

## PC08: การสังเคราะห์ [ $^{125}$ I] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine เพื่อศึกษาการทำงานของตัวขนถ่ายสารสื่อประสาทซีโรโทนิน

\*สมจิตต์ ปาละกาศ<sup>1,2</sup> จอห์นนี่ แวร์กูยี่<sup>2</sup> ปาทริก เออมงด์<sup>2</sup> และ เดอนี กิลโยโต<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลาดยาว จตุจักร

กรุงเทพมหานคร 10900 Email: psdscp@ku.ac.th

<sup>2</sup> INSERM U930, 37000 TOURS, France; Université François-Rabelais de Tours, 37000 TOURS, France.

Email: emond@univ-tours.fr

<sup>3</sup> CHRU, Hôpital Bretonneau, Service de Médecine Nucléaire, 37044 TOURS, France.

Email: denis.guilloteau@univ-tours.fr

### บทคัดย่อ

ตัวขนถ่ายซีโรโทนิน (T-5-HT) มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมปริมาณและระยะเวลาการทำงานของซีโรโทนินซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่ควบคุมวงจรการนอนหลับ การสร้างอารมณ์ขึ้นและการเจริญอาหาร การสูญเสียความสมดุลเนื่องจากการขนถ่ายซีโรโทนินสามารถเห็นขบวนการให้เกิดความเสื่อมของระบบประสาทส่วนกลางอันเป็นสาเหตุของโรคความจำเสื่อม โรคพาร์กินสันและโรคซึมเศร้า ในการศึกษาครั้งนี้ ได้สังเคราะห์สารเภสัชรังสีที่เป็นอนุพันธ์ของ 2-[[2-((diméthylamino)méthyl)phényl]thio]-5-iodophénylamine (ADAM) คือ [ $^{125}$ I] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine ในการสังเคราะห์ทางเคมีได้ย้ายอะตอมไอโอดีนจากวงแหวน aniline ของ ADAM ไปอยู่บนวงแหวน *N,N*-diméthyl benzylamine และเมื่อติดฉลากด้วยไอโอดีน-125 พบว่ามีประสิทธิภาพการติดฉลากร้อยละ 60 ซึ่งคาดว่าจะมีประโยชน์เพื่อใช้ในการศึกษาการทำงานของตัวขนถ่ายซีโรโทนินต่อไป

คำสำคัญ: ซีโรโทนิน ตัวขนถ่ายซีโรโทนิน ADAM อนุพันธ์ของ ADAM

## Synthesis of [ $^{125}$ I] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine for Serotonin Transporter Exploration

\*Palakas S.,<sup>1,2</sup> Vercouillie J.,<sup>2</sup> Emond P.,<sup>2</sup> and Guilloteau D.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Department of Applied Radiation and Isotopes, Faculty of Science, Kasetsart University, Ladyao, Chatuchak,  
Bangkok 10900 Thailand. Email: psdscp@ku.ac.th

<sup>2</sup> INSERM U930, 37000 TOURS, France; Université François-Rabelais de Tours, 37000 TOURS, France.  
Email: emond@univ-tours.fr

<sup>3</sup> CHRU, Hôpital Bretonneau, Service de Médecine Nucléaire, 37044 TOURS, France. Email:  
denis.guilloteau@univ-tours.fr

### Abstract

Serotonin transporter (T-5-HT) plays an important roles in the control of serotonergic neurotransmission in both amplitude and interaction period. The imbalance in serotonergic neurotransmission leads to neuropsychiatric symptom such as depression and in neurodegenerative diseases, Parkinson and Alzheimer diseases. In the present study, the [ $^{125}$ I] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine, a derivative of the 2-[[2-((dimethylamino)methyl)phenyl]thio]-5-iodophenylamine (ADAM) was synthesized with iodine atom transferred from aniline ring of ADAM to the *N,N*-dimethyl benzylamine ring by chemical synthesis. The I-125 labeling efficiency was 60%. It is expected that this will be useful for serotonin transporter exploration.

**คำสำคัญ:** serotonin serotonin transporter ADAM ADAM derivative

### คำนำ

ตัวขนส่งสารสื่อประสาทชนิดซีโรโทนิน (serotonine transporter, T-5-HT) มีบทบาทสำคัญในการควบคุมปริมาณและระยะเวลาการทำงานของซีโรโทนินที่ทำหน้าที่ควบคุมวงจรการนอนหลับ การสร้างอารมณ์ขึ้นและการเจริญอาหาร การทำงานของตัวขนส่งซีโรโทนินเป็นสาเหตุสำคัญของ การสูญเสียสมดุลของสารสื่อประสาทชนิดนี้และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดปัญหาสุขภาพและความเจ็บป่วยเนื่องจากความเสื่อมของระบบประสาทส่วนกลาง เช่น โรคซึมเศร้า<sup>1-2</sup> โรคพาร์กินสันและอัลไซเมอร์<sup>3</sup> และมีผลงานการศึกษาหลายชิ้นที่ยืนยันว่า T-5-HT เป็นเป้าหมายสำคัญของยาที่ใช้ในการรักษาโรคซึมเศร้า<sup>4-8</sup> และได้กล่าวถึงการตรวจวินิจฉัยโดยใช้ไลแกนด์ที่ติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีที่มีความจำเพาะกับ T-5-HT ที่จะช่วยให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการอธิบายการทำงานของตัวขนส่งสารสื่อประสาทชนิดนี้และเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการวินิจฉัย รวมทั้ง การกำหนดแนวทางในการบำบัดอาการเจ็บป่วยที่เกี่ยวข้องได้

ในการพัฒนาไลแกนค์เพื่อศึกษาการทำงานของ T-5-HT ได้มีการสังเคราะห์ตัวติดตามติดฉลากเพื่อใช้ประโยชน์ในการศึกษาหลายโมเลกุล เช่น [ $^{11}\text{C}$ ](+)-McN-5652<sup>9</sup>, 5-iodo-6-nitroquipazine<sup>10</sup> หรือ สารอนุพันธ์ของโคเคน เช่น  $\beta$ -CIT<sup>11</sup> และ nor- $\beta$ -CIT<sup>12</sup> แต่ยังไม่พบไลแกนค์ที่มีความจำเพาะกับตัวขนถ่ายชนิดนี้และตัวติดตามที่พัฒนาขึ้นยังไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการศึกษาแบบภายในร่างกายของมนุษย์ได้ ทั้งนี้ ไลแกนค์ที่น่าสนใจและคาดว่าจะมีศักยภาพสำหรับการศึกษาการทำงานของ T-5-HT คือ อนุพันธ์ของ 403U76 หรือ 5-chloro-2-[2-[dimethylaminomethyl] phenylthio]benzyl alcohol เช่น 5-iodo-2-[2-((dimethylamino)methyl)phenyl]thio] benzyl alcohol (IDAM)<sup>13</sup>, 5-iodo-2-[2-[(dimethylamino)methyl] phenoxy]benzyl alcohol (ODAM)<sup>14</sup>, 2-[2-((dimethylamino)methyl)phenyl]thio]-5-bromoaniline (BrADAM)<sup>13</sup>, และ 2-[2-((dimethylamino)methyl)phenyl]thio]-5-iodophenylamine (ADAM)<sup>15</sup>

สำหรับการศึกษาได้ให้ความสำคัญกับการพัฒนาโมเลกุลติดฉลากที่สลายตัวให้รังสีแกมมาสำหรับศึกษาการทำงานของ T-5-HT โดยได้เลือกสังเคราะห์ 2-aminophenylthio-5-iodo-N,N-dimethyl benzylamine ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ 2-[2-((dimethylamino)methyl)phenyl]thio]-5-iodophenylamine (ADAM) โดยได้ย้ายอะตอมไอโอดีนจากวงแหวน aniline ของ ADAM ไปอยู่บนวงแหวน N,N-dimethyl benzylamine โดยขั้นตอนสำคัญของการสังเคราะห์ คือ การเตรียม stannic precursor เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์อนุพันธ์ของ ADAM ตามที่กำหนดและการติดฉลากด้วยไอโอดีน-125

## วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

### สารเคมี

การสังเคราะห์ทางเคมีได้ดำเนินการโดยใช้ปฏิกิริยาและอุปกรณ์ประกอบที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ในแต่ละขั้นตอน สารเคมีที่ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ของ Sigma Aldrich โดยเป็นสารเคมีในระดับคุณภาพสำหรับงานวิเคราะห์ สำหรับตัวทำละลายต่างๆ ได้นำมาทำให้ปราศจากน้ำด้วยการกลั่นลำดับส่วนก่อนการใช้งาน

### การติดตามการเกิดปฏิกิริยาและการแยกบริสุทธิ์

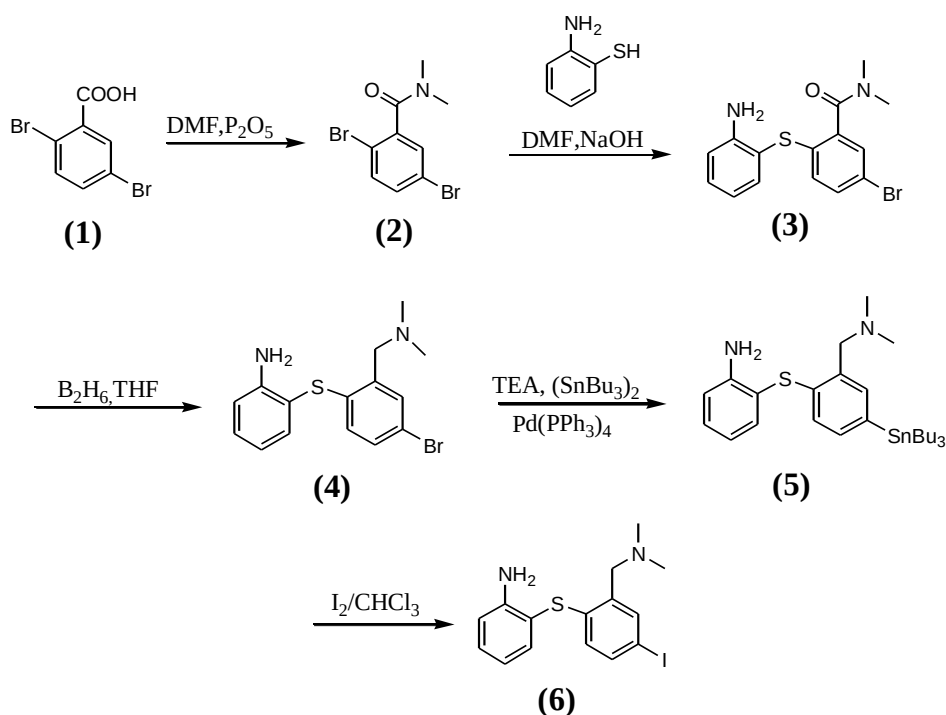
การติดตามการเกิดปฏิกิริยาได้ใช้วิธีโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบางโดยใช้แผ่นซิลิกาเจล Kieselgel 60F-254 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของ Merck สำหรับ การแยกบริสุทธิ์สารสังเคราะห์ในแต่ละขั้นตอนได้ใช้วิธี flash-chromatography<sup>16</sup> โดยใช้ซิลิกาเจลซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของ Merck ขนาด 230-400 เมช

## การวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุล

ในการระบุเอกลักษณ์ของสารสังเคราะห์ได้อาศัยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Nuclear Magnetic Resonance (Brüker DPX Avance 200: ใช้ความถี่ 200,13 MHz สำหรับการวิเคราะห์โปรตอน ( $^1\text{H}$ ) และความถี่ 50,32 MHz สำหรับการวิเคราะห์คาร์บอน-13 ( $^{13}\text{C}$ ) โดยใช้  $\text{CDCl}_3$  เป็นตัวทำละลาย ผลการวิเคราะห์ chemical displacement ( $\delta$ ) ได้แสดงในหน่วยส่วนต่อล้านส่วน (ppm) โดยเป็นค่าสัมพัทธ์ของ tetramethylsilane (TMS) ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานภายใน สำหรับค่า coupling constants ได้แสดงในหน่วยเฮิร์ต (Hz) ส่วนจำนวนของสัญญาณได้ใช้อักษรย่อ คือ s-singlet, d-doublet, t-triplet, และ m-multiplet หรือ massif complex สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค mass spectrometry ได้ใช้ electronic impact เท่ากับ 70 eV โดยใช้เครื่อง spectrography H.P.5989A ที่เชื่อมกับเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

## การสังเคราะห์ทางเคมี

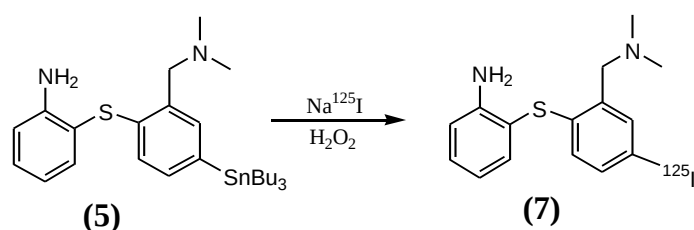
กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีได้แสดงไว้ในภาพที่ 1 โดยขั้นตอนสำคัญของการสังเคราะห์ทางเคมี คือ การเตรียม stannic precursor เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายที่มีไอโซโทปเสถียรของไอโอดีนเป็นองค์ประกอบและการติดฉลากด้วยไอโอดีน-125 โดยภาพรวมของการสังเคราะห์สามารถแบ่งเป็น 5 ขั้นตอน



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการสังเคราะห์ stannic precursor และโมเลกุลเป้าหมายที่มีไอโอดีนเสถียรเป็นองค์ประกอบ

## การติดฉลากด้วยไอโอดีน-125

การติดฉลากด้วยไอโซโทปกัมมันตรังสี คือ ไอโอดีน-125 ได้ดำเนินการตามวิธีการที่แสดงในภาพที่ 2 ที่ใช้การแทนที่หมู่ที่ซอบิเลคตรอนบนวงแหวนแอโรมาติก คือ  $\text{SnBu}_3$  ในสารตั้งต้นสำหรับการติดฉลาก หรือ stannic precursor (5) ด้วยไอโอดีน-125 โดยการผลิติดิออนบวกของไอโอดีน (iodonium cation,  $^{125}\text{I}^+$ ) แบบ *in situ* จากปฏิกิริยาระหว่าง  $\text{Na}^{125}\text{I}$  และ  $\text{H}_2\text{O}_2$



ภาพที่ 2 การติดฉลากด้วยไอโอดีน-125

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### การสังเคราะห์ทางเคมี

ในการศึกษานี้ ได้สังเคราะห์ 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (6, ภาพที่ 1) โดยใช้กรด 2,5-dibromobenzoic acid (1, ภาพที่ 1) เป็นสารตั้งต้น มีขั้นตอนการสังเคราะห์รวม 5 ขั้นตอน ขั้นตอนสำคัญ คือ การสังเคราะห์ stannic precursor เพื่อใช้ในการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายและการติดฉลากด้วยไอโอดีน-125 ได้จากขั้นตอนที่ 4 ของการสังเคราะห์ ผลการสังเคราะห์และการวิเคราะห์โมเลกุลที่สังเคราะห์ได้ ประกอบด้วย

ขั้นตอนแรกเป็นการสังเคราะห์ 2,5-dibromo-dimethyl benzamide (2) โดยใช้กรด 2,5-dibromobenzoic acid (1) และ dimethylformamide โดยในสภาพที่มี  $\text{P}_2\text{O}_5$  เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในการสังเคราะห์ได้ดำเนินการโดยละลายกรด 2,5-dibromobenzoic acid (3 กรัม หรือ 10.72 มิลลิโมล) ใน dimethyl formamide ที่ปราศจากน้ำปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนถึง 50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม  $\text{P}_2\text{O}_5$  (820 กรัม หรือ 5.6 mmole) แล้วให้ความร้อนเพื่อให้เกิดการกลั่นย้อนกลับ (reflux) ที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 ชั่วโมง ก่อนจะนำมาแยกส่วนที่เป็นของเหลวออก ผลิตภัณฑ์ 2,5-dibromo-*N,N*-dimethyl benzamide (2) ที่ได้อยู่ในรูปของแข็งสีเหลือง โดยมีประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ร้อยละ 100 สำหรับ ผลการวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุล พบว่า  $^1\text{H}$  RMN:  $\delta$  2.91 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 3.16 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 7.36-7.49 (m, 3H)  $^{13}\text{C}$  RMN:  $\delta$  35.2 ( $\text{N-CH}_3$ );

38.7 (N-CH<sub>3</sub>); 118.2 (C-Br); 122.1 (C-Br); 131.1 (C-Har); 133.8 (C-Har); 134.6 (C-Har); 140.3 (Car); 168.3 (CO) **MS (m/e):** 306 (M<sup>+</sup>, 59); 263 (100); 75 (90); 42 (72)

ขั้นตอนที่สอง คือ การสังเคราะห์ 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzamide (**3**) ได้สังเคราะห์โดยอาศัยปฏิกิริยาการเติม thioaniline เข้าไปในสารประกอบ (**2**) ด้วยกระบวนการ nucleophilic aromatic substitution<sup>17-19</sup> ซึ่งจำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายมีขั้ว เช่น dimethylformamide, dimethylacetamide หรือ dimethylsulfoxide ในสภาพที่เป็นเบส ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ dimethylformamide (DMF) เป็นตัวทำละลาย ซึ่งได้ดำเนินการโดยละลาย 2,5-dibromo-*N,N*-dimethyl benzamide (**2**) (393 มิลลิกรัม หรือ 1.28 มิลลิโมล) ใน dimethyl formamide ที่ปราศจากน้ำปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ (140 มิลลิกรัม หรือ 3.5 มิลลิโมล) และ 2-thioaniline (194 มิลลิกรัม หรือ 1.54 มิลลิโมล) จากนั้นนำไปให้ความร้อนเพื่อให้เกิดการกลั่นย้อนกลับที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง นำมาทิ้งให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องแล้วไฮโดรไลซ์ด้วยน้ำเย็นจัด นำมาสกัดด้วย คลอโรฟอร์ม แยกส่วนที่เป็น organic phase มาระเหยด้วยวิธีลดความดันแยกบริสุทธิ์ผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี flash-chromatography (SiO<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O) ได้ผลิตภัณฑ์ 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzamide (**3**) ในรูปน้ำมันสีเขียว โดยมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ ร้อยละ 31 สำหรับ การวิเคราะห์ โครงสร้างโมเลกุล พบว่า <sup>1</sup>H RMN: **δ** 2.76 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 3.03 (s, 3H, N-CH<sub>3</sub>); 4.21 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 6.64-6.74 (m, 2Har); 6.8 (dd, 1Har, <sup>3</sup>J = 8.4 Hz, <sup>4</sup>J = 2.4 Hz); 6.89 (d, 1Har, <sup>4</sup>J = 2.1 Hz); 7.19 (ddd, 1Har, <sup>3</sup>J = 7.4 Hz, <sup>4</sup>J = 1.6 Hz); 7.31 (d, 1Har, <sup>3</sup>J = 8.5 Hz); 7.36 (dd, 1Har, <sup>3</sup>J = 7.6 Hz, <sup>4</sup>J = 1.3 Hz) <sup>13</sup>C RMN: **δ** 35.1 (N-CH<sub>3</sub>); 38.6 (N-CH<sub>3</sub>); 112.8 (Car); 115.8 (Car); 116.0 (CHar); 119.2 (CHar); 125.3 (CHar); 128.0 (CHar); 132.2 (CHar); 133.5 (CHar); 137.9 (CHar) ; 138,1 (Car); 139.3 (Car); 149.4 (Car); 169.1 (CO) **MS (m/e):** 352(M<sup>+</sup>,79); 350(81); 308 (40); 306 (47); 228 (37); 226 (47); 199(84); 198(100); 80(84); 42(45)

ขั้นตอนที่สาม คือ การรีดิวซ์หมู่ฟังก์ชันอามิดของสารประกอบ (**3**) เพื่อให้เป็นหมู่ฟังก์ชันอามีนเพื่อให้ได้ 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzylamine (**4**) โดยใช้ตัวรีดิวซ์ เช่น diborane หรือ LAH ที่ 75 องศาเซลเซียส<sup>17</sup> ซึ่งได้สังเคราะห์โดยละลาย 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzamide (**3**) (486 มิลลิกรัม หรือ 1.38 มิลลิโมล) ใน THF ปริมาตร 4.2 มิลลิลิตร แล้วเติม B<sub>2</sub>H<sub>6</sub> ใน THF ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 8.3 มิลลิลิตร (8.3 มิลลิโมล) โดยเติมทีละหยด จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำมาทิ้งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสแล้วไฮโดรไลซ์ด้วยกรดเกลือเข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม นำส่วนของ organic phase มาระเหยด้วยการลดความดันก่อนจะนำมาแยกบริสุทธิ์ด้วยวิธี flash-chromatography

(ether/petroleum ether/triethylamine: 90/20/10) ได้ผลิตภัณฑ์ 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzamine (**4**) บริสุทธิ์ โดยมีประสิทธิภาพการสังเคราะห์ เท่ากับ ร้อยละ 68 สำหรับ การวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุล พบว่า  $^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  2.21 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 3.38 (s, 2H,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 4.23 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 6.64-6.73 (m, 3Har); 7.5 (dd, 1Har,  $^3\text{J} = 7.7 \text{ Hz}$ ,  $^4\text{J} = 1.6 \text{ Hz}$ ); 7.21 (d, 1Har,  $^4\text{J} = 2.3 \text{ Hz}$ ); 7.29 (d, 1Har,  $^3\text{J} = 8.4 \text{ Hz}$ ); 7.38 (dd, 1Har,  $^3\text{J} = 8.1$ ,  $^4\text{J} = 1.7 \text{ Hz}$ )  $^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  46.0 ( $\text{N}-\text{CH}_3$ ); 63.5 ( $\text{CH}_2-\text{N}$ ); 114.4 (Car); 115.8 (CHar); 119.2 (CHar); 121.8 (Car); 126.8 (CHar); 129.4 (CHar); 131.8 (CHar); 133.6 (CHar); 136.8 (Car); 137.8 (CHar); 139.1 (Car); 149.2 (Car) **MS (m/e)**: 58 ( $\text{M}^+$ , 100)

ขั้นตอนที่สี่เป็นการสังเคราะห์ stannic precursor เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โมเลกุลเป้าหมายและเพื่อให้สามารถติดตามด้วยไอโซโทปกัมมันตรังสีของไอโอดีน โดยสังเคราะห์ 2-aminophenylthio-5-tributylstannyl-*N,N*-dimethyl benzylamine (**5**) ที่อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบ (**4**) กับ hexabutylditin ใน triethylamine โดยใช้พลาเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา<sup>15</sup> ซึ่งสังเคราะห์โดยละลาย 2-aminophenylthio-5-bromo-*N,N*-dimethyl benzamine (**4**) (390 มิลลิกรัม หรือ 1.16 มิลลิโมล) ใน triethylamine ปริมาตร 13 มิลลิลิตร แล้วเติม  $(\text{SnBu}_3)_2$  (4.1 มิลลิลิตร หรือ 8.11 มิลลิโมล) และ  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (83 มิลลิกรัม) จากนั้นนำมาให้ความร้อนภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งติดตามการเกิดปฏิกิริยาด้วยวิธีโครมาโตกราฟีบนแผ่นบางและยุติการทำปฏิกิริยาเมื่อสารตั้งต้นหมดไปซึ่งใช้เวลาประมาณ 25 ชั่วโมง แยกบริสุทธิ์ผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยวิธี flash-chromatography (ether/petroleum ether/triethylamine: 60/40/5) ประสิทธิภาพของการสังเคราะห์และการแยกบริสุทธิ์ stannic precursor มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 9 สำหรับ การวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุล พบว่า  $^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  0.93 (t, 9H,  $3\text{CH}_3$ ); 1.01-1.05 (t, 6H,  $3\text{CH}_2$ ); 1.31-2.17 (m, 12H,  $6\text{CH}_2$ ); 2.17 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 3.34 (s, 2H,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 4.34 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 6.76-6.90 (m, 3Har); 7.07 (s, 1Har); 7.24-7.32 (m, 1Har); 7.39 (d, 1Har,  $^3\text{J} = 7.6 \text{ Hz}$ ); 7.50 (d, 1Har,  $^3\text{J} = 7.6 \text{ Hz}$ )  $^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  10.8 ( $\text{CH}_2-\text{Sn}$ ); 14.1 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Sn}$ ); 28.0 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Sn}$ ); 29.7 ( $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Sn}$ ); 45.8 ( $\text{N}-\text{CH}_3$ ); 66.9 ( $\text{CH}_2-\text{N}$ ); 114.8 (Car); 115.7 (CHar); 119.1 (CHar); 124.5 (CHar); 127.3 (CHar); 131.4 (CHar); 137.8 (Car); 138.2 (CHar); 138.6 (CHar); 139.7 (Car); 137.2 (Car); 149.3 (Car) **MS (m/e)**: 491 ( $\text{M}^+$ , 91); 377 (33); 245 (29); 92 (21); 58 (100)

ขั้นตอนสุดท้ายของการสังเคราะห์ทางเคมี คือ การสังเคราะห์สารประกอบ 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (**6**) ที่มีไอโซโทปเสถียรของไอโอดีนเป็นองค์ประกอบ ได้ดำเนินการโดยอาศัยการเติมอะตอมของไอโอดีนเข้าไปแทนที่หมู่  $\text{SnBu}_3$  ของสารประกอบ (**5**) ด้วยกระบวนการ iododestannylation ซึ่งสังเคราะห์โดยละลาย stannic precursor (**5**) (50 มิลลิกรัม หรือ 0.91 มิลลิโมล) ในคลอโรฟอร์ม ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาทำให้เย็นที่ 0

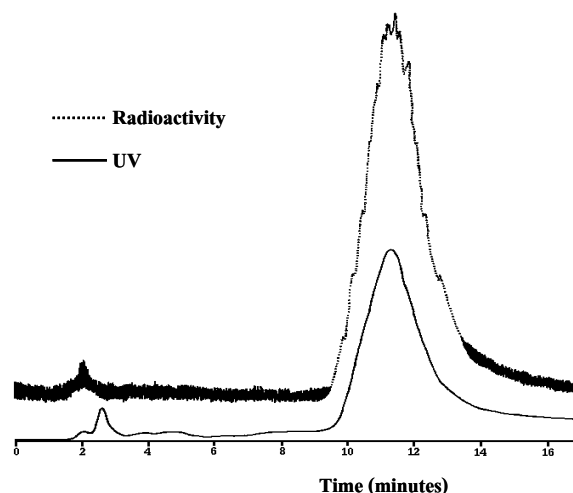
องศาเซลเซียสแล้วเติมสารละลายไอโอดีนในคลอโรฟอร์ม ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ครั้งละ 25 ไมโครลิตร จนได้สารละลายสีแดง นำมาระเหยด้วยวิธีลดความดันแล้วนำมาแยกบริสุทธิ์ด้วยวิธี flash-chromatography (ethylacetate/petroleum ether/triethylamine: 50/50/5) ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีไอโซโทปเสถียรของไอโอดีน โดยมีประสิทธิภาพของการสังเคราะห์ เท่ากับ ร้อยละ 40 สำหรับ การวิเคราะห์โครงสร้างโมเลกุล พบว่า  $^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  2.30 (s, 6H,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ); 3.41 (s, 2H,  $\text{N}-\text{CH}_2$ ); 4.31 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 6.61 (dd, 1Har,  $^3J = 8.3$ ,  $^4J = 2.4$  Hz); 6.75-6.84 (m, 2Har); 7.24-7.32 (m, 2Har) 7.47 (dd, 1Har,  $^3J = 7.6$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz); 7.66 (d, 1Har,  $^3J = 8.3$  Hz)  $^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  45.9 ( $\text{N}-\text{CH}_3$ ); 68.1 ( $\text{CH}_2-\text{N}$ ); 96.7 (C-I); 114.3 (Car); 115.8 (CHar); 119.2 (CHar); 127.0 (CHar); 128.8 (CHar); 131.7 (CHar); 137.8 (Car); 137.9 (CHar); 140.2 (CHar); 142.0 (Car); 149.2 (Car) **MS (m/e)**: 58 ( $\text{M}^+$ , 100)

### การติดฉลากด้วยไอโอดีน-125

การติดฉลากด้วยไอโซโทปกัมมันตรังสี คือ ไอโอดีน-125 ได้ดำเนินการด้วยวิธี iododestannylation ที่ใช้การแทนที่หมู่ที่ซอบอิลเลคตรอนบนวงแหวนแอโรมาติก<sup>19</sup> คือ  $\text{SnBU}_3$  ในสารตั้งต้นสำหรับการติดฉลาก หรือ stannic precursor (5) ด้วยไอโอดีน-125 เพื่อให้ได้ [ $^{125}\text{I}$ ] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (7) ในการสังเคราะห์ได้ผลิตภัณฑ์ของไอโอดีน (iodonium cation,  $^{125}\text{I}^+$ ) แบบ *in situ* จากปฏิกิริยาระหว่าง  $\text{Na}^{125}\text{I}$  และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ในการติดฉลากได้ใช้สารตั้งต้น (5, ภาพที่ 1) 50 ไมโครกรัม ทำปฏิกิริยาร่วมกับ เอทานอลบริสุทธิ์ กรดไฮโดรคลอริก  $\text{Na}^{125}\text{I}$  (728 ไมโครคูรี) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และทำให้เป็นเบสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ก่อนจะสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตแล้วนำมาแยกบริสุทธิ์ด้วย inverse phase HPLC โดยใช้คอลัมน์ Sepax C18 ( $\text{CH}_3\text{CN}/\text{dimethylglutaric acid}$ : 90/10, 1 มิลลิลิตรต่อนาที) โดยเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่า retention time ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการติดฉลาก (7) ด้วย HPLC โดยการฉีดพร้อมกัน (coinjection) กับโมเลกุลที่มีไอโซโทปเสถียรของไอโอดีน (6) ดังได้แสดงไว้ในภาพที่ 3 พบว่าผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดมีค่า retention time เท่ากันอันเป็นการยืนยันว่าผลิตภัณฑ์ทั้งสองมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเหมือนกัน จากการวิเคราะห์ปริมาณ พบว่า ประสิทธิภาพการติดฉลากคิดเป็นร้อยละ 60 และมีความบริสุทธิ์ในเชิงเคมีรังสีร้อยละ 95





ภาพที่ 3 ผลการวิเคราะห์ retention time ด้วย HPLC โดยวิธี co-injection ของ [ $^{125}\text{I}$ ] 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (7) และ 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (6) โดยใช้คอลัมน์ C18 และเฟสเคลื่อนที่ คือ  $\text{CH}_3\text{CN}$ /dimethylglutaric acid (90/10) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที

### สรุป

ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ใช้ กรด 2,5-dibromobenzoic (1) เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ 2-aminophenylthio-5-iodo-*N,N*-dimethyl benzylamine (6) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับ ADAM โดยย้ายอะตอมของไอโอดีนจากวงแหวนอานิลีนไปยังวงแหวน *N,N*-dimethyl benzylamine

สำหรับการติดฉลากด้วยไอโอดีน-125 ตามกระบวนการ iododestannylation คือการแทนที่  $\text{SnBU}_3$  ด้วยไอโอดีน-125 ซึ่งเป็นกลไกการแทนที่แบบ electrophilic aromatic substitution ระหว่าง อีออนบวกของไอโอดีน กับ tributylstannic group พบว่า มีประสิทธิภาพการติดฉลาก ร้อยละ 60 และมีความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 ซึ่งคาดว่าจะสามารถนำมาใช้ในการศึกษาลักษณะการกระจายทางชีววิทยาและความจำเพาะต่อ T-5-HT ต่อไป

### References

1. Rees, M., Norton, N., Jones, I., McCandless, F., Scourfield, J., Holmans, P., Moorhead, S., Feldman, E., Sadler, S., Cole, T., Redman, K., Farmer, A., McGuffin, P., Owen, M.J., and Craddock, N., 1997. Association Study of Bipolar Disorder at the Human Serotonin Transporter Gene (hSERT;5HTT). *Molecular Psychiatry*. 2, 398-402.

2. Kirov, G., Rees, M., Jones, I., MacCandless, F., Owen, M.J., and Craddock, N., 1999. Bipolar Disorder and the Serotonin Transporter Gene: a Family-Based Association Study. *Psychological Medicine*. 29, 1249-1254.
3. D'Amato, R.J., Zweig, R.M., Whitehouse, P.J., Wenk, G.L., Singer, H.S., Mayeux, R., Price, D.L., and Synder, S., 1987. Aminergic Systems in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Annals of Neurology*. 22(2), 229-236.
4. Blakely, R.D., De Felice, L.J., and Hartzell, C., 1994. Molecular Physiology of Norepinephrine and Serotonin Transporter. *J. exp. Biol.* 196, 263-281.
5. Owens, M.J., and Nemeroff, C.B., 1994. Role of Serotonin in the Pathophysiology of Depression: Focus on the Serotonin Transporter. *Clin. Chem.* 40(2), 288-295.
6. Barker, E.L., and Blakely, R.D., 1995. Norepinephrine and Serotonin Transporters: Molecular Targets of Antidepressants Drugs. In Bloom F.E. and Kupfer D.J. (eds) *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Raven Press, Ltd., New York. chap 1, 321-333.
7. Lesch, K.P., and Bengel, D., 1995. Neurotransmitter Reuptake Mechanisms : Targets for Drugs to Study and Treat Psychiatric, Neurological and Neurodegenerative Disorders. *Pharmacology and Pathophysiology, CNS Drugs* 4 (4) , 302-322.
8. Wong, D.T., Bymaster, F.P. , and Engleman, E.A. , 1995. Prozac (Fluoxetine, Lilly 110140), The First Selective Serotonin Uptake Inhibitor and an Antidepressant Drug: Twenty Years Since Its First Publication. *Life Science*. 57(5), 411-441.
9. Suehiro, M., Scheffel, U., Hayden, T.R., Dannals, R.F., and Wagner, H.N., 1993. [<sup>11</sup>C](+)McN5652 as a Radiotracer for Imaging Serotonin Uptake Site with PET. *Life Science*. 53, 883-892.
10. Jagust, W.J., Eberling, J.L., Roberts, J.A., Brennan, K., Hanrahan, S.M., VanBrocklin, H., Biegon, A. , and Mathis, C.A. , 1993. In vivo Imaging of the 5-hydroxytryptamine Reuptake Site in Primate Brain Using Single Photon Emission Computed Tomography and [<sup>123</sup>I]5-iodo-6-nitroquipazine. *Eur. J. Pharmacol.* 242, 189-193.
11. Boja, J.W., Patel, A., Carroll, F.I. , Rahman, M.A., Abraham, P., Lewin, A.H., Kopajtic, T.A. , and Kuhar, M.J., 1991. [<sup>125</sup>I]RTI-55 to Dopamine Transporter. *Eur. J. Pharmacol.* 194, 133-134.

12. Bergström, K.A., Halldin, C., Hall, H., Lundkwist, C., Ginovart, N., Swahn, C-G. , and Forde, L., 1997. In vitro and in vivo Characterisation of nor- $\beta$ -CIT: a Potential Radioligand for Visualisation of the Serotonin Transporter in the Brain. *European Journal Medicine*. 24, 6.
13. Oya, S., Kung, M.P., Acton, P.D., Mu, M., Hou, C. , and Kung, H.F. , 1999. A New Single-Photon Emission Computed Tomography Imaging Agent for Serotonin Transporters: [ $^{123}$ I]IDAM, 5-Iodo-2-((2-((dimethylamino)methyl)phenyl)thio)benzyl Alcohol. *J. Med. Chem.* 42(3), 333-335.
14. Zhuang, Z-P., Choi, S-R., Hon, C., and Kung, H.F., 1999. Synthesis of [ $^{123}$ I]ODAM As a Serotonin Transporter Imaging Agent. *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* 42(suppl 1), s357-s359.
15. Oya, S., Choi, S.R., Mu, M., Hou, C., Kung, M.P., Acton, P.D., and Kung, H.F., 2000. ADAM: An Improved Serotonin Transporter Ligand. *J. Nucl. Med.* 41(5) supplement, 241.
16. Still, W.C., Kahn, M., and Mitra, A. , 1978. Rapid Chromatographic Technique for Preparation Separation with Moderate Resolution. *J. Org. Chem.* 13(11), 2923-2925.
17. Mehta, N.B., Hollingsworth, C.E., Brieddy, L.E., and Cooper, B.R., 1990. Halogen Substituted Diphenylsulfides. European Patent Application; EP 0 402 097 A1, 14 p.
18. Mehta, N.B. , and Brieddy, L.E. , 1993. Therapeutic Uses of a Diphenylsulfide Compound to treat Depression and Effect Serotonin Uptake. U.S. Patent No. 5,216,028, 9 p.
19. Oya, S., Kung, M.P., Acton, P.D., Mu, M., Hou, C. , and Kung, H.F. , 1999. A Novel Serotonin Transporter Imaging Agent: [ $^{123}$ I]IDAM. *J. Med. Chem.*, supporting info: 1-4.