

鹿茸醇提物对离体脂肪组织分解的影响

高畅¹, 张传奇¹, 郑毅男^{1*}, 王全凯² (1.吉林农业大学中药材学院, 长春 130118; 2.吉林省中韩动物科学研究院, 长春 130600)

摘要: **目的** 研究鹿茸醇提物对离体脂肪分解的影响及其促进脂肪分解的活性因子。**方法** 以梅花鹿鹿茸为原料, 分别取鹿茸蜡片、粉片、血片, 以 75%乙醇为溶剂, 提取 3 次后离心, 合并上清液, 减压回收乙醇, 冷冻干燥得到鹿茸各部位的醇提物, 考察鹿茸各部位醇提物对离体脂肪组织分解的作用和关系, 通过高效液相色谱法测定鹿茸各部位中次黄嘌呤的含量。**结果** 次黄嘌呤与脂肪分解呈线性关系, 推测其促进脂肪分解的活性因子可能为次黄嘌呤。次黄嘌呤、鹿茸蜡片、粉片和血片醇提物在盐酸肾上腺素存在条件下, 脂肪分解率分别为 472.00%, 183.20%, 145.56%和 115.84%; 无盐酸肾上腺素条件下, 次黄嘌呤、鹿茸蜡片和粉片醇提物促进脂肪分解率分别为 220.00%, 104.74%和 112.80%, 血片无促进脂肪分解的作用。蜡片、粉片、血片中次黄嘌呤的含量分别为 0.386, 0.268, 0.162 mg·g⁻¹。**结论** 蜡片促进离体脂肪分解作用最强, 粉片次之, 血片最弱。次黄嘌呤可能是促进脂肪分解的主要活性因子。

关键词: 蜡片醇提物; 粉片醇提物; 血片醇提物; 次黄嘌呤; 脂肪分解

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)07-0817-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.07.011

Effect of Antler Ethanol Extract on Promoting the Decomposition of Adipose Tissue *in Vitro*

GAO Chang¹, ZHANG Chuanqi¹, ZHENG Yinan^{1*}, WANG Quangkai² (1.College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2.China-Korea Research Institute of Animal Sciences, Jilin Province, Changchun 130600, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of various parts of ethanol extract of pilose antler(AEPA) on the decomposition of adipose tissue *in vitro* and the active factors in decomposing of fat. **METHODS** Cervus Nippon antler was taken as material. Antler wax slice, powder slice and blood slice was taken and dissolved into 75% ethanol, respectively, and extracted thrice. Then the antler ethanol extract of various parts were centrifuged and combined the supernatant, last freeze-drying and studied on each part of ethanol extract to promote the role of adipose tissue breakdown *in vitro*. The content of hypoxanthine in each sample of velvet antler was determined by HPLC. **RESULTS** Hypoxanthine and lipolysis were in linear relationship, speculated the factor that activity of promoting fat decomposition might be hypoxanthine. The hypoxanthine, the ethanol extract of wax slice, powder slice and blood slice could facilitate the decomposition of rat fat regardless, when adrenalin hydrochloride was added, the decomposition rates were 472.00%, 183.20%, 145.56% and 115.84%, respectively; when adrenalin hydrochloride was not added, the decomposition rates were 220.00%, 104.74%, 112.80%, respectively, the ethanol extract of blood slice had no such effect. The contents of hypoxanthine in wax slice, power slice and blood slice were 0.386, 0.268, 0.162 mg·g⁻¹, respectively. **CONCLUSION** The wax slice promote lipolysis *in vitro* is the strongest, powder slice is followed and blood slice is weakest, hypoxanthine may be active factor in promoting lipolysis.

KEY WORDS: ethanol extract of wax slice; ethanol extract of powder slice; ethanol extract of blood slice; hypoxanthine; lipolysis

基金项目: 国家国际科技合作专项项目(2011DFA32900)

作者简介: 高畅, 女, 硕士生 Tel: 13596439279 E-mail: gaochang9279@163.com *通信作者: 郑毅男, 男, 博士, 博导 Tel: 13086896620 E-mail: 1693008773@qq.com

鹿茸为鹿科动物梅花鹿(*Cervus nippon* Temminch)或马鹿(*Cervus elaphus* Linnaeus)的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角,为我国传统名贵中药,已有2000多年的应用历史。古典医籍《神农本草经》对其功能和主治就有详细记载:“味甘、性温,主漏下恶血、寒热惊痫、益气强志、生齿不老”^[1]。鹿茸的化学成分复杂,主要包括生物碱(次黄嘌呤、尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤),多糖^[2-4]、氨基酸类等多种类型化学成分,这些化学成分可能是鹿茸具有多种生物活性的物质基础^[5]。现代药理研究证明其具有抗化学药物损伤^[6]、提高性功能^[7]、防治骨质疏松^[8]、抗衰老和抗氧化^[9]等多种药理作用。按照文献^[10],可将鹿茸由主枝顶部、上部和中部分为蜡片、粉片和血片,鹿茸蜡片被认为是鹿茸片中质量最好的部分,价格昂贵^[11]。

脂肪分解是脂肪细胞内中性脂质水解释放出甘油和游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)的过程^[12]。据文献报道^[13]鹿茸具有促进脂肪分解的作用,但关于鹿茸不同部位促进脂肪分解强弱以及活性因子尚未见报道。本实验旨在揭示鹿茸3个部位的醇提物对离体脂肪分解的影响,并寻找其促进脂肪分解的活性因子。

1 材料与方法

1.1 材料

鹿茸(2支)由长春双阳鹿业有限公司惠赠,经吉林农业大学王全凯教授鉴定为梅花鹿 *Cervus nippon* Temminch 二杠茸。

Wistar 大鼠,♂,6周龄,来自吉林大学白求恩医学院动物实验中心,实验动物合格证书号:SCXK(吉)2008-0005。

1.2 试剂

次黄嘌呤(楷洋生物技术有限公司,批号:Z0024,纯度 $\geq 99.0\%$);盐酸肾上腺素注射液(Adrenaline Hydrochloride injection, Ad,天津金耀氨基酸有限公司,批号:1203111,规格:1 mL:1 mg);牛血清白蛋白(BSA,美国Sigma公司);氯仿、甲醇为分析纯,羧甲基纤维素钠,均购自北京化工厂;甲醇(美国Tedia公司,色谱纯);水(杭州娃哈哈有限公司);乙醇(北京化工厂,分析纯);胶原酶(IV型,Life Technologies公司)。

1.3 仪器

十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);FS-2型高速分散匀质机(江苏金坛金城国盛实验仪

器厂);GL-21LM离心机(湖南星科科学仪器有限公司);FW135粉碎机(带100目筛,天津泰斯特仪器有限公司);EYELA系列旋转蒸发仪(东京理化器械株式会社);KQ-250DB数控超声清洗器(昆山超声波仪器有限公司);Shimadzu LC-20A高效液相色谱仪(日本岛津公司);连续光谱扫描式酶标仪(美国分子仪器公司)。

1.4 HPLC测定鹿茸中次黄嘌呤含量

1.4.1 样品的提取 取一支梅花鹿二杠茸,将其截成蜡片、粉片、血片3部分,切片,之后分别粉碎过100目筛。精密称取各样品2.000 g分别置于100 mL三角瓶中,加入60 mL 75%乙醇,浸泡12 h。在室温下,用高速分散匀质机($14\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)提取10 min之后离心,收集上清液。用同样方法提取3次,合并上清液,减压回收乙醇,真空冷冻干燥,即得鹿茸各部位醇提物,称重。置于 $-20\ ^\circ\text{C}$ 保存,待用。

1.4.2 对照品溶液的制备 精密称取次黄嘌呤10.0 mg,加50%乙醇50 mL于100 mL量瓶中,超声使其溶解,待完全溶解后冷却至室温用50%乙醇定容。得到浓度为 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液,备用。

1.4.3 供试品溶液制备 分别精密称取“1.4.1”项下方法制备的乙醇提取物50.0 mg,用50%乙醇定容于50 mL量瓶中,0.45 μm 滤膜过滤,即得。

1.4.4 样品中次黄嘌呤含量的测定 取鹿茸各部位醇提物,按“1.4.3”项下方法制备供试品溶液,参照文献^[14]色谱条件,对鹿茸各部分醇提物中次黄嘌呤的含量进行测定。色谱柱:大连依利特Hypersil ODS2(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm);柱温: $30\ ^\circ\text{C}$;检测波长:254 nm;流动相:甲醇-水(10:90);流速: $0.6\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;进样量:20 μL 。

1.4.5 线性关系考察 将“1.4.2”项下 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液分别稀释成浓度为50, 25, 10, 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的次黄嘌呤对照品溶液,用0.45 μm 滤膜过滤,按“1.4.4”项下色谱条件进行HPLC分析。以次黄嘌呤的峰面积 y 为纵坐标,对照品浓度 x 为横坐标,作线性回归方程曲线,得到次黄嘌呤的标准曲线为 $y=27\ 421x+1\ 643\ 762$, $r=0.999\ 8$,说明次黄嘌呤在5~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内峰面积都有良好的线性关系。仪器精密度、稳定性、重复性、加样回收率考察结果RSD均 $<5\%$,均符合试验的相关要求。

1.5 鹿茸3部位醇提物对离体脂肪组织分解的作用

1.5.1 溶液的配制 Hanks 缓冲液配制 分别取溶液 I 10 mL、溶液 II 0.5 mL、溶液 III 0.5 mL、双蒸水 90 mL 混匀即为 Hanks 液, 4 °C 放置备用。溶液 I: 取 NaCl 8 g、KCl 0.4 g、MgSO₄·7H₂O 0.2 g、Na₂HPO₄·12H₂O 0.12 g、KH₂PO₄ 0.06 g、HEPES 5.96 g 加入 100 mL 双蒸水中溶解; 溶液 II: 取 CaCl₂ 2.8 g 加入 100 mL 双蒸水中溶解; 溶液 III: 取 NaHCO₃ 7 g 加入 100 mL 双蒸水中溶解。

BSA 溶液的配制: 精密称取 2.000 g BSA 加入 50 mL Hanks 缓冲液, 混匀即可。

胶原酶液配制: 精密称取胶原酶(IV)25.0 mg、葡萄糖 25.0 mg、BSA 2.000 g, 加入 50 mL Hanks 缓冲液, 调 pH 7.4。

1.5.2 实验步骤 将大鼠用乙醚麻醉致死, 迅速摘取大鼠附睾脂肪, 除去血管。Hanks 液轻轻润洗, 置滤纸上吸干, 称重; 将漂洗, 修剪干净的脂肪组织用剪刀剪成 1~2 mm³ 左右小块, 将其放入离心管中并加入 2.5 倍体积的胶原酶(IV)溶液, 密封; 将上述密封离心管放入 37 °C 水浴消化 1 h; 收集消化液, 用尼龙网过滤, 以 500 r·min⁻¹ 的转速离心, 去除下层液体。用 Hanks 液反复漂洗 3 次, 即得脂肪组织。游离脂肪酸按文献^[15]方法测定, 用 Hanks 缓冲液分别将各样品配成 0.1 mg·mL⁻¹ 的溶液, Ad 配成 0.01 mg·mL⁻¹ 的溶液, 供测定用。将次黄嘌呤分别配制成 0.01, 0.05, 0.1 和 0.5 mg·mL⁻¹ 用来进行线性关系的测定。加样时, 用移液枪按表 1 所示体积, 准确吸取 A, B, C, D 4 组反应液于 2 mL 离心管内, 每组设 3 组平行管, 样品为鹿茸 3 部分醇提物溶液, Ad 作为对照, 待各物质加入后轻轻震荡使溶液混合均匀, 37 °C 培养 30 min, 加入萃取液(氯仿: 正庚烷=1:1, 含有 2% 的甲醇)后漩涡振荡 10 min, 离心 10 min (42 000 r·min⁻¹), 移除上清液, 然后加铜试剂 [Cu(NO₃)₂: 2.42 g, NaOH: 0.48 g, 三乙醇胺: 2.94 mL, 加双蒸水 200 mL, 再加入 66 g NaCl, 用磁力搅拌器振摇混匀而成]振荡 10 min, 离心 10 min (42 000 r·min⁻¹)。取上清液 0.5 mL 加入含 0.05% 的 2(3)-叔丁基-4-羟基-茴香醚和含有 0.1% bathocuproine 氯仿溶液, 于 480 nm 处测定吸光度值。

1.6 统计学处理

使用 SPSS 17.0 软件中的单因素方差分析数据, 数值均用 $\bar{x} \pm s$ 来表示。P<0.05 表示有显著性

差异, P<0.01 表示有极显著性差异。

表 1 反应液的组成

Tab. 1 Composition of tyrosinase reaction solution

反应液的组成	反应液体积/ μ L			
	A	B	C	D
BSA	200	200	200	200
脂肪组织	50	50	50	50
Hanks	50	25	0	25
Ad	0	25	25	0
样品	0	0	25	25

2 结果与分析

2.1 鹿茸各部位醇提物中次黄嘌呤的含量

鹿茸蜡片、粉片、血片 3 部分的乙醇提取物提取率分别为 3.0%, 3.5%, 2.1%。鹿茸样品中次黄嘌呤含量不同, 其中鹿茸顶部(蜡片)次黄嘌呤含量约为 0.386 mg·g⁻¹, 高于粉片 0.268 mg·g⁻¹, 和血片 0.162 mg·g⁻¹。对照品及样品色谱图见图 1。样品与对照品中的次黄嘌呤保留时间基本一致, 理论板数均>3 000, 次黄嘌呤的保留时间为 5.945 min。

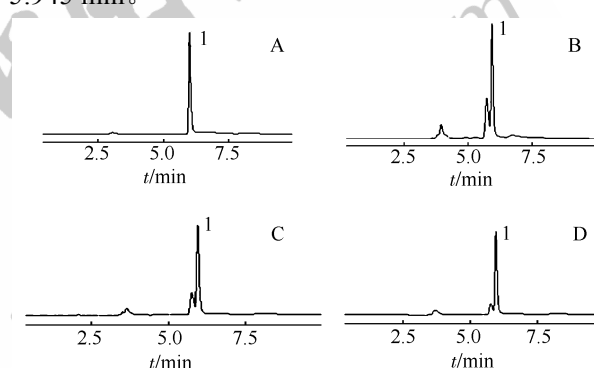


图 1 标准品及样品的高效液相色谱图

A-对照品; B-蜡片; C-粉片; D-血片; 1-次黄嘌呤

Fig. 1 HPLC chromatograms of standard and samples

A-control; B-wax slice; C-powder slice; D-blood slice; 1-hypoxanthine

2.2 鹿茸各部位醇提物对离体脂肪组织分解的影响

样品浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 时, 次黄嘌呤、蜡片、粉片、血片与对照组比较均能促进大鼠的离体脂肪组织分解, 增加游离脂肪酸(FFA)的释放率, 结果见表 2。

将样品和 Ad 同时加入时, FFA 的释放率高于不加入 Ad 的 FFA 释放率。其中, 在加入 Ad 时, 蜡片有较好的促进脂肪分解的作用, 其分解率为 183.20%(P<0.01), 粉片和血片也有一定促进脂肪分解的作用; 在不加入 Ad 时, 血片对脂肪的分解率为 69.57%, 无促进脂肪分解的作用。

表 2 鹿茸醇提取物对脂肪组织分解的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of antler alcohol extract on lipolysis($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	样品浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	Ad 浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	FFA 释放率/%
空白组	0	0	0.00
Ad 组	0	0.01	100.00
次黄嘌呤+Ad	0.1	0.01	$472.00 \pm 69.33^{2)}$
蜡片+Ad	0.1	0.01	$183.20 \pm 18.52^{2)}$
粉片+Ad	0.1	0.01	145.56 ± 22.30
血片+Ad	0.1	0.01	115.84 ± 15.20
次黄嘌呤	0.1	0	$220.00 \pm 39.87^{1)}$
蜡片	0.1	0	104.74 ± 7.89
粉片	0.1	0	112.80 ± 22.80
血片	0.1	0	69.57 ± 8.34

注: 与 Ad 组相比, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$

Note: Compared with Ad group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$

次黄嘌呤在浓度为 $0.01 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 随着浓度的增加对脂肪组织的分解作用也逐渐增强, 呈现一定的线性关系, 见图 2。

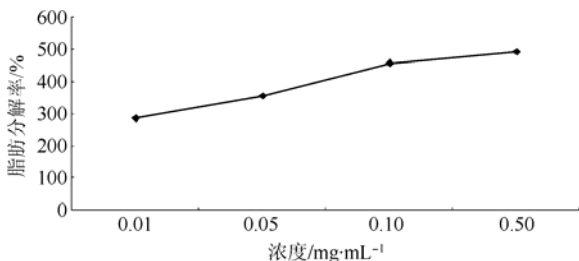


图 2 不同浓度次黄嘌呤对脂肪分解作用的比较

Fig. 2 Comparison of different concentrations of hypoxanthine on lipolysis

3 讨论

肥胖是一种体内脂肪过量的慢性病, 据报道除了心血管疾病(如高血压、中风、冠状动脉心脏病)与肥胖有关外, 某些肿瘤(如乳腺癌、子宫内膜癌、结肠癌)和肾脏疾病也被证明与肥胖有关^[16-17]。目前减肥可通过饮食疗法、药物疗法^[18]、手术疗法和运动疗法^[19]等进行, 但效果不尽人意, 因此, 寻找天然有效的抗肥胖药物成为研究热点。脂肪细胞中贮存的脂肪, 在激素敏感性甘油三酯脂肪酶作用下, 可以逐步水解为 FFA 及甘油, 然后释放入血液以供其他组织氧化利用, 此过程为脂肪的动员。脂肪动员产生 FFA 是许多减肥药物作用的首要环节^[20-21]。因此本研究依照此原理, 通过促进脂肪细胞分解释放游离脂肪酸来达到减肥的目的。本研究结果表明, 鹿茸各部位醇提取物

均能促进盐酸肾上腺素诱导大鼠离体脂肪分解, 蜡片促进脂肪组织分解的作用最强, 粉片作用次之, 血片作用最弱。由此可知鹿茸各部分的醇提取物可在盐酸肾上腺素存在的条件下促进大鼠离体脂肪的分解, 增加 FFA 释放率, 起到降低脂肪的作用, 与文献[22-23]报道“盐酸肾上腺素能诱导脂肪细胞分解, 释放更多的 FFA”的结果一致。

嘌呤类物质是新陈代谢过程中的一种代谢产物, 在能量供应和代谢调节等方面有着非常重要的作用, 次黄嘌呤是其中成分之一。本实验就其对脂肪分解作用的影响进行了研究, 结果表明, 在盐酸肾上腺素存在下, 次黄嘌呤效果最佳, 为 472.00%; 对鹿茸 3 部位的次黄嘌呤进行含量测定, 蜡片中次黄嘌呤的含量在鹿茸 3 部分中最高, 粉片中含量次之, 血片中含量最少。由实验结果可知, 蜡片中次黄嘌呤的含量最高且在盐酸肾上腺素存在的条件下, 蜡片促进脂肪分解的分解率同样最高; 粉片中次黄嘌呤的含量次之, 且其促进脂肪分解的分解率同样次之; 血片中次黄嘌呤的含量最低, 且其促进脂肪分解的分解率最小。因此推测次黄嘌呤可能是鹿茸中具有促进脂肪分解作用的活性因子之一。

由此可见鹿茸醇提取物可促进脂肪分解, 具有抗肥胖的作用, 作用机制可能是通过促进脂肪分解作用来实现的, 其作用可能与鹿茸中含有的次黄嘌呤有关, 对于鹿茸醇提取物中的其他物质是否具有脂肪分解的作用尚未有相关文献报道, 有待于进一步研究。由于鹿茸各部位醇提取物促进脂肪分解活性的研究只限于体外实验, 其在机体内的作用尚不明确, 有待于动物体内实验进一步加以揭示。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 226.
- [2] ZHAO Y H, JIN X M, HAN R. Purification and antioxidant activity of polysaccharide from velvet antler [J]. Sci Technol Food Indust(食品工业科技), 2012, 33(12): 155-158.
- [3] SUNWOO H H, SIM L Y M, NAKANO R J, et al. Glycosaminoglycans from growing antlers of wapiti(*Cervus elaphus*) [J]. Can J Anim Sci, 1997, 77(4): 715-721.
- [4] SUNWOO H H, NAKANO T, SIM J S. Isolation and characterization of proteoglycans from growing antlers of wapiti(*Cervus elaphus*) [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 1998, 121(4): 437-442.
- [5] JENO B, KIM S, LEE S, et al. Effect of antler growth period on the chemical composition of velvet antler in sika deer (*Cervus nippon*) [J]. Mammalian Biology, 2009, 74(5):

- 374-380.
- [6] WENG L, ZHOU Q L, CHI D Q, et al. A new polypeptide promoting epidermal cells and chondrocytes proliferation from *Cervus elaphuslinnaeus* [J]. Acta Pharm Sin(药学报), 2001(12): 913-916.
 - [7] LI T M, GAO J, BEI Y. Study on infertility of deer antler and deficiency in rats [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2011, 4(28): 406-408.
 - [8] KIM Y K, KIM K S, CHUNG K H, et al. Inhibitory effects of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of *Cervus Korean* TEMMINCK var. manchuricus Swinhoe, on type II collagen induced arthritis in rats [J]. Int Immunopharmacol, 2003, 3(7): 1001-1010.
 - [9] ZHOU R, LI S F. *In vitro* antioxidant analysis and characterisation of antler velvet extract [J]. Food Chem, 2009, 114(4): 1321-1327.
 - [10] WANG S L, SUN J H, LI X H, et al. Difference in contents of polysaccharide and some inorganic elements in different parts of northeast sika deer [J]. J Northeast Forest Univ(东北林业大学学报), 2008, 36(5): 65-66.
 - [11] CHEN D X, GUO Y Q, LI X J, et al. Identification on wax slice of velvet antler and counterfeit [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2009, 32(1): 50-52.
 - [12] XU C, XU G H. Adipose triglyceride lipase regulates adipocyte lipolysis, progress in physiological sciences [J]. Prog Physiol Sci(生理科学进展), 2008, 39(1): 10-14.
 - [13] MICHINORI K B, TOSHIKAKIS, HIDEAKI M. Pharmacological studies on *Cervi parvum* Cornu II. Qualitative evaluation of *Cervi parvum* Cornu from traditional Chinese herbal literature and its pharmacological efficacy [J]. J Tradit Med, 1997, 14: 227-236.
 - [14] HU Z, GAO M Y. Determination of hypoxanthine in pheretima by HPLC [J]. Chin Pharm Aff(中国药事), 2006, 20(7): 408-409.
 - [15] OKUDA T, TSUJITA T, KINOTANI M. Studies on a protein kinase inhibitor-insensitive, phospholipase C-sensitive pathway of lipolysis in rat adipocytes [J]. Pharmacol Res Commun, 1986, 18(10): 877-893.
 - [16] CALZA S, DECARLI A, FERRARONI M. Obesity and prevalence of chronic diseases in the 1999-2000 Italian National Health Survey [J]. BMC Public Health. 2008(8): 140. Doi: 10.1186/1471-2458-8-140.
 - [17] KLEIN S, ALLISON D B, HEYMSFIELD S B, et al. Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from Shaping America's Health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, The Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association [J]. Am J Clin Nutr, 2007, 85(5): 1197-1202.
 - [18] SUN T T, YUAN Y, YU H Y, et al. Effect and mechanism of active component of Isatidis Radix in obesity prevention [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(1): 10-15.
 - [19] LIANG C J. Summary on losing weight method and its effect [J]. China Sport Sci Technol(中国体育科技), 2008, 44(2): 91-94.
 - [20] MA L G, ZHAO J J, GAO Y M. The review of ways to lose weight and its principles discussed in current [J]. Sports World Scholar(体育世界), 2009, 38(8): 99-100.
 - [21] DU J H, SI J C, LI W, et al. Effect of *Cucuta chinensis* on the release of free fatty acid from isolated lipid tissue in rats [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2002, 18(6): 20-22.
 - [22] ZHANG L, LIU Y J, CHEN H M, et al. Effect of betaine on free fatty acids release and anti-oxidant capacity from adipose tissue [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2009, 20(12): 2915-2916.
 - [23] TOMITA M, KURABAYASHI T, MATSUSHITA H, et al. Effects of the β_3 adrenergic receptor agonist on developmental obesity in oophorectomized rats [J]. Horm Metab Res, 2002, 34(7): 389-393.