



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202425962 A

(43) 公開日：中華民國 113 (2024) 年 07 月 01 日

(21) 申請案號：111150688

(22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 29 日

(51) Int. Cl. :

*A61K31/198 (2006.01)**A61P43/00 (2006.01)**A61P3/06 (2006.01)**A61P25/22 (2006.01)**A61P21/00 (2006.01)*

(71) 申請人：國立臺灣大學 (中華民國) NATIONAL TAIWAN UNIVERSITY (TW)

臺北市大安區羅斯福路四段一號

(72) 發明人：潘敏雄 PAN, MIN-HSIUNG (TW)；陳品樺 CHEN, PIN-HUA (TW)；許 燕濬 KOH, YEN-CHUN (MY)

(74) 代理人：陳豫宛

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：10 項 圖式數：7 共 30 頁

(54) 名稱

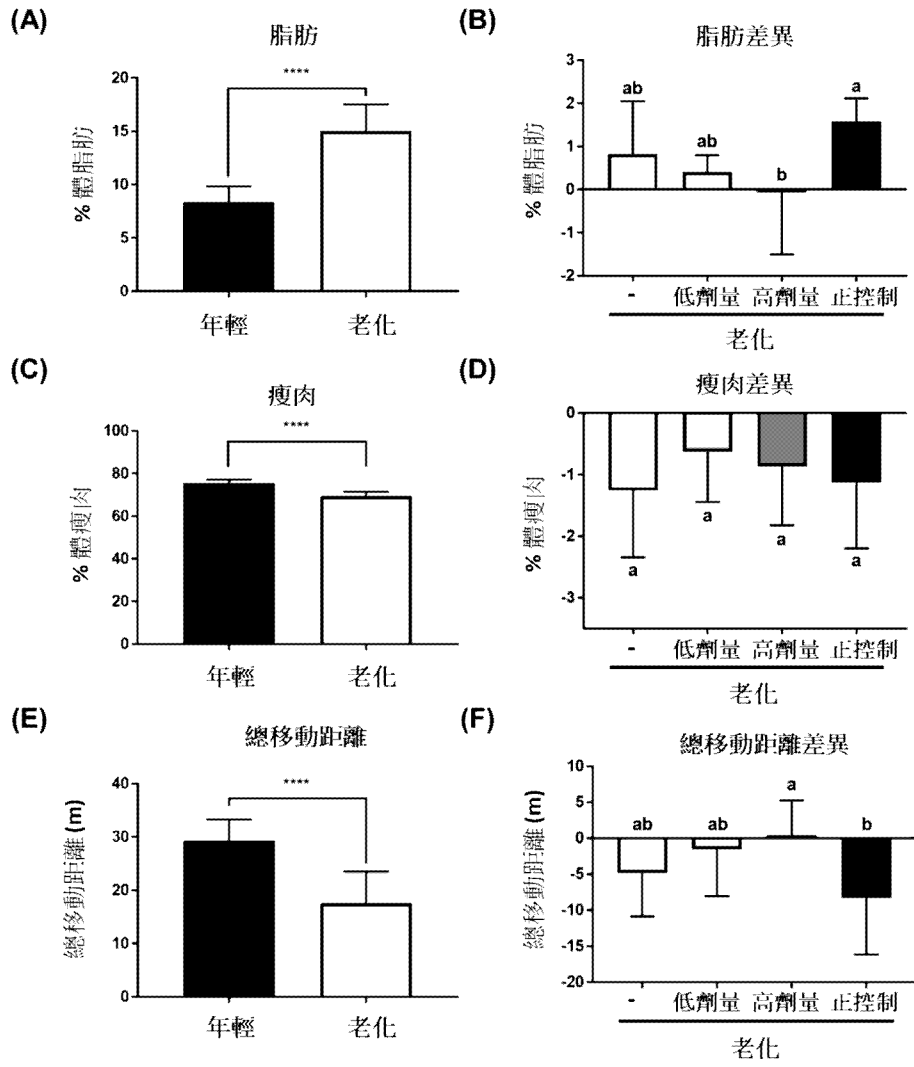
用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的 S-烯丙基半胱氨酸之用途

(57) 摘要

本發明係提供一種用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的 S-烯丙基半胱氨酸之用途，該 S-烯丙基半胱氨酸在，可減少體脂肪蓄積、延緩肌肉量流失之潛力，減緩其因老化而造成的焦慮行為。而從血清生化值方面，顯示 S-烯丙基半胱氨酸後能降低總膽固醇，並具有肝臟、腎臟保護效益，使生理狀態較趨近於年輕個體。並且 S-烯丙基半胱氨酸後能預防 DNA 損傷，亦可動態調節粒線體以降低氧化壓力，達到延緩老化之效能。

The present invention provides the use of S-allylcysteine for preparing a composition for delaying aging and preventing senile diseases. After the S-allylcysteine is administered, it has the potential to reduce body fat accumulation, delay muscle mass loss, and slow down anxiety behaviors caused by aging. From the aspect of serum biochemical values, it is shown that S-allylcysteine can reduce total cholesterol, and has liver and kidney protection benefits, so that the physiological state is closer to that of young subject. In addition, S-allylcysteine can prevent DNA damage, and can also dynamically regulate mitochondria to reduce oxidative stress and achieve the effect of delaying aging.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的S-烯丙基半胱氨酸之用途

【英文發明名稱】 USE OF S-ALLYLCYSTEINE FOR THE PREPARATION OF COMPOSITION FOR DELAYING AGING AND PREVENTING SENILE DISEASE

【中文】

本發明係提供一種用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的S-烯丙基半胱氨酸之用途，該S-烯丙基半胱氨酸在，可減少體脂肪蓄積、延緩肌肉量流失之潛力，減緩其因老化而造成的焦慮行為。而從血清生化值方面，顯示S-烯丙基半胱氨酸後能降低總膽固醇，並具有肝臟、腎臟保護效益，使生理狀態較趨近於年輕個體。並且S-烯丙基半胱氨酸後能預防DNA損傷，亦可動態調節粒線體以降低氧化壓力，達到延緩老化之效能。

【英文】

The present invention provides the use of S-allylcysteine for preparing a composition for delaying aging and preventing senile diseases. After the S-allylcysteine is administered, it has the potential to reduce body fat accumulation, delay muscle mass loss, and slow down anxiety behaviors caused by aging. From the aspect of serum biochemical values, it is shown that S-allylcysteine can reduce total cholesterol, and has liver and kidney protection benefits, so that the physiological state is closer to that

of young subject. In addition, S-allylcysteine can prevent DNA damage, and can also dynamically regulate mitochondria to reduce oxidative stress and achieve the effect of delaying aging.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無。

【特徵化學式】無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的S-烯丙基半胱氨酸之用途

【英文發明名稱】 USE OF S-ALLYLCYSTEINE FOR THE PREPARATION OF COMPOSITION FOR DELAYING AGING AND PREVENTING SENILE DISEASE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種S-烯丙基半胱氨酸(S-allylcysteine, SAC)之用途，特別係一種S-烯丙基半胱氨酸及其用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物的用途。

【先前技術】

【0002】 生育率下降及平均壽命延長是造成全球人口老化的主因。雖然人口預期壽命延長，但健康壽命並未隨之提升，從而造成龐大的醫療負擔，因此比起治療老化相關的疾病症狀，將「老化」視為疾病而標靶干預，對於延長健康壽命之效果更加顯著。

【0003】 老化為導致多種慢性及退化性疾病最大的風險之一，因此探討老化的起因及干預策略為現今急欲解決的問題。研究指出，粒線體功能障礙在各項老化指標中扮演關鍵角色，因粒線體和其他胞器存在有複雜且交聯的互動網絡，其動態失衡會造成細胞能量代謝紊亂與氧化壓力增加，最終導致老化的發生。

【0004】 當粒線體動態失調時，會導致不正常粒線體堆積、mtDNA的突變和降低粒線體生合成；又因粒線體和其他胞器存在有複雜且交聯的互動網絡，上述損傷會間接導致其他胞器的表現異常而造成機體的老化。

【0005】 S-烯丙基半胱氨酸(S-allylcysteine, SAC)為生蒜中化合物 γ -Glutamylcysteine經由 γ -Glutamyltranspeptidase作用轉變為SAC，是黑蒜中最豐富的有機硫化物。已有研究證實SAC能夠濾除活性氧物質，更能在轉錄層次活化Nrf2轉錄因子，促進抗氧化酵素的生成，達到減少氧化壓力的效果。又氧化壓力是導致多種神經退化性疾病的原因之一，研究發現SAC能夠有效減少因amyloid beta (A β)造成的腦部氧化傷害或海馬迴神經的凋亡，因而能提升認知能力。

【發明內容】

【0006】 雖然在先前技術中SAC已被研究證實能抗氧化、神經保護及防止糖尿病等效果但SAC的相關作用機制以及在哺乳類動物是否亦能有延緩老化之正面效益仍是未知的，因此本發明分析SAC對個體之行為能力及生化數值的影響，探究SAC延緩個體(特別係哺乳類動物)老化之效能，並進一步探討其對粒線體動態改善與否。

【0007】 是以，本發明藉由提供一種 S-烯丙基半胱氨酸(S-allylcysteine, SAC)之用途，其係用以製備延緩老化及預防老年疾病之組合物。

【0008】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於降低一使用者之體脂肪膽固醇、三酸甘油酯或低密度脂蛋白，及增進該使用者之肌肉量。

【0009】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於減緩因老化而引發的焦慮行為。

【0010】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於減緩肝臟或腎臟之機能衰退。

【0011】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於預防 DNA 損傷或免疫衰老。

【0012】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於降低細胞衰老而引發的 GLB1 及 SA- β gal 之合成。

【0013】 根據本發明之一實施例，該組合物係用於增進一使用者之粒線體之生合成效率。

【0014】 根據本發明之一實施例，該組合物係透過增進 SIRT1 之表現量及活化 PGC-1 α ，使該粒線體之生合成效率增進。

【0015】 根據本發明之一實施例，其中，該 S-烯丙基半胱氨酸之有效劑量為 12.2 至 48.6 mg/kg。

【0016】 根據本發明之一實施例，其中，該 S-烯丙基半胱氨酸之有效劑量為 30 至 48.6 mg/kg。

【0017】 本發明之S-烯丙基半胱氨酸的用途，係用於製備延緩老化及預防老年疾病之組合物，具有以下優勢：

【0018】 (1) 施予SAC後，可降低其體脂肪累積及增進肌肉量，亦可維持其活力、減緩其因老化而造成的肝臟肥大與焦慮行為。

【0019】 (2) 降低其血清生化值中的麩丙轉胺酶及血尿素氮，達到對肝臟及腎臟的保護。亦可透過提升其肝臟中OPA1的mRNA表現量、SIRT1及PGC-1 α 的表現量，動態調節粒線體以降低氧化壓力。

【0020】 (3) 預防DNA損傷或免疫衰老，降低肝臟中因複製衰老而引發的GLB1及SA- β gal、介導老化相關分泌表徵的p-p65/p65比值。

【圖式簡單說明】

【0021】 現就參考附圖僅以舉例的方式描述本發明技術的實施，其中：

【0022】 圖1係本發明一實施例之SAC對小鼠體組成及運動能力影響之圖表。

【0023】 圖2係本發明一實施例之SAC對小鼠焦慮行為影響之圖表。

【0024】 圖3係本發明一實施例之SAC對小鼠血清生化值影響之圖表。

【0025】 圖4係本發明一實施例之SAC對小鼠老化生化指標影響之圖表。

【0026】 圖5係本發明一實施例之SAC對小鼠氧化壓力影響之圖表。

【0027】 圖6係本發明一實施例之SAC對小鼠粒線體生合成相關基因與蛋白影響之圖表。

【0028】 圖7係本發明一實施例之SAC對小鼠粒線體融合基因之影響示意圖。

【0029】 應當理解，本發明之各方面不限於附圖所示之配置、手段及特性。

【實施方式】

【0030】 以下實施方式不應視為過度地限制本發明。本發明所屬技術領域中具有通常知識者可在不背離本發明之精神或範疇的情況下對本文所討論之實施例進行修改及變化，而仍屬於本發明之範圍。

【0031】 於本文中，除非上下文另有載明，則術語「包含」、「包括」、「具有」或「含有」係包含性或開放性，並不排除其他未闡述之元素或方法步驟；術語「一」及「該」可解釋為單數亦可解釋為複數；術語「一個或多個」意旨「至少一個」，因此可以包括單個特徵或混合物/組合。此外，在本說明書及後附之申請專利範圍中，除非另外載明，否則「設置於某物之上」可視為直接或間接以貼附或其他形式與某物之表面接觸，該表面之界定應視說明書內容之前後/段落語意以及本說明所屬領域之通常知識予以判斷。

【0032】 本發明藉由提供一種 S-烯丙基半胱氨酸(S-allylcysteine, SAC)之用途，其係用以製備延緩老化及預防老年疾病之組合物。在本發明中，該組合物係用於動物，且於一實施例中，分析了 SAC 對老化鼠之行為能力及生化數值的影響，探究 SAC 延緩哺乳類動物老化之效能，並進一步探討其對粒線體動態改善與否。

【0033】 本發明之一或多個實施例中，該動物實驗係以雄性自然老化鼠進行實驗，該實驗以延緩老化實驗以及粒線體動態實驗兩個部分進行；將小鼠分成五組，分別為年輕空白對照組、老化誘導組、低劑量 SAC 實驗組、高劑量 SAC 實驗組以及一正控制組(白藜蘆醇)。其中，低劑量 SAC 實驗組及高劑量 SAC 實驗組係分別以 0.05%及 0.2%之 SAC 混入小鼠飼料中。其中，於一較佳實施態樣中，其中，該 S-烯丙基半胱氨酸換算至投與一人類個體之有效劑量為 12.2 至 48.6 mg/kg，例如不限於：13 mg/kg、15.1 mg/kg、17.3 mg/kg、19.2 mg/kg、23.5 mg/kg、26.8 mg/kg、30.3 mg/kg、32.7 mg/kg、35.1 mg/kg、38.6 mg/kg、40.3 mg/kg、42.8 mg/kg、45.4 mg/kg、47.9 mg/kg、48.4 mg/kg，更佳地，該 S-烯丙基半胱氨酸之有效劑量為 30 至 48.6 mg/kg，例如不限於：31.3、32.7 mg/kg、33.1 mg/kg、35.1 mg/kg、38.9 mg/kg、39.6 mg/kg、40.3 mg/kg、41.8 mg/kg、43.4 mg/kg、45.3 mg/kg、46.2 mg/kg、47.5 mg/kg、48.1 mg/kg、48.5 mg/kg。

【0034】 本文所述之「老化」係為漸進性的生理機能降低，導致組織或器官功能受損，此外，老化也會伴隨著漸進性的大腦功能衰退，導致感官、運動及認知能力下降等；雖然老化的發生難以逆轉，但是可以預防或延緩，從而使健康狀態維持，而本文中術語「延緩老化」係指可減緩老化指標。

【0035】 本文中所稱之老化指標包含老化的行為表徵：體脂肪堆積(包含但不限於降低體脂肪、三酸甘油酯或低密度脂蛋白)、肌肉量流失及其功能以及

器官(包含但不限於肝臟或腎臟)的機能衰退、漸進性的大腦功能衰退，導致感官、運動及認知能力下降等等；另外，該老化指標亦包含老化的生化指標，例如 DNA 損傷、老化相關溶酶體以 SA- β gal (senescence-associated beta-galactosidase) 的活性或老化相關分泌表徵 (Senescence-associated secretory phenotype, SASP)等等。

【0036】 另外，大部分的胞器都需要持續的再生以及消除損傷的部分以維持健康，而粒線體為能量製造及預防內生性氧化壓力的關鍵胞器，因此其合成及降解更顯重要；因此，粒線體功能障礙在各項老化指標中也扮演關鍵角色，且粒線體功能受損是老化一大成因：當粒線體動態失調時，會導致不正常粒線體堆積、mtDNA 的突變和降低粒線體生合成；又因粒線體和其他胞器存在有複雜且交聯的互動網絡，上述損傷會間接導致其他胞器的表現異常而造成機體的老化，因此，本發明之另一方面係提供 SAC 藉由平衡粒線體動態以延緩老化的發生；詳言之，SAC 顯著提升肝臟中關鍵粒線體融合因子 *OPA1* 的 mRNA 表現量，因此粒線體生合成相關蛋白 *SIRT1* 及 *PGC-1 α* 的表現量亦顯著增加，進而有效降低氧化壓力，如肝臟中 MDA 與尿液中 8-OHdG 的含量。

【0037】 本文中所稱之「粒線體動態」，包括粒線體形狀的變化，以及其沿著細胞骨架的移動，與其他胞器形成互動網絡的過程。動態的變化需要透過粒線體融合與裂解反應才能達成。若粒線體動態調節蛋白失衡，一方面會導致內源性的粒線體損傷，從而減少粒線體生合成活性；另一方面則會降低粒線體自噬反應，造成損傷的粒線體堆積，導致衰老以及老化相關疾病。

【0038】 本文所述之「老年疾病」係指因老化所造成之生理機能降低以及細胞衰老，進而導致身體免疫、組織或器官功能受損而造成疾病的產生，常見的老年疾病包含但不限於第二型糖尿病、神經退化性疾病、心血管疾病、骨質

疏鬆、肌少型肥胖症及癌症，因此，本文中術語「預防老年疾病」係指可預防老化所造成之生理機能降低以及細胞衰老，包含但不限於預防因老化而引發的焦慮行為、DNA 損傷或免疫衰老等。

【0039】 本發明之實施例設計如下：將實驗分為兩個部分，一延緩老化實驗及一粒線體動態實驗。由第一階段延緩老化的實驗，判斷 SAC 是否能由外而內全面延緩老化鼠之衰老，且同時能夠維持小鼠健康狀態，綜合達到延長健康壽命的效果。接著進入第二階段機制之探討，嘗試找出造成老化之關鍵因素。由 Harman 所提出「老化的自由基理論」，延伸到粒線體功能障礙與老化的連結，探討氧化壓力在本發明對於老化進程之影響，再檢測粒線體生合成有無相對應之變化。最後探討決定粒線體效能與質量的關鍵因素—粒線體動態，在本發明是否有變動之趨勢。

實施例

【0040】 動物實驗組別設計

【0041】 本發明係利用 49 週齡之公鼠，以自然老化的模式飼養 11 週，待小鼠到達生殖衰老之 60 週齡時，參考衛福部頒佈之「健康食品之延緩衰老功能評估方法」進行為期 12 週之實驗，到達開始展現各種老化活性指標之 72 週齡後衰老期，檢測 SAC 的介入是否能預防衰老。年輕鼠則是在犧牲前 2 週才購進 6 週齡之小鼠，適應 2 週後進行犧牲，確保犧牲的時間點正值小鼠成年期，增加其做為空白對照組之可信度。

【0042】 49 週齡之公鼠飼養期間記錄每日攝食飲水量、每週體重變化。待到達 60 週齡時分析小鼠體組成，及利用曠野試驗測試小鼠整體活動力。再以體組成分析所得之體脂肪、體瘦肉及體重結果，將老化鼠平均分為 4 組(如下表 1 所示，分別為老化誘導組 (Actrl)；低劑量 (SACL)、高劑

量 (SACH) 實驗組及正控制組 (Res)；另有一年輕空白對照組 (Yctrl)。介入樣品 12 週後，連同已預養 2 週之年輕鼠一同分析行為表徵後測。接著犧牲，再測定血清生化值以作為是否能延長小鼠健康狀態之指標。再行測定老化相關生化指標，最後進行數據統計分析。

【0043】 表 1

組別	動物數	餵食	期間
Yctrl	10	顆粒飼料; RO 水	2 週
Actrl	9	粉狀飼料; RO 水	12 週
SACL	8	粉狀飼料混入 0.05% SAC; RO 水	12 週
SACH	8	粉狀飼料混入 0.2% SAC; RO 水	12 週
Res	8	粉狀飼料混入 0.05% 白藜蘆醇; RO 水	12 週

【0044】 實施例 1：體組成及運動能力測試

【0045】 於延緩老化實驗中，將測試 SAC 對小鼠的體組成、運動能力、焦慮行為、器官機能、血清生化值及老化生物化學指標之影響。

【0046】 請一併參照圖 1，測試 SAC 對小鼠之體組成及運動能力。隨著年齡的增長，人體器官或組織的質量及其代謝率減少，會造成靜止代謝率的下降；加上性激素、生長激素的降低，以及運動缺乏或蛋白質攝取不足，導致體組成也會跟著發生改變，使得體瘦肉減少，而體脂肪上升。於該動物實驗中之體組成分析後測結果顯示，老化誘導組(Actrl)的體脂肪顯著高於空白對照組(Yctrl)(圖 1A)；相對的，體瘦肉則顯著的降低 (圖 1C)。但由前後測變化量圖可以發現，介入 SAC 後具有降低體脂肪及減緩體瘦肉流失的潛力 (圖 1B、1D)。

【0047】 小鼠體組成的改變亦會反應在整體活動力上。該整體活動力以曠野試驗判定，偵測小鼠在 5 分鐘內於開放場域的總移動距離，距離越多則整體活動力越佳。由後測 Actrl 老化誘導組及 Yctrl 空白對照組之結果相比 (圖 1E)，

老年鼠相較於年輕鼠，其總移動距離顯著較低，顯示下降的運動行為能力。同樣的，由曠野試驗前後測變化量圖可看出介入 SAC 後整體活動力有回升之趨勢(圖 1F)，該結果係因 SAC 保持體瘦肉的含量，而使小鼠運動表現能力較好。

【0048】 由上述表徵測定結果可知，SAC 具有減少體脂肪蓄積、改善肌肉量及其功能之潛力，而使老化鼠之體組成與整體活動力趨向於年輕的狀態。

【0049】 實施例 2：焦慮行為測試

【0050】 上述之「曠野試驗」係根據齧齒類動物的趨觸性，其喜好在設施的外圍活動，而較不會到開闊的中心場域。因此若小鼠在中央場域花費較多時間探索或是移動較頻繁，表示其焦慮程度較低。

【0051】 於一較佳實施態樣中，該組合物係用於減緩因老化而引發的焦慮行為。請一併參照圖 2，從後測實驗結果可以看出，Yctrl 空白對照組相較於 Actrl 老化誘導組，待在中央場域的時間較長(圖 2A)、周邊場域時間較短(圖 2C)；而由組內前後測變化量圖則顯示 Res 正控制組以及介入樣品的 SACL、SACH 實驗組，相比於 Actrl 組，皆顯著提升探索中央場域的時間(圖 2B)，而相對減少其在周邊場域的停留(圖 2D)。由該結果可以看出老化確實有提升小鼠焦慮樣行為的趨勢，但介入 SAC 後則能顯著改善之。

【0052】 因此 SAC 對於減緩焦慮樣行為的正面效益，推測其具有神經保護效果，而使海馬迴得以正常運作，降低焦慮的發生。本文所述之海馬迴係為大腦邊緣系統的一部分，位於大腦皮質下方，負責關於短期記憶、長期記憶，以及空間定位的作用。海馬迴中的齒狀回區域，在調節情緒、認知以及記憶扮演關鍵角色。而其會因衰老而受損，造成神經傳遞失衡、降低突觸可塑性及神經再生性，導致認知或情緒障礙。

【0053】 實施例 3：血清生化值測試

【0054】 確認 SAC 對小鼠外觀及行為表徵的影響後，進一步檢測其血清生化值，以判斷小鼠健康狀態。於一較佳實施態樣中，該組合物係用於減緩肝臟或腎臟之機能衰退。

【0055】 本文所述之「肝臟」除了透過肝門靜脈將腸管吸收的營養送到肝臟儲存或進行合成，同時也負責分解酒精、藥物、有毒物質及代謝廢物，為機體主要的解毒工廠。肝臟利用酵素或細胞色素 P450 以氧化、還原、硫化或脫氨基等作用，減少物質的活性或毒性；或將親脂性代謝物和其他物質結合，轉變為親水性物質以利從尿液中排除。因此不管物質提供機體營養或毒性，肝臟皆為最直接影響到的器官。

【0056】 本文所述之「腎臟」係經過濾及再吸收作用將身體多餘或有害的物質由尿液排除，以調節身體電解質、酸鹼度及水含量來維持血液滲透壓及血壓恆定。腎臟對於毒性反應敏感、能夠有效反應生理狀態的波動及急性損傷，因此研究常以腎臟成對重量及外觀性狀做為化合物是否會引起動物毒性反應之指標。

【0057】 請一併參照圖 3，本發明 AST 測定結果在 Yctrl 空白對照組、SACL 及 SACH 實驗組和 Res 正控制組皆和 Actrl 組沒有顯著差異 (表 1)，推斷 AST 受到肝臟以外的因素干擾而較難以推斷肝臟實際狀況。而較具肝臟損傷特異性的 ALT，在 Yctrl 組具有較 Actrl 組低之趨勢，顯示老化會增加肝臟損傷程度。介入低劑量之樣品 SAC 後能顯著降低 ALT 之數值，且達到和 Yctrl 組及 Res 正控制組無顯著差異之程度 (表 1、圖 3A)，顯現 SAC 具有保護肝臟之能力。

【0058】 本文所述之「麩丙轉胺酶(Alanine transaminase, ALT)」及「天門冬胺酸胺基轉移酶(Aspartate transaminase, AST)」係為肝臟內

的兩種酵素，其功能為催化胺基從丙胺酸或天門冬胺酸轉移至 α -酮戊二酸，而分別形成丙酮酸及草醋酸，進而參與糖質新生的過程。兩者在肝臟受到損傷時皆會大量表現，而此異常升高常見於非酒精性脂肪肝、酒精性肝病及肝炎。ALT 主要存在於細胞質，於肝中具有最高濃度且特異性高，因此主要利用 ALT 確認病灶位置是否為肝臟。當 ALT 及 AST 數值異常時，臨床上會以 AST/ALT 之比值以判斷肝臟不同疾病，若比值小於 1 通常為非酒精性脂肪肝；而比值大於 2 則和酒精性肝病有關。

〔0059〕 本文所述之「血尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)」係指血液中的尿素所含的氮，就稱為尿素氮；尿素是蛋白質代謝的最終產物，經腎臟排泄到體外。若腎功能障礙而導致排泄機能低下時，會導致血中的尿素氮增加，因此血尿素氮為了解腎臟機能是否正常之重要指標。

〔0060〕 請一併參照圖 3，本發明的 Actrl 老化誘導組，其血尿素氮濃度顯著高於 Yctrl 空白對照組，可見衰老會降低腎絲球過濾血尿素氮的效率。而介入 SAC 後，不管是低或高劑量，皆能顯著降低血尿素氮濃度，到達與 Yctrl 組相同之水平(表 2、圖 3B)，顯示 SAC 能避免小鼠腎臟的機能衰退。

〔0061〕 表 2

處理	參數						
	穀丙轉氨酶 (U/L)	天門冬胺酸胺基 轉移酶 (U/L)	血尿素氮 (mg/dl)	膽固醇 (mg/dl)	三酸甘油脂 (mg/dl)	高密度脂蛋白 (mg/dl)	低密度脂蛋白 (mg/dl)
Yctrl 空白對照組	168.78 ± 59.04 ^a	30.68 ± 6.11 ^{ab}	21.75 ± 1.62 ^b	87.33 ± 5.89 ^b	70.71 ± 15.75 ^a	61.83 ± 4.13 ^b	7.14 ± 1.04 ^b
Actrl 老化誘導組	128.78 ± 44.57 ^{ab}	34.93 ± 2.60 ^a	26.10 ± 2.00 ^a	96.49 ± 6.89 ^a	55.05 ± 21.92 ^{ab}	71.19 ± 4.86 ^a	8.66 ± 0.65 ^{ab}
0.05% SAC	129.00 ± 39.94 ^{ab}	26.05 ± 1.98 ^b	21.75 ± 2.00 ^b	93.90 ± 14.16 ^{ab}	38.90 ± 5.90 ^b	67.01 ± 11.76 ^{ab}	9.45 ± 2.36 ^a
0.2% SAC	100.10 ± 40.97 ^b	25.93 ± 6.62 ^{ab}	21.38 ± 3.66 ^b	88.91 ± 16.46 ^{ab}	45.86 ± 20.87 ^b	60.86 ± 11.50 ^{ab}	7.80 ± 1.21 ^b
0.05% 自噬藍劑	120.08 ± 58.51 ^{ab}	25.59 ± 3.01 ^b	24.41 ± 3.19 ^a	93.33 ± 9.76 ^{ab}	51.34 ± 17.21 ^b	69.53 ± 7.51 ^{ab}	8.40 ± 1.20 ^{ab}

【0062】由上述結果可知，介入 SAC 及正控制化合物白藜蘆醇皆不會引發各種器官之毒性反應或功能缺損。

【0063】實施例 4：血脂測試

【0064】確認 SAC 具有保護肝臟及腎臟之能力後，進一步地，測試該組合物對於血脂之影響。於一較佳實施態樣中，該組合物係用於降低一使用者之體脂肪膽固醇、三酸甘油酯或低密度脂蛋白，及增進該使用者之肌肉量。

【0065】血脂異常及高血壓為心血管疾病最大的風險，而血脂主要分為膽固醇及三酸甘油酯。膽固醇 (total cholesterol, T-CHO) 除了能調節細胞膜的強度及流動性外，也是固醇類激素及膽酸的重要元素，又因其不溶於水，因此需和脂蛋白結合以隨血液運行到全身，脂蛋白可分為低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 和高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)，低密度脂蛋白係從肝臟及小腸運送膽固醇到至身體其他組織；而高密度脂蛋白則是將組織的膽固醇運送回肝臟。三酸甘油酯 (triglycerides, TG) 是極低密度脂蛋白和乳糜微粒的主成分，並透過代謝作為能量來源。當膽固醇、低密度脂蛋白及三酸甘油酯過高的時候就會導致血脂異常，進而損傷血管內皮細胞。過量的低密度脂蛋白也容易堆積在動脈血管內壁，引發局部發炎反應，吸引巨噬細胞吞噬堆積的脂肪而逐漸形成粥狀硬化。

【0066】請一併參照圖 3，本發明測得 Actrl 老化誘導組的膽固醇濃度顯著高於 Yctrl 空白對照組，顯示老化會增加總膽固醇之含量，而介入 SAC 後則會降低其數值，且具有劑量效應，顯示 SAC 預防膽固醇蓄積之潛力 (表 1、圖 3C)。三酸甘油酯在各組皆和 Actrl 組沒有顯著差異，不過針對老化鼠進行探討，也可以發現介入 SAC 後能降低三酸甘油酯之數值，

朝向 Res 正控制組呈現之趨勢，且效果更勝正控制組 (表 1)。高密度脂蛋白則在 Actrl 組最高，且顯著高於 Yctrl 組，而實驗組與正控制組也有抑制高密度脂蛋白的趨勢。推測此結果是因 Actrl 組之膽固醇較高，因此高密度脂蛋白也相對較高，而其他老化鼠組別的高密度脂蛋白雖較低，但和 Yctrl 組並無差異 (表 1)，因此推斷其並沒有處於較高心血管疾病之風險。而低密度脂蛋白在各組皆和 Actrl 組無統計上之意義，但介入高劑量 SAC 後，其數值會下降到和 Yctrl 組無顯著差異 (表 1、圖 3D)。

【0067】綜合上述實驗結果，顯示 SAC 具有肝臟及腎臟保護之能力，此外具有降低三酸甘油脂之趨勢，而介入高劑量樣品之 SACH 組，在總膽固醇及低密度脂蛋白，皆能降低到與 Yctrl 組無顯著差異，顯示其抑制膽固醇蓄積之能力，使小鼠血清生化值與年輕鼠較相似，處於較健康之狀態。

【0068】實施例 5：DNA 損傷相關試驗

【0069】由上述實驗可知，在介入 SAC 之組別中皆可觀察到預防或延緩衰老之現象，於血清生化值之結果也可以發現介入 SAC 之老化鼠健康狀態優於老化誘導組，因此接著探討內部之衰老相關生物化學指標。於一較佳實施態樣中，該組合物係用於預防 DNA 損傷或免疫衰老，更佳地，該組合物係用於降低細胞衰老而引發的 GLB1 及 SA- β gal 之合成。

【0070】老化進程之起始期為 DNA 損傷，進而觸發一系列衰老變化。DNA 損傷中又以基因組不穩定性為衰老過程的主要驅動因素。當 DNA 受到化學製劑、輻射或是熱傷害等外源刺激，或是內源活性氧物質攻擊，就有機率發生核苷酸鹼基的修飾、DNA 單股斷裂或雙股斷裂等損傷，其中又因雙股斷裂難以修復且易造成細胞毒性，因此為最嚴重的 DNA 損傷。

DNA 雙股斷裂時會引發 DNA 損傷反應：召集包含 MRe11、Rad50 及 Nbs1 在內的 MRN 複合體以及 ATM 激酶到受損位點，再由 ATM 激酶磷酸化組蛋白變體 H2AX 成為 γ -H2AX。隨後再召集 DNA 損傷檢查點蛋白 MDC1，而促進 BRCA1 及 53BP1 蛋白進行 DNA 的修復。根據 γ -H2AX 會和修復蛋白在細胞核中雙股斷裂區域形成聚集小點 (nuclear foci) 的特性，其含量可作為 DNA 雙股斷裂程度的指標，也可以檢測介入樣品或化合物後，基因受損情形的變化。

【0071】本發明以西方墨點法檢測小鼠肝臟蛋白萃取液中 γ -H2AX 的表現量，結果顯示 Actrl 老化誘導組之 γ -H2AX 表現量高於 Yctrl 空白對照組，驗證老化會伴隨 DNA 損傷的增加。而老化鼠介入白藜蘆醇後， γ -H2AX 表現量顯著降低至與 Yctrl 組無顯著差異的程度；介入樣品的 SACL 及 SACH 實驗組， γ -H2AX 皆有降低之趨勢 (圖 4A)，而推斷 SAC 具有預防 DNA 損傷之潛力。

【0072】當老化持續發生，而使生物體細胞基因組不穩定、端粒縮短、表觀遺傳改變以及蛋白質穩態缺失，細胞就會進入複製衰老期而不可逆的停止細胞週期，避免存在突變風險的衰老細胞擴散。又因細胞停止代謝更新，因此老廢細胞、損傷的大分子或胞器就會持續堆積，而誘發溶酶體的大量產生。

【0073】研究發現 SA- β gal 在衰老細胞中會顯著表現，且其偵測最適 pH 值為 6.0，而有別於溶酶體通常偵測 pH 值 4.5，因此廣泛作為細胞衰老的指標，判別介入的樣品或條件是否具有延緩老化的潛力。而 SA- β gal 的表現和介導 β -D-半乳糖苷酶生合成的 GLB1 mRNA 呈正相關，當整體 β -D-半乳糖苷酶濃度上升，才連帶使得 SA- β gal 一同上升，因此並非只有衰老

會造成 SA- β gal 增加；但衰老的細胞 SA- β gal 上調的比例高於一般正常細胞。

【0074】 本發明同樣以小鼠肝臟蛋白萃取液進行測定，利用西方墨點法檢測 GLB1 的表現量，實驗結果顯示 Actrl 老化誘導組的 GLB1 具有高於 Yctrl 空白對照組的趨勢，表示隨著老化的發生，細胞衰老的程度也會逐漸增加。介入白藜蘆醇的正控制組具有減低 GLB1 的趨勢，和低劑量 SACL 實驗組同樣能降低到與 Yctrl 組相同的水平，而高劑量 SACH 實驗組則能顯著降低 GLB1 表現量 (圖 4B)。利用螢光光譜儀檢測 SA- β gal 之結果和 GLB1 相似，Actrl 老化誘導組的 SA- β gal 顯著高於 Yctrl 空白對照組，而 Res 正控制組具延緩 SA- β gal 生合成之趨勢，介入高劑量樣品之 SACH 組同樣能顯著降低其含量 (圖 4C)。綜合上述結果，顯示樣品 SAC 能夠抑制 GLB1 的表現量，進而降低 SA- β gal 的生合成，達到延緩複製性衰老之功效。

【0075】 綜合上述實驗結果，顯示 SAC 在老化進程上，能夠減緩 DNA 損傷的可能、減少細胞衰老所誘發的溶酶體蛋白 GLB1 及 SA- β gal 生合成，而延緩了複製性衰老。

【0076】 於粒線體動態實驗中，將測試 SAC 對小鼠氧化壓力、粒線體生合成及粒線體動態基因之影響。於一較佳實施態樣中，該組合物係用於增進一使用者之粒線體之生合成效率，更佳地，該組合物係透過增進 SIRT1 之表現量及活化 PGC-1 α ，使該粒線體之生合成效率增進。

【0077】 實施例 6：氧化壓力測試

【0078】 不論生物體進行正常生理代謝，或是受到外界環境刺激，如空氣汙染、輻射或是病菌感染，都有可能產生活性氧及活性氮物質 (reactive

nitrogen species, RNS)，其中也包含具獨立不成對電子的自由基。當活性氧自由基攻擊細胞膜或是多元不飽和脂肪酸，就會產生脂質過氧化代謝物丙二醛 (malondialdehyde, MDA)，再利用 MDA 於低 pH 值、高溫條件下易與 TBA (thiobarbituric acid) 進行親核性加成反應的特性加以檢測之。

【0079】 本文所述之「自由基」係指身體經過新陳代謝後所產生的物質，活性極強，很容易與其他物質做反應。當組織器官受傷，會累積大量的自由基，它是一個不穩定的因子，會攻擊健康細胞，搶奪健康細胞的電子，引發細胞凋亡而導致老化。

【0080】 本發明利用小鼠肝臟蛋白萃取液檢測 MDA 濃度。結果顯示 MDA 的含量在 Actrl 老化誘導組中顯著高於 Yctrl 空白對照組，表示在老化鼠體內的氧化壓力明顯高於年輕鼠，而介入高劑量樣品 SAC 後則能顯著降低 MDA 含量 (圖 5A)，可見 SAC 對於降低脂質氧化壓力之能力。

【0081】 而當活性氧自由基攻擊到核苷酸，就有機率造成 Guanine 第 8 號碳接上一羥基而形成 8-OHdG，造成核酸 GC:TA 的置換，因此 8-OHdG 的含量常作為 DNA 氧化損傷的指標，當 8-OHdG 被 DNA 損傷修復酵素切除後，會釋放到唾液、尿液或是血漿中。而測定的物質大多使用尿液，因尿液檢體量較充足且為非入侵之方式，另外研究也指出 8-OHdG 的尿液排泄量等同於 Guanine 的氧化率。

【0082】 因此本發明亦在無外力刺激下，使小鼠自然排泄，並採集尿液作為樣本。測定結果顯示 Actrl 老化誘導組尿液 8-OHdG 顯著高於 Yctrl 空白對照組，顯示老化除了脂質容易受到氧化壓力，在核酸也容易受到活性氧自由基的攻擊，而使 DNA 損傷的比例增加。而此狀況在介入白藜蘆醇的正控制組有減緩之趨勢。不過在低劑量 SACL 實驗組，則能顯著降低

8-OHdG 的含量，並到達和年輕鼠相同之水平（圖 5B）。顯示 SAC 能有效預防老化相關的 DNA 氧化損傷增加。

【0083】綜合上述實驗結果，顯示 SAC 具有活化生物體抗氧化機制之潛力，而能有效地降低脂質以及 DNA 所受到的氧化壓力。同時因為氧化壓力的減輕，也延緩了生物體衰老的進程。

【0084】實施例 7：粒線體生合效率測試

【0085】由於演化的歷程，粒線體的蛋白並非透過細胞核編碼的基因進行轉錄、轉譯，而是由自身的環狀粒線體 DNA，負責編碼有氧呼吸所需要的 13 個蛋白。又因 mtDNA 的複製過程有別於細胞核，所以粒線體的生合成必須同時協調兩者所編碼的基因序列。PGC-1 α 在粒線體生合成中扮演重要角色，其為一種核受體，在被 SIRT1 去乙酰化後，能夠調控 NRF-1 (nuclear respiratory factor-1) 及 NRF-2 的表現或是提升 ERRs (estrogen-related receptors) 的活性，這幾種轉錄因子再去觸發細胞質中的 TFAM，使其轉移至粒線體的 D 環，活化粒線體基因的轉錄及複製。

【0086】本發明以西方墨點法檢測小鼠肝臟蛋白萃取液 SIRT1 及 PGC-1 α 的表現量。結果顯示，不論是 SIRT1 或是 PGC-1 α 的相對表現量，在 Actrl 老化誘導組都有低於 Yctrl 空白對照組的趨勢，顯示在老化個體中會有粒線體生合成減少之現象。過去文獻指出白藜蘆醇為 SIRT1 的促進劑，因此在本實驗正控制組確實顯著的提升了 SIRT1 與 PGC-1 α 的表現量。而介入樣品的 SACL 及 SACH 組，同樣顯著增加 SIRT1 的含量（圖 6A）；在 PGC-1 α 中則是低劑量 SACL 組顯著上調其表現量；SACH 組也觀測到有明顯數值的增加（圖 6B）。另外以 RT-qPCR 測定小鼠肝臟中 TFAM mRNA 的表現量，結果顯示 SACL 及 SACH 實驗組，相對於 Actrl

老化誘導組皆有上升之趨勢 (圖 6C)。

【0087】過去文獻指出，SIRT1 除了可以活化 PGC-1 α ，也可以透過將組蛋白去乙醯化調節 p53、FOXO (forkhead box O)、NF- κ B 等因子，增加生物體對環境壓力的抗性、抗發炎及平衡營養代謝路徑。過表達 SIRT1 的小鼠顯著的增加壽命，且展現出增加活動力與氧氣攝入等延緩老化之表徵。因此在本發明中，SAC 能夠提升 SIRT1 的表現量，進而活化其下游之一的 PGC-1 α ，讓粒線體的生合成增加，使細胞保有正常的氧化代謝，而減少如 MDA 及 8-OHdG 等氧化傷害 (圖 5A、5B)。

【0088】本發明萃取小鼠肝臟 mRNA，再透過 RT-qPCR 測定粒線體動態基因之表達量。在粒線體融合相關基因的實驗結果顯示，MFN1 在 Res 正控制組相比於 Actrl 老化誘導組有上升之趨勢；而介入 SAC 的實驗組也同樣朝此趨勢發展(圖 7A)。在 MFN2 則是各組間皆無統計上之意義 (圖 7B)，但由於此二融合蛋白相似性高，因此可以互相補足。而融合粒線體內膜與維持皺褶形態的關鍵基因 OPA1 在 Yctrl 空白對照組中有高於 Actrl 老化誘導組之趨勢，而不管是介入樣品 SAC 或是白藜蘆醇都能提高 OPA1 相對含量，尤其在樣品高劑量 SACH 組更能顯著提升其表達量 (圖 7C)。

【0089】綜上所述，顯示和延緩老化相關之生理現象大抵傾向於提升粒線體之融合。SAC 能夠透過活化融合反應，增加粒線體生合成之效率，因而觀察到 SIRT1 及 PGC-1 α 的上升 (圖 6A、6B) 與氧化壓力的降低 (圖 5)，同時使整體活動力提升 (圖 1F)，顯示 SAC 透過促進粒線體融合而使 ATP 產量增加，最終達到延緩老化之效能。

【0090】綜上所述，雄性自然老化小鼠在介入 SAC 後，外顯表徵上，具有減少體脂肪蓄積、延緩肌肉量流失之潛力，進而防止整體活動力之衰退。在

知覺情緒上，能顯著改善老化相關焦慮樣行為。另外，血清生化值顯示介入 SAC 後能降低總膽固醇，並具有肝臟、腎臟保護效益，使生理狀態較趨近於年輕鼠。而在生化數值顯示，介入 SAC 後能降低肝臟 DNA 損傷指標 γ -H2AX、複製衰老指標 GLB1 及 SA- β gal，達到延緩老化之效能。

【0091】 接著進一步探究相關分子機制，發現介入 SAC 後，能夠顯著提升肝臟粒線體融合相關基因 OPA1 mRNA 的表達量，進而促進粒線體合成相關蛋白 SIRT1 及 PGC-1 α 的含量，因改善了粒線體動態而使抗氧化酵素 SOD 具上升趨勢；氧化壓力 MDA 及 8-OHdG 則顯著下降，進而達到延長健康壽命之效果。

【0092】 本文中，所提供的所有範圍旨在包括在給定之範圍內的每個特定範圍以及在該給定範圍之間的子範圍的組合。此外，除非另有說明，否則本文提供的所有範圍皆包括所述範圍的端點。從而，範圍 1-5 具體包括 1、2、3、4 和 5，以及諸如 2-5、3-5、2-3、2-4、1-4 等子範圍。

【0093】 在本說明書中引用的所有刊物和專利申請案皆透過引用併入本文，並且出於任何及所有目的，每一個別刊物或專利申請案皆明確且個別地指出以透過引用併入本文。在本文與透過引用併入本文的任何刊物或專利申請案之間存在不一致的情況下，以本文為準。

【0094】 以上已將本發明做一詳細說明，惟以上所述者，僅惟本發明之較佳實施例而已，當不能以此限定本發明實施之範圍，即凡依本發明申請專利範圍所作之均等變化與修飾，皆應仍屬本發明之專利涵蓋範圍內。

【符號說明】

【0095】 無

【生物材料寄存】

【0096】 無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種 S-烯丙基半胱氨酸(S-allylcysteine, SCA)之用途，其係用以製備延緩老化及預防老年疾病之組合物。

【請求項2】 如請求項 1 之用途，其中，該組合物係用於降低一使用者之體脂肪膽固醇、三酸甘油酯或低密度脂蛋白，及增進該使用者之肌肉量。

【請求項3】 如請求項 1 之用途，其中，該組合物係用於減緩因老化而引發的焦慮行為。

【請求項4】 如請求項 1 之用途，其中，該組合物係用於減緩肝臟或腎臟之機能衰退。

【請求項5】 如請求項 1 之用途，其中，該組合物係用於預防 DNA 損傷或免疫衰老。

【請求項6】 如請求項 5 之用途，其中，該組合物係用於降低細胞衰老而引發的 GLB1 及 SA- β gal 之合成。

【請求項7】 如請求項 1 之用途，其中，該組合物係用於增進一使用者之粒線體之生合成效率。

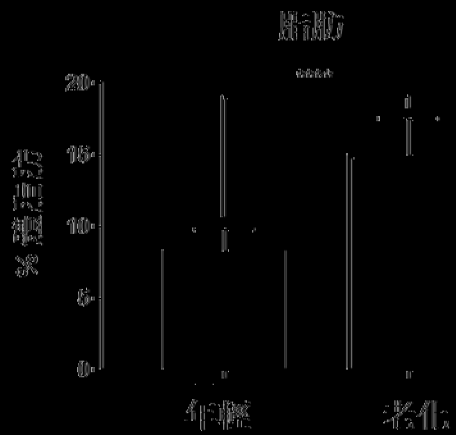
【請求項8】 如請求項 6 之用途，其中，該組合物係透過增進 SIRT1 之表現量及活化 PGC-1 α ，使該粒線體之生合成效率增進。

【請求項9】 如請求項 1 至 8 任一項之用途，其中，該 SCA 之有效劑量為 12.2 至 48.6 mg/kg。

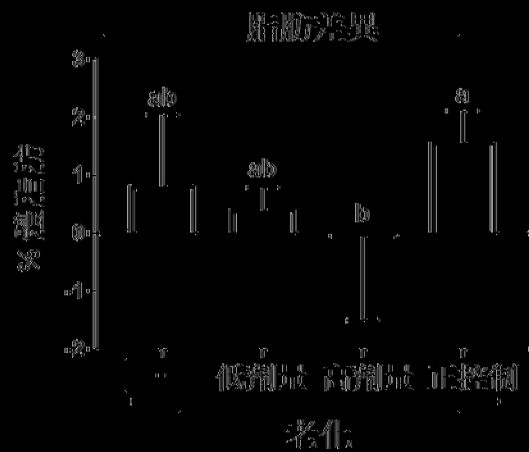
【請求項10】 如請求項 9 之用途，其中，該 SCA 之有效劑量為 30 至 48.6 mg/kg。

(發明圖式)

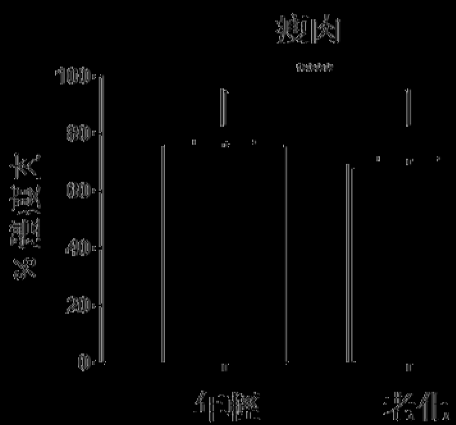
(A)



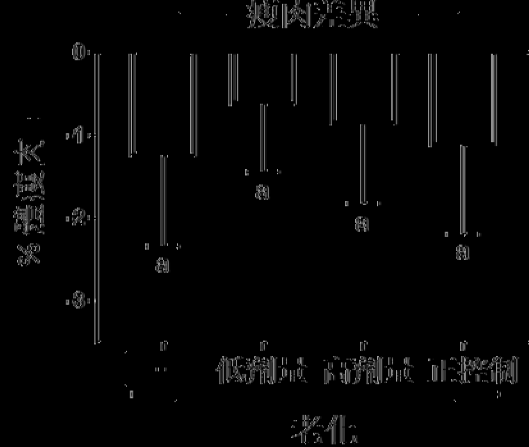
(B)



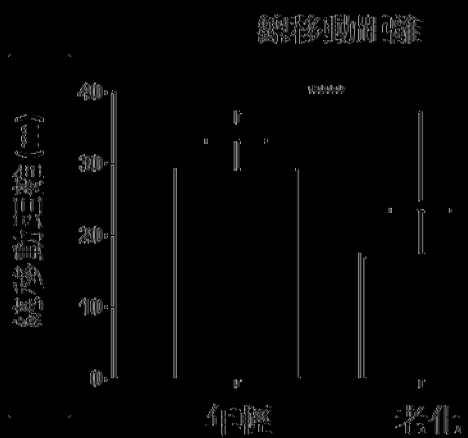
(C)



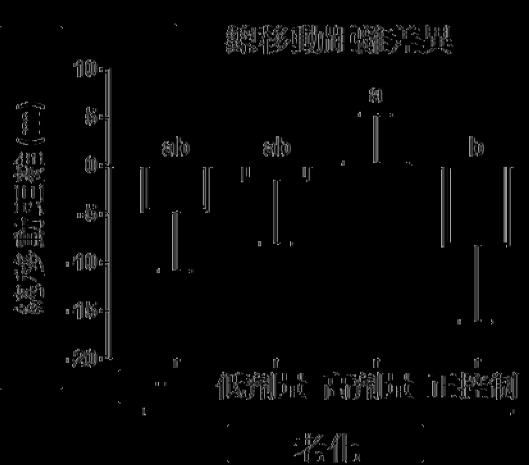
(D)



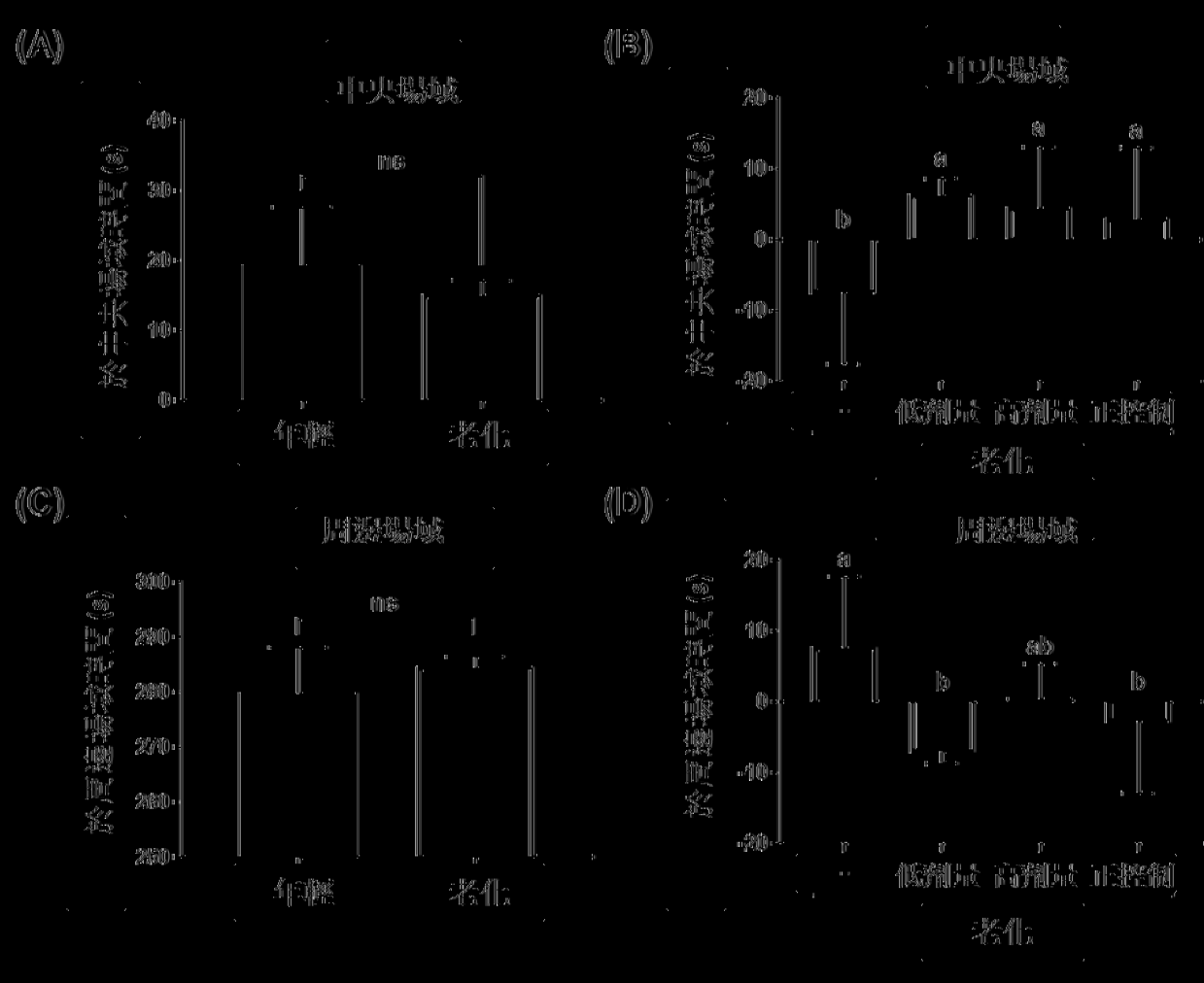
(E)



(F)

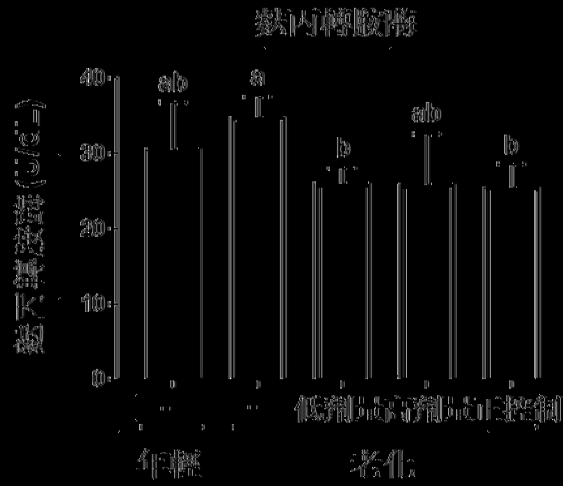


(1/1)

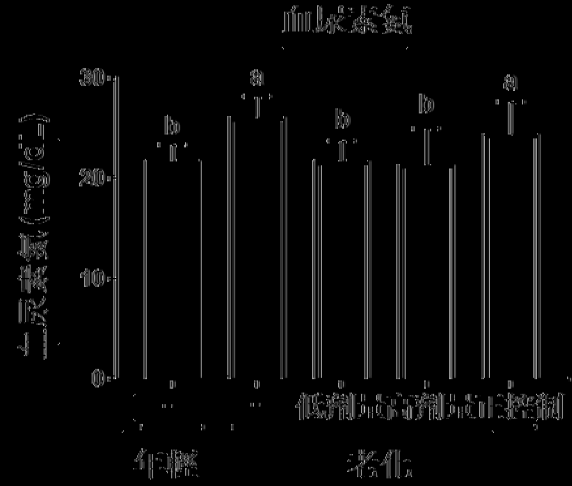


(圖2)

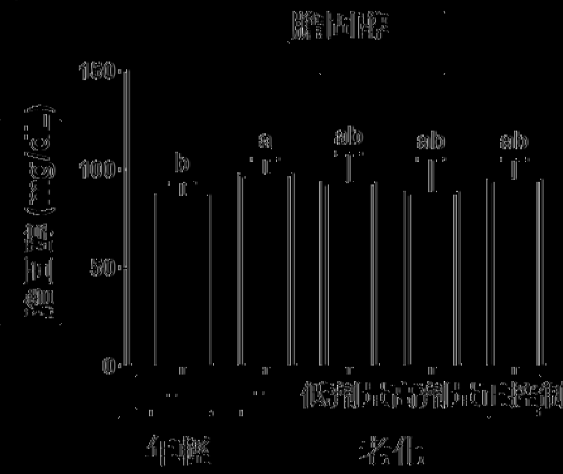
(A)



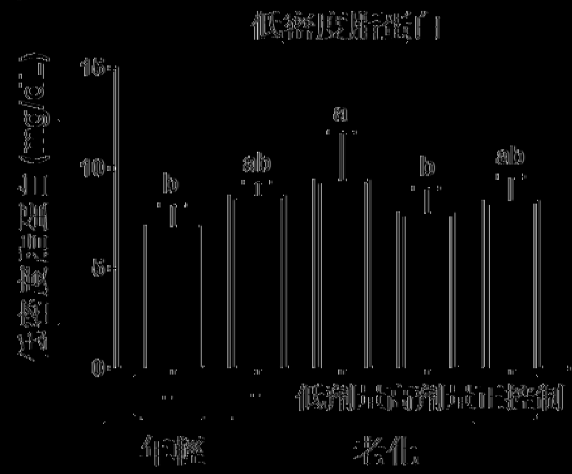
(B)



(C)

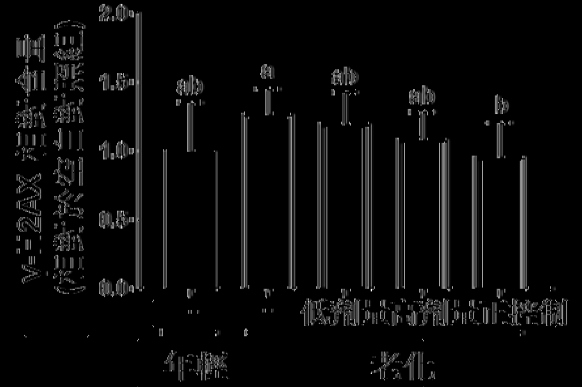
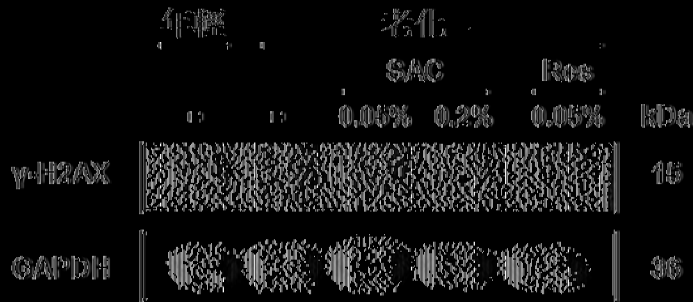


(D)

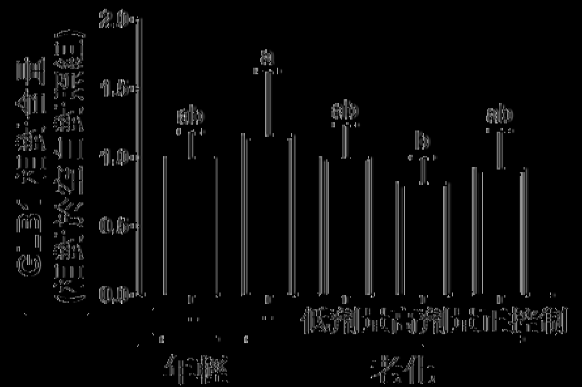
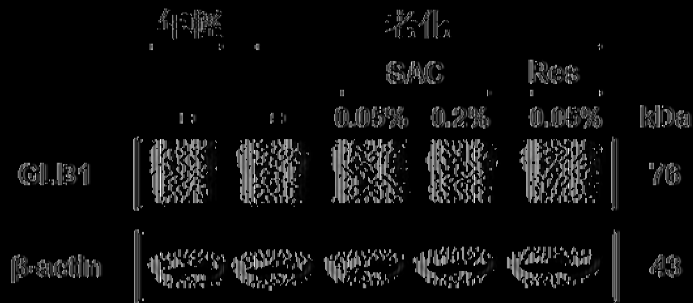


(13)

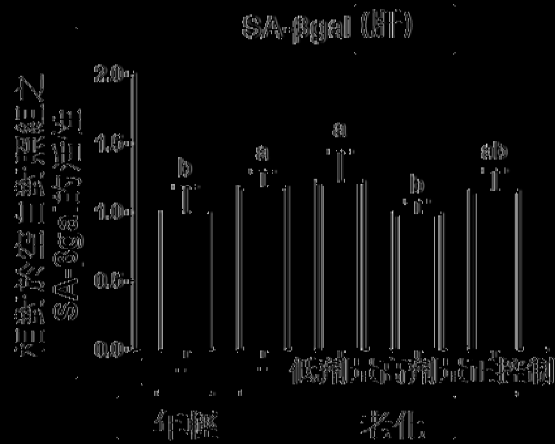
(A)



(B)

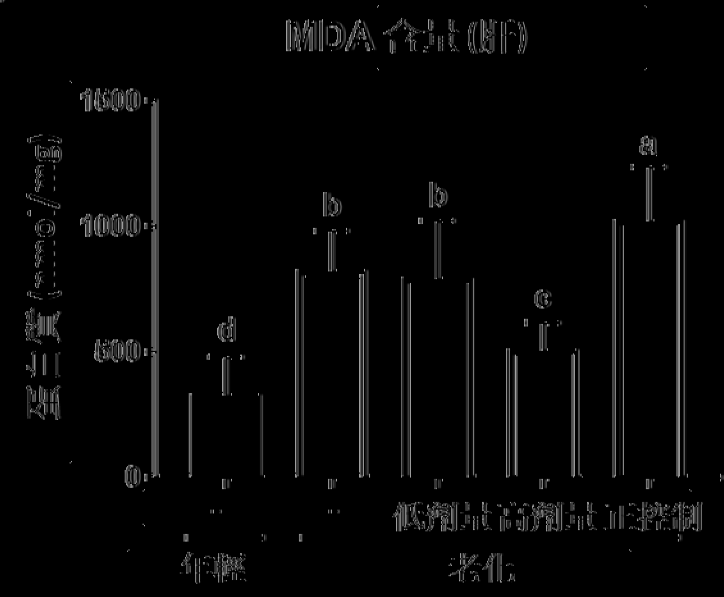


(C)

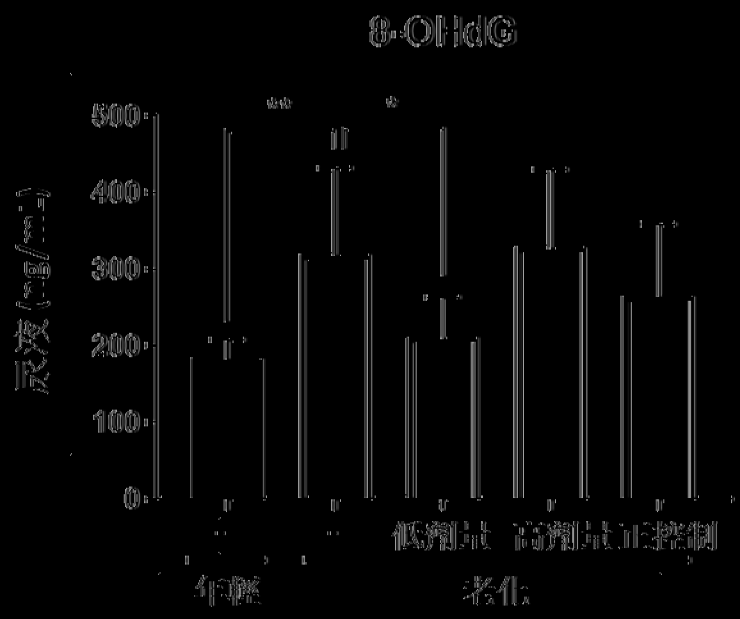


(1/4)

(A)

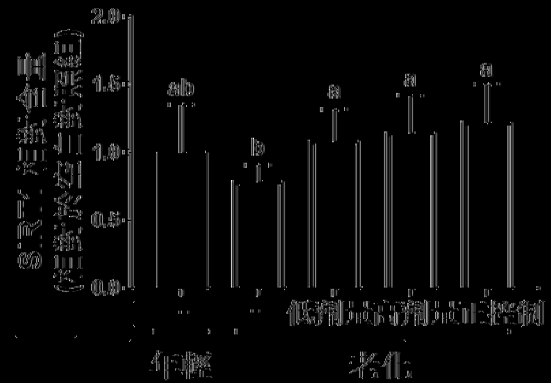
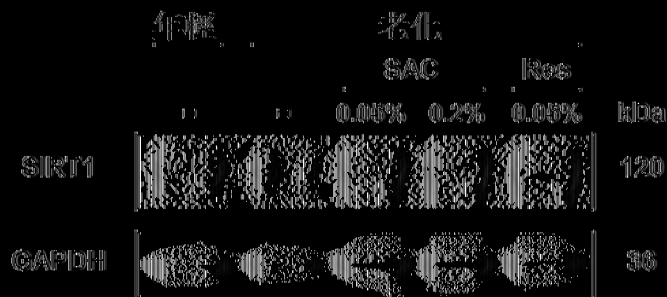


(B)

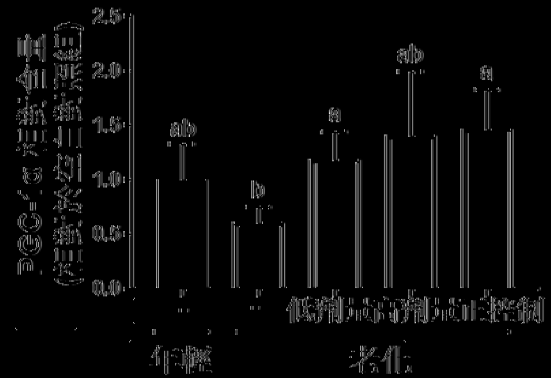
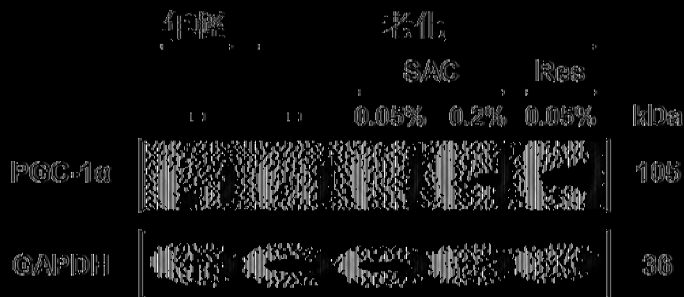


(B)5

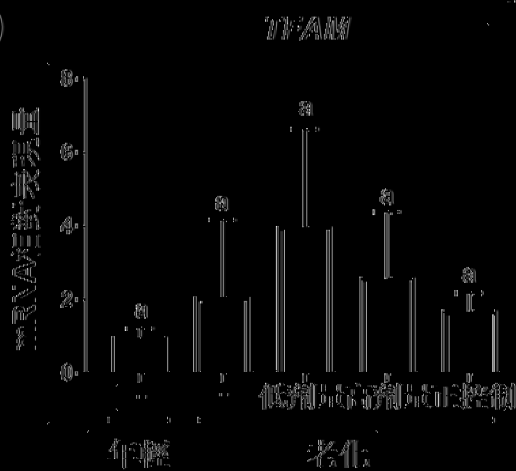
(A)



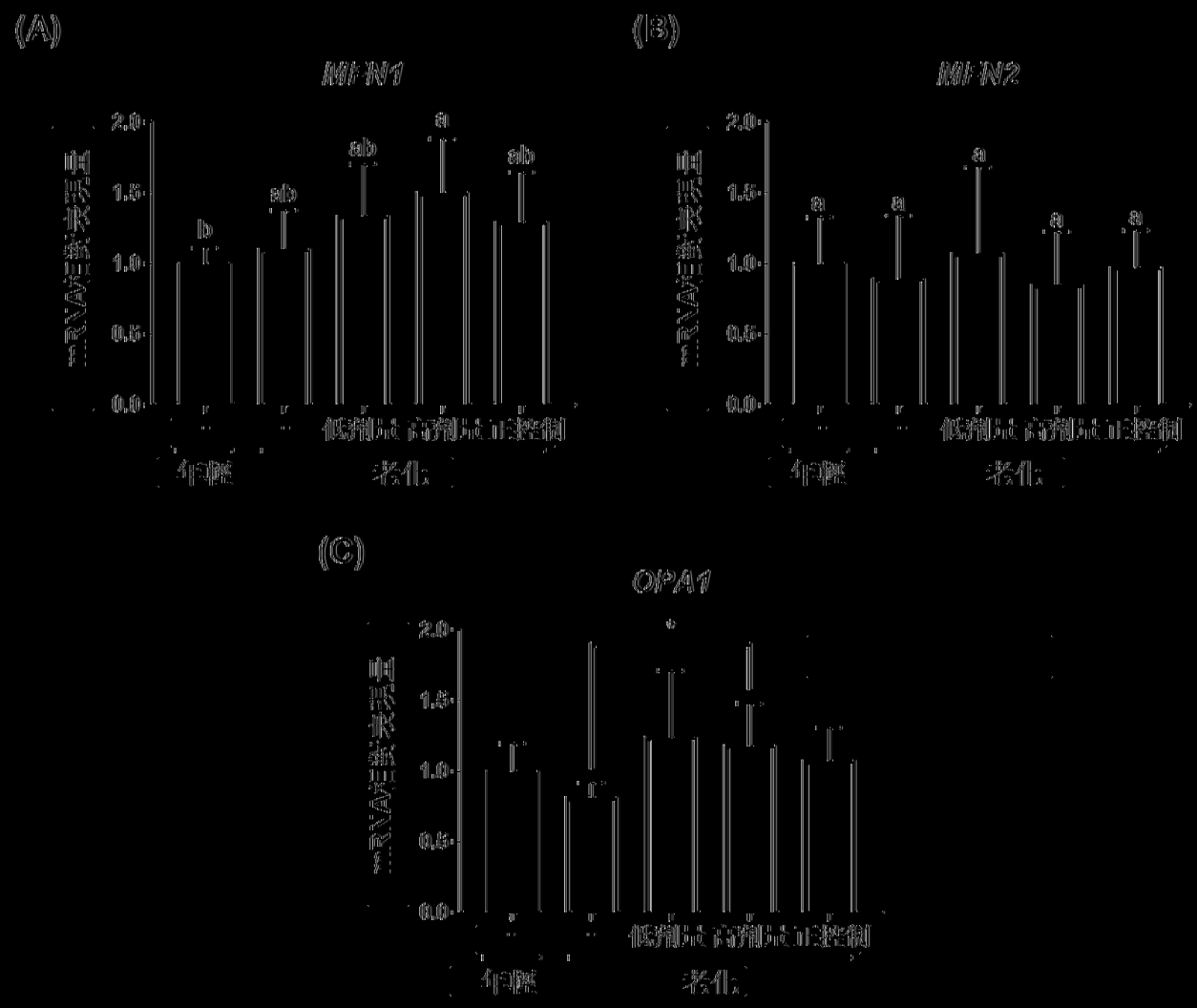
(B)



(C)



(圖6)



$$\left(\begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \right)^T$$