用于减少局部脂肪与减少体重的组合物及其医药品与应用

技术领域

本发明关于一种组合物，尤指一种用于减少局部脂肪与减少体重的组合物；本发明关于一种所述组合物的应用，尤指用于减少局部脂肪与减少体重的应用；本发明更关于一种包含有所述组合物的医药品，尤指可用于减少局部脂肪与减少体重的医药品；本发明更关于一种应用，尤指通过所述医药品用于减少局部脂肪与减少体重的应用。

背景技术

近年来由于越来越多人对美感观念的改变，以及自我健康、身型及体重标准的提升，减重、塑身不再只是肥胖者的关注议题，因此造就目前减重塑身与体重管理市场的蓬勃发展，带动的相关发展包含减重食品、塑身保养品、减肥临床管理、医疗仪器、健身运动器材等。根据 Marketsand Markets 的统计报告“Global Weight Loss and Gain Market 2009-2014”，2014 年全球体重管理(Weight Management)市场可达美金 5863 亿，到 2015 年时将成长到 6509 亿美元；其中又以美国为主要市场，其规模预计可达 3100 亿美元，其次是欧洲，预计市场规模为 2380 亿美元。同时由于消费者对于健康意识的重视，特别是肥胖对引发各种慢性疾病的后续影响，更是各国越来越重视的议题，除了针对肥胖族群，越来越多人对于健康族群的体重控制与美体雕塑积极发展，引领各界对于美体雕塑的重视以及产业发展热潮，以上因素都造成整体市场能稳定持续成长的主因。依 2012 年美国整形外科医师学会 (American Society of Plastic Surgeons)统计显示美体雕塑(Body Contouring)的需求在整形外科领域中持续排名第一，并预估每年病患需求将以 12.3%的成长率持续增加到 2017 年。根据 Research and Markets 出版的“Global Pipeline Analysis, Competitive Landscape and Market Forecasts”显示 2010 年全球美体雕塑仪器设备市场达 9 亿美元，预估到 2017 年时可增加到 20 亿美元。正因市场需求量不仅非常大且每年仍持续增长，市面上出现相关的抽脂、溶脂方式更是五花八门、琳琅满目，相对的许多风险高或不受保障的医疗行为也相继出现。

熟知的抽脂手术早从 1970 年代就开始发展，当时所采用的抽脂方式皆是在无任何输液情况的下直接以负压进行干式抽脂，该方式对皮下神经与血管造成极大的伤害，且出血量大手术风险高。后续又发展出膨胀式抽脂与超湿式抽脂等方式，膨胀式抽脂是在输入液中添加麻醉剂与血管收缩剂，此方法以局部麻醉取代了原本静脉麻醉的抽脂过程，然而大量输液的结果使麻醉剂在体内要至少 12 小时才能被代谢，也增加了局部麻醉剂对人体的

可能危害。近期较被医师使用于大量抽脂的方法是超湿式抽脂，其特点是输入液与要抽出的脂肪量相同及可，可有效减少输液过载的可能性。然而在临床上抽脂手术有其实施部位的限制，主要针对腹部、大腿等脂肪量较多的区域为主，同时抽脂手术的有效性与安全性完全取决于医师本身的技术与熟练度，抽脂过程对身体造成的伤害较大、耗费时间长，且仍会造成病人术后严重的瘀青、肿胀、疼痛与感觉麻痹、疤痕组织、皮肤表面不平整等副作用，恢复期更长达 4 至 6 周，因为手术时间较长，出血量较多也直接增加了手术的风险；因此各界也开始设计各种辅助抽脂的仪器，于是陆续出现超声波、雷射等辅助抽脂的方式，但关键仍在实施抽脂的医师技术。另外，相关辅助仪器也常发生组织灼伤或是成果不佳的案例。有鉴于各式抽脂方式面临的困境，各界不断在技术与设备上进行改善，自 1980 年代起欧美医学美容产业便着重于医学美容设备的开发。以美体雕塑而言各大厂商皆从传统抽脂演变为微创甚至非侵入式溶脂仪器为产品诉求，无论是消脂产品还是仪器，不难发现都以改善传统方式出血多、患者恢复期长、留有术后伤疤等缺点为主要诉求，尽量以低侵入式、高安全性、使用方便、减小伤口、缩短患者恢复期作为方向；更须同时兼顾功效性与价格竞争性，才有足够的优势进入目前的医学美容市场。

此外也有以中胚层疗法溶脂的方式，主要是利用磷脂胆碱 (Phosphatidylcholine)或是脱氧胆酸钠(sodium deoxycholate)作为有效成分注射到肥胖部位进行溶脂，此类成分与细胞膜成分相似，能破坏脂肪细胞的细胞膜促使细胞崩解坏死(necrosis)。此类注射药物进到中胚层将造成脂肪细胞大量坏死后造成脂肪的溶出，但因为药物不具特异性，并非只针对脂肪细胞作用，因此外围许多正常的细胞也会受到影响而坏死(necrosis)，加上细胞坏死(necrosis)会引起外围组织一连串的发炎反应，进而造成实施部位的发炎反应与剧烈的疼痛肿胀，甚至造成局部组织坏死或感染等风险。利用注射剂型溶脂方式虽然可以克服使用大型仪器时遇到治疗部位的限制，但为了达到溶脂效果常常一次治疗需要打进数十针，疗程大约每两周就要注射一次，总共需要治疗 1-6 次不等，虽然注射成分里都会添加麻醉剂，但注射部位于麻醉退除后，仍会产生相当严重的发炎与疼痛感，同时治疗次数与扎针规模也有待改善。加上术后严重疼痛，神经麻痹感，局部组织坏死或感染等风险，单次注射的剂量非常有限，应用区域也仅在脸部， 因此，大部份医师已不再注射上述成分来减少病人局部脂肪，虽然美国已通过了第一个脱氧胆酸钠(sodium deoxycholate)的溶脂针产品，但产品仍有上述一定程度的副作用，且仅能用于双下巴，其应用范围仍非常有限。

整体而言，目前市场上仍极欠缺一种能有效减少局部脂肪、且副作用更低、安全性更佳的产品。因此，在医师与消费者的高度需求下，开发一种兼具安全性、副作用低且排除

上述溶脂方法限制与缺点的局部注射针剂将是未来的市场趋势。

发明内容

本发明提供一种用于减少局部脂肪与减少体重的组合物，其包括重量比为 1：30 至 10：1 的白藜芦醇与姜黄萃取物。优选地，白藜芦醇与姜黄萃取物重量比例为 1:19。

本发明所述的组合物可抑制脂肪细胞生长，并造成脂肪细胞计划性的凋亡(apoptosis)，达到降低局部脂肪堆积与减少脂肪细胞的效果，亦能减少体重，但不会引起周边细胞与组织的发炎反应或组织坏死，也无外围组织的炎症反应或严重疼痛，因此可避免上述利用抽脂手术或低侵入的溶脂仪器所造成的组织受损与发炎疼痛问题，也不会有溶脂注射剂成分磷脂胆碱(phosphatidylcholine)或是脱氧胆酸钠(sodium deoxycholate)造成细胞崩解坏死(necrosis)所引发的外围组织发炎与坏死感染等问题。本发明亦可以减少体重。

依据本发明，“姜黄萃取物”于此处是指包含姜黄素的萃取物，其中姜黄素占姜黄萃取物的浓度为 80%至 100%。

本发明更提供一种制造包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物的方法，其包括将包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物与下列至少一种医药上可接受的盐类组合物、医药上可接受的安定剂或抑菌剂或医药上可接受的乳化剂、表面活性剂等赋形剂、麻醉剂等相混合后制成注射剂。

较佳的，所述的安定剂包括但不限于木糖醇、山梨糖醇、聚葡萄糖、异麦芽糖醇及右旋葡萄糖。

较佳的，所述的“医药上可接受的赋形剂”包括但不限于润滑剂(lubricant)、助悬剂(suspending agent)、助溶剂(solubilizer)助流剂(glidant)、乳化剂(emulsifier)或表面活性剂(surfactant)。赋形剂的使用量取决于使用多少活性成分，且一种赋形剂可以执行一种以上的功能。

较佳的，所述的润滑剂包括但不限于琼脂、硬脂酸钙(calcium stearate)、油酸乙酯(ethyl oleate)、月桂酸乙酯(ethyl laurate)、甘油(glycerin)、硬脂酸棕榈酸甘油酯(glyceryl palmitostearate)、氢化植物油(hydrogenated vegetable oil)、氧化镁(magnesium oxide)、硬脂酸镁(magnesium stearate)、甘露醇(mannitol)、泊洛沙姆(poloxamer)、乙二醇(ethylene glycol)、苯甲酸钠(sodium benzoate)、月桂基硫酸钠(sodium lauryl sulfate)、硬脂酸钠(sodium stearoyl acid)、山梨糖醇、硬脂酸(stearic acid)、滑石(talc)和硬脂酸锌(zinc stearate)。

较佳的，所述的助悬剂包含但不限于甘露醇、羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose，CMC)及羧甲基纤维素钠(CMC-Na)。

较佳的，所述的助溶剂包含但不限于羟丙基β环糊精(hydroxypropyl-beta-cyclodextrin)、吐温 80 (tween 80)、蓖麻油(castor oil)。

较佳的，所述的助流剂包括但不限于硬脂酸镁(magnesium stearate)、二氧化硅(silicon dioxide)、三硅酸镁(magnesium trisilicate)、粉状纤维素(powdered cellulose)、淀粉、滑石、磷酸三钙(tribasic calcium phosphate)、硅酸钙(calcium silicate)、硅酸镁(magnesium silicate)、胶体二氧化硅及硅凝胶(silicon hydrogel)等材料。

较佳的，所述的乳化剂可为天然存在的磷脂，包括但不限于大豆磷脂、卵磷脂、单甘油脂、双甘油脂、硬酯酸钠、脱水山梨醇脂肪酸酯(sorbitan esters of ftty acids）或聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。

较佳的，所述的表面活性剂包含但不限于聚氧乙烯-脱水山梨糖醇脂肪酸酯(Tween)、聚乙烯-聚丙二醇、聚氧乙烯-硬脂酸酯、聚氧乙烯烷基醚(例如聚氧乙烯单月桂基醚)、烷基苯基聚氧乙烯醚(Triton-X)、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(Poloxamer、Pluronic)及十二烷基硫酸钠(SDS)。

本发明进一步提供所述组合物在制备减少局部脂肪与减少体重的医药品中的应用。

本发明更提供一种用于减少局部脂肪与减少体重的医药品，其中，该医药品包含有效剂量的所述用于减少局部脂肪与减少体重的组合物以及其医药学上可接受的载剂。

本发明所述的医药品可以多种形式存在。这些形式包括但不限于液体、半固体及固体药剂形式。诸如液体溶液(例如可注射及可输注溶液)、分散液、悬浮液、粉剂、冻干粉或脂质体，或通过经皮吸收的软膏及贴布等方式。较佳的形式取决于预期的给药模式及治疗应用；较佳的，本发明的医药品呈可输注溶液形式，且较佳的给药模式为非经肠模式，诸如注射溶液。在本发明的实施例中，包含有效减少局部脂肪剂量的包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物的医药品是通过皮下注射施予；更佳的，包含有效减少局部脂肪剂量的包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物的医药品是以皮下注射方式至皮下脂肪层。在具体实施例中，软膏的调配如本领域技术人员所知晓的那样，包括但不限于活性剂、蜡、水、凡士林、防腐剂、高级醇类、多羟基醇类、乳化剂、溶剂、增稠剂、增塑剂、芳香剂、缓冲剂、抗生素、安定剂或其混合。

本发明所述的医药组合物的含量可依照不同参数做适当的调整。上述参数包括但不限于受体的种类、受体的体重、受体局部脂肪的厚度与面积等。本发明所述的医药组合物可一次给予，24 小时内多次给予或连续给予，亦可每周或每月多次或连续给予。施予方式是注射、皮下植入、埋植式输注、软膏或贴布，较佳的，所述的注射的方式包括但不限于皮

下注射、皮下植入、静脉注射点滴、静脉注射泵、埋植式注射泵。

本发明更提供一种以所述医药品用于减少局部脂肪与减少体重的应用，其是将有效剂量的包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物的医药品施予受体局部部位，以使受体局部部位达到抑制脂肪细胞生长、促进脂肪细胞凋亡、减少沉积脂肪以及减少体重的效果。

较佳的，所述的受体为人类或动物。

较佳的，所述的有效剂量是指每次施予受体的将剂量为 0.4 mg/Kg 至 100 mg/Kg 的医药品；更佳的，所述的有效剂量是指每次施予受体的剂量为 1 mg/Kg 至 60 mg/Kg 的医药品。

较佳的，所述的减少体重是指降低受体 5%至 30%的体重增重。

依据本发明，“减少局部脂肪”如此处是指经施予本发明所述的有效剂量的包含有白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物后，可抑制脂肪细胞生长、且脂肪细胞产生程序性或计划性死亡的现象，并减少局部沉积的脂肪，其如本发明的示例，减少局部脂肪可通过局部施予特定范围量的白藜芦醇与姜黄萃取物的组合物，并于特定时间范围内测量脂肪细胞生长抑制率、细胞凋亡程度、大鼠皮下脂肪量及内脏脂肪量的变化而得。较佳的，所述的局部脂肪包括但不限于皮下脂肪、内脏脂肪、局部沉积脂肪或脂肪细胞。

较佳的，所述的局部脂肪部位包括但不限脸部、下巴、手臂、腰部、腹部或大腿等部位。

本发明所述的组合物或医药品不仅药效显著优于单独施予白藜芦醇或姜黄萃取物，且过去从未有前例单独或合并使用白藜芦醇或姜黄萃取物，通过局部注射给药方式来减少其局部脂肪；再者，本发明主要是通过局部注射施予药物来抑制脂肪细胞生长与促进脂肪细胞进行细胞凋亡来减少其局部脂肪，而并不影响其他外围细胞或组织，在动物试验中也未看到明显副作用，因此本发明所述的组合物或医药品安全性更高、副作用更低，其技术层次完全有别于目前其他技术或产品，可避免现有的抽脂手术、超声波聚焦溶脂等溶脂仪器、或磷脂胆碱、脱氧胆酸钠等溶脂针成分造成局部细胞坏死、剧烈疼痛，引起周边组织发炎反应与坏死感染等问题，更可大幅减轻病人术后的瘀青、肿胀疼痛与感觉麻痹，以及缩短术后恢复期。

附图说明

图 1 是本发明以细胞存活率试验(MTT assay)检测各组对于前驱脂肪细胞生长抑制效果的柱状图。

图 2 是本发明以细胞存活率试验(MTT assay)检测各组对于分化中脂肪细胞生长抑制效果的柱状图。

图 3 是本发明以细胞存活率试验(MTT assay)检测 UL003C 与脱氧胆酸钠对于成熟脂肪细胞生长抑制效果的柱状图。

图 4 是本发明以 Annexin V/PI 染色后以流式细胞仪检测 UL003A、UL003C、UL003R 促进脂肪细胞凋亡的柱状图。

图 5 是本发明以 caspase 3 染色后以流式细胞仪检测 UL003A、UL003C、UL003R 促进脂肪细胞凋亡的柱状图。

图 6 是本发明以 caspase 3 染色后以流式细胞仪检测姜黄萃取物、白藜芦醇、UL003C 促进脂肪细胞凋亡的柱状图。

图 7 是本发明以 Annexin V/PI 染色后以流式细胞仪检测 UL003C 与脱氧胆酸钠促使脂肪细胞凋亡的柱状图。

图 8 是本发明以高脂饲料喂食大鼠诱导局部脂肪增加并局部注射给药后，测量各组的体重变化折线图。

图 9 是本发明以高脂饲料喂食大鼠诱导局部脂肪增加并局部注射给药后，各组皮下脂肪减少比率。

图 10A 是本发明以高脂饲料喂食大鼠诱导局部脂肪增加并局部注射给药后，测量各组的血清生化值（肌酐(creatinine)、麸胺酸草乙酸转胺酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)）柱状图。

图 10B 是本发明以高脂饲料喂食大鼠诱导局部脂肪增加并局部注射给药后，测量各组的血清生化值（尿素(urea)、丙胺酸胺基转化酶(glutamic pyruvic transaminase, GTP)）柱状图。

图 11 是本发明以高脂饲料喂食大鼠诱导局部脂肪增加并局部注射给药后，以西方墨点法测量各组的细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 表达量以及 Bax/Bcl-2 比值柱状图。

具体实施方式

以下配合附图及本发明的较佳实施例，进一步阐述本发明为达成预定发明目的所采取的技术手段。

实施例 1. 前驱脂肪细胞生长抑制实验

本实施例将前驱脂肪细胞 3T3-L1 以每孔 1×10^4 细胞(cells/well)培养于 96 孔盘，除

DMSO 溶剂对照组（控制组）外，于不同孔中分别加入 50 ppm 白藜芦醇、50 ppm 姜黄萃取物、80 ppm 绿茶萃取物以及 100 ppm 本发明的组合物：UL003A、UL003C、UL003R，共 7 组且每组实验进行 3 重复。经加药处理并培养 48 小时后，拍照记录细胞生长状况，并以细胞存活率试验(MTT assay)分析各组别对于前驱脂肪细胞 3T3-L1 的生长抑制效果。其中 UL003A 组的白藜芦醇与绿茶萃取物的重量比为 9：1、UL003C 组的白藜芦醇与姜黄萃取物的重量比为 1：19 以及 UL003R 组的白藜芦醇与姜黄萃取物的重量比为 9：1。各组数据均以平均值±SD （Mean±SD）表示。英文字母 a、b、c、d、e 表示统计的结果，不同字母表示组间具有统计差异($p<0.05$)。

结果如图 1 所示，与 DMSO 溶剂对照组相比，本发明组合物 UL003A、UL003C 以及 UL003R 皆能有效抑制前驱脂肪细胞的生长($p<0.05$)，且相较于其他单一植物萃取物组别亦具有较佳的抑制效果，且达到显著差异($p<0.05$)。

实施例 2. 分化中脂肪细胞生长抑制实验

本实施例将 3T3-L1 以 1×10^5 cells/well 培养于 12 孔盘，培养至第四天改用含有每毫升 5 微克(μg/ml)分化剂胰岛素、1 微摩尔体积浓度(μM)地塞米松(dexmethasone)、0.5 毫摩尔体积浓度(mM)的 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine)的培养液，并于不同孔中分别加入 DMSO 溶剂作为对照组、50 ppm 白藜芦醇、50 ppm 姜黄萃取物、80 ppm 绿茶萃取物以及 100 ppm 本发明的组合物 UL003A、UL003C、UL003R 以进行实验，实验共 7 组且每组实验进行 3 重复。经加药处理并培养 48 小时后，拍照记录细胞生长状况，并以细胞存活率试验分析各实验物质对于分化中脂肪细胞的抑制效果。各组数据均以平均值±SD （Mean±SD）表示。英文字母 a、b、c、d、e、f 表示统计的结果，不同字母表示组间具有统计差异($p<0.05$)。

结果如图 2 所示，与 DMSO 溶剂对照组相比，本发明组合物 UL003A、UL003C 及 UL003R 皆能显著抑制分化中的脂肪细胞生长($p<0.05$)，其中又以组合物 UL003C 对分化中的脂肪细胞生长抑制效果最佳，且组合物 UL003C 相较于其他单一植物萃取物组别，组合物 UL003C 对于分化中的脂肪细胞生长亦具有较佳的抑制效果($p<0.05$)。

实施例 3. 成熟脂肪细胞生长抑制实验

本实施例比较本发明的组合物与已知的局部溶脂成分脱氧胆酸钠(sodium deoxycholate)对成熟脂肪细胞的抑制效果。本实施例将 3T3-L1 细胞以 3×10^4 cells/well 培养于 12 孔盘培养至第四天改用含有 5 μg/ml 胰岛素、1 μM 地塞米松、0.5 mM 的 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤的培养液，两天后换成含有 5 μg/ml 胰岛素的培养液持续培养四天，待 3T3-L1 细胞分化成

熟后，除 PBS 及 DMSO 两种溶剂对照组外，在不同孔中分别加入 50 ppm、100 ppm 的组合物 UL003C 与脱氧胆酸钠以进行实验，实验共 6 组且每组实验进行 3 重复。经加药处理并培养 48 小时后，拍照记录细胞生长状况，并以细胞存活率试验分析各实验物质对于成熟脂肪细胞的抑制效果。

结果如图 3 所示，本发明组合物能有效抑制成熟的脂肪细胞生长，且不论在 50 ppm 或 100 ppm 两种不同剂量下，本发明组合物 UL003C 抑制成熟脂肪细胞生长的效果皆显著优于脱氧胆酸钠($p<0.001$)。

实施例 4. 脂肪细胞凋亡(apoptosis)实验 I

本实施例将 3T3-L1 以 1×10^5 cells/well 培养于 12 孔盘养至第四天改用含有 5 μg/ml 分化剂胰岛素、1 μM 地塞米松(dexmethasone)、0.5 mM 的 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine)的培养液，在含有分化剂的培养液中培养四天后，待细胞分化成熟后，除 DMSO 溶剂对照组外，每组分别添加 50 ppm 本发明组合物 UL003A、UL003C、UL003R 进行实验，实验共 4 组且每组实验进行 3 重复。于加药处理细胞并培养 24 小后，收集细胞并利用 Annexin V/PI 染色，并以流式细胞仪分析凋亡细胞(apoptotic cells)，其中 Annexin V-PI-表示存活的成熟脂肪细胞的数量，Annexin V+PI+则代表成熟脂肪发生细胞凋亡的数量，以此方式来区别并评估不同的实验组别于加药后发生细胞凋亡(apoptosis)程度。

结果如图 4 所示，成熟的脂肪细胞以上述各试验物质培养 24 小时后，与 DMSO 溶剂对照组相比，本发明组合物 UL003A、UL003C 及 UL003R 皆能显著促使成熟脂肪细胞凋亡($p<0.05$)，其中又以组合物 UL003C 促使成熟脂肪细胞凋亡的效果最佳，其效果显著优于组合物 UL003A 以及 UL003R ($p<0.05$)。

实施例 5. 脂肪细胞凋亡实验 II

本实施例将 3T3-L1 以 1×10^5 cells/well 培养于 12 孔盘养至第四天改用含有 5 μg/ml 分化剂胰岛素、1 μM 地塞米松(dexmethasone)、0.5 mM 的 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine)的培养液，在含有分化剂的培养液中培养四天于脂肪细胞成熟后，除 DMSO 溶剂对照组外，每组分别添加 50 ppm 以及 100ppm 的本发明组合物 UL003A、UL003C、UL003R 进行实验，实验共 7 组且每组实验进行 3 重复。于加药处理细胞并培养 3 小后，收集细胞进行 caspase 3 染色，并以流式细胞仪分析凋亡细胞，染到凋亡蛋白酶 3 (caspase 3)的细胞代表发生的脂肪细胞凋亡，以此方式来比较在不同剂量下各组试验物质促使细胞凋亡程度。

结果如图 5 所示，与 DMSO 溶剂对照组相比，无论给予脂肪细胞 50 ppm 或 100 ppm

本发明组合物UL003C，细胞染到caspase 3的数量皆显著高于DMSO溶剂对照组($p<0.001$)，显示组合物UL003C能显著促使成熟脂肪细胞进行细胞凋亡，且具有最佳的效果。

实施例 6. 脂肪细胞凋亡实验 III

本实施例将3T3-L1以1×10^5 cells/well培养于12孔盘养至第四天改用含有5 μg/ml分化剂胰岛素、1 μM地塞米松(dexmethasone)、0.5 mM的3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine)的培养液，在含有分化剂的培养液中培养四天于脂肪细胞成熟后，除DMSO溶剂对照组外，每组分别添加50 ppm姜黄萃取物、50 ppm白藜芦醇、50 ppm及100 ppm的本发明组合物UL003C进行实验，实验共5组且每组实验进行3重复。根据文献得知白藜芦醇加药处理16小时较可能染到caspase 3，其余各组则于加药处理细胞并培养3小后，收集细胞进行caspase 3染色，并以流式细胞仪分析凋亡细胞，染到caspase 3的细胞代表发生的细胞凋亡数量，以此方式来比较在不同剂量下各组试验物质促使细胞凋亡程度。

结果如图6所示，成熟脂肪细胞给予50 ppm组合物UL003C培养后，细胞染到caspase 3的数量显著高于DMSO溶剂对照组($p<0.001$)，亦显著高于相同剂量的姜黄萃取物组($p<0.05$)与白藜芦醇组($p<0.001$)，显示本发明组合物UL003C促使成熟脂肪细胞进行细胞凋亡的效果显著优于单独使用其中任一植物萃取物成分。

实施例 7. 脂肪细胞凋亡实验 IV

本实施例比较本发明组合物UL003C与已知的局部溶脂成分脱氧胆酸钠(sodium deoxycholate)对于促进成熟脂肪细胞凋亡的效果。本实施例将3T3-L1以1×10^5 cells/well培养于12孔盘养至第四天改用含有5 μg/ml分化剂胰岛素、1 μM地塞米松(dexmethasone)、0.5 mM的3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-1-methylxanthine)的培养液，在含有分化剂的培养液中培养四天于脂肪细胞成熟后，除DMSO溶剂对照组外，分别添加100 ppm本发明组合物UL003C及脱氧胆酸钠进行实验，实验共3组且每组实验进行3重复。于加药处理细胞并培养24小后，收集细胞进行Annexin V/PI染色，并以流式细胞仪分析凋亡细胞，其中Annexin V-PI-表示存活的成熟脂肪细胞的数量，Annexin V+PI+则代表成熟脂肪发生细胞凋亡的数量，以此方式来比较两组试验物质促使细胞凋亡程度。

结果如图7所示，与DMSO溶剂对照组及相同浓度的脱氧胆酸钠相比，组合物UL003C能显著增加成熟脂肪细胞凋亡($p<0.001$)；反之，脱氧胆酸钠则与DMSO溶剂对照组没有显著差异($p>0.05$)。显示本发明组合物可显著增加成熟脂肪细胞凋亡，而已知的局部溶脂成分脱氧胆酸钠则否。

实施例 8. 大鼠动物实验

本实验使用 8 周龄 SD 品系雄性大鼠，试验共设置 3 组，分别为控制组、UL003C-20 组(20 mg/kg B.W.，又称低剂量组)以及 UL003C-40 组(40 mg/kg B.W.，又称高剂量组)。每组各以 4 只七周龄的雄性大鼠进行试验，大鼠初始体重约为 207±6 g，各组先连续 2 周以高脂饲料喂食，使大鼠皮下脂肪量增厚并秤量体重达 330±10 g 后即可开始给予药物。药物以皮下注射至皮下脂肪的方式施予不同剂量的本发明组合物 UL003C，注射部位为大鼠左右两侧的下腹股沟脂肪处，每侧上下两个注射点(5 mg/kg/点)，每只大鼠注射的总剂量分别为受体每次每公斤 20 毫克(mg/kg/次)以及 40 mg/kg/次，而控制组则是注射等体积 4 mL/kg/次的无菌注射用水(water for injection)，每 2 天注射 1 次，共注射给药 3 次。以开始进行药物注射当日设定为第 1 天，并于第 3 天与第 5 天时以上述方式重复给药，试验期间每日纪录体重变化与平均每日饲料摄取量，到第 21 天量测最后一次体重后将大鼠禁食 24 小时，并采血测量肝肾功能指标，该指标包含丙氨酸胺基转化酶(glutamic pyruvic transaminase, GPT)、麸胺酸草乙酸转胺酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)、肌酐(creatinine)与尿素(urea)。并于大鼠牺牲后取其腹部皮下、上腹股沟与下腹股沟的脂肪进行称重计算其皮下脂肪量。各组数据均以平均值±SD（Mean±SD）表示，英文字母表示统计的结果，不同字母表示组间具有统计差异($p<0.05$)，相同字母则表示组间不具有统计差异($p>0.05$)。

结果如图 8 所示，注射本发明组合物 UL003C 低剂量组与高剂量组，其体重总增重皆低于控制组，其中组合物 UL003C-40 组体重增加量显著低于控制组($p<0.05$)，可减少 15.8%体重，而组合物 UL003C-20 组的体重增加量与控制组相比虽有下降趋势，并减少 11.1%体重，但未达显著统计差异($p>0.05$)，显示以注射方式给予本发明组合物亦能降低体重且与剂量相关。

如图 9 所示，各组大鼠牺牲后测量注射处皮下脂肪减少的结果，与控制组相比，本发明组合物 UL003C 可显著减少药物注射处的皮下脂肪($p<0.05$)，其中低剂量组在注射区域可减少的皮下脂肪量达 24.3%($p<0.05$)；而在高剂量组在注射区域可减少的皮下脂肪量达 21.6%($p<0.05$)。

如图 10A、10B 所示，各组大鼠的肌酐、尿素、GOT、GPT 血清生化值并无统计差异($p>0.05$)，显示注射本发明组合物 UL003C 低剂量或高剂量后，并不影响安全性指标，显示本发明组合物具备良好的安全性。

实施例 9. 大鼠皮下注射处脂肪组织细胞凋亡分析

Bcl-2 及 Bax 为细胞凋亡途径中的二个重要调控因子，两者间的平衡是调控细胞凋亡

的重要机制，Bcl-2 的高度表现会抑制细胞凋亡，而 Bax 表现则会促进细胞凋亡，两者的比值高低能决定细胞会趋向于存活还是细胞凋亡。

本实验以西方墨点法分析各组大鼠皮下注射处脂肪组织中抗细胞凋亡蛋白 Bcl-2 与促进细胞凋亡蛋白 Bax2 的蛋白质表达量，并通过 Bax 与 Bcl-2 的比值评估本发明组合物 UL003C 造成脂肪细胞凋亡的效果。实验将实施例 8 中牺牲的大鼠取其药物注射处下腹股沟皮下脂肪组织，以 450 μl T-PER®进行蛋白质萃取，各组定量取 30 μg 蛋白质进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)，并将蛋白质转移至 PVDF 膜；其中用于西方墨点法的 Bcl-2 抗体购自于 Santa Cruz，型号为 sc-7382，Bax 抗体购自于 Santa Cruz，型号为 sc-526。各组数据均以平均值±SD（Mean±SD）表示，英文字母表示统计的结果，不同字母表示组间具有统计差异($p<0.05$)，相同字母则表示组间不具有统计差异($p>0.05$)。

结果如图 11 所示，与控制组相比,，本发明组合物 UL003C 无论在低剂量与高剂量组皆能显著增加 Bcl-2 的表达量($p<0.05$)并显著抑制 Bax 的表达量($p<0.05$)，其 Bax/Bcl-2 的比值亦显著高于控制组($p<0.05$)，显示大鼠经注射本发明组合物 UL003C 后，能有效促使脂肪组织的脂肪细胞凋亡。本发明确实能有效促使脂肪细胞走向细胞凋亡，并减少其局部脂肪量，经动物实验结果再次证实本发明组合能达到减少脂肪细胞与局部脂肪量的机制，主要是通过增加脂肪细胞凋亡的途径。

以上所述仅是本发明的较佳实施例而已，并非对本发明做任何形式上的限制，虽然本发明已以较佳实施例揭露如上，然而并非用以限定本发明，任何本领域技术人员，在不脱离本发明技术方案的范围内，当可利用上述揭示的技术内容作出些许更动或修饰为等同变化的等效实施例，但凡是未脱离本发明技术方案的内容，依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与修饰，均仍属于本发明技术方案的范围内。

权利要求书

1. 一种用于减少局部脂肪与减少体重的组合物，其特征在于，所述组合物包括重量比为 1：30 至 10：1 的白藜芦醇与姜黄萃取物。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于，该白藜芦醇与姜黄萃取物的重量比例为 1:19。

3. 一种权利要求 1 或 2 所述的组合物在制备减少局部脂肪与减少体重的医药品中的应用。

4. 一种用于减少局部脂肪与减少体重的医药品，其特征在于，所述医药品包含有效剂量的权利要求 1 或 2 所述的组合物以及其医药学上可能够接受的载剂。

5. 一种权利要求 4 的医药品在制备减少局部脂肪与减少体重的医药品中的应用，其特征在于，将医药品以有效剂量施予受体局部部位，以使受体局部部位达到减少脂肪以及减少受体体重的效果。

6. 根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，受体为动物或人类。

7. 根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，局部部位包括脸部、下巴、手臂、腰部、腹部或大腿等。

8. 根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于，施予方式是注射、皮下植入、埋植式输注、软膏或贴布。

9. 根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于，注射施予是皮下注射。

10. 根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于，皮下注射是注射至脂肪层。

11. 根据权利要求 8 所述的应用，其特征在于，有效剂量是指每次以剂量为 0.4 mg/Kg 至 100 mg/Kg 的医药品施予受体。

12. 根据权利要求 11 所述的应用，其特征在于，有效剂量是指每次以剂量为 1 mg/Kg 至 60 mg/Kg 的医药品施予受体。