

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİHİDROPIRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE L-/T-TİPİ
KALSİYUM KANAL BLOKE EDİCİ AKTİVİTELERİ**

Ecz. Dilara AKMAN

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2022

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİHİDROPIRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE L-/T-TİPİ
KALSİYUM KANAL BLOKE EDİCİ AKTİVİTELERİ**

Ecz. Dilara AKMAN

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ**

ANKARA

2022

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DİHİDROPIRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE L-/T-TİPİ KALSİYUM
KANAL BLOKE EDİCİ AKTİVİTELERİ

Öğrenci: Dilara AKMAN

Danışman: Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ

Bu tez çalışması 24.06.2022 tarihinde jürimiz tarafından “Farmasötik Kimya Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Cihat ŞAFAK*
Başkent Üniversitesi

Tez Danışmanı: *Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ*
Hacettepe Üniversitesi

Üye: *Prof. Dr. İlkay YILDIZ*
Ankara Üniversitesi

Üye: *Prof. Dr. Rahime ŞİMŞEK*
Hacettepe Üniversitesi

Üye: *Prof. Dr. Oya ÜNSAL TAN*
Hacettepe Üniversitesi

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

06 Temmuz 2022

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾

o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾

o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

19/07/2022

Dilara AKMAN

¹“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir.

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Ecz. Dilara AKMAN

TEŞEKKÜR

Tezimin deneysel ve yazım aşaması da dahil olmak üzere bütün aşamalarında desteğini esirgemeyen, danışmanlığıyla bana yol gösteren, tecrübesini ve birikimlerini bana profesyonelce aktaran, beraber çalışmaktan çok keyif aldığım kıymetli hocam Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ'e,

Tez çalışmam boyunca vakit geçirmekten keyif aldığım tüm Hacettepe Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı hocalarıma, araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve çalışanlarına,

Lisans öğrenimimde Farmasötik Kimya alanını sevmeme öncülük eden, değerli hocam Doç. Dr. Zeynep SOYER'e

Lisans öğrenimim sırasında akademik çalışmalara ilgi duymama öncülük eden değerli hocam Prof. Dr. Özgen ÖZER'e

Bileşiklerimin fizyolojik aktivite çalışmalarını gerçekleştiren Prof. Dr. Gerald ZAMPONI ve ekibine,

Bileşiğimin izomer ayırımını yapan Prof. Dr. Daniel W. ARMSTRONG ve ekibine,

Moleküler modelleme çalışmalarını yapan Prof. Dr. Gerhard WOLBER ve ekibine,

Kütle spektrumları analizlerini yapan Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya,

NMR spektrum analizlerimi gerçekleştiren Prof. Dr. Hakan GÖKER'e,

Eleman analizlerimi yapan Doç. Dr. Mehmet ALP'e,

Bana her zaman destek olan canım arkadaşlarıma,

Benimle her zaman gurur duyan canım Babam'a, bu süreçte desteklerini esirgemeyen canım Annem ve Kardeşim'e

Teşekkür ederim.

ÖZET

Akman, D., Dihidropiridin Türevlerinin Sentezi ve L-/T-Tipi Kalsiyum Kanal Bloke Edici Aktiviteleri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2022. 1,4-Dihidropiridinler (DHP), L-tipi kalsiyum kanallarının en bilinen inhibitörleri olup, kardiyovasküler hastalıklara karşı önemli terapötik değere sahiptir. Farklı kalsiyum kanal alt tiplerini de hedeflemeleri nedeniyle aynı zamanda nörolojik ve psikiyatrik hastalıklarda da kullanım alanı bulmaktadırlar. Kırk yıldan uzun süredir piyasada bulunan türevler incelendiğinde en az modifikasyon gerçekleştirilen konumun DHP halkasının dört numaralı konumu olduğu açıktır. Bu tez kapsamında halkanın belirtilen konumuna odaklanarak on iki adet DHP-temelli heksahidrokinolin türevi bileşik (**DA1-DA12**) sentezlenmiştir. Bileşiklerin sentezi asimetrik Hantzsch reaksiyonu uygulanarak, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, izobutil asetoasetat, farklı aldehit türevleri ve amonyum asetatın reaksiyonuyla gerçekleştirilmiştir. Kimyasal yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle spektrumu ve eleman analizi ile doğrulanan bileşiklerin L- ($\text{Ca}_v1.2$) ve T- ($\text{Ca}_v3.2$) tipi kalsiyum kanallarını bloke etme oranları *patch clamp* tekniğiyle saptanmıştır. Elde edilen sonuçlarla farklı selektivite profillerine sahip beş bileşik tanımlanmıştır. T-tipi kalsiyum kanalını selektif olarak bloke eden **DA1** bileşiğinin izomer ayırımı HPLC ile gerçekleştirilerek, enantiyomerlerin konfigürasyon tayini titreşimsel dairesel dikroizm yöntemi ile yapılmıştır. Enantiyomerler $\text{Ca}_v3.2$ üzerinde ayrı ayrı test edilerek, hangi izomerin kalsiyum kanal inhibisyonundan sorumlu olduğu bulunmuştur. Bileşiklerin kalsiyum kanallarına bağlanma mekanizmaları, homoloji modelleme, doking ve moleküler dinamik simülasyon yöntemleriyle incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 1,4-Dihidropiridin, heksahidrokinolin, kalsiyum kanalları, izomer ayırımı, moleküler modelleme

ABSTRACT

Akman, D., Synthesis of Dihydropyridine Derivatives and Their L-/T-Type Calcium Channel Blocking Activities, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, MS Thesis in Pharmaceutical Chemistry, Ankara, 2022. 1,4-Dihydropyridines (DHPs) are the most well known inhibitors of L-type calcium channels and have important therapeutic value against cardiovascular diseases. Since they target different calcium channel subtypes, they are also used in neurological and psychiatric diseases. When the derivatives that have been on the market for more than forty years are examined, it is obvious that the least modified part of the DHP ring is its fourth position. Within the scope of this thesis, twelve DHP-based hexahydroquinoline derivatives (**DA1-DA12**) were synthesized by focusing on the mentioned position of the ring. The synthesis of the compounds was carried out by the reaction of 4,4-dimethyl-1,3-cyclohexanedione, isobutyl acetoacetate, different aldehyde derivatives and ammonium acetate by applying the asymmetric Hantzsch reaction. The blocking percentages of L- ($Ca_v1.2$) and T- ($Ca_v3.2$) type calcium channels of the compounds, whose chemical structures were confirmed by 1H NMR, ^{13}C NMR, mass spectrum and elemental analysis, were determined by patch clamp technique. Based on the results obtained, five compounds with different selectivity profiles were identified. The isomer separation of **DA1**, which selectively blocks the T-type calcium channel, was performed by HPLC, and the configuration of the enantiomers was determined by the vibrational circular dichroism method. The enantiomers were tested separately on $Ca_v3.2$ to determine which isomer was responsible for calcium channel inhibition. The binding mechanisms of the compounds to the calcium channels were investigated by homology modeling, docking and molecular dynamics simulation methods.

Key Words: 1,4-Dihydropyridine, hexahydroquinoline, calcium channels, isomer separation, molecular modeling

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kalsiyum Kanalları, Yapıları ve Sınıflandırılmaları	4
2.1.1. L-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları	8
2.1.2. L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları	10
2.1.3. T-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları	15
2.1.4. T-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları	16
2.2. Dihidropiridinler	21
2.2.1. DHP Türevlerinin Sentezleri	21
2.2.2. DHP Türevlerinin Kimyasal Özellikleri	27
2.2.3. DHP Türevlerinin Spektral Özellikleri	28
2.2.4. DHP Türevlerinin Farmakokinetik Özellikleri	29
2.2.5. DHP Türevlerinin Diğer Farmakolojik Özellikleri	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Kimyasal Çalışmalar	37
3.1.1. Materyal ve Metot	37
3.1.2. Sentez Yöntemleri	37
3.2. Kalsiyum Kanal İnhibisyon Tayini	38
3.2.1. Hücre Kültürü ve Transfeksiyon	38
3.2.2. Elektrofizyoloji	38
3.2.3. Veri Analizi	39

3.3. DA1'in İzomer Ayırımı ve Konfigürasyon Tayini	39
3.3.1. HPLC ile İzomer Ayırımı	39
3.3.2. Konfigürasyon Tayini	39
3.4. Moleküler Modelleme Yöntemleri	40
3.4.1. Homoloji Modelleme	40
3.4.2. Doking	40
3.4.3. Moleküler Dinamik Simülasyon ve Dinofor Analizi	40
4.BULGULAR	42
4.1. Kimyasal Çalışmalar	42
4.2. Bileşiklerin L-tipi (Ca _v 1.2)/T-tipi (Ca _v 3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri	50
4.3. DA1'in İzomerlerinin Ayırımı ve Ca _v 3.2 Üzerine Etkileri	52
4.4. Moleküler Modelleme	54
5. TARTIŞMA	58
5.1. Kimyasal Çalışmalar	58
5.2. Bileşiklerin Kalsiyum Kanallarına Etkileri	61
5.3. Yapı-Aktivite İlişkileri	61
5.4. DA1'in Enantiyomerlerinin Ayırımı ve Ca _v 3.2 Üzerindeki Etkileri	62
5.5. Moleküler Modelleme	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR	65
8-EKLER	72
EK-1: Sentezlenen Moleküllerin NMR Spektrumları	
EK-2: Tez Çalışması ile İlgili Bildiri	
EK-3: Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
EK-4: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	87

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
ω	Omega
π	Pi
δ	Sigma
μ	Mikro
ATC	Anatomik Terapötik Kimyasal
BHT	Bütihidroksitoluen
Ca_v1	L-Tipi Kalsiyum Kanalları
Ca_v3	T-Tipi Kalsiyum Kanalları
d	Dublet
dd	Dubletin Dubleti
DHP	Dihidropiridin
DMSO	Dimetilsülfoksit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ed	Erime Derecesi
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı
HBA	Hidrojen Bağı Akseptörü
HBD	Hidrojen Bağı Donörü
Hz	Hertz
HEK	İnsan Embriyonik Böbrek Hücresi
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
IR	Infrared
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
J	Etkileşme Sabiti
LVA	Düşük Voltajla Aktive
m	Multiplet
NAD	Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NADH	İndirgenmiş Nikotinamit Adenin Dinükleotit
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans

s	Singlet
TMS	Tetrametilsilan
VCD	Titreşimsel Dairesel Dikroizm

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. Farklı modifikasyonlar sonucu elde edilmiş bazı ticari DHP türevleri.	2
2.1. Kalsiyum kanalları ve alt tipleri.	6
2.2. L-tipi kalsiyum kanallarının fizyolojik fonksiyonları.	9
2.3. Kalsiyum kanalları aracılığıyla kas kasılması.	10
2.4. Farklı kimyasal yapıdaki kalsiyum kanal blokörleri.	11
2.5. Nifedipinin kimyasal yapısı.	13
2.6. İsradipinin kimyasal yapısı.	13
2.7. DHP türevlerinin kayık konformasyonu gösterimi.	14
2.8. İsradipin ve 3-NO ₂ analogu.	14
2.9. Amlodipinin kimyasal yapısı.	15
2.10. Ca _v 3-porunu oluşturan alt biriminin membran topolojisi.	15
2.11. T-tipi kalsiyum kanallarını inhibe eden çeşitli bileşikler.	17
2.12. Mibefradilin kimyasal yapısı.	18
2.13. Hekzahidrokinolin yapısında T-tipi kalsiyum kanal blokörleri.	18
2.14. Selektif Ca _v 3.2 blokörü heksahidrokinolin türevleri.	19
2.15. Kalsiyum kanallarının kovalent inhibitörü DHP türevleri.	19
2.16. 1,4 DHP içeren NADH koenziminin kimyasal yapısı.	21
2.17. Dihidropiridinlerin olası izomerleri.	21
2.18. Hantzsch sentezi ile DHP eldesi.	22
2.19. Klasik Hantzsch reaksiyonu.	22
2.20. DHP halkası veren modifiye Hantzsch reaksiyonları.	23
2.21. Zeolit katalizli DHP sentezi	24
2.22. Bizmut ferrit katalizli DHP sentezi	24
2.23. Silika katalizörlüğünde DHP sentezi.	25
2.24. Barbitürik asit taşıyan DHP'lerin sentezi.	25
2.25. Zirkonya katalizli DHP sentezi.	26
2.26. DABCO katalizli DHP eldesi.	26
2.27. DHP'lerin oksidatif aromatisasyonu.	27
2.28. Kondanse halka sistemi içindeki DHP'nin oksidasyonu.	27

2.29. DHP'lerin kütle spektrumlarındaki temel parçalanmalar.	29
2.30. Nifedipin ve metabolitleri.	30
2.31. Antimikrobiyal etkili DHP-azol hibritleri.	31
2.32. Antibakteriyel etkili 1,2,3-triazol-DHP hibrit molekülleri.	31
2.33. Antimikobakteriyel etkili DHP türevleri.	32
2.34. Antioksidan etkili DHP türevleri.	33
2.35. Antiepileptik aktivite gösteren DHP türevi.	33
2.36. Asetilkolinesteraz inhibitörü takrin-DHP türevleri.	34
2.37. DHP halkası taşıyan donepezil analogları.	34
2.38. Antikanser etkili DHP türevleri.	35
2.39. Antikanser etkili bis-triazol-DHP türevleri.	36
4.1. Bileşiklerin rCav1.2 ve hCav3.2 kalsiyum kanallarını 10 μ M konsantrasyonda inhibisyon oranları (n=3).	51
4.2. DA1'in HPLC kromatogramı.	52
4.3. DA1'in R izomerinin optimize edilmiş konfigürasyonu.	53
4.4. DA1 enantiyomerlerinin deneysel (mavi çizgiler), teorik (yeşil çizgiler) IR ve VCD spektrumlarının kıyaslanması.	53
4.5. DA1 izomerlerinin Cav3.2 inhibisyon oranları ve konfigürasyonlarının belirtildiği kimyasal yapıları.	54
4.6. Cav3.2'nin homoloji modeli ve DHP bağlanma bölgesi	55
4.7. (S)-DA11'in Cav3.2'ye bağlanma şekli ve üç boyutlu farmakoforları.	55
4.8. Cav1.2 içinde DA8'in statik (A), DA8 (B) ve DA1'in (C) dinamik farmakoforları.	56
4.9. DHP bağlanma bölgesinde DA1 (mavi) içeren Cav3.2 homoloji modeli (A). DA1'in statik (B) ve dinamik (C) farmakoforları.	57
5.1. 4-azolilbenzaldehyitlerin sentez şeması.	58
5.2. DA1-DA12 bileşiklerinin sentezi ve kimyasal yapıları.	59
5.3. DA1-DA12 eldesinde kullanılan Hantzsch reaksiyonu mekanizması.	60

TABLULAR

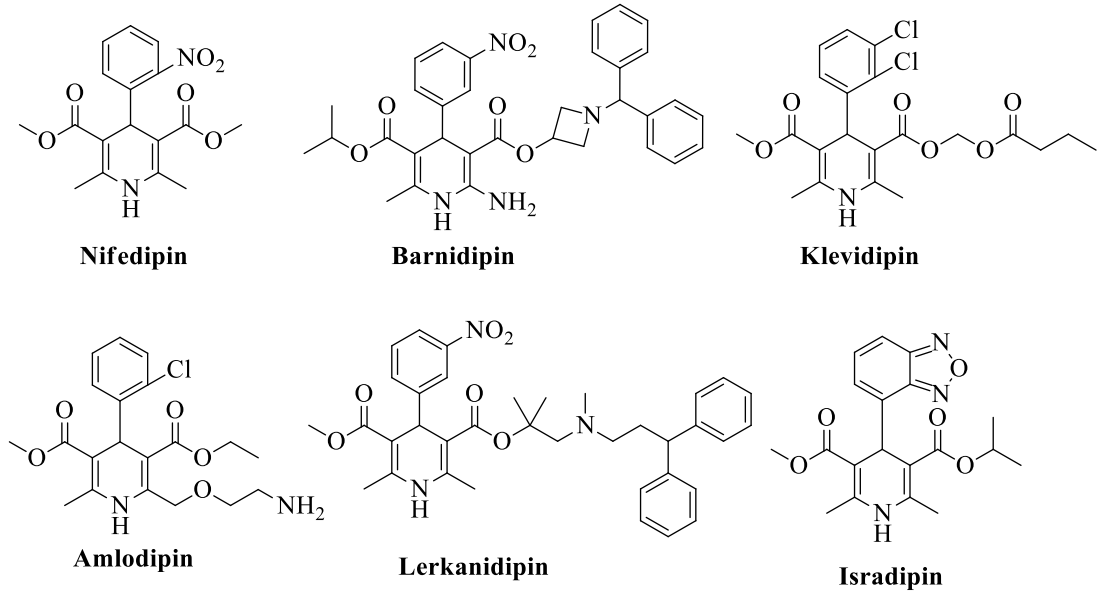
Tablo	Sayfa
1.1. Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşikler.	3
2.1. Nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan kalsiyum kanal blokörü ilaçlar.	5
2.2. Kalsiyum kanal alt tiplerinin kompozisyonları ve fonksiyonları.	7
2.3. Dihidropiridin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	12
2.4. Tedavide olan veya faz aşamasında bulunan T-tipi kanal blokörleri.	20

1. GİRİŞ

Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları, vücutta elektriksel olarak uyarılabilir beyin, kalp, düz ve iskelet kası hücrelerine kalsiyum girişini düzenleyen membran proteinleridir (1). Farklı tipte kalsiyum kanalları, kas kasılmasından, nörotransmitter ve hormon salınımına kadar değişen kalsiyuma bağlı fizyolojik ve hücresele süreçleri düzenlemektedir (2). Dolayısıyla bu kanallar, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıkları da kapsayan pek çok patolojik durumun tedavisinde moleküler hedef olarak görülmektedir (3).

Belirli fizyolojik rollere sahip farklı tipte kalsiyum kanalları arasında, L-tipi $Ca_v1.2$ izoformu, piyasada hipertansiyon tedavisi için kullanılan kalsiyum kanal blokörü bileşiklerin, özellikle 1,4-dihidropiridin (DHP) türevlerinin hedef aldığı kanallardır (4,5). T-tipi kalsiyum kanalları (Ca_v3) ise daha sonra tanımlanmış ve bu kanal alt tipinin fonksiyonlarındaki aksamalar nörolojik bozukluklarla bağlantılı bulunmuştur (6). Bu yüzden, T-tipi kalsiyum kanalları, özellikle epilepsi ve ağrı gibi nörofizyolojik hastalıklar için ilaç moleküllerinin olası hedef yöreleri olarak düşünülmektedir (3). T-tipi kalsiyum kanal tiplerinden $Ca_v3.2$, özellikle sinir hasarı, diyabet ve kemoterapiden kaynaklanan kronik ağrı sinyalleriyle ilişkilendirilmiştir. Bu amaçla analjezik etkili DHP türevleri de dahil olmak üzere çok sayıda T-tipi kalsiyum kanal blokörü bileşik sentezlenmiş olsa da şu ana kadar klinik aşamaları tamamlayıp, piyasaya çıkan bir bileşik olmamıştır (7). Bu nedenle, analjezi amaçlı selektif $Ca_v3.2$ blokörü moleküllerin geliştirilmesi güncel ve üzerinde çok çalışılan alanlardan olmaya devam etmektedir.

DHP yapısında yeni kalsiyum kanal blokörü bileşik geliştirme çalışmaları, bu grubun prototipi olan nifedipin molekülü temel alınarak yapılan modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. Ticari türevler arasında, genellikle ester grupları üzerinde yapılan değişiklikler ön plana çıkmaktadır (8,9). Türevlerin büyük çoğunluğunda dört numaralı konumdaki fenil halkasının korunması ve klor, nitro gibi küçük gruplarla süstitüe edilmesi dikkat çekmektedir. Antihipertansif etkileri nedeniyle piyasada bulunan DHP'ler arasında sadece isradipin molekülü bu konumda fenil halkasından farklı olarak hacimli bir süstitüent (2,1,3-benzoksadiazol) taşımaktadır (Şekil 1.1) (10).



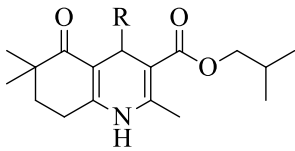
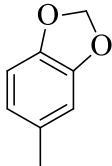
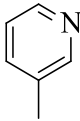
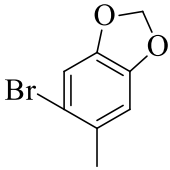
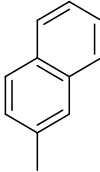
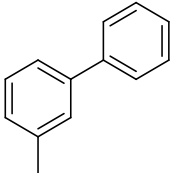
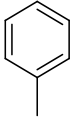
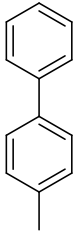
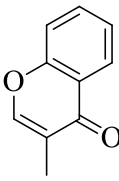
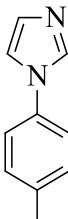

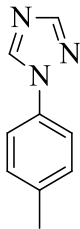
Şekil 1.1. Farklı modifikasyonlar sonucu elde edilmiş bazı ticari DHP türevleri.

DHP üzerinde yapılan modifikasyonlar, yapının kondanse halka sistemi içerisine alınmasını da kapsamıştır. Sentezlenen heksahidrokinolin türevlerinin hem L- hem de T-tipi kalsiyum kanallarını farklı selektivite profilleriyle bloke ettiği yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (11–13).

Yukarıdaki literatür bilgileri ışığında, DHP halkasının üzerinde en az modifikasyon gerçekleştirilen dört numaralı konumuna odaklanılması amaçlanmıştır. Ester grubu alkil yan zinciri olarak izobutil grubu sabit tutularak, heksahidrokinolin halkasının dört numaralı konumuna fenil grubundan farklı çeşitli aromatik, heterosiklik halkaların getirilmesi, fenil halkası üzerine hacimli grupların süstitüe edilmesi, fenil üzerindeki süstitüentlerin yapıdan çıkarılması ve dört numaralı konumun nonsüstitüe tutulması yoluyla farklı türevler sentezlenmiştir (Tablo 1.1).

Yapılan modifikasyonların, bileşiklerin L- ve T-tipi kalsiyum kanal bloke edici aktiviteye olan etkileri *patch-clamp* yöntemi kullanılarak test edilmiştir.

Tablo 1.1. Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen bileşikler.

			
Bileşik	R	Bileşik	R
DA1		DA7	
DA2		DA8	
DA3		DA9	
DA4		DA10	H
DA5		DA11	
DA6		DA12	

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalsiyum Kanalları, Yapıları ve Sınıflandırılmaları

Memelilerin kalp, beyin ve kas hücrelerinde gerçekleşen tüm elektriksel aktiviteler, kalsiyum, potasyum, sodyum ve klorür gibi iyonlarla sağlanmaktadır. Bunların arasında kalsiyum iyonlarını özel kılan; kas kasılması, hormon ve nörotransmitter sekresyonu gibi süreçlerde belirleyici rol üstlenmeleridir (2).

Kalsiyum iyonlarının hücre içine giriş ve çıkışında rol oynayan en önemli aracı voltaja duyarlı kalsiyum kanallarıdır (14). Voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının açılmasıyla hücre içine giren kalsiyum, hücrede depolarizasyon oluşturur ve kalsiyuma bağlı süreçlerin başlamasını sağlar (3). Kalsiyum kanallarının işleyişindeki bozukluklar ya da kalsiyum kanal genlerinde mutasyonlar ağrı, epilepsi ve migren gibi nöropatolojik durumlarla da ilişkilendirilmektedir (14). Bu yüzden kalsiyum kanalları, birçok hastalığın tedavisinde önemli terapötik hedefler olarak değerlendirilmektedir.

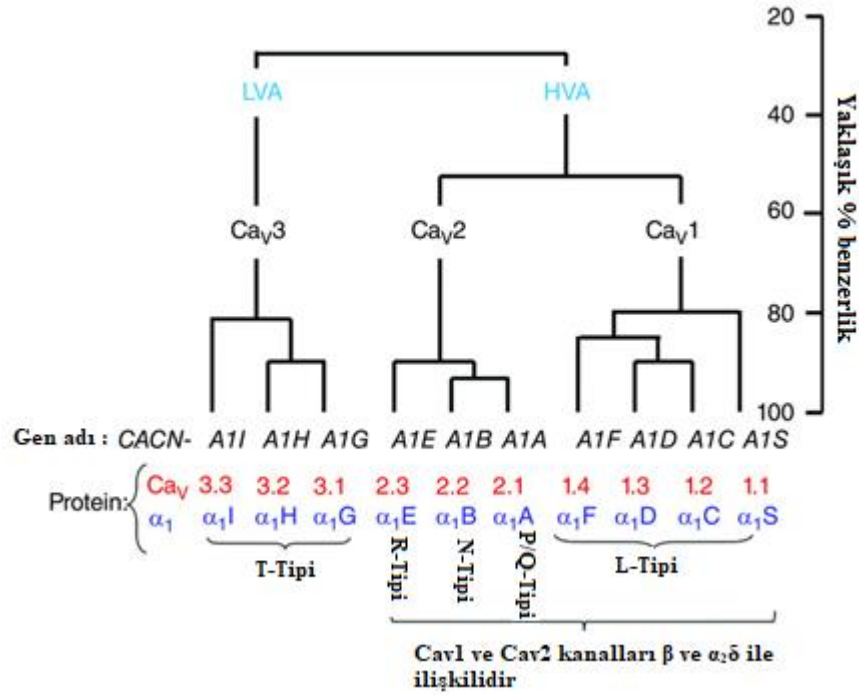
Kalsiyum kanallarını bloke ederek etki gösteren ilaçlar daha çok antihipertansif etkileri nedeniyle ön plana çıksa da nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde de çok sayıda ilaç kullanım alanı bulmaktadır (Tablo 2.1) (3).

Tablo 2.1. Nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan kalsiyum kanal blokörleri.

Bileşik	Hedef Kanalı	Ana Endikasyon	Olası Endikasyon
İsradipin	L-tipi	Hipertansiyon	Parkinson hastalığı ve bağımlılık
Nimodipin	L-tipi / T-tipi	Hipertansiyon	Ateşli konvülsiyonlar
Silnidipin	L-tipi / N-tipi	Hipertansiyon	Ağrı ve tremor
Gabapentin	Cav α 2 δ	Ağrı ve epilepsi	Anksiyete
Pregabalin	Cav α 2 δ	Ağrı ve epilepsi	Anksiyete
Lamotrigin	R-tipi	Epilepsi veya bipolar hastalıklar	Ağrı
Topiramet	R-tipi	Epilepsi	Kilo kaybı, bağımlılık ve Posttravmatik stres bozukluğu
Zonisamid	T-tipi	Epilepsi	Ağrı ve Parkinson hastalığı
Etosüksimit	T-tipi	Epilepsi	Ağrı
Zikonotit	N-tipi	Ağrı	-
Valproat	T-tipi	Epilepsi ve bipolar mani	Parkinson Hastalığı

Kalsiyum kanalları voltaja duyarlılıklarına göre sınıflandırılmaktadır. Membran depolarizasyon şiddetine göre yüksek voltajla (HVA) ve düşük voltajla (LVA) aktive olmak üzere ikiye ayrılırlar (15). HVA tipi kalsiyum kanalları L, N, P, Q ve R tipi olmak üzere beş farklı alt tipe sahiptir (2). LVA tipi kalsiyum kanalları ise

tek tip olup, T tipi kalsiyum kanallarını kapsamaktadır (16). Memeli genomunda HVA ve LVA ya karşılık gelen on adet farklı $Ca_v\alpha_1$ alt ünitesi bulunduğu bilinmektedir. Bunlardan üç tanesi ($Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$, $Ca_v3.3$) T tipi kalsiyum kanallarını oluşturmaktadır (17). Ca_v1 ailesi ($Ca_v1.1$ 'den $Ca_v1.4$ 'e kadar) L tipi kalsiyum kanallarını, Ca_v2 kanallarından ise $Ca_v2.1$; P/Q tipini, $Ca_v2.2$; N tipini ve $Ca_v2.3$ ise R tipini oluşturmaktadır (Şekil 2.1) (18).



Şekil 2.1. Kalsiyum kanalları ve alt tipleri (1).

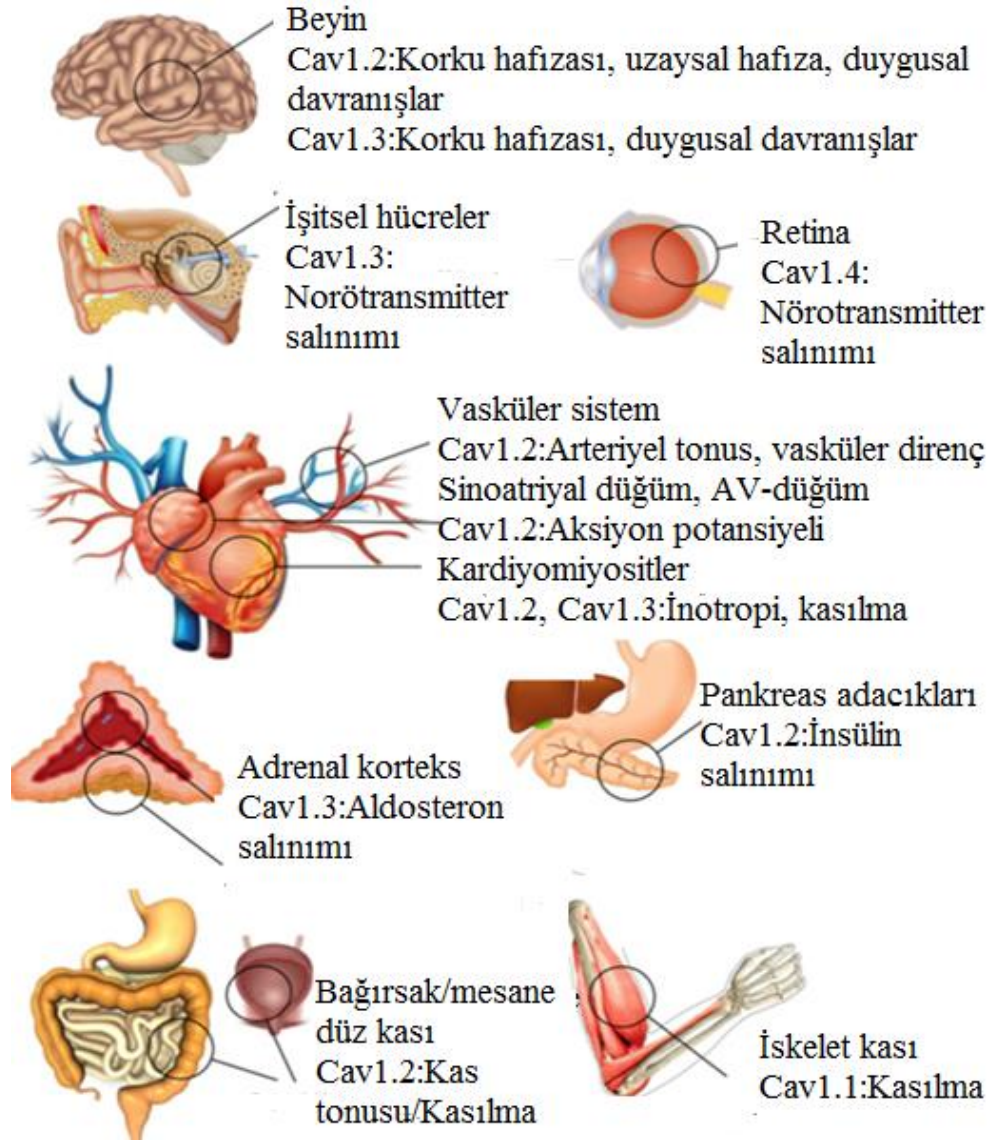
Kalsiyum kanalları ve her bir alt tipinde ortaya çıkacak fonksiyon kayıpları farklı fizyolojik bozuklukla ilişkilendirilmektedir. Tablo 2.2'de bu kanalların antagonistleri, fizyolojik rolleri ve hasarlarında ortaya çıkabilecek hastalıklar özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Kalsiyum kanal alt tipi dağılımları ve fonksiyonları (19).

Ca²⁺ kanal tipi	α_1 ünite	alt	Spesifik blokör	Ana fizyolojik fonksiyon	Kalıtıl hastalıklar
L	Ca _v 1.1		DHP'ler	İskelet kasında kasılma-gevşeme, transkripsiyonun düzenlenmesi	Hipokalemik periyodik paraliz
	Ca _v 1.2		DHP'ler	Kardiyak ve düz kasta kasılma ve gevşeme, hormon sekresyonu, enzim aktivasyonu düzenlenmesi, hücre ve dendritlere nöronal Ca ²⁺ geçişi, transkripsiyonun düzenlenmesi	Timothy sendromu: kardiyak aritmi ve gelişimsel anomaliler, otizm spektrum bozukluğu
	Ca _v 1.3		DHP'ler	Hormon sekresyonu, kardiyak ritim, nöronal Ca ²⁺ 'un hücre ve dendritlere geçişi, işitsel iletim	
	Ca _v 1.4		DHP'ler	Görsel iletim	Sabit gece körlüğü
N	Ca _v 2.1		ω -conotoksin	Nörotransmitter salımı, dendritik Ca ²⁺ geçişi	Ailesel hemiplejik migren, serebellar ataksi
P/Q	Ca _v 2.2		ω -agatoksin	Nörotransmitter salımı, dendritik Ca ²⁺ geçişi	Ailesel hemiplejik migren, serebellar ataksi
R	Ca _v 2.3		SNX-482	Nörotransmitter salımı, dendritik Ca ²⁺ geçişi	
T	Ca _v 3.1		Yok	Kalp atımı ve tekrarlayan uyarı	Absans nöbetler
	Ca _v 3.2			Kalp atımı ve tekrarlayan uyarı	Absans nöbetler
	Ca _v 3.3				

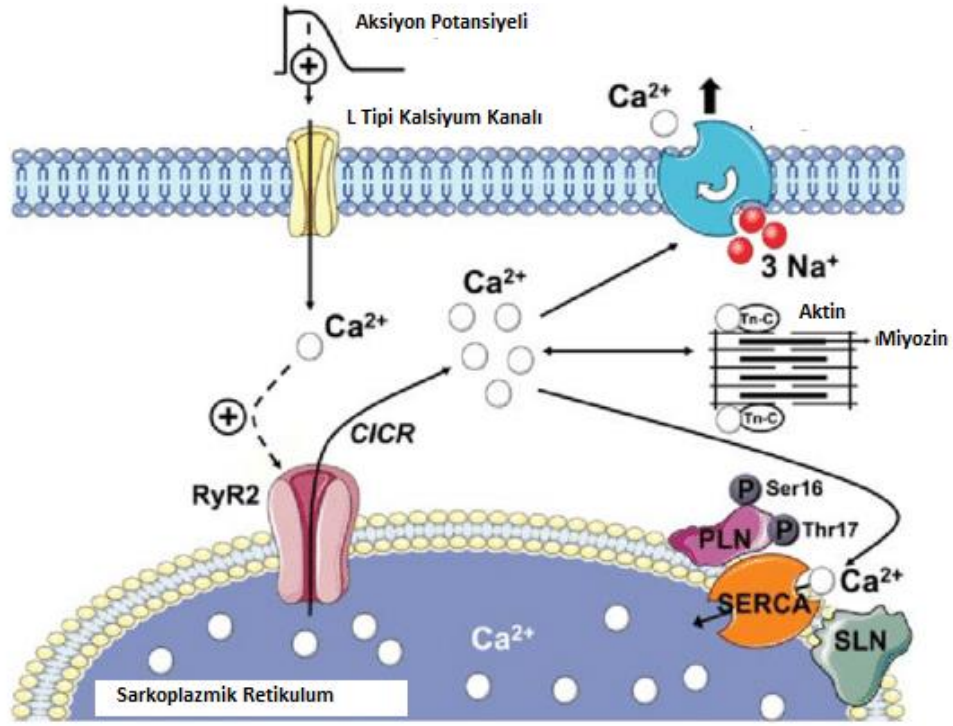
2.1.1. L-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları

L-tipi kalsiyum kanalları, $Ca_v1.1$, $Ca_v1.2$, $Ca_v1.3$, $Ca_v1.4$ olmak üzere dört alt sınıfı kapsamaktadır. L-tipi kalsiyum kanalları, kalsiyum kanal blokörü olarak sınıflandırılan moleküllerin biyolojik hedefi olarak bilinirler ve genellikle kardiyovasküler hastalıklarının tedavisinde önemli rol üstlenirler (2). Ağırlıklı olarak kalp, beyin, iskelet kası ve düz kaslarda lokalize olmuşlardır. $Ca_v1.1$ kanalları genellikle iskelet kasında bulunurlar ve bu kasın kasılmasında önemli rol oynamaktadırlar. $Ca_v1.2$ ise vasküler sistemde lokalize olup, kasılma süreçlerini düzenleyen kalsiyum kanal alt tipidir. Ayrıca β hücrelerinde bulunan $Ca_v1.2$ kanallarının pankreastan insülin salınımının kontrolünde fonksiyon gösterdiği belirlenmiştir. $Ca_v1.3$ kanalları ise adrenal kortekste aldosteron üreten hücrelerde bulunurlar. Primer aldosteronizm ise hipertansiyondaki yaygın nedenlerden biridir (2). L-tipi kalsiyum kanal alt tiplerinin vücutta konumlandıkları yerlere göre aracılık ettikleri fizyolojik fonksiyonlar Şekil 2.2’de şematize edilmiştir.



Şekil 2.2. L-tipi kalsiyum kanallarının fizyolojik fonksiyonları (2).

L-tipi kalsiyum kanallarının terapötik olarak en kritik fonksiyonu, kardiyovasküler sistemde kalsiyum iyonlarının yol açtığı uyarılma ve kasılma süreçlerine aracılık etmesidir. Sitolitik konsantrasyonunun artması sonucu kalsiyum iyonu, kalp ve iskelet kasında troponin C'ye, damar düz kasında ise kalmoduline bağlanır. Bu bağlanma sonucunda aktin-miyozin etkileşmesi (Şekil 2.3) meydana gelerek kas kasılması gerçekleşir (4).



Şekil 2.3. Kalsiyum kanalları aracılığıyla kas kasılması.

Hücre içindeki kalsiyum iyon miktarı, belli mekanizmalar ile ideal düzeyde tutulmaktadır. Hücre içinde kalsiyum konsantrasyonu temel olarak voltaja duyarlı ve reseptör aracılı kalsiyum kanalları ile sağlanır. Ayrıca sarkoplazmik retikulum ve mitokondri, hücre içinde kalsiyum saklama ve salınmasından sorumlu bölgelerdir. Kalsiyumun hücre içine alınımı kasılma için ne kadar önemliyse, hücre dışına çıkarılması da o derecede önemlidir. Bu denge ile kasılma son bulurken, hücre içindeki kalsiyumun hücreye zarar verecek konsantrasyonlara ulaşmasının önüne geçilmiş olunur (20).

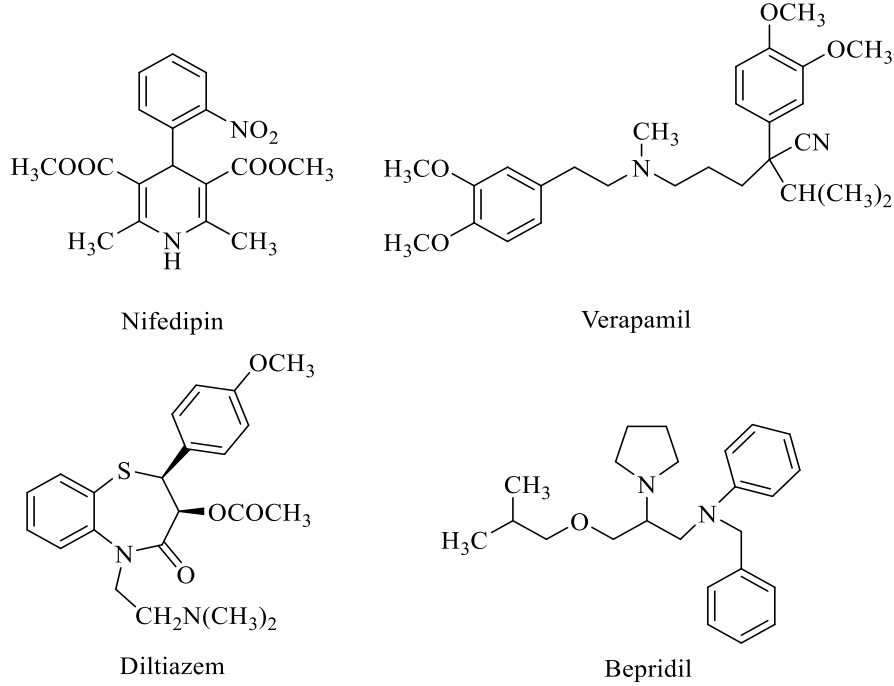
2.1.2. L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları

1,4-Dihidropiridinler (DHP'ler), L-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek hipertansiyon ve iskemik kalp hastalığının tedavisinde kullanılmak üzere onaylanan ve bu amaçla dünya çapında en çok reçetelenen ilaç grubudur (4).

DHP'lere ek olarak L-tipi kalsiyum kanallarını antagonize eden farklı kimyasal yapılara sahip bileşikler de bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün Anatomik Terapötik Kimyasal (ATC) sınıflandırmasına göre şu an tedavide yirmi dört

adet kalsiyum kanal blokörü bileşik bulunmaktadır. Bu bileşikler (Şekil 2.4), kimyasal olarak dört ana sınıfta yer almaktadır (21):

- 1,4-Dihidropiridinler (Nifedipin)
- Fenilalkilaminler (Verapamil)
- Benzotiyazepinler (Diltiazem)
- Diaminopropanol eterler (Bepridil)



Şekil 2.4. Farklı kimyasal yapıdaki kalsiyum kanal blokörleri.

L-tipi kalsiyum kanalını bloke eden bileşiklerin büyük çoğunluğu DHP yapısında olduğu için bu konuda yapılan çalışmalar daha çok DHP halka sistemine odaklanmıştır (4).

1,4-Dihidropiridinler

Dihidropiridinler, piridin çekirdeğine sahip heterosiklik organik moleküllerdir. 1,4-DHP'ler ilk kez 1882 yılında Arthur Rudolf Hantzsch tarafından sentezlenmiştir (22). Bu çalışmada DHP'lerin, piridin sentezinde ara ürün olarak kullanılabileceğinden bahsedilmiştir. Sonrasında Fleckenstein ve ark., verapamil ve metoksi türevinin voltaja duyarlı kalsiyum kanallarını bloke ederek Ca^{2+} iyonlarının, kardiyak ve vasküler kaslara girişini engellediğini keşfetmişlerdir (23). Ardından DHP türevi ilaçların prototipi olan nifedipin, 1975 yılında Almanya'da Bayer firması tarafından

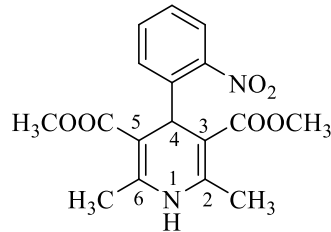
Adalat ticari ismiyle koroner hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere ruhsatlanmış (24). DSÖ'nün Anatomik Terapötik Kimyasal (ATC) Sınıflandırması'na göre şu anda tedavide kullanılan on altı adet DHP türevi bileşik ve yapıları Tablo 2.3'de verilmiştir (21).

Tablo 2.3. Dihidropiridin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.

Bileşikler	R ₁	R ₂	R ₃	X
Amlodipin	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ NH ₂	CH ₂ CH ₃	CH ₃	2-Cl
Klevodipin	CH ₃	CH ₂ OC(=O)C ₃ H ₇	CH ₃	2,3-diCl
Felodipin	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	2,3-diCl
Nikardipin	CH ₃	CH ₂ CH ₂ N(CH ₃)CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	3-NO ₂
Nifedipin	CH ₃	CH ₃	CH ₃	2-NO ₂
Nimodipin	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH(CH ₃) ₂	3-NO ₂
Nisoldipin	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	2-NO ₂
Nitrendipin	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₃	3-NO ₂
Lasidipin	CH ₃	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	2-CH=CHCO ₂ C(CH ₃) ₃
Nilvadipin	CN	CH ₃	CH(CH ₃) ₂	3-NO ₂
Manidipin	CH ₃	CH ₂ CH ₂ N(CH ₂) ₂ N(CH ₂) ₂ CH(CH ₂) ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	3-NO ₂
Barnidipin	CH ₃	N-CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	3-NO ₂
Lerkanidipin	CH ₃	C(CH ₃) ₂ CH ₂ N(CH ₃)- CH ₂ CH ₂ C(C ₆ H ₅) ₂	CH ₃	3-NO ₂
Silnidipin	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	CH ₂ CH=CHC ₆ H ₅	3-NO ₂
Benidipin	CH ₃	NCH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	3-NO ₂
İsradipin				

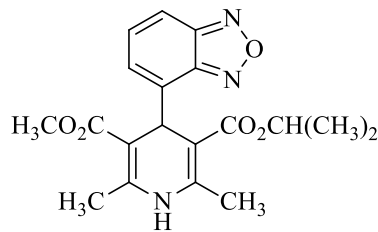
DHP'lerin Yapı Aktivite İlişkileri

Nifedipin molekülü (Şekil 2.5) piyasaya çıktıktan sonra üzerinde farklı modifikasyonların denendiği çok sayıda çalışma yapılmış ve ulaşılan sonuçlarla DHP türevi bileşikler için yapı-aktivite ilişkileri ortaya konmuştur:



Şekil 2.5. Nifedipinin kimyasal yapısı.

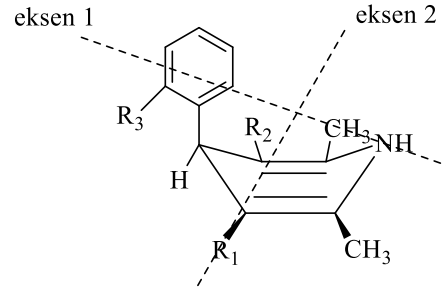
- Aktivite için DHP halkasının korunması gereklidir. Bir numaralı azot atomunun süstitüe olması, halkanın oksidasyonu veya redüksiyonu aktivitenin kaybolmasına veya önemli derecede azalmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, bir numaralı konumdaki N-H grubunun, kanalla hidrojen bağı yaparak aktiviteye aracılık ettiği düşünülmektedir (31).
- C-4 aril süstitüenti aktiviteyi optimize etmektedir. Belirtilen konumda genellikle fenil halkası tercih edilmekte olup, bu grubun küçük alkil veya sikloalkil gruplarıyla yer değiştirmesi aktiviteyi azaltmaktadır. Dört numaralı konumda 2,1,3-benzoksadiazol halkası taşıyan isradipin molekülü (Şekil 2.6), belirtilen konumda heterosiklik halka taşıyan ticari bir DHP türevi moleküldür (25).



Şekil 2.6. İsradipinin kimyasal yapısı.

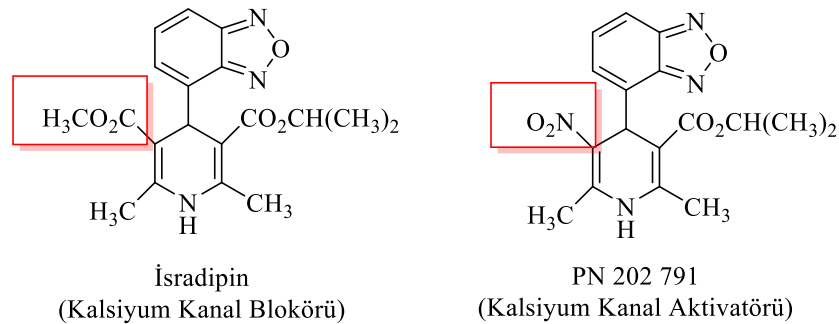
- Fenil halkasının taşıdığı süstitüentler, konumları, elektronik özellikleri ve büyüklükleri bakımından aktivite üzerinde etkili olmaktadır. Süstitüsyon *orto*- ve *meta*- konumlarındaiken yüksek olan aktivite, süstitüent *para*

konumuna taşınınca düşmektedir. Ayrıca, *orto* konumunda elektron çeken sübtitüentler tercih edilirken, *meta* konumunda hem elektron çeken hem de sunan grupların aktiviteye olumlu katkıları gözlenmiştir. Fenil halkasının DHP'ye dik olarak konumlandığı optimum konformasyonun (Şekil 2.7) sağlanması için, aktivite için belirtilen sübtitüentlerin belirli bir büyüklüğü aşmaması önemlidir (26).



Şekil 2.7. DHP türevlerinin kayık konformasyonu gösterimi.

- C-3 ve C-5'teki ester sübtitüentleri aktivitenin yönünü tayin eder ve doku selektivitesini sağlar. Belirtilen konumlarda elektron çekici gruplar, azalmış antagonist etkiye bazen de agonist aktiviteye yol açarlar. Örneğin isradipinde C-3 konumundaki ester grubu nitro sübtitüenti ile değiştirilirse (Şekil 2.8) kalsiyum kanal bloke edici aktivite tersine dönmektedir (27).

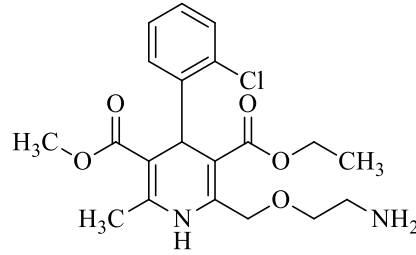


Şekil 2.8. İsradişin ve 3-NO₂ analogu.

- C-3 konumundaki ester nitril veya keton grubuyla yer deđiřtirilmesi aktivitede azalmaya sebep olur (4).
- C-3 ve C-5 konumlarında farklı ester grupları olduğunda dört numaralı konumda asimetrik merkez ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde oluşan izomerlerde aktivite farklılıkları olası olmakla beraber, bu türevler damarlara selektif

aktivite gösteren daha etkili bileşiklerdir. Nifedipin, piyasada bulunan DHP türevleri içerisinde tek simetrik bileşik olarak dikkat çekmektedir.

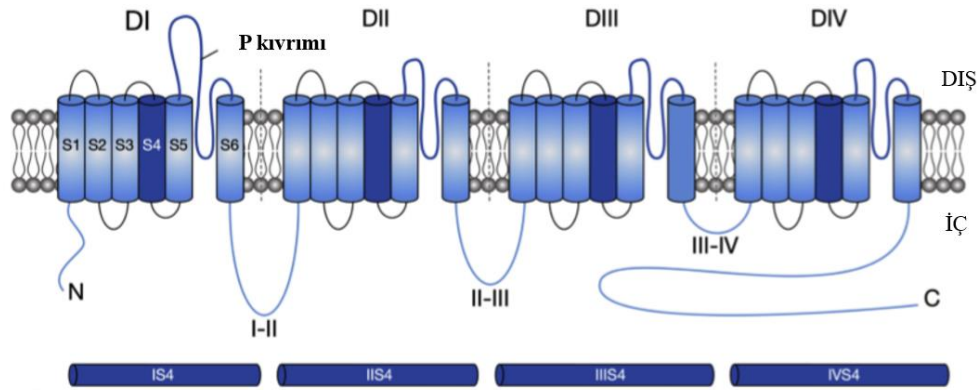
- Amlodipin (Şekil 2.9.) dışındaki bütün ticari DHP türevleri C-2 ve C-6'da metil süstitüenti taşımaktadır. Amlodipinin nifedipine kıyasla artmış aktivitesi C-6 konumunda bulunan uzun alkil grubunun etkisiyle açıklanmaktadır. Bu sayede hedef organlara penetrasyon ve kanalda lipofilik yörelerle etkileşme artmıştır. C-2 konumuna hacimli fenil halkası getirilen türevlerde ise aktivitenin azalması, lipofiliteyi artırmakla sterik engeli azaltmak arasında denge kurulması gerekliliğine dikkat çekmektedir (28).



Şekil 2.9. Amlodipinin kimyasal yapısı.

2.1.3. T-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları

T-tipi kalsiyum kanalları düşük voltajla aktive olabilen ve membran depolarizasyonundaki değişiklikler sayesinde açılarak hücre içine kalsiyum girişine olanak veren kalsiyum kanal alt tipidir. T-tipi kalsiyum kanalları (Ca_v3) her biri altı adet transmembran sarmal içeren dört homolog dizinin (Şekil 2.10) tekrarlanmasıyla oluşmaktadır (3,29).



Şekil 2.10. Ca_v3 -porunu oluşturan alt biriminin membran topolojisi (29).

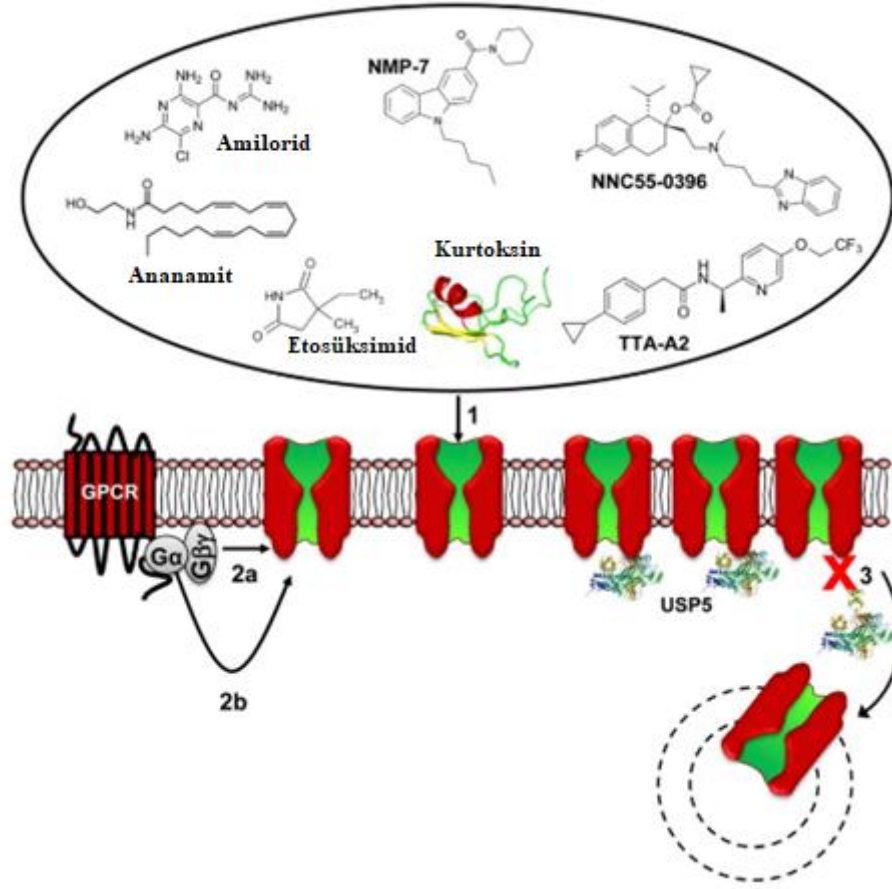
T-tipi kalsiyum kanalları düşük voltajla aktive olabilmeleri nedeniyle nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinden sorumludur. Nöron membranında gözlenen kısa süreli bir hiperpolarizasyon, dinlenme potansiyeli sırasında inaktive durumda olan T-tipi kalsiyum kanallarının açılması için yeterli olmaktadır (30). Bu fonksiyonuna ek olarak, T-tipi kanallar, aracılık ettikleri kalsiyum iyon girişiyle hormon ve nörotransmitter salınımına da neden olurlar (31). Kanalların uygun şekilde işlev yapması kardiyovasküler ve renin-anjiyotensin sistemlerinde fonksiyonların aksamadan sürdürülmesi için önemlidir. T-tipi kalsiyum kanallarının anjiyotensin aracılıklı regülasyonu ile aldosteron salınımı olması hipertansif etkiye neden olur. Bu nedenle, T-tipi kalsiyum kanalları antihipertansif ilaç geliştirme süreçlerinde ilgi çeken hedeflerden biri olmaktadır (17).

T-tipi kalsiyum kanalları memeli hücrelerinde üç farklı izoformda eksprese edilmektedir. Bu kanallar ($Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$, $Ca_v3.3$) yapısal olarak benzeseler de vücuttaki konumlanmaları ve aracılık ettikleri fizyolojik süreçlerle birbirlerinden ayrılmaktadır. $Ca_v3.1$ kanallarının uyku süreçlerinde (32), $Ca_v3.3$ 'ün ise $Ca_v1.2$ ile beraber serebral arterlerde kas kasılmasında rol oynadığı bildirilmiştir (33).

$Ca_v3.2$ kalsiyum kanalları ise çoğunlukla primer aferent nöronlarda bulunur ve ağrı sinyallerini düzenler. Artan aktiviteleri sinir hasarı, diyabet ve kemoterapiden kaynaklanan çeşitli kronik ağrı durumları ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, $Ca_v3.2$ kanallarının inhibe edilmesi, şu ana kadar uygulanmış geleneksel tedavi yaklaşımlarından ayrılan bir hedef olarak dikkat çekmektedir (34,35).

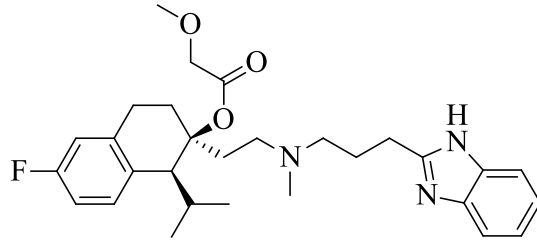
2.1.4. T-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları

T tipi kalsiyum kanallarını inhibe eden farklı kimyasal yapıda (Şekil 2.11) pek çok bileşik tanımlanmıştır (31).



Şekil 2.11. T-tipi kalsiyum kanallarını inhibe eden çeşitli bileşikler (2).

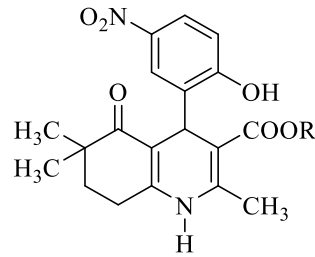
Parabuthus transvaalicus isimli akrebin serumundan elde edilen kurtoksin adlı peptidin $Ca_v3.1$ kanallarını yüksek afinite ile bloke ettiği bildirilmiştir (36). Antiepileptik etkili bir bileşik olan etosüksimid etkisini T-tipi kalsiyum kanal blokajı yaparak göstermektedir (37). Mibefradil (Şekil 2.12), selektif T-tipi kalsiyum kanal blokörü etkisi nedeniyle FDA tarafından kronik hipertansiyon tedavisi için onaylanmıştır. Sonradan sitokrom P450 enzim sistemiyle olan etkileşimleri beraber kullanıldığı ilaçların plazma konsantrasyonlarında büyük değişikliklere neden olunca piyasadan kaldırılmıştır (38).



Şekil 2.12. Mibefradilin kimyasal yapısı.

DHP türevleri arasında ilk defa nimodipinin L-tipi kalsiyum kanalları yanında T-tipi kalsiyum kanallarını da hedeflediği gösterilmiş ve antihipertansif olarak tedaviye girmiştir (29). Daha sonra yapılan çalışmalarda farklı DHP'lerin de T-tipi kalsiyum kanalları üzerine etkili oldukları bildirilmiştir.

DHP halkasını hekzahidrokinolin halka sistemi içinde bulunduran moleküllerin (Şekil 2.13) L-tipi kalsiyum kanallar yanında aldosteron salınımında etkin rol oynayan T-tipi kalsiyum kanalı olan $Ca_v3.1$ 'i de etkili bir şekilde inhibe ettikleri bulunmuştur. Aldosteron salınımının inhibe edilmesi hipertansiyon tedavisinde benimsenen yaklaşımlardan biri olması nedeniyle, bu bileşiklerin $Ca_v1.2$ ve $Ca_v3.1$ inhibisyonuyla dual etki üzerinden antihipertansif tedavisinde önemli olabilecekleri düşünülmüştür (9).

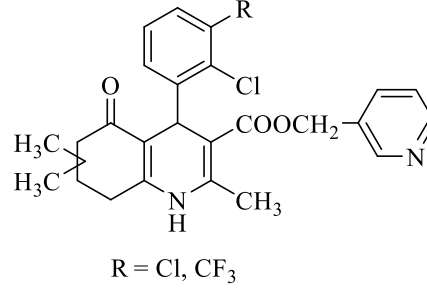


R: C_2H_5 , $CH_2C_6H_5$, $CH_2CH(CH_3)_2$

Şekil 2.13. Hekzahidrokinolin yapısında T-tipi kalsiyum kanal blokörleri.

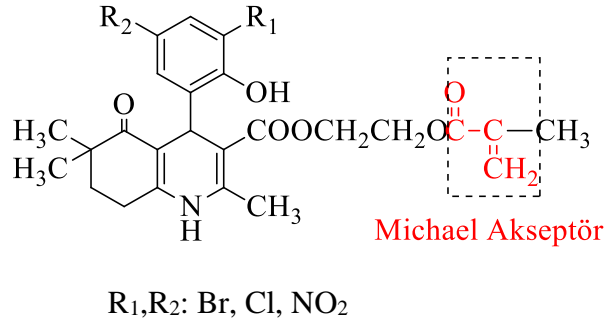
Yapılan çalışmalarda ester grubunun yan zincirindeki alkil grubunun kalsiyum kanal alt tipleri üzerinde selektivitede önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Hekzahidrokinolin halkasının üç numaralı konumundaki ester fonksiyonunda alkil grubu olarak 3-piridilmetil taşıyan türevlerin (Şekil 2.14) $Ca_v1.2$ 'ye oranla $Ca_v3.2$ 'yi selektif olarak inhibe ettiği saptanmıştır. Ayrıca bu moleküllerin akut inflamatuvar

ağrı ve nöropatiyle indüklenen mekanik hiperaljezi üzerinde de etkili oldukları hayvan deneyleriyle kanıtlanmıştır (13).



Şekil 2.14. Selektif Ca_v3.2 blokörü heksahidrokinolin türevleri.

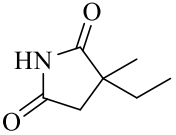
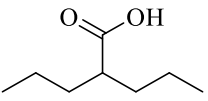
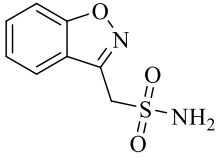
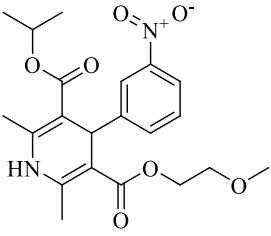
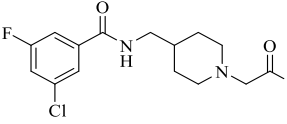
Hekzahidrokinolin türevlerinde üç numaralı konumundaki ester grubuna *Michael akseptörü* getirilmesi (Şekil 2.15) ise hem Ca_v1.2 hem de Ca_v.3.2 blokörü etkili bileşiklerin elde edilmesine yol açmıştır. Kanallara bağlanmanın kovalent bağlanma üzerinden olabileceği öngörülmüş, bu hipotez moleküler modelleme yöntemleri ve glutasyon inkübasyon testiyle desteklenmiştir (12).



Şekil 2.15. Kalsiyum kanallarının kovalent inhibitörü DHP türevleri.

Şu anda tedavide kullanılan ve faz çalışmalarında yer alan T-tipi kalsiyum kanal blokörlerinin kimyasal yapıları ve endikasyonları Tablo 2.4'de verilmiştir (5).

Tablo 2.4. Tedavide olan veya faz aşamasında bulunan T-tipi kalsiyum kanal blokörleri.

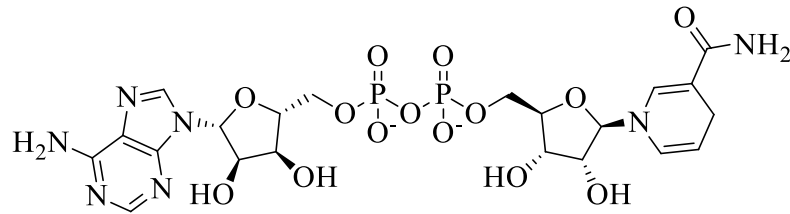
Bileşik	Kimyasal Yapı	Hedef	Endikasyon	Durum
Etosüksimit		T-tipi	Epilepsi	Onaylı
Valproik asit		T-tipi	Epilepsi	Onaylı
Zonizamit		T-tipi	Epilepsi	Onaylı
Nimodipin		L-tipi ve T-tipi	Hipertansiyon	Onaylı
Z944		T-tipi	Ağrı	Faz III

Uzun yıllardır devam eden T-tipi kalsiyum kanal blokörü geliştirme çalışmalarına rağmen, bu kadar az bileşiğin ticarileştirilmesinin bazı nedenleri mevcuttur. Bunlardan biri, T-tipi kalsiyum kanallarının diğer voltaja duyarlı kalsiyum kanalları ile yapılarının çok benzer olmasıdır. Bu nedenle, seçici T-tipi kalsiyum kanal blokörlerinin tasarımı ve geliştirilmesi son derece karmaşıktır. Ayrıca T-tipi kalsiyum kanalları sadece sinir sisteminde değil aynı zamanda kardiyovasküler, endokrin ve immün hücreler gibi diğer dokularda da eksprese edilir. Bu durum, doku seçici T-tipi kalsiyum kanal blokerlerinin geliştirilmesinin altında yatan en büyük zorluğu vurgulamaktadır (7). Dolayısıyla, selektif T-tipi kalsiyum kanal blokörü etkili bileşik

tanımlanması günümüzde medisinale kimya alanında popülerliğini koruyan konulardan olmaya devam etmektedir.

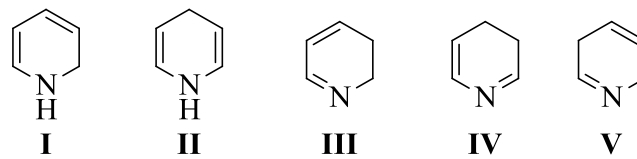
2.2. Dihidropiridinler

Dihidropiridinler, piridin halkasının kısmi doyurulmasıyla oluşan halkalardır. Dihidropiridin halkası, organik kimya reaksiyonlardaki rolünün yanında, biyokimyasal olarak da öneme sahiptir. Biyolojik sistemlerde, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD) tarafından gerçekleştirilen redoks reaksiyonları sonucu, yapısındaki piridin halkası dihidropiridine dönüşür ve NADH (Şekil 2.16) oluşur (39).



Şekil 2.16. 1,4 DHP içeren NADH koenziminin kimyasal yapısı.

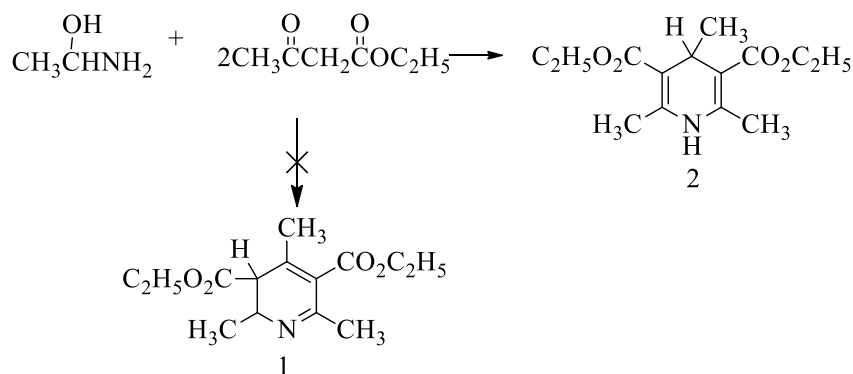
Teorik olarak beş adet dihidropiridin izomeri mümkün olmakla birlikte (Şekil 2.17), 1,2-dihidro (I) ile 1,4-dihidro (II) izomerleri en kararlı olanlardır. Bu kararlılık azot atomunun elektronlarının, π elektron sisteme katılabilmesi ile açıklanmaktadır (40).



Şekil 2.17. Dihidropiridinlerin olası izomerleri.

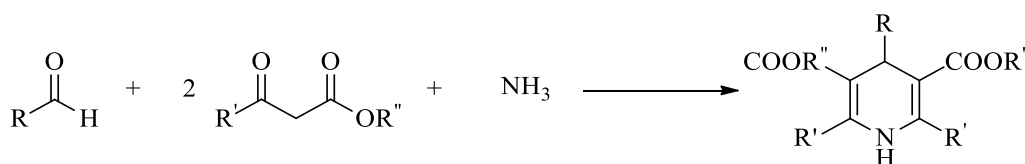
2.2.1. DHP Türevlerinin Sentezleri

DHP halkasının sentezi ilk olarak 1882 yılında Arthur R. Hantzsch tarafından bildirilmiştir (22). Bu sentezde, Hantzsch 2 mol etil asetoasetat ve 1 mol aldehitamonyağın reaksiyonundan 2,3-dihidropiridin (1 numaralı bileşik) yapısının oluşmasını beklemiştir. Fakat 1,4-dihidropiridin yapısına sahip 2 numaralı bileşik (Şekil 2.18) elde edilmiştir (40).



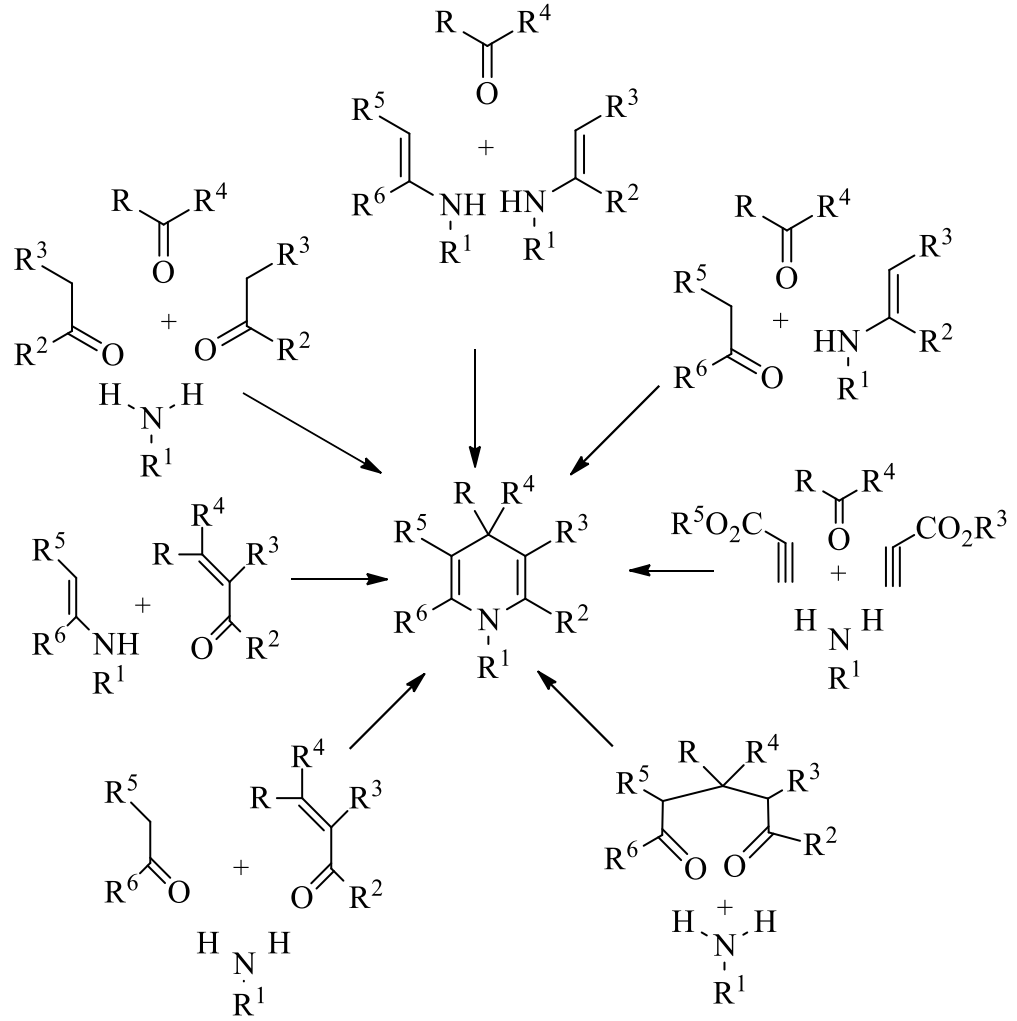
Şekil 2.18. Hantzsch sentezi ile DHP eldesi.

Günümüzde klasik Hantzsch reaksiyonu (Şekil 2.19) olarak adlandırılan yöntem, iki mol beta-ketoester, bir mol aldehit ve azot kaynağı olabilecek bir bileşiğin etanol içerisindeki reaksiyonu olarak bilinmektedir (22). Azot kaynağı olarak amonyak ve amonyum asetat en sık kullanılan bileşiklerdir (11,40,41).



Şekil 2.19. Klasik Hantzsch reaksiyonu.

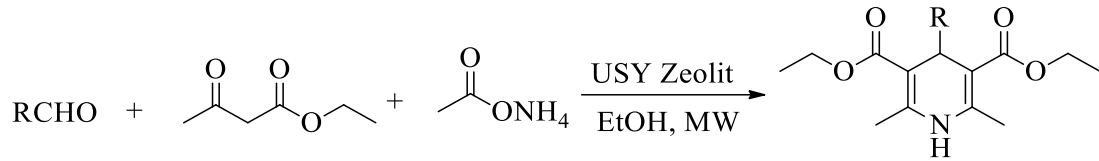
Hantzsch sentezi uygulama kolaylığı ve halka üzerinde kolay modifikasyona olanak sağlaması nedeniyle araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. DHP halkasının sentezi için literatürde Hantzsch sentezinin modifiye edildiği farklı uygulamalar (Şekil 2.20) bildirilmiştir (42).



Şekil 2.20. DHP halkası veren modifiye Hantzsch reaksiyonları.

DHP halkasının gerek biyolojik gerekse kimyasal önemi araştırmacıları Hantzsch reaksiyonunu daha kısa sürede ve daha yüksek verimle gerçekleştirme yollarını aramaya itmiştir.

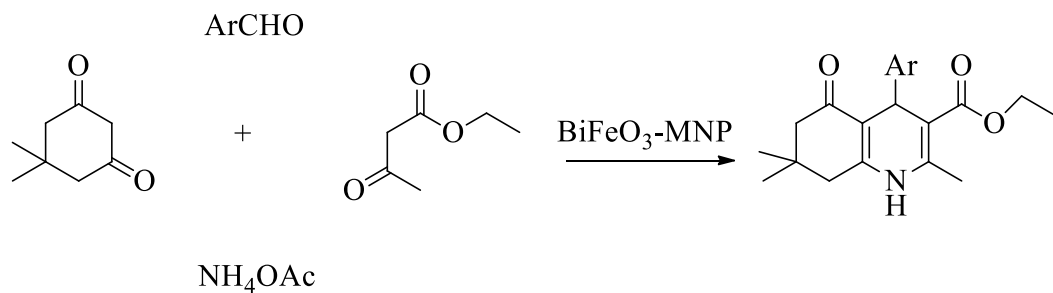
Bu amaçla sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri reaksiyonun mikrodalga ışıması altında gerçekleştirilmesidir (43). Yöntem sadece reaksiyon süresini kısaltmakla kalmayıp aynı zamanda solvan kullanımını da azaltmaktadır. Özellikle katalizör kullanımının da eşlik ettiği reaksiyonlarda (Şekil 2.21) verimin dikkat çekici derecede arttığı görülmüştür (44).



Şekil 2.21. Zeolit katalizli DHP sentezi.

Hantzsch reaksiyonunun verimini artırmak ve süresini kısaltmak için uygulanan yaklaşımlardan biri de katalizör kullanımıdır. Bu amaçla en sık kullanılan katalizörler son yıllarda yapılan çalışmalara dayandırılarak, manyetik-nanokatalizörler, silika-destekli katalizörler, zirkonyum-temelli katalizörler, iyonik sıvılar ve diğer katalizörler şeklinde sınıflandırılmıştır (45).

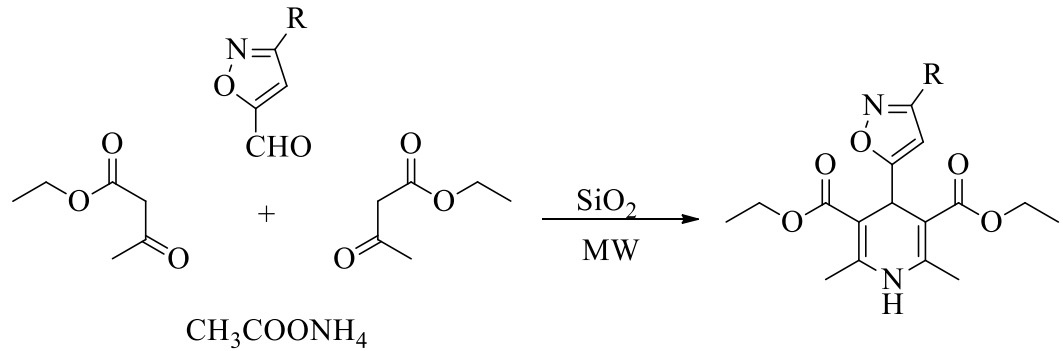
Kimyasal reaksiyonlarda manyetik nanopartikül (MNP) kullanımının pek çok avantajı bulunmaktadır. Hacimlerine oranla çok fazla yüzey alanlarına sahip olmaları nedeniyle yükleme kapasiteleri fazladır. Ayrıca manyetik özellikleri nedeniyle harici bir manyetik özellik gösteren madde ile reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabilirler. Yüzeylerine farklı fonksiyonel grupların bağlanabilmesi nedeniyle çok sayıda organik molekülü yapısında taşıyabilme özelliğine sahiptirler (46). Bu avantajlarından DHP türevlerinin sentezinde de sıklıkla yararlanılmaktadır. Khashi ve ark. (47) bizmut ferrit (BiFeO_3) manyetik nanopartiküllerini heksahidrokinolin türevlerinin sentezinde kullanmış, dimedon, etil asetoasetat, aromatik aldehit ve amonyum asetat için optimum reaksiyon şartlarını $110\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta çözücüsüz ortam olarak belirlemişlerdir (Şekil 2.22).



Şekil 2.22. Bizmut ferrit katalizli DHP sentezi.

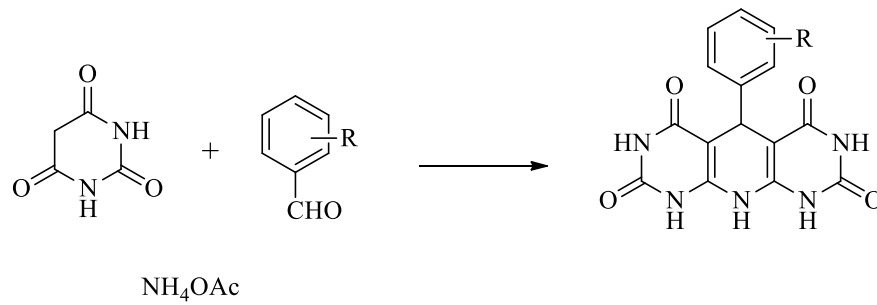
Silika geniş yüzey alanı ve sahip olduğu fonksiyonel gruplar nedeniyle yüzeyinde çok sayıda reaktif partikülü tutabilir ve böylelikle kimyasal reaksiyonlar

için etkili bir katalizör görevi görür (48). Silika, DHP'lerin sentezinde en çok görev alan katalizörlerden biridir. Dört numaralı konumunda isoksazol halkası taşıyan DHP türevlerinin (Şekil 2.23) elde edilmesinde SiO_2 , Al_2O_3 'e kıyasla daha etkin bir katalizör olarak bulunmuş ve reaksiyon konvansiyonel yöntemle göre mikrodalga ışıması altında daha yüksek verimle ilerlemiştir (49).



Şekil 2.23. Silika katalizörlüğünde DHP sentezi.

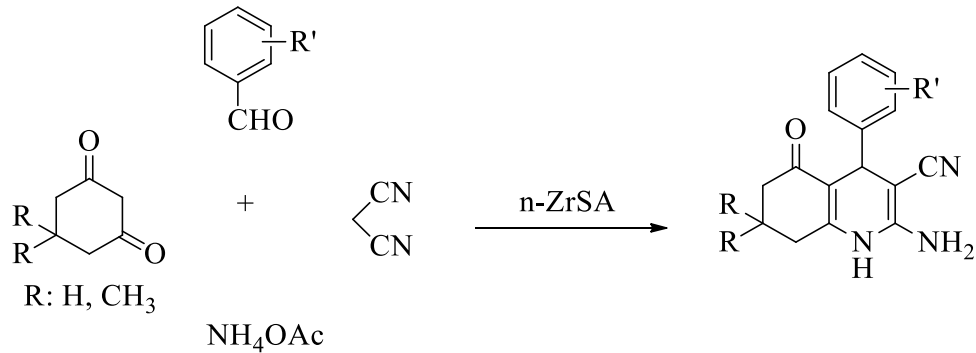
Barbitürik asit, süstitüe benzaldehit ve amonyum asetatın reaksiyonu için silika kaplı nano- Fe_3O_4 partikülleri üzerinde stabilize edilmiş N-propilbenzoguanamin sülfonik asit ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ -N-propil-benzoguanamin- SO_3H) katalizör olarak kullanılmıştır (Şekil 2.24). Aromatik aldehit üzerindeki süstitüentün elektron sunan ya da çeken karakterde olması reaksiyonun ilerleyişi üzerinde bir etkiye sebep olmamıştır (50).



Şekil 2.24. Barbitürik asit taşıyan DHP'lerin sentezi.

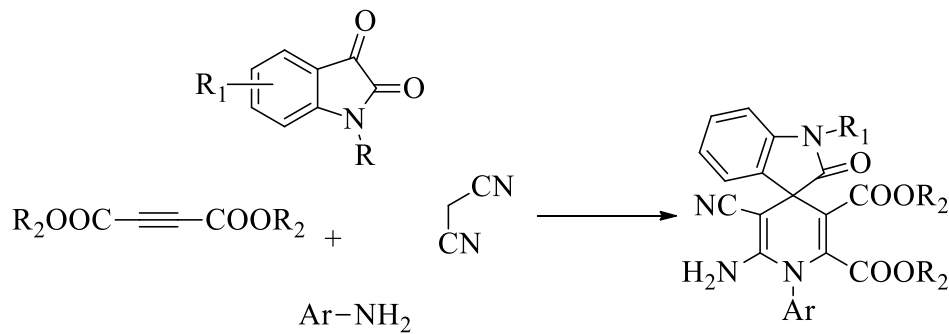
Zirkonyum oksit ya da zirkonya çeşitli polimerik yapılar dahil edilerek katalizör görevi görür. Zirkonya ayrıca gümüş, paladyum ve demir gibi geçiş metalleri veya titanyum ve vanadyum gibi metalik oksitlerle birlikte kullanılır. Yüksek termal kapasitesi nedeniyle yüksek sıcaklıklarda da etkili bir şekilde fonksiyon gösterir (51).

Bu nedenlerle DHP'lerin sentezinde sıklıkla kullanılmaktadır. Amoozadeh ve ark. (52), nano-zirkonya üzerine sülfonik asiti (n-ZrSA) immobilize ederek sentezledikleri heterojen katalizörü, 1,3-siklik diketon, sübstitüe benzaldehit, amonyum asetat ve malononitrilin reaksiyonuyla hekzahidrokinolin eldesi için kullanmışlardır (Şekil 2.25).



Şekil 2.25. Zirkonya katalizli DHP sentezi.

İyonik sıvılar, anyon veya katyon gibi iyonik bileşenlerden oluşan kristalize yapılardır. Düşük kaynama noktaları ve uçuculukları sayesinde etkili çözücü olmaları yanında reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabilirler (53). Bu nedenle, DHP'lerin sentezinde çözücü olarak sıklıkla tercih edilmektedirler. Liu ve ark. (54), izatin, malononitril, dialkil asetilendikarboksilat ve sübstitüe anilinin reaksiyonunu 1,4-diazobisiklo[2.2.2]oktan (DABCO) türevi iyonik sıvılar içinde gerçekleştirmiştir. Dialkil asetilendikarboksilat bileşiklerinin alkil grubu ile anilin üzerindeki sübstitüentlerin reaksiyonun ilerleyişine büyük bir etkisi saptanmamıştır (Şekil 2.26).

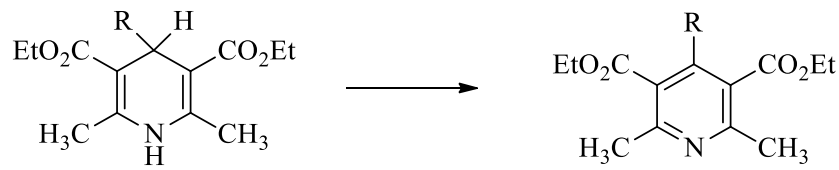


Şekil 2.26. DABCO katalizli DHP eldesi.

2.2.2. DHP Türevlerinin Kimyasal Özellikleri

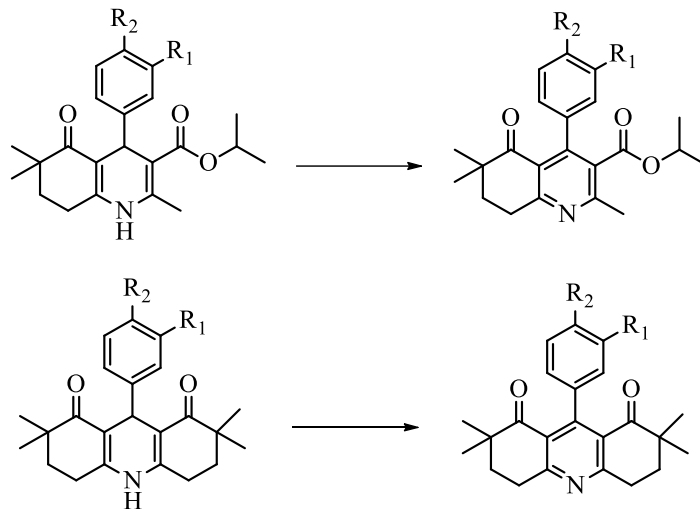
Oksidasyon

DHP halkasının çeşitli reaktif ve yöntemlerle bir ve dört numaralı konumlardaki hidrojen atomlarını kaybederek piridin halkasına aromatikleşmesi (Şekil 2.27), bu türevlerin en çok çalışılan kimyasal özelliklerinden biridir. Bu amaçla moleküler oksijen, güçlü oksidanlar (potasyum permanganat (KMnO₄), nitrik asit (HNO₃), vb), Pd/C dehidrojenasyon yöntemi ve ışık kullanılabilir (55–57).



Şekil 2.27. DHP'lerin oksidatif aromatisasyonu.

DHP'lerin oksidasyonu çeşitli enzimler tarafından da katalizlenebilmektedir. Lakkaz bu amaçla en sık kullanılan enzimdir (58). DHP halkasını kondanse halka sistemi içinde taşıyan türevlerin farklı lakkaz enzimleriyle oksidasyonları incelenmiş (Şekil 2.28) ve fenil halkası üzerindeki sübstitüentlerin oksidasyonda önemli olduğu ortaya konmuştur. Buna göre fenil halkası üzerinde üç ve dört numaralı konumlarda hidroksil taşıyan bileşikler her tip lakkazla okside olabilirken, nitro grubunun oksidasyonu engellediği gösterilmiştir (59).



Şekil 2.28. Kondanse halka sistemi içindeki DHP'nin oksidasyonu.

Redüksiyon

DHP'ler, katalitik hidrojenasyon ile tetrahidro ve heksahidro türevlerini verebilirler. Piridinyum tuzlarının borohidrür redüksiyonu ile DHP'leri oluşturduğu bilinmektedir. 1,2-DHP yapısındaki bileşiklerin hidrojen ile reaksiyonu tetrahidropiridin yapısını verirken, 1,4-DHP'lerin piperidine redüklendiği bildirilmiştir (60).

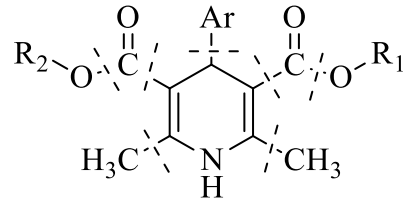
2.2.3. DHP Türevlerinin Spektral Özellikleri

Nükleer Manyetik Rezonans Spektrumları

Szeleszczuk ve ark., ticari olarak hipertansiyon tedavisinde kullanılan dokuz adet DHP halkası taşıyan molekülün (nifedipin, nitrendipin, nisoldipin, nimodipin, nilvadipin, felodipin, isradipin, nikardipin ve amlodipin) kimyasal yapısını ileri NMR teknikleri de kullanarak incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre, DHP halkasının kapandığının önemli kanıtlarından biri olan N-H sinyalinin ^1H NMR spektrumunda kullanılan çözücüye bağlı olarak farklı alanlarda izlendiği belirlenmiştir. Belirtilen proton, çözücü olarak aseton- d_6 kullanılan spektrumlarda 7.97-9.07 ppm; CDCl_3 kullanılanlar da ise 5.60-7.50 ppm aralıklarında saptanmıştır. DHP halkasının diğer karakteristik sinyalinden olan dört numaralı konumdaki proton ise çözücü tipinden etkilenmeyip 5.06-5.78 ppm arasında sinyal vermiştir. Çalışılan bileşiklerde ortak olarak bulunan iki ve altı numaralı konumlardaki metil protonlarının da çözücüden bağımsız olarak 2.29-2.44 ppm aralığında gözlemlendiği bildirilmiştir. Aynı bileşiklerin ^{13}C NMR spektrumlarından elde edilen verilere göre ise, DHP halkasının dört numaralı konumundaki karbon 40 ppm civarında gözlenmiştir. Yapının en karakteristik piklerinden olan ester karbonil piki ise 165 ppm civarında belirlenmiştir (61).

Kütle Spektrumları

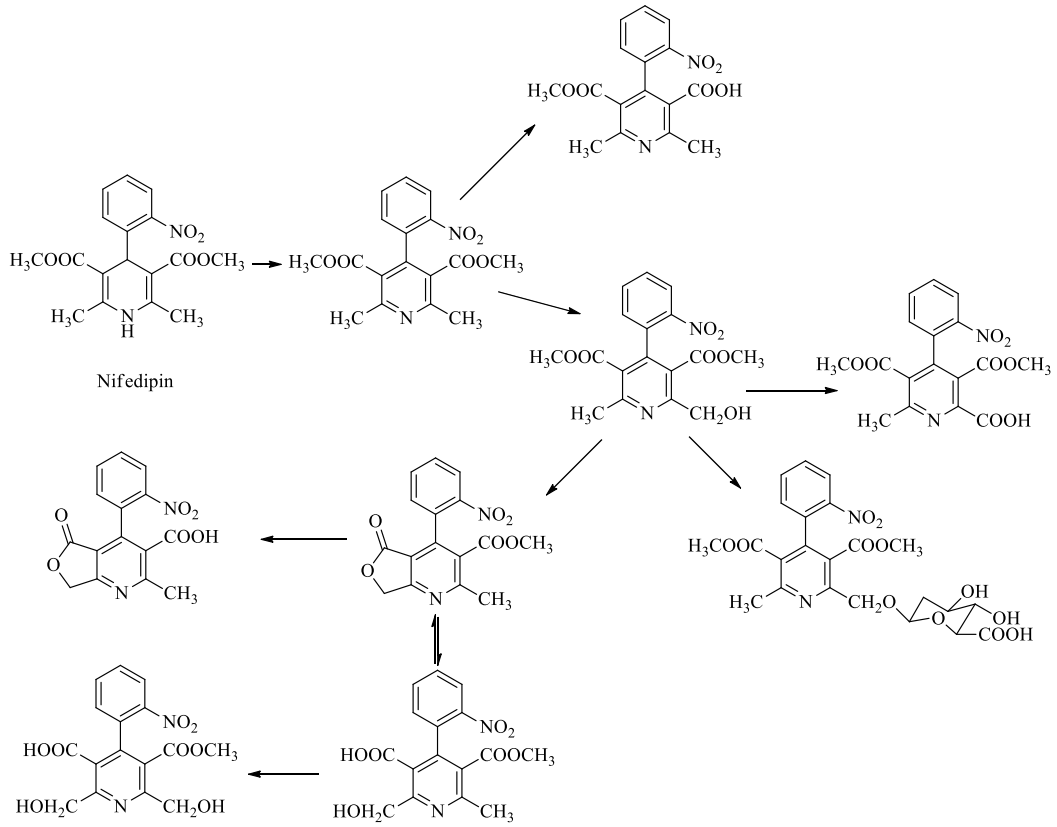
DHP'lerin kütle spektrumlarında sıklıkla molekülden hidrojen ayrılmasıyla oluşan piridinyum iyonunun piki gözlenmektedir. Dört numaralı konumdaki aromatik sübstitüentlerin yapıdan ayrılması ve DHP halkası üzerindeki diğer sübstitüentlerin kaybı da olası parçalanmalar (Şekil 2.29) arasında bildirilmiştir (62).



Şekil 2.29. DHP'lerin kütle spektrumlarındaki temel parçalanmalar.

2.2.4. DHP Türevlerinin Farmakokinetik Özellikleri

DHP halkası taşıyan antihipertansif ticari kalsiyum kanal blokörlerinin prototipi olan nifedipin molekülü, oral ya da dil altı alınımını takiben gastrointestinal sistemden tama yakın absorbe olur. Biyoyararlanımı presistemik metabolizma nedeniyle %56-77 arasında değişmektedir. Nifedipinin vücuttan atılması ağırlıklı olarak hepatik metabolizma ile sağlanır. DHP'ler için en karakteristik metabolizma yollarından biri piridin halkasına oksidasyonudur. Bir diğeri de ester gruplarının karboksilik asite hidrolizidir. Ayrıca, iki numaralı konumdaki metil süsbtitüentinin hidroksillenmesi ve ardından oksidasyonla karboksilik asite dönüşmesi veya aynı konumun O-glukuronidasyonu da bilinen metabolik yollardandır. İki ve üç numaralı konumlar arasında lakton oluşumu ve halkanın açılmasıyla oluşan hidroksi karboksilik asit metaboliti de bildirilmiştir (63). Nifedipin molekülünün izole sıçan hepatositlerinde saptanan metabolizma yolağı Şekil 2.30'da sunulmuştur.



Şekil 2.30. Nifedipin ve metabolitleri.

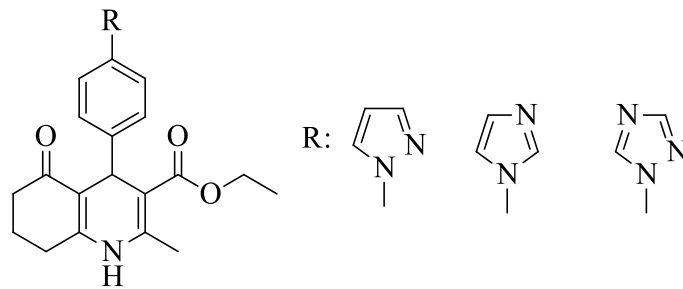
2.2.5. DHP Türevlerinin Diğer Farmakolojik Özellikleri

DHP halkası içeren bileşiklerin bugüne kadar sahip olduğu farklı biyolojik aktiviteler literatürde bildirilmiştir (39,64,65). Tez kapsamında bu etkilerden sıklıkla öne çıkanların tasarım yaklaşımları ve aktif bileşikleri incelenmiştir.

Antimikrobiyal Aktiviteleri

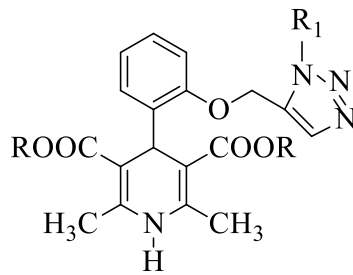
Gram-pozitif/Gram-negatif bakteriler, fungal ve mikobakteriyel patojenlerin sebep olduğu enfeksiyon hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle birlikte dünya çapında insan yaşamını tehdit eden faktörlerdendir. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisi için kullanılan ilaçlara karşı zaman içinde gelişen antimikrobiyal direnç, yeni kimyasal yapıda ve/veya etki mekanizmasına sahip bileşiklerin keşfini zorunlu kılmaktadır (66). Bu amaçla, farklı DHP türevlerinin antimikrobiyal etkileri üzerinde çalışılan konulardan olmaktadır.

Antibakteriyel ve antifungal etkili DHP türevlerine ulaşmada kullanılan yaklaşımlardan biri, DHP-azol hibrit bileşiklerinin tasarlanması ve sentezlenmesidir. DHP halkasını heksahidrokinolin sistemi içerisinde taşıyan bileşiklerin dört numaralı konumundaki fenil halkasına çeşitli azol halkalarının süstitüsü ile bileşikler sentezlenmiş (Şekil 2.31), antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. İmidazol ve triazol türevlerinin, pirazole kıyasla *Candida* suşlarına karşı antifungal etkilerinin daha iyi olduğu gösterilmiştir (67).



Şekil 2.31. Antimikrobiyal etkili DHP-azol hibritleri.

Archana ve ark. (68), 1,2,3-triazol-DHP hibritleri sentezleyip, antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Moleküllerden bazılarının standart bileşik olarak kullanılan tetrasikline benzer aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 2.32).



R: CH₃, C₂H₅

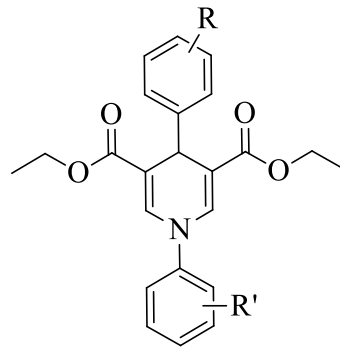
R₁: -CH₂C₆H₅, -CH₂COOCH₃

Şekil 2.32. Antibakteriyel etkili 1,2,3-triazol-DHP hibrit molekülleri.

Tüberküloz, *Mycobacterium tuberculosis*'in neden olduğu genellikle akciğerleri etkileyen ve tek bir enfeksiyon ajanı kaynaklı ölümlerde birinci sırada bulunan bir hastalıktır (69). Potansiyel antitüberküler etkili DHP türevleri

tasarlanırken genel yaklaşım, kalsiyum kanal blokörü etkinin azaltılması yönünde modifikasyonlar yapmaktır.

Lentz ve ark. bir numaralı konumdaki azot atomu üzerine fenil halkası süstitüe ederek yeni DHP türevleri (Şekil 2.33) sentezlemiş ve antitüberküler aktivitelerini araştırmıştır. Bu türevlerin antimikobakteriyel etkileri yanında *M. tuberculosis*'te ilaçların hücre dışına atılmasından sorumlu olan ABCB1 proteinini de inhibe ederek dual etki gösterdiği kanıtlanmıştır (70).

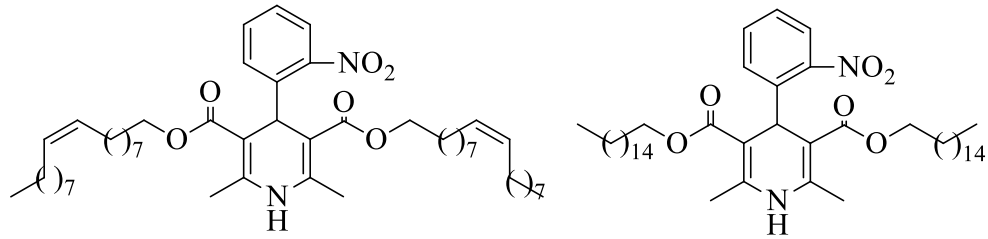


R: H, R': 2- Cl
R: 3,4-diOCH₃, R': 2-CH₃

Şekil 2.33. Antimikobakteriyel etkili DHP türevleri.

Antioksidan Aktiviteleri

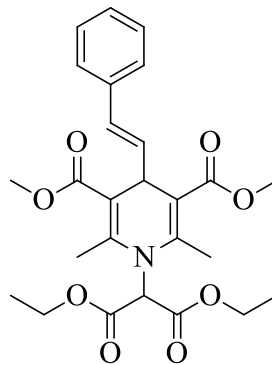
Antioksidanlar, serbest radikalleri temizleyerek hücrelerin hasar görmesini engelleyen moleküllerdir (71). DHP halkasının üç ve beş numaralı konumlarında palmitik, stearik ve oleik asit alkollerinin esterleştirilmesiyle simetrik ve asimetric uzun lipofilik zincirler içeren çeşitli bileşikler sentezlenmiş ve antioksidan aktiviteleri farklı yöntemlerle incelenmiştir (Şekil 2.34). Simetrik süstitüentler taşıyan DHP türevlerinin, asimetriclere göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Dört numaralı konumda nifedipin analogu olacak şekilde nitrofenil halkası taşıyan bileşikler, diğer halka ve süstitüentlere göre daha etkili bulunmuşlardır. Sentezlenen bileşiklerden bazılarının nifedipine kıyasla, vitamin E ve bütül hidroksi toluenden (BHT) daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu ortaya konulmuştur (72).



Şekil 2.34. Antioksidan etkili DHP türevleri.

Antiepileptik Aktiviteleri

Epilepsi, beyinde tekrarlayan nöbetlerle karakterize ciddi bir hastalıktır. Antiepileptik ilaçların, doza bağımlı toksisiteleri, çeşitli yan etkileri, ve kan-beyin engelini geçebilme problemleri nedeniyle yeni ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (73). Bu amaçla, antikonvülzan farmakoforları lipofilik yapıdaki DHP halkalarıyla birleştirme yaklaşımıyla bileşikler sentezlenmiş ve antiepileptik aktiviteleri araştırılmıştır. Sentezlenen bileşikler dört numaralı konumda fenil, benzil, stiril, fenetil veya 4-nitrositiril, ester yan zinciri olarak da metil veya etil grupları taşımaktadır. Bu türevler arasında en iyi antiepileptik etkiyi stiril halkası taşıyan etil esteri türevi (Şekil 2.35) göstermiştir (74).

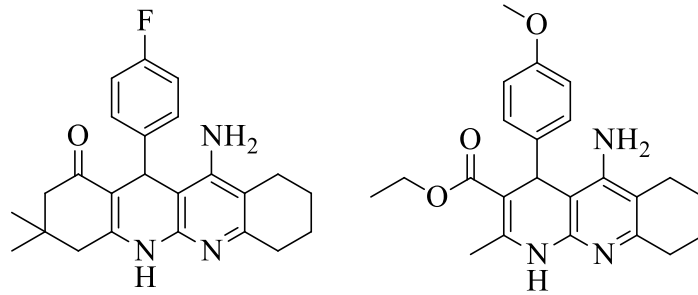


Şekil 2.35. Antiepileptik aktivite gösteren DHP türevi.

Anti-Alzheimer Aktiviteleri

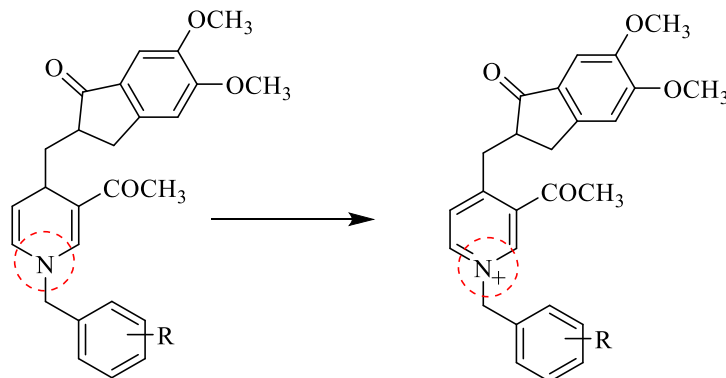
Alzheimer hastalığı genellikle yaşlanmayla birlikte ortaya çıkan hafıza kaybı ve bilişsel bozulmayla karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Günümüzde hastalığa karşı onaylanmış moleküller bulunmasına rağmen tedavisinin tam olarak başarılammış olması nedeniyle yeni bileşiklerin keşfine gereksinim duyulmaktadır

(75). DHP türevlerinin Alzheimer hastalığına karşı kullanımını amaçlayan ilk çalışmalar tedavide onaylanmış takrin molekülünün DHP hibritleri geliştirilmesi yönünde olmuştur. Bu çalışmalarda sentezlenen takrin-DHP hibritleri (Şekil 2.36), asetilkolin esteraz enzimini güçlü bir şekilde inhibe ederken, kalsiyum kanalları üzerinde etkili olmamaları ile öne çıkmıştır (76,77).



Şekil 2.36. Asetilkolinesteraz inhibitörü takrin-DHP türevleri.

Takrine ek olarak Alzheimer hastalığı tedavisinde onaylanmış asetilkolin esteraz inhibitörleri olan donepezil, galantamin ve rivastigmin moleküllerinin kimyasal yapılarında bulunan azot atomu, fizyolojik pH'da protonlanabilir durumdadır. Oluşan bu pozitif yükün, hedef enzimle etkileşimde rol oynadığı öngörülmektedir. DHP halkasının vücutta piridine dönüştüğü bilgisi kullanılarak DHP içeren donepezil analogları tasarlanmış (Şekil 2.37) ve sentezlenen bileşiklerin asetilkolin esteraz inhibisyon potansiyelleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, DHP türevlerinin asetilkolin esteraza karşı aktif değilken, N-benzilpiridinyum tuzlarının güçlü inhibisyon gösterdiklerini ortaya çıkarmıştır (78).



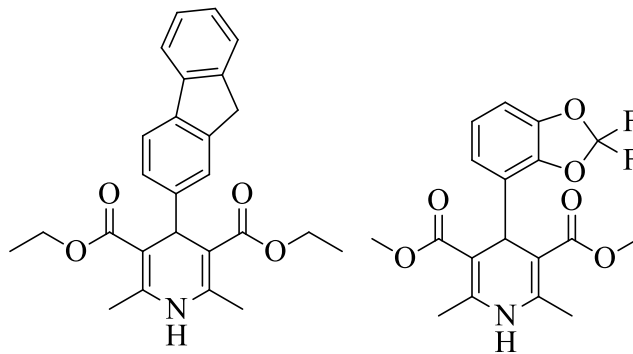
R: 3-CH₃, 3-Cl, 2-Cl

Şekil 2.37. DHP halkası taşıyan donepezil analogları.

Antikanser Aktiviteleri

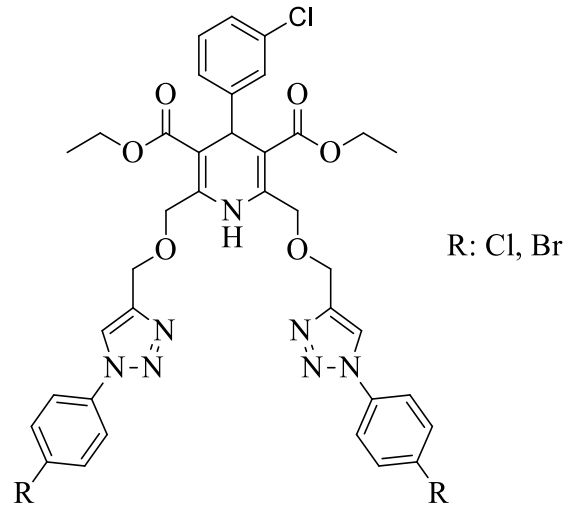
Dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olan kanser, kalıtsal, epigenetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol oynadığı kontrolsüz hücre proliferasyonu ile karakterize bir hastalıktır (79,80). Kemoterapinin pek çok kanser türü için en yaygın tedavi yöntemi olmasına rağmen, mevcut ilaçların güvenlik ve etkinlik açısından dar doz penceresine sahip olmalarının yanı sıra gelişen ilaç direnci kemoterapötiklerin tedavi başarısını kısıtlamaktadır. Bu durum, kanser hücrelerine karşı seçiciliğe sahip, daha etkili antikanser ilaç adaylarının tasarlanması ve geliştirilmesine yönelik acil ihtiyacı ortaya koymaktadır (81).

DHP türevi bileşiklerin antikanser etkisi literatürde sıklıkla yer almaktadır. Sidhom ve ark. dört numaralı konumunda hacimli siklik halkalar taşıyan DHP türevleri sentezlemiş ve on sekiz farklı hücre hattında antikanser aktivitelerini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, iki adet bileşiğin (Şekil 2.38), akciğer kanser hücresi A549'e karşı cisplatin ve doksorubisine kıyasla daha üstün antikanser etkilerinin olduğunu saptamışlardır (82).



Şekil 2.38. Antikanser etkili DHP türevleri.

Kumar ve ark., bis-triazol DHP türevleri sentezlemiş ve bileşiklerin antikanser etkinliklerini meme hücre hatlarında test etmişlerdir. Bu moleküllerden iki tanesinin (Şekil 2.39), MDA-MB-231 hücre hattında tamoksifenden daha etkili olduğu saptanmış ayrıca aynı moleküllerin sağlıklı hücreye (HEK-293) toksik etki göstermediği vurgulanmıştır (83).



Şekil 2.39. Antikanser etkili bis-triazol-DHP türevleri.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal ve Metot

Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler ticari olarak sağlanmış (Merck, Sigma-Aldrich, Isolab) ve satın alındıkları şekilde kullanılmışlardır. Reaksiyonların ilerleyişi ve elde edilen bileşiklerin saflıkları ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi kullanılarak silika jel 60 F₂₅₄ ile kaplı alüminyum plaklarda, etil asetat:hekzan (6:4) mobil fazı kullanılarak izlenmiştir. Sentezlenen moleküllerin erime dereceleri ‘Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus’ (Philadelphia, PA, USA) erime derecesi tayin cihazıyla belirlenmiş ve düzeltilmemiştir. Bileşiklerin ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digital FT-NMR Spektrometre (Palo Alto, CA, USA) ve Bruker Avance Neo 500 MHz NMR Spektrometre (Germany) cihazları ile dötero dimetilsülfoksit (DMSO-*d*₆) içerisinde elde edilmiştir. Spektrumlarda kimyasal kayma değerleri, ppm olarak tetrametilsilan (TMS) standartına göre bildirilmiştir. Piklerin yarılanması s (singlet), d (dublet), dd (dubletin dubleti) ve m (multiplet), etkileşme sabitleri (*J*) ise Hertz (Hz) olarak verilmiştir. Moleküllerin kütle spektrumları, elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi ile “Micromass ZQ LC-MS Spectrometer” (Waters, Eschborn, Almanya) cihazı ile elde edilmiştir. Bileşiklerin element kompozisyonları (karbon, hidrojen, azot ve kükürt) Leco CHNS-932 Analyzer (Philadelphia, PA, USA) cihazı kullanılarak belirlenmiştir.

3.1.2. Sentez Yöntemleri

4-Azolilbenzaldehytlerin Sentezi

10 mmol azol bileşiği (imidazol veya 1,2,4-triazol) ve 10 mmol 4-fluorobenzaldehyt 10 mL dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde 10 mmol potasyum karbonat varlığında 1 saat boyunca ultrasonik banyoda jelleşinceye kadar tutulmuştur. Daha sonra, karışım yağ banyosunda 120 °C’de iki saat boyunca ısıtılmıştır. Reaksiyon sıcaklığı 60 °C’ye düşürülmüş, karışım buzlu suya dökülmüştür. Elde edilen katı

süzülmüş, suyla yıkanmış ve bir sonraki basamak için herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmadan kullanılmıştır.

DHP Türevi Bileşiklerin (DA1-DA12) Genel Sentez Yöntemi

DA1-DA12 bileşikleri modifiye Hantzsch reaksiyonuyla elde edilmiştir. 1 mmol 4,4-dimetil-1,3-sikloheksadion, 1 mmol izobutil asetoasetat, 1 mmol uygun aldehit türevi ve 5 mmol amonyum asetat absö etanol içerisinde su banyosunda sekiz saat kaynatılmıştır. Ardından bileşikler belirtilen yöntemler izlenerek saf olarak elde edilmiştir: **DA1-DA4, DA6, DA8, DA9, DA11** ve **DA12** türevleri reaksiyon ortamının soğutulmasıyla elde edilen katı süzülerek ve soğuk etanol ile yıkanarak kazanılmıştır. **DA5** ve **DA7** bileşikleri, reaksiyon çözücüsü rotavoparda uçurulduktan sonra, kalan kısmın etil asetat:n-hekzan karışımından kristallendirilmesiyle elde edilmiştir. **DA10** türevinin katı olarak eldesi için ise, reaksiyon karışımı suya dökülmüş, etil asetatla ekstre edilmiştir. Etil asetat fazları birleştirilmiş, susuz sodyum karbonatla kurutulmuştur ve elde edilen çözeltiye hekzan ilave edilmiştir.

3.2. Kalsiyum Kanal İnhibisyon Tayini

3.2.1. Hücre Kültürü ve Transfeksiyon

tsA-201 hücreleri cam lameller üzerine ekilip, daha önce bildirilmiş kalsiyum fosfat yöntemi kullanılarak kalsiyum kanalları cDNA'ları ile transfekte edilmiştir (84,85).

3.2.2. Elektrofizyoloji

Cam lamel üzerindeki hücreler, 2 ml harici çözelti (40 mM TEACl, 65 mM CsCl, 20 mM BaCl₂, 1 mM MgCl₂, 10 mM HEPES ve 10 mM glikoz, pH 7.4) ile doldurulmuş 35 mm x 10 mm'lik bir plakaya (Corning, Corning, NY) aktarılmıştır. Borosilikat cam pipetler (Sutter Instrument Co., Novato, CA, 3-5 MΩ) ise (140 mM CsCl, 2.5 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM EGTA, 10 mM HEPES, 2 mM Na-ATP ve 0.3 mM Na-GTP, pH 7.3) çözeltisi ile doldurulmuştur. Tüm hücreler için *patch clamp* kayıtları, Pulse (V8.65) yazılımı (HEKA Electronics, Bellmore, NY) içeren bilgisayara bağlı bir EPC 10 amplifikatörü (HEKA Electronics, Bellmore, NY)

kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hücre zarı, cihazın mekanizması tarafından yırtıldıktan sonra internal solüsyonun hücre içine diyaliz yapması mümkün olmuştur. Kayıtlar hücre durumu stabil hale geldiğinde yapılmıştır (yaklaşık 5 dakika). Test bileşikleri 10 μ M konsantrasyonda hazırlanmış, hücrelere uygulandıktan sonra kanallarda potansiyel, L-tipi kalsiyum kanal için -90 mV'dan 0 mV /+20 mV aralığına, T-tipi kalsiyum kanalı için ise -110 mV'dan -20mV/0 mV aralığına depolarizasyonla 20 saniye aralıklarla oluşturulmuştur. Test titreşimleri, 20 sn içinde 100 ms olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.3. Veri Analizi

Veri analizi, Pulse yazılımında (HEKA Elektronik, Bellmore, NY) bulunan çevrimiçi analiz yöntemiyle yapılmış ve tüm grafikler GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA) kullanılarak hazırlanmıştır. İnhibisyon yüzdeleri, ortalama değerler \pm standart hata olarak sunulmuştur.

3.3. DA1'in İzomer Ayırımı ve Konfigürasyon Tayini

3.3.1. HPLC ile İzomer Ayırımı

DA1 enantiyomerlerinin analitik separasyonu, CHIRALPAK IG-3 kolon (150x4.6mm) üzerinde rasemik **DA1** karışımının 1 μ L (2 mg/mL, etanol) enjeksiyonuyla (mobil faz: 20/80, etanol/hekzan, akış hızı: 1 ml/dk, UV deteksiyon 230 nm) normal faz koşullarında Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemiyle yapılmıştır.

3.3.2. Konfigürasyon Tayini

Ayrılan piklerin konfigürasyonu VCD (titreşimsel dairesel dikroizm) yöntemiyle deneysel ölçüm ve teorik hesaplamalar yapılarak saptanmıştır (86,87). Deneysel ölçümler, 1 mg **DA1** pikleri P1 veya P2'nin 100 μ L CDCl₃ içindeki çözeltileri üzerinden gerçekleştirilmiştir. IR ve VCD ölçümleri sırasında BioTools DualPEM VCD spektrometresinde alınan spektrumlardan çözücü spektrumu ayrılarak IR spektrumu, ölçümlerin ortalaması alınarak da VCD spektrumu elde edilmiştir. Teorik olarak ise, **DA1**'in R izomeri için 89 konformer BioTools'un ComputeVOA

yazılımı kullanılarak oluşturulmuş, molekülün geometrik optimizasyonu Gaussian '09 kullanılarak yapılmıştır (88–90).

3.4. Moleküler Modelleme Yöntemleri

3.4.1. Homoloji Modelleme

CACNA1C (sıçan Cav1.2 $\alpha 1$ alt birimi) ve CACNA1H'nin (insan Cav3.2 $\alpha 1$ alt birimi) FASTA dizileri, Uniprot'tan indirilmiştir. Şablon olarak kullanılacak insan kalsiyum kanalı Cav3.1 (PDB kod: 6KZP) (91) ve tavşan kalsiyum kanalı Cav1.1'in (PDB kod: 6JP5) (92) üç boyutlu aminoasit dizilimleri, Protein Data Bank veri tabanından elde edilmiştir. Her iki tip kalsiyum kanalının homoloji modelleri, DHP'lerin bağlanma bölgesini içeren kısmı kapsayacak şekilde MOE (v2020.09; Molecular Operating Environment, Chemical Computing Group, Montreal, QC, Kanada) programı kullanılarak oluşturulmuştur.

3.4.2. Doking

Tüm moleküller Corina and MOE kullanılarak oluşturulmuş, rCav1.2 ve hCav3.2 homoloji modellerine Gold (v2020; Genetic Optimization for Ligand Docking, The Cambridge Crystallographic Data Center, UK) programıyla doking işlemi gerçekleştirilmiştir (93). Bağlanma bölgesi, Cav1.1 (6JP5) içindeki kristalize ligand olan nifedipinin bağlanma bölgesi gözetilerek belirlenmiştir. Her ligand için on adet poz elde edilmiş olup, pozlar LigandScout ile oluşturulan 3D farmakofor modele göre filtre edilmiştir (94,95).

3.4.3. Moleküler Dinamik Simülasyon ve Dinofor Analizi

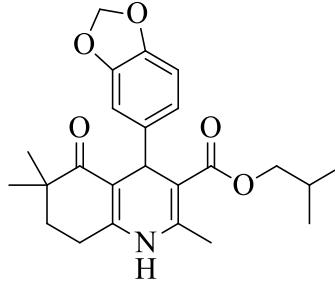
DA bileşiklerinin Cav1.2 ve Cav3.2 homoloji modelleri içindeki kompleksleri Maestro (Schroedinger, LLC, New York City, NY, USA) ile optimize edilmiştir. Moleküler dinamik (MD) simülasyonlar, Desmond (v2020.4; Schroedinger, LLC, New York City, NY, USA) ve OPLS-AA force field kullanılarak 5 kere gerçekleştirilmiştir. MD simülasyonları sonucunda kazanılan bilgiler dinamik farmakofor (dinofor) yöntemiyle analiz edilmiştir. Etkileşimler, etkileşmenin tipi ve hangi atomların etkileşmeyi gerçekleştirdiğine göre gruplanmış, sonuçlar uzaysal

dağılımın istatitksel olarak görselleştirilmesi sonucunda nokta-yoğunluk şeklinde şematize edilmiştir.

4.BULGULAR

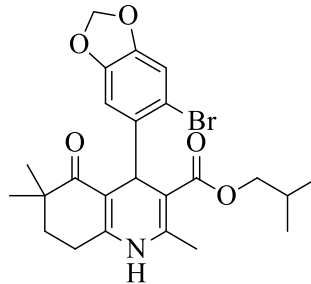
4.1. Kimyasal Çalışmalar

İzobutil 4-(benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA1)



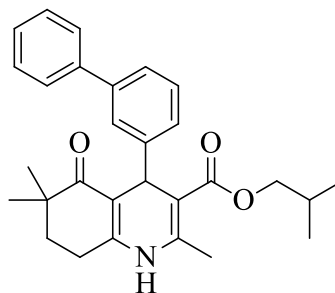
4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, benzo[*d*][1,3]dioksol-5-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %78. ed: 173-175 °C. ¹H NMR (δ, 400 MHz, DMSO-*d*₆): 0,80 (3H; d; *J*=3,7 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,81 (3H; d; *J*=3,7 Hz -CH(CH₃)₂), 0,89 (3H; s; 6-CH₃), 0,96 (3H; s; 6-CH₃), 1,64-1,72 (2H; m; H-7); 1,76-1,82 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,28 (3H; s; 2-CH₃), 2,44-2,52 (2H; m; H-8), 3,70 (1H; dd; *J*= 10,7/6,4 Hz; CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,75 (1H; dd; *J*= 10,7/6,4 Hz; CH_{2B}CH(CH₃)₂), 4,80 (1H; s; H-4), 5,88 (2H; dd; *J*= 3,1/0,9 Hz; BD-H²), 6,58 (1H; dd; *J*= 8,0/1,6 Hz; BD-H⁶), 6,62 (1H; d; *J*=1,6 Hz; BD-H⁴), 6,68 (1H; d; *J*=8,0 Hz; BD-H⁷), 9,05 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 100 MHz, DMSO-*d*₆): 18,26, 18,91, 18,93, 22,79, 24,06, 25,11, 27,27, 34,04, 35,44, 39,96, 69,14, 100,40, 102,95, 107,52, 107,74, 109,41, 119,98, 141,90, 144,95, 145,09, 146,63, 149,26, 166,88, 199,42. ESI-MS (m/z): 434 [M+Na]⁺(%100). Elementel analiz C₂₄H₂₉NO₅ (%) hesaplanan: C, 70,05; H, 7,10; N, 3,40. Bulunan: C, 69,70; H, 7,10; N, 3,43.

İzobutil 4-(6-bromobenzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA2)



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 6-bromobenzo[*d*][1,3]dioksol-5-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %65. ed: 200-203 °C. ¹H NMR (δ, 400 MHz, DMSO-*d*₆): 0,74 (3H; d; *J*=6,7 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,79 (3H; d; *J*=6,7 Hz -CH(CH₃)₂), 0,86 (3H; s; 6-CH₃), 0,94 (3H; s; 6-CH₃), 1,61-1,72 (2H; m; H-7); 1,83-1,90 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,20 (3H; s; 2-CH₃), 2,45-2,51 (2H; m; H-8), 3,68-3,75 (2H; m; -CH₂CH(CH₃)₂), 5,01 (1H; s; H-4), 5,95 (2H; dd; *J*= 8,7/0,9 Hz; BD-H²), 6,68 (1H; s; BD-H⁷), 6,90 (1H; s; BD-H⁴), 9,04 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 100 MHz, DMSO-*d*₆): 18,19, 18,90, 22,90, 24,15, 24,67, 24,82, 27,18, 33,92, 37,50, 39,95, 69,04, 101,47, 100,03, 108,87, 110,27, 111,60, 112,32, 140,24, 144,40, 146,07, 146,76, 149,85, 166,88, 198,87. ESI-MS (m/z): 512/514 [M+Na]⁺ / [M+2+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₄H₂₈BrNO₅ (%) hesaplanan: C, 58,78; H, 5,76; N, 2,86. Bulunan: C, 58,82; H, 5,69; N, 2,90.

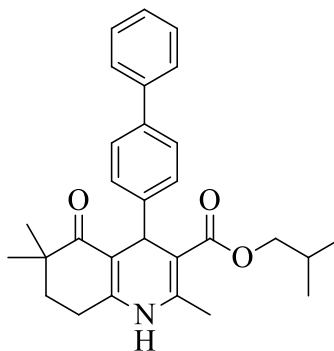
İzobutil 4-([1,1'-bifenil]-3-il)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA3)



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, [1-1'-bifenil]-3-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %81. ed: 226-228 °C. ¹H NMR (δ, 400 MHz, DMSO-*d*₆): 0,78 (3H; d; *J*=5,2 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,79 (3H; d; *J*=5,2 Hz -CH(CH₃)₂), 0,90 (3H; s; 6-CH₃), 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,66-1,75 (2H; m; H-7); 1,76-1,83 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,32 (3H; s; 2-CH₃), 2,47-2,52 (2H; m; H-8), 3,70 (1H; dd; *J*= 10,7/6,5 Hz; -CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,76 (1H; dd; *J*= 10,7/6,5 Hz; -CH_{2B}CH(CH₃)₂), 4,97 (1H; s; H-4), 7,10-7,53 (9H; m; Ar-H), 9,13 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 100 MHz, DMSO-*d*₆): 18,33, 18,91, 18,93, 22,87, 24,10, 25,15, 27,30, 34,09, 35,93, 38,86, 69,20, 102,78, 109,25, 124,13, 125,78, 126,29, 126,44, 127,20, 128,58, 128,90, 139,52, 140,61, 145,47, 148,30, 149,68,

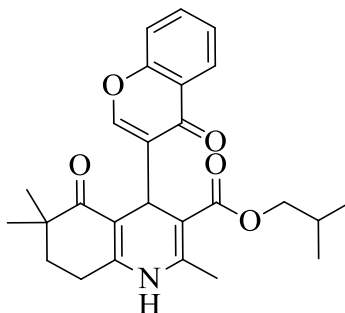
166,93, 199,52. ESI-MS (m/z): 466 [M+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₉H₃₃NO₃ (%) hesaplanan: C, 78,52; H, 7,50; N, 3,16. Bulunan: C, 78,24; H, 7,64; N, 3,23.

**İzobutil 4-([1,1'-bifenil]-4-il)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA4)**



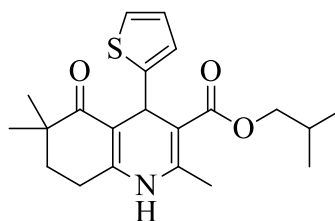
4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, [1-1'-bifenil]-4-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %76. ed: 228-230 °C. ¹H NMR (δ, 400 MHz, DMSO-*d*₆): 0,81 (3H; d; *J*=5,7 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,83 (3H; d; *J*=5,7 Hz -CH(CH₃)₂), 0,90 (3H; s; 6-CH₃), 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,66-1,75 (2H; m; H-7); 1,79-1,85 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,32 (3H; s; 2-CH₃), 2,47-2,52 (2H; m; H-8), 3,70 (1H; dd; *J*= 10,7/6,4 Hz; -CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,75 (1H; dd; *J*= 10,7/6,4 Hz; -CH_{2B}CH(CH₃)₂), 4,93 (1H; s; H-4), 7,22-7,59 (9H; m; Ar-H), 9,13 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 100 MHz, DMSO-*d*₆): 18,39, 18,97, 18,99, 22,88, 24,10, 25,17, 27,30, 34,06, 35,57, 39,29, 69,24, 102,77, 109,22, 126,17, 126,41, 127,00, 127,85, 128,78, 137,48, 140,13, 145,39, 146,96, 149,59, 166,93, 199,46. ESI-MS (m/z): 466 [M+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₉H₃₃NO₃ (%) hesaplanan: C, 78,52; H, 7,50; N, 3,16. Bulunan: C, 78,18; H, 7,41; N, 3,22.

**İzobutil 2,6,6-trimetil-5-okso-4-(4-okso-4H-kromen-3-il)-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA5)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 4-okso-4H-kromen-3-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: % 45. ed: 211-213 °C. ¹H NMR (δ, 400 MHz, DMSO-*d*₆): 0,77 (3H; d; *J*=6,8 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,82 (3H; d; *J*=6,8 Hz -CH(CH₃)₂), 0,84 (3H; s; 6-CH₃), 0,95 (3H; s; 6-CH₃), 1,62-1,72 (2H; m; H-7); 1,81-1,88 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,20 (3H; s; 2-CH₃), 2,42-2,46 (2H; m; H-8), 3,69 (1H; dd; *J*= 10,6/6,7 Hz; -CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,79 (1H; dd; *J*= 10,6/6,7 Hz; -CH_{2B}CH(CH₃)₂), 4,72 (1H; s; H-4), 7,39-7,80 (5H; m; Chr-H), 9,15 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 100 MHz, DMSO-*d*₆): 18,52, 19,04, 22,91, 24,21, 24,99, 27,24, 31,60, 34,09, 39,42, 69,18, 99,34, 105,33, 118,13, 124,27, 125,03, 125,63, 133,52, 146,39, 151,16, 154,37, 155,22, 167,01, 174,99, 199,37. ESI-MS (m/z): 458 [M+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₆H₂₉NO₅ (%) hesaplanan: C, 71,70; H, 6,71; N, 3,22. Bulunan: C, 70,61; H, 6,65; N, 3,19.

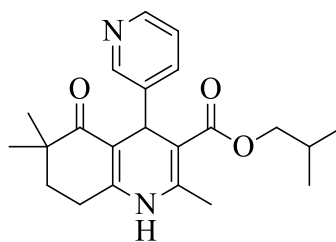
**İzobutil 2,6,6-trimetil-5-okso-4-(tiyofen-2-il)-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA6)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, tiyofen-2-karbaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %63. ed: 135-138 °C. ¹H NMR (δ, 500 MHz, DMSO-*d*₆): 0,83 (3H; d; *J*=2.6 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,85 (3H;

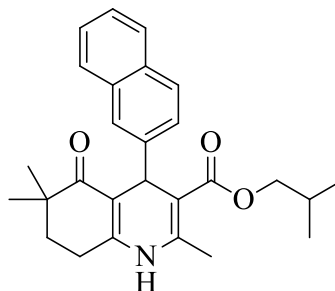
d; $J=2,6$ Hz -CH(CH₃)₂), 0,96 (3H; s; 6-CH₃), 1,00 (3H; s; 6-CH₃), 1,71-1,78 (2H; m; H-7); 1,83-1,88 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,28 (3H; s; 2-CH₃), 2,47-2,43 (2H; m; H-8), 3,79 (1H; dd; $J= 10,6/6,4$ Hz; -CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,85 (1H; dd; $J= 10,6/6,4$ Hz; -CH_{2B}CH(CH₃)₂), 5,18 (1H; s; H-4), 6,55-7,16 (3H; m; Ar-H), 9,28 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ , 125 MHz, DMSO-*d*₆): 18,78, 19,50, 23,28, 23,46, 24,57, 25,71, 27,86, 28,05, 31,18, 34,76, 69,77, 102,96, 110,39, 122,76, 123,66, 126,80, 146,22, 150,35, 152,27, 167,20, 200,01. ESI-MS (m/z): 378 [M+1+Na]⁺ (100%). Elementel analiz C₂₁H₂₇NO₃S (%) hesaplanan: C, 67,53; H, 7,29; N, 3,75; S, 8,58. Bulunan: C, 67,38; H, 7,35; N, 3,78; S, 8,64.

İzobutil 2,6,6-trimetil-5-okso-4-(piridin-3-il)-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA7)



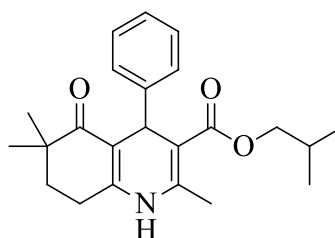
4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, nikotinaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %45. ed: 182-183 °C. ¹H NMR (δ , 500 MHz, DMSO-*d*₆): 0,77 (3H; d; $J=6,7$ Hz; -CH(CH₃)₂), 0,79 (3H; d; $J=6,7$ Hz -CH(CH₃)₂), 0,86 (3H; s; 6-CH₃), 0,98 (3H; s; 6-CH₃), 1,65-1,70 (2H; m; H-7); 1,71-1,80 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,32 (3H; s; 2-CH₃), 2,46-2,53 (2H; m; H-8), 3,71 (1H; dd; $J= 10,7/6,4$ Hz; -CH_{2A}CH(CH₃)₂), 3,76 (1H; dd; $J= 10,7/6,4$ Hz; -CH_{2B}CH(CH₃)₂), 4,87 (1H; s; H-4), 7,20-8,37 (4H; m; Ar-H), 9,21 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ , 125 MHz, DMSO-*d*₆): 18,84, 19,40, 23,32, 24,57, 25,46, 27,75, 34,51, 34,61, 39,99, 69,77, 102,35, 109,15, 123,80, 135,12, 143,30, 146,69, 147,31, 149,27, 150,43, 167,07, 199,92. ESI-MS (m/z): 391 [M+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₂H₂₈N₂O₃ (%) hesaplanan: C, 71,71; H, 7,66; N, 7,60. Bulunan: C, 71,63; H, 7,61; N, 7,64.

**İzobutil 2,6,6-trimetil-4-(naftalen-2-il)-5-okso-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA8)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 2-naftilaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: % 70. ed: 233-236 °C. ^1H NMR (δ , 500 MHz, DMSO- d_6): 0,77 (3H; d; $J=6,7$ Hz; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,79 (3H; d; $J=6,7$ Hz $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,87 (3H; s; 6- CH_3), 0,98 (3H; s; 6- CH_3), 1,65-1,74 (2H; m; H-7); 1,76-1,81 (1H; m; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,35 (3H; s; 2- CH_3), 2,48-2,53 (2H; m; H-8), 3,70 (1H; dd; $J= 10,7/6,3$ Hz; $-\text{CH}_2\text{A}\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,74 (1H; dd; $J= 10,7/6,3$ Hz; $-\text{CH}_2\text{B}\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 5,07 (1H; s; H-4), 7,38-7,79 (7H; m; Ar-H), 9,17 (1H; s; N-H). ^{13}C NMR (δ , 125 MHz, DMSO- d_6): 18,89, 19,46, 23,40, 24,60, 25,60, 27,77, 34,57, 36,71, 39,95, 69,72, 103,20, 109,68, 125,57, 125,60, 126,19, 127,11, 127,72, 127,89, 128,06, 132,09, 132,25, 145,64, 146,01, 150,17, 167,44, 200,02. ESI-MS (m/z): 440 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (%100). Elementel analiz $\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{NO}_3$ (%) hesaplanan: C, 77,67; H, 7,48; N, 3,35. Bulunan: C, 77,62; H, 7,51; N, 3,37.

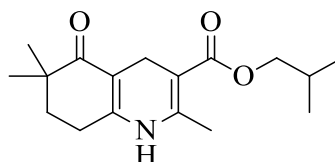
**İzobutil 2,6,6-trimetil-5-okso-4-fenil-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA9)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, benzaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %68. ed: 177-178 °C. ^1H NMR (δ , 500 MHz, DMSO- d_6): 0,80 (3H; d; $J=5,4$ Hz; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,81 (3H; d;

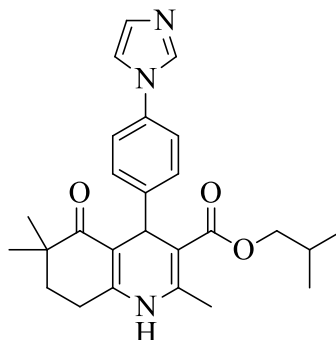
$J=5,4$ Hz $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,88 (3H; s; 6- CH_3), 0,98 (3H; s; 6- CH_3), 1,64-1,68 (2H; m; H-7); 1,70-1,82 (1H; m; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,30 (3H; s; 2- CH_3), 2,44-2,50 (2H; m; H-8), 3,69 (1H; dd; $J=10,7/6,3$ Hz; $-\text{CH}_2\text{A}(\text{CH}_3)_2$), 3,71 (1H; dd; $J=10,7/6,3$ Hz; $-\text{CH}_2\text{B}(\text{CH}_3)_2$), 4,89 (1H; s; H-4), 7,04-7,18 (5H; m; Ar-H), 9,00 (1H; s; N-H). ^{13}C NMR (δ , 125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 18,81, 19,44, 19,47, 23,35, 24,59, 25,63, 27,79, 34,57, 36,27, 69,67, 103,33, 109,88, 126,06, 127,73, 128,26, 145,83, 148,19, 149,95, 167,43, 199,93. ESI-MS (m/z): 390 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (%100). Elementel analiz $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{NO}_3$ (%) hesaplanan: C, 75,17; H, 7,95; N, 3,81. Bulunan: C, 75,32; H, 7,99; N, 3,86.

İzobutil 2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA10)



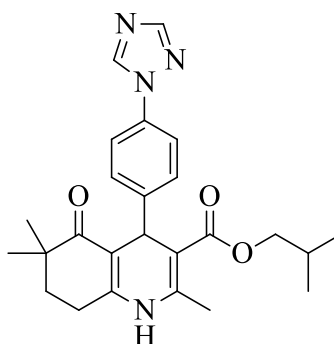
4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, paraformaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %23. ed: 158-159 °C. ^1H NMR (δ , 500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 0,99 (6H; d; $J=6,7$ Hz; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,23 (6H; s; 6- CH_3), 1,69-1,75 (2H; m; H-7); 1,84-1,92 (1H; m; $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,15 (3H; s; 2- CH_3), 2,29-2,36 (2H; m; H-8), 2,97 (2H; s; H-4); 3,81 (2H; d; $J=6,5$ Hz; $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 8,63 (1H; s; N-H). ^{13}C NMR (δ , 100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 18,03, 18,98, 19,04, 22,20, 22,78, 23,67, 27,38, 34,22, 38,87, 39,18, 69,07, 98,72, 123,92, 145,80, 150,88, 167,10, 199,75. ESI-MS (m/z): 314 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (%100). Elementel analiz $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{NO}_3$ (%) hesaplanan: C, 70,07; H, 8,65; N, 4,81. Bulunan: C, 70,17; H, 8,74; N, 4,85.

**İzobutil 4-(4-(1*H*-imidazol-1-il)fenil)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA11)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %32. ed: 255-258 °C. ¹H NMR (δ, 500 MHz, DMSO-*d*₆): 0,80 (3H; d; *J*=7,5 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,82 (3H; d; *J*=7,5 Hz -CH(CH₃)₂), 0,88 (3H; s; 6-CH₃), 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,66-1,75 (2H; m; H-7); 1,79-1,85 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,31 (3H; s; 2-CH₃), 2,48-2,52 (2H; m; H-8), 3,70-3,76 (2H; m; -CH₂CH(CH₃)₂), 4,93 (1H; s; H-4), 7,07 (1H; s; imidazol-H), 7,26 (2H; d; Ph-H; *J*=8,5 Hz), 7,44 (2H; d; Ph-H; *J*=8,5 Hz), 7,63 (1H; s; imidazol-H), 8,14 (1H; s; imidazol-H), 9,17 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 125 MHz, DMSO-*d*₆): 18,87, 19,48, 23,35, 24,58, 25,62, 27,78, 34,55, 36,04, 69,76, 103,02, 109,60, 118,49, 120,53, 129,00, 130,11, 135,16, 135,89, 146,14, 146,99, 150,18, 167,30, 199,98. ESI-MS (*m/z*): 456 [M+Na]⁺ (%100). Elementel analiz C₂₆H₃₁N₃O₃ (%) hesaplanan: C, 72,03; H, 7,21; N, 9,69. Bulunan: C, 71,96; H, 7,30; N, 9,66.

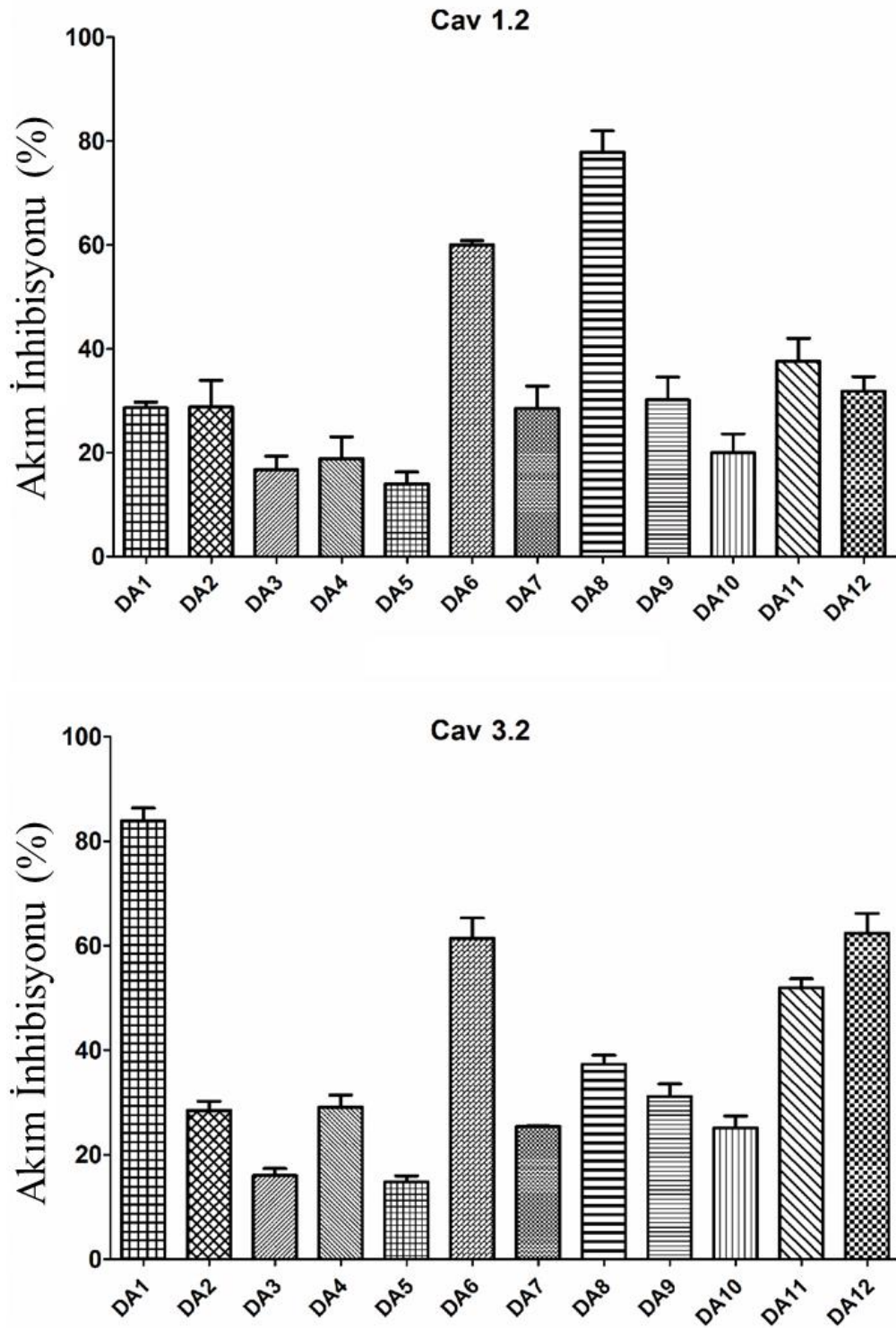
**İzobutil 4-(4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)fenil)-2,6,6-trimetil-5-okso-1,4,5,6,7,8-
hekzahidrokinolin-3-karboksilat (DA12)**



4,4-dimetilsikloheksan-1,3-dion, 4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)benzaldehit, izobutil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Açık sarı toz, verim: %41. er: 198-200 °C. ¹H NMR (δ, 500 MHz, DMSO-*d*₆): 0,80 (3H; d; *J*=6,7 Hz; -CH(CH₃)₂), 0,82 (3H; d; *J*=6,7 Hz -CH(CH₃)₂), 0,89 (3H; s; 6-CH₃), 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,68-1,75 (2H; m; H-7); 1,80-1,85 (1H; m; -CH(CH₃)₂), 2,33 (3H; s; 2-CH₃), 2,48-2,52 (2H; m; H-8), 3,70-3,77 (2H; m; -CH₂CH(CH₃)₂), 4,95 (1H; s; H-4), 7,30 (2H; d; Ph-H; *J*=8,6 Hz), 7,64 (2H; d; Ph-H; *J*=8,6 Hz), 8,18 (1H; s; triazol-H), 9,16 (1H; s; triazol-H), 9,18 (1H; s; N-H). ¹³C NMR (δ, 125 MHz, DMSO-*d*₆): 18,87, 19,47, 23,36, 24,58, 25,58, 27,78, 34,55, 36,23, 69,75, 102,90, 109,56, 119,69, 128,96, 135,04, 142,55, 146,24, 147,98, 150,21, 152,68, 167,27, 199,98. ESI-MS (*m/z*): 457 [M+Na]⁺ (% 100). Elementel analiz C₂₅H₃₀N₄O₃ (%) hesaplanan; C, 69,10; H, 6,96; N, 12,89. Bulunan: C, 69,09; H, 7,03; N, 12,83.

4.2. Bileşiklerin L-tipi (Ca_v1.2)/T-tipi (Ca_v3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri

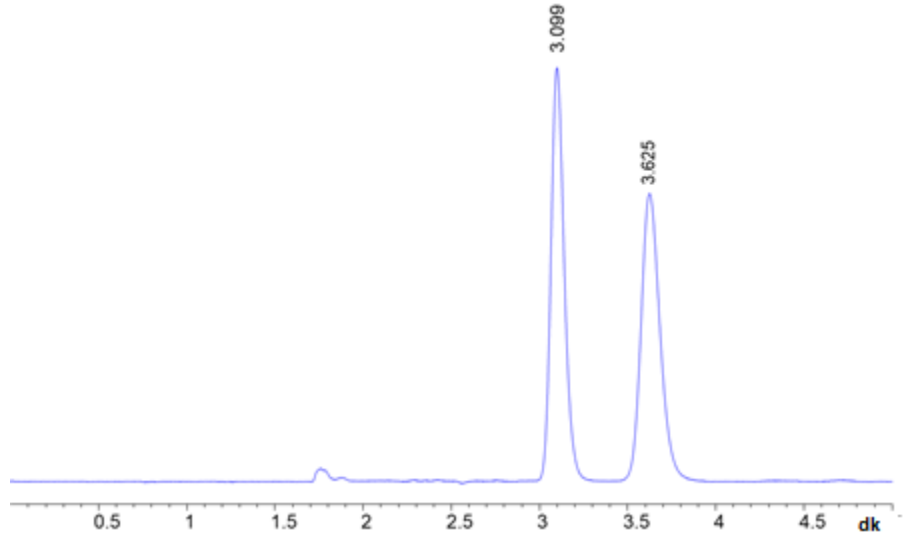
DA1-DA12'nin Ca_v1.2 ve Ca_v3.2 kanallarından kalsiyum akımını inhibe etme özellikleri, maddelerin 10 µM konsantrasyonda hazırlanan çözeltileriyle çalışılmış, sonuçlar akımın yüzde inhibisyonu şeklinde Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Bileşiklerin rCav1.2 ve hCav3.2 kalsiyum kanallarını 10 μ M konsantrasyonda inhibisyon oranları (n=3).

4.3. DA1'in İzomerlerinin Ayırımı ve Cav3.2 Üzerine Etkileri

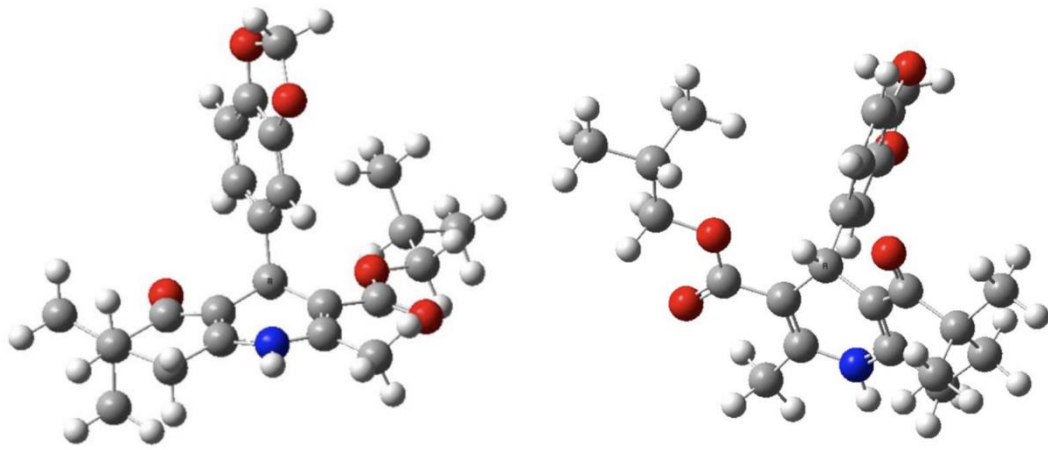
Her iki enantiyomerin saflaştırılması aynı kolonda ve 40 µL (mobil fazda 6 mg/mL) DA1 enjeksiyonu kullanılarak yapılmıştır. Pik 1 için enantiyomerik saflık ($t_r=3,099$ m) %99 ve Pik 2 için ($t_r= 3,625$ m) %98,7 bulunmuştur (Şekil 4. 2).



Şekil 4.2. DA1'in HPLC kromatogramı.

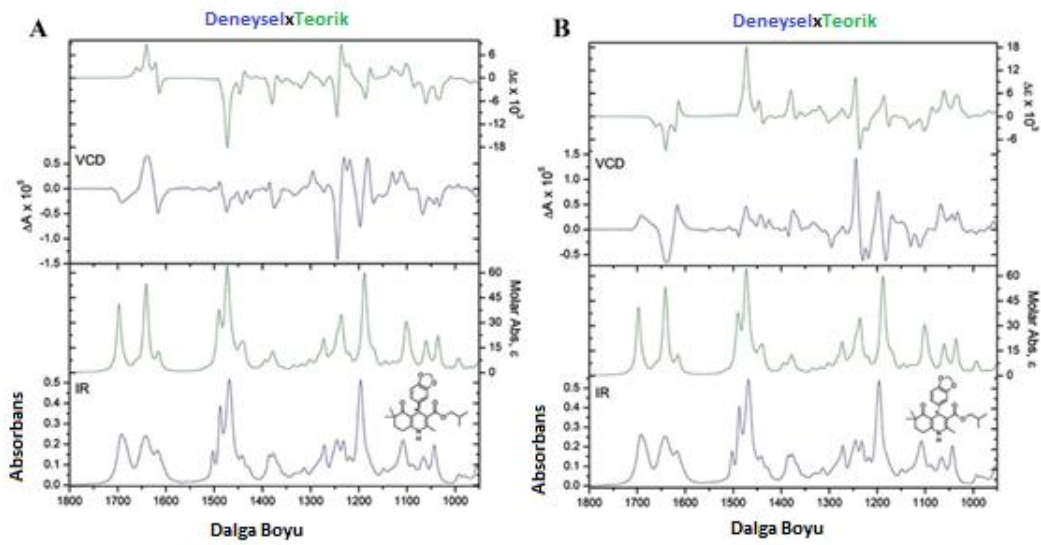
(Kromatografik koşullar; kolon: CHIRALPAK IG-3, mobil faz: EtOH/hekzan (20/80), akış hızı: 1mL/dk, deteksiyon: 260 nm, enantiyomerik selektivite (α):1.37).

DA1'in *R* enantiyomerinin geometrik optimizasyonu teorik hesaplamalar için gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. DA1'in *R* izomerinin optimize edilmiş konfigürasyonu.

DA1 izomerlerinin mutlak konfigürasyon tayini enantiyomerlerin deneysel ve teorik VCD ve IR spektrumları karşılaştırılarak yapılmıştır (Şekil 4.4).

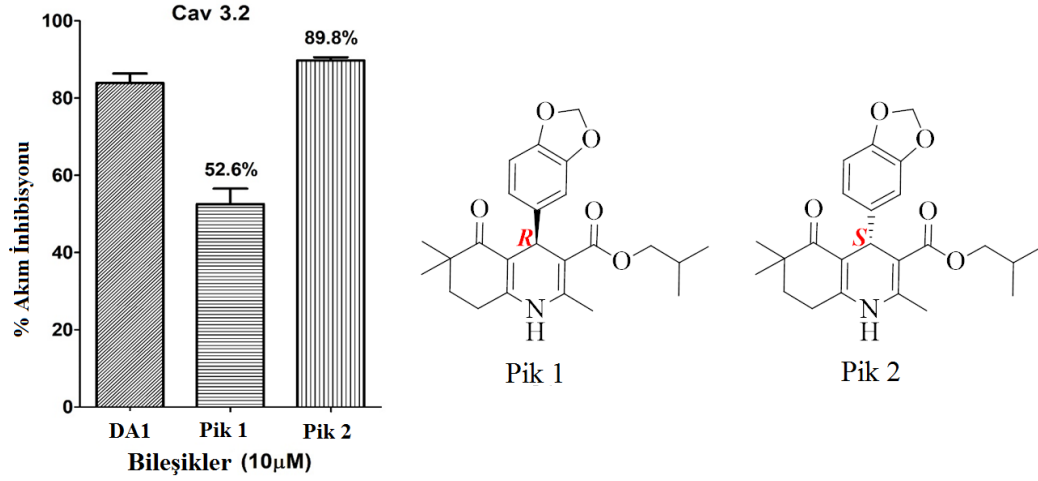


Şekil 4.4. DA1 enantiyomerlerinin deneysel (mavi çizgiler) ve teorik (yeşil çizgiler) IR ve VCD spektrumlarının karşılaştırılması.

(Pik 1 (A) ve Pik 2 (B) için IR spektrumları üst, VCD spektrumları alt kısımda sunulmuştur. Deneysel spektrumlar sırasıyla *R* ve *S* izomerlerinin teorik spektrumlarıyla eşleşmektedir)

Deneysel ve teorik olarak elde edilen sonuçlara göre Pik 1'in *R* enantiyomeri, Pik 2'nin ise *S* enantiyomeri olduğu bulunmuştur.

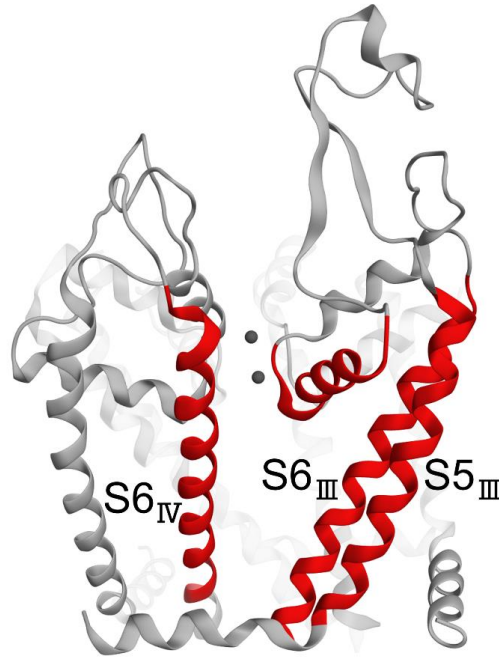
Daha sonra, ayrılan izomerlerin $Ca_v3.2$ üzerine etkileri test edilmiş ve inhibisyonun hangi izomerin daha fazla sorumlu olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre Pik 2 ile temsil edilen *S* izomeri $Ca_v3.2$ 'yi yaklaşık olarak %90 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. DA1 izomerlerinin $Ca_v3.2$ inhibisyon oranları ve konfigürasyonlarının belirtildiği kimyasal yapıları.

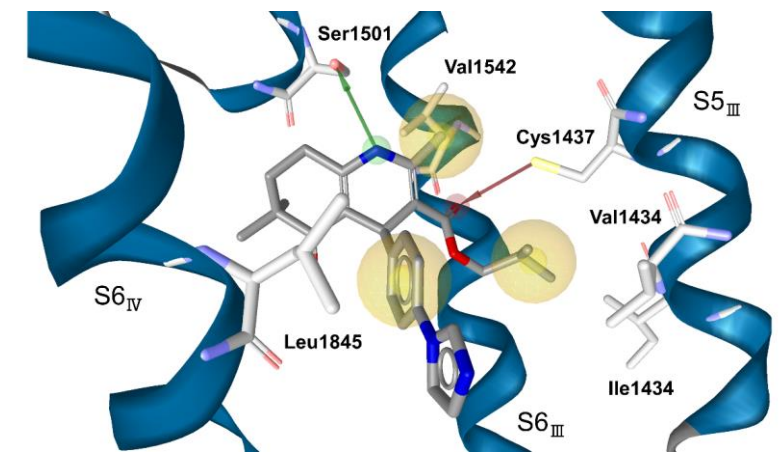
4.4. Moleküler Modelleme

DHP türevi bileşiklerin $Ca_v1.2$ ve $Ca_v3.2$ kalsiyum kanallarına bağlanma mekanizmaları hakkında öngörüde bulunmak için moleküler modelleme çalışmaları yapılmıştır. $Ca_v1.2$ ve $Ca_v3.2$ kanallarının homoloji modellemesi için sırasıyla $Ca_v1.1$ (PDB 6JP5) ve $Ca_v3.1$ (PDB 6KZP) şablon olarak kullanılmıştır. DHP türevi ilaçlar için daha önceki çalışmalarda öngörülen bağlanma bölgesi göz önünde bulundurularak, oluşturulan homoloji modellerindeki DHP bağlanma bölgesi belirlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. $Ca_v3.2$ 'nin homoloji modeli ve DHP bağlanma bölgesi.

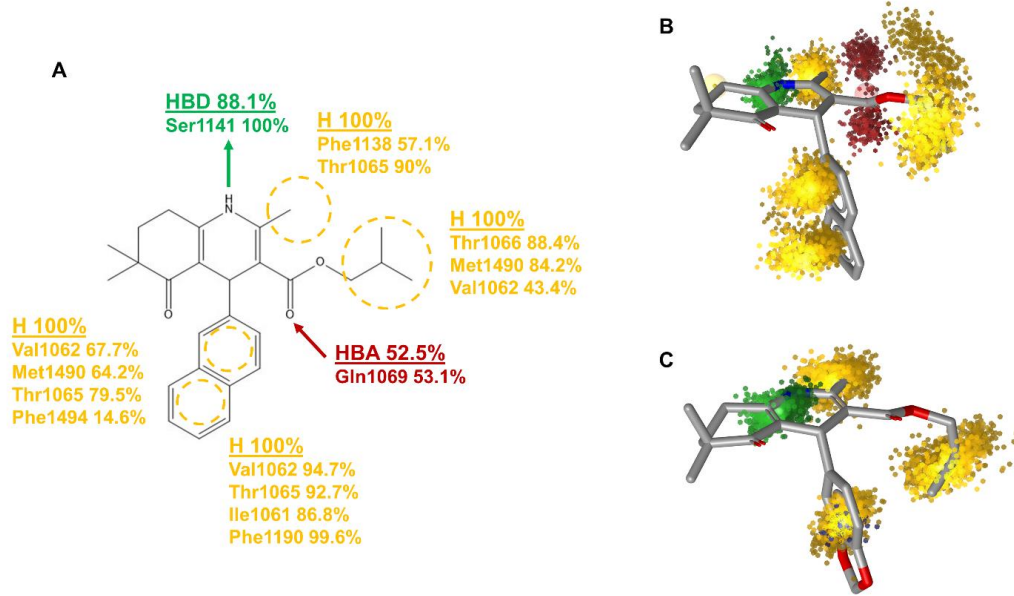
Homoloji modelleri oluşturulduktan sonra bileşikler her iki kanalın da aktif yöresine doking işlemi ile yerleştirilmiştir. DA bileşiklerinin her iki kanalda da dört numaralı konumdaki süstitüentin hacmine bağlı olarak farklı yönelme gösterdiği bulunmuştur. C-4 konumundaki fenil halkasına ikinci bir halkanın süstitüe olduğu **DA3**, **DA4**, **DA11** ve **DA12** bileşiklerinin diğer türevlere kıyasla farklı olarak kanalın por kısmına değil membran tarafına yönlendiği gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. (S)-**DA11**'in $Ca_v3.2$ 'ye bağlanma şekli ve üç boyutlu farmakoforları.

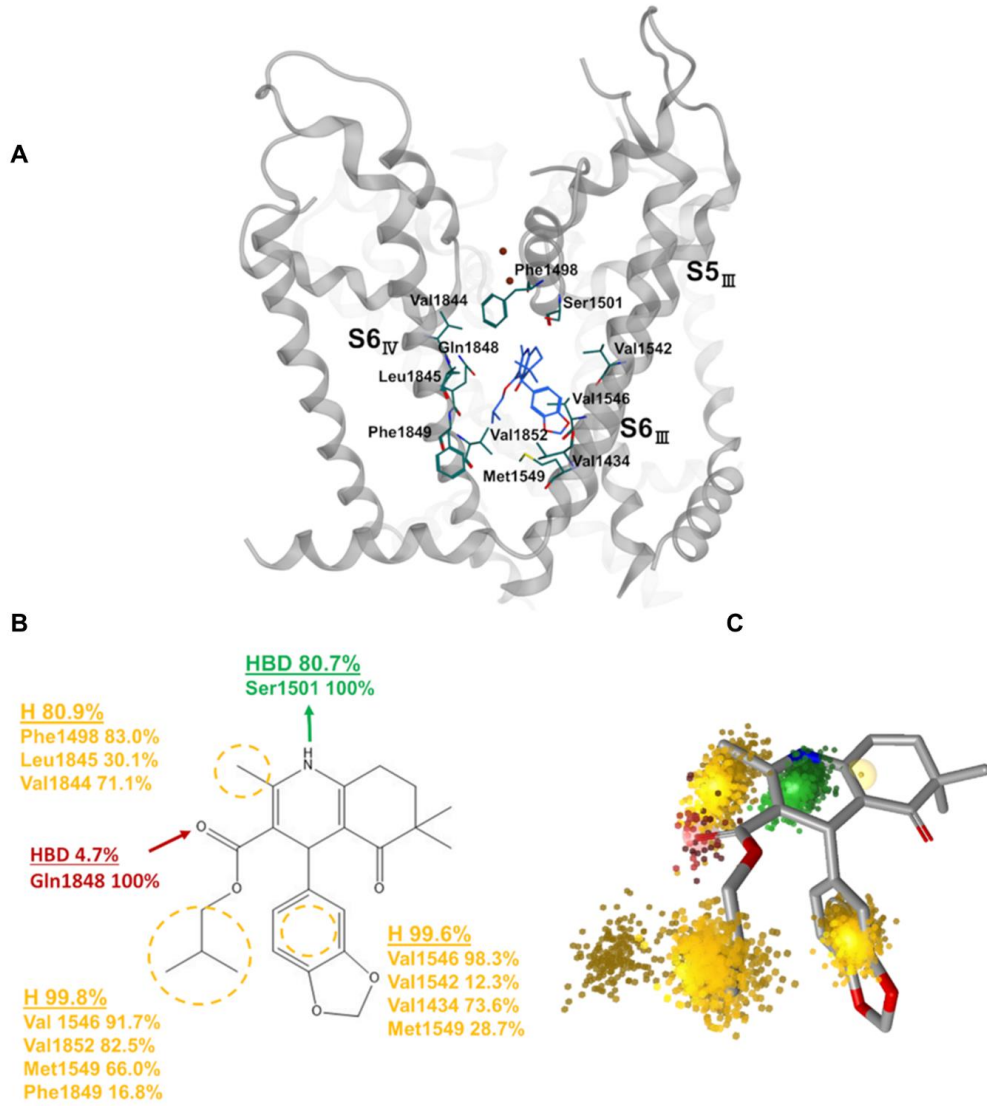
(Yeşil ok-hidrojen bağı donörü, kırmızı ok-hidrojen bağı akseptörü, sarı küre-hidrofobik etkileşme)

Seçilen doking pozlarının $Ca_v1.2$ (Şekil 4.8) ve $Ca_v3.2$ (Şekil 4.9) bağlanma bölgeleri içindeki stabilitelerini araştırmak için moleküler dinamik simülasyonlar yapılmış, elde edilen sonuçlar dinamik farmakofor olarak irdelenmiştir.



Şekil 4.8. $Ca_v1.2$ içinde **DA8**'in statik (A), **DA8** (B) ve **DA1**'in (C) dinamik farmakoforları.

(Yeşil ok-hidrojen bağı donörü, kırmızı ok-hidrojen bağı akseptörü, sarı küre-hidrofobik etkileşme)



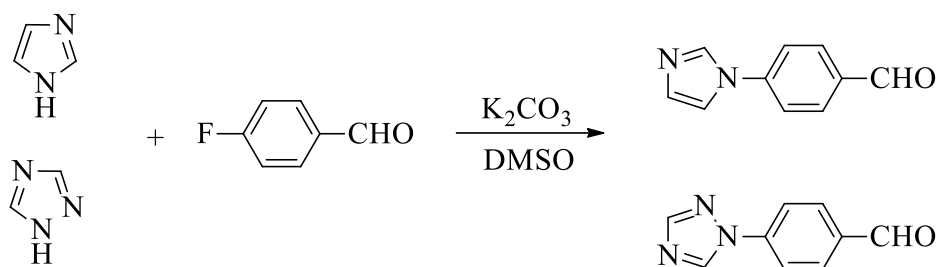
Şekil 4.9. DHP bağlanma bölgesinde **DA1** içeren $Ca_v3.2$ homoloji modeli (A). **DA1**'in statik (B) ve dinamik (C) farmakoforları.

(*S*-**DA1**, mavi renkle, kalsiyum iyonları ise kırmızı nokta şeklinde gösterilmiştir Yeşil ok-hidrojen bağı donörü, kırmızı ok-hidrojen bağı akseptörü, sarı küre-hidrofobik etkileşme)

5. TARTIŞMA

5.1. Kimyasal Çalışmalar

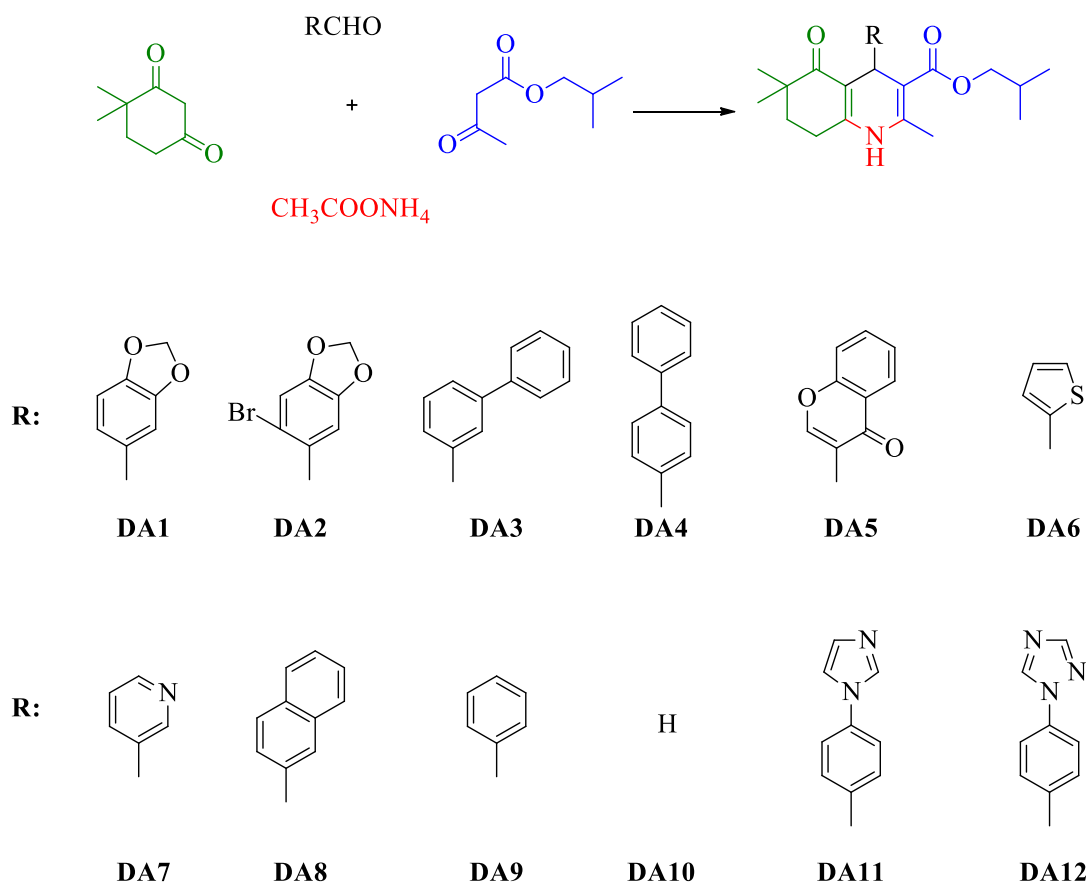
Bu tez çalışması kapsamında dikarbonil bileşikleri, farklı aldehitler ve amonyum asetatın reaksiyonuyla on iki adet DHP türevi bileşik (**DA1-DA12**) elde edilmiştir. Kullanılan ticari aldehitlere ek olarak, iki aldehit [4-(1*H*-imidazol-1-il)benzaldehit ve 4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)benzaldehit], 4-fluorobenzaldehit ile imidazol ve 1,2,4-triazolün aromatik nükleofilik süstitüsyon reaksiyonuyla (Şekil 5.1) DMSO içinde potasyum karbonat varlığında sentezlenmiştir (97).



Şekil 5.1. 4-azolilbenzaldehydlerin sentezi.

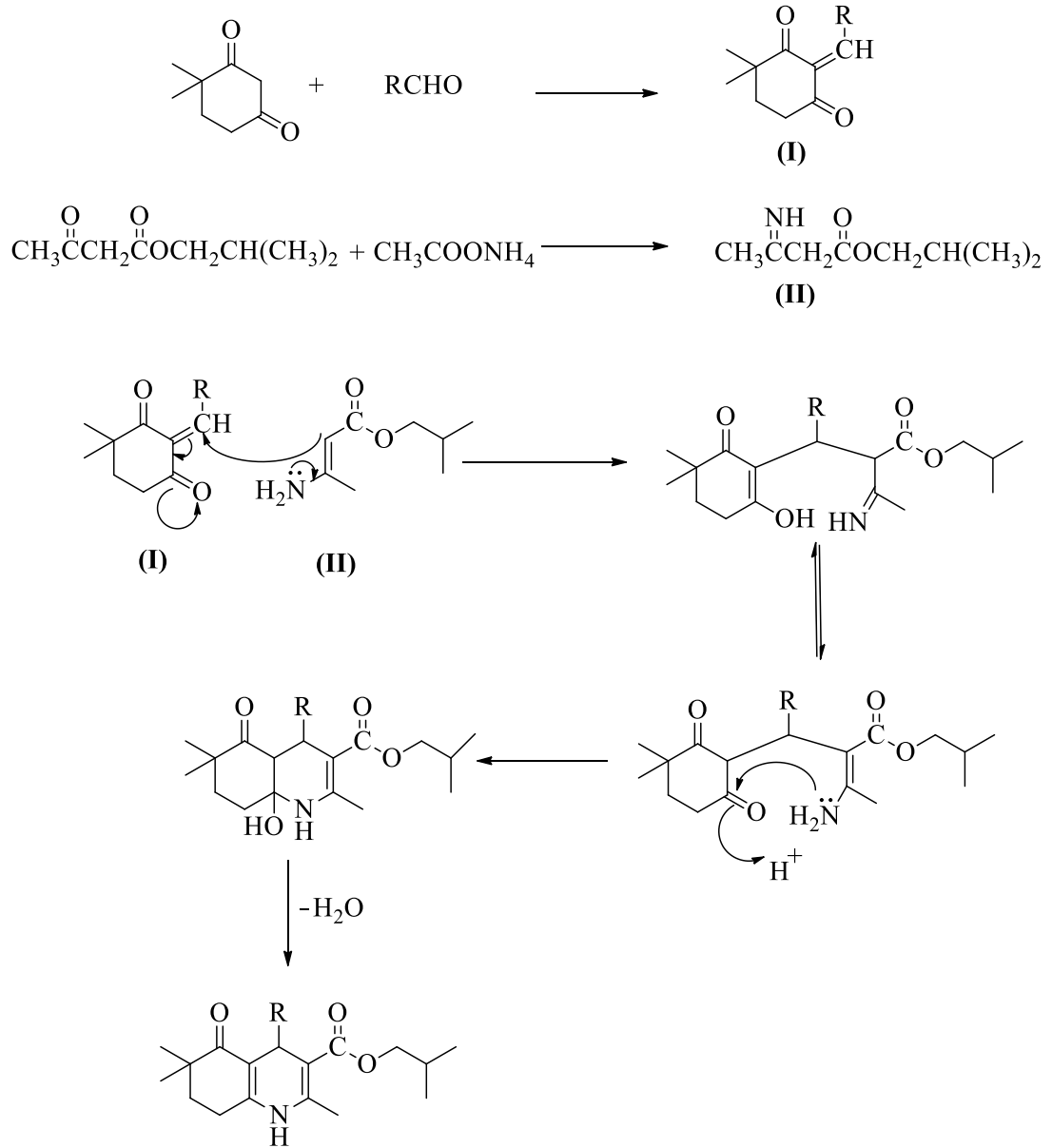
Bu reaksiyonlar önce ultrasonik banyoda başlatılmış, daha sonra yağ banyosu içinde ısıtılarak sürdürülmüştür. Bu şekilde, sonikasyon yöntemini kullanarak, uzun reaksiyon süreleri ve aşırı amin kullanımı gibi haloarenlerin çeşitli aminlerle reaksiyonları için daha önce bildirilen dezavantajlardan kaçınılmıştır (98–100).

Daha sonra, modifiye Hantzsch reaksiyonu uygulanarak, DHP halkasının kapanması, dolayısıyla hedef bileşiklerin (**DA1-DA12**) eldesi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksadion, izobutil asetoasetat, aldehit türevi ve amonyum asetat absö etanol içinde ısıtılmıştır. Hedef bileşiklere ulaşmak için uygulanan sentez yöntemi ve bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 5.2’de gösterilmiştir.



Şekil 5.2. DA1-DA12 bileşiklerinin sentezi ve kimyasal yapıları.

Hantzsch reaksiyonu iki mol dikarbonil bileşiği yanında aldehit ve amonyak bileşenleriyle yürüyen, en eski ve en sık kullanılan multikomponent reaksiyonlardandır (101). Hedef bileşiklere ulaşmada kullanılan modifiye Hantzsch reaksiyonunun mekanizması Şekil 5.3'te sunulmuştur.



Şekil 5.3. DA1-DA12 eldesinde kullanılan Hantzsch reaksiyonu mekanizması.

Bileşiklerin kimyasal yapıları ^1H NMR, ^{13}C NMR ve kütle spektrumları ile saflıkları ise eleman analizleri ile doğrulanmıştır. Sentezlenen tüm bileşiklerin ^1H NMR spektrumlarında, sırasıyla yaklaşık olarak 5 ve 9 ppm civarında gözlenen H-4 ve N-H protonlarına ait singlet pikler, reaksiyon sonunda DHP halkasının kapandığını göstermektedir. ^{13}C NMR spektrumlarında ise ester ve keton gruplarının karbonil gruplarına ait karakteristik pikler, sırasıyla 165 ve 200 ppm'de izlenmiştir. **DA2** molekülüne ait kütle spektrumunda, brom atomuna ait izotop piklerinin gözlenmesi

yapıyı doğrulayan bulgulardandır. Sentezlenen tüm bileşiklerin ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları ek olarak sunulmuştur.

5.2. Bileşiklerin Kalsiyum Kanallarına Etkileri

DA1-DA12'nin kalsiyum kanal bloke edici aktiviteleri sıçan $\text{Ca}_v1.2$ ve insan $\text{Ca}_v3.2$ kanallarında *patch clamp* yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, **DA6** ve **DA8**, sırasıyla yaklaşık olarak %60 ve %80 inhibisyon değerleri ile $\text{Ca}_v1.2$ 'nin etkili inhibitörleri olarak bulunmuşlardır. **DA8**, $\text{Ca}_v1.2$ 'yi $\text{Ca}_v3.2$ 'ye göre seçici olarak bloke ederken, **DA6**'nın $\text{Ca}_v3.2$ akımı üzerinde de benzer etkisinin olması her iki kanal tipine selektif olmayan bir profile sahip olduğunu göstermektedir. **DA6**'ya ek olarak, $\text{Ca}_v3.2$ inhibisyonu gösteren üç bileşik daha vardır. Bunlar arasında, **DA1**, %80'in üzerinde inhibisyon oranıyla en etkili ve aynı zamanda en selektif $\text{Ca}_v3.2$ inhibitörü olarak öne çıkmaktadır. **DA11**, %50 civarında inhibisyon gösterirken; **DA12** ise **DA1** kadar olmasa da $\text{Ca}_v3.2$ 'ye karşı %60 inhibisyonla selektivite göstermiştir.

5.3. Yapı-Aktivite İlişkileri

Ticari DHP türevi antihipertansif bileşiklerde genel eğilim, dört numaralı konumda küçük sübstitüentler taşıyan fenil halkasının korunması yönündedir. Bu tez çalışması kapsamında sadece bu konumun modifikasyonlarına odaklanarak, moleküllerin genel yapısını sabit tutulduğu için, **DA1-DA12**'nin kalsiyum kanal bloke edici aktivitelerinin doğrudan C-4 konumundaki sübstitüentler tarafından belirlendiği söylenebilir. Bu yüzden, fenil halkasına kıyasla yapılan değişikliklerin aktiviteye katkısı şu şekilde tartışılabilir:

C-4 konumundaki fenil grubuna 1,3-dioksol (**DA1**) ve fenil (**DA8**) halkalarının kondanse edilmesi benzodioksol ve naftil halkalarının sübstitüsyonuyla sonuçlanmış, etkili ve selektif kalsiyum kanal blokörlerine ulaşılmasını sağlamıştır. **DA8**, $\text{Ca}_v3.2$ 'ye karşı $\text{Ca}_v1.2$ 'ye selektivite gösterirken, **DA1** $\text{Ca}_v3.2$ 'ye selektif bulunmuştur. Benzodioksol halkası üzerine hacimli bir halojen olan bromun sübstitüe edilmesi (**DA2**), her iki tip kalsiyum kanalı üzerinde de bloke edici etkinin yok olmasına neden olmuştur.

Fenil halkası üzerine ikinci bir fenil grubunun süstitüe edilmesi (**DA3** ve **DA4**) kalsiyum kanal bloke edici aktivite için uygun bir modifikasyon olarak bulunmamıştır. Bununla birlikte, azol halkalarının, imidazol (**DA11**) ve triazol (**DA12**), fenil halkasına süstitüe edilmesi $Ca_v3.2$ blokörü bileşiklere ulaşmada önemli olmuştur.

Yapıya fenil halkası yerine tiyofen halkasının getirilmesiyle (**DA6**), $Ca_v1.2$ ve $Ca_v3.2$ 'yi eşit oranda bloke eden bileşiğe ulaşılmıştır. Buna rağmen, aynı konuma kromen (**DA5**) veya piridin (**DA7**) halkalarının getirilmesi kalsiyum kanal bloke edici aktivitenin her iki kanal üzerinde de yok olmasına neden olmuştur.

Fenil halkasının non-süstitüe olarak tutulması (**DA9**) ya da yapıdan tamamen çıkartılması (**DA10**) aktivite için tercih edilebilecek bir modifikasyon olmamıştır.

5.4. **DA1**'in Enantiyomerlerinin Ayrımı ve $Ca_v3.2$ Üzerindeki Etkileri

DA1, sentezlenen bileşikler arasında $Ca_v3.2$ kanallarına karşı en aktif ve en selektif türev olarak bulunmuştur. Bu yüzden enantiyomerlerine ayrılması ve hangi izomerin aktiviteden temel olarak sorumlu olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır. HPLC ile yapılan izomer ayırımında piklerin konfigürasyon tayini, teorik ve deneysel VCD ve IR spektrumlarının kıyaslanması ile yapılmıştır. İzomerlerin $Ca_v3.2$ bloke edici etkileri ayrı ayrı tayin edilmiş, aktif izomerin *S* konfigürasyonuna sahip olduğu bulunmuştur.

5.5. Moleküler Modelleme

$Ca_v1.1$ içinde kristalize halde bulunan nifedipin molekülünün Ser1001 ile yaptığı hidrojen bağı, $Ca_v1.2$ 'de Ser1141'e, $Ca_v3.2$ 'de ise Ser1501'e karşılık gelmektedir. Bu nedenle doking işlemi sonucunda bu bağlanmayı sağlayamayan pozlar elenmiştir.

$Ca_v1.2$ içinde bu kanalın en etkili blokörü olan **DA8** bileşiğinin DHP halkasının bir numaralı konumundaki azot atomu ve ester karbonil oksijeni üzerinden kanalla Ser1141 ve Gln1069 üzerinden hidrojen bağı yaptığı saptanmıştır. Bunlara ek olarak iki numaralı konumdaki metil süstitüenti ve ester yapısının alkil grubu olan izobutil

grubunun hidrofobik etkileşmeler yaptığı gözlenmiştir. Dört numaralı konumdaki naftil halkasının çok sayıda aminoasit ile hidrofobik etkileşmeye girmesi, bu molekülün L-tipi kalsiyum kanalını yüksek oranda bloke etmesini açıklamaktadır.

Ca_v3.2 kalsiyum kanalı için en aktif bileşik olan **DA1**'in *S* izomerinin statik ve dinamik farmakoforları incelendiğinde ise, molekülün N-H grubu üzerinden Ser1501 ile hidrojen bağı yaptığı saptanmıştır. Ayrıca iki numaralı konumdaki metil ve ester yan zincirindeki izobutil gruplarının yanı sıra benzodioksol halkasının hidrofobik etkileşmelere aracılık ettiği izlenmiştir. Statik etkileşmelerde ester karbonili üzerinden Gln1848 ile gözlenen hidrojen bağının, dinamik farmakoforlarda sadece bir simülasyonda izlenmesi, bu etkileşmenin stabil olmadığını göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1,4-Dihidropiridin (DHP) türevi bileşikler farklı tipte kalsiyum kanallarını bloke etme özellikleri nedeniyle kardiyovasküler ve nörofizyolojik hastalıklardaki etkinlikleriyle öne çıkmaktadırlar. Piyasada uzun süredir antihipertansif etkileri nedeniyle yer alan bileşiklerin kimyasal yapısı incelendiğinde üzerinde en az modifikasyon yapılan konumun halkanın dört numaralı karbonu olduğu dikkat çekmektedir. Bu tez kapsamında, DHP halkasının belirtilen konumundaki modifikasyonlara odaklanılarak on iki adet DHP-temelli heksahidrokinolin türevi bileşik, Hantzsch sentezi ile elde edilmiştir. Öngörülen kimyasal yapılar çeşitli spektral tekniklerle doğrulandıktan sonra, moleküllerin L- ve T-tipi kalsiyum kanallarını bloke etme oranları *patch clamp* yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlarla her iki tip kalsiyum kanalını selektif ya da benzer oranlarda inhibe eden blokörlere ulaşılmıştır. DHP halkasının dört numaralı konumuna getirilen naftil halkası (**DA8**) selektif Ca_v1.2, benzodioksol halkası (**DA1**) ise selektif Ca_v3.2 inhibisyonundan sorumlu bulunmuştur. Belirtilen konumda süstitüent bulunmaması ya da non-süstitüe fenil halkasının getirilmesi aktiviteyi olumsuz yönde etkilemiştir. Ca_v3.2 kalsiyum kanalını etkili ve selektif bir şekilde bloke eden **DA1** bileşiğinin izomer ayrımı kiral sabit faz üzerinde HPLC ile yapılmış, konfigürasyon tayini sonucunda Ca_v3.2 inhibisyonundan büyük oranda S izomerinin sorumlu olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulguları bilgisayarlı yöntemlerle desteklemek için, Ca_v1.2 ve Ca_v3.2 homoloji modellerinin DHP bağlanma bölgesine bileşikler moleküler doking yöntemi kullanılarak yerleştirilmiş ve etkili kanal inhibisyonu için gerekli yapısal özellikler dinamik farmakofor analizi de yapılarak ortaya konmuştur.

Tez kapsamında elde edilen bulgularla DHP türevi kalsiyum kanal blokörlerinin yapı-aktivite ilişkilerine yeni bir boyut kazandırılmıştır. Özellikle hipertansiyon ve aljezi tedavisinde kullanılacak bileşiklerin geliştirilmesi için elde edilen sonuçların ışık tutucu olması beklenmektedir. Çalışmanın yapıldığı tarihte üç boyutlu kristal yapıları halen aydınlatılmamış olan Ca_v1.2 ve Ca_v3.2'in ilerleyen zamanlarda yapılarının ortaya konması ile etkili kalsiyum kanal blokörlerinin rasyonel tasarımında daha çok yol alınacağı açıktır.

7. KAYNAKLAR

1. Dolphin AC. Voltage-gated calcium channels and their auxiliary subunits: physiology and pathophysiology and pharmacology. *J Physiol.* 2016;594(19):5369–90.
2. Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC. The Physiology, Pathology, and Pharmacology of Voltage-Gated Calcium Channels and Their Future Therapeutic Potential. *Pharmacol Rev.* 2015;67:821–70.
3. Zamponi GW. Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(1):19–34.
4. Drapak I, Perekhoda L, Tsapko T, Berezniakova N, Tsapko Y. Cardiovascular Calcium Channel Blockers: Historical Overview, Development and New Approaches in Design. *J Heterocycl Chem.* 2017;54(4):2117–28.
5. Gündüz MG, Armaković SJ, Dengiz C, Tahir MN, Armaković S. Crystal structure determination and computational studies of 1,4-dihydropyridine derivatives as selective T-type calcium channel blockers. *J Mol Struct.* 2021;1230.
6. Powell KL, Cain SM, Snutch TP, O'Brien TJ. Low threshold T-type calcium channels as targets for novel epilepsy treatments. *Br J Clin Pharmacol.* 2014;77(5):729–39.
7. Weiss N, Zamponi GW. T-Type Channel Druggability at a Crossroads. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10(3):1124–6.
8. Bandyopadhyay D, Salazar T, Gonzalez A. Dihydropyridines as Calcium Channel Blockers: An Overview. *J Anal Pharm Res.* 2017;5(4).
9. Bladen C, Gündüz MG, Şimşek R, Şafak C, Zamponi GW. Synthesis and evaluation of 1,4-dihydropyridine derivatives with calcium channel blocking activity. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(7):1355–63.
10. Nahler G. Anatomical Therapeutic Chemical Classification System [Internet]. *Dictionary of Pharmaceutical Medicine.* Springer Vienna; 2009. p. 8–8.
11. Schaller D, Gündüz MG, Zhang FX, Zamponi GW, Wolber G. Binding mechanism investigations guiding the synthesis of novel condensed 1,4-dihydropyridine derivatives with L-/T-type calcium channel blocking activity. *Eur J Med Chem.* 2018;155:1–12.
12. Aygün Cevher H, Schaller D, Gandini MA, Kaplan O, Gambeta E, Zhang FX, et al. Discovery of Michael acceptor containing 1,4-dihydropyridines as first covalent inhibitors of L-/T-type calcium channels. *Bioorg Chem.* 2019;91:103187.
13. Bladen C, Gadotti VM, Gündüz MG, Berger ND, Şimşek R, Şafak C, et al. 1,4-Dihydropyridine derivatives with T-type calcium channel blocking activity attenuate inflammatory and neuropathic pain. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2015;467(6):1237–47.
14. Simms BA, Zamponi GW. Neuronal Voltage-Gated Calcium Channels:

- Structure, Function, and Dysfunction. *Neuron*. 2014;82(1):24–45.
15. Bean BP. Classes of Calcium Channels in Vertebrate Cells. *Annu Rev Physiol*. 1989;51(1):367–84.
 16. Perez-Reyes E. Molecular Physiology of Low-Voltage-Activated T-type Calcium Channels. *Physiol Rev*. 2003;83(1):117–61.
 17. Perez-Reyes E, Van Deusen AL, Vitko I. Molecular pharmacology of human Cav3.2 T-type Ca²⁺ channels: block by antihypertensives, antiarrhythmics, and their analogs. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009;328(2):621–7.
 18. Catterall WA. Ion Channel Voltage Sensors: Structure, Function, and Pathophysiology. *Neuron*. 2010;67(6):915–28.
 19. Catterall WA. Voltage-Gated Calcium Channels. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(8):1–23.
 20. Triggle DJ. Calcium channel antagonists: Clinical uses—Past, present and future. *Biochem Pharmacol*. 2007;74(1):1–9.
 21. WHOCC - ATC/DDD Index.
 22. Hantzsch A. Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Justus Liebig's Ann der Chemie*. 1882;215(1):1–82.
 23. Kohlhardt M, Bauer B, Krause H, Fleckenstein A. New selective inhibitors of the transmembrane Ca conductivity in mammalian myocardial fibres. Studies with the voltage clamp technique. *Experientia*. 1972;28(3):288–9.
 24. Safak C, Simsek R. Fused 1,4-Dihydropyridines as Potential Calcium Modulatory Compounds. *Mini-Reviews Med Chem*. 2006;6(7):747–55.
 25. Shaldam MA, Elhamamsy MH, Esmat EA, El-Moselhy TF. 1,4-Dihydropyridine Calcium Channel Blockers: Homology Modeling of the Receptor and Assessment of Structure Activity Relationship. *ISRN Med Chem*. 2014;2014:1–14.
 26. Ioan P, Carosati E, Micucci M, Cruciani G, Broccatelli F, S. Zhorov B, et al. 1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story so Far And Perspectives (Part 1): Action in Ion Channels and GPCRs. *Curr Med Chem*. 2011;18(32):4901–22.
 27. Edraki N, Mehdipour AR, Khoshneviszadeh M, Miri R. Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. *Drug Discov Today*. 2009;14(21–22):1058–66.
 28. Miri R, Javidnia K, Sarkarzadeh H, Hemmateenejad B. Synthesis, study of 3D structures, and pharmacological activities of lipophilic nitroimidazolyl-1,4-dihydropyridines as calcium channel antagonist. *Bioorg Med Chem*. 2006;14(14):4842–9.
 29. Weiss N, Zamponi GW. T-type calcium channels: From molecule to therapeutic opportunities. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019;108:34–9.
 30. Khosravani H, Zamponi GW. Voltage-Gated Calcium Channels and Idiopathic

- Generalized Epilepsies. *Physiol Rev.* 2006;86(3):941–66.
31. Snutch TP, Zamponi GW. Recent advances in the development of T-type calcium channel blockers for pain intervention. *Br J Pharmacol.* 2018;175(12):2375–83.
 32. Uebele VN, Gotter AL, Nuss CE, Kraus RL, Doran SM, Garson SL, et al. Antagonism of T-type calcium channels inhibits high-fat diet-induced weight gain in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(6):1659–67.
 33. Harraz OF, Visser F, Brett SE, Goldman D, Zechariah A, Hashad AM, et al. CaV1.2/CaV3.x channels mediate divergent vasomotor responses in human cerebral arteries. *J Gen Physiol.* 2015;145(5):405–18.
 34. Wang D, Ragnarsson L, Lewis RJ. T-type Calcium Channels in Health and Disease. *Curr Med Chem.* 2018;27(19):3098–122.
 35. Weiss N. T-type channels in neuropathic pain - Villain or victim? *Channels.* 2020;14(1):98–100.
 36. Chuang RSI, Jaffe H, Cribbs L, Perez-Reyes E, Swartz KJ. Inhibition of T-type voltage-gated calcium channels by a new scorpion toxin. *Nat Neurosci.* 1998;1(8):668–74.
 37. Huguenard JR. Block of T-Type Ca²⁺ Channels Is an Important Action of Succinimide Antiabsence Drugs. *Epilepsy Curr.* 2002;2(2):49–52.
 38. Mullins ME, Horowitz BZ, Linden DHJ, Smith GW, Norton RL, Stump J. Life-threatening interaction of mibefradil and β -blockers with dihydropyridine calcium channel blockers. *J Am Med Assoc.* 1998;280(2):157–8.
 39. Mishra AP, Bajpai A, Rai AK. 1,4-Dihydropyridine: A Dependable Heterocyclic Ring with the Promising and the Most Anticipable Therapeutic Effects. *Mini-Reviews Med Chem.* 2019;19(15):1219–54.
 40. Stout DM, Meyers AI. Recent advances in the chemistry of dihydropyridines. *Chem Rev.* 1982;82(2):223–43.
 41. Kuthan J, Kurfurst A. Development in dihydropyridine chemistry. *Ind Eng Chem Prod Res Dev.* 1982;21(2):191–261.
 42. Sausins AE, Duburs G. Synthesis of 1,4-dihydropyridines in cyclocondensation reactions (review). *Chem Heterocycl Compd.* 1992;28(4):363–91.
 43. Heravi MM, Zadsirjan V. Construction and Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines under Microwave Irradiation: A Green Approach. *ChemistrySelect.* 2022;7(3):e202104032.
 44. Alponenti LHR, Picinini M, Urquieta-Gonzalez EA, Corrêa AG. USY-zeolite catalyzed synthesis of 1,4-dihydropyridines under microwave irradiation: structure and recycling of the catalyst. *J Mol Struct.* 2021;1227:129430.
 45. Sonali Anantha IS, Kerru N, Maddila S, Jonnalagadda SB. Recent Progresses in the Multicomponent Synthesis of Dihydropyridines by Applying Sustainable Catalysts Under Green Conditions. *Front Chem.* 2021;9:1089.
 46. Abu-Dief AM, Abdel-Fatah SM. Development and functionalization of

- magnetic nanoparticles as powerful and green catalysts for organic synthesis. *Beni-Suef Univ J Basic Appl Sci.* 2018;7(1):55–67.
47. Khashi M, Allameh S, Beyramabadi SA, Morsali A, Dastmalchian E, Gharib A. BiFeO₃ magnetic nanoparticles: A novel, efficient and reusable magnetic catalyst for the synthesis of polyhydroquinoline derivatives. *Iran J Chem Chem Eng.* 2017;36(3):45–52.
 48. Shinde PS, Suryawanshi PS, Patil KK, Belekar VM, Sankpal SA, Delekar SD, et al. A Brief Overview of Recent Progress in Porous Silica as Catalyst Supports. *J Compos Sci* 2021, Vol 5, Page 75. 2021;5(3):75.
 49. Zhang D, Chen X, Guo X, Zhang Y, Hou Y, Zhao T, et al. An efficient solvent-free synthesis of isoxazolyl-1,4-dihydropyridines on solid support SiO₂ under microwave irradiation. *Monatshefte fur Chemie.* 2016;147(9):1605–14.
 50. Gholami Dehbalaei M, Foroughifar N, Khajeh-Amiri A, Pasdar H. N-propylbenzoguanamine sulfonic acid-functionalized magnetic nanoparticles: A novel and magnetically retrievable catalyst for the synthesis of 1,4-dihydropyridine derivatives. *J Chinese Chem Soc.* 2018;65(11):1356–69.
 51. Reddy BM, Sreekanth PM, Reddy VR. Modified zirconia solid acid catalysts for organic synthesis and transformations. *J Mol Catal A Chem.* 2005;225(1):71–8.
 52. Amoozadeh A, Rahmani S, Bitaraf M, Abadi FB, Tabrizian E. Nano-zirconia as an excellent nano support for immobilization of sulfonic acid: a new, efficient and highly recyclable heterogeneous solid acid nanocatalyst for multicomponent reactions. *New J Chem.* 2016;40(1):770–80.
 53. Keglevich G, Zsuzsa Kiss N, Radai Z. An Overview of the Applications of Ionic Liquids as Catalysts and Additives in Organic Chemical Reactions. *Curr Org Chem.* 2017;22.
 54. Liu T, Lai YH, Yu YQ, Xu DZ. A facile and efficient procedure for one-pot four-component synthesis of polysubstituted spiro pyrano[2,3-c]pyrazole and spiro 1,4-dihydropyridine catalyzed by a Dabco-based ionic liquid under mild conditions. *New J Chem.* 2018;42(2):1046–51.
 55. Eynde JJ Vanden, D’Orazio R, Van Haverbeke Y. Potassium permanganate, a versatile reagent for the aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Tetrahedron.* 1994;50(8):2479–84.
 56. Heravi MM, Behbahani FK, Oskooie HA, Shoar RH. Catalytic aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines by ferric perchlorate in acetic acid. *Tetrahedron Lett.* 2005;46(16):2775–7.
 57. Lu Z, Yang YQ, Li HX. Photoinduced Aromatization of Dihydropyridines. *Synthesis (Stuttg).* 2016;48(23):4221–7.
 58. Simić S, Jeremic S, Djokic L, Božić N, Vujčić Z, Lončar N, et al. Development of an efficient biocatalytic system based on bacterial laccase for the oxidation of selected 1,4-dihydropyridines. *Enzyme Microb Technol.* 2020;132:109411.
 59. Milovanovic J, Gündüz MG, Zerva A, Petkovic M, Beskoski V, Thomaidis NS, et al. Synthesis and Laccase-Mediated Oxidation of New Condensed 1,4-

- Dihydropyridine Derivatives. Catal 2021, Vol 11, Page 727. 2021;11(6):727.
60. Eisner U, Kuthan J. Chemistry of dihydropyridines. Chem Rev. 1972;72(1):1–42.
 61. Szeleszczuk Ł, Zielińska-Pisklak M, Pisklak DM. Structural studies of calcium channel blockers used in the treatment of hypertension - ¹H and ¹³C NMR characteristics of nifedipine analogues. Magn Reson Chem. 2019;57(2–3):149–60.
 62. Ehret-Sabatier L, Loew D, Goyffon M, Fehlbaum P, Hoffmann JA, van Dorselaer A, et al. Characterization of novel cysteine-rich antimicrobial peptides from scorpion blood. J Biol Chem. 1996;271(47):29537–44.
 63. Bohlooli S, Mahmoudian M, Skellern GG, Grant MH, Tettey JNA. Metabolism of the dihydropyridine calcium channel blockers mebudipine and dibudipine by isolated rat hepatocytes. J Pharm Pharmacol. 2004;56(11):1469–74.
 64. Ling Y, Hao ZY, Liang D, Zhang CL, Liu YF, Wang Y. The Expanding Role of Pyridine and Dihydropyridine Scaffolds in Drug Design. Drug Des Devel Ther. 2021;15:4289.
 65. Khot S, Auti PB, Khedkar SA. Diversified Synthetic Pathway of 1, 4-Dihydropyridines: A Class of Pharmacologically Important Molecules. Mini-Reviews Med Chem. 2020;21(2):135–49.
 66. Holmes AH, Moore LSP, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. Lancet. 2016;387(10014):176–87.
 67. Gündüz MG, Dengiz C, Koçak Aslan E, Skaro Bogojevic S, Nikodinovic-Runic J. Attaching azoles to Hantzsch 1,4-dihydropyridines: Synthesis, theoretical investigation of nonlinear optical properties, antimicrobial evaluation and molecular docking studies. J Mol Struct. 2022;1247:131316.
 68. Archana S, Dinesh M, Ranganathan R, Ponnuswamy A, Kalaiselvi P, Chellammal S, et al. Water mediated one-pot synthesis and biological evaluation of 1,2,3-triazolyl-1,4-dihydropyridine hybrids. Res Chem Intermed. 2017;43(1):187–202.
 69. Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, Meena R, Rajamani P, Prasad T. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J Appl Microbiol. 2020;128(6):1547–67.
 70. Lentz F, Reiling N, Spengler G, Kincses A, Csonka A, Molnár J, et al. Dually Acting Nonclassical 1,4-Dihydropyridines Promote the Anti-Tuberculosis (Tb) Activities of Clofazimine. Mol 2019, Vol 24, Page 2873. 2019;24(16):2873.
 71. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp Physiol. 1997;82(2):291–5.
 72. da Costa Cabrera D, Santa-Helena E, Leal HP, de Moura RR, Nery LEM, Gonçalves CAN, et al. Synthesis and antioxidant activity of new lipophilic dihydropyridines. Bioorg Chem. 2019;84:1–16.
 73. Janmohamed M, Brodie MJ, Kwan P. Pharmacoresistance – Epidemiology,

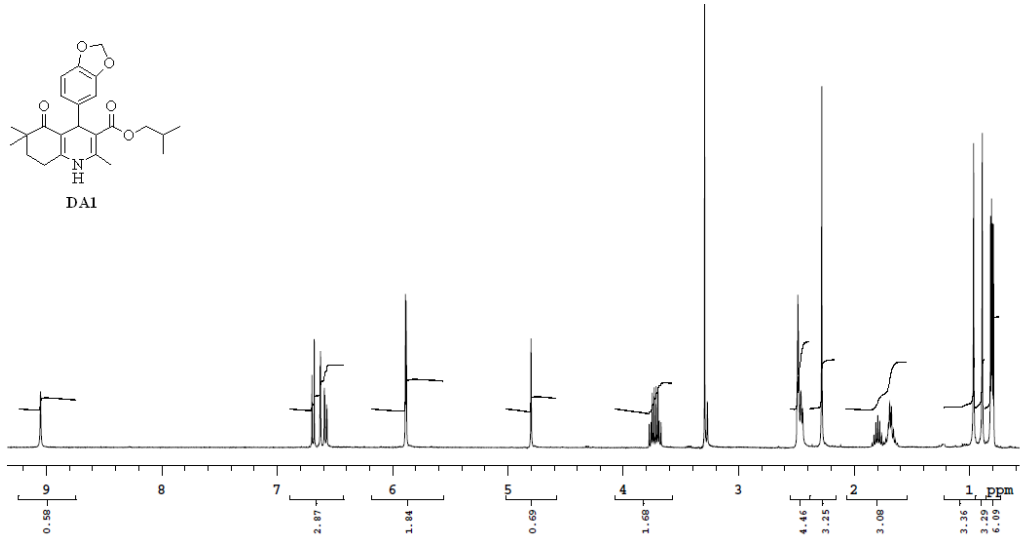
- mechanisms, and impact on epilepsy treatment. *Neuropharmacology*. 2020;168:107790.
74. Prasanthi G, Prasad KVSRG, Bharathi K. Synthesis, anticonvulsant activity and molecular properties prediction of dialkyl 1-(di(ethoxycarbonyl)methyl)-2,6-dimethyl-4-substituted-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylates. *Eur J Med Chem*. 2014;73:97–104.
 75. Vaz M, Silvestre S. Alzheimer's disease: Recent treatment strategies. *Eur J Pharmacol*. 2020;887:173554.
 76. Marco-Contelles J, León R, De Los Ríos C, Samadi A, Bartolini M, Andrisano V, et al. Tacripyrines, the first tacrine-dihydropyridine hybrids, as multitarget-directed ligands for the treatment of Alzheimer's disease. *J Med Chem*. 2009;52(9):2724–32.
 77. León R, Ríos C de los, Marco-Contelles J, Huertas O, Barril X, Javier Luque F, et al. New tacrine-dihydropyridine hybrids that inhibit acetylcholinesterase, calcium entry, and exhibit neuroprotection properties. *Bioorganic Med Chem*. 2008;16(16):7759–69.
 78. Peauger L, Azzouz R, Gembus V, Tınçaş ML, Sopková-de Oliveira Santos J, Bohn P, et al. Donepezil-Based Central Acetylcholinesterase Inhibitors by Means of a “Bio-Oxidizable” Prodrug Strategy: Design, Synthesis, and in Vitro Biological Evaluation. *J Med Chem*. 2017;60(13):5909–26.
 79. Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*. 2019;9(4):217.
 80. Hulvat MC. Cancer Incidence and Trends. *Surg Clin*. 2020;100(3):469–81.
 81. Ward RA, Fawell S, Floc'H N, Flemington V, McKerrecher D, Smith PD. Challenges and Opportunities in Cancer Drug Resistance. *Chem Rev*. 2020;121(6):3297–351.
 82. Sidhom PA, El-Bastawissy E, Salama AA, El-Moselhy TF. Revisiting ageless antiques; synthesis, biological evaluation, docking simulation and mechanistic insights of 1,4-Dihydropyridines as anticancer agents. *Bioorg Chem*. 2021;114:105054.
 83. Kumar R, Gahlyan P, Verma A, Jain R, Das S, Konwar R, et al. Design and synthesis of fluorescent symmetric bis-triazolylated-1,4-dihydropyridines as potent antibreast cancer agents. *Synth Commun*. 2018;48(7):778–85.
 84. Teleb M, Zhang FX, Huang J, Gadotti VM, Farghaly AM, AboulWafa OM, et al. Synthesis and biological evaluation of novel N3-substituted dihydropyrimidine derivatives as T-type calcium channel blockers and their efficacy as analgesics in mouse models of inflammatory pain. *Bioorg Med Chem*. 2017;25(6):1926–38.
 85. Zamponi GW, Stotz SC, Staples RJ, Andro TM, Nelson JK, Hulubei V, et al. Unique structure-activity relationship for 4-isoxazolyl-1,4-dihydropyridines. *J Med Chem*. 2003;46(1):87–96.
 86. Nafie LA, Dukor RK, Freedman TB. Vibrational circular dichroism. In: *Handbook of vibrational spectroscopy*. Wiley; 2002. p. 731–744.

87. Armstrong DW, Yu J, Cole HD, McFarland SA, Nafie J. Chiral resolution and absolute configuration determination of new metal-based photodynamic therapy antitumor agents. *J Pharm Biomed Anal.* 2021;204:114233.
88. Stephens PJ, Devlin FJ. Determination of the structure of chiral molecules using ab initio vibrational circular dichroism spectroscopy. *Chirality.* 2000;12(4):172–9.
89. Freedman TB, Cao X, Dukor RK, Nafie LA. Absolute configuration determination of chiral molecules in the solution state using vibrational circular dichroism. *Chirality.* 2003;15(9):743–58.
90. Kellenbach ER, Dukor RK, Nafie LA. Vibrational circular dichroism: absolute configuration determination in solution. *Spectrosc Eur.* 2007;19:14–9.
91. Zhao Y, Huang G, Wu Q, Wu K, Li R, Lei J, et al. Cryo-EM structures of apo and antagonist-bound human Cav3.1. *Nature.* 2019;576(7787):492–7.
92. Zhao Y, Huang G, Wu J, Wu Q, Gao S, Yan Z, et al. Molecular Basis for Ligand Modulation of a Mammalian Voltage-Gated Ca²⁺ Channel. *Cell.* 2019;177(6):1495-1506.e12.
93. Jones G, Willett P, Glen RC, Leach AR, Taylor R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol.* 1997;267(3):727–48.
94. Wolber G, Langer T. LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. *J Chem Inf Model.* 2005;45(1):160–9.
95. Wolber G, Dornhofer A, Langer T. Efficient overlay of small organic molecules using 3D pharmacophores. *J Comput Mol.* 2006;20:773–88.
96. Gündüz MG, Albayrak E, İşli F, Fincan G, Yildirim Ş, Şimşek R, et al. Synthesis, structural characterization and myorelaxant activity of 4-naphthylhexahydroquinoline derivatives containing different ester groups. *J Serbian Chem Soc.* 2016;81(7):729–38.
97. Mečiarová M, Toma Š, Magdolen P. Ultrasound effect on the aromatic nucleophilic substitution reactions on some haloarenes. In: *Ultrasonics Sonochemistry.* Elsevier; 2003. p. 265–70.
98. Wolfe JP, Tomori H, Sadighi JP, Yin J, Buchwald SL. Simple, efficient catalyst system for the palladium-catalyzed amination of aryl chlorides, bromides, and triflates. *J Org Chem.* 2000;65(4):1158–74.
99. Prim D, Kirsch G. Convenient amination of weakly activated thiophenes, furans and selenophenes in aqueous media. *Tetrahedron.* 1999;55(21):6511–26.
100. Ibata T, Isogami Y, Toyoda J. Aromatic nucleophilic substitution of halobenzenes with amines under high pressure. *Bull Chem Soc Jpn.* 1991;64(1):42–9.
101. Sharma VK, Singh SK. Synthesis, utility and medicinal importance of 1,2- & 1,4-dihydropyridines. *RSC Adv.* 2017;7(5):2682–732.

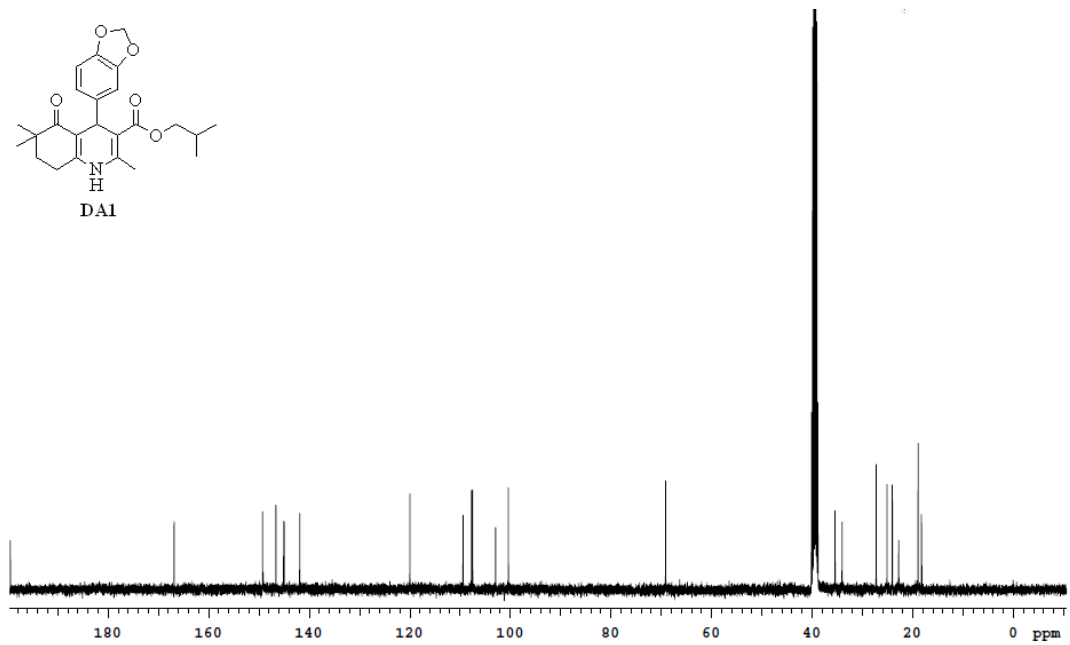
8-EKLER

EK-1: Sentezlenen Moleküllerin NMR Spektrumları

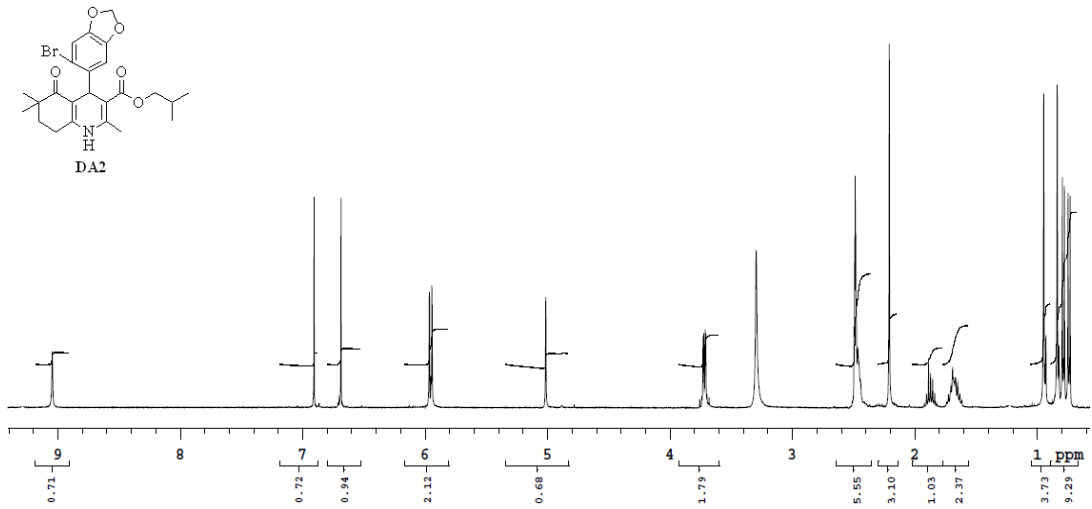
DA1'in ^1H NMR spektrumu



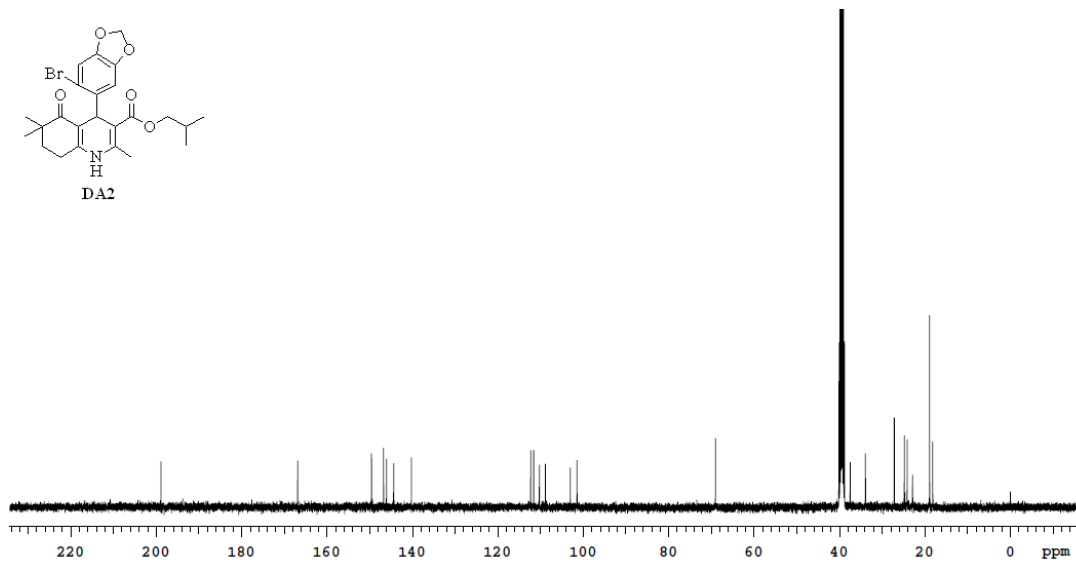
DA1'in ^{13}C NMR spektrumu



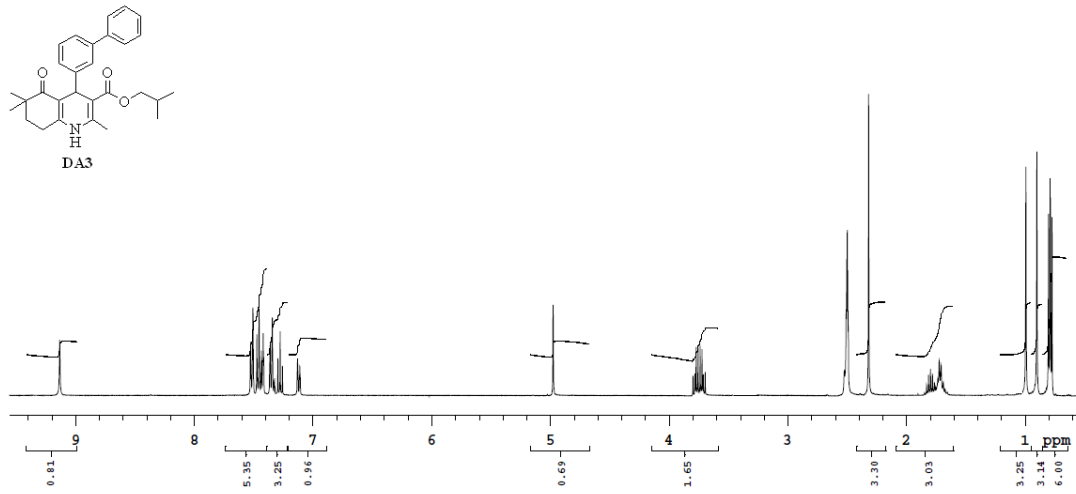
DA2'nin ^1H NMR spektrumu



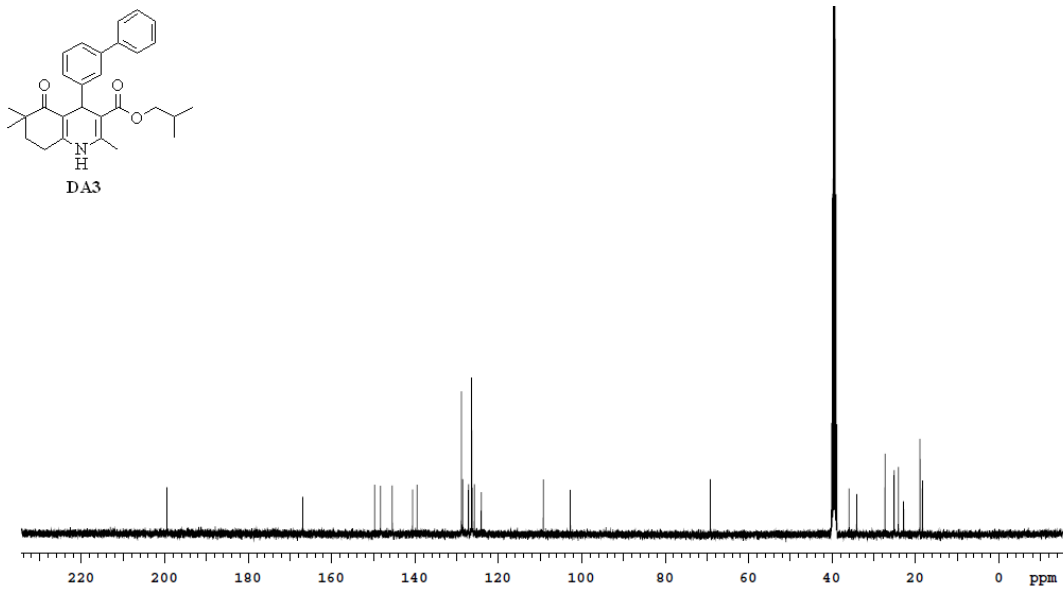
DA2'nin ^{13}C NMR spektrumu



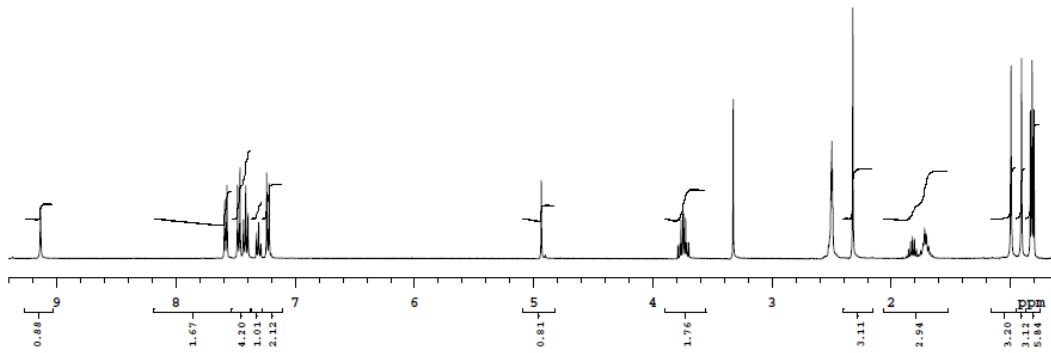
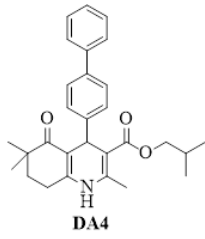
DA3'ün ^1H NMR spektrumu



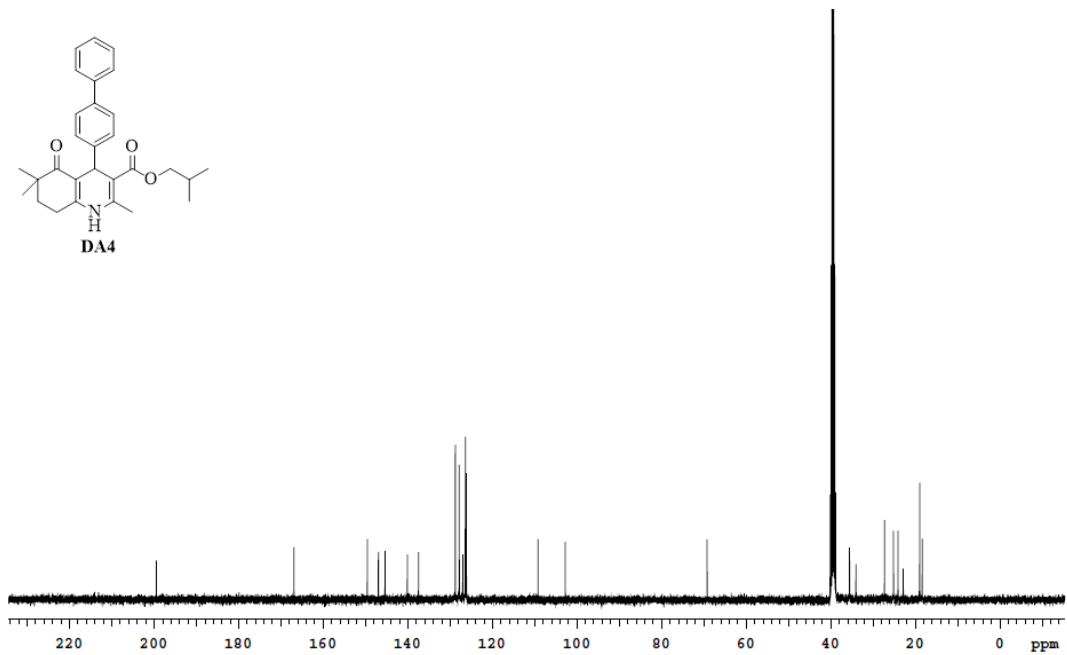
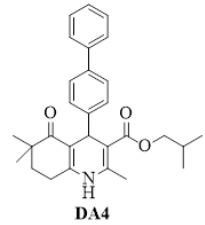
DA3'ün ^{13}C NMR spektrumu



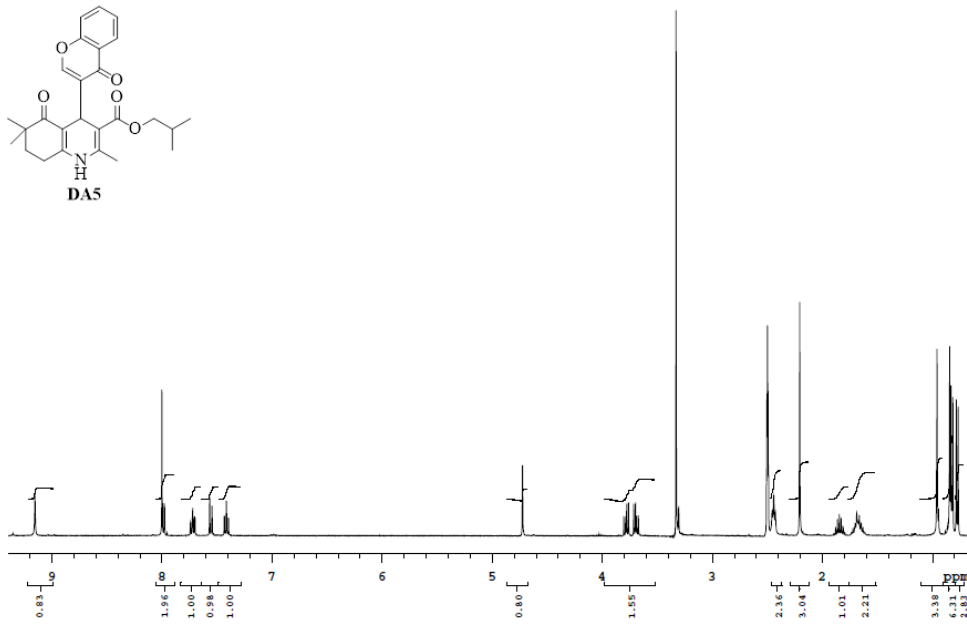
DA4'ün ^1H NMR spektrumu



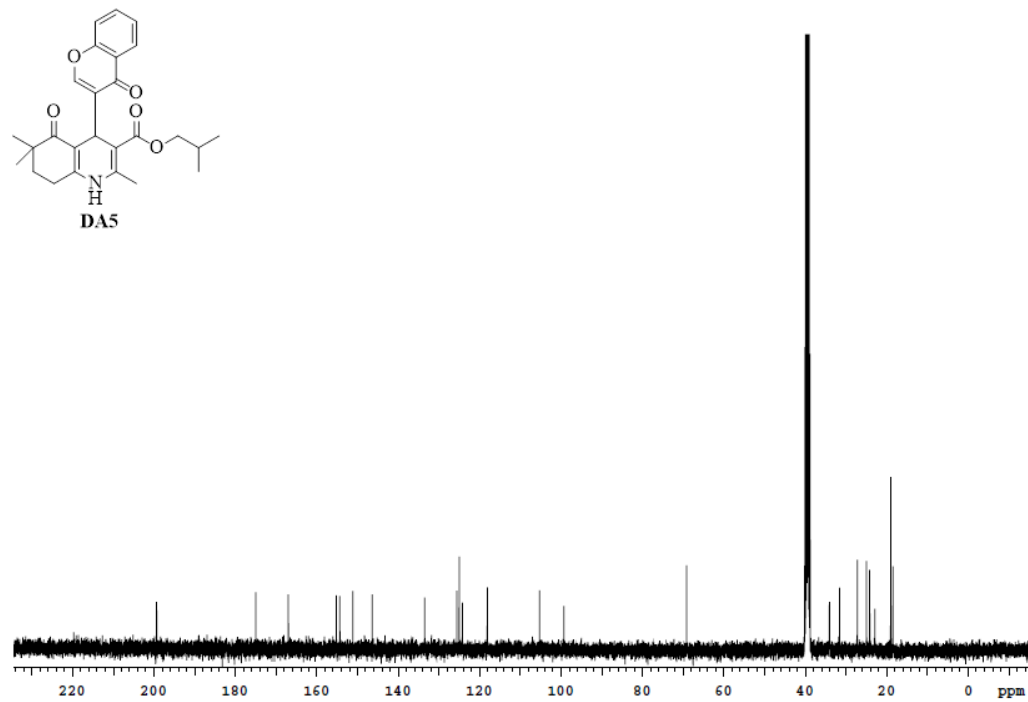
DA4'ün ^{13}C NMR spektrumu



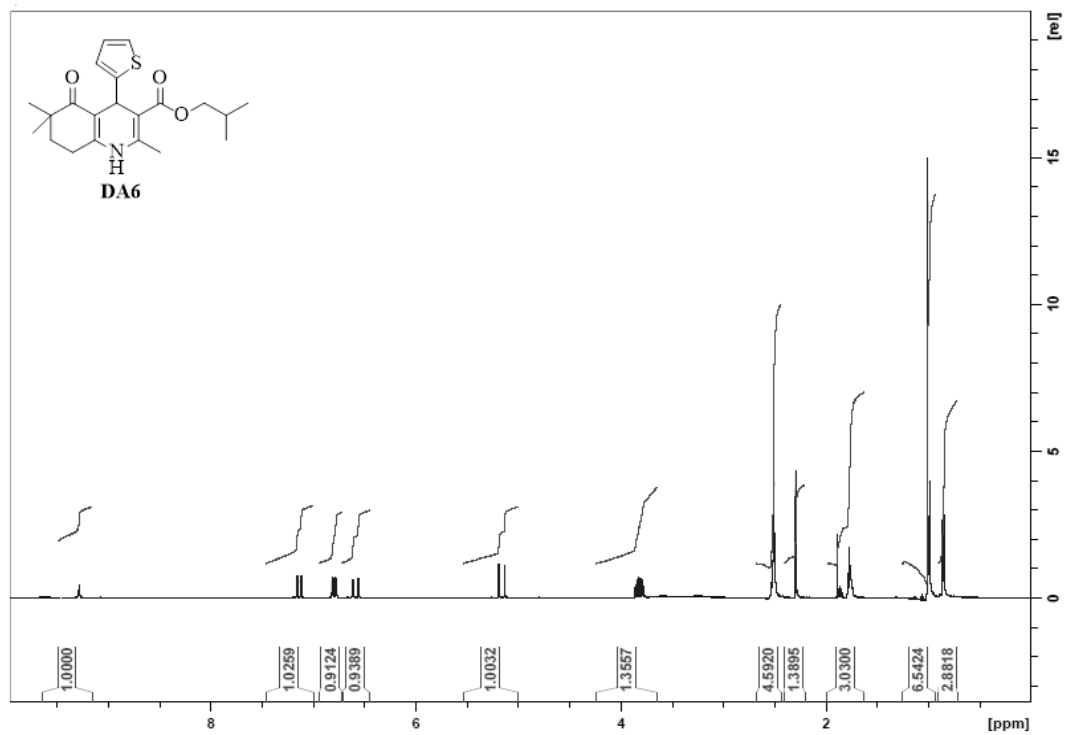
DA5'in ^1H NMR spektrumu



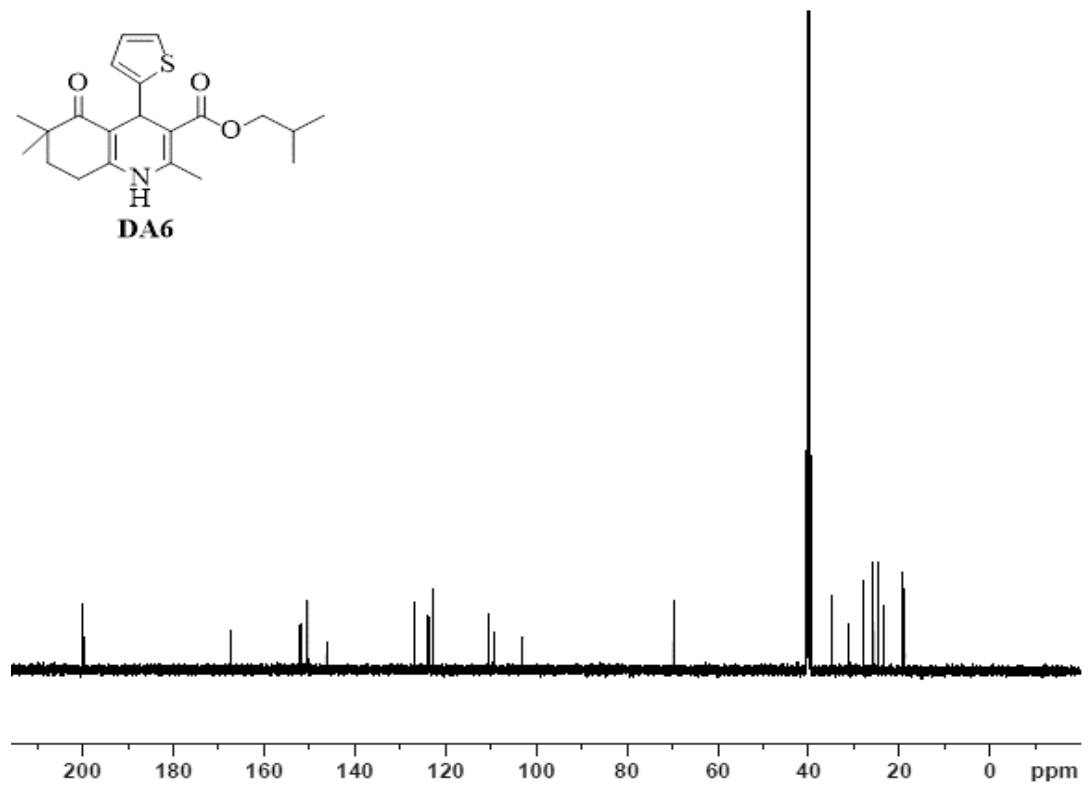
DA5'in ^{13}C NMR spektrumu



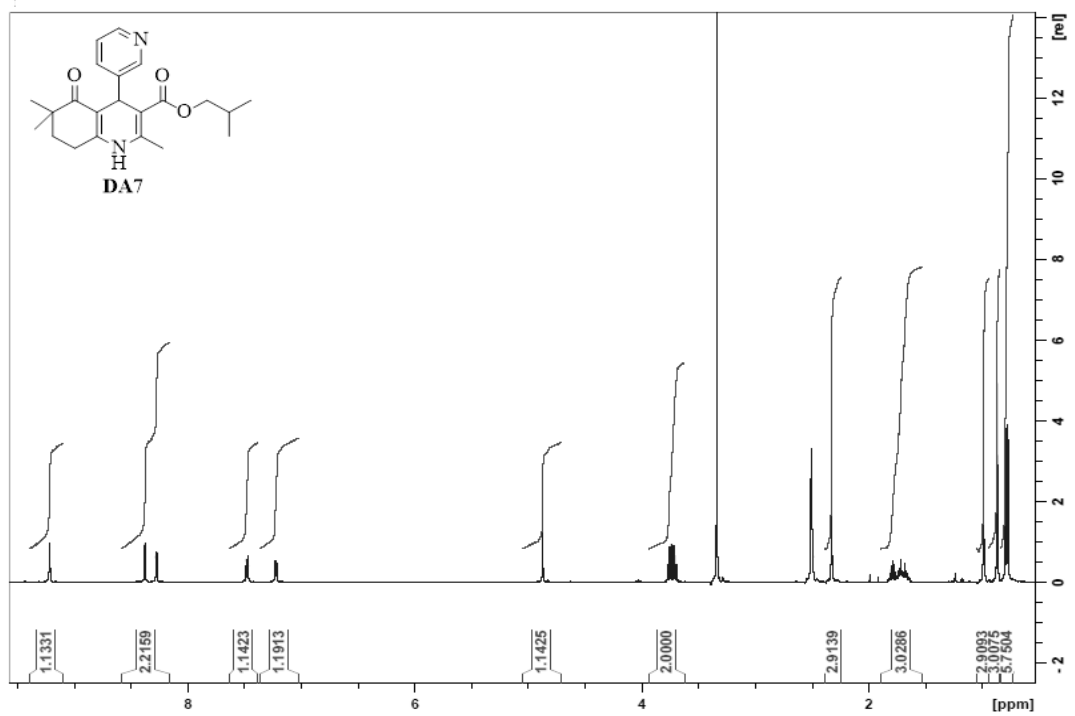
DA6'nm ^1H NMR spektrumu



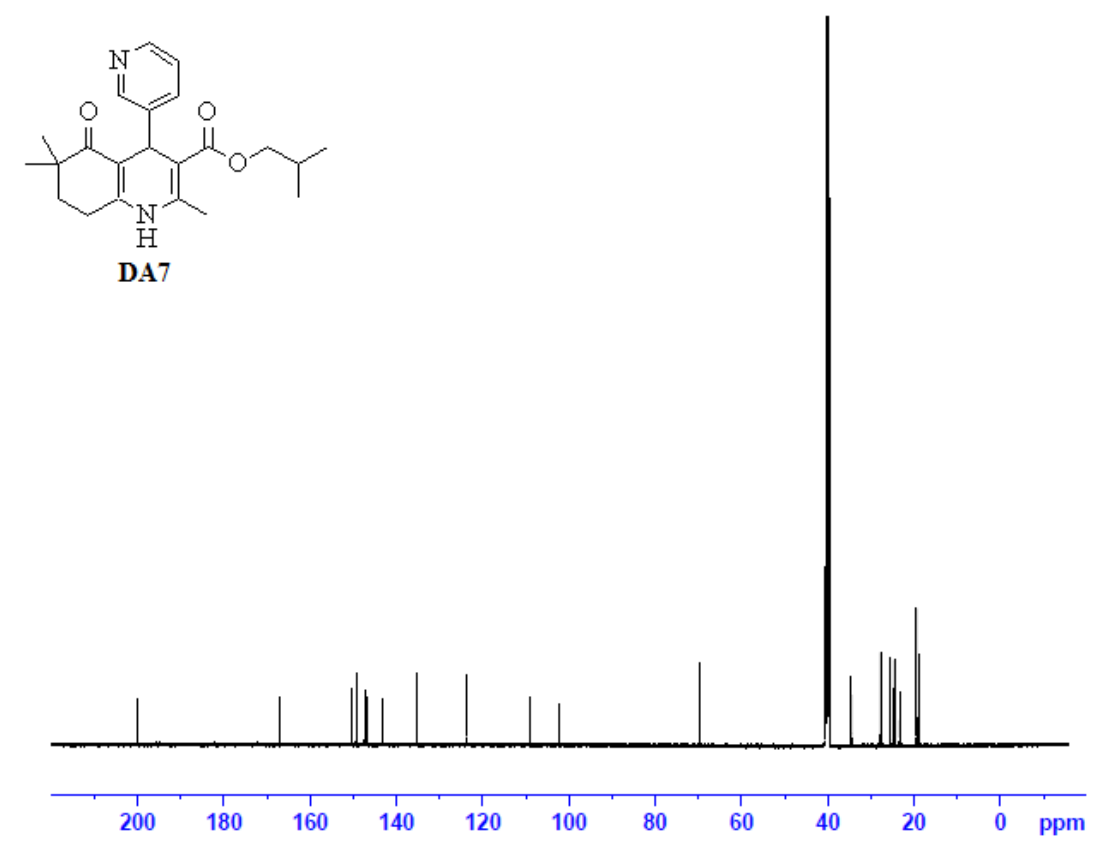
DA6'nm ^{13}C NMR spektrumu



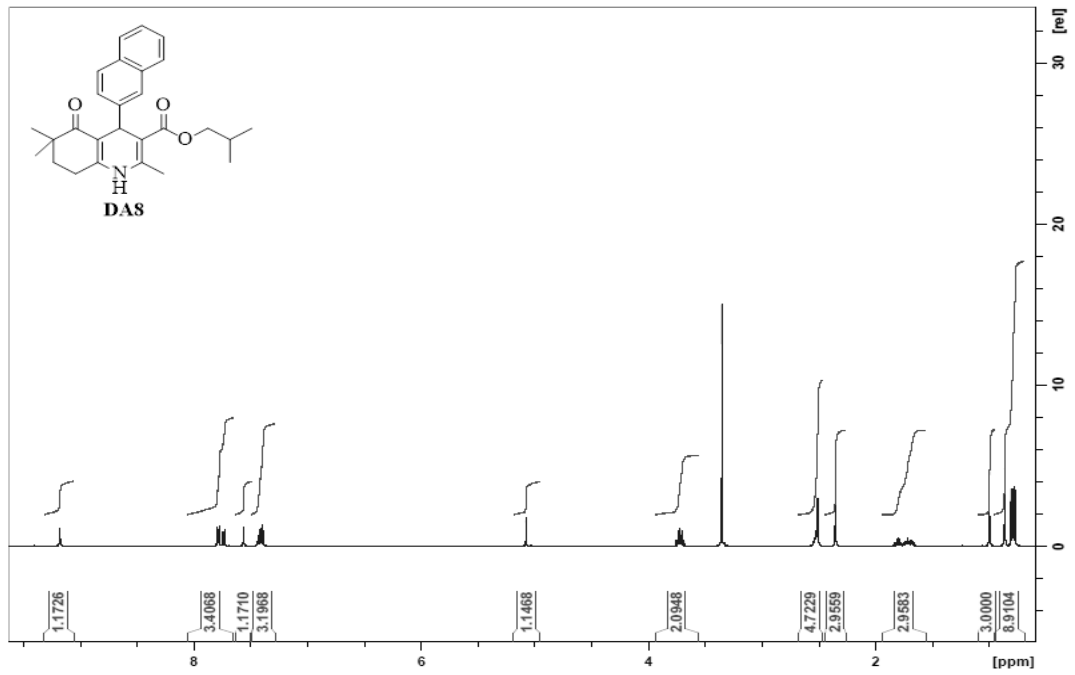
DA7'nin ^1H NMR spektrumu



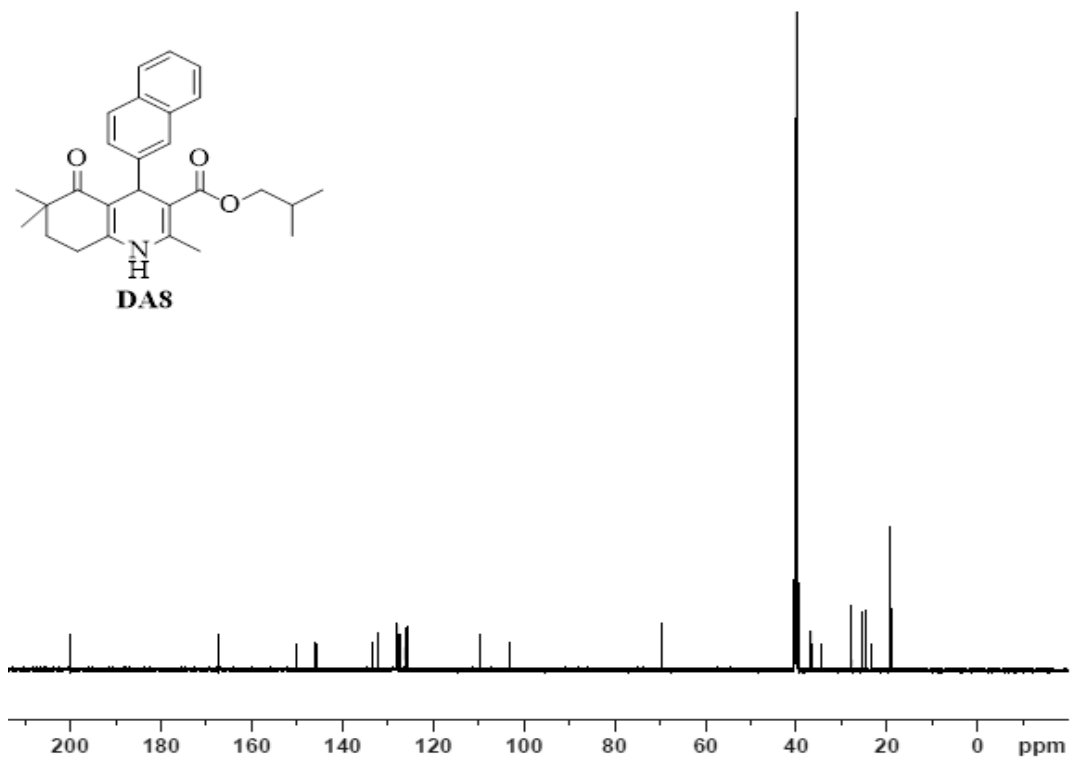
DA7'nin ^{13}C NMR spektrumu



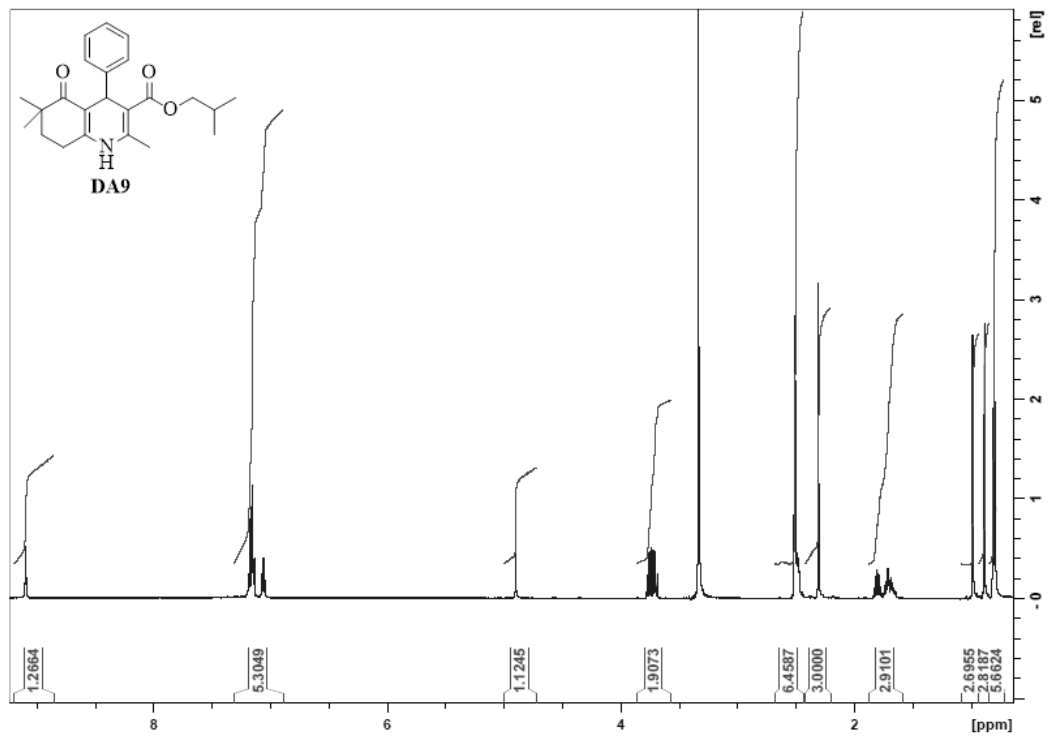
DA8'in ^1H NMR spektrumu



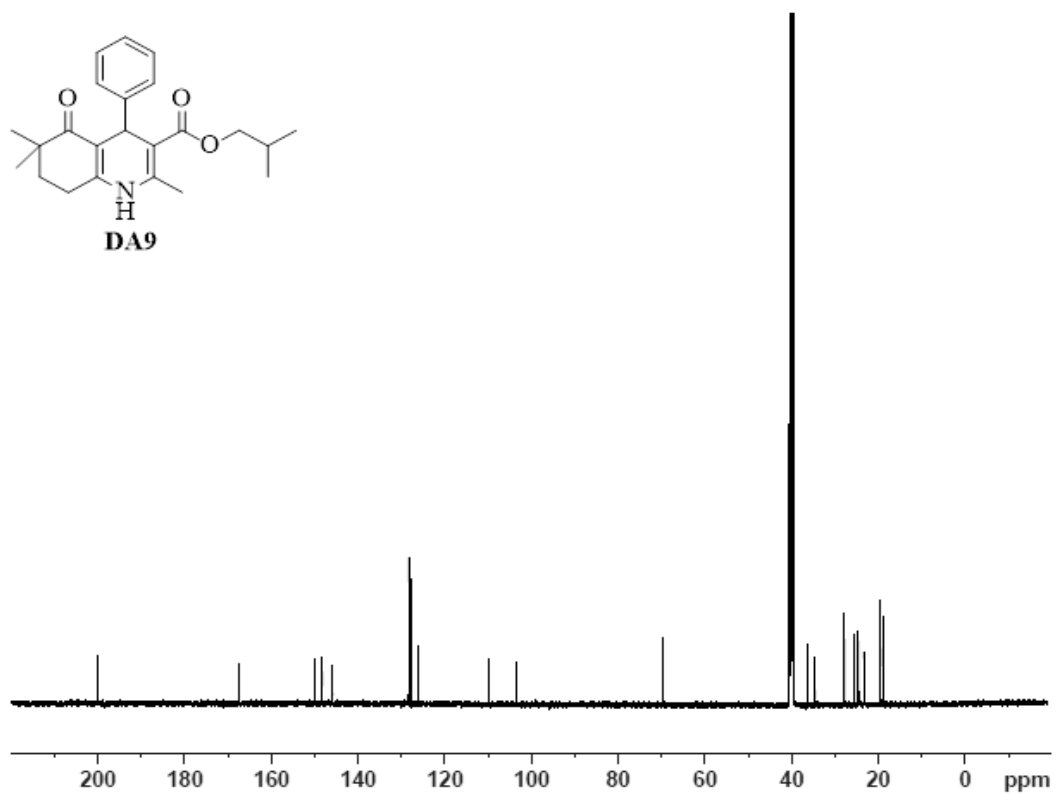
DA8'in ^{13}C NMR spektrumu



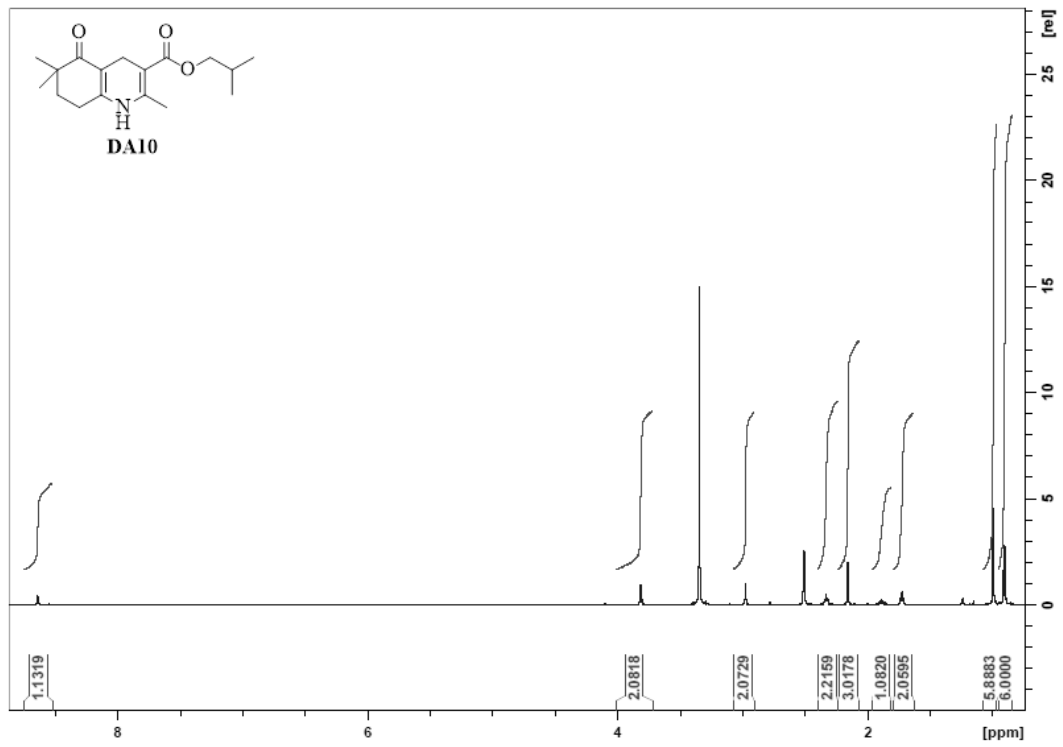
DA9'un ^1H NMR spektrumu



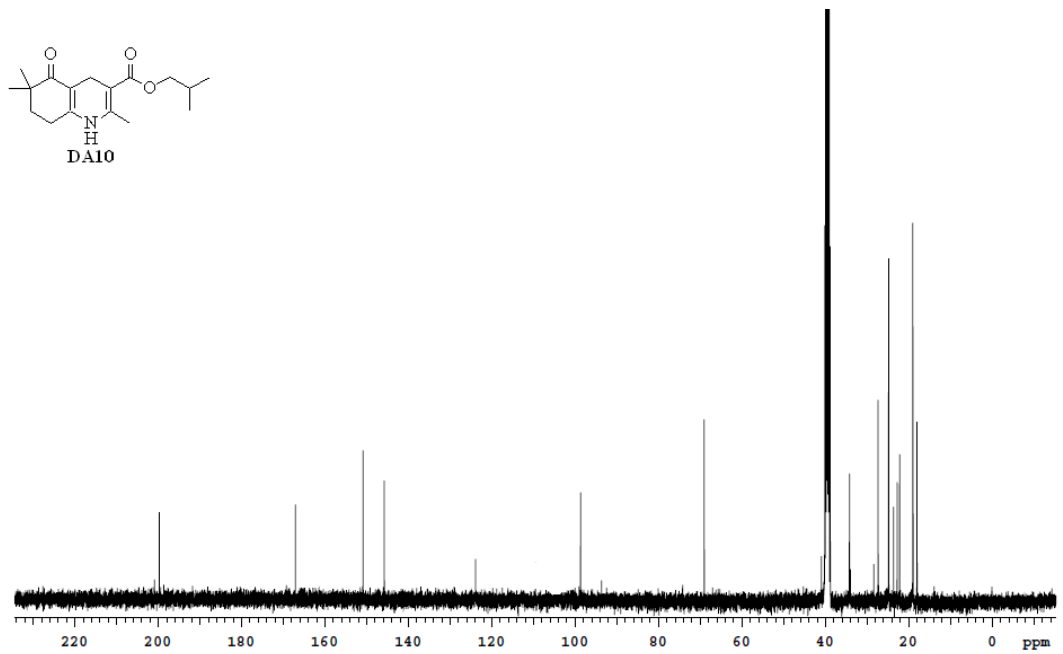
DA9'un ^{13}C NMR spektrumu



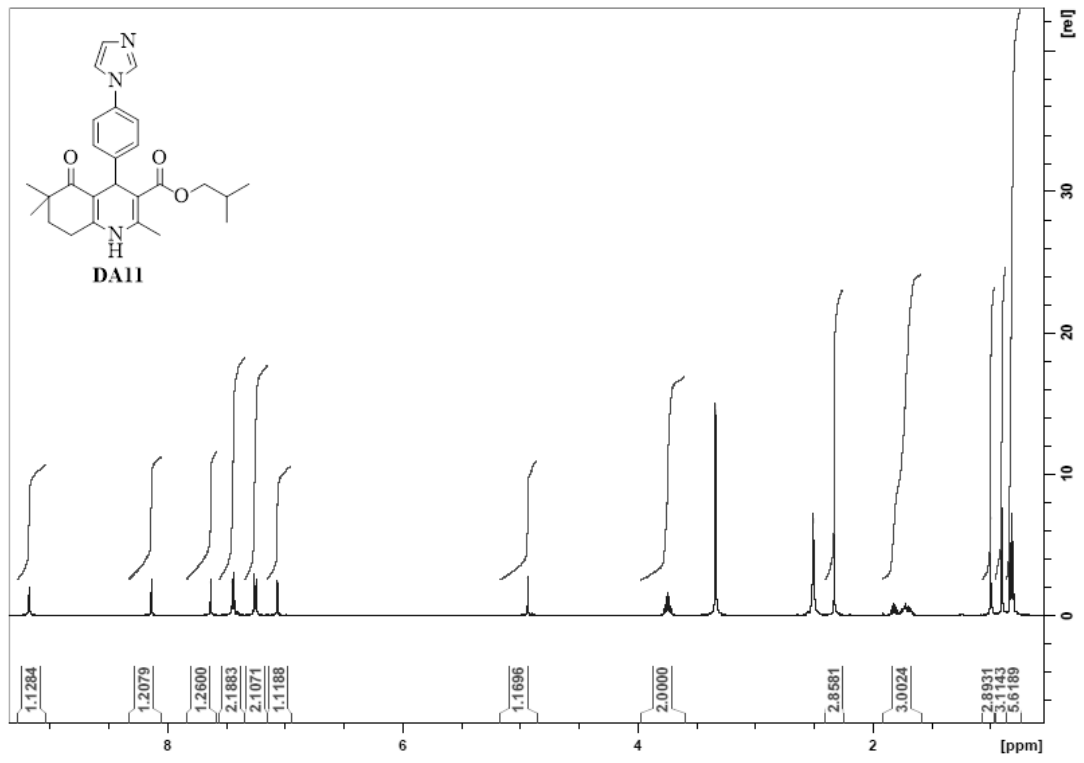
DA10'un ^1H NMR spektrumu



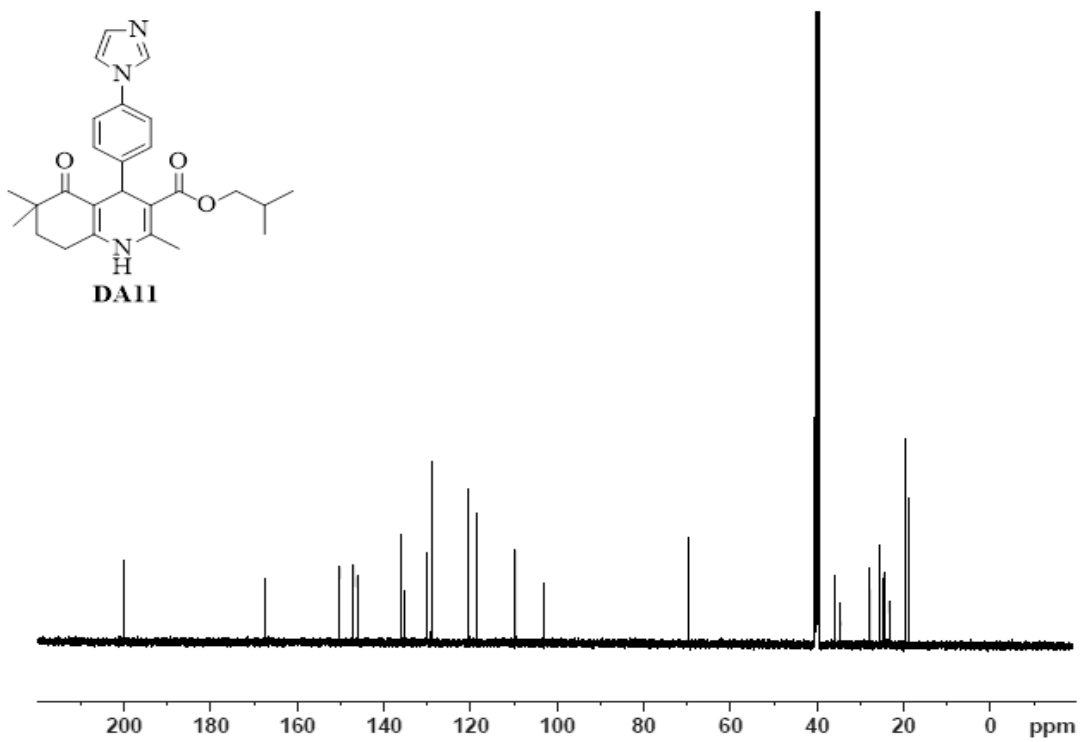
DA10'un ^{13}C NMR spektrumu



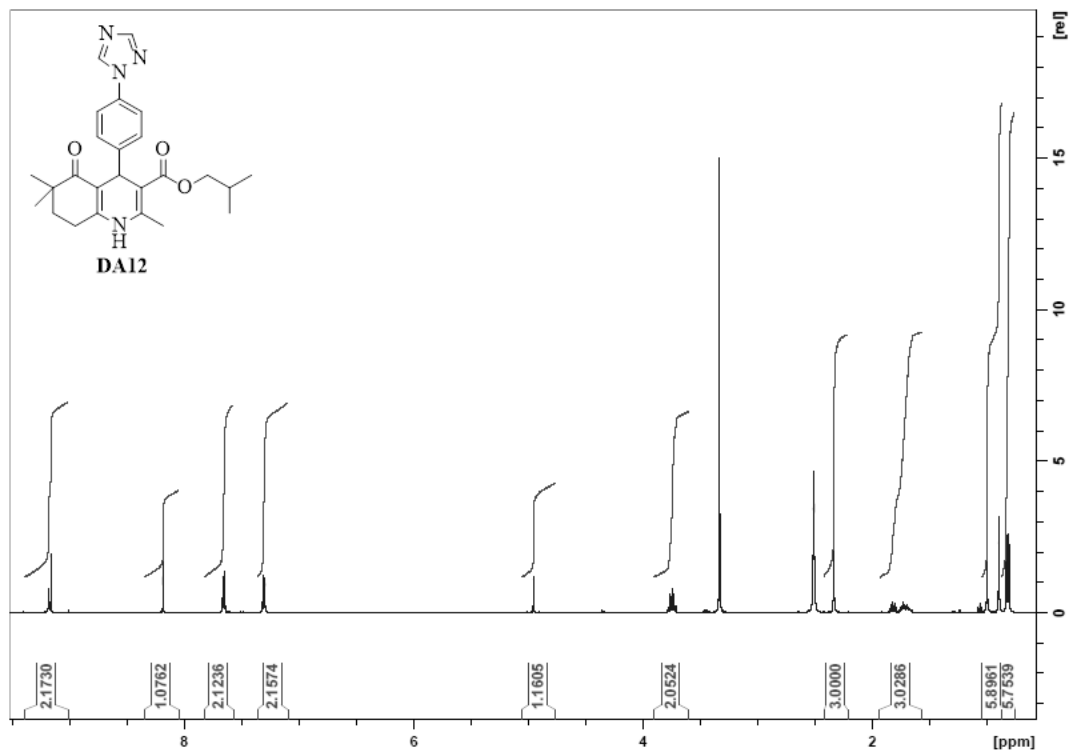
DA11'in ^1H NMR spektrumu



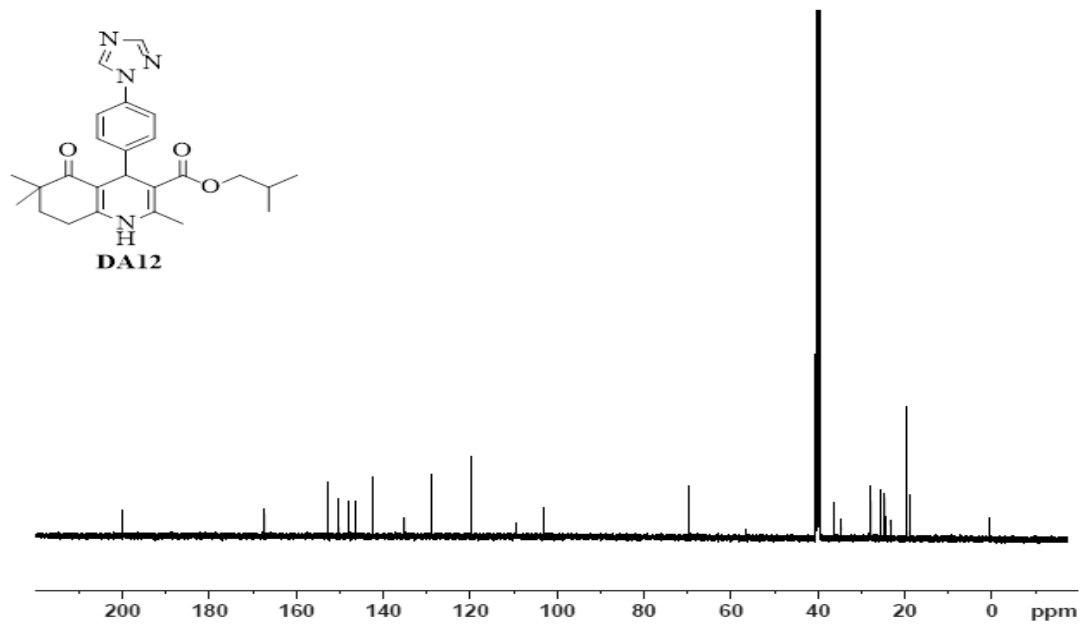
DA11'in ^{13}C NMR spektrumu



DA12'nin ^1H NMR spektrumu



DA12'nin ^{13}C NMR spektrumu

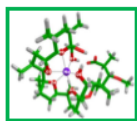


EK-2: Tez Çalışması ile İlgili Bildiri

13th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 22-25 Haziran 2021,
Ankara, Türkiye’de sunulan poster

medium influencing the complex formation between Monensin A and group IA and IB metal ions was evaluated. The calculations performed reveal the following key determinants of the monovalent metal selectivity in Monensinate A anion:

- The metal ion radius: smaller size cations, with higher positive charge density, are more competitive than their bulkier counterparts;
- The metal cation charge accepting ability: increasing the metal charge accepting ability, especially for d-elements, which translates into increased affinity toward the surrounding ligands (donor atoms), enhances the metal ion selectivity;
- The dielectric properties of the medium: low-polarity solvents favor the smaller ions possessing high ligand affinity (Li⁺ and Cu⁺); in polar solvents, characterized with high dielectric constants, the competitiveness of the medium-size cations, particularly Na⁺, increases.



Conclusions: The metal selectivity of Monensin A can be manipulated by changing the solvent used: the polyether host selectively binds Na⁺ in polar solvents (methanol and water) but could become Li⁺ or Cu⁺-selective in low-polarity solvents such as alkyl ethers, hydrocarbons and their halogenated derivatives.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from the National Science Fund of the Bulgarian Ministry of Education and Science (Contract № KP-06-H29/3).

P057: FOCUSING ON C-4 POSITION OF 1,4-DIHYDROPYRIDINE RING: SYNTHESIS AND L-/T-TYPE CALCIUM CHANNEL BLOCKING ACTIVITY

¹Akman, D., ²Huang, S., ²Zamponi, GW., ¹Gündüz, MG.

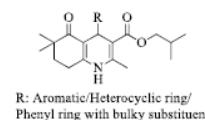
¹ Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Ankara, Turkey, dilaraakman@protonmail.com, miyasegunduz@yahoo.com

² University of Calgary, Hotchkiss Brain Institute and Alberta Children's Hospital Research Institute, Department of Physiology and Pharmacology, Calgary, Canada, suhuang@ucalgary.ca, zamponi@ucalgary.ca

Introduction: 1,4-Dihydropyridines (DHPs), represented by nifedipine and amlodipine, are widely prescribed for the treatment of hypertension (1). Although their primary target in the cardiovascular system is the L-type calcium channel isoform, DHPs can also block low-voltage-activated T-type calcium channels (2). Commercial

DHPs generally carry phenyl rings with small substituents at C-4 position. In this study, we aimed to investigate the effects of bulky groups at the mentioned position to the L-/T-type calcium channel blocking activities of DHPs.

Materials and Methods: The target DHPs were obtained by the reaction of 4,4-dimethyl-1,3-cyclohexanedione, appropriate aldehyde, isobutyl acetoacetate and ammonium acetate in absolute ethanol. Calcium channel blocking effects of the compounds were determined on L-type (Cav1.2) and T-type (Cav3.2) calcium channels using patch-clamp assays.



Results: Some of the synthesized compounds effectively blocked L-/T-type calcium channels with different selectivity profiles. 1,3-Benzodioxole ring at C-4 provided the best selectivity on Cav3.2 over Cav1.2.

Conclusions: In this study, we synthesized DHPs focusing on the modifications at C-4 position. Introducing different rings rather than phenyl, which is common in commercial DHPs, led to the discovery of effective calcium channel blockers.

References:

- 1, Zamponi GW, Striessnig J, Koschak A, Dolphin AC (2015), Pharmacological Reviews, 67:821-870.
- 2, Schaller D, Gündüz MG, Zhang FX, Zamponi GW, Wolber G (2018), European Journal of Medicinal Chemistry, 155:1-12.

P058: THE EFFECT OF COX-2 INHIBITORS ON ACETYLCHOLINE ESTERASE IN TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE

¹Kahvecioglu, D., ²Yılmaz, S., ²Yenice-Cakmak, G., ¹Kocyigit-Kaymakcioglu, B.

¹ Marmara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Istanbul, Turkey.

² Trakya University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Edirne, Turkey. dilaykahvecioglu@marun.edu.tr

Introduction: Alzheimer's disease (AD), which is one of the neurodegenerative diseases affecting millions of people around the world occurs with the degeneration of neurons and loss of neurons (1). Acetylcholine deficiency, aggregation of tau proteins to form neurofibrillary tangles between neurons, extracellular accumulation of β -amyloid (A β) peptide and oxidative stress play important role formation of AD (2). Today, acetylcholinesterase inhibitors are widely used in

EK-3: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

Dihidropiridin Türevlerinin Sentezi ve L-/T-Tipi Kalsiyum Kanal Bloke Edici Aktiviteleri

ORIGINALITY REPORT

23% SIMILARITY INDEX	22% INTERNET SOURCES	10% PUBLICATIONS	10% STUDENT PAPERS
--------------------------------	--------------------------------	----------------------------	------------------------------

PRIMARY SOURCES

1	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	8%
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet Source	5%
3	David Schaller, Miyase Gözde Gündüz, Fang Xiong Zhang, Gerald W. Zamponi, Gerhard Wolber. "Binding mechanism investigations guiding the synthesis of novel condensed 1,4-dihydropyridine derivatives with L-/T-type calcium channel blocking activity", European Journal of Medicinal Chemistry, 2018 Publication	2%
4	www.degruyter.com Internet Source	1%
5	Submitted to Hacettepe University Student Paper	1%
6	patents.justia.com Internet Source	<1%

dspace.ankara.edu.tr

EK-4: Dijital Makbuz



Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: Dilara Akman
Assignment title: Dilara Akman_Tez
Submission title: Dihidropiridin Türevlerinin Sentezi ve L-/T-Tipi Kalsiyum Kan...
File name: DilaraAkman_tez.docx
File size: 4.44M
Page count: 66
Word count: 9,021
Character count: 64,249
Submission date: 04-Jul-2022 01:39PM (UTC+0300)
Submission ID: 1866529056



9. ÖZGEÇMİŞ