

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

PİPERON TÜREVLİ YENİ TADALAFİL SENTEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kezban Cenan ATEŞ

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : ORGANİK KİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mustafa ZENGİN

Mayıs 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PIPERON TÜREVLİ YENİ TADALAFİL SENTEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ


Kezban Cenan ATEŞ

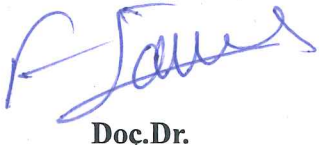
Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : ORGANİK KİMYA

Bu tez 29.05.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul/red edilmiştir.


Prof.Dr.
Mustafa ZENGİN
Jüri Başkanı


Prof.Dr.
Mustafa ARSLAN
Üye


Doç.Dr.
Fatih SÖNMEZ
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Kezban Cenan ATEŞ
29.05.2019

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tezimi hazırlama sürecinde bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Mustafa ZENGİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim sürece bilgilerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Mustafa ARSLAN, Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKİSLAMOĞLU ve Doç. Dr. Hayriye GENÇ BİLGİÇLİ'ye teşekkürü bir borç bilirim. Çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Fatma DİLER, Ali KESTANE, Elmas Begüm ÇAKMAK'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca desteklerini hep yanımda hissettiğim, bugünlere gelmemi sağlayan, dualarını eksik etmeyen anne ve babama en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim, yüksek lisans eğitimim için beni her zaman cesaretlendiren eşim Akın ATEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Fosfodiesterazlar Hakkında Genel Bilgi	3
2.2. Fosfodiesteraz-1 İzoenzimi	4
2.3. Fosfodiesteraz-2 İzoenzimi	4
2.4. Fosfodiesteraz-3 İzoenzimi	5
2.5. Fosfodiesteraz-4 İzoenzimi	5
2.6. Fosfodiesteraz-5 İzoenzimi	6
2.6.1. Fosfodiesteraz-5 izoenziminin etki mekanizması	6
2.6.2. Fosfodiesteraz-5 inhibitörleri	7
2.6.3. Sildenafil	7
2.6.4. Vardenafil	8
2.6.5. Tadalafil	9
2.6.5.1. Tadalafilin farklı sentez yöntemleri	10
2.7. Fosfodiesteraz-6 İzoenzimi	12
2.8. Fosfodiesteraz-7 İzoenzimi	13
2.9. Fosfodiesteraz-8 İzoenzimi	13

2.10. Fosfodiesteraz-9 İzoenzimi	14
2.11. Fosfodiesteraz-10 İzoenzimi	14
2.12. Fosfodiesteraz-11 İzoenzimi	14
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1. Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar	16
3.2. Sonuç Alınan Deneysel Çalışmalar	16
3.2.1. D-triptofan metil esterinin halkalaşması	16
3.2.2. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi	17
3.2.3. Piperon türevli tadalafil sentezi	18
3.3. Sonuç Alınamayan Deneysel Çalışmalar	19
3.3.1. Etil 2,4-dioksoheptanoat sentezi	19
3.3.2. Etil 2,4-dioksoheptanoat'a metil hidrazin katılması	20
3.3.3. Metil hidrazinli bileşiğin 6N HCl ile tepkimesi	21
3.3.4. Oluşan karboksilik asitin SOCl ₂ ile tepkimesi	21
3.3.5. D-triptofan metil esterinin halkalaşması	22
3.3.6. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi	22
3.3.7. Asetilli ürün ile hidrazin tepkimesi	23
3.3.8. N-pirazol türevli tadalafil sentezi	24
BÖLÜM 4.	
ARAŞTIRMA BULGULARI	26
4.1. Spektral Datalar	26
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ	28
KAYNAKLAR	32
EKLER	37
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

cAMP	: Siklik adenzin monofosfat
CaM	: Kalsiyum /Kalmodulin
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
ED	: Eretil disfonksiyon
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
mRNA	: Haberci ribonükleik asit
NO	: Nitrik oksid
PDE	: Fosfodiesteraz

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	PDE-5 inhibitörlerinin molekül yapısı	2
Şekil 2.1.	Sildenafil sitratın molekül yapısı	7
Şekil 2.2.	Vardenafilin molekül yapısı	8
Şekil 2.3.	Tadalafilin molekül yapısı	9
Şekil 2.4.	Tadalafil sentez yöntemi	11
Şekil 2.5.	Tadalafil sentezi	12
Şekil 3.1.	D-triptofan metil esterinin halkalaşması	17
Şekil 3.2.	Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi	18
Şekil 3.3.	Piperon türevli tadalafil sentezi	19
Şekil 3.4.	Etil 2,4-dioksoheptanoat sentezi	20
Şekil 3.5.	Etil 2,4-dioksoheptanoat'a metil hidrazin katılma tepkimesi	20
Şekil 3.6.	1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karboksilik asit sentezi	21
Şekil 3.7.	1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karbonil klorür sentezi	21
Şekil 3.8.	D-triptofan metil esterinin halkalaşması	22
Şekil 3.9.	Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi	23
Şekil 3.10.	Asetilli ürün ile hidrazin tepkimesi	23
Şekil 3.11.	N-pirazol türevli tadalafil sentezi	25
Şekil 5.1.	Siklizasyon reaksiyonu ürünü	27
Şekil 5.2.	Asetilleme reaksiyonu ürünü	28
Şekil 5.3.	Piperon türevli tadalafil	29
Şekil 5.4.	N-pirazol türevli tadalafil	29

ÖZET

Anahtar kelimeler: Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil, PDE-5 inhibitörleri, Erektile disfonksiyon

Ereksiyon düzensizliği (ED) erkeklerde görülen cinsel hastalıkların başında gelmektedir. Fosfodiesteraz ailesi içinde PDE- 5 inhibitörleri erektil disfonksiyon tedavisinde önemli rol oynamaktadır. Erektile disfonksiyonun ilk basamak tedavisinde kullanılan PDE-5 inhibitörleri üçü tüm dünyada kabul görmüş olan sildenafil, vardenafil ve tadalafildir. Bu inhibitörler selektiviteleri ve farmokinetikleri açısından farklılık gösterirler.

Bu çalışmada D-triptofan ile piperonal reaksiyona sokularak siklizasyon oluşması sağlandı. Daha sonra oluşan bileşik asetillendi. Son kademedede tadalafilin farklı bir türevi sentezlendi. Oluşan yapının aydınlatılmasında ^1H NMR, ^{13}C NMR spektroskopisinden yararlanılmıştır.

SYNTHESIS OF PIPERON DERIVED NOVEL TADALAFIL

SUMMARY

Keywords: Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil, Inhibitor of PDE-5, Erectile dysfunction

Erectile dysfunction (ED) is one of the most common sexual diseases in men. In the phosphodiesterase family, PDE-5 inhibitors play an important role in the treatment of erectile dysfunction. Three of the PDE-5 inhibitors used in the first-line treatment of erectile dysfunction are sildenafil, vardenafil and tadalafil, all of which have been recognized worldwide. These inhibitors differ in their selectivity and pharmacokinetics.

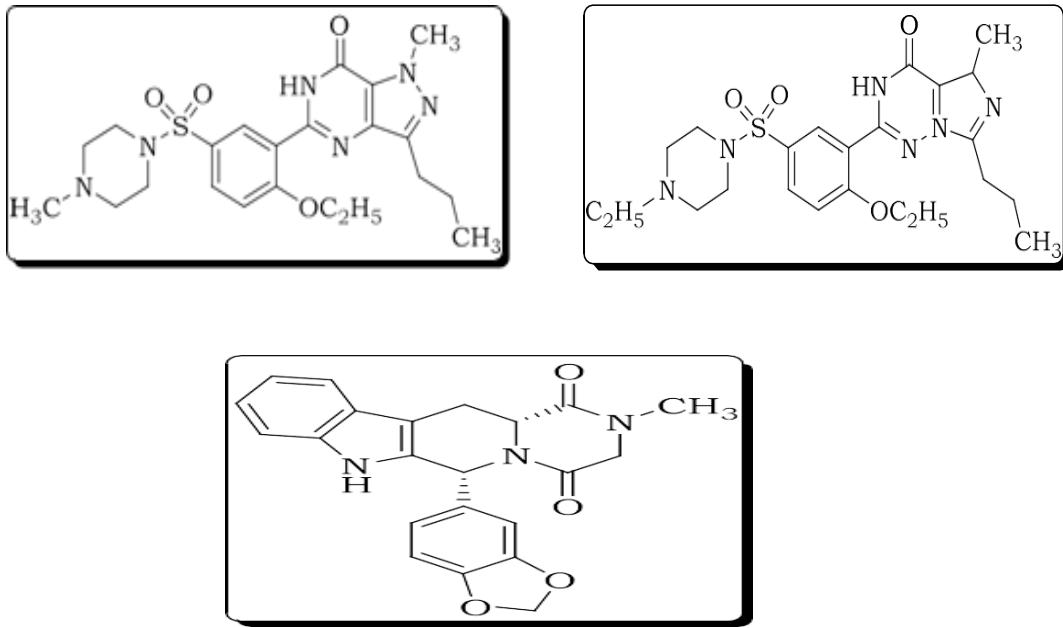
In this study, cyclic reaction was induced by piperonal reaction with D-tryptophan. The resulting compound was acetylated. In the last step, a different derivative of tadalafil was synthesized. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectroscopy were used to illuminate the resulting structure.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Eretil disfonksiyon (ED), tatmin edici cinsel performans için yeterli penil ereksiyon elde etmek veya sürdürmek için kalıcı yetersizlik olarak tanımlanmaktadır [1]. Sildenafil önce, Yohimbin ve Trazodon en çok başvurulan ancak kısıtlı etkinliği olan ilaçlardı. 1998 yılında Amerikan Gıda ve İlaç Dairesinin (FDA) sildenafili erekil disfonksiyonun tedavisinde uygun olduğunu belirttikten sonra ED'nin ilk basamak tedavisinde fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörlerinin kullanımı başlamıştır [2].

Farklı izoformlara sahip 11 tane fosfodiesteraz enzim ailesi vardır. Her birinin üç boyutlu yapı, kinetik özellikler, düzenleme modları, hücre içi lokalizasyon, hücresel ekspresyon ve inhibitör duyarlılıklarından farklıdır [3]. PDE'lerden PDE-3, 4, 7 ve 8 siklik adenozin monofosfat'a (cAMP), PDE 5, 6 ve 9 siklik guanozin monofosfat'a (cGMP) spesifiktir. Geri kalan PDE-1, 2, 10 ve 11 hem cAMP hem de cGMP'yi etkilerler [4].

Sildenafil, vardenafil ve tadalafilin ED tedavisinde üstün bir etkinlik ve güvenilirliğe sahiptir [5]. Bu moleküllerin genel yapısı Şekil 1.1.'de verilmiştir [6].



Şekil 1.1. PDE-5 inhibitörlerinin molekül yapısı

Sildenafil, cGMP yıkımını sağlar. Bundan dolayı inhibisyonu dokuda cGMP artışına neden olmaktadır [7]. Sildenafil ile yapısal benzerlikleri bulunan başka bir PDE-5 inhibitörü vardenafildir. 5, 10 ve 20 mg'lık kullanım dozları vardır. Cinsel uyarı varlığında, alındıktan 30 dakika sonra etkisini gösterir. Plasma yarı ömrü 4-5 saattir [8].

Tadalafil yapısı, sildenafil ve vardenafilden farklıdır. Kaverno dokü gevşemesi yapmaktadır. Tadalafil, vardenafil'den daha yavaş kana karışır [7]. PDE-5'e karşı seçiciliği PDE-6'ya kıyasla 700 kat, PDE-1-4 ve PDE-7-10'a kıyasla 10000 kat, PDE-11'e kıyasla 5 kat daha fazladır [9].

Tadalafilin yapısal farklılığından ve etkisinden dolayı bu çalışmada tadalafil türevi sentezi yapılmaya çalışıldı. Oluşan yapının aydınlatılmasında ^1H NMR, ^{13}C NMR spektroskopisinden yararlanılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Fosfodiesterazlar Hakkında Genel Bilgi

Fosfodiesteraz (PDE) hikayesi, 1886'da Henry Hyde Salter'in çalışmasıyla başlar. 1958'de yayınlanan Earl Sutherland ve Ted Rall tarafından yapılan çalışmada, ilk önce karaciğer ekstraktlarındaki ısıya dayanıklı nükleotid, siklik adenozin monofosfat (cAMP)'ı ikincil bir haberci olarak tanımladı. Nörotransmitterlerin ve hormonların birçok hücrel etkisine aracılık ettiğini ileri sürdü. cAMP keşfinden sonra sıçan idrarında ikinci bir hücre içi ikincil haberci, siklik guanozin monofosfatın (cGMP) tanımlandı [10].

Siklik nükleotid fosfodiesterazlar, adenozin veya guanozin 3',5' siklik monofosfatın 3' siklik fosfat bağlarının hidrolizini seçici olarak katalize eden fosfohidrolazlardan oluşan bir ailedir [3].

Hücrel düzeyleri, adenil veya guanilat siklazdan siklik nükleotid sentezi ve PDE'ler ile siklik nükleotid yıkım hızlarına göre düzenlenir. İkincil haberci olan cAMP ve cGMP'nin yıkımından sorumlu olan PDE'ler cAMP/cGMP'nin hücre içi konsantrasyonlarının düzenleyicisidir [4].

Farklı izoformlara sahip 11 farklı PDE ailesi var. Her birinin üç boyutlu yapı, kinetik özellikler, düzenleme modları, hücre içi lokalizasyon, hücrel ekspresyon ve inhibitör duyarlılıklarından farklıdır [3]. PDE-5 özellikle korpus kavernozumda cGMP yolu üzerinde etkili olduğu bilinen enzimdir [11].

PDE inhibitörlerinin kullanımı alanı sadece erektil disfonksiyon (ED) ile sınırlı değildir. Kardiyak fonksiyonunun iyileştirilmesi, egzersiz kapasitesi, artmış kalp hızı üzerindeki etkileri çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bunların damar genişletici

etkileri, arteriyel kan basıncında, kardiyovasküler hastalığı olan hastalar için oldukça faydalı olabilecek bir azalmaya neden olabilir [12].

2.2. Fosfodiesteraz-1 İzoenzimi

PDE-1 veya CaM-PDE özellikle Ca^{2+} /kalmodulin (CaM) kompleksi tarafından uyarılır, Ca^{2+} ve siklik nükleotitler arasında doğrudan karşılıklı etkileşim sağlayan tek ailedir. Farklı genlerin ürünleri, PDE-1'in (A, B ve C) farklı alt tipleri ve bunlara bağlı varyantları, cAMP, cGMP'yi kalsiyum ve kalmoduline duyarlılıkları hidrolize eder [13].

Nimodipin, IC86340, IC224, IC295, diyoklen, KS-505a, vinposetin PDE-1'e özgü inhibitörleridir. Substrat olarak cAMP, cGMP etki eder [14].

PDE-1 izoenzimlerinin bulunğu dokular; düz kas, kalp, akciğer, beyin, sperm, nöronlar, akyuvarlar ve düz kaslarda makrofajlar ve akyuvarlarda, beyin, gelişen düz kaslar, spermatitler koku alma dokusu şeklindedir [3].

2.3. Fosfodiesteraz-2 İzoenzimi

PDE-2, Beavo ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir. Sığır kalp, adrenal doku, karaciğer ve beyin korteksinden saflaştırılmıştır [15].

PDE-2, vasküler düz kastan yoksun ama endotel hücrelerinde bulunur. Hem cAMP'yi hem de cGMP'yi hidrolize eder. Allosterik olarak cGMP tarafından aktive edilir [16].

EHNA, BAY-60-7750, PDP, IC933, oksidol, ND7001 PDE-2'e özgü inhibitörlerdir. Substrat olarak cAMP, cGMP etki eder. cGMP uyarımlıdır [13,17].

PDE-2 izoenzimleri fonksiyon olarak; böbrek üstü bezlerinden aldosteron salınımını kontrol eder, nöronlarda cGMP'nin, uzun dönem hafıza ve endotel hücrelerinin

enflamatuar koşullar altında bariyer fonksiyonunu düzenler. PDE-2 izoenzimlerinin dokulara dağılımları; adrenal bez, beyin, kalp, trombosit şeklindedir [3].

2.4. Fosfodiesteraz-3 İzoenzimi

PDE-3 ailesi izoformları, özellikle fizyolojik fonksiyonları ve ilaç hedefleri olarak kullanımları bakımından kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. PDE-3 ailesinin ayırt edici biyokimyasal özelliği hem cAMP'yi hem de cGMP'yi hidrolize edebilmesidir.

PDE-3A kalp kasılmasını düzenleme, vasküler düz kas kasılması PDE-3B insülin sinyalizasyonu, hücre döngüsü/gelişimini düzenlemede etkilidir. Kalp, vasküler düz kas, yağ hücresi, karaciğer hücresi, böbrekte bulunur [3].

İnhibitörleri; kilostamid, milrinon, siguazodan, kilostazol CI 930' dir [17].

2.5. Fosfodiesteraz-4 İzoenzimi

PDE-4, cAMP'ye özgüdür. İltihaplı hücreler, iltihaplı hava yolları hastalığında baskın izoenzimdir. Solunum yolu düz kaslarında, beyin ve kardiyovasküler dokularda bulunur. Tanımlanmış 35'ten fazla izoformu olan en büyük PDE alt ailesidir [10]. PDE-4 enzimleri ailesi 4 ayrı gen tarafından kodlanır. Bunlar PDE-4A, PDE-4B, PDE-4C, PDE-4D'dir [18].

PDE-4A birçok dokuda bulunan mRNA ile ifade edilir. Koku alma sistemi, bağışıklık hücreleri, testis ve beyinde bulunur. PDE-4B beyin ve immün hücrelerinde bulunur. PDE-4C akciğerde, testiste ve esas olarak nöronal kökenli birkaç hücre bulunur. PDE-4D mRNA yaygın olarak dağıtılmış ve çeşitli dokularda bulunmuştur. Varyantların ekspresyonu spesifik dokulara ve bölgelere lokalize görünüyor; varyantlar birçok yaygın kullanılan hücre hattında (HEK293, COS) ve enflamatuar hücrelerde bulunur [3].

İnhibitörleri; rolipram, roflumilast, silomilasttır. Rolipram, cAMP yükselmesinin, merkezi sinir sisteminde noradrenerjik nörotransmisyonu arttırdığı için, depresyon tedavisi için geliştirilmiştir. Etkili bir antidepresan olduğunu kanıtlanmasında, yan etkileri klinik gelişimini sonlandırdı [10]. KOAH tedavisinde, silomilast ve roflumilastın önemli antiinflamatuvar etkileri ve klinik etkileri umut veren farmakolojik ajanlar oldukları söylenebilir [19].

2.6. Fosfodiesteraz-5 İzoenzimi

PDE-5 enzimi Corbin ve arkadaşları tarafından bulunmuştur. Herbiri yaklaşık 100.000 dalton ağırlığa sahip iki alt yapıdan oluşan enzim homodimer yapıdadır [20].

İki alt ünitesinin katalitik ve düzenleyici özellikleri olan etki bölgeleri vardır. Katalitik bölüm PDE-5i için hedef bölgedir ve cGMP'nin bağlanacağı bir bölümü de içerir. cGMP bu noktaya bağlandığı zaman hemen yakınında bulunan katalitik bölge 5'-GMP'ye dönüşür ve böylece cGMP'nin etkisi sonlanır. PDE-5'leri yapısal olarak cGMP'ye benzedikleri için bu bölgeye bağlanırlar. Böylece katalitik aktivite PDE-5'lerini parçalayamaz ve cGMP'nin etkisi devam eder [21].

Korpus kavernozum düz kasında, çizgili kaslarda, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyincikte bulunur [22].

2.6.1. Fosfodiesteraz – 5 izoenziminin etki mekanizması

NO korpus kavernozum düz kası içinde artar. cGMP'nin aktivasyonunu hızlandırır, cGMP etkinliği artırılarak ereksiyon kolaylaştırılmaktadır. Unutulmaması gereken, bu ilaçların etkilerinin ortaya çıkabilmesi için NO oluşması ve sitoplazmada c-GMP düzeyinin artmasının gerekmesidir. Nörojenik ED hastalarında NO'nun oluşma yolu bozuktur. PDE-5 inhibitörlerinin etkileri kısıtlı olmaktadır [2].

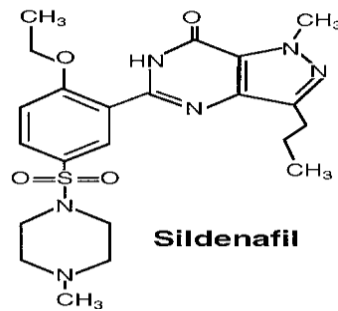
2.6.2. Fosfodiesteraz – 5 inhibitörleri

1998 yılında Fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörlerinin keşfi, ED tedavisinde dönüm noktasını oluşturmuştur. Keşif edildiğinden bu yana; PDE-5 inhibitörleri kolay kullanım, etkinlik, tolere edilebilir yan etki profili ile ED tedavisinde ilk seçenek olarak yer almaktadır [23].

Günümüzde klinik kullanımda üç farklı PDE-5 inhibitörü bulunmaktadır. 1998 yılında Sildenafil (Viagra), Ağustos 2003 tarihinde Vardenafil (Levitra), Kasım 2003 tarihinde ise Tadalafil (Cialis) FDA onayı almıştır [24].

2.6.3. Sildenafil

ED tedavisinde sildenafil kabul görmeden önce, alfa adrenerjik reseptör antagonistleri (Yohimbin) ve serotonin reseptör agonistleri (Trazodon) en çok başvurulan ancak kısıtlı etkinliği olan ilaçlardı. Sildenafil, 1998 yılında ABD’de FDA’nın erektil disfonksiyonun (ED) tedavisine uygun buldu. ED’nin ilk basamak tedavisinde fosfodiesteraz-5 (FDE-5) inhibitörlerinin kullanımı başlamıştır.



Şekil 2.1. Sildenafil sitratın molekül yapısı

Sildenafil, PDE-5 enzimine cGMP’ye göre 1000 kat daha yüksek afinite bağlanır. Sitoplazma içindeki cGMP’nin PDE-5 enzimine bağlanmasını ve katalize olmasını engeller. cGMP etkinliğinin artmasına yol açar [2].

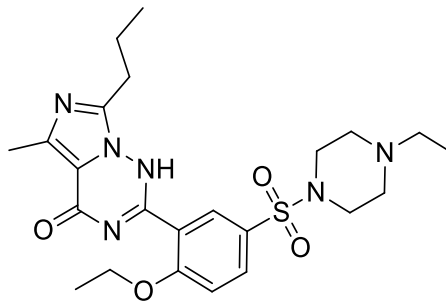
Sildenafil, alındıktan 30-60 dakika sonra etkisini gösterir. Dozları 25, 50 ve 100 mg'lık olup genellikle 50 miligramlık tabletle tedaviye başlanır. Yanıta ve yan etkilere göre doz ayarlaması yapılır [5].

Ortalama yarı ömrü 4 saattir. Etkisi 12 saat sürer [25]. Sildenafilin yan etkileri; baş ağrısı, dispepsi, kızarma ve anormal görmedir [26].

Molekül formülü $C_{28}H_{38}N_6O_{11}S$, molekül ağırlığı 666.703 g/mol'dür. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'ne göre açık adı 5-[2-etoksi-5-(4 metilpiperazin-1-il)sulfonylfenil]-1-metil-3-propil-6H-pirazolo[4,3-d]primidin-7on;2 hidroksipropan - 1,2,3-trikarboksilik asittir [27].

2.6.4. Vardenafil

Vardenafil HCl renksiz, kristalize bir maddedir. Molekül ağırlığı 579.1 gr/mol'dür. Suda 0.1 mg/ml oranında çözünür. Kimyasal formülü $C_{23}H_{32}N_6O_4S \cdot 2HCl$; $C_{23}H_{34}Cl_2N_6O_4S$ 'dir [28].



Şekil 2.2. Vardenafilin molekül yapısı

İkinci PDE-5 inhibitörü olan vardenafil, 2003 yılının ağustos ayında Levitra™ ticari adıyla, piyasaya sürülmüştür. Penil korpus kavernozumdaki en belirgin PDE olan cGMP'ye özgü fosfodiesteraz tip 5'in (PDE-5) güçlü ve seçici bir inhibitörüdür.

Vardenafil ED tedavisi için özellikle tasarlanmıştır. Seçiciliği, farmokinetiği bakımından sildenafil'den farklıdır. Vardenafilin PDE-5'e karşı seçiciliği, PDE-6'ya

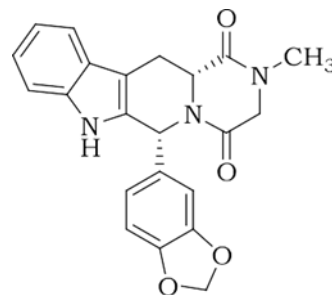
kıyasla 15 kat, PDE-1'e kıyasla 130 kat, PDE-11'e kıyasla 300 kat ve PDE-2,3,4,7,8,9,10'a kıyasla 1000 kat daha fazladır. Vardenafil hızlı bir şekilde emilir, alındıktan 8-18 dakika sonra saptanabilir. Plazma seviyeleri 15 dakika ile 3 saat arasında belirtilen en yüksek plazma konsantrasyonlarına ulaşır [29].

Baş ağrısı, kızarıklık, dispepsi (fonksiyonel hazımsızlık), nazal konjesyon (burun tıkanıklığı), baş dönmesi, görme sorunları, işitme kaybı görülen yan etkileridir [30].

Vardenafilin etki mekanizması, cinsel uyarı korpus kavernozumda nitrik oksit (NO) salınımı başlar. Guanilsiklaz enzimini uyarır. Uyarım sonucunda cGMP seviyesi artar. Artan cGMP düzeyleri düz kas gevşemesini (vazodilatasyon) sağlar. Sertleşme gerçekleşir. Penisin gevşemesini ise PDE-5 sağlar [31].

2.6.5. Tadalafil

Sildenafil ve vardenafilten farklı molekül yapısına sahiptir. Her üçü de heterosiklik nitrojen içeren çift halkalı sisteme ve santral halkaya sahiptir. Bu santral halka cGMP analogudur. İlaçların PDE-5'in katalitik bölgesine yarışmalı bağlanmasını sağlar. Tadalafil bir β -carboline-type PDE-5 inhibitörü olarak farklılık gösterir, sildenafilin yapısındaki hidantoin halkasının modifiye bir formu olan piperazinedione halkasına sahiptir [32].



Şekil 2.3. Tadalafilin molekül yapısı

Yeni bir fosfodiesteraz tip 5 enzim inhibitörü olup kavernoza dokü gevşemesi yapmaktadır. Sildenafil ve vardenafil'e kıyasla daha yavaş kana karışır. Maksimum

kan düzeyine 2 saatte ulaşılır. Tadalafil'in yarılanma ömrü, 17,5 saat olup 36 saat boyunca etkinlik sağlar [7].

Yüksek tansiyon ilaçlarıyla alınabiliyor olması [33], kalp krizi riskinin bulunmaması, görme bozukluğuyla ilgili yan etkisinin bulunmaması, antikanser ilaçlarla kullanılabilir olması [34], prostat kanserine karşı etkinliğinin olması [35], diğer iki inhibitöre göre daha çok tercih edilmesine sebep olur.

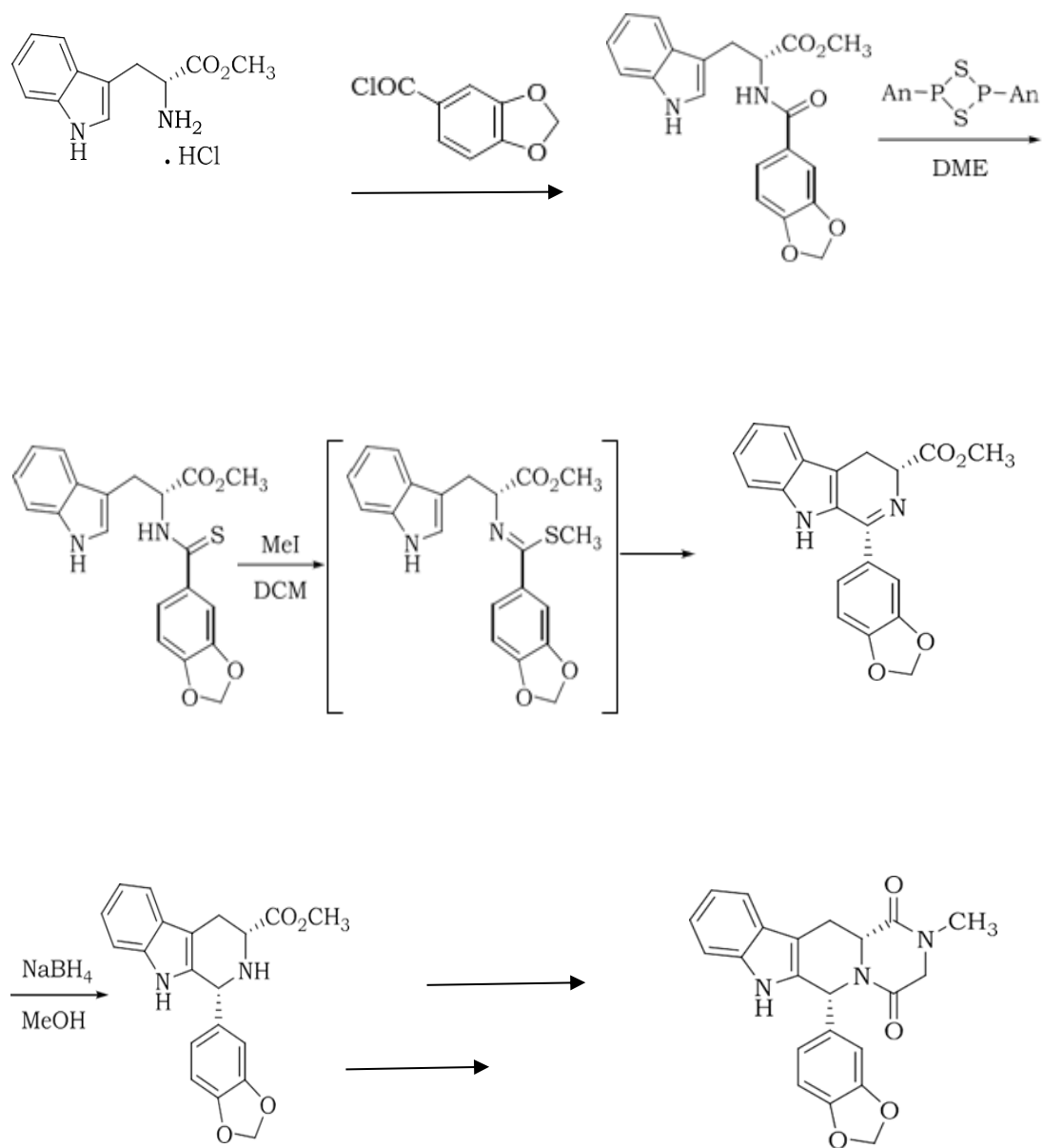
Formülü $C_{22}H_{19}N_3O_4$ olan tadalafilin Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'ne göre açık adı (6R-trans)-6-(1,3-benzodioxol-5-il)-2,3,6,7,12,12a heksahidro-2-metil-pirazino [1',2':1,6] pirido [3,4-b] indol-1,4-dion'dur ve moleküler ağırlığı 389,404 g/mol'dür [36].

Tadalafilin etki mekanizması, nitrik oksit (NO), damar endotel hücrelerinden salınır. Guanilatsiklaz enzimini uyarır. cGMP düzeyini artırır. Düz kaslarda gevşeme ve damarlarda genişleme sağlar. PDE-5 ise cGMP'yi hidrolize ederek inaktif hali olan GMP'ye dönüştürür. PDE-5 inhibitörleri inaktivasyonu ortadan kaldırarak, cGMP düzeyinde artış sağlar [37].

2.6.5.1. Tadalafilin farklı sentez yöntemleri

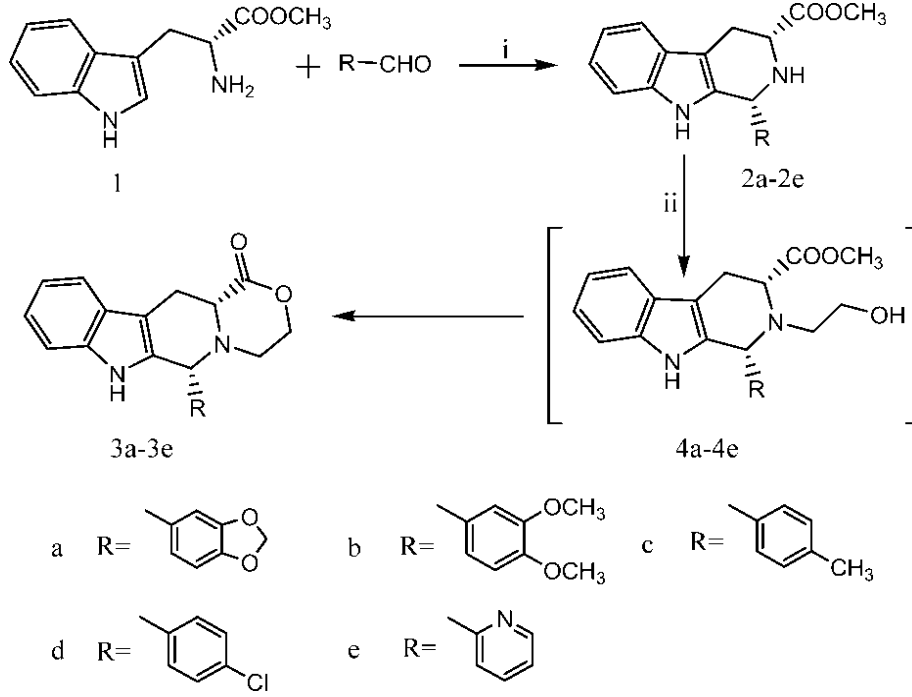
Seçiciliği ile dikkat çeken tadalafilin günümüzde pek çok farklı sentez yöntemleri vardır. Geliştirilen her tadalafil sentezindeki basamaklar farklılık gösterir.

Sentez yöntemlerinden bir tanesi Şekil 2.4.'te gösterilmiştir [6].



Şekil 2.4. Tadalafil sentez yöntemi

Başka bir tadalafil sentezi Şekil 2.5.'te verilmiştir [38].



Şekil 2.5. Tadalafil sentezi (Reaktifler: i, TFA, CH₂Cl₂, CH₃OH, rt, 4 gün; ii, oksiran, CH₃OH, rt, 5 – 7 gün)

2.7. Fosfodiesteraz-6 İzoenzimi

PDE-6 retina fotoreseptörlerinde siklik GMP fosfodiesteraz (PDE), fototransdüksiyonda anahtar bir enzimdir [39]. Fotoreseptöre özgü olduğu düşünülen ışığa duyarlı PDE-6'nın, hem RNA hem de protein seviyelerinde, meme kanseri hücre çizgileri ve hastaların meme kanseri dokularında spesifik olduğu yapılan çalışmalarda ortaya çıkmıştır [40].

PDE-6 hem yapısal olarak hem de biyokimyasal özelliklerinde PDE-5 ile bazı benzerlikleri paylaşmaktadır. İki enzimde katalitik bölgede bir substrat olarak cAMP yerine cGMP'yi tercih eder. PDE-5 ve PDE-6 katalitik mekanizmaları, muhtemelen yapısal bir rol oynayan çinko iyonları için yüksek afinite bağlanma bölgeleri de dahil olmak üzere iki değerli katyonlar için bir gereksinimi paylaşır. Her ikisinde

düzenleyici GAF alanlarında yüksek afiniteye sahip cGMP'yi bağlar. PDE-5 seçici farmakolojik inhibitör, PDE-6 katalizini kuvvetle inhibe eder [41].

Yapısal olarak ilişkili olduğundan, PDE-5'i inhibe eden bileşikler PDE-6 ile etkileşim halindedir. Zaprinast ve dipiridamol PDE-5 gibi potansiyel olarak PDE-6'yı inhibe eder. İnhibitörleri; sildenafil, zaprinast, dipiridamol, papaverin'dir [15].

PDE-6A/B retinanın fotoreseptör katmanındaki çomak hücreler, beyin epifizinde bulunur. PDE-6C retinanın fotoreseptör katmanındaki konik hücreler ve beyin epifizinde bulunur [3].

2.8. Fosfodiesteraz-7 İzoenzimi

PDE-7 bir cAMP'ye spesifik enzimdir. PDE-7A ve PDE-7B olmak üzere 2 olarak gen tanımlanmıştır. PDE-7A 3 izoforma sahiptir. PDE-7A1 esas olarak T hücreleri ve beyinde bulunur. PDE-7A2 ise kas hücreleri dahil olmak üzere bir dizi hücre tipinde ve PDE-7A3 cd⁴⁺ T hücrelerini aktive eder [18].

PDE-7B Sıçanların beyin, kalp, karaciğer, iskelet kası, pankreas, testisinde mRNA bulunmuştur. PDE-7B3 ifadesi kalp ile sınırlandırılmıştır. PDE-7B2 ise sadece testiste bulunmuştur, PDE-7B1 çoklu dokularda ifade edilir. İnhibitörleri; BRL 50481, IC242'dir [3].

2.9. Fosfodiesteraz-8 İzoenzimi

PDE-8, PDE-4'ten 40 kat daha fazla yüksek afiniteye sahip cAMP için çok spesifiktir. Rolipram ve seçici olmayan PDE inhibitörü IBMX' e duyarsızdır. Bilinen tek PDE-8 inhibitörü, bileşik PF049573225'tir [13].

PDE-8 ailesinin iki üyesi yakın zamanda tanımlanmıştır. Bu iki izozim arasındaki önemli fark doku dağılımlarıdır. Northern analizi ile, PDE-8B'nin beyin dokusunda daha düşük seviyelerde bulunmasına rağmen, tiroid bezinde bulunur. PDE-8A'nın

birçok insan dokusunda yaygın şekilde ifade edildiği gösterilmiştir. Bu enzimin fonksiyonel etkileri açısından az şey bilinmektedir [42].

2.10. Fosfodiesteraz-9 İzoenzimi

PDE-9, 1998 yılında aynı anda ve bağımsız olarak, Soderling ve ark. ile Hayashi ve ark. tarafından tanımlanmıştır [15].

PDE-9, beyin, dalak, iskelet kasları, idrar yolu ve korpus kavernozumda olduğu ifade edilen yeni tanımlanmış bir izozimdir. PDE-9 inhibitörleri, Alzheimer hastalığının tedavisi için potansiyel tedavi edici olarak büyük ilgi görmüştür. PDE-9 inhibitörlerinin idrar dokusunda hücre içi cGMP seviyelerinin artırılması yoluyla idrar yolu yanma tedavisinde etkili olduğu umut olmuştur. PDE-9 inhibitörü olarak tarif edilen BAY 73-6691'in, insan ve murin PDE-9 için yüksek afiniteye ve diğer PDE'lere karşı in vitro yüksek seçiciliğe sahip olduğu bulundu [43].

2.11. Fosfodiesteraz-10 İzoenzimi

PDE-10 yalnızca bir gen üyesi olan PDE-10A vardır. PDE-10A proteini, öngörülen transmembran alanları olmayan tek bir amino asit zincirinden oluşur [44]. PDE-10 inhibitörlerinin şizofreni ve Parkinson hastalığı için geliştirilme aşamasında oldukları bildirilmektedir [3].

PDE-3 ailesinin aksine, bu aile cAMP için cGMP'den daha yüksek bir afiniteye sahiptir. Genellikle papaverine ve daha az oranda zaprinast ve IBMX'e duyarlıdır. TP-10 ve MP-10 kuvvetli spesifik PDE-10 inhibitörleridir [13]. Testis, tiroid bezi beyin (putamen ve kaudal sinir) de bulunur [45].

2.12. Fosfodiesteraz-11 İzoenzimi

PDE-11, standart adlandırmaya göre PDE11A olarak bilinir. Dört ekleme varyantı (PDE11A1, PDE11A2, PDE11A3 ve PDE11A4) bulunan tek bir gen vardır.

İncelenen tüm memeli türlerinde görünmektedir. PDE-11A, hem cAMP hem de cGMP'ye etki eden çift substratlı bir PDE'dir. Birkaç PDE-11 inhibitörü tanımlanmış ve test edilmiştir. Seçici olmayan inhibitörlerin IBMX, zaprinast ve dipiridamolün PDE-11'i inhibe ettiği belgelenmiştir. Dokulara dağılımı iskelet kası, kalp, korpus koversiyum, prostat, testiste bulunur [46].

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

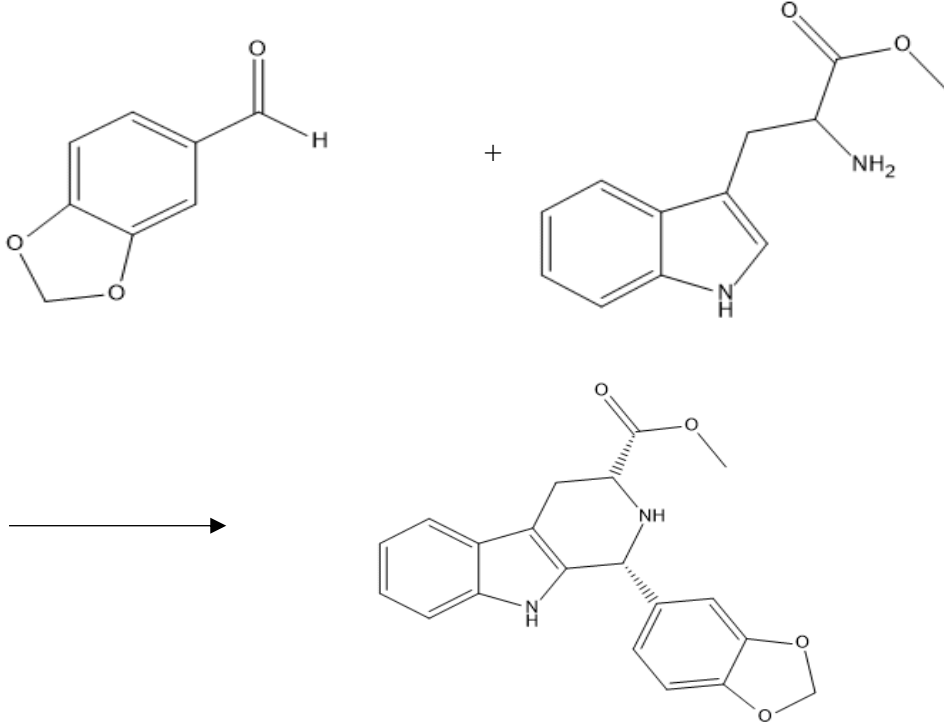
Çalışmada kullanılan çözücü uzaklaştırma işlemlerinde HEIDOLPH Labaroto 4000 marka döner buharlaştırıcı cihaz kullanıldı. Isı kaynağı olarak IKA Labortechnik markalı cihaz kullanıldı. Tartımlarda kullanılan hassas terazinin adı OHAUS Analytical'dır. ¹H NMR, ¹³C NMR spekturumları ölçümünde VARIAN marka Infinity Plus model 300 MHz'lik NMR cihazı kullanıldı.

Kullanılan çözücü ve kimyasallar Sigma, Merck, Fluka'dan satın alınmıştır.

3.2. Sonuç Alınan Deneysel Çalışmalar

3.2.1. D-triptofan metil esterinin halkalaşması

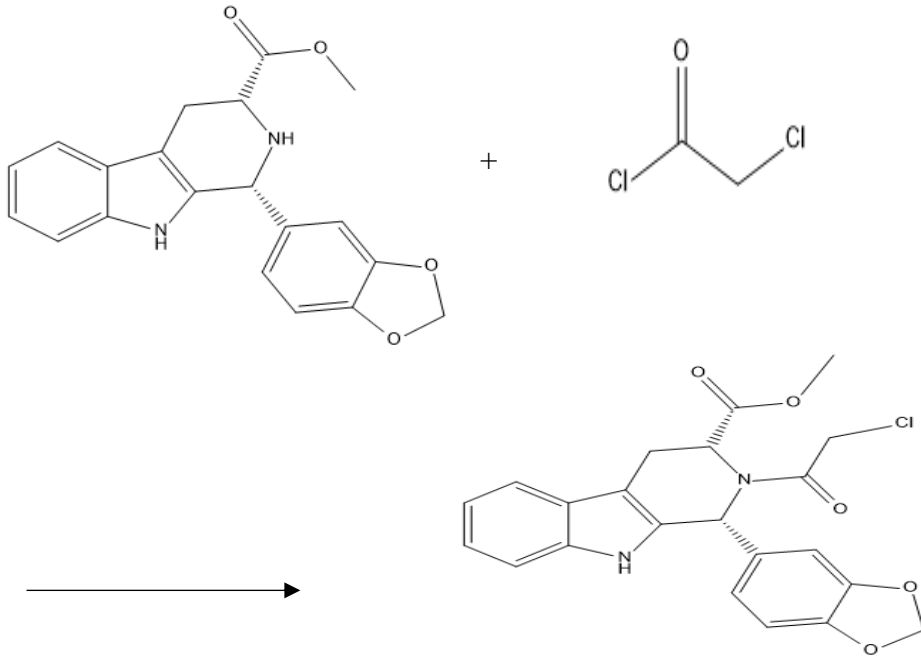
İlk önce 25 ml'lik reaksiyon balonuna 1 mmol D-triptofan metil ester ve 1 mmol piperonal alındı. Daha sonra 1: 20 oranında nitrometan eklendi. Reaksiyon manyetik karıştırıcı ile birlikte önceden 90°C'ye ayarlanan yağ banyosuna yerleştirildi. 24 saat reflaks edildi. Reaksiyon sonunda karışım soğutuldu. Karışımın katı kısmı balondan ayrılıp kurumaya bırakıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. D-triptofan metil esterinin halkalaşması

3.2.2. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi

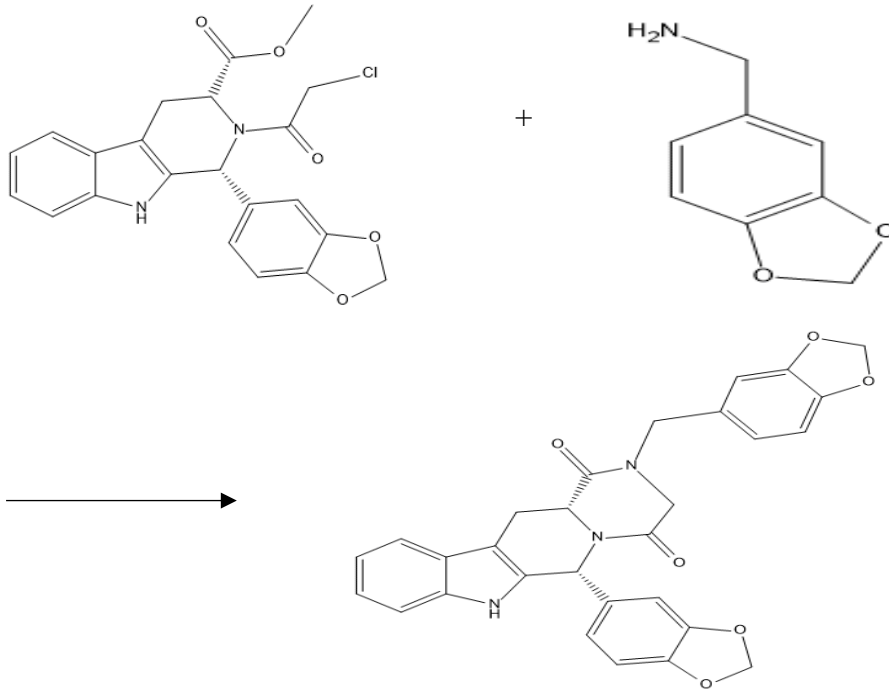
Bir önceki basamakta oluşan maddeden 1 mmol reaksiyon balonuna alındı. İçine 10 ml CH_2Cl_2 ve 2 mmol trietilamin reaksiyon balonuna eklendi. Sıcaklık buz banyosu yardımıyla 0°C 'ye düşürüldü. Son olarak 1 mmol kloroasetil klorür yavaş yavaş eklendi. Ve reaksiyon 30 dakika karışmaya bırakıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım ayırma hunisine alınıp CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı. Ve organik fazın çözücüsü evaporatörde buhaşlaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi

3.2.3. Pirepon türevli tadalafil sentezi

İlk olarak 50 ml'lik reaksiyon balonuna 1 mmol asetilli ürün ve 1 mmol piperonilamin konuldu. Daha sonra 2 mmol tri etilamin ve çözücü olarak metanol 1:10 oranında eklendi. Reaksiyon yağ banyosunda manyetik karıştırıcı ile 1 gece reflaks edildi. Reaksiyon sonlandığında balon buz banyosuna konuldu. Çöken kısım süzüldü, eterle yıkandı ve kurumaya bırakıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.3.'te verilmiştir.

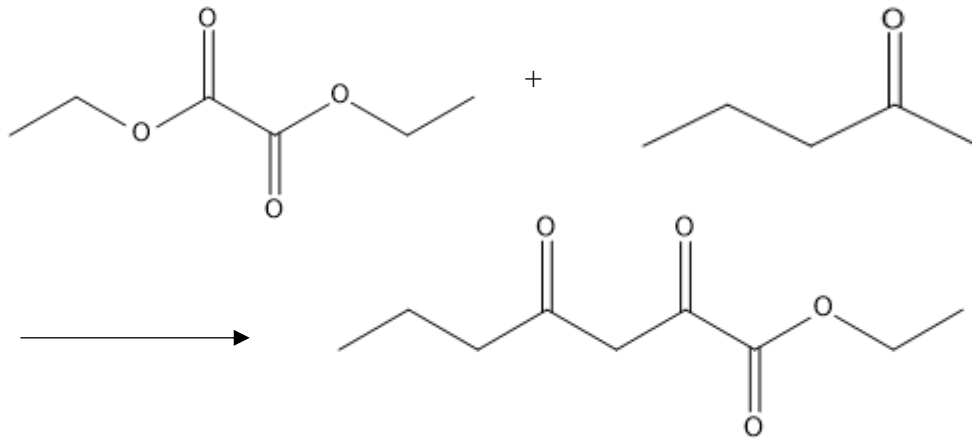


Şekil 3.3. Piperon türevli tadalafil sentezi

3.3. Sonuç Alınamayan Deneysel Çalışmalar

3.3.1. Etil 2,4-dioksoheptanoat sentezi

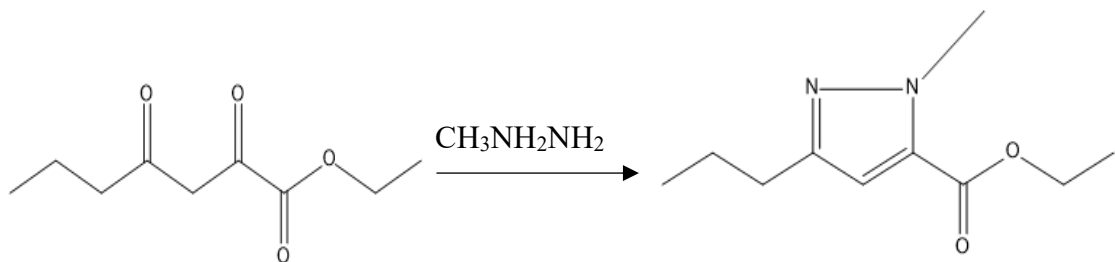
Sodyum (11,5 g, 0.5 mol), 0°C'ye kadar soğutulan 180 ml susuz etanolde çözüldü. 0°C'de karışan çözeltiliye 2-Pentanon (53 ml, 46.06 g, 0.5 ml) yavaşça eklendi. 20 dakika sonra dietil okzalat (68 ml, 73.03 g, 0.5 mol) 1,5 saat boyunca yavaş yavaş eklendi. 20 dakika sonra çözeltili oda sıcaklığında 36 saat karışması için bırakıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra etanol evaporatörde uzaklaştırıldı. Kalıntı dietil eter ile alındı, soğuk 2N HCl (300 ml) yavaşça eklendi. Faz ayırımından sonra sulu faz MTBE ile ekstraksiyon yapıldı. Organik fazlar birleştirilip su ve tuzlu su ile yıkandı, MgSO₄ kurutuldu, çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Etil 2,4-dioksoheptanoat sentezi

3.3.2. Etil 2,4-dioksoheptanoat'a metil hidrazin katılması

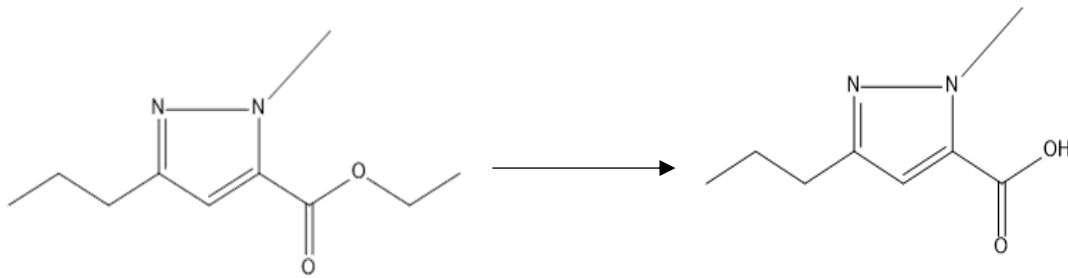
Etil 2,4-dioksoheptanoat (88.88 g, 0.47 mol) reaksiyon balonuna alındı ve üzerine 710 ml asetik asit, 710 ml metoksietanol eklendi. Daha sonra metil hidrazin (0.95 mol) 10 dakika aralıkla üç parça şekilde eklendi. 105°C'de 3,5 saat reflaks edildi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra soğumaya bırakıldı, soğuduktan sonra çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı, kalan kısım etil asetat ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz $MgSO_4$ kurutuldu, çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Kromatografik silika tarafından 8:2 hegzan/etil asetat ile elde edilen ürün saflaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.5.'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Etil 2,4-dioksoheptanoat'a metil hidrazin katılma tepkimesi

3.3.3. Metil hidrazinli bileşğin 6N HCl ile tepkimesi

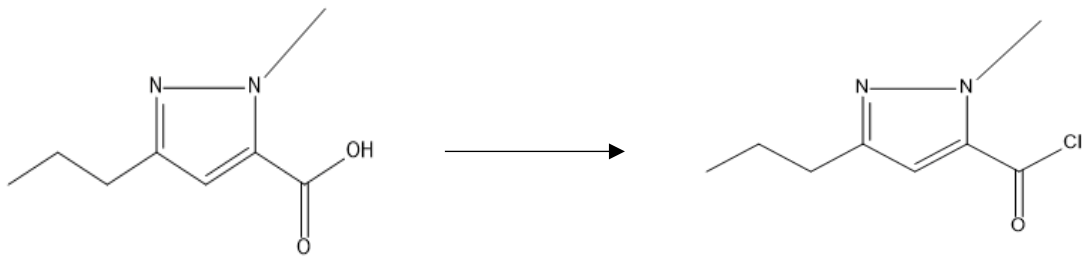
1 mmol metil hidrazinli bileşiğe 11 ml 6N HCl eklendi ve bir gece reflaks edildi. Reaksiyon soğuduktan sonra su evaporatörde uzaklaştırıldı. Kalıntı ilk metanol ile yıkanıp metanol uzaklaştırıldı. Daha sonra etil asetat ile yıkandı ve etil asetat uzaklaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.6.'da verilmiştir.



Şekil 3.6. 1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karboksilik asit sentezi

3.3.4. Oluşan karboksilik asitin SOCl₂ ile tepkimesi

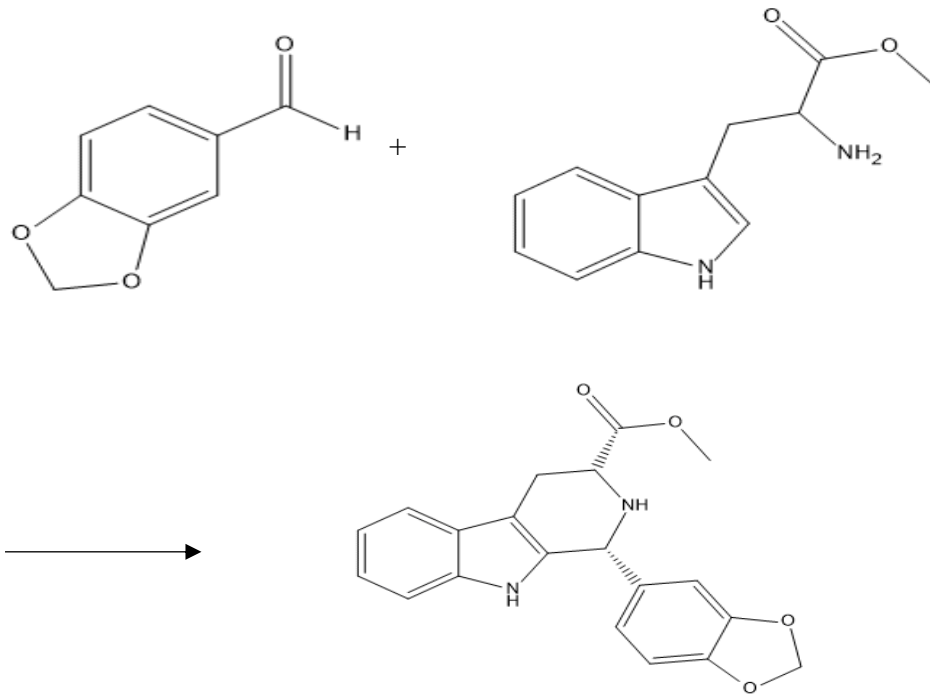
0.5 gram 1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karboksilik asit'e 1.5 ml SOCl₂ ve 1 damla DMF eklenerek 4 saat reflaks edildi. Reaksiyon soğuduktan sonra SOCl₂ evaporatör yardımıyla uzaklaştırıldı. Havayla temas etmemesi için ağzı sıkıca kapatıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.7.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. 1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karbonil klorür

3.3.5. D-triptofan metil esterinin halkalaşması

İlk önce 25 ml'lik reaksiyon balonuna 1 mmol D-triptofan metil ester ve 1 mmol piperonal alındı. Daha sonra 1: 20 oranında nitrometan eklendi. Reaksiyon manyetik karıştırıcı ile birlikte önceden 90°C'ye ayarlanan yağ banyosuna yerleştirildi. 24 saat reflaks edildi. Reaksiyon sonunda karışım soğutuldu. Karışımın katı kısmı balondan ayrılıp kurumaya bırakıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.8.'de verilmiştir.

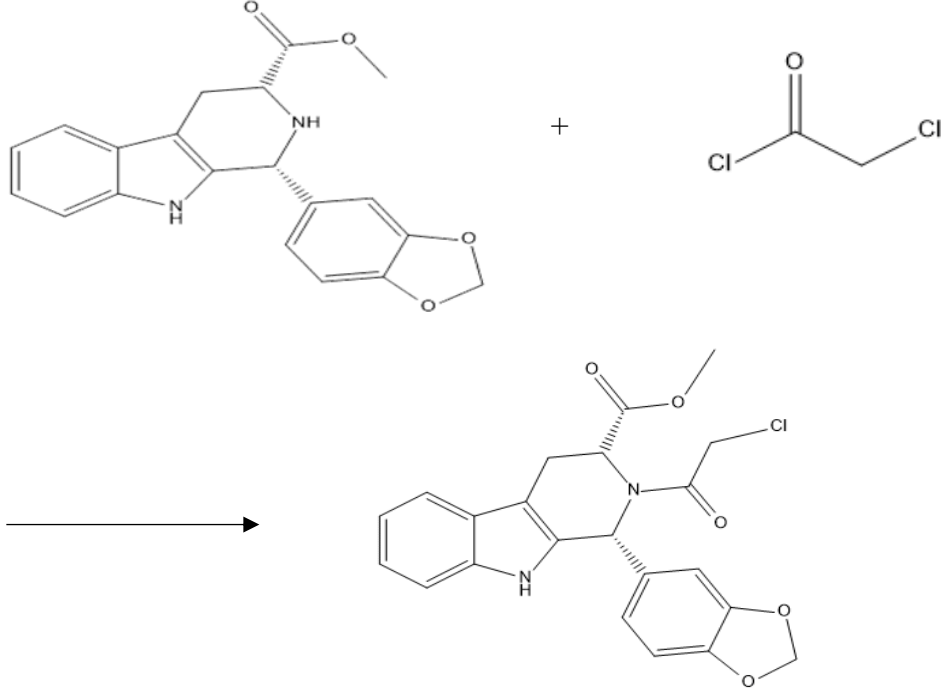


Şekil 3.8. D-triptofan metil esterinin halkalaşması

3.3.6. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi

Bir önceki basamakta oluşan maddeden 1 mmol reaksiyon balonuna alındı. İçine 10 ml CH_2Cl_2 ve 2 mmol trietilamin reaksiyon balonuna eklendi. Sıcaklık buz banyosu yardımıyla 0°C'ye düşürüldü. Son olarak 1 mmol kloroasetil klorür yavaş yavaş eklendi. Ve reaksiyon 30 dakika karışmaya bırakıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım ayırma hunisine alınıp CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı. Ve organik

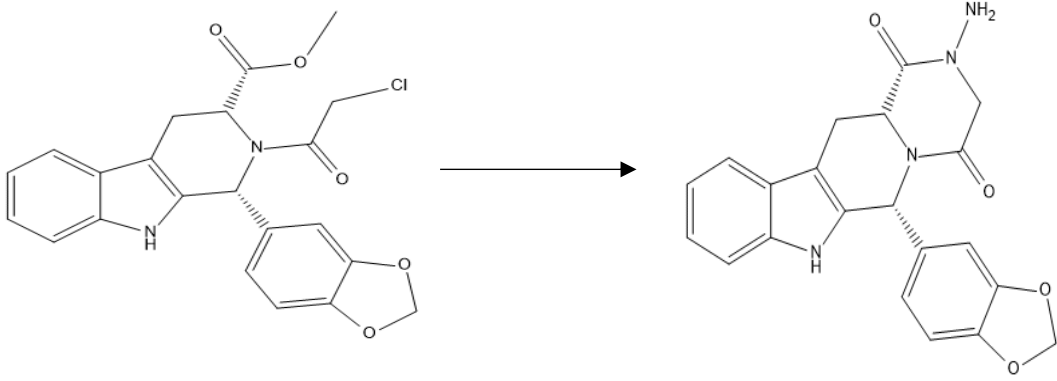
fazın çözücüsü evaporatörde buhaşlaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.9.'da verilmiştir.



Şekil 3.9. Oluşan bileşiğin asetillendirilmesi

3.3.7. Asetilli ürün ile hidrazin tepkimesi

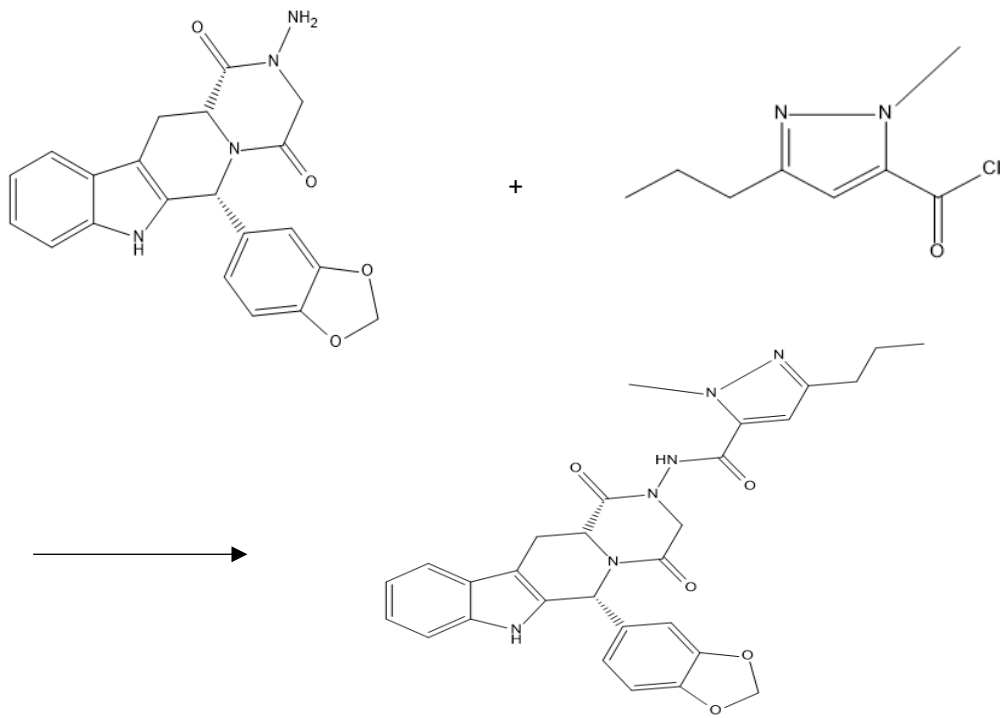
İlk olarak 50 ml'lik reaksiyon balonuna 1 mmol asetilli ürün ve 1 mmol hidrazin konuldu. Çözücü olarak metanol 1:10 oranında eklendi. Reaksiyon yağ banyosunda manyetik karıştırıcı ile 1 gece reflaks edildi. Reaksiyon sonlandığında balon buz banyosuna konuldu. Çöken kısım süzüldü. Reaksiyon şeması Şekil 3.10.'da verilmiştir.



Şekil 3.10. Asetilli ürün ile hidrazin tepkimesi

3.3.8. N-pirazol türevli tadalafil türevi sentezi

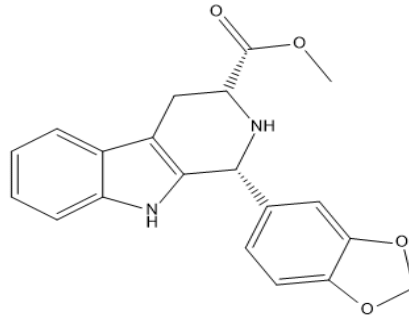
İlk olarak 50 ml'lik reaksiyon balonuna 1 mmol 1-metil-3-propil-1H-pirazol-5-karbonil klorür ve 1 mmol Şekil 3.10'da sentezlenen ürün konuldu. İçine 10 ml CH_2Cl_2 ve 2 mmol trietilamin reaksiyon balonuna eklendi. Sıcaklık buz banyosu yardımıyla 0°C 'ye düşürüldü. Ve reaksiyon 1 saat karışmaya bırakıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım ayırma hunisine alınıp CH_2Cl_2 ile ekstraksiyon yapıldı. Ve organik fazın çözücüsü evaporatörde buhaşlaştırıldı. Reaksiyon şeması Şekil 3.11.'de verilmiştir.



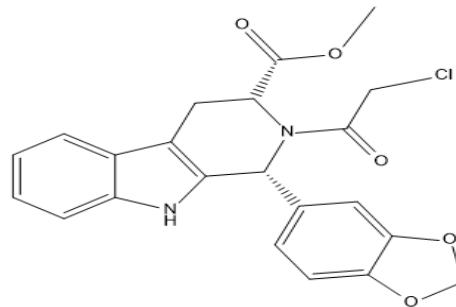
Şekil 3.11. N-pirazol türevli tadalafil sentezi

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Spektral Datalar

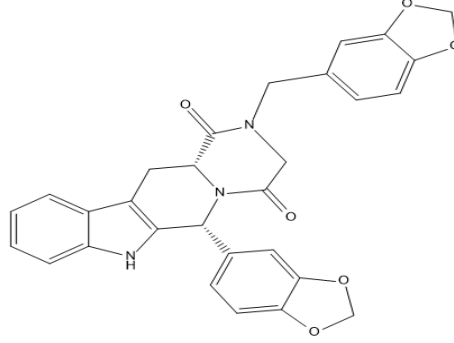


(1R,3R)-metil 1-(benzo [1,3] dioksol-6-il)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-prido[3,4b] indol-3-karboksilat: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ : 10.84 (1H, s), 7,55 (1H, d), 7.30 (1H, d), 7.03 (4H, m), 6.96 (1H, s), 6.10 (2H, s), 4.76 (1H, s), 3.85 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ : 21.8, 52.2, 52.6, 52.7, 101.4, 107.8, 110.3, 111.3, 118.8, 120.0, 122.8, 123.3, 126.5, 129.8, 132.9, 136.6, 147.6, 147.8, 167.2, 170.3. Spektrumlar ek 1’de verilmiştir.



(1R,3R)- metil 1-(benzo [1,3] dioksol-5-il)- 2 -(2-kloroasetil)- 2,3,4,9-tetrahidro-1H-prido [3,4b] indol-3-karboksilat: ^1H NMR (DMSO, 300 MHz) δ : 10.84 (1H, s), 7,54 (1H, d), 7.51 (1H, d), 7.28-7.01 (2H, m), 6.80 (2H, t), 6.62 (1H, s), 5.94 (2H, d), 5.19 (1H, d), 4.83 (1H, d), 4.44 (2H, d), 3.15 (2H, s), 3.02 (3H, t); ^{13}C NMR (DMSO, 75

MHz) δ : 21.6, 43.9, 51.9, 52.5, 52.9, 55.6, 101.7, 106.9, 108.3, 109.7, 111.9, 118.8, 119.7, 122.2, 123.0, 126.4, 130.5, 134.2, 137.0, 147.3, 147.6, 167.4, 171.1. Spektrumlar ek 2’de verilmiştir.



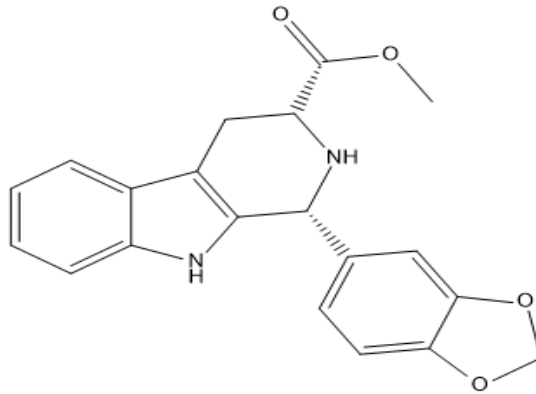
Piperon türevli tadalafil: ^1H NMR (DMSO, 300 MHz) δ : 11.08 (1H, s), 7.54 (1H, d), 7.30 (1H, d), 7.05-6.98 (2H, m), 6.86 (3H, d), 6.74 (3H, d), 6.17 (1H, s), 5.97-5.90 (4H, d), 4.63 (1H, d), 4.40 (2H, m), 4.15 (2H, t), 3.15 (1H, s); ^{13}C NMR (DMSO, 75 MHz) δ : 23.2, 31.3, 46.3, 48.8, 50.0, 55.5, 56.0, 101.7, 105.2, 107.4, 108.7, 108.9, 109.0, 112.0, 118.8, 119.6, 121.9, 122.1, 126.4, 130.8, 134.5, 136.7, 137.4, 146.8, 147.3, 147.8, 148.1, 167.3, 167.7. Spektrumlar ek 3’te verilmiştir.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

ED tedavisinde kullanılan PDE-5 inhibitörlerinden tadalafil; sildenafil ve vardenafille göre yan etkisinin az olması, etki süresinin uzun olması, seçiciliğinden dolayı tadalafil türevlerinin sentezine karşı ilgiyi arttırmıştır.

Yapılan araştırmalar ve bulgular sonucunda tadalafilin sildenafille göre kalp krizi riskinin daha az olduğu, PDE-6'yı daha iyi inhibe ettiği için ilacı kullananlarda görme ile ilgili olan problemlere neden olmamaktadır. Kanser ilacıyla kullanıldığında ilacın etkisini azaltıcı bir yan etkisi bulunmamıştır.

Bu çalışmayla, aldehit ve D-triptofan metil esterinden yola çıkılarak literatürde bulunan sentez yöntemlerine göre yeni bir tadalafil türevi sentezi amaçlanmıştır.



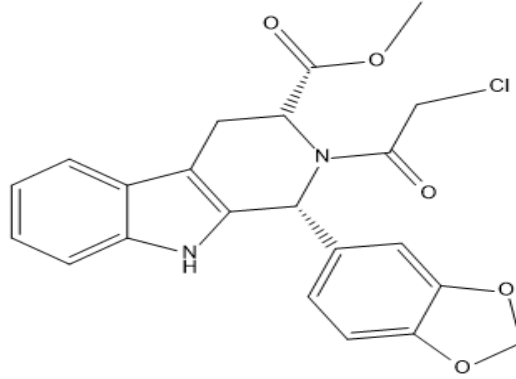
Şekil 5.1. Siklizasyon Reaksiyonu Ürünü

D-triptofan metil esteri ve piperonal'ın reflaks edilmesiyle Şekil 5.1.'deki ürün elde edilmiştir. Bu molekülün ¹H NMR spektrumuna bakıldığında 10.84 ppm'de D-triptofan halkasındaki -NH piki görülmektedir. 4.76 ppm'de gelen singlet halkalaşmanın olduğunu gösterir. ¹³C NMR spektrumuna bakıldığında molekülde bulunan 20 karbon atomu gözlenmektedir. 169.334 ppm'de karbonil grubu bağlı olan

karbon atomunu gösterir. Bu verilere bakarak tepkimenin gerçekleştiğini söyleyebiliriz. Oluşan ürün %96 verimle elde edildi.

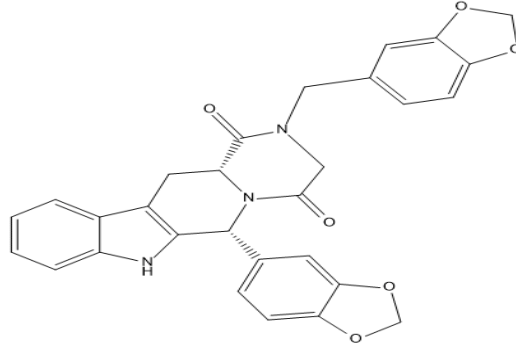
Bu reaksiyonda çözücü olarak nitrometan kullanıldı ve katalizör kullanılmadan ürün elde edildi. Nitrometanın miktarı oluşacak ürünün konformasyonu için önemlidir.

Bu reaksiyonu araştırmacılar farklı yöntemlerle gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyonu gerçekleştirirken asit veya baz katalizör kullanmışlardır. Oluşan ürünün katalizörsüz çalışıldığında daha yüksek verim ve seçiciliğe sahip olduğu anlaşılmıştır.



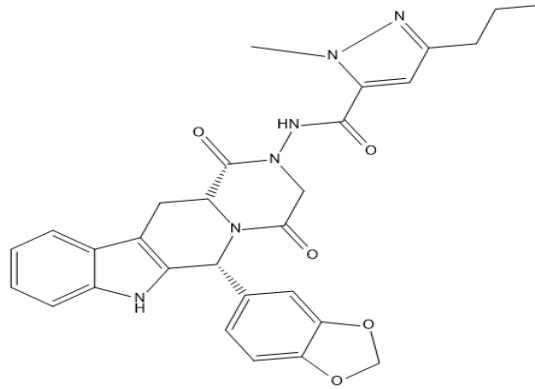
Şekil 5.2. Asetilleme Reaksiyonu Ürünü

(1R,3R)-metil 1-(benzo [1,3] dioksol-6-il)-2,3,4,9-tetrahidro-1H-prido[3,4b] indol-3-karboksilat bileşiğın buz banyosunda kloroasetil klorür verilerek asetilleme reaksiyonu sonucunda Şekil 5.2.'deki ürün elde edilmiştir. ^1H NMR spektrumunda 3.15 ppm'de gelen pik klor atomuna bağlı $-\text{CH}_2$ 'yi belirtir. ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında molekülde 22 tane karbon atomu olduğunu göstermektedir. 171.105 ppm ve 167.445 ppm'de gelen pikler molekülde iki tane karbonil grubu olduğunu gösterir. Bu verilere bakılarak reaksiyonun gerçekleştiğini söyleyebiliriz. Bu reaksiyon %94 verimle gerçekleşmiştir. Reaksiyonda dikkat edilmesi gereken nokta ise, kloroasetil klorür damlatırken bunu yavaş bir şekilde yapılması gerekir. Bu şekilde yapıldığında NMR spektrumunda oluşan madde yüksek safsızlıkta elde edilir.



Şekil 5.3. Piperon türevli tadalafil

(1R,3R)- metil 1-(benzo [1,3] dioksol-5-il)- 2 -(2-kloroasetil)- 2,3,4,9-tetrahidro-1H-rido [3,4b] indol-3-karboksilat'ın piperonilamin ile reflaks edilmesiyle tadalafil türevi sentezlendi. Oluşan safsızlıklar eter ile temizlendi. ^1H NMR spektrumunda 4.40 ppm'de gelen pik benzen halkasına bağlı $-\text{CH}_2$ ye aittir. ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında molekülde 29 karbon olduğunu göstermektedir. Moleküldeki metoksi grubunun ayrılıp yerine piperonil aminin bağlandığını gösterir. Tadalafil türevi %95 verimle elde edilmiştir.



Şekil 5.4. N-pirazol türevli tadalafil

Şekil 5.4.' te yapısı gösterilen molekül bu tez çalışması boyunca farklı yollar denenmesine rağmen sentezlenememiştir. Molekülü oluşturan ara ürünler yüksek verimde ve yüksek safsızlıkta elde edilmiştir. Son kademede elde edilen ürünün ^{13}C NMR spektrumunda beklenen karbon sayısının iki katı karbon gözlemlenmiştir. Buradan yola çıkarak reaksiyonun diğer serbest olan $-\text{NH}$ ile reaksiyona girip iki

farklı ürün olduğu öne sürülmüştür. Kromotografik silika tarafından hegzan/etil asetat kullanılarak olşan iki ürün ayrılmaya çalışılmıştır fakat bu ayırım işlemi başarılı sonuç vermemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Tsertsvadze, A., Yazdi, F., Fink, H. A., Macdonald, R., Wilt, T. J., Soares-Weiser, K., ... & Sampson, M. Diagnosis and treatment of erectile dysfunction. Evidence report/technology assessment, (171), 2009.
- [2] Kulaksizođlu, H., Özkara, H., Peřkirciođlu, L., Akand, M., Fosfodiesteraz-5 İnhibitörleri. Güncelleme Serileri,1(2), 2012.
- [3] Bender, A.T., & Beavo, J.A., Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases: Molecular Regulation To Clinical Use. Pharmacological reviews, 58(3), 488-520, 2006.
- [4] İikiz Gediz, E.,Sıçanlarda Karragenin ile Oluşan Nosisepsiyonunda Fosfodiesteraz 5 İnhibitörleri Sildenafil ve Vardenafil Antinosiseptif Etkilerinin Karşılaştırılması: Nitrik Oksid-Sgmp Yolağı Ve Klasiyum'un Rolü, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri, Yüksek Lisans Tezi, 2011.
- [5] Çimen, S., Erektıl disfonksiyon hastalarında fosfodiesteraz tip 5 inhibitörleri ile tedavide sonuçların ve tedaviye hasta uyumunun değerlendirilmesi, Doctoral dissertation, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakóltesi, 2006.
- [6] Daugan, A. C. M. US 5859006, 1999.
- [7] Kacar, D., Farklı Fosfodiesteraz Tıp 5 Enzim İnhibitörlerinin İzole Sıçan Miyometriyum Kasılması Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakóltesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2014.
- [8] Uysal, B., Doksazosin ve Vardenafilin Organ Banyosu Modelinde Üreter Düz Kası Üzerine Olan Kasılma Gevşeme Cevaplarının Araştırılması. Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Üroloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2009.
- [9] Saçkes, Z., Yeni Tadalafil Türevlerinin Bazı İzoenzimler Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 2018.
- [10] Victoria Boswell-Smith, Domenico Spina & *Clive P. Page,” Phosphodiesterase inhibitors”, Sackler Institute of Pulmonary Pharmacology, Kings College London School of Biomedical Health and Life Sciences, 147, S252–S257, 2006.

- [11] Eardley, I., Ellis, P., Boolell, M., & Wulff, M., Onset and Duration of Action of Sildenafil For The Treatment Of Erectile Dysfunction. *British journal of clinical pharmacology*, 53, 61S-65S, 2002.
- [12] Schellack, N., Agoro, A., A review of phosphodiesterase type 5 inhibitors. *South African Family Practice*, 56.2: 96-101, 2014.
- [13] Lugnier, C., PDE inhibitors: a new approach to treat metabolic syndrome?. *Current opinion in pharmacology*, 11(6), 698-706, 2011.
- [14] Lugnier, C., Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacology & therapeutics*, 109(3), 366-398, 2006.
- [15] Tuğrak, M., & Küçüköğlü, K., Fosfodiesteraz Enzimleri ve İnhibitörleri. *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 17-35, 2016.
- [16] Abusnina, A., & Lugnier, C., Therapeutic potentials of natural compounds acting on cyclic nucleotide phosphodiesterase families. *Cellular signalling*, 39, 55-65, 2017.
- [17] Essayan, D. M., Cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108(5), 671-680, 2001.
- [18] Chung, K. F., Phosphodiesterase inhibitors in airways disease. *European journal of pharmacology*, 533(1-3), 110-117, 2006.
- [19] Tatlıcioğlu, T., KOAH'da selektif fosfodiesteraz-4(PDE-4) inhibitörleri, *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 56(4): 472-484, 2008.
- [20] Başar, M., & Bal, F., Erektıl Disfonksiyonun Medikal Tedavisinde Fosfodiesteraz Tip 5 İnhibitörlerinin Günümüzdeki Yeri. *Turk Urol Sem*, 1, 85-91, 2010.
- [21] Corbin, J.D., & Francis, S.H., Molecular Biology and Pharmacology of PDE-5 Inhibitor Therapy for Erectile Dysfunction. *Journal of andrology*, 24(S6), S38-S41, 2003.
- [22] Akkurt, A., Fosfodiesteraz-5 İnhibitörlerinin Renal İskemi Reperfüzyon Hasarına Etkisi Ve Bu Etkinin İskemi Modifiye Albumin Düzeyi İle Değerlendirilmesi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi , Üroloji Uzmanlık Tezi, 2014.
- [23] Çiftçi, H., & Yeni, E. PDE5 inhibitörlerinin ED tedavisinde kronik kullanımı. *ANDROLOJİ*, 85.

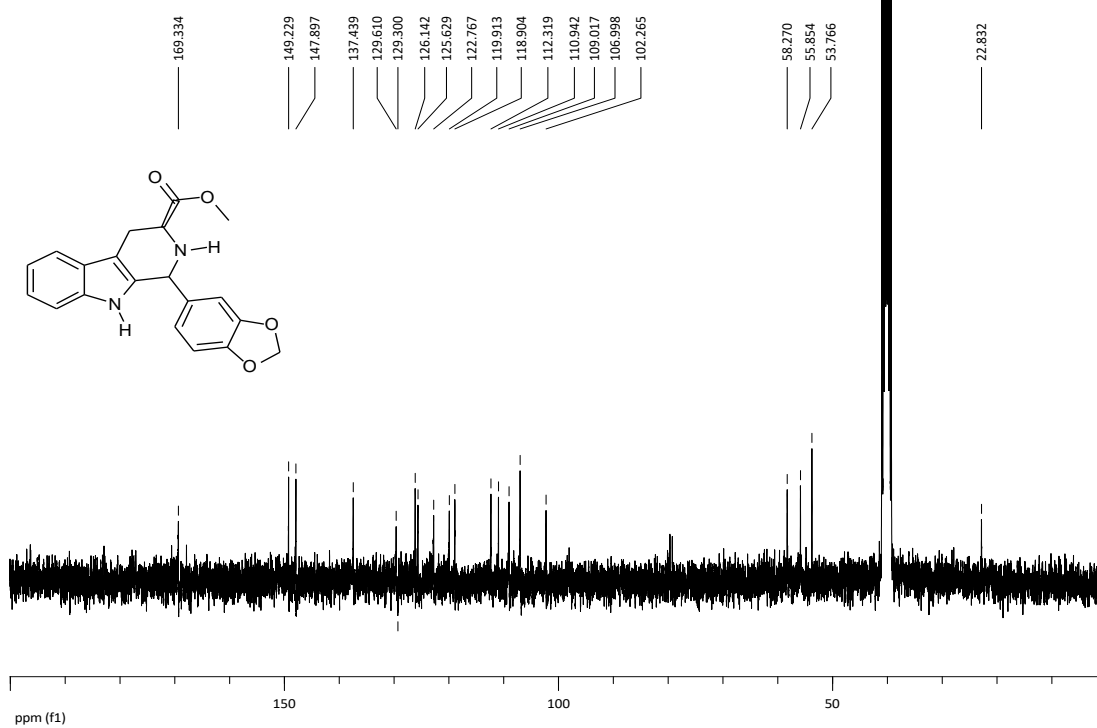
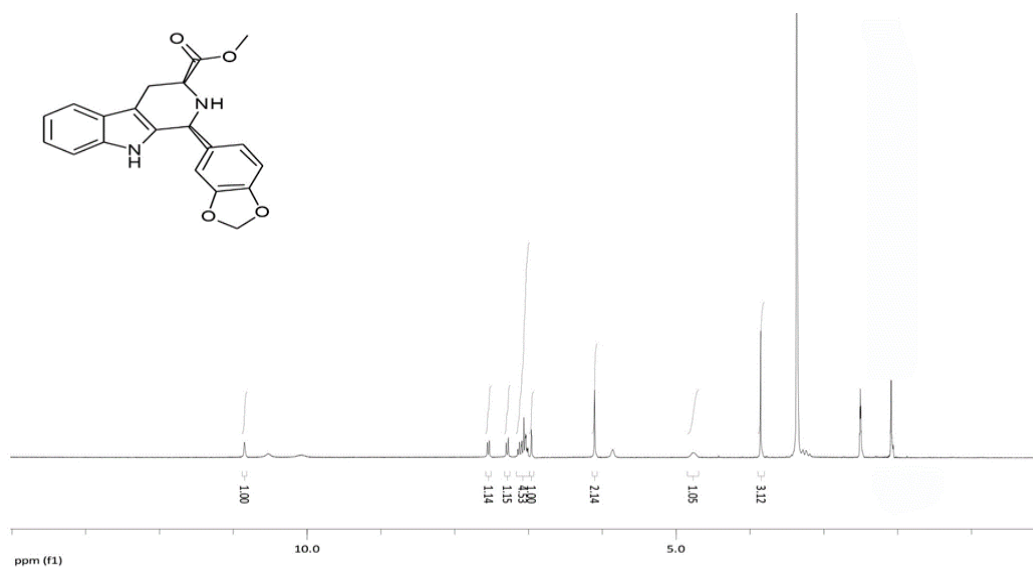
- [24] Akay, A., Erectile Dysfunction and Oral Pharmacotherapy in Elderly Population. Türkiye Clinic of Urology, Batman State Hospital, Batman, Turkey, 2011.
- [25] Halis, F., Tez Boşalmalı Olgularda Fosfodiesteraz Tip 5 İnhibitörlerinin Sertleşme Ve Boşalma Sürecine Etkileri: Çift-Kör, Plasebo Kontrollü Laboratuvar Çalışması , Uzmanlık Tezi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, 2008.
- [26] Hakky, T. S., & Jain, L., Current Use of Phosphodiesterase Inhibitors in Urology. Turkish journal of urology, 41(2), 88, 2015.
- [27] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sildenafil_citrate, Erişim Tarihi: 21/02/2019.
- [28] Ashour, A. E., Rahman, A. M., & Kassem, M. G., Vardenafil dihydrochloride. In Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology (Vol. 39, pp. 515-544), Academic Press, 2014.
- [29] Smith, W. B., Mccaslin, I. R., Gokce, A., Mandava, S. H., Trost, L., & Hellstrom, W. J., PDE5 inhibitors: considerations for preference and long-term adherence. International journal of clinical practice, 67(8), 768-780, 2013.
- [30] Hatzimouratidis, K., Amar, E., Eardley, I., Giuliano, F., Hatzichristou, D., Montorsi, F., ... & Wespes, E., Guidelines on male sexual dysfunction: erectile dysfunction and premature ejaculation. European urology, 57(5), 804-814, 2010.
- [31] Ünüş, İ., Bosentan, Teofilin ve Vardenafil'in Priapizm Tedavisinde Kullanımı, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2011.
- [32] Danişoğlu, ME., Sıçanlarda Eswl (Vücut Dışı şok Dalgası) Sonrası Oluşan Değişikliklerin Histopatolojik Olarak Ve Hsp 70 (Heat Shock Protein) Ekspresyonu Kullanılarak Değerlendirilmesi Ve Fosfodiesteraz Tip 5 İntibitörünün (Tadalafil) Rolü, Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa, 2011.
- [33] Wrishko, R. E., Dingemane, J., Yu, A., Darstein, C., Phillips, D. L., & Mitchell, M. I., Pharmacokinetic interaction between tadalafil and bosentan in healthy male subjects. The Journal of Clinical Pharmacology, 48(5), 610-618, 2008.
- [34] Koka, S., Das, A., Zhu, S. G., Durrant, D., Xi, L., & Kukreja, R. C. Long-acting phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy without interfering with chemotherapeutic effect. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 334(3), 1023-1030, 2010.

- [35] Oelke, M., Giuliano, F., Mirone, V., Xu, L., Cox, D., & Viktrup, L. Monotherapy with tadalafil or tamsulosin similarly improved lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia in an international, randomised, parallel, placebo-controlled clinical trial. *European urology*, 61(5), 917-925, 2012.
- [36] Kayiran, O., İskemi /Reperfüzyon Hasarının Önlenmesinde Tadalafil'in Etkisi (Deneysel Çalışma) Uzmanlık Tezi, Ankara Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Ankara, 2008.
- [37] Çerkez, C., Sıçan Sirtında Oluşturulan Random Paternli Cilt Flep Modelinde Tadalafil'in Flep Yaşayabilirliği Üzerine Olan Etkisinin Araştırılması (Deneysel Çalışma), Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2012.
- [38] Wang, L. T., Huang, H., Ye, Z. L., Wu, Y., & Wang, X. C. Synthesis of Tadalafil Analogues. *Synthetic communications*, 36(18), 2627-2632, 2006.
- [39] Kajimura, N., Yamazaki, M., Morikawa, K., Yamazaki, A., & Mayanagi, K., Three-dimensional structure of non-activated cGMP phosphodiesterase 6 and comparison of its image with those of activated forms. *Journal of structural biology*, 139(1), 27-38, 2002.
- [40] Dong, H., Claffey, K.P., Brocke, S., & Epstein, P.M., Expression of Phosphodiesterase 6 (PDE6) In Human Breast Cancer Cells. *SpringerPlus*, 2(1), 680, 2013.
- [41] Cote, R.H., Characteristics of Photoreceptor PDE (PDE6): Similarities And Differences To PDE5. *International Journal Of Impotence Research*, 16(S1), S28, 2004.
- [42] Pérez-Torres, S., Cortés, R., Tolnay, M., Probst, A., Palacios, J.M., Mengod, G., Alterations On Phosphodiesterase Type 7 And 8 Isozyme mRNA Expression In Alzheimer's Disease Brains Examined By In Situ Hybridization. *Experimental neurology*, 182(2), 2003.
- [43] Tajima, T., Shinoda, T., Urakawa, N., Shimizu, K., & Kaneda, T., Phosphodiesterase 9 (PDE9) Regulate Bovine Tracheal Smooth Muscle Relaxation. *Journal of Veterinary Medical Science*, 18-0011, 2018.
- [44] Narula, A., Laxman, S., & Beavo, J. A. Phosphodiesterase 10, 2007.
- [45] Gresser, U., Gleiter, C. H., Erectile dysfunction: comparison of efficacy and side effects of the PDE-5 inhibitors sildenafil, vardenafil and tadalafil-review of the literature. *European journal of medical research*, 7(10), 435-446, 2002.

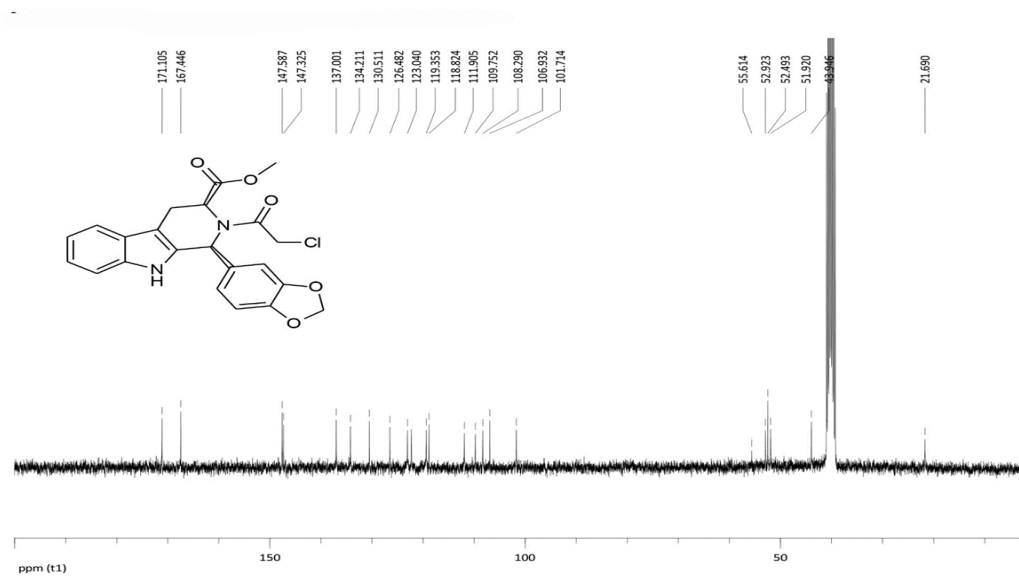
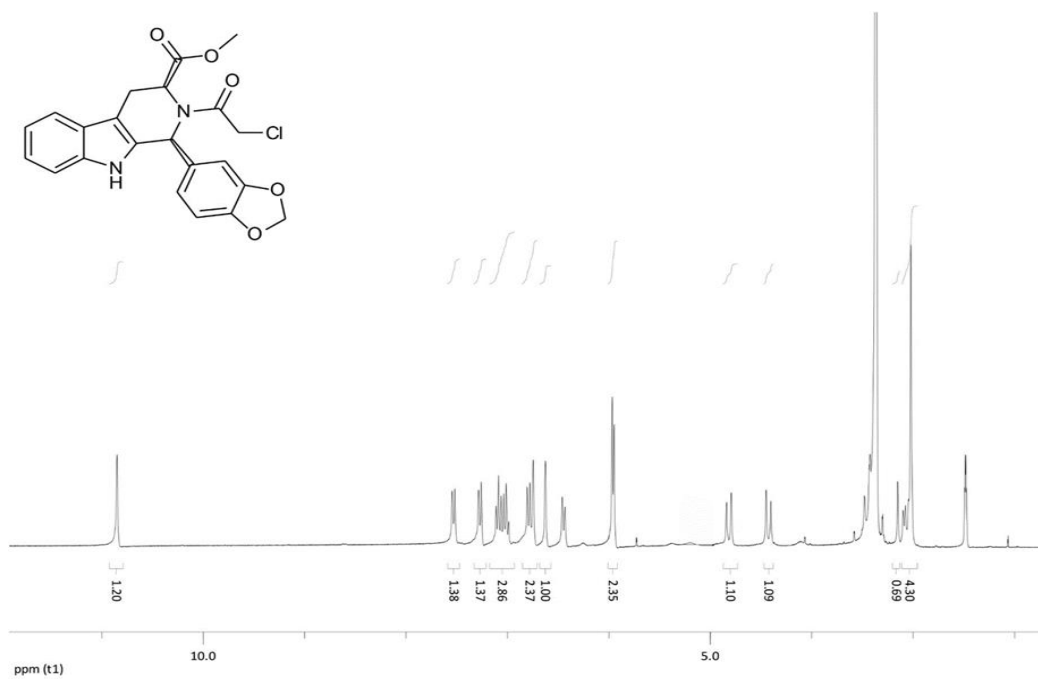
- [46] Makhlouf, A., Kshirsagar, A., & Niederberger, C., Phosphodiesterase 11: a brief review of structure, expression and function. *International journal of impotence research*, 18(6), 501, 2006.

EKLER

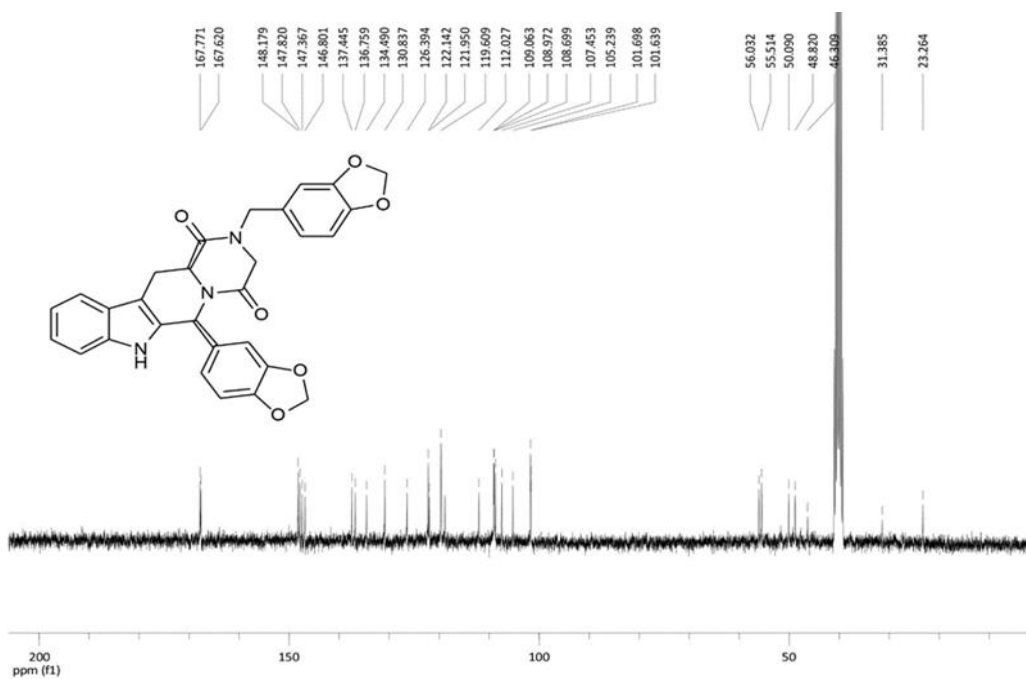
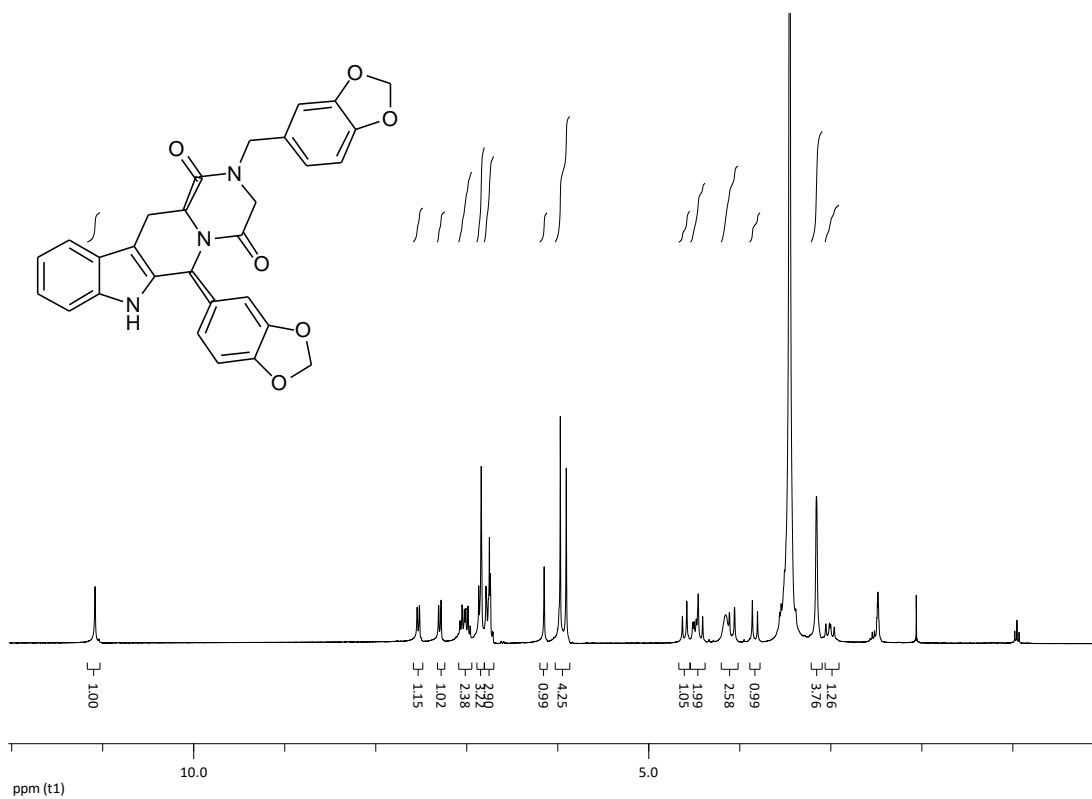
EK 1: D-triptofan metil esterinin halkalaşmasıyla oluşan ürünün ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları.



EK 2: Asetillendirilen ürünün ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları.



EK 3: Piperon türevli tadalafilin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları.



ÖZGEÇMİŞ

Kezban Cenan Ateş 1990 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Zonguldak'ta tamamladı. 2009 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü kazandı ve 2014 yılında mezun oldu. 2015 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.