不同程度地促进成骨细胞增殖。其中,木豆素、32-1、35-1 和 35-2 均可促进成骨细胞的增殖,与对照组相比,增加 23% ~ 73% (表 1)。

1.2 胶原蛋白形成  $17\beta$ 雌二醇可明显促进脯氨酸掺入,与对照组相比增加 62%。木豆叶各提取物中,除 35-1 外,其他成分均能使  $^3\text{H}$ 脯氨酸掺入明显增加。其中,木豆素组的细胞掺入量增加 128%。表明这些提取物均能显著刺激细胞的胶原蛋白形成。

**Table 1** Effects of the extracts of *Cajanus cajan* L. on cell proliferation,  $^3\text{H}$ -proline incorporation, and alkaline phosphatase (ALP) activity in HOS TE85 cells

Group	Dose / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	MTT assay / A	$^3\text{H}$ -Proline incorporation / $\text{min}^{-1}$	ALP / $U \cdot \text{mg}^{-1}(\text{protein})$
Control		0.26 ± 0.02	1 399 ± 77	13.6 ± 2.0
E <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0.26 ± 0.01	2 180 ± 116*	16.6 ± 2.0
Cajanine	$1 \times 10^{-9}$	0.36 ± 0.01*	3 189 ± 376**	12.2 ± 1.5
	$1 \times 10^{-8}$	0.41 ± 0.04*	2 777 ± 257**	14.4 ± 1.8
	$1 \times 10^{-7}$	0.25 ± 0.04	2 903 ± 568**	16.2 ± 2.0
32-1	$1 \times 10^{-9}$	0.36 ± 0.01*	1 820 ± 84**	12.2 ± 1.9
	$1 \times 10^{-8}$	0.41 ± 0.04*	1 987 ± 207**	14.4 ± 1.85
	$1 \times 10^{-7}$	0.25 ± 0.04	2 185 ± 170**	16.2 ± 2.0
35-1	$1 \times 10^{-9}$	0.34 ± 0.01	1 498 ± 140	15.9 ± 0.29
	$1 \times 10^{-8}$	0.37 ± 0.02*	1 568 ± 16	22.6 ± 0.07*
	$1 \times 10^{-7}$	0.45 ± 0.01**	1 571 ± 76	25.8 ± 0.14**
35-2	$1 \times 10^{-9}$	0.36 ± 0.01*	1 319 ± 98	14.6 ± 0.36
	$1 \times 10^{-8}$	0.37 ± 0.01*	1 354 ± 143	10.6 ± 0.07
	$1 \times 10^{-7}$	0.42 ± 0.01**	1 730 ± 104*	14.2 ± 0.36
35-3	$1 \times 10^{-9}$	0.37 ± 0.01*	1 205 ± 100	19.1 ± 0.07*
	$1 \times 10^{-8}$	0.35 ± 0.01*	1 437 ± 88	24.8 ± 0.07**
	$1 \times 10^{-7}$	0.41 ± 0.01**	1 607 ± 79*	31.2 ± 0.56**

$n = 6, \bar{x} \pm s. * P < 0.05, ** P < 0.01$  vs control. E<sub>2</sub>:  $17\beta$ -Estradiol; 32-1: ECC of red flower from Guangxi province; 35-1: ECC of yellow flower from Guangxi province; 35-2: ECC of yellow flower from Hainan province; 35-3: ECC of white flower from Guangxi province

**1.3 碱性磷酸酶活性** 17β雌二醇作用后,与对照组相比,碱性磷酸酶活性无明显差异,而  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  35-3组碱性磷酸酶的活性增加 130%。提示 35-3可明显促进 HOS TE85细胞的成骨作用(表 1)。木豆素则无明显的作用。

综合以上 3个指标可以看出,木豆素及木豆叶提取物均对 2个以上指标有显著作用,即可明显促进 HOS TE85细胞的成骨作用。

**2 木豆叶提取物对骨矿化的影响**

茜素红能特异性地与细胞间质中的矿化组织相结合而呈现红色,因此能够通过比较染色区域的矿化面积观察各组提取物对成骨细胞间质矿化的影响。长时程作用(给药 18 d)后,与空白对照组比较,木豆叶提取物 32-1和 35-3的矿化程度明显增大,与 17β雌二醇组接近,木豆素的作用弱于这两种提取物。表明木豆叶提取物 32-1和 35-3能明显促进 HOS TE85成骨细胞间质矿化(图 1)。

**3 木豆叶提取物对破骨细胞形成的影响**

新鲜分离的骨髓细胞呈小圆形,数量很多,排列紧密均匀。加入分化刺激培养基的 d 6,破骨细胞形成最多,细胞形状为圆形、椭圆形、梭形及不规则形状,胞核达 3~6个,有的出现伪足(图 2)。

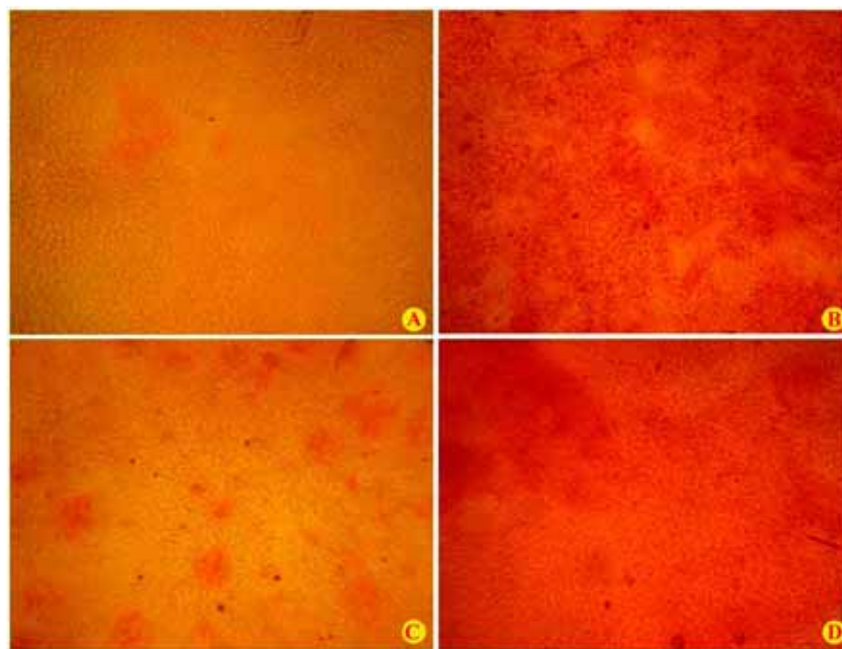
TRAP染色计数可见,与对照组相比,17β雌二

醇组破骨细胞数量明显减少(抑制率为 32.0%)。多个木豆叶提取物的高剂量组其破骨细胞数量均明显减少,抑制率为 20.4%~37.9%。其中,32-1作用最明显,3个剂量组的抑制率分别为 7.7%, 29.6%和 37.9%(表 2)。木豆素在  $1 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,抑制率为 22.8% ( $P < 0.05$ ),显示该单体化合物也具有良好的作用。

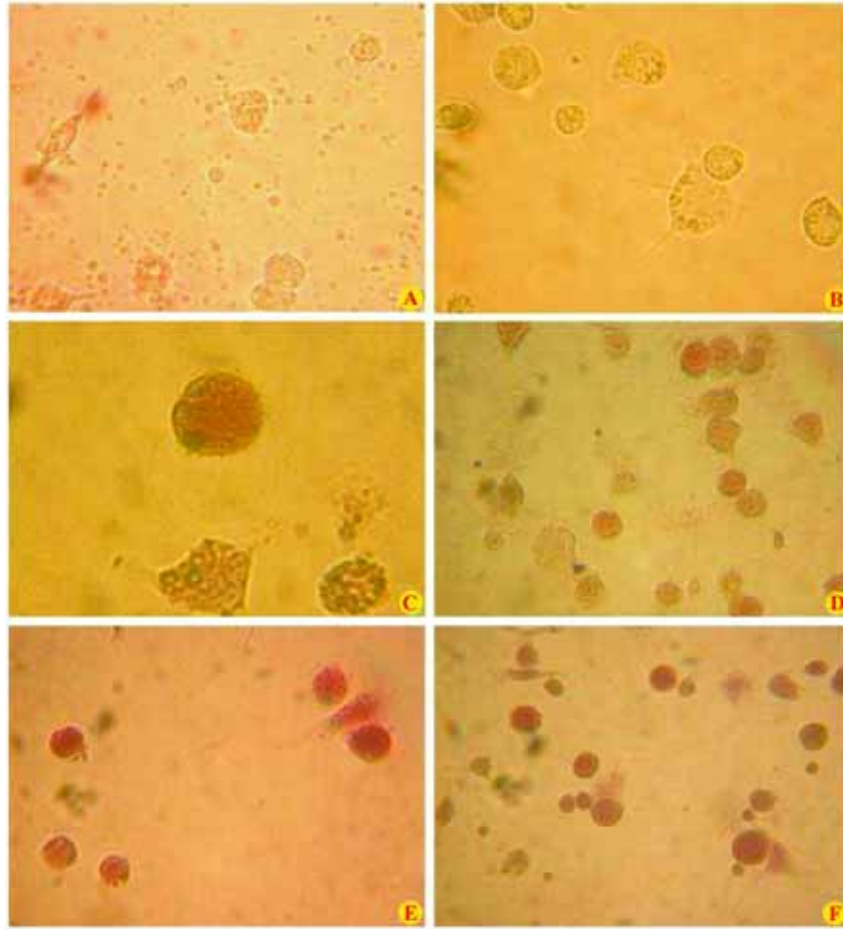
**Table 2** Effects of extracts of *Cajanus cajan* L. on the derivation of osteoclast cells (OLCs), which were stained for tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)

Group	Dose / $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	OLCs / well	Inhibition / %
Control		20.6 ± 1.26	0
E <sub>2</sub>	$1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	14.2 ± 0.97 <sup>**</sup>	32.0
Cajanine	$1 \times 10^{-9}$	18.5 ± 1.31	10.2
	$1 \times 10^{-8}$	16.2 ± 1.43 <sup>*</sup>	20.4
	$1 \times 10^{-7}$	15.9 ± 0.84 <sup>*</sup>	22.8
32-1	$1 \times 10^{-9}$	19.02 ± 1.37	7.7
	$1 \times 10^{-8}$	14.52 ± 0.87 <sup>**</sup>	29.6
	$1 \times 10^{-7}$	12.82 ± 0.68 <sup>**</sup>	37.9
35-1	$1 \times 10^{-8}$	18.4 ± 0.95 <sup>*</sup>	20.9
35-2	$1 \times 10^{-8}$	21.0 ± 1.20	9.5
35-3	$1 \times 10^{-8}$	19.0 ± 0.95	18.1

$n = 6, \bar{x} \pm s. ^* P < 0.05, ^{**} P < 0.01$  vs control. Cell number was determined by the average of 10 random eyeshot in each well under light microscope ( $\times 200$ )



**Figure 1** Long term effects of the extracts of *Cajanus cajan* L. on mineralized bone like tissue formation in HOS TE85 cells ( $\times 200$ ) dyed with alizarin red S. A: Control group; B: 32-1 ( $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); C: 35-2 ( $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); D: E<sub>2</sub> ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )



**Figure 2** Effect of extracts of *Cajanus cajan* L. on the derivation of OLCs. A: Three days after  $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  cajanine was given ( $\times 400$ ); B: Six days after  $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  cajanine was given, before TRAP staining ( $\times 400$ ); C: TRAP-positive cells ( $\times 800$ ); D: Control (TRAP staining,  $\times 200$ ); E:  $\text{E}_2$  ( $1 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , TRAP staining,  $\times 200$ ); F: 32-1 ( $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , TRAP staining,  $\times 200$ )

## 讨论

研究表明,药物刺激 48 h 后,木豆素、32-1 和 35-3 对于细胞增殖、碱性磷酸酶活性的促进作用与  $17\beta$  雌二醇类似。另外,从成骨细胞间质矿化实验可以看出,32-1 和 35-3 ( $1 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 作用 18 d 后,其矿化组织比对照组明显扩大。这可能是它们增强成骨细胞多种功能的综合体现,提示木豆叶提取物对成骨细胞骨形成有明显的促进作用<sup>[5]</sup>。

本研究采用大鼠骨髓细胞诱导培养方法,观察木豆叶提取物对骨髓干细胞向破骨细胞分化过程的作用。结果显示,给予木豆叶提取物能够直接减少破骨细胞的数量。当然,本研究对破骨细胞的研究还是初步的,至于木豆素及其他提取物对破骨细胞活性的影响还有待于以后的实验验证。

本实验室前期的动物实验结果显示,在去卵巢

骨丢失大鼠中,木豆叶提取物可以在不提高血清雌二醇水平、不引起子宫内膜增生的情况下,明显改善由于雌激素缺乏所导致的骨丢失。结合本研究的结果可以推测,木豆叶提取物对抗雌激素缺乏性骨丢失的作用部分是通过促进成骨细胞功能、抑制破骨细胞形成来实现的。本研究中,木豆素的类雌激素作用提示其具有可以开发成为抗骨质疏松新药的潜力。

## References

- [1] Chen DH, Li HY, Lin H. Study of chemical components in *Cajanus cajan* L. [J]. Chin Tradit Herb Drug (中草药), 1985, 16: 434 - 439.
- [2] Sun L, Yang J, Liu JS. Effects of lower dose of estrogen on trabecular structure of femur in ovariectomized-induced osteoporosis rats [J]. Acta Acad Med Sin (中国医学科

- 学院学报), 2001, 23: 224 - 227.
- [ 3 ] Domstauder E, Jisa E, Unterrieder I, et al. Estrogenic activity of two standardized red clover extracts (menoflavon) intended for large scale use in hormone replacement therapy [ J ]. Steroid Biochem Mol Biol, 2001, 78: 67 - 75.
- [ 4 ] Liu ZQ, Zhou H, Lin L, et al. Study of techniques on *Ca jinus ca jin* L. extraction in Sheng-mai-cheng-gu tablets [ J ]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1998, 20: 7 - 9.
- [ 5 ] Sun L, Weng LL, Zheng H, et al. Effects of XW630 on cell proliferation, iNOS activity, and cGMP content in human osteoblast-like cell line TE85 [ J ]. Acta Pharmacol Sin, 2000, 21: 261 - 264.
- [ 6 ] Sun L, Yue Y, Yang J, et al. Long-term effects of 17 $\beta$ -estradiol in promoting <sup>45</sup>Ca uptake and mineralized bone-like tissue formation in human osteoblast-like cell lines TE85 [ J ]. Acta Pharm Sin (药学报), 2003, 38: 181 - 184.
- [ 7 ] Xia WF, Chen LL, Zeng TS. Modified culture system for induction of osteoclasts from bone marrow stem cells in rat [ J ]. J Huazhong Univ Sci Technol (华中科技大学学报), 2002, 31: 534 - 536.

## • 会 讯 •

### 国际口服药物缓控释技术发展研讨会即将在沪召开

由中国工程院医药卫生学部、中国药学会、美国药学会共同主办的上海国际口服药物缓控释技术发展研讨会将于2007年5月11~13日在上海光大会展中心国际大酒店召开。大会将邀请来自美国、加拿大工业界及学术界的国际知名药物制剂专家做大会报告,报告内容理论和实例并重。会议将就药物口服缓控释制剂研发的最新技术和进展展开全面深入的讨论,涉及口服缓控释的制剂设计及与之相关的材料和工艺的选择、计算机辅助设计、药品质量监管和评估、骨架型口服缓控释制剂、包衣型缓控释制剂、微丸型缓控释制剂等相关内容。

有关参会事宜,请联系:

中商国际旅行社

联系人: 张建中、彭春利; 电话: 010 - 51656504, 66062448; 传真: 010 - 66095637;

E-mail: zhang@ttt.china.com, peng@ttt.china.com

中国药学会国际交流部

联系人: 葛军华、刘春光; 电话: 010 - 58699271; 传真: 010 - 58699272;

E-mail: gjh6565@163.com, sinopharmacy@163.net

通讯地址: 北京市朝阳区建外大街四号 建外 SOHO九号楼 18层; 邮政编码: 100022