



營養學系 / 楊乃成 老師

題目：Using Taguchi method to determine the optimum conditions for synthesizing parapyruvate

作者群：Inn Lee and Nae-Cherng Yang*

發表期刊：Molecules

網址：<https://doi.org/10.3390/molecules27061870>

影響係數：4.927

摘要：

Parapyruvate是丙酮酸膳食補充品之原料產製過程中的副產物，是由兩分子的丙酮酸進行醛醇加成反應 (aldol addition) 所形成的雙分子聚合物，具有抑制三羧酸循環中重要酵素 α -酮戊二酸去氫酶複合物(α -ketoglutarate dehydrogenase complex; KGDHC)的作用。已知KGDHC活性降低是阿滋海默症及帕金森氏症等老化相關之神經退化性疾病重要的致病機轉之一，因此，parapyruvate的合成對於分析parapyruvate在丙酮酸膳食補充品中的含量，以及研究與老化相關的神經退化性疾病具有重要的意義。然而，目前市面上尚未供應parapyruvate純品，因此，本研究室成功的開發合成parapyruvate的方法。開發的過程可以分成二個階段，第一階段我們成功的利用鹼處理及溶劑結晶的程序合成parapyruvate純品，然而，初步的合成方法產率只有49.5%，因此，第二階段進一步我們利用田口法的L9直交表來探討丙酮酸以鹼處理製備parapyruvate純品，以及進行溶劑結晶步驟的最適化條件，本研究各步驟測試的控制因子及水準請參本文內容，結果顯示產製parapyruvate的最適化條件分別為：第一步驟pyruvic acid經鹼處理合成parapyruvate初製備液的最適化條件為A3B3C1D1；第二步驟為第一次溶劑結晶，最佳溶劑為acetone，最適化條件為A2B1C3D3；第三步驟為第二次溶劑結晶，最佳溶劑為ethanol，最適化條件為A3B1C3D3。最後結合所有最適化條件可以製備出純度達99.8%，產率達72.8%的parapyruvate晶體，最適化條件結果可以顯著的提升產率。本研究亦揭露影響parapyruvate產率的主要因素是丙酮酸（反應物）的濃度、鹼處理的pH值、結晶所用的溶劑種類和結晶所用溶劑的體積比。此外，本研究亦探討parapyruvate抑制KGDHC的酵素動力學，結果顯示parapyruvate是可逆的KGDHC競爭型抑制劑。

本研究所開發的產製parapyruvate方法，業已取得中華民國專利(發明I655184號：2-羥基-2-甲基-4-酮基戊二酸之製造方法)。

本實驗室利用所產製的parapyruvate純品，已開始進行一系列相關的研究，成果正在陸續發表中，包括：

- 1.研究parapyruvate藉由抑制KGDHC酵素活性，導致人類Hs68細胞衰老的能力及機制。
- 2.分析市售丙酮酸膳食補充品中parapyruvate含量，並以獲得的含量轉換適當的劑量，進行小鼠水迷宮試驗，探討parapyruvate產生學習和記憶障礙的能力，以及對腦組織神經退化標記的影響，以瞭解市售產品中parapyruvate是否可能引起食安的問題。
- 3.探討parapyruvate誘發線蟲壽命縮短的作用及機制。
- 4.利用parapyruvate抑制KGDHC活性，研究KGDHC在線蟲壽命調控的機制上扮演的角色。
- 5.利用parapyruvate誘發小鼠神經退化的作用，開發化學誘導神經退化的模式，用於抗神經退化之營養素或藥物的篩選。
- 6.利用parapyruvate誘發小鼠衰老的作用，開發化學誘導小鼠衰老的模式，用於抗老化之營養素或藥物的篩選。