

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

**KONDANSE 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ
VE L-/T-TİPİ KALSIYUM KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ecz. Hande AYGÜN CEVHER

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA
2019**

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

**KONDANSE 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ
VE L-/T-TİPİ KALSİYUM KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ecz. Hande AYGÜN CEVHER

**Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

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

**ANKARA
2019**

ONAY SAYFASI

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KONDANSE 1,4-DİHİDROPİRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE
L-/T-TİPİ KALSİYUM KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Öğrenci: Hande AYGÜN CEVHER

Danışman: Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ

Bu tez çalışması 06.09.2019 tarihinde jürimiz tarafından "Farmasötik Kimya Programı"nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Ayla BALKAN

Hacettepe Üniversitesi



Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Rahime ŞİMŞEK

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. İlkay YILDIZ

Ankara Üniversitesi



Üye:

Prof. Dr. Tijen ÖNKOL

Gazi Üniversitesi



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

09 Eylül 2019



Prof. Dr. Diclehan Orhan

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.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

10 /09/2019



Hande AYGÜN CEVHER

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 internetten 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 tezlere 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. Hande AYGÜN CEVHER

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, bilimsel bilgi ve deneyimlerimi benimle paylaşan, bu süreçte bana her zaman destek olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Miyase Gözde GÜNDÜZ'e,

Farmasötik kimya içerisinde yer almamı sağlayan Prof. Dr. Osman Cihat ŞAFAK'a,

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

Bileşiklerimin X-ışınları analizini yapan Prof. Dr. Muhammad Nawaz TAHİR'e,

Glutasyon-inkübasyon testlerimi gerçekleştiren Doç. Dr. Mustafa ÇELEBİER ve Uzm. Kim. Ozan KAPLAN'a,

Moleküler modelleme çalışmalarına yardımlarından dolayı David SCHALLER ve Prof. Dr. Gerhard WOLBER'e,

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,

Destek ve yardımlarını esirgemeyen Farmasötik Kimya Anabilim Dalı üyesi hocalarıma, araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve çalışanlarına,

Hayatımın her anında olduğu gibi bu süreçte de yanımda olan, desteklerini esirgemeyen aileme,

Tezimin başından sonuna kadar desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim değerli eşim İbrahim'e,

Teşekkür ederim.

ÖZET

Aygün Cevher, H., Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Sentezi ve L-/T-Tipi Kalsiyum Kanalları Üzerine Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2019. 1,4-Dihidropiridinler (DHP) farklı kalsiyum kanal alt tiplerinin önemli blokörleri olup; kardiyovasküler ve nörofizyolojik hastalıklara karşı büyük terapötik değere sahiptir. Bu tez kapsamında, kalsiyum kanallarının selektif veya kovalent inhibitörleri olarak on altı adet DHP temelli hekzahidrokinolin türevlerinin tasarımı ve sentezi bildirilmiştir. Bu bileşikler (**HM1-16**), 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, sübstitüe salisilaldehit, uygun alkil asetoasetat (benzil asetoasetat veya 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat) ve amonyum asetatın reaksiyonuyla, mikrodalga ışıması altında modifiye Hantzsch reaksiyonuna göre elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrumu ile karakterize edilmiştir. Ayrıca, **HM8** ve **HM12**'nin öngörülen kimyasal yapıları X-ışınları analizi ile de aydınlatılmıştır. Hedef bileşiklerin L- ve T-tipi kalsiyum kanalları akım inhibisyon oranı *patch clamp* tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bileşiklerin ester yan zincirine *Michael* akseptör grubu getirilmesiyle kalsiyum kanallarının kovalent inhibitörlerinin elde edilebileceğini ilk kez göstermiştir. Bileşikler ile L-tipi kalsiyum kanalının DHP bağlanma bölgesi içindeki sistein amino asiti (Cys1492) arasındaki öngörülen kovalent bağlanma; doking, farmakofor analiz ve glutatyon reaktivite testiyle desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: 1-4-Dihidropiridin; hekzahidrokinolin; kalsiyum kanalları; kovalent bağlanma; moleküler modelleme

ABSTRACT

Aygün Cevher, H., Synthesis of Condensed 1,4-Dihydropyridine Derivatives and Their Effects on L-/T-Type Calcium Channels, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, MS Thesis in Pharmaceutical Chemistry, Ankara, 2019. 1,4-Dihydropyridines (DHPs) are crucial blockers of different calcium channel subtypes and have great therapeutic value against cardiovascular and neurophysiologic conditions. In this thesis, the design and the synthesis of sixteen DHP-based hexahydroquinoline derivatives as either selective or covalent inhibitors of calcium channels are reported. These compounds were achieved by the reaction of 4,4-dimethyl-1,3-cyclohexanedione, substituted salicylaldehyde, appropriate alkyl acetoacetate (benzyl acetoacetate or 2-(methacryloyloxy)ethyl acetoacetate) and ammonium acetate via modified Hantzsch reaction under microwave irradiation. The structures of the compounds were characterized by IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and mass spectra. Also, the proposed chemical structures of **HM8** and **HM12** were evaluated by X-ray analysis. The percentage of L- and T-type calcium channel current inhibition of the target compounds was determined by patch clamp technique. The obtained results showed that the covalent inhibitors of calcium channels could be achieved for the first time by introducing a *Michael* acceptor group into the ester side chain of the compounds. The proposed covalent binding between the compounds and the cysteine amino acid (Cys1492) within the DHP binding pocket of L-type calcium channel was supported by docking and pharmacophore analysis as well as a glutathione reactivity assay.

Key Words: 1,4-Dihydropyridine; hexahydroquinoline; calcium channel; covalent binding; molecular modeling

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN	iv
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kalsiyum Kanalları, Yapıları ve Sınıflandırılmaları	4
2.1.1. L-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları	7
2.1.2. L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları	10
2.1.3. T-tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları	21
2.1.4. T-tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları	22
2.2. Dihidropiridinler	26
2.2.1. DHP Türevlerinin Sentezleri	27
2.2.2. DHP Türevlerinin Kimyasal Özellikleri	31
2.2.3. DHP Türevlerinin Spektral Özellikleri	32
2.2.4. DHP Türevlerinin Farmakokinetik Özellikleri	33
2.2.5. DHP Türevlerinin Diğer Farmakolojik Etkileri	34
3. GEREÇ ve YÖNTEM	42
3.1. Kimyasal Çalışmalar	42
3.1.1. Materyal ve Metot	42
3.1.2. Genel Sentez Yöntemi	42
3.2. X-Işınları Analizi	43
3.3. Kalsiyum Kanal İnhibisyonu	43
3.3.1. tsA-201 Hücre Kültürü ve Transfeksiyonu	43
3.3.2. Elektrofizyoloji	43
3.4. Doking Çalışmaları	44
3.5. Glutasyon İnkübasyon Testi	44

4. BULGULAR	45
4.1. Kimyasal Çalışmalar	45
4.2. X Işınları Yapı Analizi	62
4.3. Bileşiklerin L-tipi (Cav1.2)/T-tipi (Cav3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri	65
4.4. Doking Çalışmaları	67
4.5. Bileşiklerin Reaktivitelerinin Glutasyonla Belirlenmesi	68
5. TARTIŞMA	69
5.1. Kimyasal Çalışmalar	69
5.2. Bileşiklerin L-tipi (Cav1.2)/T-tipi (Cav3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri	73
5.3. Doking Çalışmaları	74
5.4. Bileşiklerin Reaktivitelerinin Glutasyon ile Belirlenmesi	74
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	77
7. KAYNAKLAR	78
8. EKLER	
EK-1: Sentezlenen Moleküllerin Spektrumları	
EK-2: Tez Çalışması ile İlgili Yayın ve Bildiri	
EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
EK-4: Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
o	Orto
δ	Sigma
μ	Mikro
Å	Angstrom
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
Ang	Anjiyotensin
ALA	Alanin
ATC	Anatomik Terapötik Kimyasal
ATP	Adenozin Trifosfat
BACE	Beta Sekretaz
BZT	Benzotiyazepin
CAN	Seryum Amonyum Nitrat
Cav1	L-Tipi Kalsiyum Kanalları
Cav2	N-Tipi Kalsiyum Kanalları
Cav3	T-Tipi Kalsiyum Kanalları
CYS	Sistein
d	Dublet
dd	Dubletin Dubleti
DHP	Dihidropiridin
DMSO	Dimetilsülfoksit
EGTA	Etilen Glikol Tetraasetik Asit
ESI	Elektron Sprey İyonizasyon
GLN	Glutamin
GSH	Glutatyon
GTP	Guanozin Trifosfat
HEPES	4-(2-Hidroksietil)piperazin-1-etansülfonik asit
HNO₃	Nitrik Asit

HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HVA	Yüksek Voltajla Aktive
ILE	İzolösin
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
LVA	Düşük Voltajla Aktive
m	Multiplet
MET	Metiyonin
NADH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PAA	Fenilalkilamin
PCC	Piridinyum Klorokromat
PHE	Fenilalanin
S	Singlet
SER	Serin
TEACl	Tetraetilamonyum klorür
THR	Treonin
TMS	Tetrametilsilan
TYR	Tirozin

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. HM1-16'nın tasarımı.	2
2.1. Voltaja Duyarlı Kalsiyum Kanallarının İlaç Etkileşim Bölgeleri.	7
2.2. Farklı L-tipi kalsiyum kanal izoformlarının en önemli fizyolojik fonksiyonları.	8
2.3. Kalsiyum kanalları aracılığıyla kas kasılması.	9
2.4. Kalsiyum kanallarının kapanması ile kas gevşemesi.	10
2.5. Farklı kimyasal yapıdaki kalsiyum kanal blokörlerinin temsilcileri.	11
2.6. Nifedipin.	13
2.7. İsradipin.	13
2.8. DHP türevlerinin kayık konformasyonundaki genel gösterimi.	14
2.9. İsradipin ve 3-nitro analogu.	14
2.10. Nifedipinin C3 ve C5 ester fonksiyonlarının konformasyonu.	15
2.11. Amplodipin.	15
2.12. 4-Benziloksifenil-DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	16
2.13. Hekzahidrokinolin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	16
2.14. 4-imidazo[2,1-b]-tiyazol-DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	17
2.15. Losartan.	17
2.16. AT1 blokör etkili DHP türevi.	17
2.17. 4-imidazolil-DHP yapısındaki AT reseptör blokörleri.	18
2.18. Dihidropirimidin yapısındaki Cav1.2 blokörleri.	19
2.19. 2-(Diarilalkil)aminobenzotiyazol yapısındaki bileşiğin tasarımı.	19
2.20. Kalsiyum kanal blokör etkili mibefradil ve analogları.	20
2.21. Fenilalkilamin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	20
2.22. Diltiazem analogu kalsiyum kanal blokörleri.	21
2.23. Cav3-porunu oluşturan alt biriminin membran topolojisi.	21
2.24. Nimodipin.	23
2.25. DHP yapısındaki T-tipi kalsiyum kanal blokörü.	23
2.26. Hekzahidrokinolin yapısındaki T-tipi kalsiyum kanal blokörleri.	24
2.27. Selektif Cav3.2 blokörü hekhahidrokinolin türevleri.	24
2.28. Geniş spektrumlu kalsiyum kanal inhibitörü.	24

2.29. Farklı kimyasal yapıdaki analjezik etkili Cav3.2 inhibitörleri.	25
2.30. Dihidropiridin izomerleri.	27
2.31. Hantzsch reaksiyonu.	27
2.32. Modifiye Hantzsch reaksiyonları.	28
2.33. Alkollerden hareketle DHP sentezi.	28
2.34. DHP türevlerinin etanol-su karışımı içinde sentezi.	29
2.35. 4-Nonsüstitüe-DHP türevlerinin sentezi.	29
2.36. DHP türevlerinin konvansiyonel/mikrodalga yardımıyla sentezi.	30
2.37. İyot katalizörlüğünde Hantzsch reaksiyonu.	30
2.38. Piridinden hareketle dihidro ve tetrahidropiridin sentezi.	31
2.39. Piridinden hareketle 1,2- ve 1,4-DHP sentezi.	31
2.40. 1,4-DHP'lerin CAN katalizörlüğünde oksidatif aromatisasyonu için önerilen mekanizma.	32
2.41. DHP türevlerinin temel parçalanmaları.	33
2.42. Nifedipin ve metabolitleri.	34
2.43. ACE inhibitör etkili DHP türevleri.	35
2.44. α -Glukozidaz inhibitörü DHP türevleri.	35
2.45. Antitüberküler etkili 4-indolil-DHP türevleri.	36
2.46. Antitüberküler etkili 4-imidazolil-3,5-dikarbamoil-DHP türevleri.	37
2.47. Antioksidan etkili DHP türevleri.	37
2.48. DHP yapısı taşıyan donepezil analogları.	38
2.49. BACE-1 inhibitörü DHP türevleri.	39
2.50. Antikanser etkili DHP taşıyan azotlu hardal bileşikleri.	39
2.51. Antikanser etkili steroidal DHP türevleri.	40
2.52. Antimikrobiyal etkili 1,2,3-triazol-DHP hibrit molekülleri.	41
2.53. Antibakteriyel etkili pirazolil-DHP türevleri.	41
4.1. HM8 'in ORTEP diagramı.	62
4.2. HM8 'de moleküller arası C-H...O, N-H...O and O-H...O bağları.	63
4.3. HM12 'nin ORTEP diyagramı.	64
4.4. HM12 'de moleküller arası C-H...O, N-H...O and O-H...O bağları.	65
4.5. Bileşiklerin 10 μ M konsantrasyonda sıçan Cav1.2 (A) ve insan Cav3.2 (B) kalsiyum kanallarının inhibisyonu (n=3,7).	66
4.6. HM12 'nin Cav1.2'ye kovalent bağlanma hipotezi.	67
4.7. Glutasyon- HM12 karışımının t=0 dk (A) ve t=120 dk (B) kütle spektrumları.	68

5.1. HM1-16'nın genel sentez şeması.	69
5.2. HM1-16'nın sentezinde kullanılan Hantzsch reaksiyonunun mekanizması.	70
5.3. Tiyollerin α,β -doymamış karbonil bileşiklerine <i>Michael</i> katım reaksiyonunun mekanizması.	75
5.4. HM12 ve GSH reaksiyonu sonucu 1,4-katım ürününün oluşumu.	76



TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
1.1. Sentezi yapılan bileşikler.	3
2.1. Nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı kalsiyum kanal blokörleri.	5
2.2. DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.	12
2.3. Tedavide olan veya faz aşamasında bulunan T-tipi kanal blokörleri.	26
4.1. HM8 'in hidrojen bağlarının geometrisi (Å, °).	63
4.2. HM12 'nin hidrojen bağlarının geometrisi (Å, °)	65
5.1. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ile bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri.	71

1. GİRİŞ

Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları kalp, beyin, düz ve iskelet kasının uyarılabilir hücrelerine kalsiyum girişinde düzenleyici rol oynamaktadır. Kalsiyum kanallarının nörotransmitter salınımı, kas kasılması ve gen transkripsiyonu gibi çeşitli kritik fizyolojik süreçlere aracılık eden farklı alt tipleri tanımlanmıştır (1). Dolayısıyla bu kanallar, kardiyovaskülerler hastalıklardan nörolojik ve psikiyatrik hastalıklara kadar değişen çeşitli patolojilerin tedavisinde terapötik hedef olarak kabul edilmektedir (2). Şu an tedavide kullanılan bileşiklerin çoğu, özellikle 1,4-dihidropiridinler (DHP'ler), L-tipi kalsiyum kanalı Cav1.2 izoformunu hedeflemekte ve hipertansiyon tedavisi için yaygın olarak reçetelendirilmektedir (3). Sonradan, T-tipi kalsiyum (Cav3.2) kanalları ağrı ve epilepsi gibi nörofizyolojik hastalıklara terapötik müdahale için uygun farmakolojik hedefler olarak ortaya çıkmıştır ve DHP'ler ile de bloke edildiği bilinmektedir (4–6).

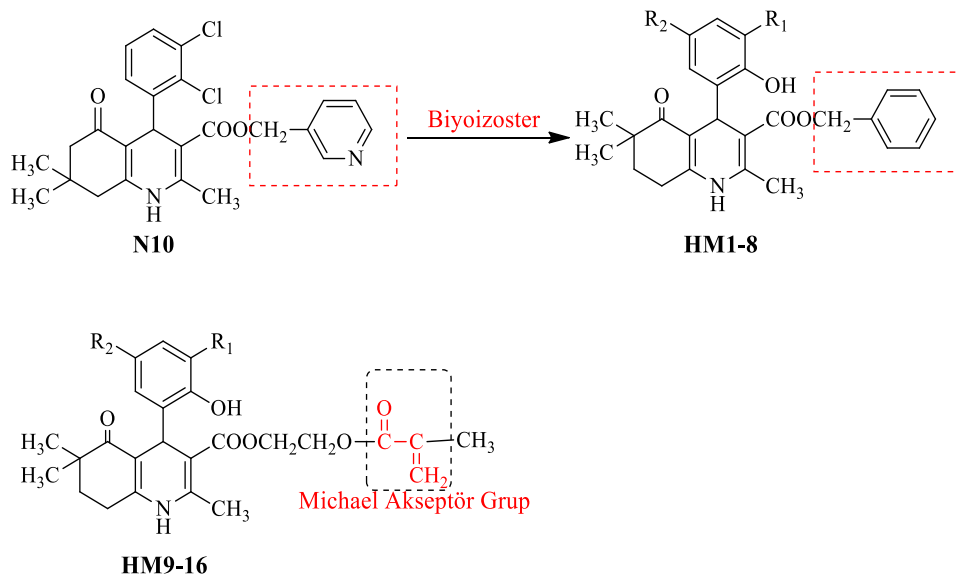
Bu belirgin fizyolojik rollerin sonucu olarak, kalsiyum kanallarını hedef alan yeni moleküllerin tanımlanması büyük önem taşımaktadır. DHP'ler bu amaçla bugüne kadar medisinal kimyacılar tarafından en çok çalışılan yapı olmuştur. Halka üzerinde gerçekleştirilen modifikasyonlar sonucu farklı kalsiyum kanal alt tipleri üzerinde seçici veya benzer potansiyel aktiviteye sahip, kondanse halka sistemi taşıyan (hekzahidrokinolin) yeni bileşikler tanımlanmıştır (5–8). Bu DHP temelli hekzahidrokinolin türevlerinde, ester grubunun modifikasyonun hem L- hem de T- tipi kanalların inhibisyonunda rol oynadığı bildirilmiştir (5). Örneğin, ester fonksiyonunda alkil grubu olarak 3-piridilmetil yapısı taşıyan DHP'lerin (N10) T-tipi kalsiyum kanallarını, L-tipine oranla yüksek selektivite ile bloke ettiği gösterilmiştir (6). Bu bulgular, ester yan zincirinin modifikasyonuna odaklanmanın daha etkili kalsiyum kanal blokörlerini tasarlamak için rasyonel bir yaklaşım olduğunu ortaya koymuştur.

Biyoizosterik değişim hala en yaygın kullanılan ilaç tasarım stratejilerinden birisidir ve sadece etkililiği arttırmak için değil aynı zamanda tanımlanmış biyolojik aktiviteyi sürdürmek için de kullanılmaktadır (9). Biyoizosterler, biyolojik çevrelerinde yaklaşık aynı moleküler hacimlere ve

şekillere sahip olduklarından, benzenin piridin ile değiştirilmesi çoğu zaman farklı ilaç grupları içerisinde sürdürülebilir biyolojik aktivitelerle sonuçlanmıştır (10).

İlaç tasarım sürecinde genellikle kaçınılmasına rağmen, hedeflerini kovalent olarak modifiye eden ilaçlar obeziteden kansere kadar çeşitli klinik endikasyonlar için onaylanmıştır (11). Nonkovalent bağlanan ilaçlarla karşılaştırıldığında, kovalent inhibitörler, artan etki potansiyelleri, uzun etki süresi, daha az sıklıkta ilaç dozlama gibi belirgin avantajlara sahiptir (12). Bir ilacın hedefiyle kovalent bağ oluşturulmasını sağlayan en yaygın elektrofilik gruplardan biri, *Michael* akseptörü olarak bilinen, α,β doymamış karbonil sistemidir. *Michael* akseptörünün çifte bağına nükleofillerin bağlanması *Michael* katımı olarak adlandırılır. Bu katım, nükleofilik kısımlarında oksijen veya azot taşıyan aminoasitler yerine sistein gibi kükürt taşıyan aminoasitler ile daha kolay gerçekleştirilmektedir (13).

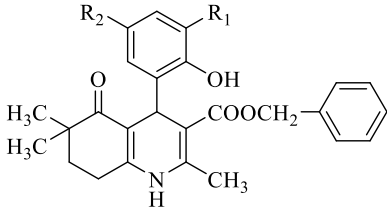
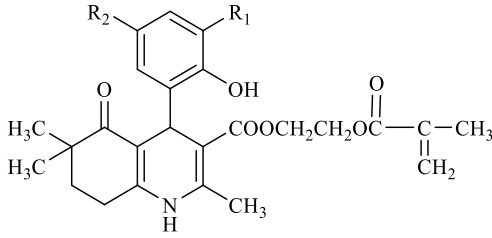
Bu literatür verilerine dayanarak ve ester yan zincirinin modifikasyonuna odaklanarak iki grup DHP türevi tasarlanmıştır ve sentezlenmiştir. İlk olarak selektif T-tipi kalsiyum kanal blokörleri elde etmek için ester grubundaki 3-piridilmetil yapısı, benzil grubuyla değiştirilmiştir (**HM1-8**). Daha sonra kalsiyum kanallarının kovalent inhibitörlerini ilk defa elde etmek için ester fonksiyonuna *Michael* akseptör grup süstitüe edilmiştir (**HM9-16**).



Şekil 1.1. HM1-16'nın tasarımı.

Hipotezimizin geçerliliğini kanıtlamak için, sentezlenen bileşikler (Tablo 1.1), L- (Ca_v1.2) ve T- (Ca_v3.2) tipi kalsiyum kanalları üzerinde *patch-clamp* tekniği kullanılarak test edilmiştir.

Tablo 1.1.Sentezi yapılan bileşikler.

					
Bileşik	R ₁	R ₂	Bileşik	R ₁	R ₂
HM1	H	Cl	HM9	H	Cl
HM2	Cl	Cl	HM10	Cl	Cl
HM3	H	Br	HM11	H	Br
HM4	Br	Br	HM12	Br	Br
HM5	Br	Cl	HM13	Br	Cl
HM6	NO ₂	Br	HM14	NO ₂	Br
HM7	Br	NO ₂	HM15	Br	NO ₂
HM8	NO ₂	NO ₂	HM16	NO ₂	NO ₂

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalsiyum Kanalları, Yapıları ve Sınıflandırılmaları

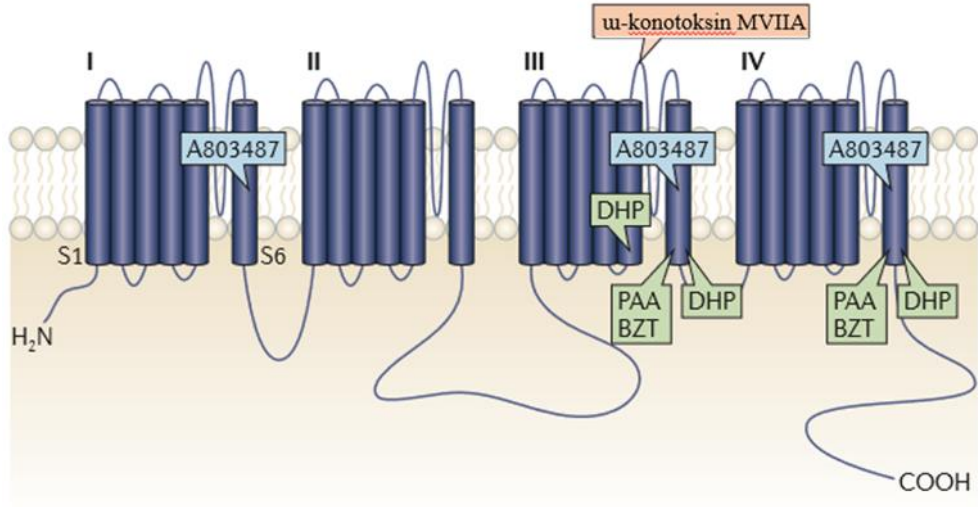
Kalsiyum iyonları, hücresel sinyal mekanizmalarının önemli düzenleyicisidir. Bu fonksiyonlarını, kalsiyumla indüklenen membran potansiyeli değişiklikleri ve kalsiyum bağımlı enzimlerin aktivasyonu ile gösterirler (1). Hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, hücresel kalsiyum depolarından kalsiyum iyonu salınımıyla veya kalsiyum iyonlarının plazma membranlarından geçerek hücre içine girişi ile olmaktadır (14). Bu nedenle kalsiyum iyonu; nörotransmitter ve hormon salınımı, gen transkripsiyonunun aktivasyonu ve kas kasılması gibi birçok fizyolojik olaylarla ilişkilendirilmektedir (15,16). Dolayısıyla kalsiyum sinyalinde oluşabilecek herhangi bir bozukluk hipertansiyon, kardiyak hipertrofi ve birçok nörolojik problemlere yol açabilmektedir (17).

Kalsiyumun hücre dışından hücre içine girişini kontrol eden en önemli mediyatör voltaja duyarlı kalsiyum kanallarıdır. Bu kanallar, membran depolarizasyonu sonucunda açılan ve elektrokimyasal gradient boyunca kalsiyum iyonlarının hücre içine girişine izin veren membran proteinleridir (1). Memeli sinir sisteminde her biri spesifik fonksiyonlara sahip on farklı tip kalsiyum kanalı eksprese edilmektedir (17). Kalsiyum kanallarının fonksiyonlarındaki herhangi bir bozukluk; ağrı, parkinson hastalığı ve epilepsi gibi nörolojik bozukluklarla da ilişkilendirilmektedir (15). Ayrıca kalsiyum kanal genlerindeki mutasyonlar epilepsi nöbetleri, migren ve ataksiye yol açabilmektedir (18). Bu nedenle kalsiyum kanalları birçok terapötik etki için önemli hedeflerdir. Kalsiyum kanallarını bloke eden birçok ilaç şu an klinikte kullanılmakta, birçoğu da geliştirme ve prelinik aşamalarında (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan bazı kalsiyum kanal blokörleri (2).

Bileşik (Firma)	Hedef Kanalı	Ana Endikasyon	Olası Endikasyon	Durum
İsradipin (Dynacirc; Reliant)	L-tipi	Hipertansiyon	Parkinson hastalığı ve bağımlılık	Onaylı, Parkinson hastalığı için Faz III aşaması
Nimodipin (Nimotop; Bayer)	L-tipi / T-tipi	Hipertansiyon	Ateşli konvülsiyonlar	Onaylı
Silnidipin (Atelec/Cilacar; Fuji/Ajinomoto)	L-tipi / N-tipi	Hipertansiyon	Ağrı ve tremor	Onaylı
Gabapentin (Neurontin; Pfizer)	Cava2δ	Ağrı ve epilepsi	Anksiyete	Onaylı
Pregabalin (Lyrica; Pfizer)	Cava2δ	Ağrı ve epilepsi	Anksiyete	Onaylı
Lamotrigin (Lamictal; GlaxoSmithKline)	R-tipi	Epilepsi veya bipolar hastalıklar	Ağrı	Onaylı
Topiramat (Topamax; Mylan)	R-tipi	Epilepsi	Kilo kaybı, bağımlılık ve Posttravmatik stres bozukluğu	Onaylı
Zonisamid (Zonegran; Eisai)	T-tipi	Epilepsi	Ağrı ve Parkinson hastalığı	Onaylı
Etosüksimit (Zarontin; Pfizer)	T-tipi	Epilepsi	Ağrı	Onaylı
Zikonotit (Prialt; Elan)	N-tipi	Ağrı	-	Onaylı
Valproat (Depakene/Convulex; Abbott)	T-tipi	Epilepsi ve bipolar mani	Parkinson Hastalığı	Onaylı
Z944 (Epirus)	T-tipi	Ağrı	Epilepsi	Ağrı tedavisinde Faz II aşaması
CNV2197944 (Convergence)	N-tipi	Ağrı	Anksiyete ve bağımlılık	Ağrı tedavisinde Faz II aşaması
Z160 (Epirus)	N-tipi	Ağrı	Anksiyete ve bağımlılık	Ağrı tedavisinde Faz II aşaması başarısız

Kalsiyum kanalları, moleküler klonlama teknikleri ortaya çıkmadan önce kalp ve beyindeki kalsiyum kanallarının açılması için ihtiyaç duyulan membran depolarizasyonunun şiddetine göre yüksek voltajla aktive (HVA) olan ve düşük voltajla aktive (LVA; T-tipi olarak da bilinmektedir) olan olarak ikiye ayrılmaktaydı (19). HVA kalsiyum kanalları da farmakolojik ve biyofiziksel özelliklerine bağlı olarak L-, P-, Q- ve R- tipleri olarak sınıflandırılmaktadır (20). Günümüzde ise kalsiyum kanal alt tiplerinin memeli genomunda kodlanan on farklı Cav α 1 alt birimi olduğu bilinmektedir. Bunlardan üç tanesi (Cav3.1, Cav3.2 ve Cav3.3) T-tipi kalsiyum kanal ailesini oluşturmakta ve plazma membranlarındaki ekspresyonları, kanal proteinleri olarak fonksiyon göstermelerinde yeterlidir (21). HVA Cav α 1 alt birimi ise temel olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Bunlardan Cav1 kanalları 4 farklı tip L-tipi kalsiyum kanalını (Cav1.1-Cav1.4) kapsamakta, Cav2 kanalları ise P/Q-tipi (Cav2.1), N-tipi (Cav2.2) ve R-tipini (Cav2.3) içermektedir (22). Her bir α 1 alt birimi ~200kDa ağırlığında dört homolog transmembran kısmından oluşur ve bunların her biri de altı adet transmembran sarmal ve bir por açıklığı taşımaktadır. Bu por aracılığıyla kalsiyum iyonlarının geçişi ve diğer iyonlara karşı selektivitesi sağlanmaktadır (15). Kalsiyum kanalları ayrıca membran depolarizasyonuna yanıt olarak açılmalarını sağlayan voltaj sensörleri taşımaktadır. Amino ve karboksil uçları ve bunların arasındaki bağlayıcılar sitoplazma tarafında konumlanmıştır ve kanalın ikincil mesajcı fonksiyonunun düzenlenmesinden sorumludur (22). Kalsiyum kanal blokörü olarak kullanılan ilaçların etkileşme bölgeleri ya iyonların geçiş bölgesinde ya da kanalın por bölgesini saran (beşinci ve altıncı transmembran sarmallar) kısımlarındadır (23,24) (Şekil 2.1).

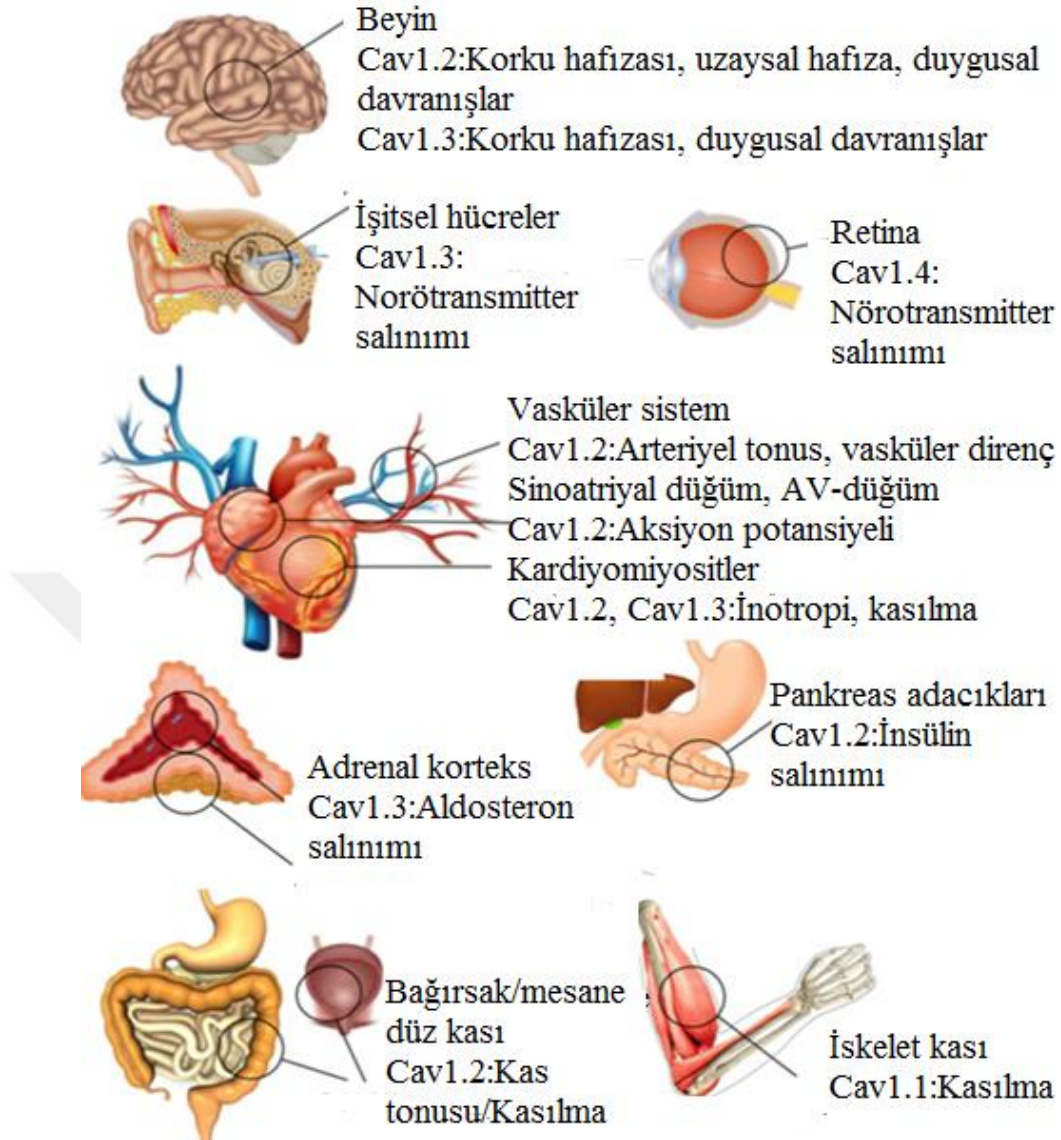


Şekil 2.1. Voltaja Duyarlı Kalsiyum Kanallarının İlaç Etkileşim Bölgeleri.

N-tipi, T-tipi ve L-tipi kanal blokörlerinin ilaç etkileşim bölgeleri sırasıyla kırmızı, mavi ve yeşil olarak gösterilmiştir. BZT: benzotiyazepin, DHP: dihidropiridin, PAA: fenilalkilamin (2).

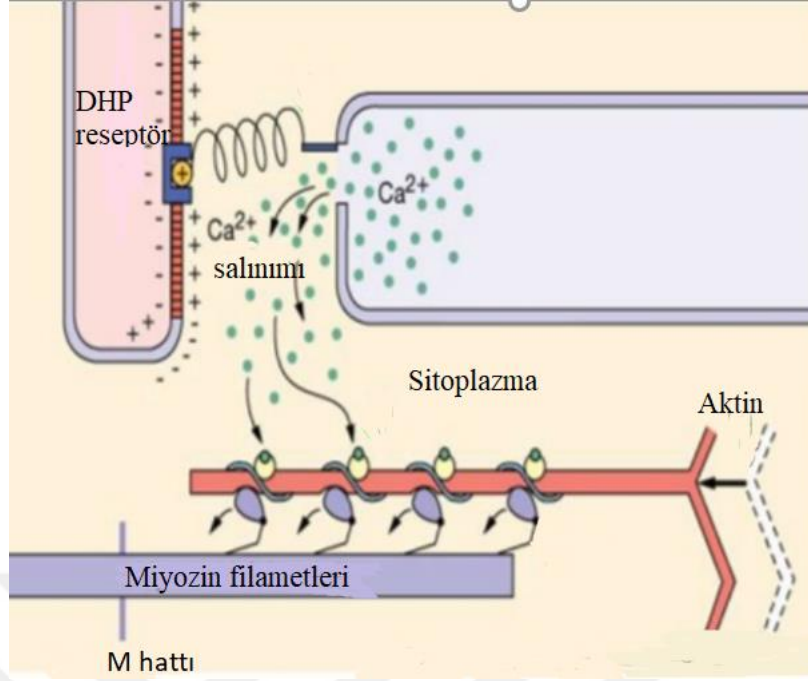
2.1.1. L-Tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları

Cav1 kalsiyum kanal tipleri aynı zamanda L-tipi kalsiyum kanalları olarak da adlandırılmaktadır. L-tipi kalsiyum kanallarını diğer kalsiyum kanal tiplerinden ayıran en önemli özellik, kalsiyum kanal antagonisti de denilen organik bileşikler tarafından bloke edilebilmeleridir. Bu bileşikler uzun yıllardır kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. L-tipi kalsiyum kanalları beyin, kalp, düz kas ve iskelet kaslarında bulunmakta ve bulundukları bölgeye özgü spesifik fonksiyonların düzenlenmesinden sorumludurlar (1) (Şekil 2.2).



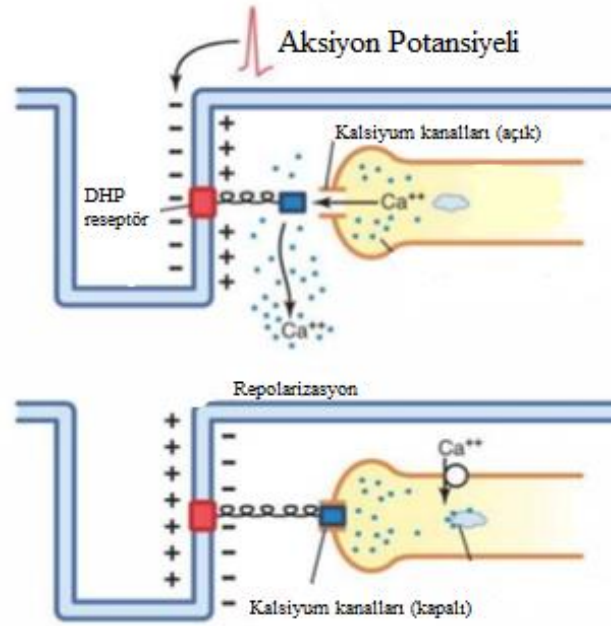
Şekil 2.2. Farklı L-tipi kalsiyum kanal izoformlarının en önemli fizyolojik fonksiyonları (1).

L-tipi kalsiyum kanallarının en önemli fonksiyonu, kardiyovasküler sistemde kalsiyum iyonu aracılığıyla gerçekleşen uyarılma-kasılma sürecine aracılık etmesidir. Hücresel cevapta hücre içi ve hücre dışı uyarılmaları arasında hücresel iletişimi sağlar. Kalsiyum iyonunun sitozolik konsantrasyonunun artması kalsiyum iyonunun ya kalp ve iskelet kasındaki troponin C'ye ya da damar düz kasındaki kalmazdoline bağlanması ile sonuçlanır. Bu bağlanma miyozinin aktine bağlanmasına yol açar böylelikle de aktin ve miyozin etkileşmesi kas kasılması ile sonuçlanır (Şekil 2.3). Bu olaylar kalsiyum kanallarının kapanması ve kalsiyum iyonunun hücre içi konsantrasyonunun azalmasıyla tersine döner (3) (Şekil 2.4).



Şekil 2.3. Kalsiyum kanalları aracılığıyla kas kasılması.

Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu spesifik hücre içine alım ve hücre dışına atılım mekanizmaları ile düzenlenmektedir. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artışı çoğunlukla voltaja duyarlı kanallar ve reseptör aracılıklı kanallar olmak üzere $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ ve Na^+/H^+ değişimi aracılığıyla da sağlanmaktadır. Bu mekanizmalara ek olarak sarkoplazmik retikulum ve mitokondri de hücre içi saklama ve salınım bölgeleri olarak görev yapmaktadır. Hücre içine alım ve hücre dışına atılım süreçlerinin amacı hücre içi kalsiyum düzeyini belli bir seviyede tutmaktır. Hücre içine alım ve hücre salınım kasılma için gerekliyken, hücre dışına atılım da aynı derecede önemlidir. Böylelikle kasılma sonlandırılırken aynı zamanda hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun hücreye zarar verici miktara ulaşması da engellenmiş olur (25).



Şekil 2.4. Kalsiyum kanallarının kapanması ile kas gevşemesi.

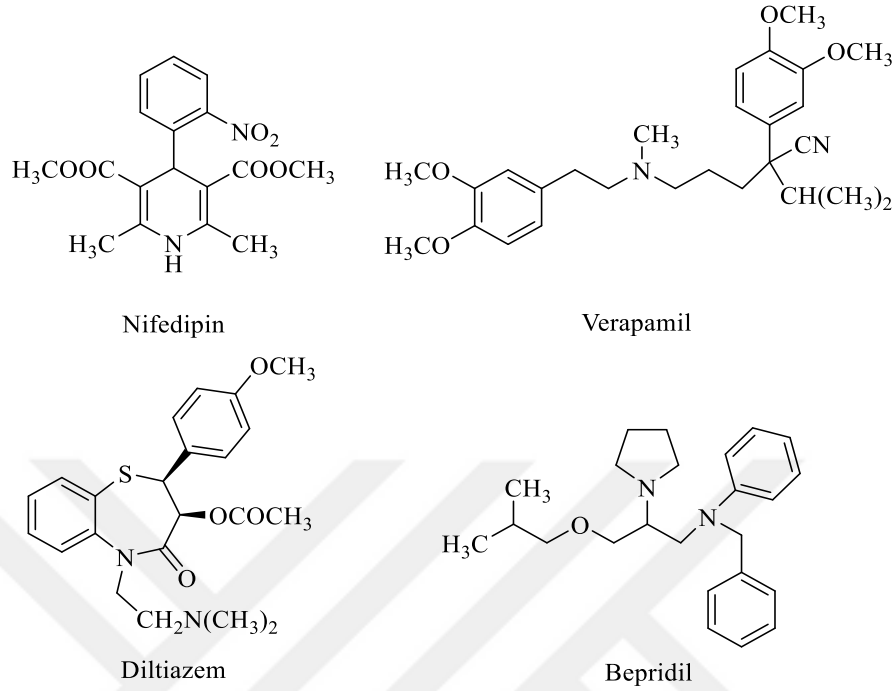
2.1.2. L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları

L-tipi kalsiyum kanal blokörlerinin bulunuşu ve koroner hastalıklarda kullanımının ortaya çıkışı 1963 yılındadır. İlk bildirilen bileşik fenilallikamin yapısında olup daha sonra verapamil olarak isimlendirilmiştir. 1969 yılında ilk olarak kalsiyum antagonist terimi kullanılmış ve bu özellikteki bileşiklere ulaşma çabaları, 1975 yılında ilk DHP türevi olan nifedipinin bulunmasıyla devam etmiştir. Hemen ardından daha uzun süre etkili amlodipin bulunmuştur. 1975 yılında ayrıca kalsiyum kanal blokörlerinin üçüncü sınıfı olarak benzotiyazepin yapısı (diltiazem) tanımlanmıştır. Kalsiyum kanal blokörleri aynı zamanda kalsiyum giriş blokörleri ve kalsiyum antagonistleri olarak da adlandırılmaktadır (3).

Dünya Sağlık Örgütü'nün Anatomik Terapötik Kimyasal (ATC) Sınıflandırması'na göre şu an tedavide yirmi dört adet kalsiyum kanal blokörü bileşik bulunmaktadır. Bu bileşikler kimyasal olarak dört ana sınıfta yer almaktadır:

- 1,4-Dihidropiridinler (Nifedipin)
- Fenilalkilaminler (Verapamil)

- Benzotiyazepinler (Diltiazem)
- Diaminopropanol eterler (Bepridil) (26) (Şekil 2.5).



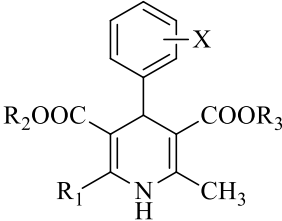
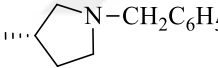
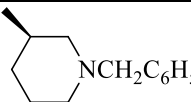
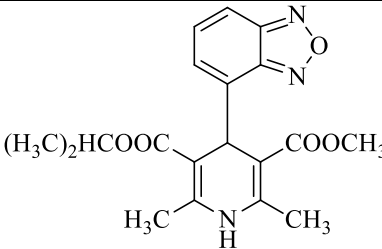
Şekil 2.5. Farklı kimyasal yapıdaki kalsiyum kanal blokörlerinin temsilcileri.

Kalsiyum kanal blokörlerinin büyük çoğunluğu DHP yapısındadır. Diğer sınıflar tek bir bileşik ile temsil edilmektedir. Bu yüzden kalsiyum kanal blokörü geliştirme konusundaki çalışmaların çoğu DHP'ler üzerine yoğunlaşmaktadır (3).

1,4-Dihidropiridinler

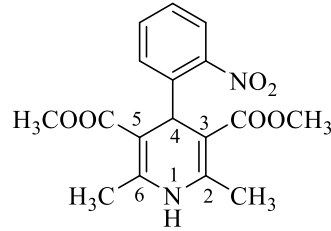
DHP'lerin kimyası ilk kez 1882 yılında Arthur Rudolf Hantzsch tarafından yayınlanan makaleye dayanmaktadır (27). Bu çalışmada DHP'lerin süstitüe piridinlerin sentezinde ara ürün olarak kullanılabileceklerinden bahsedilmiştir. Elli yıl sonra DHP halkasının koenzim NADH (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit) yapısında hidrojen transferinden sorumlu olduğu bulunmuştur. Grubun prototipi olan nifedipin Almanya'da Bayer firması tarafından "Adalat" ticari ismiyle piyasaya sürülmüştür (28). Dünya Sağlık Örgütü'nün Anatomik Terapötik Kimyasal (ATC) Sınıflandırması'na göre şu anda tedavide kullanılan DHP türevleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. DHP 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
Klevudipin	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) ₄ N-CH(C ₆ H ₅) ₂	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

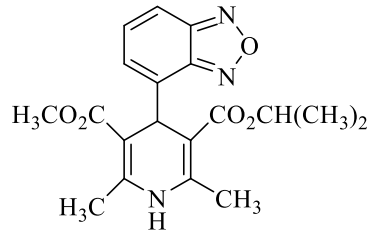
DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri için grubun prototipi olan nifedipin (Şekil 2.6) molekülü esas alınarak çok sayıda modifikasyon gerçekleştirilmiş, elde edilen bulgulara göre yapı-aktivite ilişkileri ortaya konulmuştur.



Şekil 2.6. Nifedipin.

-DHP halkası aktivite için gereklidir. Halkanın piperidin halkasına redükte olması veya piridin halkasına oksidasyonu aktivitenin çok azalmasına veya tamamen kaybolmasına neden olmaktadır. Bu nedenle bir numaralı konumdaki azaot atomu üzerindeki protonun kanalla hidrojen bağı yaparak etkileşimde önemli olduğu düşünülmektedir (31).

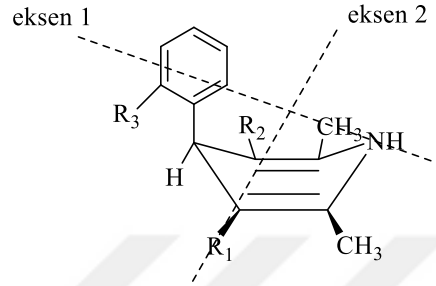
- Dört numaralı konumdaki fenil halkası aktiviteyi optimize etmektedir. Bu konuma piridin gibi heteroaromatik halkaların getirilmesiyle aktivite gözlenmekte fakat toksisite artmaktadır. Bu konumun küçük alkil veya siklo alkil gruplarıyla sübstitüe edilmesi aktivitede düşüşe neden olmaktadır. İmidazol, 2,1,3-benzoksadiazol (isradipin) (Şekil 2.7) ve 2,3-metilenbisoksifenil halkaları bu konuda aktivite göstermiş diğer heteroaromatik halkalardır (29).



Şekil 2.7. İsradipin.

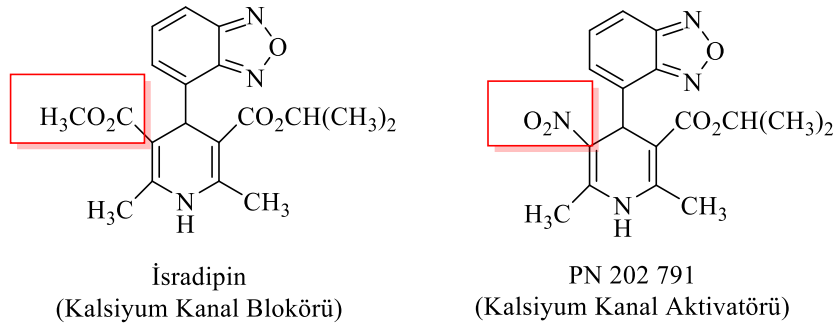
- Fenil halkası üzerindeki sübstitüentlerin büyüklüğü, konumu ve elektronik özellikleri önem taşımaktadır. *Orto*- ve *meta*- konumlarında sübstitüent taşıyan türevler yüksek aktivite gösterirken, *para*- konumundaki sübstitüentler aktivitede

azalmaya neden olmaktadır. *Orto*- konumunda elektron çeken, *meta*- konumunda ise elektron çeken veya elektron sunan sübsitüentler aktiviteye katkı sağlamaktadır. *Orto*- ve *meta*- konumundaki sübsitüentlerin belli büyüklükte olması ile DHP halkasının aktivite gösterecek konformasyonu korunmaktadır. Bu konformasyonda dört numaralı konumdaki fenil halkası DHP halkasına dik olarak konumlanmaktadır (30) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. DHP türevlerinin kayık konformasyonundaki genel gösterimi.

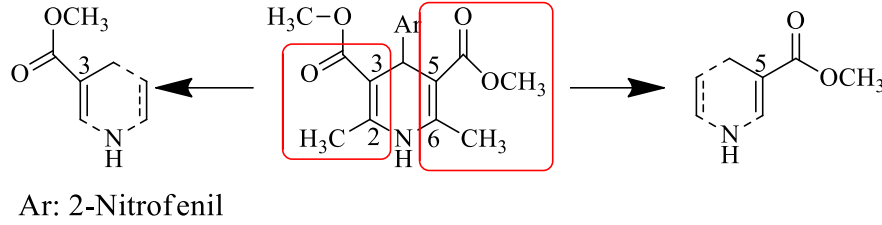
- Üç ve beş numaralı pozisyonlardaki ester grupları aktivitenin optimizasyonundan sorumludur. Bu konumlara nitro gibi elektron çeken grupların getirilmesi aktivitenin azalmasına veya tamamen kaybolmasına neden olmaktadır (Şekil 2.9). Bazı durumlarda etki antagonistten agoniste de dönebilmektedir (31).



Şekil 2.9. İsradipin ve 3-nitro analogu.

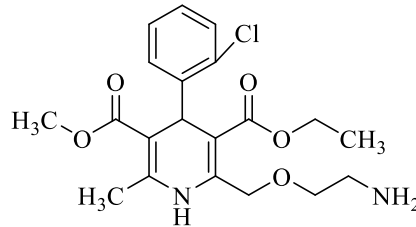
- Üç numaralı konumdaki ester grubunun keton veya nitril grupları ile yer değiştirmesi de aktivitede azalmaya neden olmaktadır (3).
- Üç ve beş numaralı konumdaki ester sübsitüentlerinin farklı olması durumunda dört numaralı karbon atomu asimetric özellik kazanmakta ve oluşan enansiyomerler arasında aktivite farklılığı gözlenebilmektedir. Piyasadaki tek simetric DHP türevi olan nifedipinin kristal yapısı incelendiğinde üç numaradaki karbonil grubunun C₂-C₃ çifte bağına sinperiplanar konumlandığı, beş numaradaki

karbonilin ise C₅-C₆ bağına antiperiplanar konumlandığı bildirilmiştir (32) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Nifedipinin C3 ve C5 ester fonksiyonlarının konformasyonu.

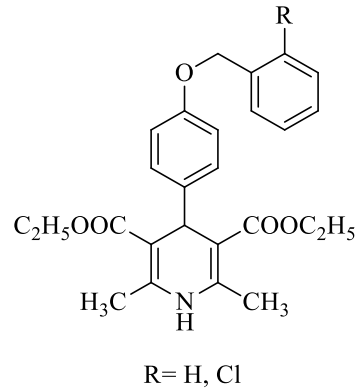
- Amlodipidin dışında ticari olarak kullanılan tüm DHP türevleri iki ve altı numaralı konumlarında metil grupları taşımaktadır (Şekil 2.11). Amlodipinin etkisinin yüksek olması, uzun zincirli bir alkil grubunun iki numaralı konuma süstitüe edilmiş olmasıyla açıklanmıştır. Böylelikle bileşiğin kalsiyum kanalının lipofilik bölgeleriyle etkileşmesi ve hedef organlara penetrasyonunun artışı gerçekleşmektedir. Diğer taraftan iki numaralı konumuna fenil halkasının süstitüe edilmesi ile lipofiliklik artışına rağmen aktivitenin azaldığı gözlenmiştir. Bu da fenil halkasının oluşturduğu sterik etkiyle açıklanmıştır (33).



Şekil 2.11. Amlodipin.

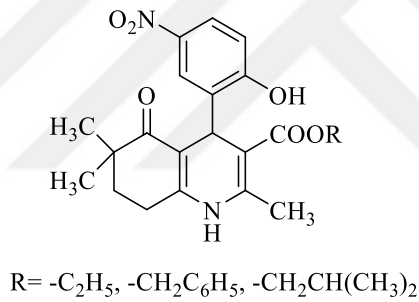
L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörü DHP Türevlerindeki Son Gelişmeler

Datar ve arkadaşları dört numaralı konumdaki fenil halkası üzerine hacimli bir grup süstitüe etmeyi amaçlayarak bir seri DHP türevi sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiklerin sıçanlarda kan basıncını nifedipine oranla önemli derecede düşürdüğü gösterilmiştir. Sentezlenen bileşikler içerisinde dietil 4-(4-benziloksi fenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat ve dietil 4-(2-(2-klorobenziloksi)fenil)-2,6-dimetil-1,4-dihidropiridin-3,5-dikarboksilat yapısına sahip türevler en etkili bulunan bileşikler olmuştur (34) (Şekil 2.12).



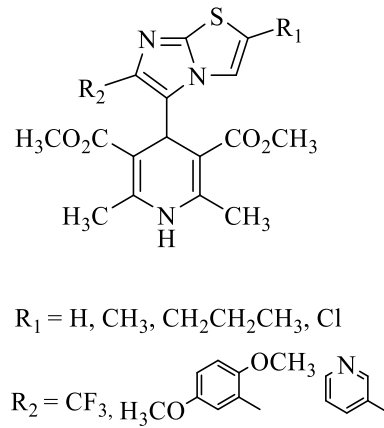
Şekil 2.12. 4-Benziloksifenil-DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.

Bladen ve arkadaşları ester gruplarında farklı alkil süstitüentleri taşıyan kondanse DHP (hekzahidrokinolin) türevleri sentezlemiş ve L-tipi kalsiyum kanal bloke edici aktivitelerini araştırmışlardır. Bu bileşiklerde ester grubunun modifikasyonu aktivite için belirleyici olmuştur (5) (Şekil 2.13).



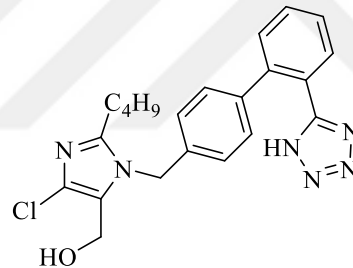
Şekil 2.13. Hekzahidrokinolin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.

DHP'ler üzerinde yapılan yapısal modifikasyonlar dört numaralı konumdaki fenil halkasının heterosiklik halkalarla değiştirilmesini de kapsamaktadır. Bu amaçla 4-imidazo[2,1-b]-tiyazol-DHP türevleri sentezlenmiş ve kalp üzerine etkileri L-tipi kalsiyum kanalları üzerinden değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, imidazo[2,1-b]tiyazol halkasının altı numaralı konumundaki süstitüentlerin aktivite üzerinde rol oynadığı gösterilmiştir. Bu konumda fenil halkası üzerinde bir veya iki adet metoksi grubunun süstitüsyonunun aktiviteyi arttırdığı gözlenmiştir. Fenil halkasının biyoizosteri olan piridin halkası ile değiştirilmesiyle daha aktif türevlere ulaşılmıştır (35) (Şekil 2.14).



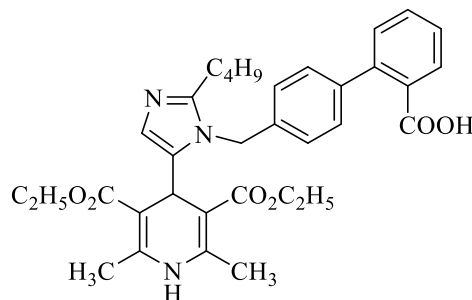
Şekil 2.14. 4-imidazo[2,1-b]-tiyazol-DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.

Anjiyotensin (AT) II reseptör antagonistleri hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç gruplarından (36). Bu grubun temsilcilerinden olan losartan (Şekil 2.15) üzerinde kimyasal modifikasyonların yapılması ve elde edilen grupların DHP halkasıyla birleştirilmesi ile dual etkili antihipertansiflerin elde edilmesi amaçlanmıştır.



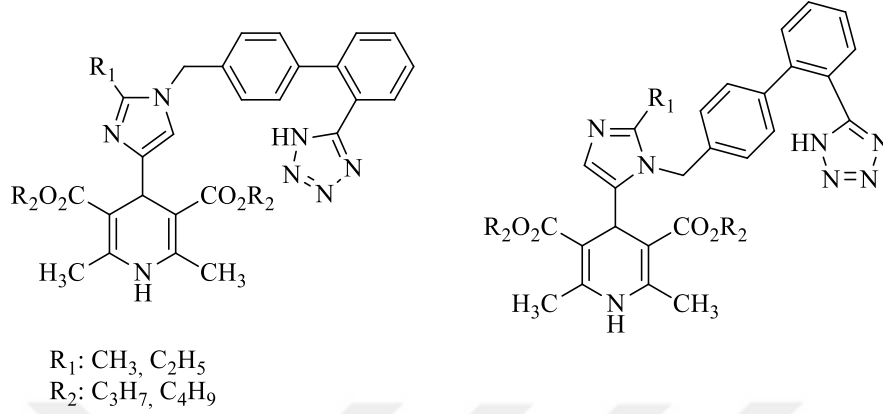
Şekil 2.15. Losartan.

Hadizadeh ve arkadaşları losartan molekülündeki bifenil yapısını koruyarak imidazol grubu üzerinden DHP halkasıyla süstitüe etmişlerdir (Şekil 2.16). Elde edilen bileşiklerin AT₁ reseptörlerini losartana göre daha etkili bloke ettikleri ve kan basıncını daha etkili şekilde düşürdükleri gösterilmiştir (37).



Şekil 2.16. AT₁ blokör etkili DHP türevi.

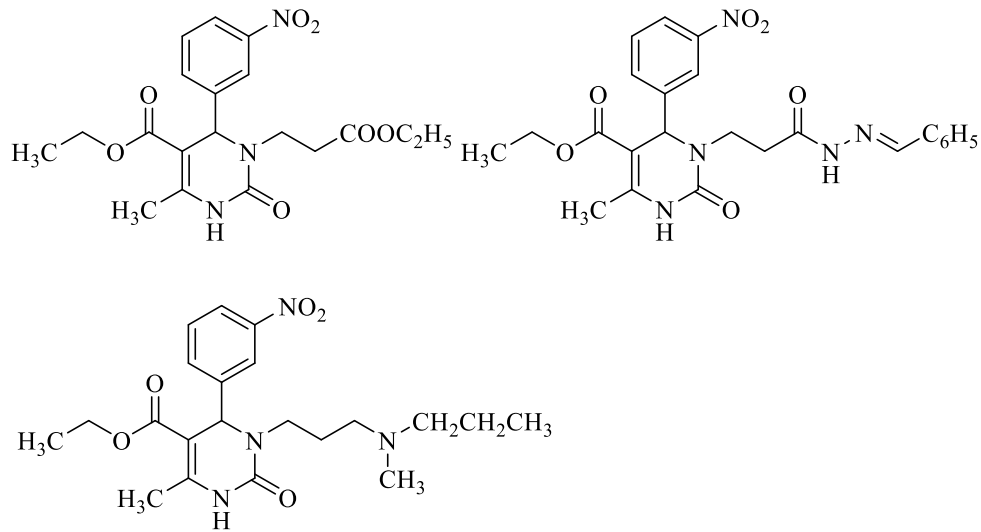
Başka bir çalışmada DHP halkasının dört numaralı konumunda bifenil grubu üzerinde tetrazol halkası taşıyan 4-imidazolil-DHP analogları sentezlenmiştir (38) (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. 4-imidazolil-DHP yapısındaki AT reseptör blokörleri.

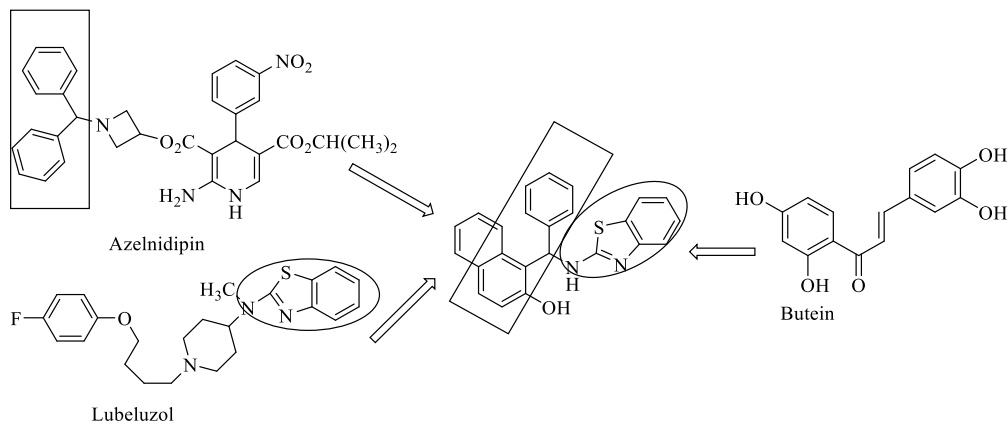
DHP Yapısında Olmayan L-Tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri

DHP yapısında olmayan kalsiyum kanal blokörleri fenilalkilaminler, benztiazepinler ve diaminopropanol eterler genel yapılarına sahiptir. Şu an tedavide kullanılan DHP türevlerinin güçlü antihipertansif etki göstermelerine karşın fotosensitivite ve kısa plazma yarılanma ömrü gibi farmakokinetik problemlerinin olması nedeniyle farklı yapıdaki kalsiyum kanal blokörleri geliştirmeye yönelik çalışmalar sürmektedir. Bu amaçla üzerinde en çok çalışılan halka grubu DHP'lerin azotlu analogu olan dihidropirimidinlerdir. Bu yapıya sahip çeşitli bileşikler sentezlenmiş ve üç numaralı konum üzerinden gerçekleştirilen modifikasyonların etkili kalsiyum kanal blokörü bileşiklere ulaşmada önemli olduğu gösterilmiştir (39–42) (Şekil 2.18).



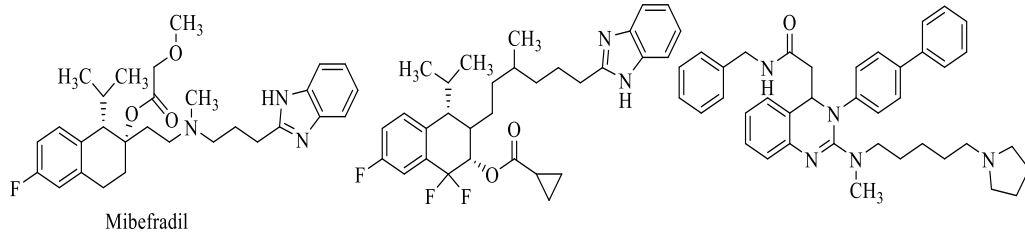
Şekil 2.18. Dihidropirimidin yapısındaki Cav1.2 blokörleri.

2-(Diarilalkil)aminobenzotiyazol yapısına sahip bileşikler moleküler hibridizasyon yöntemiyle tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu amaçla sentetik kalsiyum kanal blokörlerinden olan azelnidipin ve lubelizol molekülleriyle doğal ACE inhibitörü olan buteinin farmakofor grupları aynı molekülde birleştirilmiştir. Elde edilen molekülün kalsiyum kanal bloke edici ve ACE inhibitör etkileri değerlendirilmiştir (43) (Şekil 2.19).



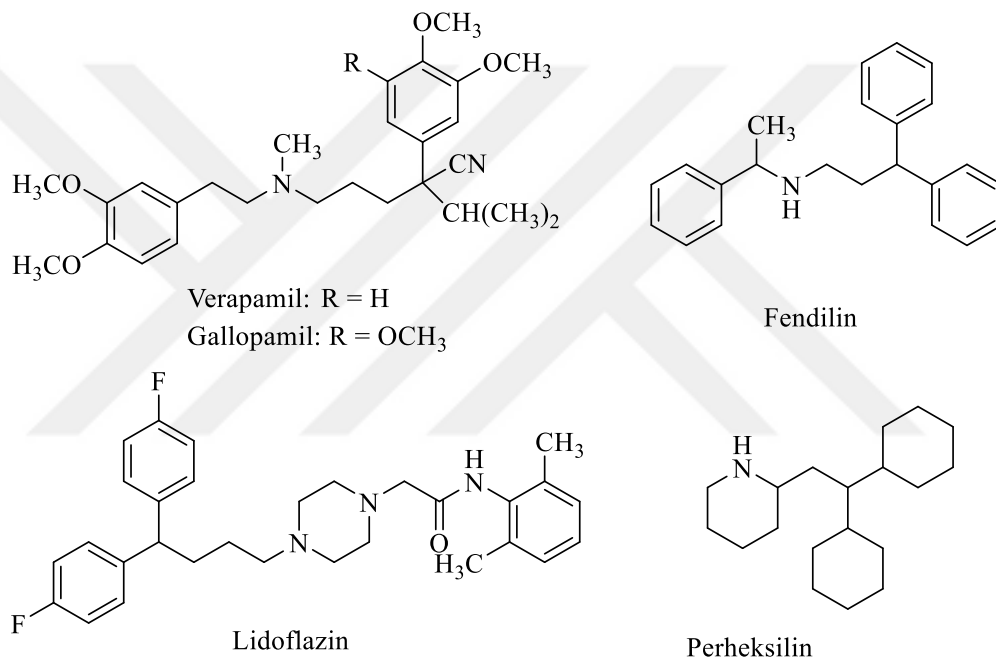
Şekil 2.19. 2-(Diarilalkil)aminobenzotiyazol yapısındaki bileşiğin tasarımı.

Nonselektif kalsiyum kanal blokörü olan mibefradil molekülü üzerinde değişik modifikasyonlar yapılarak anjina, hipertansiyon ve kardiyak aritmi tedavisinde kullanılabilecek yeni bileşikler elde edilmiştir (44) (Şekil 2.20).



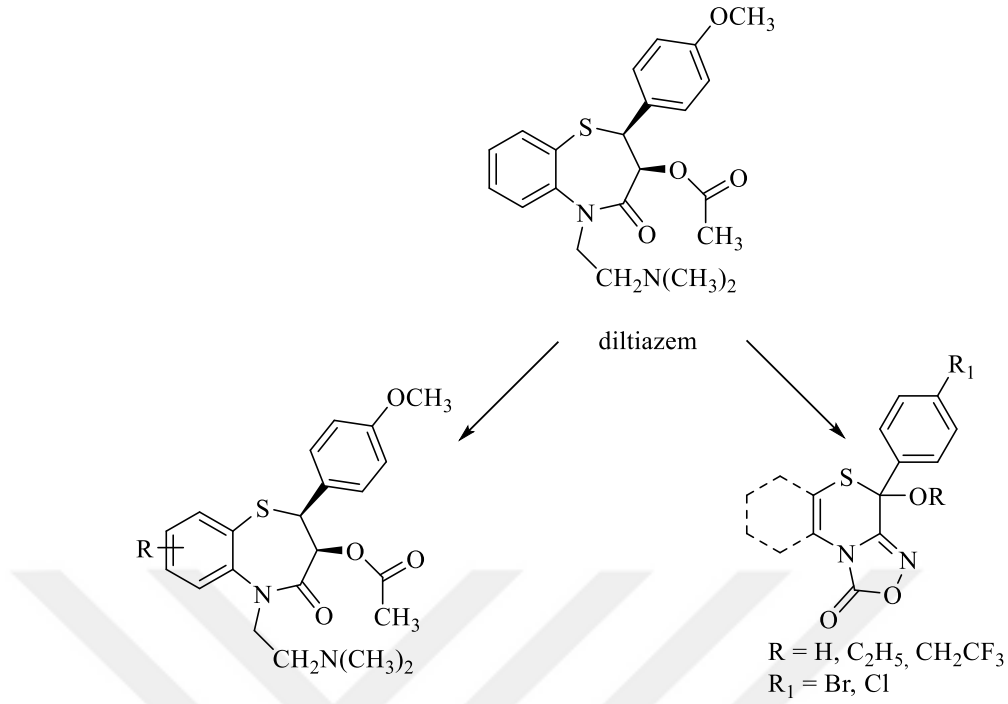
Şekil 2.20. Kalsiyum kanal blokör etkili mibefradil ve analogları.

Fenilalkilamin yapısına sahip L-tipi kalsiyum kanal blokörleri günümüzde kardiyak aritmi, hipertansiyon ve anjina pectoris tedavisinde klinikte kullanılmaktadır (45) (Şekil 2.21).



Şekil 2.21. Fenilalkilamin yapısındaki kalsiyum kanal blokörleri.

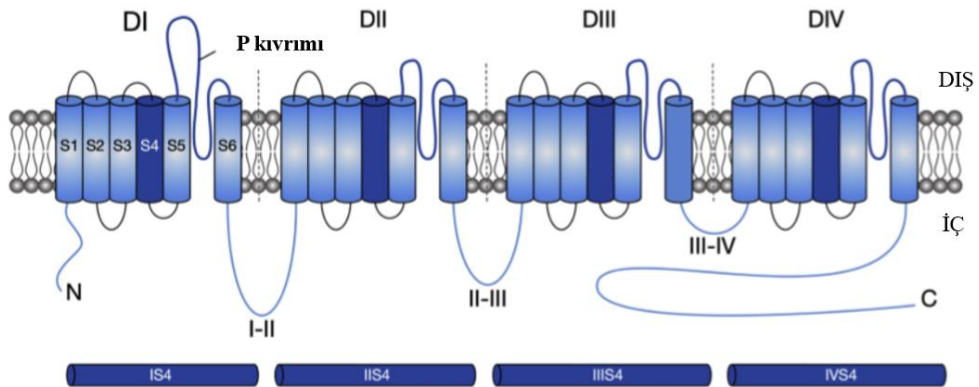
Benzotiyazepin yapısına sahip kalsiyum kanal blokörü olan diltiazem molekülü üzerinde de değişik modifikasyonlar yapılmış ve kalsiyum antagonist bileşiklere ulaşılmıştır (46) (Şekil 2.22).



Şekil 2.22. Diltiazem analogu kalsiyum kanal blokörleri.

2.1.3. T-tipi Kalsiyum Kanalları ve Fonksiyonları

T-tipi kalsiyum kanalları (Cav3) membran depolarizasyonundaki ufak değişikliklere cevap olarak açılan ve uyarılabilir hücrelerin içerisine kalsiyum girişini sağlayan kanallardır. T-tipi kanallarının yapısı, her biri altı transmembran sarmaldan oluşan dört homolog kısımdan oluşmaktadır (2,47) (Şekil 2.23).



Şekil 2.23. Cav3-porunu oluşturan alt biriminin membran topolojisi (47).

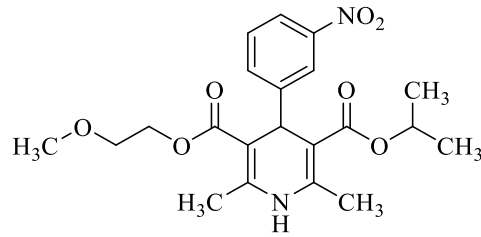
T-tipi kalsiyum kanalları aktive olduğu voltaj aralığı nedeniyle nöronal eksitabiliteyi düzenlemektedir. Nöron membranında dinlenme potansiyeli sırasında, T-tipi kalsiyum kanalları kısmen inaktive durumdadır. Kısa bir membran hiperpolarizasyonu kanalların açılması için yeterli olabilmektedir. Ayrıca aktivasyon ve inaktivasyon eğrilerinin çakışması da T-tipi kanalların nöronal eksitabiliteyi düzenlemesinde rol oynar (48). Bu görevinin yanısıra, T-tipi kanallar, kalsiyum girişi ile nörotransmitter ve hormon salınımına da aracılık eder (49). T-tipi kalsiyum kanal aktivitesi ayrıca kardiyovasküler ve renin-anjiyotensin sistemlerinin fonksiyonlarının sürdürülebilmesi için önemlidir. Anjiyotensin, T-tipi kalsiyum kanallarının regülasyonuna ve sonuçta aldosteron salınımında artışa neden olur. Dolayısıyla T-tipi kanallar, yeni antihipertansif ilaçlar için de önemli hedefler arasındadır (50).

Memeli hücrelerinde üç farklı T-tipi kalsiyum kanalı ekspres edilmektedir (Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3). Bu kanallar, benzer farmakolojik etkilere sahip olsalar da vücuttaki dağılımları ve bazı biyofiziksel özellikleri ile birbirinden ayrılmaktadır (51). Cav3.1 kalsiyum kanallarının özellikle uyku-uyanık kalma ve beslenme döngüsünde rol oynadığı (52), Cav3.3'lerin ise serebral arterlerde Cav1.2 ile birlikte kas hücrelerinin kasılmasına aracılık ettiği bilinmektedir (53).

Ağrı sinyali iletiminde baskın olan Cav3 kanal izoformu ise primer aferent nöronlarda çoğunlukla bulunan Cav3.2'dir. Bu kanallarının aktivitesi sinir hasarı ve viseral hipersensitivite ile artmaktadır. Cav3.2 kanallarının aferent eksitabilite ile spinal dorsal kökteki sinaptik fonksiyonları düzenlemeleri ve ağrı sırasındaki etkin fonksiyonları nedeniyle, bu kanalların bloke edilmesi analjezik etkiye neden olmaktadır (47,49,54).

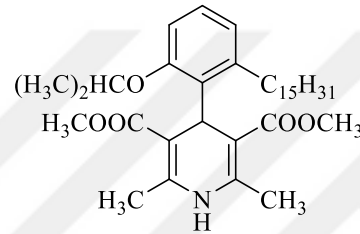
2.1.4. T-tipi Kalsiyum Kanal Blokörleri ve Kimyasal Yapıları

DHP'lerin genel olarak L-tipi kalsiyum kanallarını hedef aldığı bilinse de bazı türevlerinin T-tipi kalsiyum kanallarını da inhibe ettiği bilinmektedir (4,5,8). Tedavide antihipertansif olarak kullanılan nimodipin (Şekil 2.24) molekülünün ilk defa L-tipi kanallarının yanında T-tipi kalsiyum kanallarını da bloke ettiği gösterilmiştir (55).



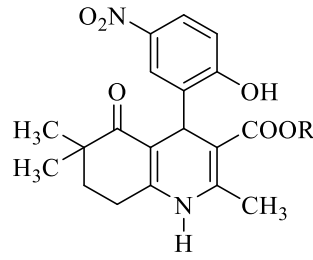
Şekil 2.24. Nimodipin.

Daha sonra dört numaralı fenil halkası üzerinde uzun alkil zinciri taşıyan DHP türevinin (Şekil 2.25) T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ettiği bulunmuştur (4).



Şekil 2.25. DHP yapısındaki T-tipi kalsiyum kanal blokörü.

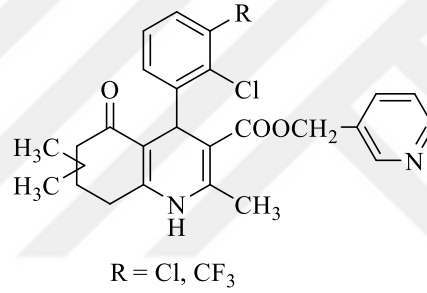
DHP halkasını kondanse halka sistemi (hekzahidrokinolin) içerisinde taşıyan bileşiklerin (Şekil 2.26) hem L-tipi hem de T-tipi kalsiyum kanal tiplerinden Cav3.1'i etkin bir biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir. Cav3.1 kanallarının aldosteron salınımında rol oynadığı bilinmektedir. Aldosteron salınımı hipertansiyona neden olduğu için bu bileşiklerin hem Cav3.1 hem de Cav1.2 inhibisyonuyla dual antihipertansif etki göstermeleri beklenmektedir. Bu bileşikler için fenil halkasının iki numaralı konumuna hacimli bir grup olan benzoiloksi sübsitüentinin getirilmesi kalsiyum kanal blokörü aktiviteyi önemli ölçüde azaltmıştır (5).



R: C₂H₅, CH₂C₆H₅, CH₂CH(CH₃)₂

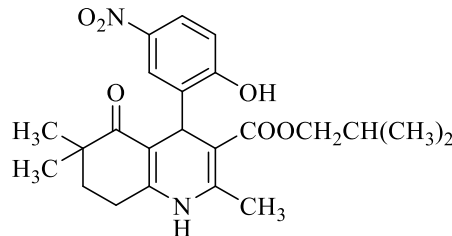
Şekil 2.26. Hekzahidrokinolin yapısındaki T-tipi kalsiyum kanal blokörleri.

Üç numaralı konumdaki ester yan zincirinde 3-piridilmetil grubunu taşıyan kondanse DHP türevlerinin (Şekil 2.27) Cav3.2 kanallarını selektif olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu bileşiklerin hayvan deneylerinde akut inflamatuvar ağrıyı ve sinir hasarıyla indüklenen mekanik hiperaljeziyi azalttıkları gösterilmiştir (6).



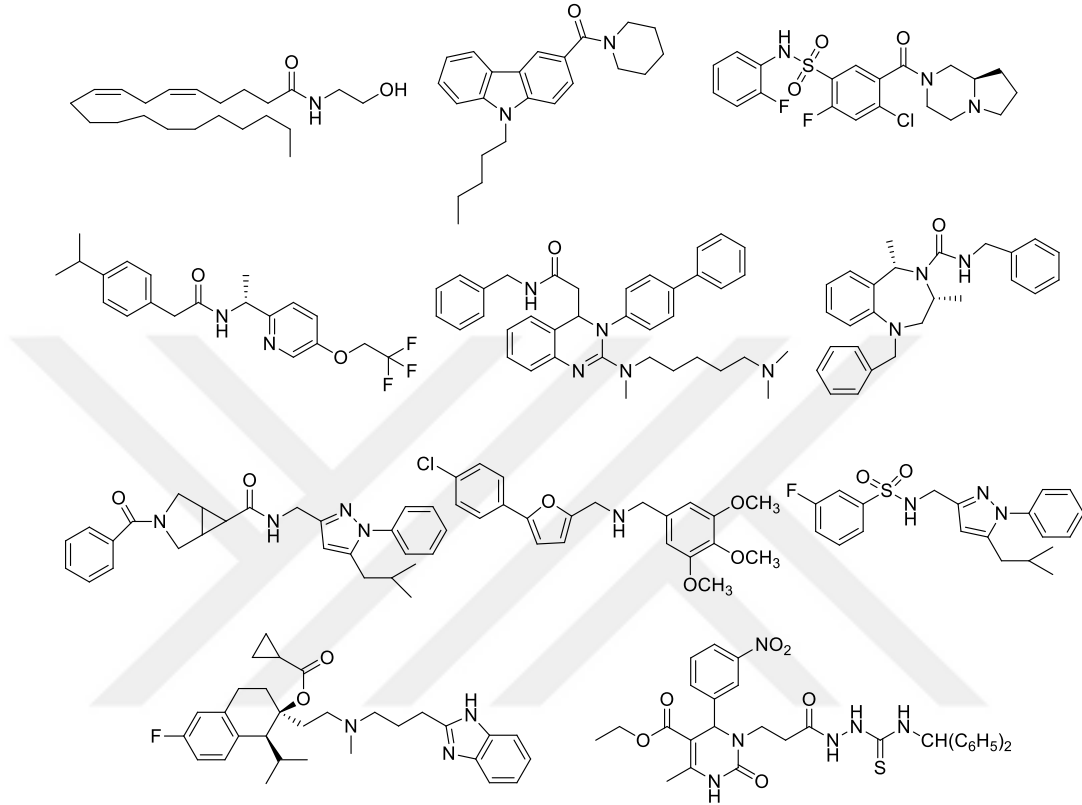
Şekil 2.27. Selektif Cav3.2 blokörü hekzahidrokinolin türevleri.

Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları üzerinde geniş spektrumlu inhibisyon yapabilen kondanse DHP türevi bir bileşiğin (Şekil 2.28) analjezik etkisi araştırılmıştır. Bu bileşiğin Cav1.2, Cav3.2 ve Cav2.2 (N-tipi) kalsiyum kanallarının hepsini etkili bir şekilde bloke etmesinin hem akut hem de kronik ağrı üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (7).



Şekil 2.28. Geniş spektrumlu kalsiyum kanal inhibitörü.

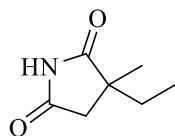
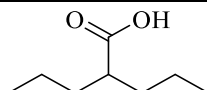
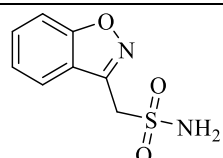
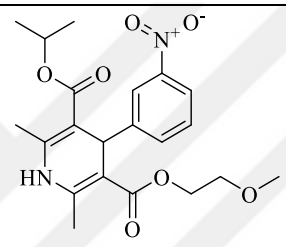
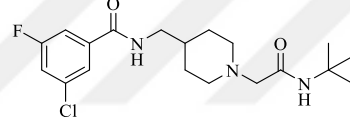
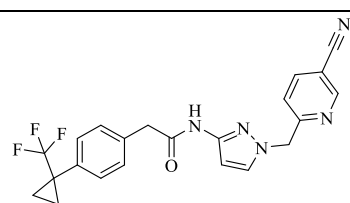
DHP türevleri dışında çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda birbirinden çok farklı kimyasal yapıya sahip bileşiklerin (Şekil 2.29) T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ettiği ve prelinik çalışmalarda analjezik etki sağladıkları gösterilmiştir (49).



Şekil 2.29. Farklı kimyasal yapıdaki analjezik etkili Cav3.2 inhibitörleri.

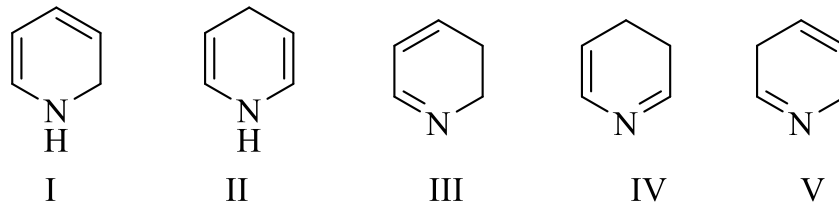
Günümüzde piyasada T-tipi kanal blokörü etkileri nedeniyle kullanılan veya faz aşamasında bulunan bileşiklerin yapıları, hedeflediği kalsiyum kanalları ve terapötik endikasyonları Tablo 2.3’de gösterilmiştir (47).

Tablo 2.3. Tedavide olan veya faz aşamasında bulunan T-tipi kanal blokörleri.

Bileşik	Kimyasal Yapı	Hedef	Endikasyon	Durum
Etosüksimit		T-tipi	Epilepsi	Onaylı
Valproik asit		T-tipi	Epilepsi – bipolar hastalık	Onaylı
Zonizamit		T-tipi	Epilepsi	Onaylı
Nimodipin		L-tipi ve T- tipi	Hipertansiyon	Onaylı
Z944		T-tipi	Ağrı	Faz II
ACT-709478		T-tipi	Epilepsi	Faz II

2.2. Dihidropiridinler

Dihidropiridin halkası, piridin'in kısmi indirgenmesiyle elde edilen bir halka sistemidir. Teorik olarak piridin halkasına iki hidrojen katımıyla beş adet dihidropiridin izomeri (Şekil 2.30) oluşumu mümkündür (56).

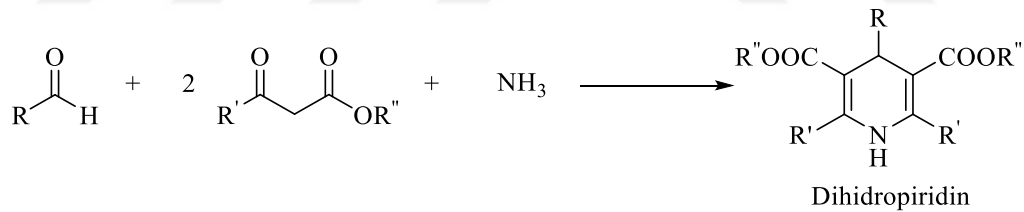


Şekil 2.30. Dihidropiridin izomerleri.

Bu izomerler arasında 1,2-dihidro (I) ile 1,4-dihidro (II) izomerleri, azot atomunun elektronlarının, π elektron sistemine katılmasından dolayı en kararlı izomerlerdir. (57).

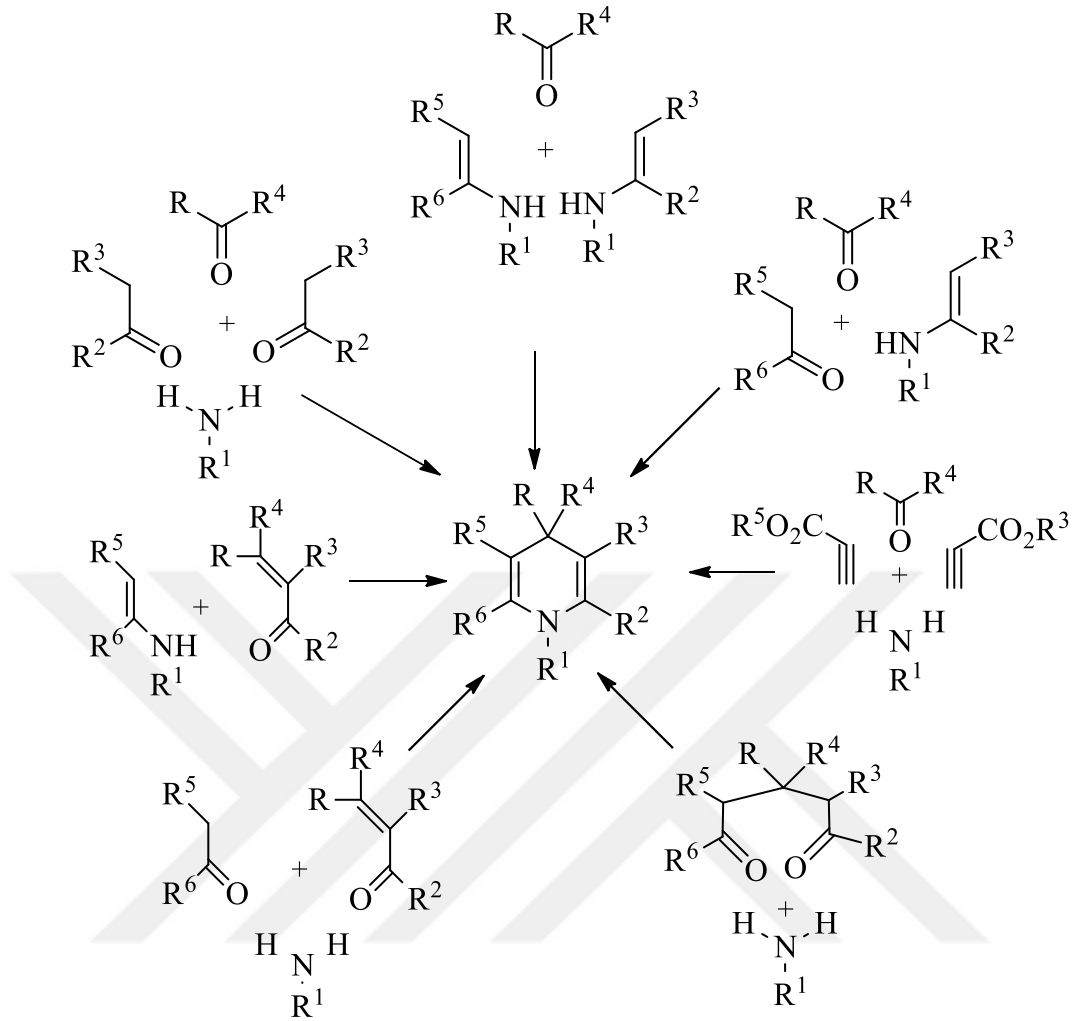
2.2.1. DHP Türevlerinin Sentezleri

DHP'lerin elde edilmesinde sıklıkla kullanılan kimyasal yöntem ilk kez 1882'de Arthur Hantzsch tarafından bildirilmiş olup bir mol aldehit bileşiği, iki mol β -ketoester ve bir azot kaynağı bileşiğin alkol içerisindeki reaksiyonuna dayanmaktadır (27) (Şekil 2.31). Azot kaynağı olarak, genellikle amonyak, amonyum asetat ve amonyum hidroksit kullanılmaktadır (8,57,58).



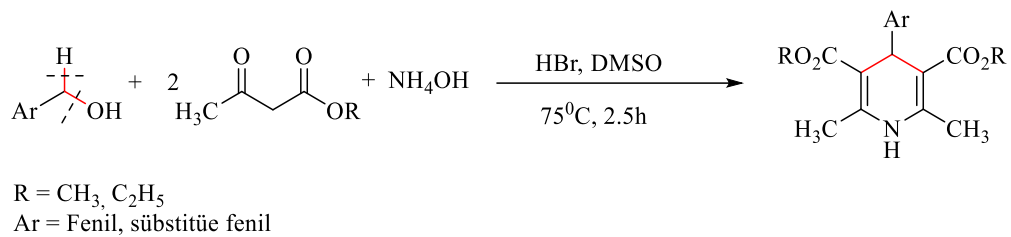
Şekil 2.31. Hantzsch reaksiyonu.

DHP türevlerinin sentezi için kullanılan Hantzsch reaksiyonunun literatürde bildirilen farklı uygulamaları Şekil 2.32'de verilmiştir (59).



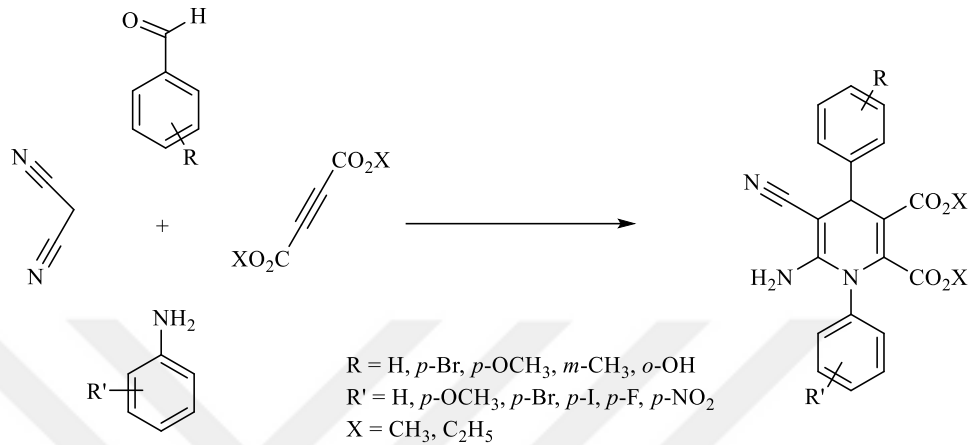
Şekil 2.32. Modifiye Hantzsch reaksiyonları.

Klasik Hantzsch reaksiyonuna alternatif olabilecek reaksiyon yöntemleri çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Rezaei ve arkadaşları, aldehit bileşiği yerine alkol grubu taşıyan bileşikler kullanarak DHP halkasını dimetilsülfoksit içerisinde hidrojen bromür varlığında oksidatif yöntemle elde etmişlerdir (60) (Şekil 2.33).



Şekil 2.33. Alkollerden hareketle DHP sentezi.

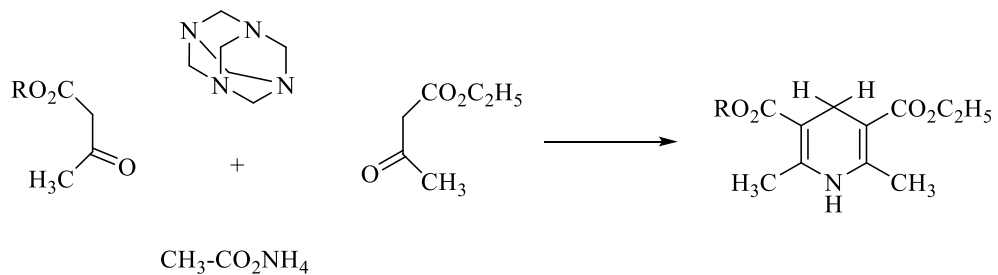
Hantzsch reaksiyonu sırasında kullanılan çevreye zararlı organik çözücülerin azaltılması da üzerinde durulan yaklaşımlardan olmuştur. Kumar ve arkadaşları DHP halkasını etanol-su içerisindeki reaksiyon ile elde etmişlerdir (61) (Şekil 2.34).



Şekil 2.34. DHP türevlerinin etanol-su karışımı içinde sentezi.

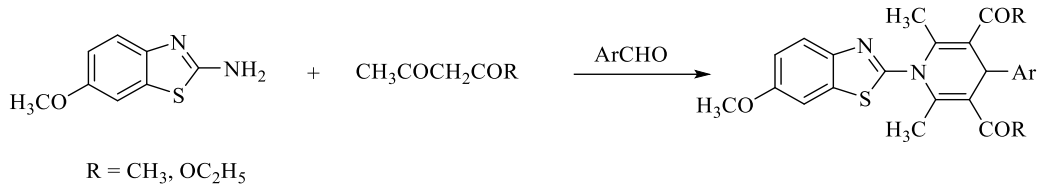
Hantzsch reaksiyonunu mikrodalga yardımıyla gerçekleştirmek reaksiyonun süresinin kısaltırken solvan kullanımını da azaltmaktadır. Bu nedenle pek çok araştırmacı tarafından bu yöntem tercih edilmektedir (62).

Dört numaralı konumda süstitüent taşımayan DHP türevlerinin mikrodalga yardımıyla sentezinde formaldehit kaynağı olarak heksametilentetramin bileşiği kullanılmaktadır (63) (Şekil 2.35).



Şekil 2.35. 4-Nonsüstitüe-DHP türevlerinin sentezi.

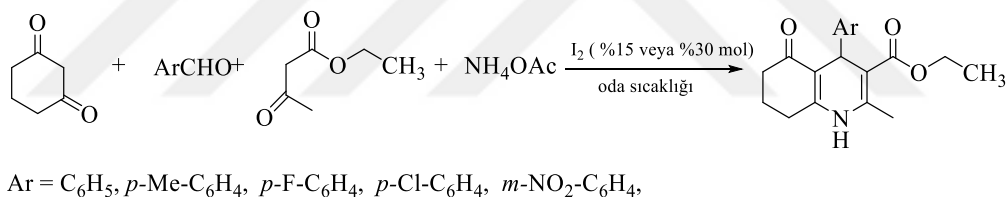
Mithlesh ve arkadaşları, N-tiyazolil-DHP türevlerinin sentezini hem konvansiyonel hem de mikrodalga yardımıyla gerçekleştirmiş ve mikrodalga kullanıldığında reaksiyonun daha yüksek verimle ve daha kısa zamanda yürüdüğünü göstermişlerdir (64) (Şekil 2.36).



Şekil 2.36. DHP türevlerinin konvansiyonel/mikrodalga yardımıyla sentezi.

Hantzsch reaksiyonu sonucunda elde edilecek DHP türevinin verimini katalizör kullanarak arttırmak da üzerinde durulan konulardan olmuştur. Bu amaçla kullanılan moleküler iyot, iyonik sıvılar, silika jelin üzerine adsorbe edilmiş perklorik asit ($\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$), serik amonyum nitrat, para-toluensülfonik asit (p-TSA), çeşitli polimer katalizörler, organik katalizörler ve trifenil fosfin ($\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$) literatürde bildirilen katalizörler arasındadır (65–67).

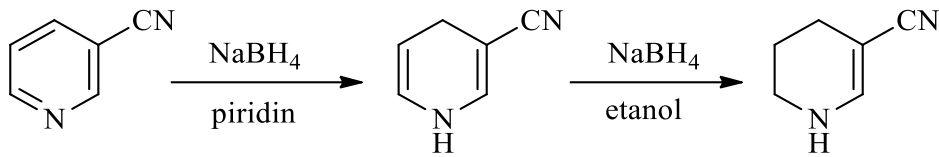
Ko ve arkadaşları Hantzsch reaksiyonunu moleküler iyot katalizörlüğünde oda ısısında karıştırarak etanol içerisinde gerçekleştirmiş ve iyot miktarının reaksiyon verimi üzerinde etkisini incelemişlerdir (68) (Şekil 2.37)



Şekil 2.37. İyot katalizörlüğünde Hantzsch reaksiyonu.

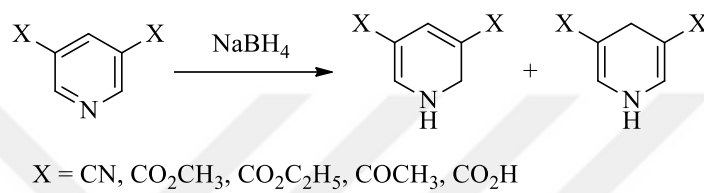
Piridin Türevlerinden Hareketle DHP Sentezi

DHP'ler piridin türevleri veya piridinyum tuzlarından hareketle de elde edilebilirler. Bu reaksiyonlar kompleks metal hidrürlerle indirgenme esasına dayanmaktadır. Lityum aliminyum hidrür (LiAlH_4) ile yapıldığında kararlı bir ürün elde edilemezken sodyum borhidrür ile (NaBH_4) piridinlerin DHP'ye dönüştüğü gösterilmiştir. DHP halkasının üç numaralı konumunda elektron çekici sübstituentler bulunması durumunda aprotik çözücüler içerisinde piridin halkası 1,4-DHP halkasına dönüşürken, protik çözücülerde tetrahidropiridin halkası elde edilmektedir (56) (Şekil 2.38).



Şekil 2.38. Piridinden hareketle dihidro ve tetrahidropiridin sentezi.

3 ve 5 numaralı konumlarında nitril, ester ve karboksilik asit taşıyan piridin türevlerinin sodyum borhidrür ile reaksiyonu sonucu 1,2- ile 1,4-DHP türevleri karışım halinde elde edilmektedir (56) (Şekil 2.39).

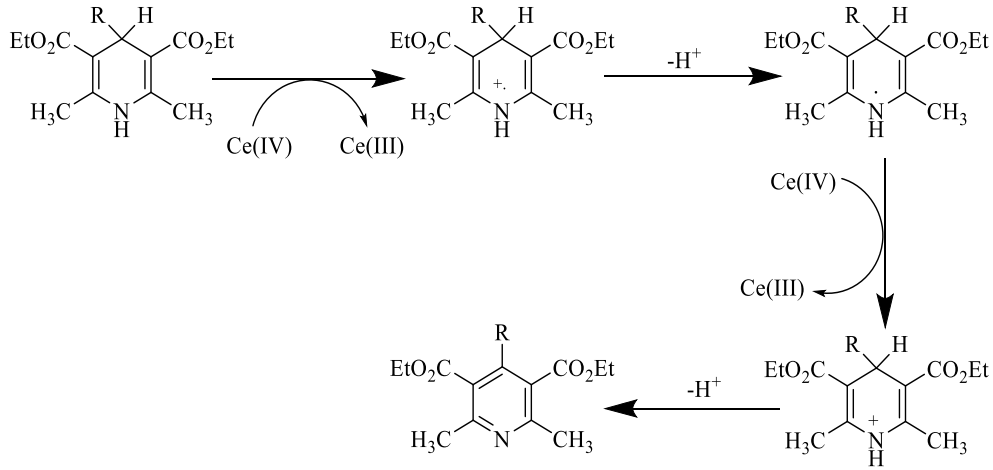


Şekil 2.39. Piridinden hareketle 1,2- ve 1,4-DHP sentezi.

2.2.2. DHP Türevlerinin Kimyasal Özellikleri

Oksidasyon

1,4-DHP halkasının uygun reaktiflerle piridin türevlerine okside olduğu bilinmektedir. Halkanın oksidasyonunda nitrik asit (HNO_3), krom trioksit (CrO_3) ve potasyum permanganat (KMnO_4) gibi kuvvetli oksidanlar yanı sıra Pd/C dehidrojenasyon yöntemi ve ışıkla oksidasyon da kullanılabilir (69–72). Ayrıca yüksek miktarda seryum amonyum nitrat (CAN) (Şekil 2.40) ve piridinyum klorokromat (PCC) gibi oksidanlar da bu amaçla kullanılmaktadır (73).



Şekil 2.40. 1,4-DHP'lerin CAN katalizörlüğünde oksidatif aromatisasyonu için önerilen mekanizma.

İndirgenme

Dihidropiridinlerin katalitik hidrojenlenmesi ile tetrahidro veya heksahidro türevleri elde edilebilmektedir. 1,2 ve 1,4-DHP türevlerinin hidrojenasyon ile birbirinden ayrılabilceği gösterilmiştir. 1,2-DHP yapısına sahip bileşikler 1 mol hidrojen ile tetrahidropiridinleri verirken, 1,4-DHP'lerin yavaş bir şekilde piperidine redüklendikleri gösterilmiştir (57).

2.2.3. DHP Türevlerinin Spektral Özellikleri

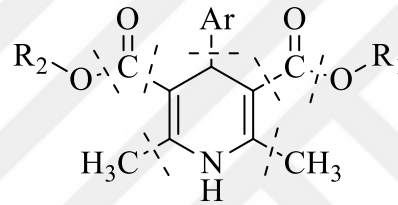
Nükleer Manyetik Rezonans Spektrumları

Günümüzde hipertansiyon tedavisinde kullanılmakta olan DHP yapısındaki kalsiyum kanal blokörü bileşikler (nifedipin, nitrendipin, nisoldipin, nimodipin, nilvadipin, felodipin, isradipin, nikardipin ve amlodipin) üzerinde yapılan detaylı NMR çalışmaları sonucunda; N-H protonu, ^1H -NMR spektrumlarında kullanılan çözücüye bağlı olarak farklı aralıklarda izlenmiştir. Buna göre, aseton- d_6 içinde elde edilen spektrumlarda sözü edilen proton 7.97-9.07 ppm aralığında; çözücü olarak CDCl_3 kullanıldığı durumlarda ise 5.60-7.50 ppm değerinde görülmüştür. DHP halkasının karakteristik sinyallerinden olan dört numaralı konumdaki proton ise çözücü tipinden bağımsız olarak 5.06-5.78 ppm arasında izlenmiştir. İki ve altı numaralı konumlardaki metil grupları da yine çözücü farklılığından etkilenmeyerek 2.29-2.44 ppm değerinde gözlenmiştir. 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 (74).

Kütle Spektrumları

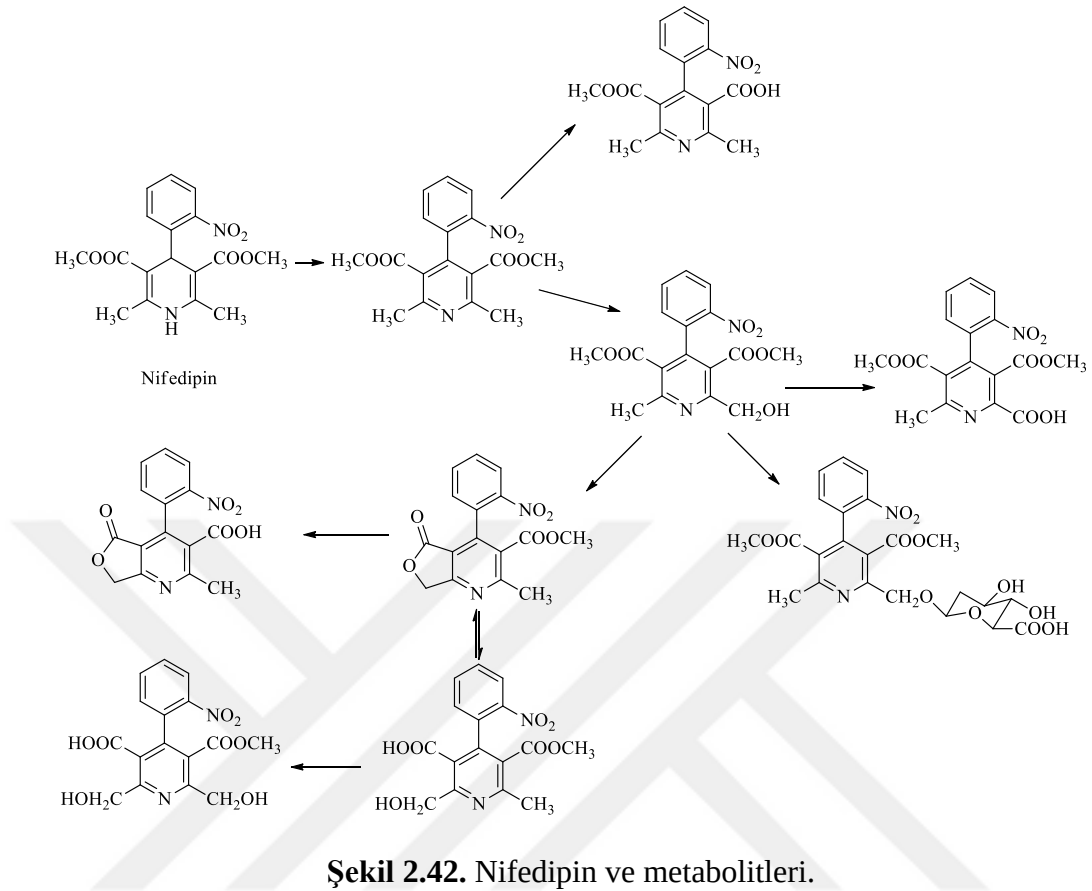
DHP türevi bileşiklerin kütle spektrumlarında en sık görülen parçalanma molekülden hidrojen ayrılması veya dört numaralı konumdaki süstitüentin kaybıyla piridinyum iyonu oluşumudur. Piridinyum katyonu oluşumunu takip eden diğer parçalanmaların ise halka üzerindeki süstitüentlerin ayrılması ve DHP halkasının açılması olduğu bilinmektedir (75).



Şekil 2.41. DHP türevlerinin temel parçalanmaları.

2.2.4. DHP Türevlerinin Farmakokinetik Özellikleri

DHP türevlerinin prototipi olan ve hipertansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılan nifedipinin, dilaltı ve oral alımı takiben gastrointestinal sistemden neredeyse tamamına yakını absorbe olur. Presistemik metabolizma nedeniyle, biyoyaralanımı % 56-77 arasındadır. 10 mg dozda oral alımdan sonra, 30-60 dakika içerisinde maksimum değeri olan 160 ± 49 mikrogram/litre plazma konsantrasyonuna ulaşır. Nifedipinin vücuttan atılımı büyük oranda hepatik metabolizma ile gerçekleşir (76). DHP'lerin en karakteristik biyotransformasyon yolağı piridine oksidasyonlarıdır. Ayrıca ester gruplarının hidrolizi, iki numaralı metil grubunun hidroksilasyonu takiben karboksilik asite oksidasyonu veya O-glukuronidasyonu bilinen diğer temel metabolik yolaklardır. Lakton oluşumunu takiben hidroksi karboksilik asit metaboliti de gözlenmektedir (77). Nifedipinin izole sıçan hepatositlerindeki metabolik yolağı Şekil 2.41'de gösterilmiştir.



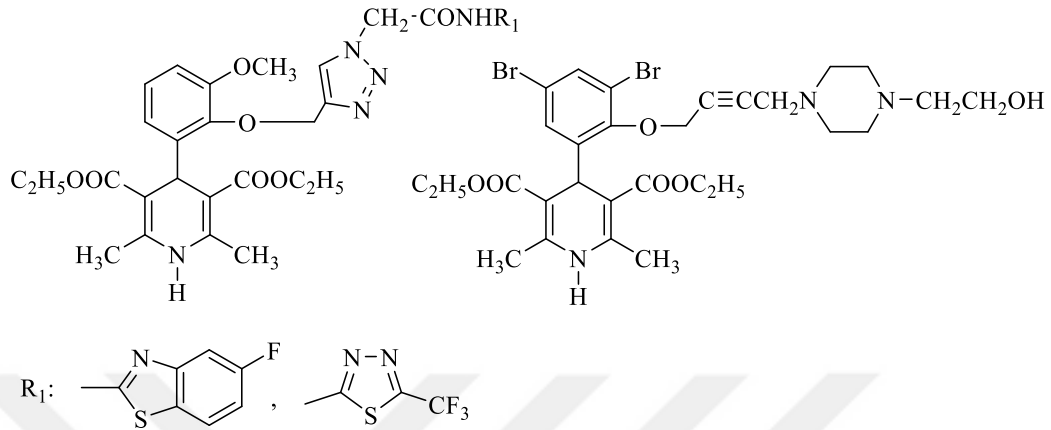
2.2.5. DHP Türevlerinin Diğer Farmakolojik Etkileri

Yapısında DHP halkası taşıyan bileşiklerin literatürde çok sayıda farklı farmakolojik özellikleri bildirilmiştir (31,78–80). Bu konuda yapılan güncel araştırmalardaki tasarım yaklaşımları ve bildirilen aktiviteler tez kapsamında incelenmiştir.

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim İnhibitör Etkileri

Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi kardiyovasküler sistemin fizyolojik ve patolojik süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Primer efektör hormon olan Anjiyotensin II, vazokonstrüksiyon ve kan basıncının düzenlenmesinde etkilidir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim, Anjiyotensin I'in, Anjiyotensin II'e dönüştürülmesinden sorumludur. Bu nedenle, hipertansiyon tedavisinde Anj II inhibisyonu sağlayan yeni bileşiklerin sentezi önem taşımaktadır (36). Yapısında triazol halkası ya da Mannich bazı taşıyan DHP türevlerinin (Şekil 2.42) sentezi

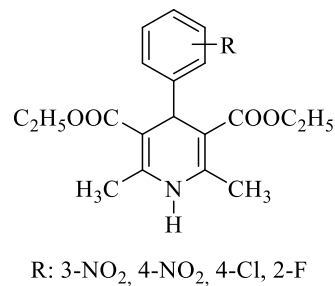
yapılmış anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibisyonları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre triazol halkası taşıyan bileşikler daha etkili bulunmuştur (81).



Şekil 2.43. ACE inhibitör etkili DHP türevleri.

Alfa Glukozidaz İnhibitör Etkileri

İntestinal α -glukozidaz enzimi disakkarit ve oligosakkaritlerin bağırsak lümeninden absorbe edilen monosakkaritlere yıkımından sorumludur. Dolayısıyla bu enzimin inhibisyonu diyabet tedavisinde kullanılan bir yaklaşımdır (82). Dört numaralı konumunda farklı sübstitüentler taşıyan dietil 2,6-dimetil-DHP-3,5-dikarboksilat türevleri (Şekil 2.43) sentezlenmiş ve α -glukozidaz inhibitör etkileri incelenmiştir. Dört numaralı konumda aromatik sübstitüentlerin, alifatiklere göre aktiviteyi artırdığı, nitro ve halojen taşıyan bileşiklerin de güçlü enzim inhibisyonu yaptığı bildirilmiştir (83).

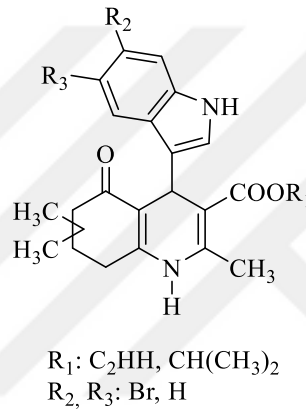


Şekil 2.44. α -Glukozidaz inhibitörü DHP türevleri.

Antitüberküler Etkileri

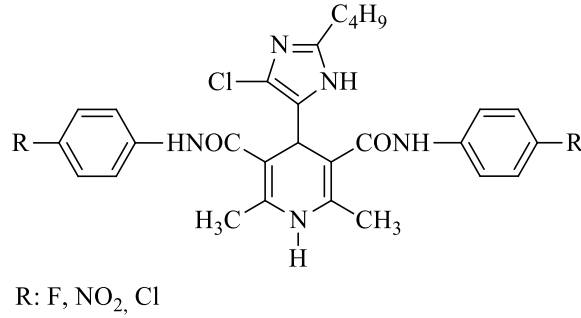
Tüberküloz, akciğeri etkileyen ve vücutta bağışıklığın azalmasına neden olan *Mycobacterium tuberculosis*'in neden olduğu bir hastalıktır. Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlara direnç gelişmesi farklı yapıdaki etkin bileşiklerin araştırılmasına neden olmaktadır (84).

Dört numaralı konumunda indol halkası taşıyan kondanse DHP türevlerinin (Şekil 2.44) *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu bileşikler içinde ester yan zincirinde etil ve izopropil grubu taşıyanlarda daha yüksek aktivite bulunmuştur (85).



Şekil 2.45. Antitüberküler etkili 4-indolil-DHP türevleri.

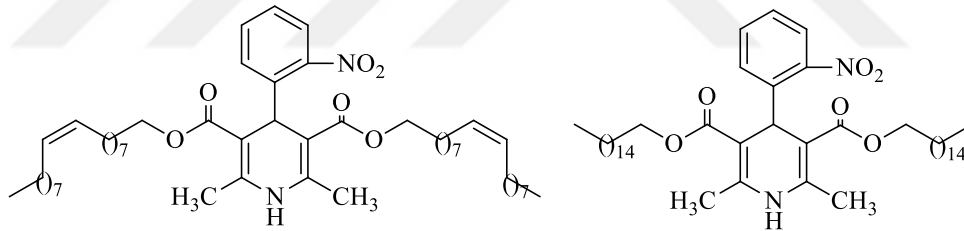
Desai ve ark. antitüberküler etkili 4-imidazolil-3,5-dikarbamoil-1,4-DHP türevlerinin (Şekil 2.45) sentezini ve akitivite tayinini bildirmiştir. Bileşikler, kalsiyum kanal blokörü etkiden büyük ölçüde sorumlu olan üç ve beş numaralı konumlardaki ester gruplarının, aril karboksamit yapısıyla değiştirilmesiyle tasarlanmıştır. Böylelikle tüberküloz tedavisinde yan etki olarak görülebilecek antihipertansif etkinin önüne geçilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre fenil halkası üzerinde para konumunda elektron çeken sübstitüentlerin olması aktiviteyi arttırmıştır (86).



Şekil 2.46. Antitüberküler etkili 4-imidazolil-3,5-dikarbamoil-DHP türevleri.

Antioksidan Etkileri

Antioksidanlar, serbest radikallerin zarar verici etkisine karşı makromoleküllerin oksidasyonunu azaltarak ya da engelleyerek etki gösteren moleküllerdir (87). Ester grubunun yapısında uzun zincirli yağ asitleri taşıyan DHP türevlerinin (Şekil 2.46) antioksidan aktiviteleri farklı yöntemlerle kanıtlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, dört numaralı konumdaki fenil halkası üzerinde nitro grubu taşıyan türevlerle, yağ asiti olarak palmitik ve oleik asit zinciri taşıyan türevler daha etkili bulunmuştur (88).

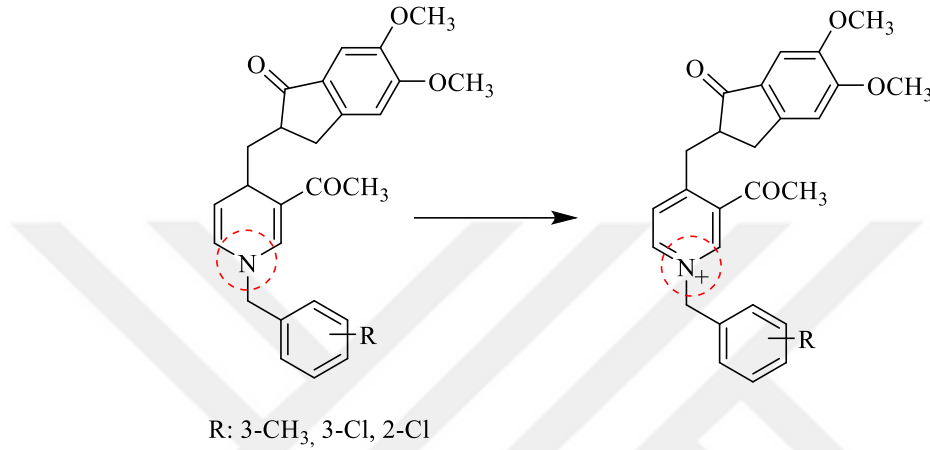


Şekil 2.47. Antioksidan etkili DHP türevleri.

Alzheimer Hastalığı Tedavisindeki Etkileri

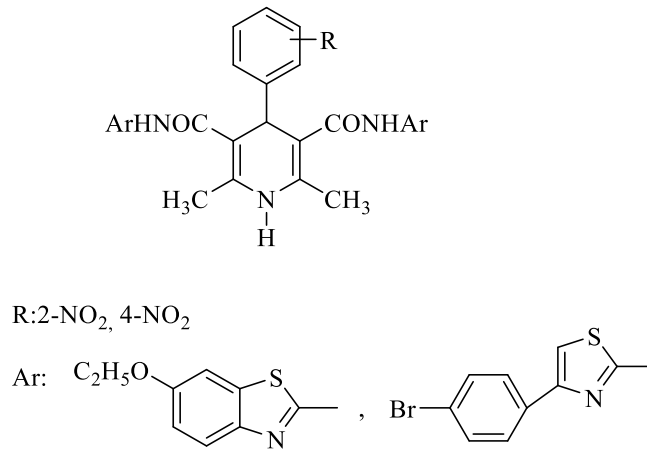
Alzheimer hastalığı ilerleyen yaşlarda amiloit plak oluşumuyla karakterize ve demans ile seyreden nörodejeneratif bir hastalıktır. Şu an tedavide kullanılan bileşikler olmasına rağmen, hastalığın tedavisinin tam olarak sağlanamamış olması nedeniyle farklı mekanizmalarla etki gösteren yeni bileşik arayışı devam etmektedir (89,90). Şu anda tedavide asetilkolin esterase inhibitörü olarak kullanılmakta olan donepezil, galantamin ve rivastigmin bileşikler yapılarında fizyolojik pH'da protonlanabilen azot atomu taşımaktadır. Enzimle etkileşimde oluşan pozitif yükün önemli olduğu düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında,

Peauger ve ark. DHP halkasının vücutta biyotransformasyon sonucu piridin halkasına okside olduğu bilgisini baz alarak donepezil benzeri DHP türevi bileşikler (Şekil 2.47) sentezlemiş ve asetilkolin estera inhibitörü etkilerini araştırmıştır. Elde edilen verilere göre DHP türevlerinin çoğu inaktif bulunurken, ilgili N-benzilpiridinyum tuzlarının, asetilkolin estera inhibityonu etkilerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (91).



Şekil 2.48. DHP yapısı taşıyan donepezil analogları.

β -Sekretaz-1 (BACE-1) enzimi, Alzheimer hastalığı patogeneğinde önemli olan toksik amiloit β üretiminde rol oynayan bir enzimdir. Bu nedenle BACE-1 inhibitörü molekül geliştirilmesi klinik olarak üzerinde durulan yaklaşımlardandır (92). 3,5-bis-N-(aril/heteroaril)karbamoil-4-aril-DHP türevleri (Şekil 2.48) sentezlenmiş ve BACE-1 inhibitör aktiviteleri bildirilmiştir. Bu bileşikler arasında, karbamoil yapısında tiyazol halkası taşıyan ve DHP halkasının dört numaralı konumunda nitrofenil halkası taşıyan bileşikler en aktif bulunmuştur (93).

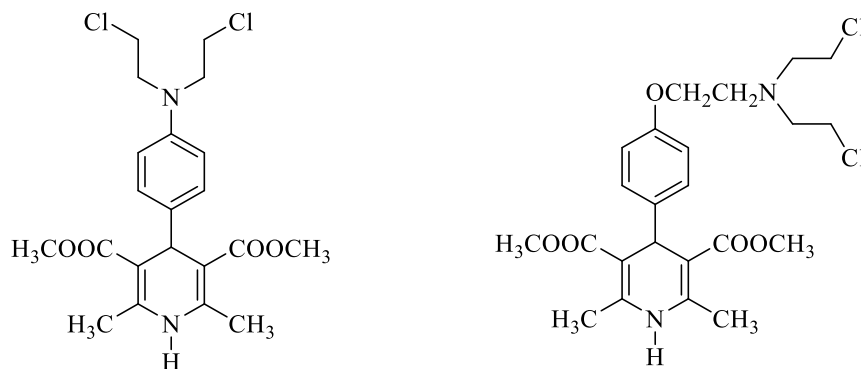


Şekil 2.49. BACE-1 inhibitörü DHP türevleri.

Antikanser Akitivite

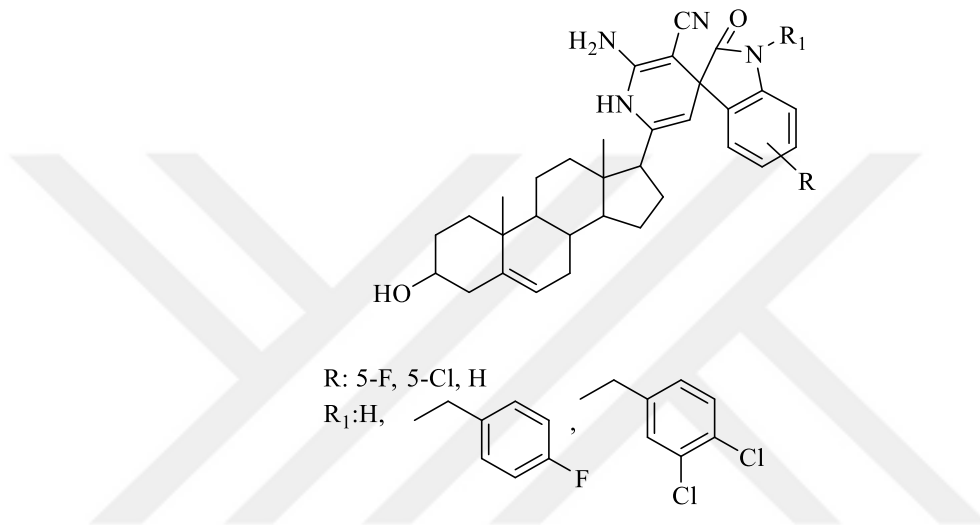
Kanser, hücrelerin hızlı ve kontrolsüz bir şekilde proliferasyonu ile karakterize bir hastalık olup, insan sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Kemoterapi, cerrahi müdahale ve radyoterapi ile birlikte temel tedavi yaklaşımlarındandır. Buna karşılık, doz kısıtlayıcı toksisite ve ilaca karşı gelişen direnç tedaviyi kısıtlamakta ve yeni sitotoksik ajanların geliştirilmesine duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır (94).

Singh ve ark., sitotoksik özellikte yapısında DHP taşıyan azotlu hardal türevleri geliştirirken hibrit-farmakofor yaklaşımını kullanmışlardır. Elde edilen bileşiklerin sitotoksik etkileri farklı hücre hatları üzerinde denenmiştir (95) (Şekil 2.49).



Şekil 2.50. Antikanser etkili DHP taşıyan azotlu hardal bileşikler.

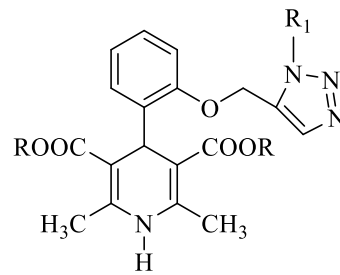
Zhang ve ark., steroidal DHP türevleri sentezlemiş ve antikanser etkinliklerini incelemiştir. Steroidal yapıdaki ilaçlar şu anda klinikte tedavide kullanılmakta ya da klinik araştırmaları devam etmektedir. Bu nedenle sitotoksik etkisi bildirilmiş DHP türevleriyle steroidal bileşiklerin kombine edilmesi amaçlanmıştır. Bileşiklerin sitotoksik etkileri farklı hücre hatları üzerinde denenmiş ve elde edilen sonuçlar 5-fluorourasille karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bazı bileşiklerde antikanser aktivite gösterilmiştir (96) (Şekil 2.50).



Şekil 2.51. Antikanser etkili steroidal DHP türevleri.

Antimikrobiyal Aktivite

Enfeksiyon kaynaklı hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar ve kanserle birlikte yaşamı tehdit eden en önemli hastalıklar arasında yer almaktadır. Tedavide kullanılan ilaçlara karşı gelişen direnç, antimikrobiyal tedaviyi zorlaştırmakta ve farklı kimyasal yapıya/meکانizmaya sahip yeni bileşiklerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır (97). Bu amaçla, 1,2,3-triazol-DHP hibrit molekülleri (Şekil 2.51) sentezlenmiş ve çeşitli bakteriler üzerinde etkileri incelenmiştir. Bazı türevlerin pozitif kontrol olarak kullanılan tetrasiklin bileşiğine benzer aktivite gösterdiği saptanmıştır (98).

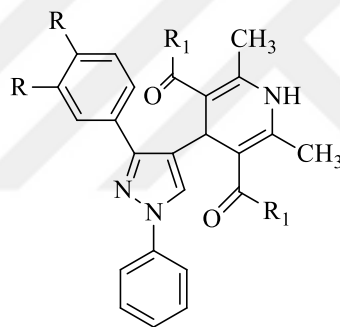


R: CH₃, C₂H₅

R₁: -CH₂C₆H₅, -CH₂COOCH₃

Şekil 2.52. Antimikrobiyal etkili 1,2,3-triazol-DHP hibrit molekülleri.

Viveka ve ark. yapısında pirazol halkası taşıyan DHP türevleri (Şekil 2.52) sentezlemiş ve bileşiklerin antibakteriyel etkilerini incelemiştir. Antibakteriyel etkili pirazol halkasının DHP halkasıyla kombine edilmesi aktif yeni türevlere ulaşılmasına olanak sağlamıştır (99).



R = Cl, F

R₁ = -OC₂H₅, -OCH₃, -CH₃

Şekil 2.53. Antibakteriyel etkili pirazolil-DHP türevleri.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler ve çözücüler ticari firmalardan (Merck, Sigma-Aldrich, Isolab) sağlanmıştır. Tez maddelerini elde etmek için uygulanan reaksiyonlar Discover mikrodalga cihazı (CEM, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin saflıkları ilk olarak silika jel 60 F254 ile kaplanmış alüminyum plaklarda ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi ile belirlenmiştir. Mobil faz olarak etil asetat:hekzan (6:4) kullanılmış, maddelere ait lekeler 254 nm’ de UV cihazı (Camag UV Cabinet, Almanya) ile belirlenmiştir. Bileşiklerin erime dereceleri, ‘Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus’ (Philadelphia, PA, USA) erime derecesi tayin cihazıyla saptanmış ve sonuçlar düzeltilmemiştir. Bileşiklerin IR spektrumları, Perkin Elmer FT-IR (Beaconsfield, UK) MIRacle ATR accessory (Pike Technologies) kullanılan spektrofotometrede toz numune üzerinden alınmış ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirilmiştir. Bileşiklerin ^1H -NMR (400 MHz) ve ^{13}C -NMR (100 MHz) spektrumları, dötero dimetilsülfoksit (DMSO-d_6) içerisinde Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digital FT-NMR Spektrometre (Palo Alto, CA, USA) cihazı ile elde edilmiştir. Kimyasal kayma değerleri, ppm olarak tetrametilsilan (TMS) standardı kullanılarak belirlenmiştir. Piklerin yarılmaları s (singlet), d (doublet), dd (doubletin doubleti) ve m (multiplet) olarak bildirilmiştir. Etkileşme sabiti değerleri (J değeri) Hz cinsinden verilmiştir. Bileşiklerin kütle spektrumları elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi ile “Micromass ZQ LC-MS Spectrometer” (Waters, Eschborn, Almanya) cihazı ve “Mass Lynx” yazılımı kullanılarak alınmıştır. Bileşiklerin karbon, hidrojen ve azot elementlerinin analizi Leco CHNS-932 Analyzer (Philadelphia, PA, USA) cihazı kullanılarak yapılmıştır.

3.1.2. Genel Sentez Yöntemi

DHP türevlerinin sentezi için; 1 mmol 4,4-dimetil-1,3-sikloheksadion, 1 mmol uygun salisilaldehit türevleri, 1 mmol benzil asetoasetat (**HM 1-8**) /2-

(metakriloiloksi)etil asetoasetat (**HM 9-16**) ve 5 mmol amonyum asetat, 5 mL absölü etanol içinde çözölmüş ve 10 dakika boyunca mikrodalga ışımasına (100W) tabi tutulmuştur. Ardından reaksiyon soğutulmuş, buzlu suya dökölmüş ve çöken katı süzülmüştür. Elde edilen ürün, etanol-su karışımından kristallendirilerek saflaştırılmıştır.

3.2. X-Işınları Analizi

HM8 ve **HM12**'nin X ışınları analizi, Pakistan Sargodha Üniversitesi Fizik Bölümü'nde MoK α grafit-monokromatize radyasyon kullanılarak, Bruker Kappa APEXII CCD difraktometresi ile 296 K'de gerçekleştirilmiştir. Yapı SHELXS97 (100) kullanılarak çözölmüş ve SHELXL-2014/7 kullanılarak iyileştirilmiştir (101). Bileşiklerin ORTEP grafikleri, PLATON kullanılarak elde edilmiştir (102).

3.3. Kalsiyum Kanal İnhibisyonu

3.3.1. tsA-201 Hücre Kültürü ve Transfeksiyonu

İnsan embriyonik böbrek tsA-201 hücreleri ekilmiş ve literatürde kayıtlı kalsiyum fosfat yöntemi kullanılarak transfekte edilmiştir (103). Hücreler cam lameller üzerinde insan Cav3.2 cDNA / sıçan Cav1.2 cDNA ve alt üniteler Cav β 1b ve Cav α 2 δ 1 ile transfekte edilmiştir. Bu karışıma, pEGFP (0.5 μ g) transfeksiyon markerı olarak ilave edilmiştir.

3.3.2. Elektrofizyoloji

Elektrofizyolojik kayıtlar, transfeksiyondan 72 saat sonra *patch-clamp* tekniğı kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Kullanılan kayıt çözeltisi pH 7.4'te, 10 mM glukoz, 10 mM HEPES, 65 mM CsCl, 40 mM TEACl, 1 mM MgCl₂ ve 20 mM BaCl₂ içermektedir. Borosilikat cam pipetler, 140 mM CsCl, 2.5 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM EGTA, 10 mM HEPES, 2 mM Na-ATP ve 0.3 mM Mg-GTP, içeren çözelti (pH 7.3) ile doldurulmuştur. Test edilen bileşikler 10 μ M konsantrasyonda kayıt çözeltisinde taze olarak hazırlanmış ve hücrelere lokal olarak uygulanmıştır. Cav3.2 akımları -110mV dinlenme potansiyelden -20 mV test potansiyeline, Cav1.2 akımları ise -90mV'dan +20 mV test potansiyeline

depolarizasyonla sağlanmıştır. Test titreşimleri, her 20 saniyede bir 100 ms olarak uygulanmıştır.

3.4. Doking Çalışmaları

Cav1.2 ye karşı en aktif bileşiklerden biri olan **HM12**'nin formülü MOE 2018 (104) ile çizilmiş ve konformasyonları Corina 3.00 ile oluşturulmuştur (105). *Michael* akseptör ve sistein aminoasiti arasındaki öngörülen kovalent bağlanma molekülde ikinci bir asimetrik merkez meydana getirmektedir. Bu nedenle, dört olası izomer de çizilmiştir. **HM12**'nin hazırlanan izomerleri L-tipi kalsiyum kanalının daha önce oluşturulmuş homoloji modeline yerleştirilmiştir (8). Doking işlemi GOLD 5.6.3 (106) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DHP bağlanma bölgesini oluşturan aktif bölge aminoasitleri (GLN1069, MET1134, PHE1138, SER1141 TYR1178, TYR1489 and MET1490) (107–112) ve CYS1492 doking işlemi için seçilmiştir. Elde edilen sonuçlar LigandScout 4.2 (113) ile analiz edilmiştir.

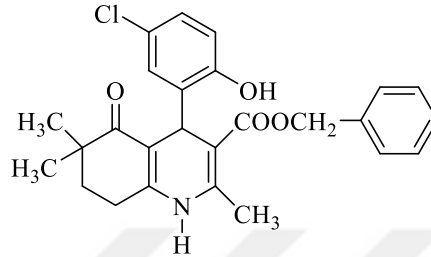
3.5. Glutasyon İnkübasyon Testi

HM12-16 ve glutasyonun (GSH) 20 mM stok çözeltileri sırasıyla, 200µL DMSO ve 10 mL Milli-Q saf su içerisinde hazırlanmıştır. Her bileşiğin stok çözeltisinden 50 µL ile 450µL glutasyon çözeltisi, her bir vial 2 mM bileşik ve 18 mM GSH içerecek şekilde HPLC viallerine alınmıştır. Deneyde kullanılan kütle spektrometri sistemi, Shimadzu 8030 elektrosprey iyonizasyonu (ESI) kütle spektrometresi (Shimadzu Corp, Kyoto, Japonya) ile Shimadzu LC-20AXR (Shimadzu Corp, Kyoto, Japonya) sıvı kromatografisinden oluşmaktadır. Deteksiyon 100-1000 m/z tarama aralığında pozitif elektrosprey iyonizasyonla gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyonlar direkt infüzyonla yapılmış olup; önemli sistem parametreleri şu şekildedir: mobil faz: su-asetonitril (%50 su [%0.1 v/v formik asit] ve %50 asetonitril [%0.1 v/v formik asit]), 0.250 mL/dk akış hızı, 5 µL enjeksiyon hacmi, 4500 V ESI voltaj. Ardışık enjeksiyonlar aynı vialden 0 ve 120. dakikalarda uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Çalışmalar

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-5-klorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM1)



5-Klorosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %59.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 213-215 °C'dir.

IR spektrumunda 3432 (O-H), 3316 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2966 (C-H gerilim, alifatik), 1704 (C=O gerilim, ester), 1656 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1197 (C-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 0,94 (3H; s; 6-CH₃), 1,02 (3H; s; 6-CH₃), 1,67-1,73 (2H; m; H-7); 2,36 (3H; s; 2-CH₃), 2,49-2,55 (2H; m; H-8), 4,93 (1H; s; H-4), 4,93; 5,05 (2H, AB sistem, $J_{AB} = 13,6$ Hz, $\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 6,72 (1H; d; $J=8.4$ Hz; Ar-H₃), 6,79 (1H; d; $J=2.8$ Hz; Ar-H₆), 7,02 (1H; dd; $J=8,4/2,8$ Hz; Ar-H₄), 7,04-7,25 (5H; m; -CH₂-C₆H₅), 9,49 (1H; s; O-H), 9,82 (1H; s; N-H) ppm'de pikler görülür.

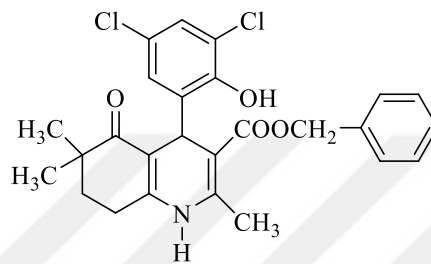
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 18,1 (2-CH₃), 23,1 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,3 (C-7), 33,5 (C-4), 39,6 (C-6), 64,6 (-COOCH₂-), 102,4 (C-3), 107,9 (C-4a), 118,6, 122,9, 126,9, 127,0, 127,4, 127,5, 128,1, 128,2, 128,3, 135,8, 136,6 (aromatik karbonlar), 146,1(C-2), 152,6 (C-8a), 152,7 (aromatik karbon), 166,2 (-COOCH₂-), 202,4 (C-5) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 474/476 $[\text{M}+\text{Na}]^+(100\%)/[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ da pikler görülür.

Analiz: C₂₆H₂₆ClNO₄ (M.A. 451,94) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	69,10	5,80	3,10
Bulunan :	68,95	5,83	3,13

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-3,5-diklorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM2)



3,5-Diklorosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %65.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 213-215 °C'dir.

IR spektrumunda 3442 (O-H), 3312 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2928 (C-H gerilim, alifatik), 1704 (C=O gerilim, ester), 1651 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1194 (C-O gerilim) cm⁻¹ de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (δ, DMSO-*d*₆): 0,98 (3H; s; 6-CH₃), 1,05 (3H; s; 6-CH₃), 1,68-1,73 (2H; m; H-7), 2,41 (3H; s; 2-CH₃), 2,53-2,59 (2H; m; H-8), 4,94 (1H; s; H-4); 4,88, 5,11 (2H, AB sistem, *J*_{AB} = 13,6 Hz, -COOCH₂C₆H₅), 6,74 (1H; d; *J* = 2,8 Hz; Ar-H₆), 6,97-7,25 (5H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,29 (1H; d; *J*_{AB} = 2,8 Hz; Ar-H₄), 10,64 (1H; s; O-H), 10,72 (1H; s; N-H)

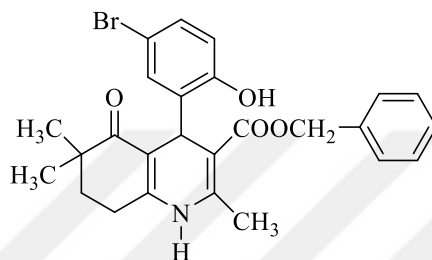
¹³C-NMR spektrumunda 18,1 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,3 (C-7), 33,1 (C-4), 39,7 (C-6), 64,7 (-COOCH₂-), 102,7 (C-3), 107,7 (C-4a), 122,4, 123,3, 126,6, 126,7, 126,8, 127,1, 127,4, 128,1, 136,4, 137,7 (aromatik karbonlar), 146,8 (C-2), 148,6 (C-8a), 154,1 (aromatik karbon), 165,7 (-COOCH₂-), 203,8 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 508/510/512 [M+Na]⁺(100%)/[M+2+Na]⁺/[M+4+Na]⁺ de pikler görülür.

Analiz: $C_{26}H_{25}Cl_2NO_4$ (M.A. 486,39) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	64,20	5,18	2,88
Bulunan :	64,15	5,12	2,86

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(5-bromo-2-hidroksifenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM3)



5-Bromosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonu ile kazanılmıştır. Verim %72.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 217-219 °C'dir.

IR spektrumunda 3438 (O-H), 3317 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2966 (C-H gerilim, alifatik), 1704 (C=O gerilim, ester), 1657 (C=O gerilim, keton), 1482 (C=C gerilim) ve 1196 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

1H -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 0,94 (3H; s; 6-CH₃), 1,02 (3H; s; 6-CH₃), 1,67-1,72 (2H; m; H-7), 2,35 (3H; s; 2-CH₃), 2,49-2,55 (2H; m; H-8), 4,93 (1H; s; H-4); 4,94, 5,05 (2H, AB sistem, $J_{AB} = 13,2$ Hz, -COOCH₂C₆H₅), 6,67 (1H; d; $J=8,4$ Hz; Ar-H₃), 6,92 (1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar-H₆), 7,04-7,07 (2H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,14 (1H; dd; $J=8,4/2,4$ Hz; Ar-H₄), 7,23-7,26 (3H; m; -CH₂-C₆H₅), 9,47 (1H; s; O-H), 9,84 (1H; s; N-H) ppm'de pikler görülür.

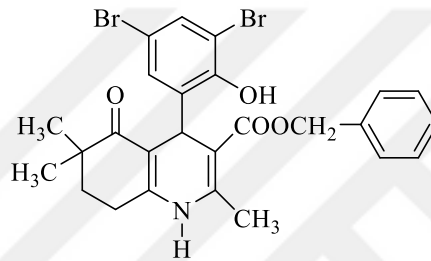
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 18,1 (2-CH₃), 23,1 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,4 (C-7), 33,4 (C-4), 39,5 (C-6), 64,6 (-COOCH₂-), 102,3 (C-3), 107,9 (C-4a), 110,6, 119,1, 126,9, 127,4, 128,1, 129,9, 131,1, 136,2, 136,6 (aromatik karbonlar), 146,1 (C-2), 152,6 (C-8a), 153,3 (aromatik karbon), 166,2 (-COOCH₂-), 202,3 (C-5) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 518/520 $[M+Na]^+/M+2+Na]^+(100\%)$ pikler görülür.

Analiz: $C_{26}H_{26}BrNO_4$ (M.A. 496,39) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	62,91	5,28	2,82
Bulunan :	62,95	5,31	2,86

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(3,5-dibromo-2-hidroksifenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM4)



3,5-Dibromosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %45.

Bileşik açık sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 225-228 °C'dir.

IR spektrumunda 3440 (O-H), 3314 (N-H gerilim), 3066 (C-H gerilim, aromatik), 2929 (C-H gerilim, alifatik), 1703 (C=O gerilim, ester), 1646 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1191 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

1H -NMR spektrumunda, (δ , DMSO- d_6): 0,97 (3H; s; 6-CH₃), 1,03 (3H; s; 6-CH₃), 1,67-1,71 (2H; m; H-7), 2,40 (3H; s; 2-CH₃), 2,53-2,58 (2H; m; H-8), 4,91(1H; s; H-4); 4,86, 5,10 (2H, AB sistem, $J_{AB}=13,2$ Hz, -COOCH₂C₆H₅), 6,84 (1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar-H₆), 6,94-7,23 (5H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,51(1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar-H₄), 9,71 (1H; s; N-H), 10,84 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

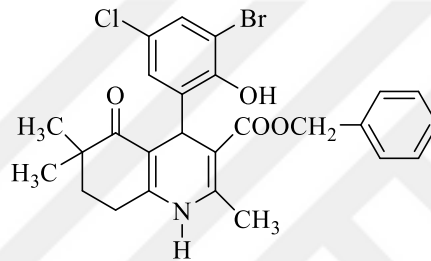
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 18,1 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,4 (C-7), 33,1 (C-4), 39,5 (C-6), 64,7 (-COOCH₂-), 102,9 (C-3), 107,7 (C-4a), 111,1, 112,5, 126,7, 126,7, 127,4, 127,4, 128,1, 130,0, 132,5, 136,4, 137,9 (aromatik karbonlar), 146,8 (C-2), 149,9 (C-8a), 154,2 (aromatik karbon), 165,7 (-COOCH₂-), 203,9 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 596/598/600
 $[M+Na]^+ / [M+2+Na]^+ (100\%) / [M+4+Na]^+$ pikler görülür.

Analiz: $C_{26}H_{25}Br_2NO_4$ (M.A. 575,29) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	54,28	4,38	2,43
Bulunan :	54,12	4,45	2,45

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(3-bromo-2-hidroksi-5-klorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM5)



3-Bromo-5-kloro-salisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %52.

Bileşik sarı-turuncu toz şeklinde olup, erime derecesi 218-219 °C'dir.

IR spektrumunda 3446 (O-H), 3314 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2927 (C-H gerilim, alifatik), 1703 (C=O gerilim, ester), 1657 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1195 (C-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

1H -NMR spektrumunda, (δ , DMSO- d_6): 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,06 (3H; s; 6-CH₃), 1,69-1,73 (2H; m; H-7), 2,42 (3H; s; 2-CH₃), 2,55-2,60 (2H; m; H-8), 3,42 (1H; s; O-H), 4,95 (1H; s; H-4), 4,88, 5,12 (2H, AB sistem, $J_{AB}=13,2$ Hz, -COOCH₂C₆H₅), 6,77 (1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar-H₆), 6,96-7,25 (2H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,42 (1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar-H₄), 10,81 (1H; s; N-H) ppm'de pikler görülür.

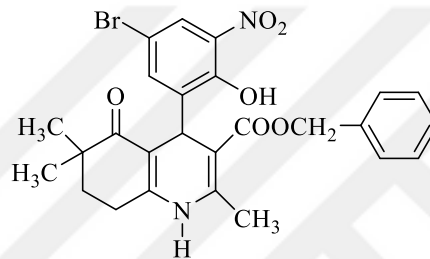
^{13}C -NMR spektrumunda 18,1 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,4 (C-7), 33,1 (C-4), 39,7 (C-6), 64,7 (-COOCH₂-), 102,9 (C-3), 107,7 (C-4a), 112,1, 123,7, 126,7, 127,2, 127,4, 128,1, 129,9, 136,4, 137,4 (aromatik karbonlar), 146,8 (C-2), 149,5 (C-8a), 154,2 (aromatik karbon), 165,7 (-COOCH₂-), 203,9 (C-5) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 552/554/556 $[M+Na]^+/[M+2+Na]^+(100\%)$ $/[M+4+Na]^+$ pikler görülür.

Analiz: $C_{26}H_{25}BrClNO_4$ (M.A. 530,84) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	58,83	4,75	2,64
Bulunan :	58,97	4,88	2,63

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(5-bromo-2-hidroksi-3-nitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM6)



5-Bromo-3-nitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %38.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 203-205°C'dir.

IR spektrumunda 3439 (O-H), 3318 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2967 (C-H gerilim, alifatik), 1703 (C=O gerilim, ester), 1651 (C=O gerilim, keton), 1484 (C=C gerilim) ve 1193 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

1H -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 0,95 (3H; s; 6-CH₃), 1,02 (3H; s; 6-CH₃), 1,69-1,72 (2H; m; H-7), 2,38 (3H; s; 2-CH₃), 2,53-2,58 (2H; m; H-8), 4,88, 5,09 (2H, AB sistem, $J_{AB}=13,2$, -COOCH₂C₆H₅), 4,98 (1H; s; H-4); 7,02-7,05 (2H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,17 (1H; d; $J=2,0$ Hz; Ar-H₆), 7,22-7,24 (3H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,84 (1H; d; $J=2,0$ Hz; Ar-H₄), 9,69 (1H; s; N-H), 11,31 (1H; s; O-H) ppm' de pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda 18,1 (2-CH₃), 23,2 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,0 (C-8), 31,6 (C-7), 33,1 (C-4), 39,5 (C-6), 64,8 (-COOCH₂-), 102,0 (C-3), 107,2 (C-4a), 109,7, 125,0, 127,0, 127,5, 128,1, 135,5, 136,2, 139,5, 140,1, 147,0

(aromatik karbon), 147,5 (C-2), 153,9 (C-8a), 165,7 (-COOCH₂-), 203,0 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 563/565 [M+Na]⁺/[M+2+Na]⁺ (100%) pikler görülür.

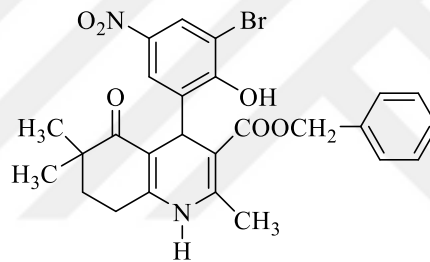
Analiz: C₂₆H₂₅BrN₂O₆ (M.A. 541,39) için

%C	%H	%N
----	----	----

Hesaplanan :	57,68	4,65	5,17
--------------	-------	------	------

Bulunan :	57,80	4,70	5,22
-----------	-------	------	------

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(3-bromo-2-hidroksi-5-nitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM7)



3-Bromo-5-nitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim % 41.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 98-100°C'dir.

IR spektrumunda 3435 (O-H), 3322 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2965 (C-H gerilim, alifatik), 1704 (C=O gerilim, ester), 1657 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1193 (C-O gerilim) cm⁻¹ de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (δ, DMSO-d₆): 0,99 (3H; s; 6-CH₃), 1,07 (3H; s; 6-CH₃), 1,69-1,74 (2H; m; H-7), 2,45 (3H; s; 2-CH₃), 2,56-2,62 (2H; m; H-8), 4,85, 5,09 (2H, AB sistem, J_{AB}=12,8 Hz, -COOCH₂C₆H₅), 4,97 (1H; s; H-4); 6,96-7,34 (5H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,64 (1H; d; J=2,8 Hz; Ar-H₆), 8,18 (1H; d; J=2,8 Hz; Ar-H₄), 9,90 (1H; s; N-H), 12,04 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda 18,1 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,1 (C-8), 31,7 (C-7), 33,0 (C-4), 39,7 (C-6), 64,8 (-COOCH₂-), 102,7 (C-3), 107,3

(C-4a), 111,3, 121,8, 123,2, 126,5, 127,0, 127,5, 128,1, 130,5, 135,8, 136,2, 137,3, 140,2 (aromatik karbonlar), 147,1 (C-2), 154,8 (C-8a), 165,5 (-COOCH₂-), 203,2 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 563/565 [M+Na]⁺/[M+2+Na]⁺(100%) pikler görülür.

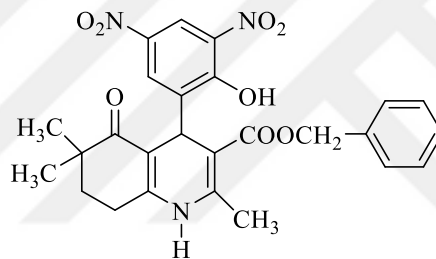
Analiz: C₂₆H₂₅BrN₂O₆ (M.A. 541,39) için

%C %H %N

Hesaplanan : 57,68 4,65 5,17

Bulunan : 57,75 4,68 5,21

Benzil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM8)



3,5-Dinitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, benzil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim % 68.

Bileşik sarı-turuncu toz şeklinde olup, erime derecesi 217-219 °C'dir.

IR spektrumunda 3443 (O-H), 3297 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2966 (C-H gerilim, alifatik), 1708 (C=O gerilim, ester), 1649 (C=O gerilim, keton), 1468 (C=C gerilim) ve 1197 (C-O gerilim) cm⁻¹ de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (δ, DMSO-d₆): 0,95 (3H; s; 6-CH₃), 1,04 (3H; s; 6-CH₃), 1,69-1,74 (2H; m; H-7), 2,42 (3H; s; 2-CH₃), 2,56-2,50 (2H; m; H-8), 3,38 (1H; s; O-H), 4,86, 5,08 (2H, AB sistem, J_{AB} = 13,2 Hz, -COOCH₂C₆H₅), 5,04 (1H; s; H-4); 7,03-7,23 (5H; m; -CH₂-C₆H₅), 7,86 (1H, d, J=2,8 Hz, Ar-H₆), 8,49 (1H, d, J=2,8 Hz, Ar-H₄), 9,82 (1H; s; N-H) ppm'de pikler görülür.

¹³C-NMR spektrumunda 18,2 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,0 (C-8), 32,1 (C-7), 33,2 (C-6), 64,9 (-COOCH₂-), 102,0 (C-3), 107,0 (C-4a), 119,4,

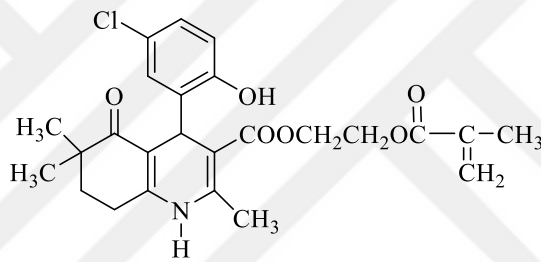
127,3, 127,4, 127,5, 127,6, 128,1, 136,1, 137,9, 138,3, 139,0 (aromatik karbonlar), 147,2 (C-2), 154,3 (C-8a), 165,6 ($-\text{COOCH}_2-$), 203,1 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 507 $[\text{M}]^+$ (100%) pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_8$ (M.A. 507,49) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	61,53	4,97	8,28
Bulunan :	61,65	5,05	8,36

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-5-klorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM9)



5-Klorosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-

(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim % 52.

Bileşik sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 202-203°C'dir.

IR spektrumunda 3440 (O-H), 3263 (N-H gerilim), 3026 (C-H gerilim, aromatik), 2981 (C-H gerilim, alifatik), 1721 (C=O gerilim, ester), 1638 (C=O gerilim, keton), 1475 (C=C gerilim) ve 1127 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$ (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 0,96 (3H; s; 6- CH_3), 1,01 (3H; s; 6- CH_3), 1,66-1,72 (2H; m; H-7), 1,78 (3H; s; $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 2,35 (3H, s, 2- CH_3), 2,50-2,55 (2H; m; H-8), 4,05-4,23 (4H; m; $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4,85 (1H; s; H-4), 5,60 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_2\text{A}$), 5,85 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_2\text{B}$), 6,75 (1H; d; $J=8,0$ Hz; Ar- H_3), 6,81 (1H; d; $J=2,4$ Hz; Ar- H_6), 7,12 (1H; dd; $J=8,0/2,4$ Hz; Ar- H_4), 9,62 (1H; s; N-H), 10,43 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$ (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 17,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 18,2 (2- CH_3), 23,2 (6- CH_3), 24,0 (6- CH_3), 25,3 (C-8), 31,1 (C-7), 33,2 (C-4), 39,5 (C-6), 61,0 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 165,6 ($-\text{COOCH}_2-$), 203,1 (C-5) ppm'de pikler görülür.

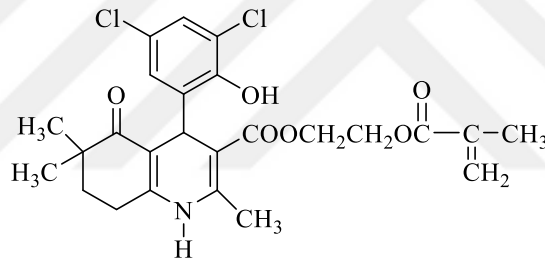
OCH₂CH₂O-), 62,3 (-OCH₂CH₂O-), 102,5 (C-3), 107,8 (C-4a), 120,5, 124,8, 125,9 (aromatik karbonlar) 126,8 (-C=CH₂), 135,2 (-C(CH₃)=CH₂), 136,8, 139,1, 146,2 (aromatik karbonlar), 150,1 (C-2), 153,5 (C-8a), 165,7 (-COOCH₂-), 166,3 (-COC(CH₃)=CH₂), 203,5 (C-5) ppm’de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 496/498 [M+1]⁺ (100%)/[M+1+2]⁺ pikler görülür.

Analiz: C₂₅H₂₈ClNO₆ (M.A. 473,95) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	63,35	5,95	2,96
Bulunan :	63,48	5,90	2,98

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-3,5-klorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM10)



3,5-Diklorosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %70.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 171-173°C’dir.

IR spektrumunda 3437 (O-H), 3296 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2961 (C-H gerilim, alifatik), 1709 (C=O gerilim, ester), 1649 (C=O gerilim, keton), 1484 (C=C gerilim) ve 1199 (C-O gerilim) cm⁻¹’ de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda (δ, DMSO-*d*₆): 0,95 (3H; s; 6-CH₃), 1,02 (3H; s; 6-CH₃), 1,65-1,71 (2H; m; H-7), 1,79 (3H; s; -C(CH₃)=CH₂), 2,37 (3H, s, 2-CH₃), 2,51-2,55 (2H; m; H-8), 4,06-4,22 (4H; m; -OCH₂CH₂O-), 4,86 (1H; s; H-4), 5,61 (1H; m; -C=CH_{2A}), 5,87 (1H; s; -C=CH_{2B}), 6,88 (1H, d, *J*=2.4 Hz, Ar-H₆), 7,19 (1H, d, *J*=2.4 Hz, Ar-H₄), 9,64 (1H; s; N-H), 10,45 (1H; s; O-H)’ de pikler görülür.

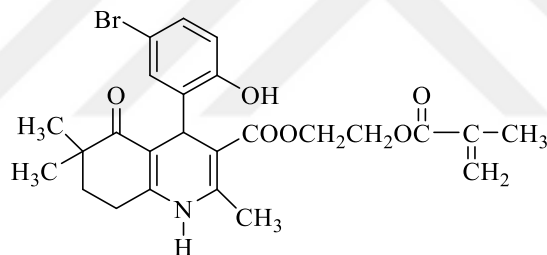
^{13}C -NMR spektrumunda 17,7 ($\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)=\text{CH}_2$), 18,1 (2- CH_3), 23,2 (6- CH_3), 24,1 (6- CH_3), 25,1 (C-8), 31,2 (C-7), 33,2 (C-4), 39,5 (C-6), 61,2 ($-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 62,4 ($-\text{OCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{O}-$), 102,6 (C-3), 107,8 (C-4a), 122,2, 123,1, 125,7, 127,0 (aromatik karbonlar) 126,4 ($-\text{C}=\text{CH}_2$), 135,3 ($-\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 137,5, 146,6 (aromatik karbonlar), 148,4 (C-2), 153,7 (C-8a), 165,9 ($-\underline{\text{C}}\text{OOCH}_2-$), 166,1 ($-\underline{\text{C}}\text{OC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 203,4 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 530/532 $[\text{M}+\text{Na}]^+(100\%)/[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{Cl}_2\text{NO}_6$ (M.A. 508,39) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan:	59,06	5,35	2,76
Bulunan :	58,99	5,42	2,83

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(5-bromo-2-hidroksifenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM11)



5-Bromosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %35.

Bileşik sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 271-273°C'dir.

IR spektrumunda 3441 (O-H), 3273 (N-H gerilim), 3054 (C-H gerilim, aromatik), 2956 (C-H gerilim, alifatik), 1722 (C=O gerilim, ester), 1641 (C=O gerilim, keton), 1485 (C=C gerilim) ve 1180 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 0,94 (3H; s; 6- CH_3), 0,99 (3H; s; 6- CH_3), 1,68-1,74 (2H; m; H-7); 1,79 (3H; s; $-\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)=\text{CH}_2$), 2,32 (3H, s, 2- CH_3), 2,49-2,54 (2H; m; H-8), 4,03-4,21 (4H; m; $-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4,86 (1H; s; H-4), 5,59 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_{2A}$), 5,86 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_{2B}$), 6,68 (1H; d; $J=8.4$ Hz; Ar-H₃), 6,90

(1H; d; $J=2.4$ Hz; Ar-H₆), 7,13 (1H; dd; $J= 8.4/2.4$ Hz; Ar-H₄), 9,64 (1H; s; N-H), 10,55 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

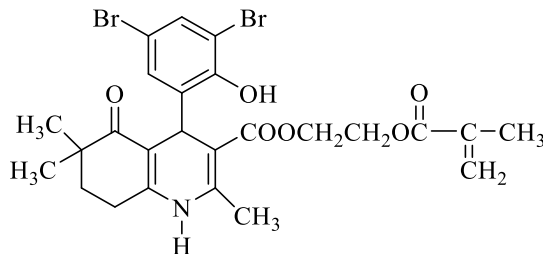
¹³C-NMR spektrumunda (δ , DMSO-*d*₆): 17,9 (C(CH₃)=CH₂), 18,3 (2-CH₃), 23,1 (6-CH₃), 24,0 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,3 (C-7), 33,0 (C-4), 39,7 (C-6), 61,1 (-OCH₂CH₂O-), 62,5 (-OCH₂CH₂O-), 102,7 (C-3), 107,7 (C-4a), 119,3, 123,1, 125,7 (aromatik karbonlar) 126,3(-C=CH₂), 135,3 (-C(CH₃)=CH₂), 136,5, 138,6, 146,8 (aromatik karbonlar), 149,2 (C-2), 153,8 (C-8a), 165,9 (-COOCH₂-), 166,2 (-COC(CH₃)=CH₂), 203,6 (C-5) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 540/542 [M+Na]⁺(100%)/[M+2+Na]⁺ pikler görülür.

Analiz: C₂₅H₂₈BrNO₆ (M.A. 518,4) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	57,92	5,44	2,70
Bulunan :	58,04	5,42	2,76

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(3,5-dibromo-2-hidroksifenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM12)



3,5-Dibromosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %51.

Bileşik sarımsı toz şeklinde olup, erime derecesi 185-187°C'dir.

IR spektrumunda 3449 (O-H), 3299 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2925 (C-H gerilim, alifatik), 1709 (C=O gerilim, ester), 1648 (C=O gerilim, keton) ve 1483 (C=C gerilim) cm⁻¹ de pikler görülür.

¹H-NMR spektrumunda, (δ , DMSO-*d*₆): 0,97 (3H; s; 6-CH₃), 1,04 (3H; s; 6-CH₃), 1,65-1,72 (2H; m; H-7), 1,80 (3H; s; -C(CH₃)=CH₂), 2,38 (3H, s, 2-CH₃),

2,52-2,60 (2H; m; H-8), 4,06-4,23 (4H; m; -OCH₂CH₂O-), 4,86 (1H; s; H-4), 5,62 (1H; m; -C=CH_{2A}), 5,89 (1H; s; -C=CH_{2B}), 6,83 (1H, d, *J*=2,4 Hz, Ar-H₆), 7,42 (1H, d, *J*=2,4 Hz, Ar-H₄), 9,68 (1H; s; N-H), 10,52 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

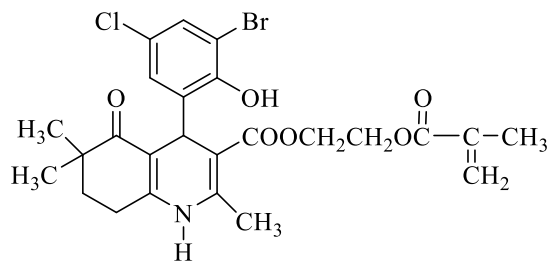
¹³C-NMR spektrumunda (δ, DMSO-*d*₆): 17,8 (C(CH₃)=CH₂), 18,2 (2-CH₃), 23,2 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,2 (C-8), 31,3 (C-7), 33,1 (C-4), 39,5 (C-6), 61,3 (-OCH₂CH₂O-), 62,4 (-OCH₂CH₂O-), 102,7 (C-3), 107,8 (C-4a), 111,1, 112,3, 125,9 (-C=CH₂), 129,8, 132,4 (aromatik karbonlar), 135,3 (-C(CH₃)=CH₂), 137,8, 146,6 (aromatik karbonlar), 149,8 (C-2), 153,9 (C-8a), 165,9 (-COOCH₂-), 166,1 (-COOC(CH₃)=CH₂), 203,6 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 618/620/622 [M+Na]⁺/[M+2+Na]⁺(100%)/[M+4+Na]⁺ pikler görülür.

Analiz: C₂₅H₂₇Br₂NO₆ (M.A. 597,29) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	50,27	4,56	2,35
Bulunan :	49,98	4,61	2,33

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(3-bromo-2-hidroksi-5-klorofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM13)



3-Bromo-5-klorosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %58.

Bileşik açık sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 160-162°C'dir.

IR spektrumunda 3442 (O-H), 3298 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2927 (C-H gerilim, alifatik), 1709 (C=O gerilim, ester), 1649 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1198 (C-O gerilim) cm⁻¹ de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda, (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 0,96 (3H; s; 6- CH_3), 1,03 (3H; s; 6- CH_3), 1,64-1,72 (2H; m; H-7), 1,79 (3H; s; $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 2,37 (3H, s, 2- CH_3), 2,52-2,59 (2H; m; H-8), 4,03-4,23 (4H; m; $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4,86 (1H; s; H-4), 5,61 (1H; m; $-\text{C}=\text{CH}_{2\text{A}}$), 5,88 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_{2\text{B}}$), 6,71 (1H, d, $J=2.4$ Hz, Ar- H_6), 7,31 (1H, d, $J=2$ Hz, Ar- H_4), 9,66 (1H; s; N-H), 10,56 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

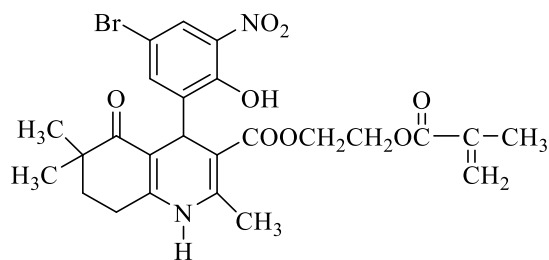
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 17,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 18,2 (2- CH_3), 23,2 (6- CH_3), 24,1 (6- CH_3), 25,2 (C-8), 31,3 (C-7), 33,2 (C-4), 39,5 (C-6), 61,3 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 62,4 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 102,7 (C-3), 107,8 (C-4a), 111,9, 123,7, 125,8, 127,0 (aromatik karbonlar) 129,8 ($-\text{C}=\text{CH}_2$), 135,3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 137,3, 146,6 (aromatik karbonlar), 149,3 (C-2), 153,9 (C-8a), 165,9 ($-\text{COOCH}_2-$), 166,1 ($-\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 203,6 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 574/576/578 $[\text{M}+\text{Na}]^+ / [\text{M}+2+\text{Na}]^+(100\%)/[\text{M}+4+\text{Na}]^+$ pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{BrClNO}_6$ (M.A. 552,84) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	54,31	4,92	2,53
Bulunan :	54,15	4,90	2,56

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-5-bromo-3-nitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM14)



5-Bromo-3-nitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim % 55.

Bileşik sarı- turuncu toz şeklinde olup, erime derecesi $171-172^\circ\text{C}$ 'dir.

IR spektrumunda 3443 (O-H), 3337 (N-H gerilim), 3091 (C-H gerilim, aromatik), 2969 (C-H gerilim, alifatik), 1716 (C=O gerilim, ester), 1650 (C=O gerilim, keton), 1471 (C=C gerilim) ve 1197 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 0,93 (3H; s; 6- CH_3), 0,99 (3H; s; 6- CH_3), 1,66-1,74 (2H; m; H-7); 1,78 (3H; s; $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 2,35 (3H, s, 2- CH_3), 2,50-2,57 (2H; m; H-8), 4,07-4,27 (4H; m; $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4,95 (1H; s; H-4), 5,60 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_{2A}$), 5,85 (1H; s; $-\text{C}=\text{CH}_{2B}$), 7,21 (1H; d; $J=2.4$ Hz; Ar-H₆), 7,80 (1H; d; $J=2.4$ Hz; Ar-H₄), 9,61 (1H; s; N-H), 11,09 (1H; s; O-H). ppm'de pikler görülür.

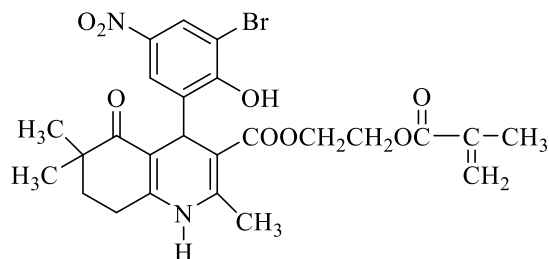
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , $\text{DMSO}-d_6$): 17,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 18,1 (2- CH_3), 23,1 (6- CH_3), 24,0 (6- CH_3), 24,9 (C-8), 31,6 (C-7), 33,2 (C-4), 39,5 (C-6), 61,1 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 62,4 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 101,8 (C-3), 107,3 (C-4a), 109,7, 124,9 (aromatik karbonlar) 125,7 ($-\text{C}=\text{CH}_2$), 135,3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 135,8, 139,0, 140,3, 146,9 (aromatik karbonlar), 147,7 (C-2), 153,3 (C-8a), 165,8 ($-\text{COOCH}_2-$), 166,0 ($-\text{COC}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$), 202,5 (C-5) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 585/587 $[\text{M}+\text{Na}]^+(100\%)/[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ pikler görülür.

Analiz: $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{BrN}_2\text{O}_8$ (M.A. 563,39) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	53,30	4,83	4,97
Bulunan :	53,15	4,90	4,96

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(3-bromo-2-hidroksi-5-nitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM15)



3-Bromo-5-nitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %46.

Bileşik sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 118-120°C'dir.

IR spektrumunda 3451 (O-H), 3301 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2966 (C-H gerilim, alifatik), 1707 (C=O gerilim, ester), 1648 (C=O gerilim, keton), 1458 (C=C gerilim) ve 1161 (C-O gerilim) cm^{-1} de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 0,98 (3H; s; 6-CH₃), 1,06 (3H; s; 6-CH₃), 1,67-1,75 (2H; m; H-7), 1,76 (3H; s; -C(CH₃)=CH₂), 2,42 (3H, s, 2-CH₃), 2,55-2,62 (2H; m; H-8), 3,98-4,30 (4H; m; -OCH₂CH₂O-), 4,93 (1H; s; H-4), 5,57 (1H; m; -C=CH_{2A}), 5,81 (1H; s; C=CH_{2B}), 7,64 (1H, d, $J=2.8$ Hz, Ar-H₆), 8,13 (1H, d, $J=2.8$ Hz, Ar-H₄), 9,84 (1H; s; N-H), 11,80 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

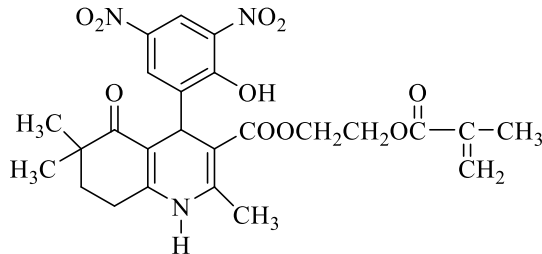
^{13}C -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 17,7 (C(CH₃)=CH₂), 18,1 (2-CH₃), 23,3 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 25,1 (C-8), 31,6 (C-7), 33,1 (C-4), 39,5 (C-6), 61,1 (-OCH₂CH₂O-), 62,5 (-OCH₂CH₂O-), 102,5 (C-3), 107,4 (C-4a), 111,0, 123,1, 125,7 (aromatik karbonlar), 126,5 (-C=CH₂), 135,3 (-C(CH₃)=CH₂), 135,8, 140,2 (aromatik karbonlar), 147,0 (C-2), 154,4 (C-8a), 156,9 (aromatik karbon), 165,6 (-COOCH₂-), 166,0 (-COC(CH₃)=CH₂), 203,8 (C-5) ppm' de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (m/z) 585/587 $[\text{M}+\text{Na}]^+(100\%)/[\text{M}+2+\text{Na}]^+$ pikler görülür.

Analiz: C₂₅H₂₇BrN₂O₈ (M.A. 563,39) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	53,30	4,83	4,97
Bulunan :	53,15	4,88	4,96

2-(Metakriloiloksi)etil 2,6,6-trimetil-4-(2-hidroksi-3,5-dinitrofenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat (HM16)



3,5-Dinitrosalisilaldehit, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın reaksiyonuyla kazanılmıştır. Verim %63.

Bileşik sarı toz şeklinde olup, erime derecesi 88-90°C'dir.

IR spektrumunda 3444 (O-H), 3299 (N-H gerilim), 3095 (C-H gerilim, aromatik), 2964 (C-H gerilim, alifatik), 1709 (C=O gerilim, ester), 1647 (C=O gerilim, keton), 1469 (C=C gerilim) ve 1198 (C-O gerilim) cm^{-1} 'de pikler görülür.

^1H -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 0,93 (3H; s; 6-CH₃), 1,03 (3H; s; 6-CH₃), 1,68-1,73 (2H; m; H-7), 1,74 (3H; s; -C(CH₃)=CH₂), 2,38 (3H, s, 2-CH₃), 2,53-2,61 (2H; m; H-8), 4,03-4,31 (4H; m; -OCH₂CH₂O-), 5,03 (1H; s; H-4), 5,55 (1H; m; C=CH_{2A}), 5,79 (1H; m; C=CH_{2B}), 7,91 (1H, d, $J=2,8$ Hz, Ar-H₆), 8,47 (1H, d, $J=2,8$ Hz, Ar-H₄), 9,74 (1H; s; N-H), 12,25 (1H; s; O-H) ppm'de pikler görülür.

^{13}C -NMR spektrumunda (δ , DMSO- d_6): 17,6 (C(CH₃)=CH₂), 18,2 (2-CH₃), 23,2 (6-CH₃), 24,1 (6-CH₃), 24,9 (C-8), 32,1 (C-7), 33,3 (C-4), 39,5 (C-6), 61,1 (-OCH₂CH₂O-), 62,4 (-OCH₂CH₂O-), 101,8 (C-3), 107,2 (C-4a), 119,3, 125,6 (aromatik karbonlar) 127,4 (-C=CH₂), 135,3 (-C(CH₃)=CH₂), 137,6, 138,3, 139,2 (aromatik karbonlar), 147,2 (C-2), 153,8 (C-8a), 165,7 (-COOCH₂-), 166,0 (-COOC(CH₃)=CH₂), 202,7 (C-5) ppm'de pikler görülür.

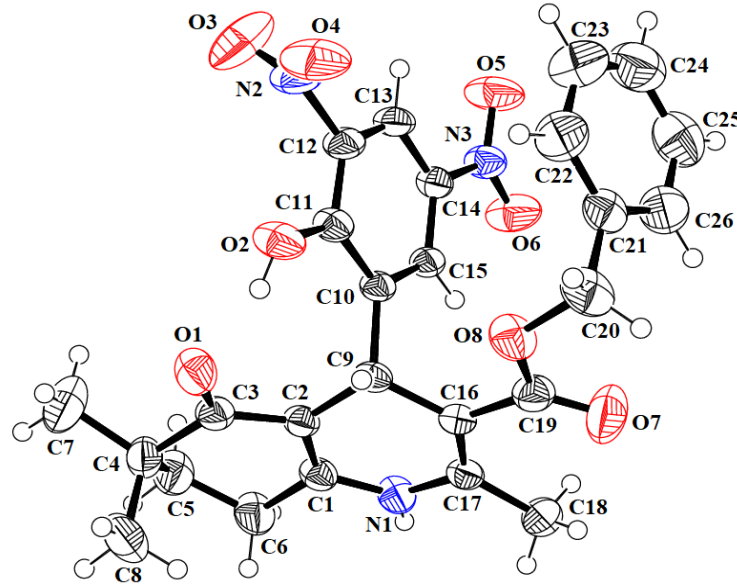
Kütle spektrumunda (m/z) 552 [M+Na]⁺(100%) pikler görülür.

Analiz: C₂₅H₂₇N₃O₁₀ (M.A. 529,5) için

	%C	%H	%N
Hesaplanan :	56,71	5,14	7,94
Bulunan :	56,75	5,09	7,96

4.2. X Işınları Yapı Analizi

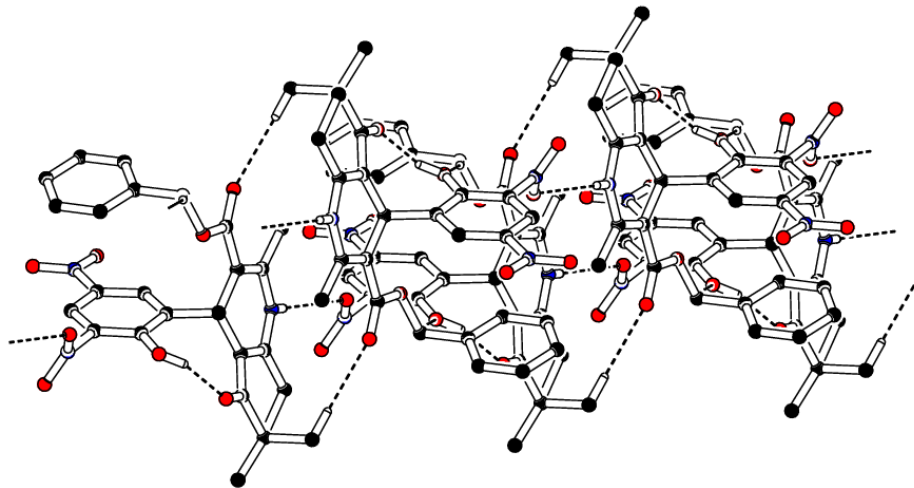
HM8'in X ışınları kristalografî yöntemi kullanılarak aydınlatılmış üç boyutlu yapısı Şekil 4.1' de verilmiştir.



Şekil 4.1. **HM8**' in ORTEP diagramı.

HM8 molekülünde 6,6-dimetilsikloheksen-2-on halkasının C2/C3/C4/O1 (A) atomlarından oluşan kısmı düzlemsele yakındır. C1/C6/C5 (B) ve C7/C4/C8 (C) propan kısımları sırasıyla A'dan 27.87° and 80.12° dihedral açılarda bükülmüştür. 2-metil-1,4-dihidropiridin C1/C2/C9/C16/C17/C18/N1 (D) ve 2-hidroksifenil C10-C15/O2 (E) halkaları düzlemsele yakın iken, D/E arasındaki dihedral açı 73.64° bulunmuştur. Nitro grupları N2/O3/O4 (F) and N3/O5/O6 (G) 66.80° ve 5.1° dihedral açılarla yönlenmiştir.

Moleküller arasında N-H...O, O-H...O ve C-H...O etkileşimleri saptanmış ve geometrileri ile ilgili bulgular Şekil 4.2, Tablo 4.1'de sunulmuştur.

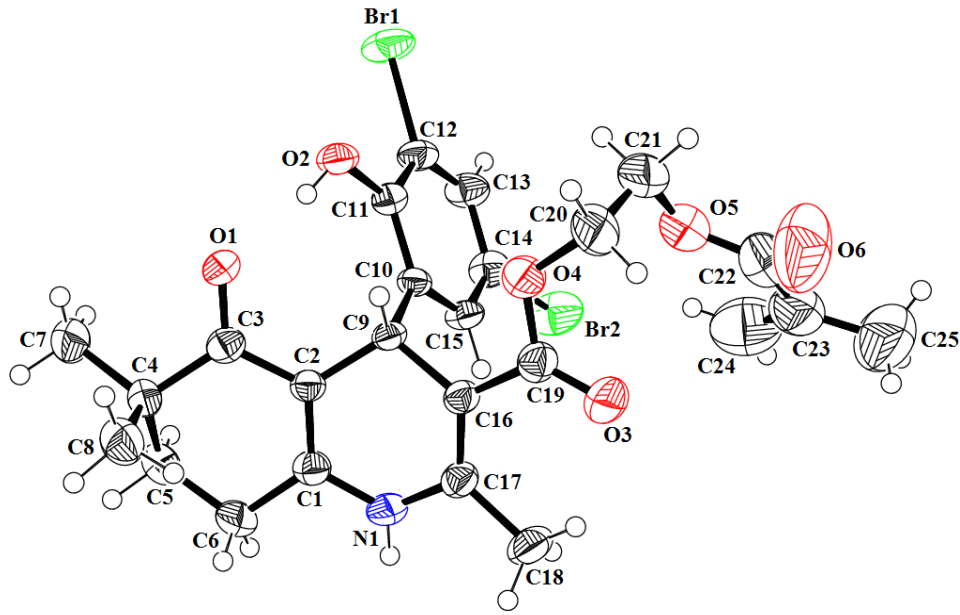


Şekil 4.2. HM8’de moleküller arası C-H...O, N-H...O and O-H...O bağları.

Tablo 4.1. HM8’in hidrojen bağlarının geometrisi (Å, °).

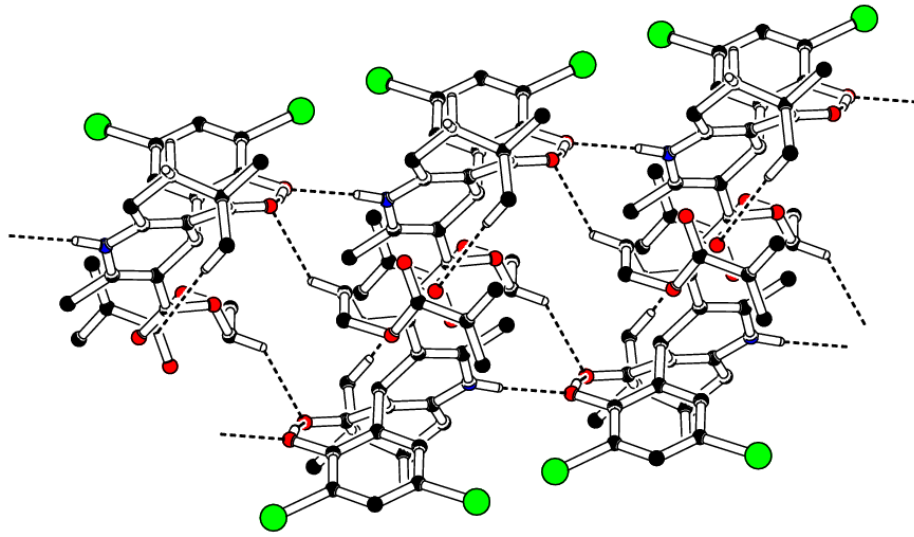
D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
O2—H2...O1	0.82	1.71	2.507 (2)	162
N1—H1...O4i	0.86	2.31	3.080 (2)	149
C18—H18C...O7	0.96	2.31	2.806 (3)	112
C20—H20B...O2ii	0.97	2.45	3.408 (3)	168

HM12’nin X ışınları kristalografî yöntemi kullanılarak aydınlatılmış üç boyutlu yapısı Şekil 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.3. HM12' nin ORTEP diyagramı.

HM12 molekülünde ise dimetil süstitüe oksosiklohekzen halkasının düzlemsel değil, kayık formunda olduğu bulunmuştur. Bu halkanın sadece C2/C3/C4/O1 (A) atomlarından oluşan kısmı düzlemseldir. C1/C6/C5 (B) ve C7/C4/C8 (C) propan kısımları sırasıyla A'dan 20.36° and 74.75° dihedral açılarda bükülmüştür. 2-Metil-1,4-dihidropiridin C1/C2/C9/C16/C17/C18/N1 (D) ve 3,5-dibromo-2-hidroksifenil C10-C15/O2/Br1/Br2 (E) halkaları düzlemsele yakın iken D/E arasındaki dihedral açı 75.61° bulunmuştur. Moleküller arasında N-H...O, O-H...O ve C-H...O etkileşmeleri bulunmuştur (Şekil 4.4, Tablo 4.2).



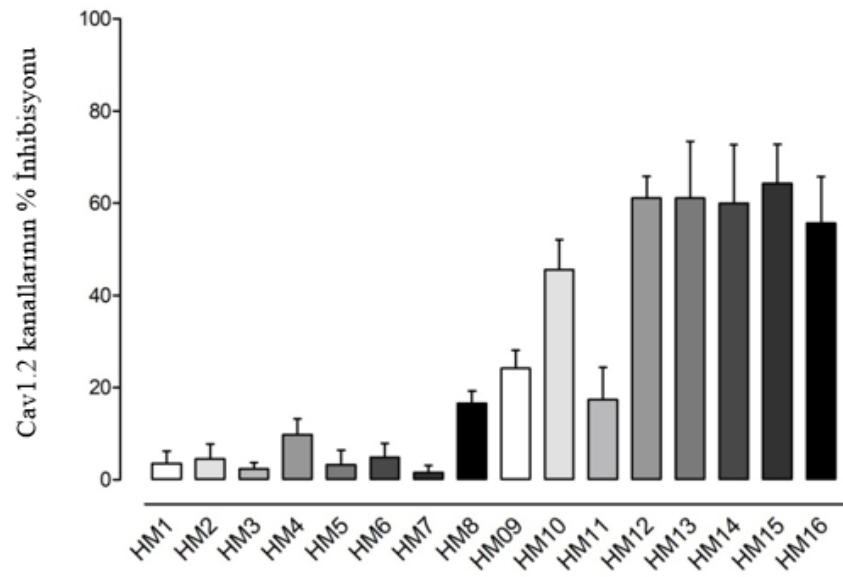
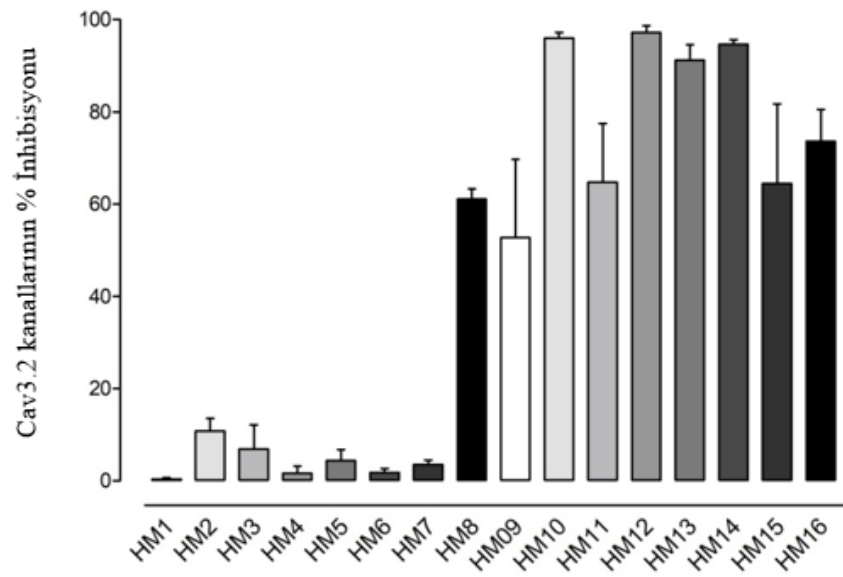
Şekil 4.4. HM12’de moleküller arası C-H...O, N-H...O and O-H...O bağları.

Tablo 4.2. HM12’nin hidrojen bağlarının geometrisi (Å, °)

D—H...A	D—H	H...A	D...A	D—H...A
O2—H2...O1	0.82	1.79	2.591 (3)	165
N1—H1...O2i	0.86	2.18	3.037 (3)	174
C18—H18A...O3	0.96	2.11	2.842 (4)	131
C20—H20B...O1iii	0.97	2.56	3.248 (4)	128

4.3. Bileşiklerin L-tipi (Cav1.2)/T-tipi (Cav3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri

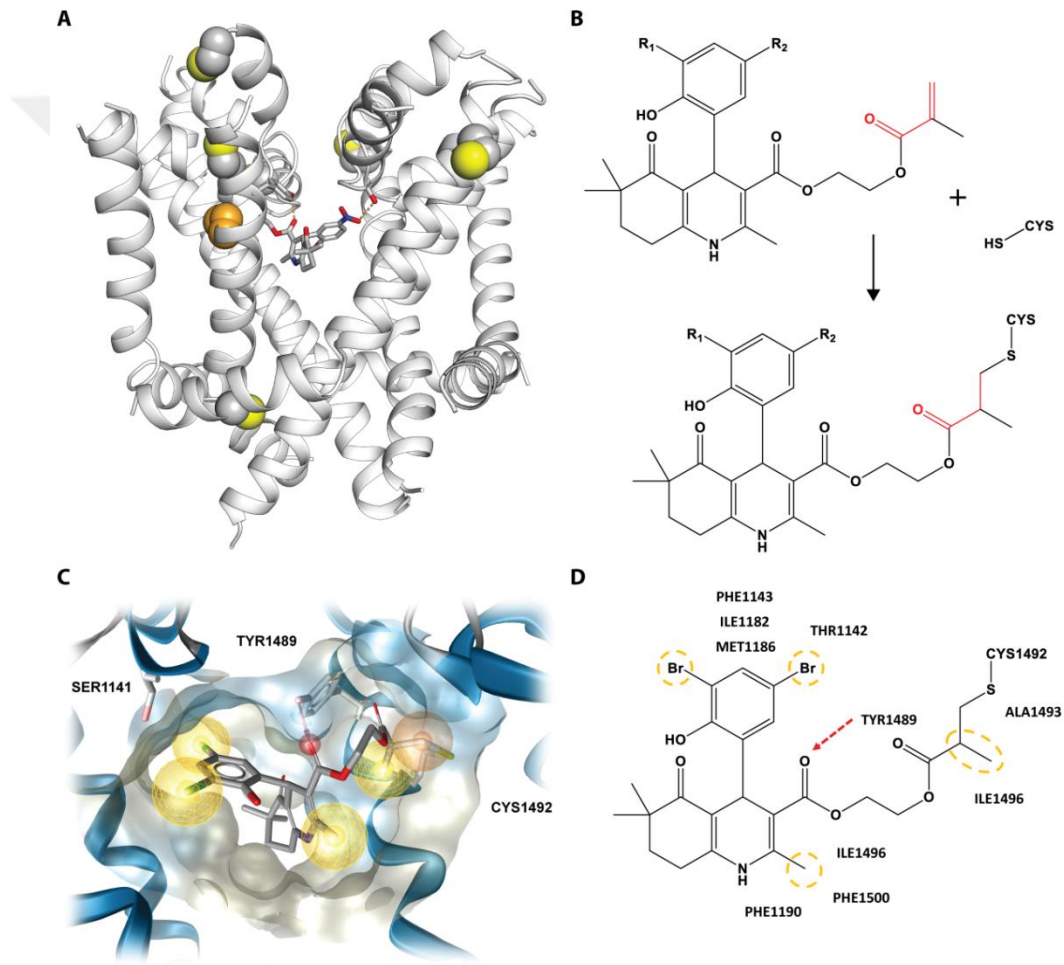
Sentezlenen bileşiklerin kalsiyum kanal bloke edici etkileri L- ve T-tipi kalsiyum kanalları üzerinde 10 µM konsantrasyonda test edilmiştir. Sonuçlar bileşikler uygulandıktan sonra akımın yüzde inhibisyonu olarak bildirilmiştir (Şekil 4.5).

A**B**

Şekil 4.5. Bileşiklerin 10 μ M konsantrasyonda sıçan Cav1.2 (A) ve insan Cav3.2 (B) kalsiyum kanallarını inhibisyonu (n=3-7).

4.4. Doking Çalışmaları

HM9-18 bileşiklerinin ester yan zincirindeki *Michael* akseptör grubunun sistein aminoasidinin tiyol grubuyla reaksiyona girmesi beklenmektedir (114). Bu yüzden, L-tipi kalsiyum kanalına DHP'lerin literatürde tanımlanmış bağlanma şekilleri göz önüne alınarak, bağlanma bölgesinde yer alan sistein aminoasiti ile olası kovalent bağlanmalar araştırılmıştır (8). **HM12** molekülünün L-tipi kalsiyum kanalına öngörülen bağlanma Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



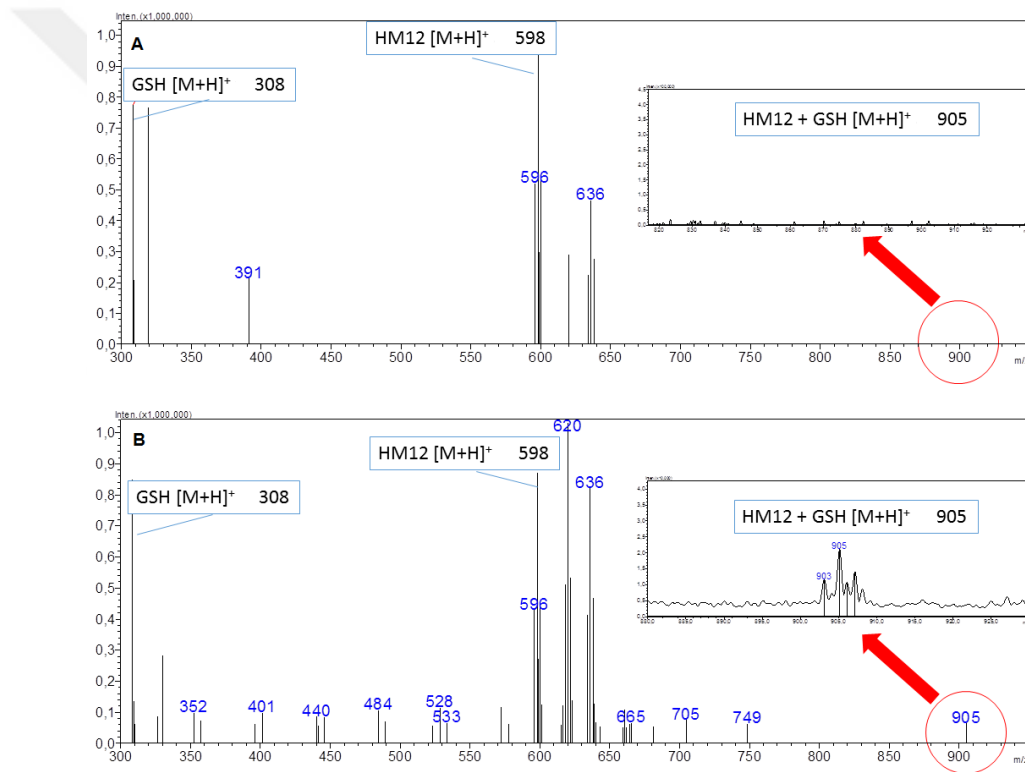
Şekil 4.6. HM12'nin Cav1.2'ye kovalent bağlanma hipotezi.

(A) DHP'lerin kalsiyum kanallarına bağlanma bölgesindeki sistein aminoasitleri küre şeklinde gösterilmiştir. Doking çalışmalarında kullanılan CYS1492 turuncu olarak işaretlenmiştir. (B) Sisteinin tiyol grubu ve *Michael* akseptör arasındaki kovalent bağ oluşumunun 2D gösterimi. (C,D) **HM12**'nin 3D (C) ve 2D (D) olarak öngörülen bağlanma şekli. Kırmızı ok-hidrojen bağ akseptörü, sarı küre-hidrofobik etkileşme.

4.5. Bileşiklerin Reaktivitelerinin Glutasyonla Belirlenmesi

HM12-16 bileşiklerinin ester zincirinde bulunan *Michael* akseptör gruplarının sistemin tiyol grubuna olan reaktivitesi glutasyon kullanılarak saptanmıştır. Glutasyon soft bir nükleofil olduğu için GSH kullanarak α,β -doymamış karbonil sistemlerinin elektrofiliğini araştırmak sıklıkla uygulanan tekniklerdendir (115–117).

Glutasyon-**HM12** inkübasyon karışımının $t=0$ ve $t=120$ dakikalarda alınmış kütle spektrumları Şekil 4.7’de verilmiştir. **HM13-16**’nın GSH ile inkübasyonu sonucu elde edilen spektrumlar Ek-1’de verilmiştir.



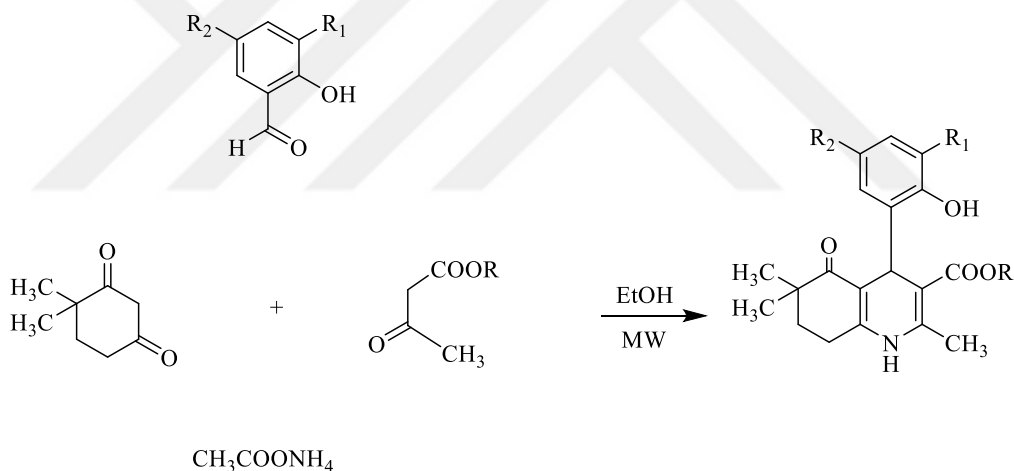
Şekil 4.7. Glutasyon-**HM12** karışımının $t=0$ dk (A) ve $t=120$ dk (B) kütle spektrumları.

5. TARTIŞMA

5.1. Kimyasal Çalışmalar

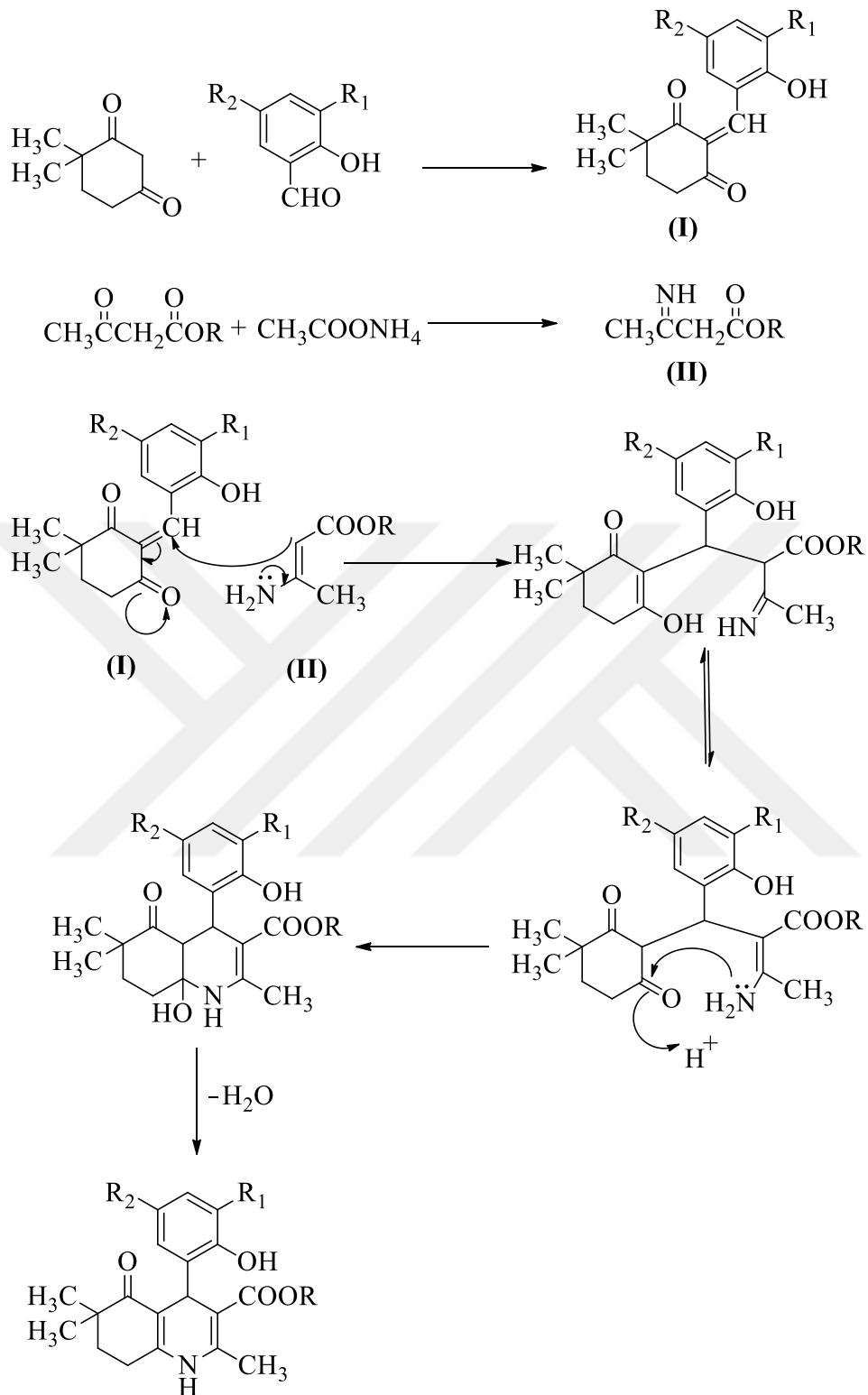
Bu çalışmada, benzil/2-(metakriloksi)etil 2-metil-4-(süstitüe fenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat yapısına sahip on altı adet DHP türevi sentezlenmiştir. Bileşikler; mikrodalga ışıması altında absolü etanol içerisinde 4,4-dimetil-1,3-sikloheksandion, süstitüe salisilaldehit, benzil/2-(metakriloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetat kullanılarak modifiye Hantzsch reaksiyonuna göre elde edilmiştir. **HM1** ve **HM2**'nin sentezi literatürde bildirilmiş olmasına rağmen (118), bu bileşiklerin L-/T-tipi kalsiyum kanallarına etkileri daha önce araştırılmadığı için bu bileşikler de çalışmaya dahil edilmiştir.

Hedeflenen bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan genel sentetik yol Şekil 5.1'de gösterilmiştir.



Şekil 5.1. HM1-16' nın genel sentez şeması.

Hantzsch reaksiyonu bilinen en eski multikomponent reaksiyonlardan olup; aldehit, iki mol dikarbonil bileşiği ve amonyağın su çıkışıyla reaksiyonu sonucu 2,3,5,6-tetrasüstitüe-1,4-DHP halkasının oluşumuyla gerçekleşmektedir (119). Bileşiklerin elde edilmesinde uygulanan modifiye Hantzsch reaksiyonunun mekanizması Şekil 5.2'de verilmiştir.

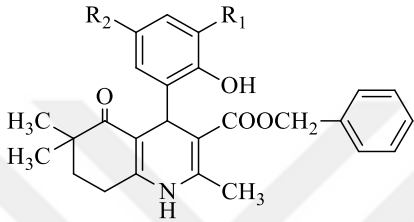
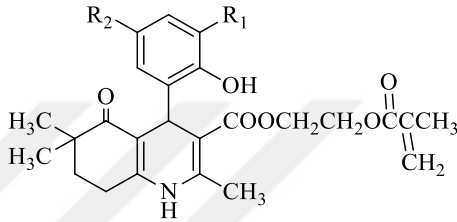


Şekil 5.2. HM1-16' nın sentezinde kullanılan Hantzsch reaksiyonunun mekanizması.

Hantzsch reaksiyonunda, reaksiyon şartlarına bağlı olarak; uzun reaksiyon süreleri, beklenmeyen yan ürünler veya düşük verim elde edilebilir (120). Bu nedenle bu tez kapsamında uygulanan mikrodalga yöntemi sayesinde reaksiyon süresi kısaltılmış ve organik çözücü kullanımı azaltılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin yapıları ile bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri Table 5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1. Sentezlenen bileşiklerin yapıları ile bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri.

 HM1-8  HM9-16				
Bileşik	R ₁	R ₂	Molekül Ağırlığı	Erime Derecesi
HM1	H	Cl	452	213-215
HM2	Cl	Cl	486	214-216
HM3	H	Br	496	217-219
HM4	Br	Br	575	225-228
HM5	Br	Cl	531	218-219
HM6	NO ₂	Br	541	203-205
HM7	Br	NO ₂	541	233-235
HM8	NO ₂	NO ₂	507	217-21
HM9	H	Cl	474	202-203
HM10	Cl	Cl	508	171-173
HM11	H	Br	518	271-273
HM12	Br	Br	597	185-187
HM13	Br	Cl	553	160-162
HM14	NO ₂	Br	563	171-172
HM15	Br	NO ₂	563	118-120
HM16	NO ₂	NO ₂	529	140-142

Sentezlenen bileşiklerin yapıları, IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR ve kütle spektrumlarından elde edilen spektral verilere dayanarak doğrulanmıştır. Elde edilen bileşiklerin spektrumları **Ek-1**'de verilmiştir. Ayrıca **HM8** ve **HM12**'nin yapıları X-ışınları analizi yöntemiyle de aydınlatılmıştır. Bileşiklerin IR spektrumlarında fenol, amin, ester, keton fonksiyonel gruplarıyla aromatik yapılar için karakteristik gerilme titreşim bantları gözlenmiştir. O-H, N-H, C=O (ester), C=O (keton) bağlarına ait gerilim titreşimleri sırasıyla 3450, 3300, 1700 ve 1650 cm^{-1} civarında gözlenmektedir. Bu bulgular benzer yapılar için literatürde bildirilen değerlerle benzerdir (85,121).

Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumları DMSO- d_6 içerisinde elde edilmiştir. Altı numaralı konumdaki dimetil grupları 0,93-1,07 ppm aralığında farklı kimyasal kayma değerlerinde singlet olarak gözlenmişlerdir. DHP halkasına kondanse edilmiş sikloheksanon halkasının metilen protonları 1,64-2,62 ppm aralığında multiplet olarak izlenmişlerdir. İki numaralı konumdaki metil protonları 2,32–2,45 ppm arasında singlet olarak pik vermiştir. DHP halkasının kapandığını kanıtlayan dört numaralı konumdaki proton ve N-H protonları sırasıyla 4,85–5,0 ve 9,61-10,81 ppm' de gözlenmiştir. Dört numaralı konumdaki asimetric merkez nedeniyle benzil grubundaki metilen protonları (**HM1 –8**) eşdeğer olmadıklarından AB spin sistemi şeklinde sinyal vermiştir ($J = 12,8 - 13,6$ Hz). Aynı durum metakriloil grubundaki vinil protonları için de geçerlidir. Bu protonlar da 5.55–5.89 ppm arasında farklı kimyasal kayma değerlerinde izlenmişlerdir. Fenil halkasındaki aromatik protonlar ile O-H protonları sırasıyla 6,67–8,49 ppm ve 3,38–12,04 ppm aralığında gözlenmiştir.

Bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumlarında genellikle karbon atomlarının sayısına eşit sayıda pikler gözlenmiştir. Bazı bileşiklerin spektrumlarında aromatik bölgede üst üste çakışan pikler olması nedeniyle beklenenden daha az sayıda sinyal izlenmiştir. Azot atomunun etkisi, DHP halkasının sp^2 hibritleştirilmiş karbon atomları arasında kimyasal kayma değerlerinde önemli farklılıklara neden olmuştur. C-3 ve C-4a sinyalleri 100 ve 110 ppm civarında gözlenirken, C-2 ve C-8a ise sırasıyla 145 ve 150 ppm'de görülmektedir. Keton grubuna ait karbonlar 202,3 – 203,9 ppm arasında, ester gruplarının karbonilleri ise 165,5 – 166,3 ppm'de gözlenmiştir.

Bileşiklerin yapıları kütle spektrumları yardımıyla da doğrulanmıştır. Tüm bileşiklere ait moleküler iyon pikleri sodyum iyonu eklenmiş hali ile beklenen değerlerde gözlenmiştir. Ayrıca bileşiklerin taşıdığı halojenin cinsine (Cl ve/veya Br) ve izotopuna (^{35}Cl , ^{37}Cl , ^{79}Br , ^{81}Br) bağlı olarak izotop pikleri gözlenmiştir.

5.2. Bileşiklerin L-tipi (Cav1.2)/T-tipi (Cav3.2) Kalsiyum Kanallarına Etkileri

3-Piridilmetil grubunun benzil ile yer değiştirildiği ilk grup bileşik (**HM1-8**) içerisinde sadece **HM8**'in T-tipi kalsiyum kanalını selektif olarak bloke ettiği görülmüştür. Diğer bileşikler ne L-tipi ne de T-tipi kalsiyum kanallarını etkili bir şekilde bloke edememiştir. Bu sonuçlar, piridin halkasının azot atomunun kanalla etkileşimde önemli rolü olduğunu kanıtlamaktadır.

Ester grubuna *Michael* akseptörü getirilmesiyle sentezlenen ikinci grup bileşikte ise (**HM9-16**) çok daha etkili molekülere ulaşılmıştır. **HM9** ve **HM11** dışında tüm bileşikler Cav1.2 üzerinde inhibitör etki göstermişlerdir. Bu bileşiklerde fenil halkasının üç numaralı konumunda süstitüent olmaması bu pozisyondaki grupların kanalla etkileşimde önemli olabileceğini göstermektedir. Bu grup kapsamında test edilen bütün bileşikler Cav3.2'yi oldukça etkili şekilde bloke etmişlerdir. Bunların arasında, **HM10** ve **HM12-14** bileşikleri neredeyse tamama yakın (>%90) bir inhibisyona yol açmışlardır. **HM11**, **HM15** ve **HM16** ise kanaldan akımı %65-80 oranında bloke etmeyi başarmışlardır. **HM9** ise %50 civarında orta derecede bir inhibisyona neden olmuştur.

Güçlü bağlanmanın öngörülen kovalent bağlanma üzerinden olduğu hipotezini desteklemek için, elde edilen kanal blokajının geri dönüşlü olup olmadığı da deney sonrasında yıkama yapılarak test edilmiş ve inhibisyonun etkili bir şekilde devam ettiği gösterilmiştir. Ayrıca en aktif bileşiklerden biri olan **HM12**, N-tipi kalsiyum kanalı üzerinde de test edilmiş, Cav2.2'yi % 25.3 ± 4 oranında bloke ettiği gösterilmiştir. Bu veri, bileşiklerin L- ve T-tipi kanallarına kovalent bağlandığı görüşünü doğrulamaktadır.

Sonuçlar bütün olarak ele alındığında bileşik grupları arasındaki temel farkın ester grupları olduğu düşünülerek, aktivite oranları arasındaki belirgin değişiklikte ester gruplarının en önemli rolü oynadığı söylenebilir.

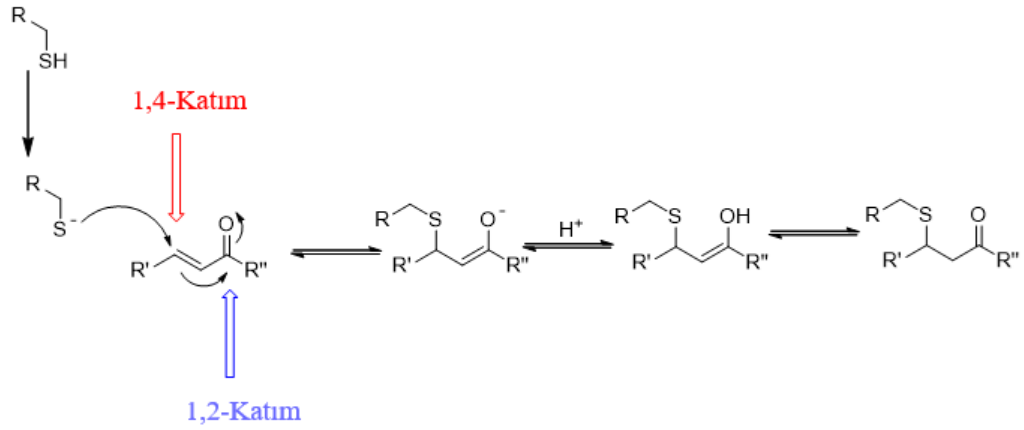
5.3. Doking Çalışmaları

Yapısında *Michael* akseptör grubu taşıyan bileşiklerin kalsiyum kanallarıyla kovalent bağlanma gerçekleştirdiği hipotezini desteklemek için moleküler doking yönteminden yararlanılmıştır. **HM12**'nin GOLD (106) programı kullanılarak L-tipi kalsiyum kanalına gerçekleştirilen doking çalışmaları sonucunda daha önce tanımlanan bağlanma şekline benzer sonuçlar elde edilmiştir (8). **HM12**'nin öngörülen bağlanma şekli, kanalın DHP bağlanma bölgesi içinde CYS1492 ile gerçekleşen kovalent bağlanmanın yanısıra TYR1489 ile hidrojen bağı ve birçok hidrofobik etkileşim içermektedir. Ayrıca brom atomlarının da hidrofobik etkileşmeden sorumlu olduğu saptanmıştır. Bu seri içinde en düşük aktivite gösteren **HM9** ve **HM11**'in fenil halkasının üç numaralı konumunda sübsitüent taşımaması bu konumun kanalla etkileşimler açısından önemli olduğunu göstermektedir. Bu bileşiklerin T-tipi kalsiyum kanalına bağlanmalarının araştırılması çalışmanın bütünlüğü açısından önem taşımaktadır ancak çalışmanın yapıldığı tarihte T-tipi kalsiyum kanalının kristal yapısının bulunmaması, ayrıca homoloji model geliştirmek için de yeterli benzerlikte protein bulunmaması nedeniyle çalışmanın bu kısmı gerçekleştirilememiştir.

5.4. Bileşiklerin Reaktivitelerinin Glutatyon ile Belirlenmesi

Bileşiklerin *Michael* akseptör gruplarının sisteminin tiyol grubuna karşı reaktiviteleri glutatyon kullanılarak test edilmiştir.

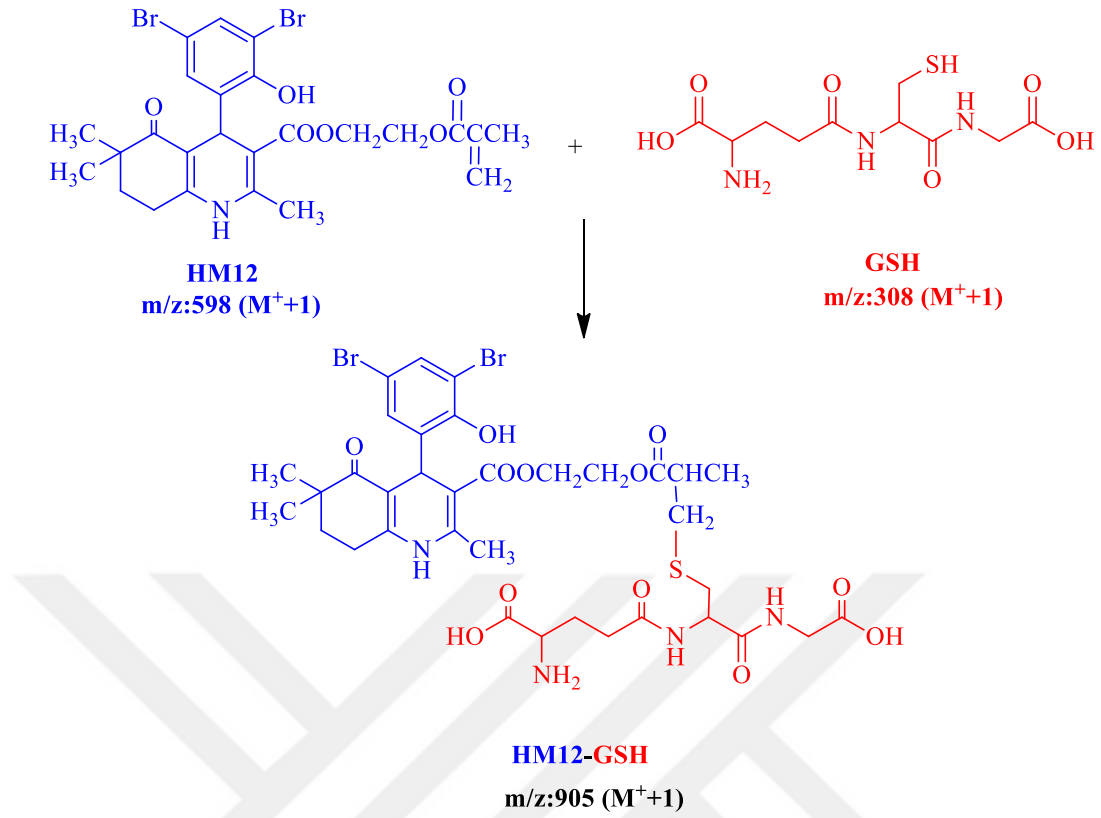
Michael katımının ilk basamağı, tiyol grubunun çifte bağın β -pozisyonuna nükleofilik atağı ile gerçekleşir. Daha sonra oluşan enolat ara ürünü ve keto-enol tautomerizasyonu ile ürün elde edilir (13) (Şekil 5.3).



Şekil 5.3. Tiyollerin α,β -doymamış karbonil bileşiklerine *Michael* katım reaksiyonunun mekanizması.

Bu reaksiyon için 1,2-katımı da olasıyken çoğu durumda 1,4-katım gerçekleşir. Çünkü bu reaksiyonun gerçekleşmesi için aktivasyon enerjisi direkt katıma göre genellikle daha düşüktür (116).

L-tipi kalsiyum kanal blokörleri ile glutatyon arasındaki 1,4-katım reaksiyonu kütle spektroskopisi ile doğrulanmıştır (Şekil 5.4). Bu amaçla GSH ve moleküller HPLC vialleri içerisinde inkübe edilmiştir. $t=0$ ve $t=120$ dakikalarda injeksiyonlar gerçekleştirilmiş ve ürüne ait pik $t=120$ dakikada gözlenmiştir.



Şekil 5.4. HM12 ve GSH reaksiyonu sonucu 1,4-katım ürününün oluşumu.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1,4-Dihidropiridin (DHP) halkasını yapısında taşıyan moleküller, farklı kalsiyum kanal alt tiplerini bloke ederek etkisini gösteren, kardiyovasküler ve nörofizyolojik hastalıklarda kullanımı olan terapötik etkili bileşiklerdir. Bu çalışma kapsamında benzil/2-(metakriloksi)etil 2-metil-4-(sübstitüe fenil)-5-okso-1,4,5,6,7,8-hekzahidrokinolin-3-karboksilat yapısına sahip on altı adet DHP türevi Hantzsch sentezine göre elde edilmiştir. Bileşiklerin sentezi, 4,4-dimetil-1,3-sikloheksadion, salisilaldehit türevleri, benzil asetoasetat / 2-(metakriloiloksi)etil asetoasetat ve amonyum asetatın etanol içinde mikrodalga ışıması altında gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları, IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve kütle spektrumundan elde edilen spektral verilere dayanarak doğrulanmıştır. Bileşiklerin L- ve T-tipi kalsiyum kanalı üzerine bloke edici etkileri *patch-clamp* yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ester yan zincirinde benzil grubu taşıyan bileşiklerden sadece bir tanesinin T-tipi kalsiyum kanalını selektif olarak bloke ettiği gözlenmiştir. Ester yapısına alkil grubu olarak 2-(metakriloiloksi)etil sübstitüsyonu ile etkili kalsiyum kanal blokörlerine ulaşılmıştır. Elde edilen veriler, ester grubuna *Michael* akseptörünün getirilmesiyle kalsiyum kanallarının kovalent inhibitörlerine ulaşıldığını doğrulamıştır. Öngörülen kovalent bağlanma, L-tipi kalsiyum kanalına yapılan moleküler doking yöntemiyle desteklenmiş, ayrıca glutasyon inkübasyon testiyle de bileşiklerin reaktiviteleri doğrulanmıştır. Çalışmanın yapıldığı tarihte T-tipi kalsiyum kanalının üç boyutlu yapısının henüz aydınlatılmamış olması nedeniyle bu kanal alt tipine kovalent bağlanma moleküler doking yöntemiyle kanıtlanamamıştır.

Kalsiyum kanalları için ilk defa tanımlanmış olan kovalent inhibitörlerle, çok etkili bileşiklere ulaşılmanın yanı sıra, uzun etki süresi ve daha düşük dozda ilaç kullanma gibi avantajlar da elde edilebilir. Bu nedenle, bu tez kapsamında kullanılmış olan bu yaklaşımın bundan sonra hipertansiyon ya da aljezi tedavisinde kullanılacak kalsiyum kanal inhibitörlerinin tasarımı için yeni bir yol açması umut edilmektedir. Ayrıca T-tipi kalsiyum kanalının kristal yapısının aydınlatılması ilerleyen zamanda çalışmalarımıza yeni bir boyut kazandıracaktır.

7. KAYNAKLAR

1. 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 Pharmacol Rev*. 2015;67:821–70.
2. Zamponi GW. Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15(1):19–34.
3. 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.
4. Kumar PP, Stotz SC, Paramashivappa R, Beedle AM, Zamponi GW, Rao AS. Synthesis and evaluation of a new class of nifedipine analogs with T-type calcium channel blocking activity. *Mol Pharmacol*. 2002;61(3):649–58.
5. Bladen C, Gündüz MG, Şimşek R, Şafak C, Zamponi GW. Synthesis and Evaluation of 1,4-Dihydropyridine Derivatives with Calcium Channel Blocking Activity. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2014;466(7):1355–63.
6. 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. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2015;467(6):1237–47.
7. Gadotti VM, Bladen C, Zhang FX, Chen L, Gündüz MG, Şimşek R, et al. Analgesic effect of a broad-spectrum dihydropyridine inhibitor of voltage-gated calcium channels. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2015;467(12):2485–93.
8. 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.
9. Langdon SR, Ertl P, Brown N. Bioisosteric Replacement and Scaffold Hopping in Lead Generation and Optimization. *Mol Inform*. 2010;29(5):366–85.
10. Patani GA, LaVoie EJ. Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design. *Chem Rev*. 1996;96(8):3147–76.
11. Singh J, Petter RC, Baillie TA, Whitty A. The resurgence of covalent drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10(4):307–17.
12. Bauer RA. Covalent inhibitors in drug discovery: from accidental discoveries to avoided liabilities and designed therapies. *Drug Discov Today*. 2015;20(9):1061–73.
13. H. Johansson M. Reversible Michael Additions: Covalent Inhibitors and Prodrugs. *Mini Rev Med Chem*. 2012;12(13):1330–44.

14. Catterall WA, Leal K, Nanou E. Calcium channels and short-term synaptic plasticity. *Journal of Biological Chemistry*. 2013.
15. Simms BA, Zamponi GW. Neuronal Voltage-Gated Calcium Channels: Structure, Function, and Dysfunction. *Neuron*. 2014;82(1):24–45.
16. Tanabe T, Beam KG, Adams BA, Niidome T, Numa S. Regions of the skeletal muscle dihydropyridine receptor critical for excitation–contraction coupling. *Nature*. 1990;346(6284):567–9.
17. Catterall WA, Perez-Reyes E, Snutch TP, Striessnig J. International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated calcium channels. *Pharmacol Rev*. 2005;57(4):411–25.
18. Felix R. Calcium Channelopathies. *NeuroMolecular Med*. 2006;8(3):307–18.
19. Bean BP. Classes of Calcium Channels in Vertebrate Cells. *Annu Rev Physiol*. 1989;51(1):367–84.
20. Nowycky MC, Fox AP, Tsien RW. Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity. *Nature*. 1985;316(6027):440–3.
21. Perez-Reyes E. Molecular Physiology of Low-Voltage-Activated T-type Calcium Channels. *Physiol Rev*. 2003;83(1):117–61.
22. Catterall WA. Ion Channel Voltage Sensors: Structure, Function, and Pathophysiology. *Neuron*. 2010;67(6):915–28.
23. Bladen C, Zamponi GW. Common mechanisms of drug interactions with sodium and T-type calcium channels. *Mol Pharmacol*. 2012;82(3):481–7.
24. Striessnig J, Grabner M, Mitterdorfer J, Hering S, Sinnegger MJ, Glossmann H. Structural basis of drug binding to L Ca²⁺ channels. *Trends Pharmacol Sci*. 1998;19(3):108–15.
25. Triggle DJ. Calcium channel antagonists: Clinical uses-Past, present and future. *Biochem Pharmacol*. 2007;74(1):1–9.
26. WHOCC - ATC/DDD Index.
27. Hantzsch A. Ueber die Synthese pyridinartiger Verbindungen aus Acetessigäther und Aldehydammoniak. *Justus Liebig's Ann der Chemie*. 1882;215(1):1–82.
28. Loev B, Ehrreich SJ, Tedeschi RE. Dihydropyridines with potent hypotensive activity prepared by the Hantzsch reaction*. *J Pharm Pharmacol*. 1972;24(11):917–8.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
 32. Handrock R, Herzig S. Stereoselectivity of Ca^{2+} channel block by dihydropyridines: no modulation by the voltage protocol. *Eur J Pharmacol*. 1996;309(3):317–21.
 33. 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.
 34. Datar PA, Auti PB. Design and synthesis of novel 4-substituted 1,4-dihydropyridine derivatives as hypotensive agents. *J Saudi Chem Soc*. 2016;20(5):510–6.
 35. Locatelli A, Cosconati S, Micucci M, Leoni A, Marinelli L, Bedini A, et al. Ligand Based Approach to L-Type Calcium Channel by Imidazo[2,1-b]thiazole-1,4-Dihydropyridines: from Heart Activity to Brain Affinity. *J Med Chem*. 2013;56(10):3866–77.
 36. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Physiol*. 2007;292(1):C82–97.
 37. Hadizadeh F, Imenshahidi M, Esmaili P, Taghiabadi M. Synthesis and Effects of Novel Dihydropyridines as Dual Calcium Channel Blocker and Angiotensin Antagonist on Isolated Rat Aorta. *Mashhad Univ Med Sci*. 2010;13(1):195–201.
 38. Mojarad JS, Nazemiyeh H, Kaviani F. Synthesis and Regioselective Hydrolysis of Novel Dialkyl 4-Imidazolyl-1,4-Dihydropyridine-3,5-dicaroxlates as Potential Dual Acting Angiotensin II Inhibitors and Calcium Channel Blockers. *J Iran Chem Soc*. 2010;7(1):171–9.
 39. Teleb M, Zhang F-X, Farghaly AM, Aboul Wafa OM, Fronczek FR, Zamponi GW, et al. Synthesis of new N3-substituted dihydropyrimidine derivatives as L-/T- type calcium channel blockers. *Eur J Med Chem*. 2017;134:52–61.
 40. Teleb M, Zhang F-X, 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.
 41. Teleb M, Rizk OH, Zhang F-X, Fronczek FR, Zamponi GW, Fahmy H. Design, synthesis and pharmacological evaluation of some substituted dihydropyrimidines with L-/T-type calcium channel blocking activities.

- Bioorg Chem. 2019;83:354–66.
42. Teleb M, Rizk OH, Zhang F-X, Fronczek FR, Zamponi GW, Fahmy H. Synthesis of some new C2 substituted dihydropyrimidines and their electrophysiological evaluation as L-/T-type calcium channel blockers. *Bioorg Chem.* 2019;88:102915.
 43. Kalavagunta PK, Bagul PK, Jallapally A, Kantevari S, Banerjee SK, Ravirala N. Design and green synthesis of 2-(diarylalkyl)aminobenzothiazole derivatives and their dual activities as angiotensin converting enzyme inhibitors and calcium channel blockers. *Eur J Med Chem.* 2014;83:344–54.
 44. Renneberg D, Hubler F, Rey M, Hess P, Delahaye S, Gatfield J, et al. Discovery of novel bridged tetrahydronaphthalene derivatives as potent T/L-type calcium channel blockers. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015;25(18):3941–6.
 45. Davogustto G, Taegtmeier H. Perhexiline, Cardiac Energetics, and Heart Failure. *JACC Hear Fail.* 2015;3(8):659–60.
 46. Budriesi R, Cosimelli B, Ioan P, Carosati E, Ugenti M, Spisani R. Diltiazem Analogues: The Last Ten Years on Structure Activity Relationships. *Curr Med Chem.* 2007;14(3):279–87.
 47. Weiss N, Zamponi GW. T-type calcium channels: From molecule to therapeutic opportunities. *Int J Biochem Cell Biol.* 2019;108:34–9.
 48. Khosravani H, Zamponi GW. Voltage-Gated Calcium Channels and Idiopathic Generalized Epilepsies. *Physiol Rev.* 2006;86(3):941–66.
 49. 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.
 50. 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.
 51. McKay BE, McRory JE, Molineux ML, Hamid J, Snutch TP, Zamponi GW, et al. CaV3 T-type calcium channel isoforms differentially distribute to somatic and dendritic compartments in rat central neurons. *Eur J Neurosci.* 2006;24(9):2581–94.
 52. 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.
 53. 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.
 54. Weiss N, Zamponi GW. T-Type Channel Druggability at a Crossroads. *ACS Chem Neurosci.* 2019;10(3):1124–6.

55. Stengel W, Jainz M, Andreas K. Different potencies of dihydropyridine derivatives in blocking T-type but not L-type Ca^{2+} channels in neuroblastoma-glioma hybrid cells. *Eur J Pharmacol.* 1998;342(2–3):339–45.
56. Eisner U, Kuthan J. Chemistry of dihydropyridines. *Chem Rev.* 1972;72(1):1–42.
57. Stout DM, Meyers AI. Recent advances in the chemistry of dihydropyridines. *Chem Rev.* 1982;82(2):223–43.
58. Kuthan J, Kurfurst A. Development in dihydropyridine chemistry. *Ind Eng Chem Prod Res Dev.* 1982;21(2):191–261.
59. Sausins AE, Duburs G. Synthesis of 1,4-dihydropyridines in cyclocondensation reactions (review). *Chem Heterocycl Compd.* 1992;28(4):363–91.
60. Rezaei N, Ranjbar PR. The efficient synthesis of Hantzsch 1,4-dihydropyridines via metal-free oxidative CC coupling by HBr and DMSO. *Tetrahedron Lett.* 2018;59(46):4102–6.
61. Krishna Kumari A, Hanuman Reddy V, Mallikarjuna Reddy G, Rami Reddy YV, Leelavathi S. Synthesis of Dihydropyridine Derivatives under Eco-friendly Approach and Investigation of Cytotoxic Activity. *J Heterocycl Chem.* 2019;56(5):1661–6.
62. Vanden Eynde J, Mayence A. Synthesis and Aromatization of Hantzsch 1,4-Dihydropyridines under Microwave Irradiation. An Overview. *Molecules.* 2003;8(4):381–91.
63. Vanden Eynde J, Rutot D. Microwave-mediated derivatization of poly(styrene-co-allyl alcohol), a key step for the soluble polymer-assisted synthesis of heterocycles. *Tetrahedron.* 1999;55(9):2687–94.
64. Mithlesh, Pareek PK, Kant R, Ojha KG. Conventional- and microwave-induced synthesis of biologically active 1,4-dihydropyridine derivatives containing benzothiazolyl moiety. *Main Gr Chem.* 2009;8(4):323–35.
65. Debache A, Ghalem W, Boulcina R, Belfaitah A, Rhouati S, Carboni B. An efficient one-step synthesis of 1,4-dihydropyridines via a triphenylphosphine-catalyzed three-component Hantzsch reaction under mild conditions. *Tetrahedron Lett.* 2009;50(37):5248–50.
66. Safari J, Azizi F, Sadeghi M. Chitosan nanoparticles as a green and renewable catalyst in the synthesis of 1,4-dihydropyridine under solvent-free conditions. *New J Chem.* 2015;39(3):1905–9.
67. Sridhar R, Perumal PT. A new protocol to synthesize 1,4-dihydropyridines by using 3,4,5-trifluorobenzenboronic acid as a catalyst in ionic liquid: synthesis of novel 4-(3-carboxyl-1H-pyrazol-4-yl)-1,4-dihydropyridines. *Tetrahedron.* 2005;61(9):2465–70.
68. Ko S, Sastry MNV, Lin C, Yao C-F. Molecular iodine-catalyzed one-pot synthesis of 4-substituted-1,4-dihydropyridine derivatives via Hantzsch reaction. *Tetrahedron Lett.* 2005;46(34):5771–4.

69. Boecker RH, Guengerich FP. Oxidation of 4-aryl- and 4-alkyl-substituted 2,6-dimethyl-3,5-bis(alkoxycarbonyl)-1,4-dihydropyridines by human liver microsomes and immunochemical evidence for the involvement of a form of cytochrome P-450. *J Med Chem.* 1986;29(9):1596–603.
70. Eynde J-J 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.
71. 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.
72. Lu Z, Yang Y-Q, Li H-X. Photoinduced Aromatization of Dihydropyridines. *Synthesis (Stuttg).* 2016;48(23):4221–7.
73. Kumar P, Kadyan K, Duhan M, Sindhu J, Hussain K, Lal S. Silica-supported ceric ammonium nitrate (CAN): a simple, mild and solid-supported reagent for quickest oxidative aromatization of Hantzsch 1,4-dihydropyridines. *Chem Pap.* 2019;73(5):1153–62.
74. 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 Feb;57(2–3):149–60.
75. 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 Nov;271(47):29537–44.
76. Raemsch KD, Sommer J. Pharmacokinetics and metabolism of nifedipine. *Hypertens (Dallas, Tex 1979).* 1983;5(4 Pt 2):II18-24.
77. 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.
78. Ranjbar S, Edraki N, Firuzi O, Khoshneviszadeh M, Miri R. 5-Oxo-hexahydroquinoline: an attractive scaffold with diverse biological activities. *Mol Divers.* 2018;
79. Carosati E, Ioan P, Micucci M, Broccatelli F, Cruciani G, Zhorov BS, et al. 1,4-Dihydropyridine Scaffold in Medicinal Chemistry, The Story So Far And Perspectives (Part 2): Action in Other Targets and Antitargets. *Curr Med Chem.* 2012;19(25):4306–23.
80. Sepehri S, Sanchez HP, Fassihi A. Hantzsch-Type Dihydropyridines and Biginelli-Type Tetra-hydropyrimidines: A Review of their Chemotherapeutic Activities. *J Pharm Pharm Sci.* 2015;18(1):1.
81. Kumbhare RM, Kosurkar UB, Bagul PK, Kanwal A, Appalanaidu K, Dadmal TL, et al. Synthesis and evaluation of novel triazoles and mannich bases functionalized 1,4-dihydropyridine as angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors. *Bioorg Med Chem.* 2014;22(21):5824–30.

82. Krentz AJ, Bailey CJ. Oral Antidiabetic Agents. *Drugs*. 2005;65(3):385–411.
83. Niaz H, Kashtoh H, Khan JAJ, Khan A, Wahab A-, Alam MT, et al. Synthesis of diethyl 4-substituted-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylates as a new series of inhibitors against yeast α -glucosidase. *Eur J Med Chem*. 2015;95:199–209.
84. Gomez JE, McKinney JD. M. tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance. *Tuberculosis*. 2004;84(1–2):29–44.
85. Baydar E, Gündüz MG, Krishna VS, Şimşek R, Sriram D, Yıldırım SÖ, et al. Synthesis, crystal structure and antimycobacterial activities of 4-indolyl-1,4-dihydropyridine derivatives possessing various ester groups. *Res Chem Intermed*. 2017;
86. Desai NC, Trivedi AR, Somani HC, Bhatt KA. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 1,4-dihydropyridine Derivatives as Potent Antitubercular Agents. *Chem Biol Drug Des*. 2015;86(3):370–7.
87. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997;82(2):291–5.
88. 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.
89. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2016;388(10043):505–17.
90. Kumar A, Singh A, Ekavali. A review on Alzheimer's disease pathophysiology and its management: an update. *Pharmacol Reports*. 2015;67(2):195–203.
91. Peauger L, Azzouz R, Gembus V, Tîntaş M-L, 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.
92. Yan R, Vassar R. Targeting the β secretase BACE1 for Alzheimer's disease therapy. *Lancet Neurol*. 2014;13(3):319–29.
93. Miri R, Firuzi O, Razzaghi-Asl N, Javidnia K, Edraki N. Inhibitors of Alzheimer's BACE-1 with 3,5-bis-N-(aryl/heteroaryl) carbamoyl-4-aryl-1,4-dihydropyridine structure. *Arch Pharm Res*. 2015;38(4):456–69.
94. Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015;93:52–79.
95. Singh RK, Prasad DN, Bhardwaj TR. Hybrid pharmacophore-based drug design, synthesis, and antiproliferative activity of 1,4-dihydropyridines-linked alkylating anticancer agents. *Med Chem Res*. 2015;24(4):1534–45.
96. Zhang Y-L, Li Y-F, Wang J-W, Yu B, Shi Y-K, Liu H-M. Multicomponent assembly of novel antiproliferative steroidal dihydropyridinyl

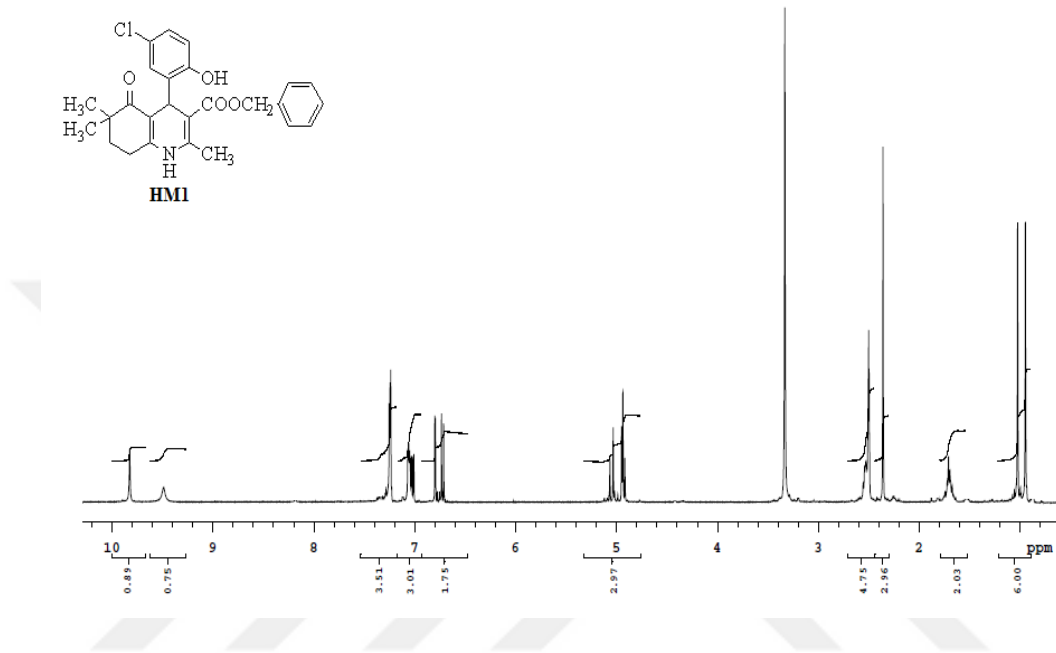
- spirooxindoles. *Steroids*. 2016;109:22–8.
97. Holmes AH, Moore LSP, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016;387(10014):176–87.
 98. Archana S, Dinesh M, Ranganathan R, Ponnuswamy A, Kalaiselvi P, Chellammal 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.
 99. Viveka S, Dinesha, Madhu LN, Nagaraja GK. Synthesis of new pyrazole derivatives via multicomponent reaction and evaluation of their antimicrobial and antioxidant activities. *Monatshefte für Chemie - Chem Mon*. 2015;146(9):1547–55.
 100. Sheldrick GM. A short history of SHELX. *Acta Crystallogr Sect A Found Crystallogr*. 2008;64(1):112–22.
 101. Sheldrick GM. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr Sect C Struct Chem*. 2015;71(1):3–8.
 102. Spek AL, IUCr. Single-crystal structure validation with the program PLATON. *J Appl Crystallogr*. 2003;36(1):7–13.
 103. Weiss N, Black SAG, Bladen C, Chen L, Zamponi GW. Surface expression and function of Cav3.2 T-type calcium channels are controlled by asparagine-linked glycosylation. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*. 2013;465(8):1159–70.
 104. Chemical Computing Group Inc. Molecular Operating Environment (MOE). Montreal, QC, Canada; 2018:1010.
 105. Sadowski J, Gasteiger J, Klebe G. Comparison of Automatic Three-Dimensional Model Builders Using 639 X-ray Structures. *J Chem Inf Model*. 1994;34(4):1000–8.
 106. Cole J, Willem M, Nissink J, Taylor R. Protein-Ligand Docking and Virtual Screening with GOLD. In: Alvarez J, Shoichet B, editors. *Virtual Screening in Drug Discovery*. Boca Raton: Taylor & Francis CRC Press; 2005. p. 379–415.
 107. Peterson BZ, Tanada TN, Catterall WA. Molecular determinants of high affinity dihydropyridine binding in L-type calcium channels. *J Biol Chem*. 1996;271(10):5293–6.
 108. Schuster A, Lacinová L, Klugbauer N, Ito H, Birnbaumer L, Hofmann F. The IVS6 segment of the L-type calcium channel is critical for the action of dihydropyridines and phenylalkylamines. *EMBO J*. 1996;15(10):2365–70.
 109. Peterson BZ, Johnson BD, Hockerman GH, Acheson M, Scheuer T, Catterall WA. Analysis of the dihydropyridine receptor site of L-type calcium channels by alanine-scanning mutagenesis. *J Biol Chem*. 1997;272(30):18752–8.
 110. Wappl E, Mitterdorfer J, Glossmann H, Striessnig J. Mechanism of

- dihydropyridine interaction with critical binding residues of L-type Ca^{2+} channel $\alpha 1$ subunits. *J Biol Chem.* 2001;276(16):12730–5.
111. Senatore A, Boone A, Lam S, Dawson TF, Zhorov B, Spafford Jd. Mapping of dihydropyridine binding residues in a less sensitive invertebrate L-type calcium channel (LCav1). *Channels.* 2011;5(2):173–87.
 112. Yamaguchi S, Okamura Y, Nagao T, Adachi-Akahane S. Serine residue in the IIIS5-S6 linker of the L-type Ca^{2+} channel $\alpha 1\text{C}$ subunit is the critical determinant of the action of dihydropyridine Ca^{2+} channel agonists. *J Biol Chem.* 2000;275(52):41504–11.
 113. 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.
 114. Powers JC, Asgjan JL, Ekici ÖD, James KE. Irreversible Inhibitors of Serine, Cysteine, and Threonine Proteases. *Chem Rev.* 2002;102(12):4639–750.
 115. Böhme A, Thaens D, Paschke A, Schüürmann G. Kinetic Glutathione Chemoassay To Quantify Thiol Reactivity of Organic Electrophiles Application to α,β -Unsaturated Ketones, Acrylates, and Propiolates. *Chem Res Toxicol.* 2009;22(4):742–50.
 116. Paasche A, Schiller M, Schirmeister T, Engels B. Mechanistic Study of the Reaction of Thiol-Containing Enzymes with α,β -Unsaturated Carbonyl Substrates by Computation and Chemoassays. *ChemMedChem.* 2010;5(6):869–80.
 117. Freidig AP, Verhaar HJM, Hermens JLM. Quantitative structure-property relationships for the chemical reactivity of acrylates and methacrylates. *Environ Toxicol Chem.* 1999;18(6):1133–9.
 118. Özer EK, Gündüz MG, El-Khouly A, Sara MY, Şimşek R, İskit AB, et al. Microwave-assisted synthesis of condensed 1,4-dihydropyridines as potential calcium channel modulators. *TURKISH J Chem.* 2015;39:886–96.
 119. Sharma VK, Singh SK. Synthesis, utility and medicinal importance of 1,2- & 1,4-dihydropyridines. *RSC Adv.* 2017;7(5):2682–732.
 120. Kumar A, Maurya RA. Synthesis of polyhydroquinoline derivatives through unsymmetric Hantzsch reaction using organocatalysts. *Tetrahedron.* 2007;63(9):1946–52.
 121. Gündüz M, 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.

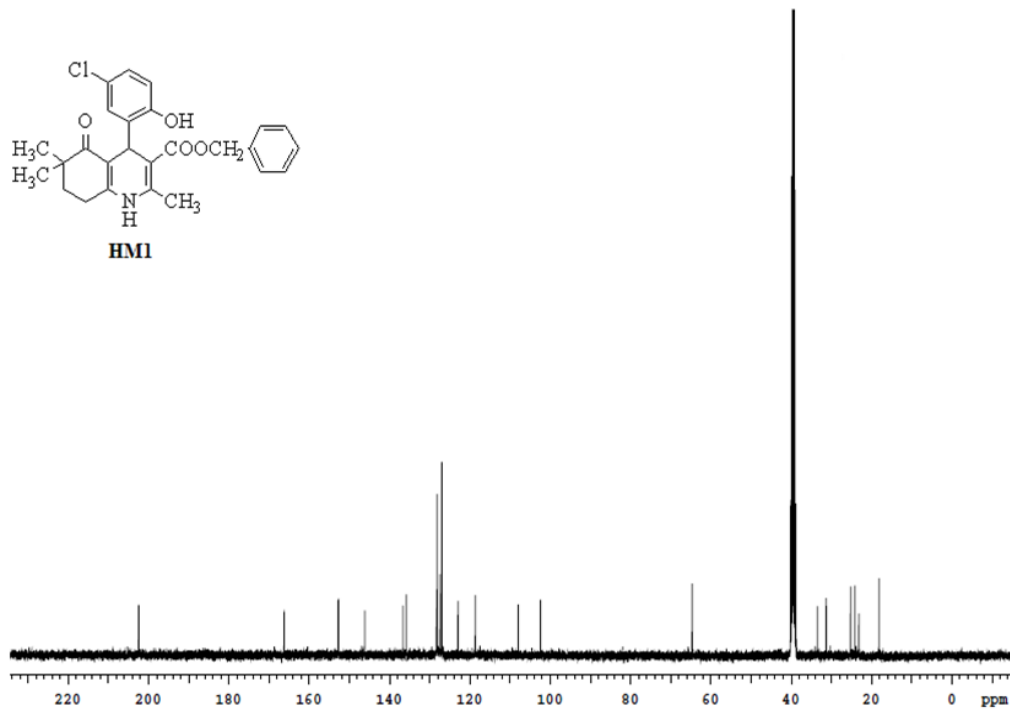
8. EKLER

EK-1: Sentezlenen Moleküllerin Spektrumları

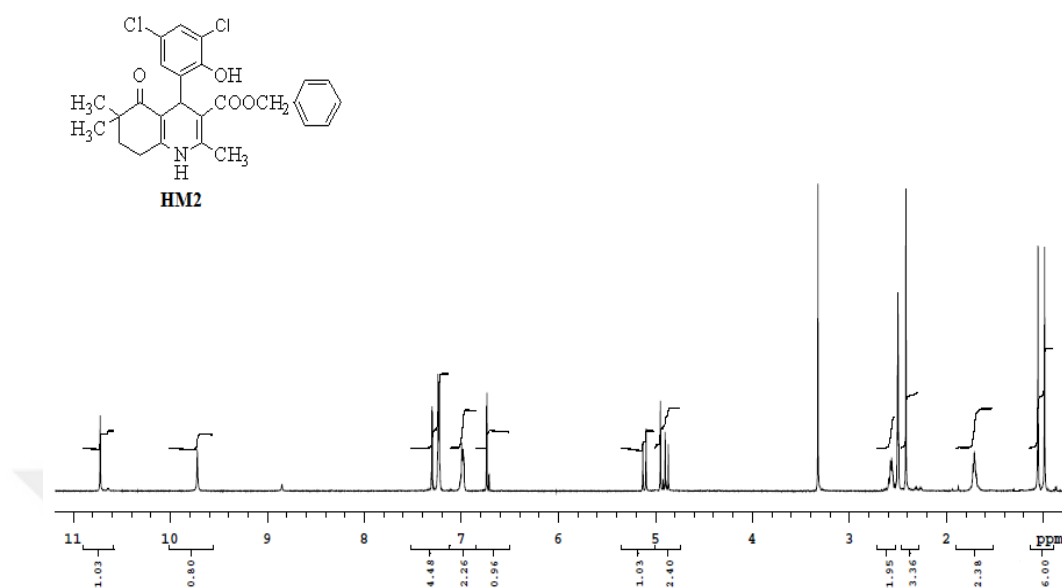
HM1'in ^1H -NMR spektrumu.



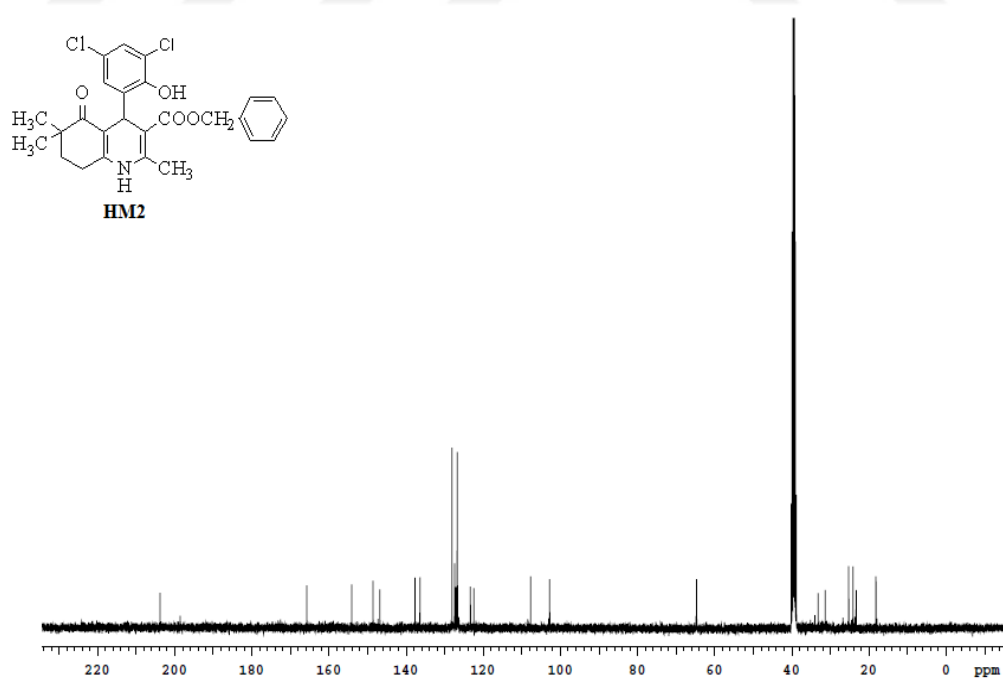
HM1'in ^{13}C -NMR spektrumu



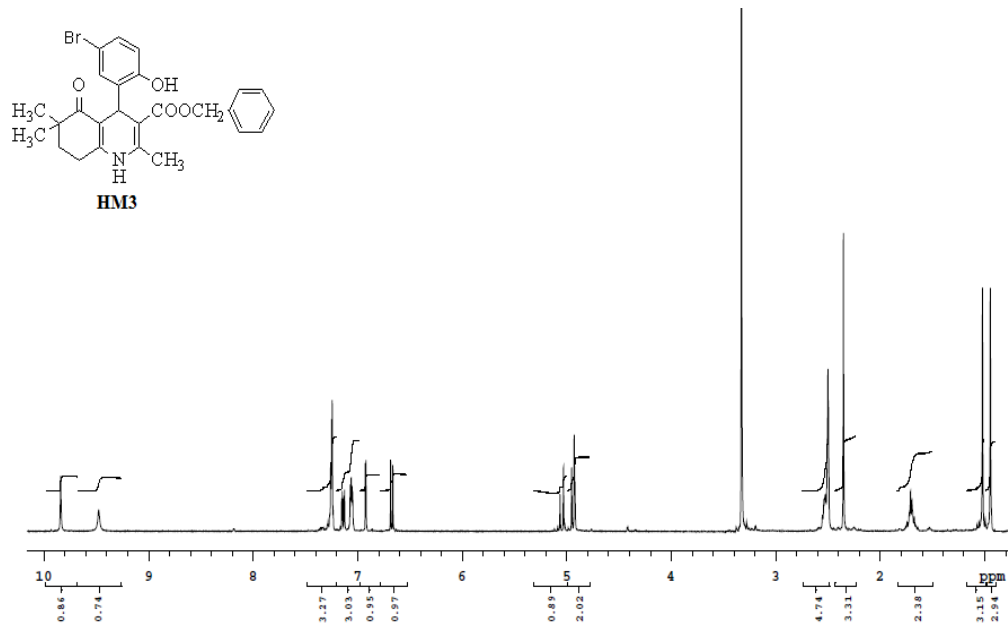
HM2'nin ^1H -NMR spektrumu



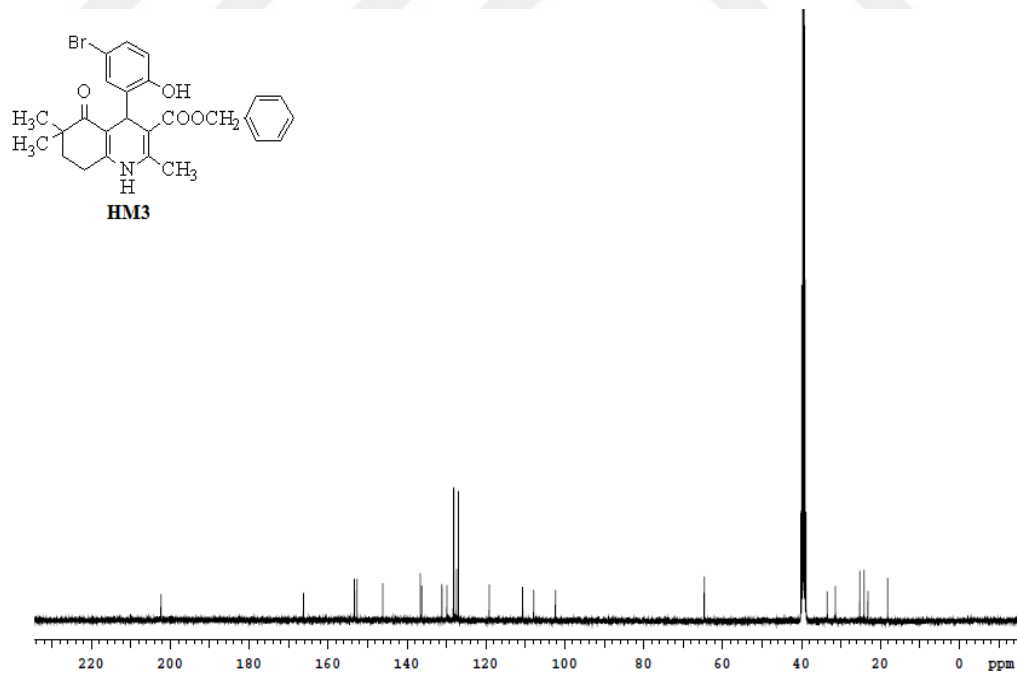
HM2'nin ^{13}C -NMR spektrumu



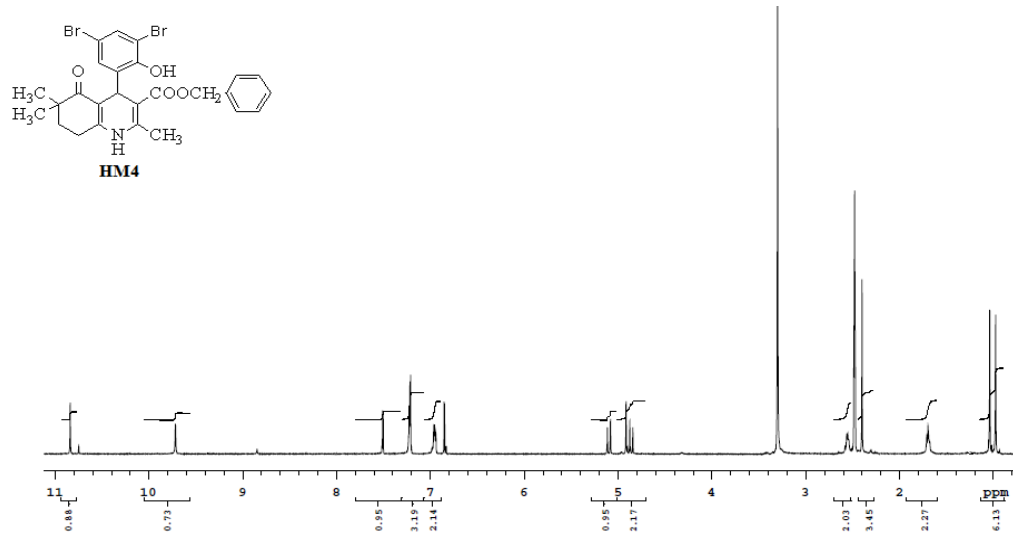
HM3'ün ^1H -NMR spektrumu



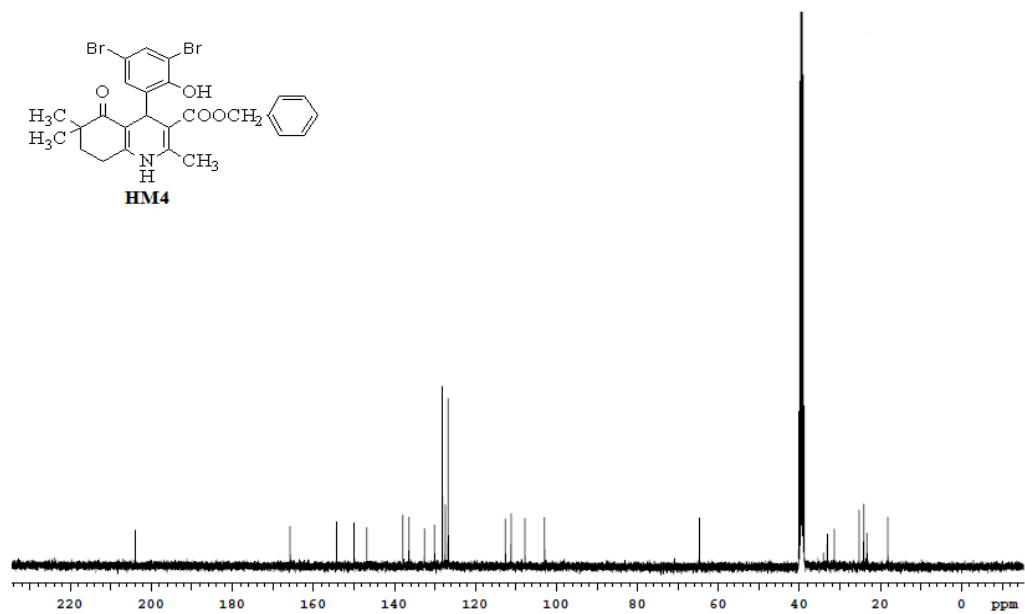
HM3'ün ^{13}C -NMR spektrumu



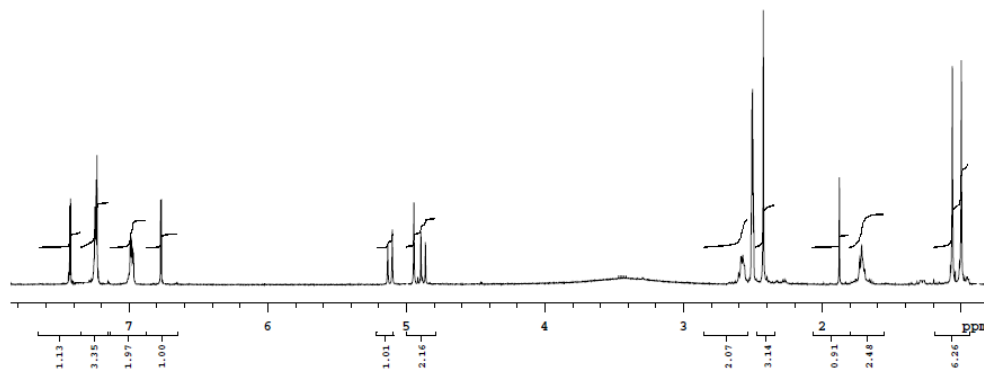
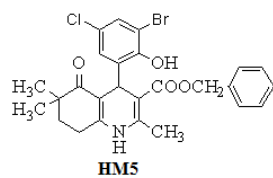
HM4'ün ^1H -NMR spektrumu



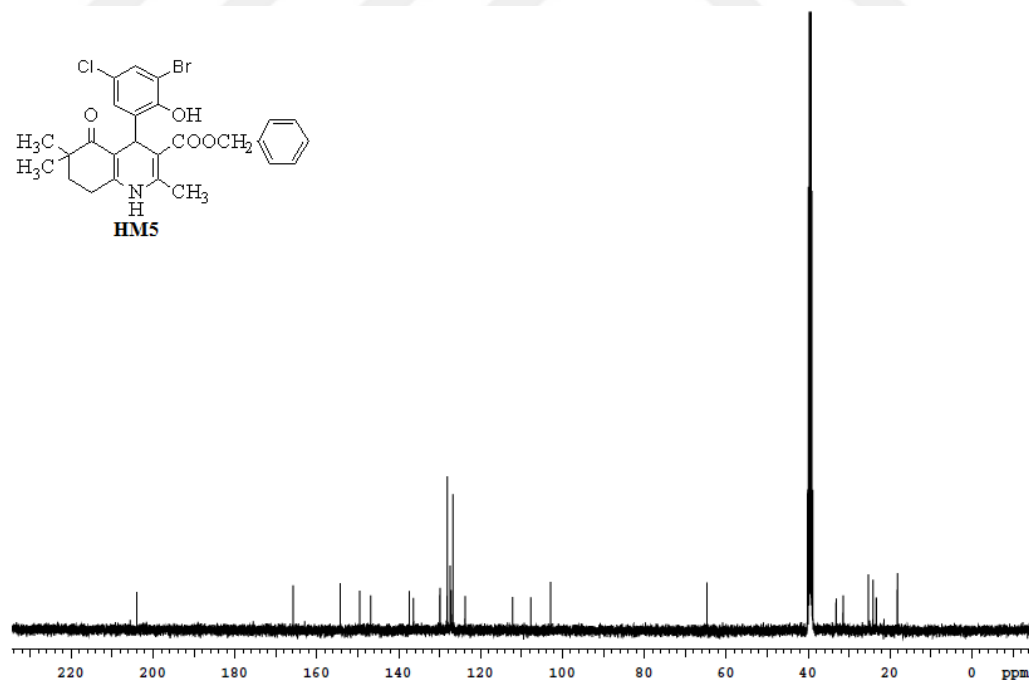
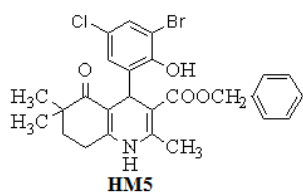
HM4'ün ^{13}C -NMR spektrumu



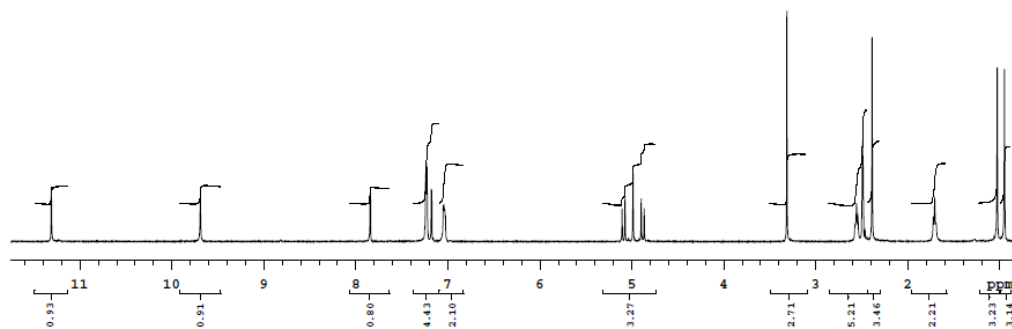
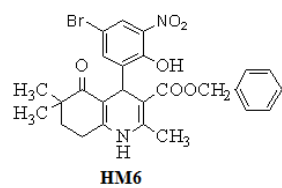
HM5'in ^1H -NMR spektrumu



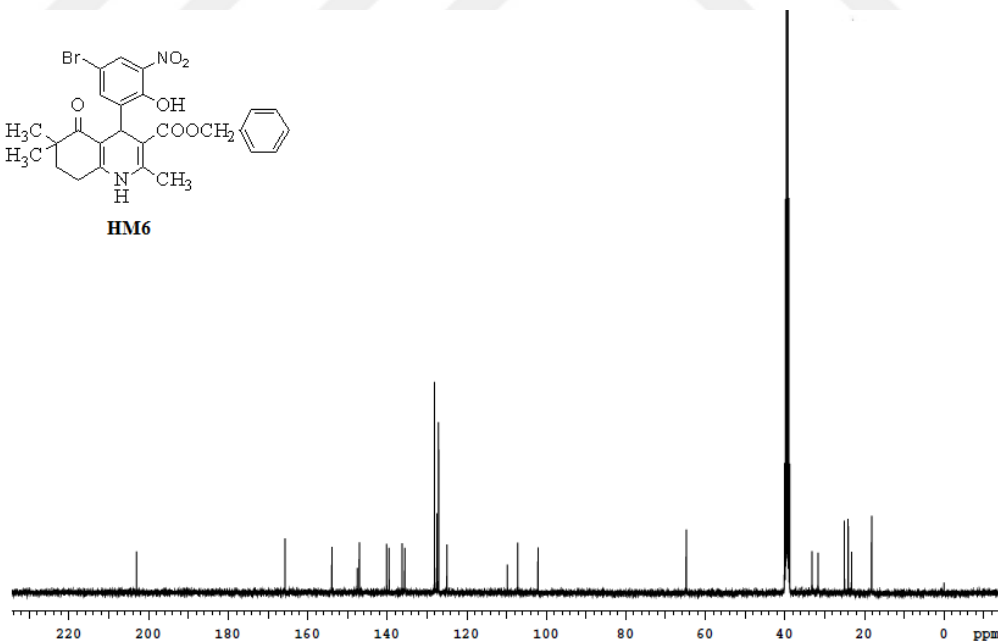
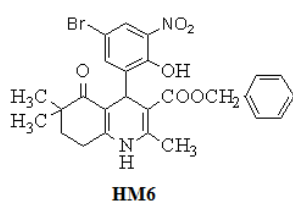
HM5'in ^{13}C -NMR spektrumu



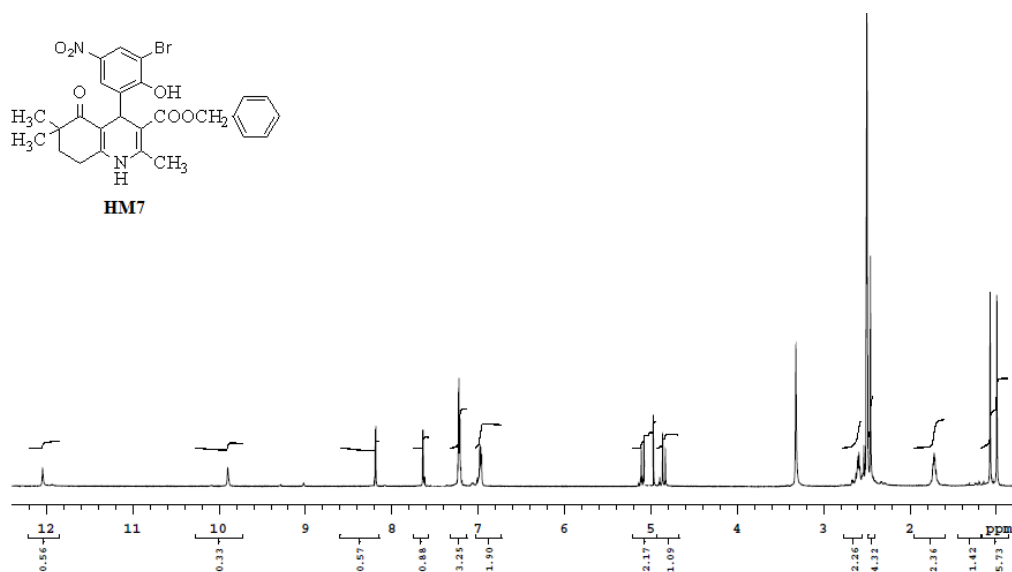
HM6'nin ^1H -NMR spektrumu.



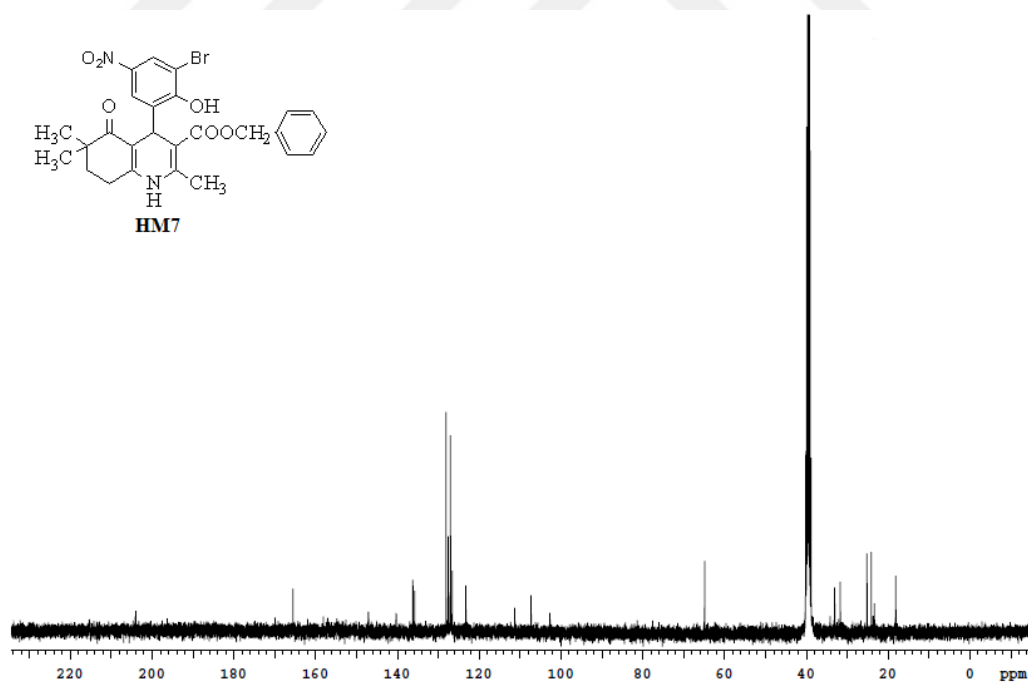
HM6'nin ^{13}C -NMR spektrumu



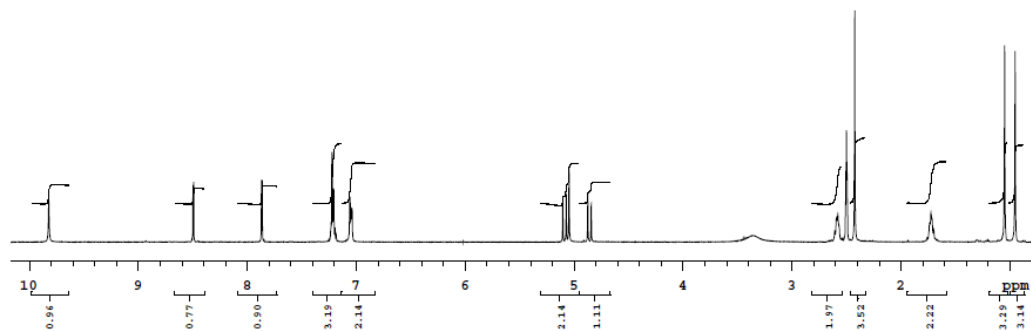
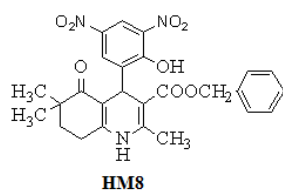
HM7'nin ^1H -NMR spektrumu.



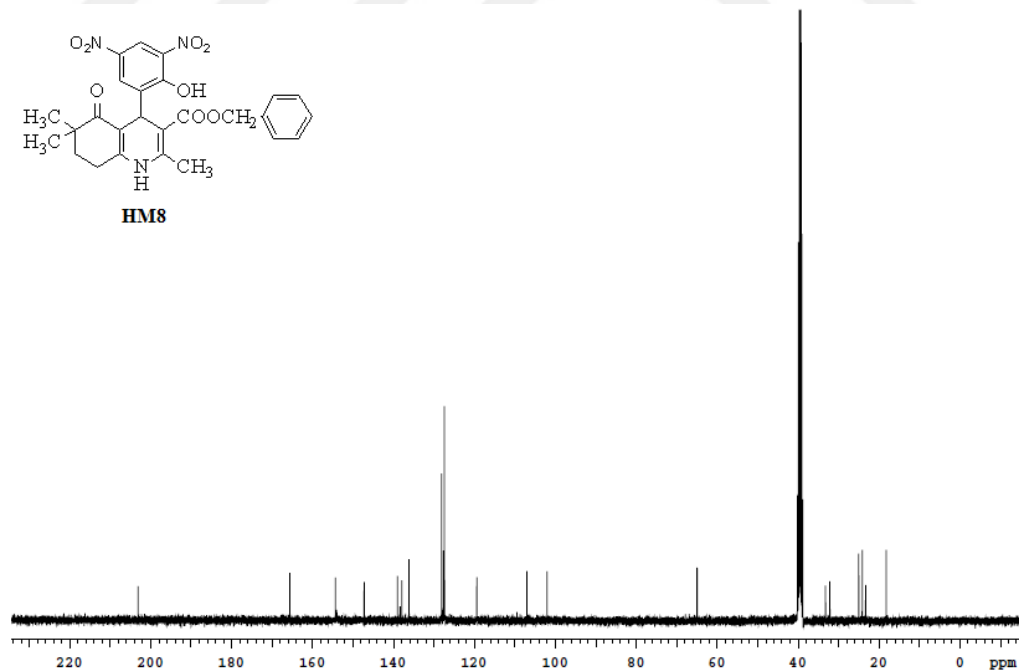
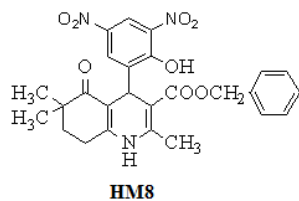
HM7'nin ^{13}C -NMR spektrumu



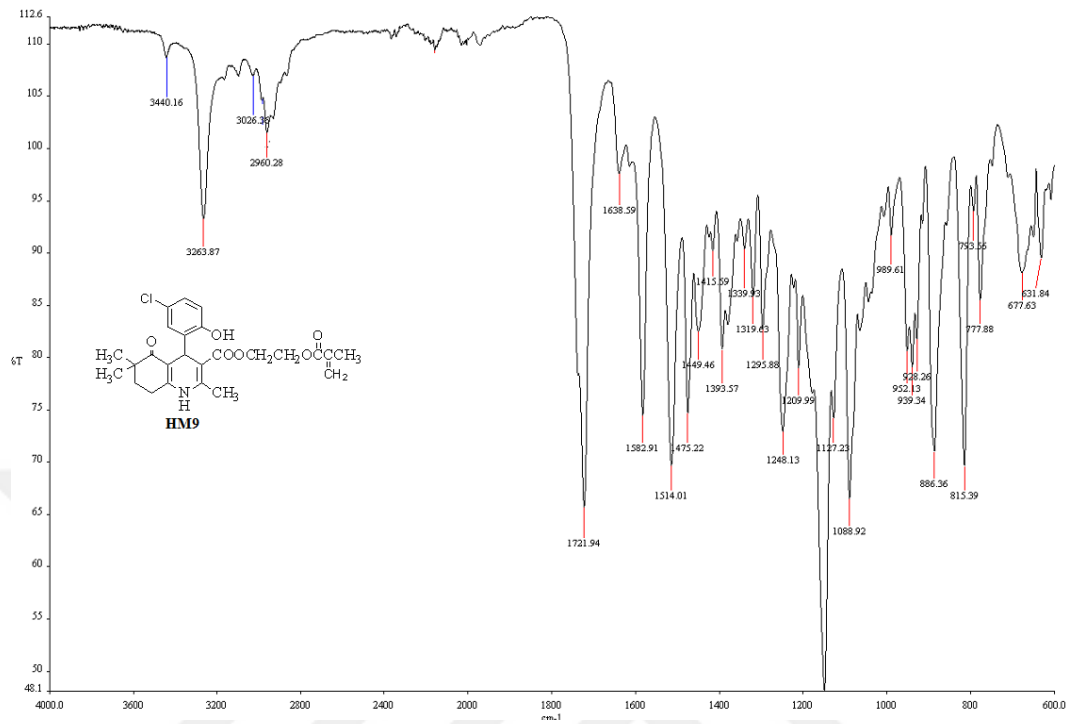
HM8'in ^1H -NMR spektrumu.



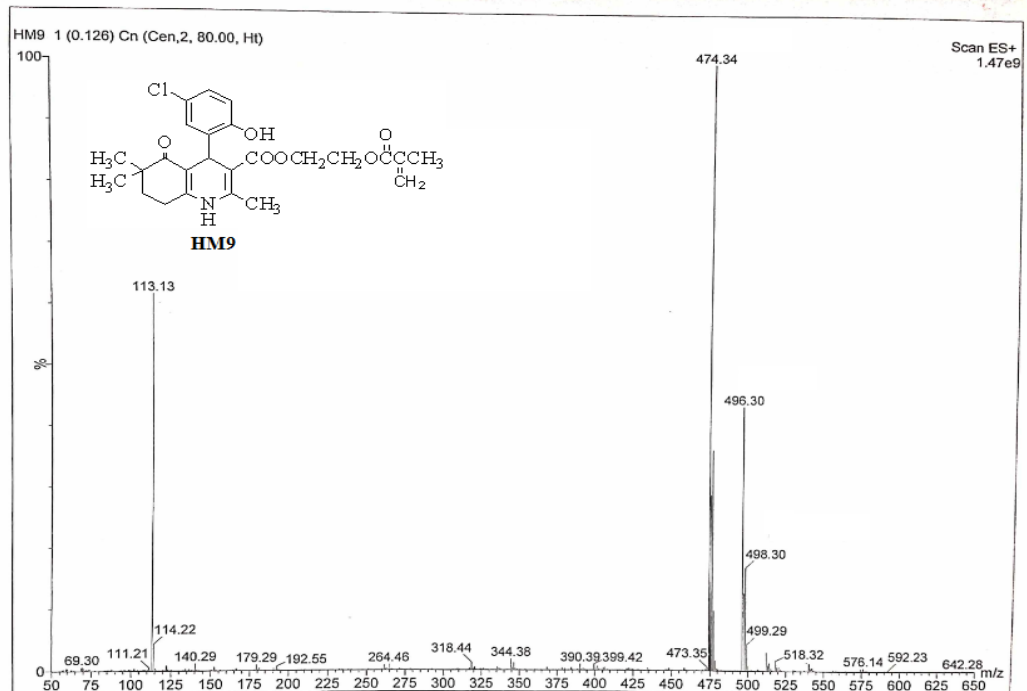
HM8'in ^{13}C -NMR spektrumu



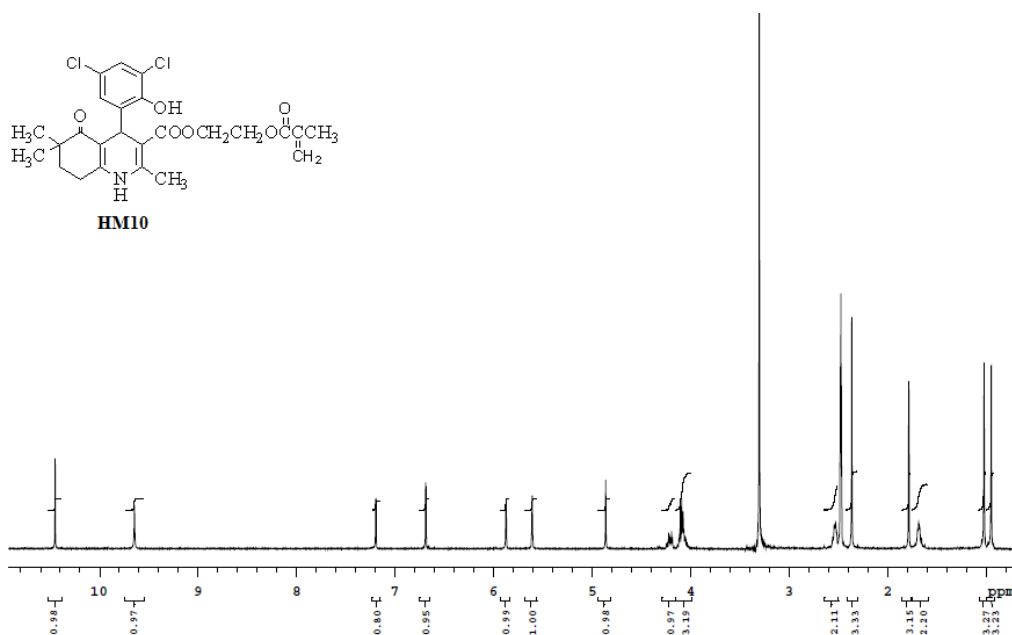
HM9'un IR spektrumu



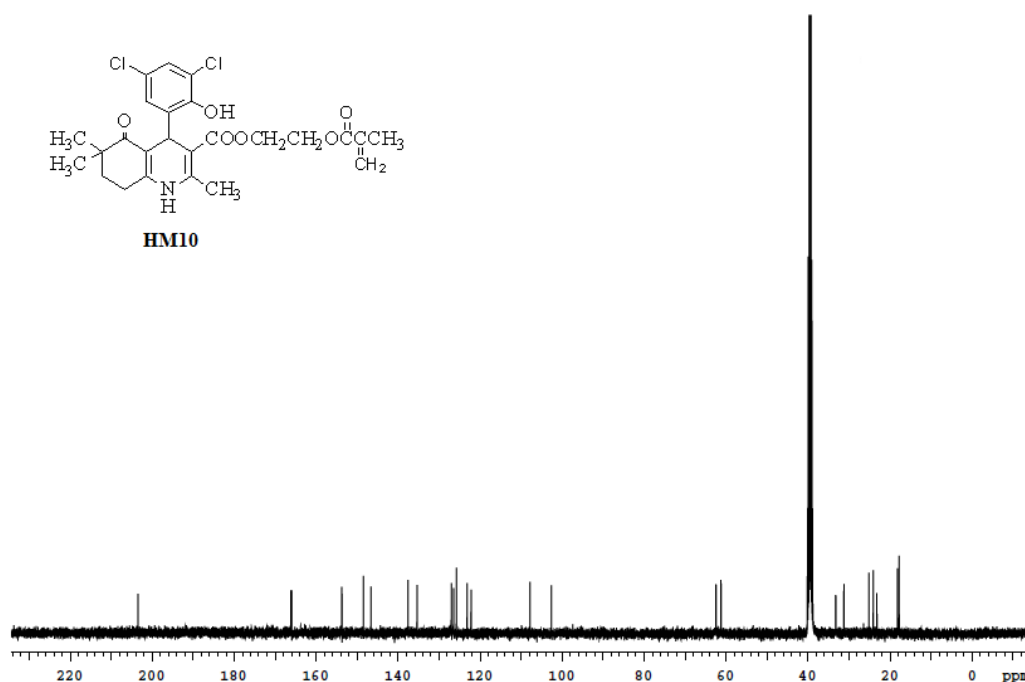
HM9'un kütle spektrumu



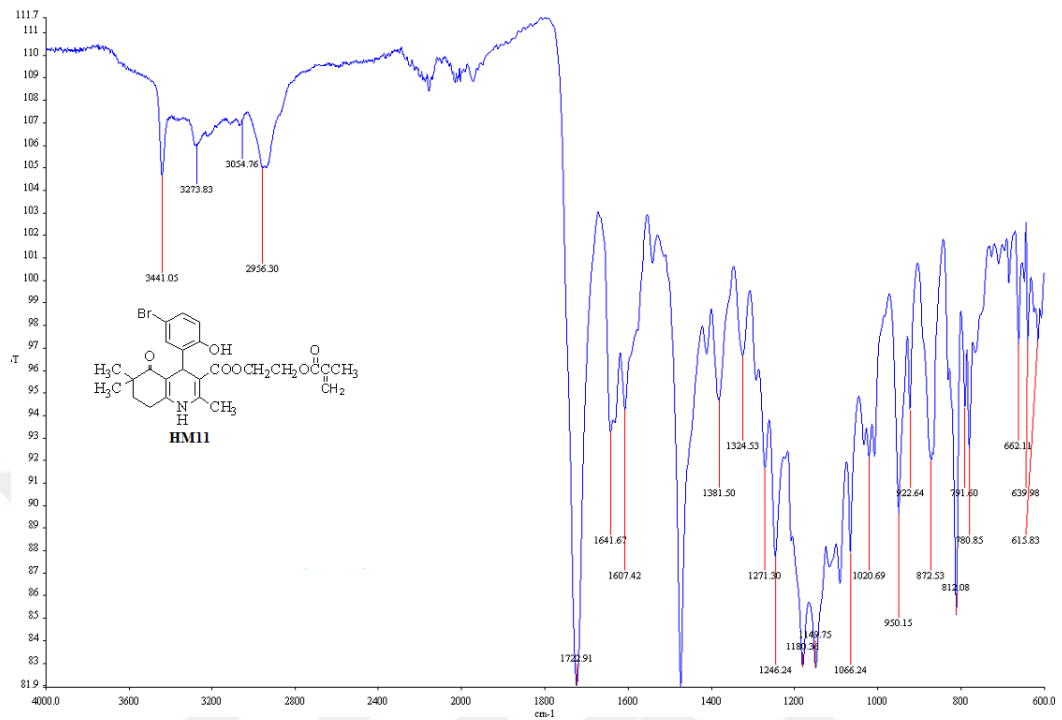
HM10'un ^1H -NMR spektrumu



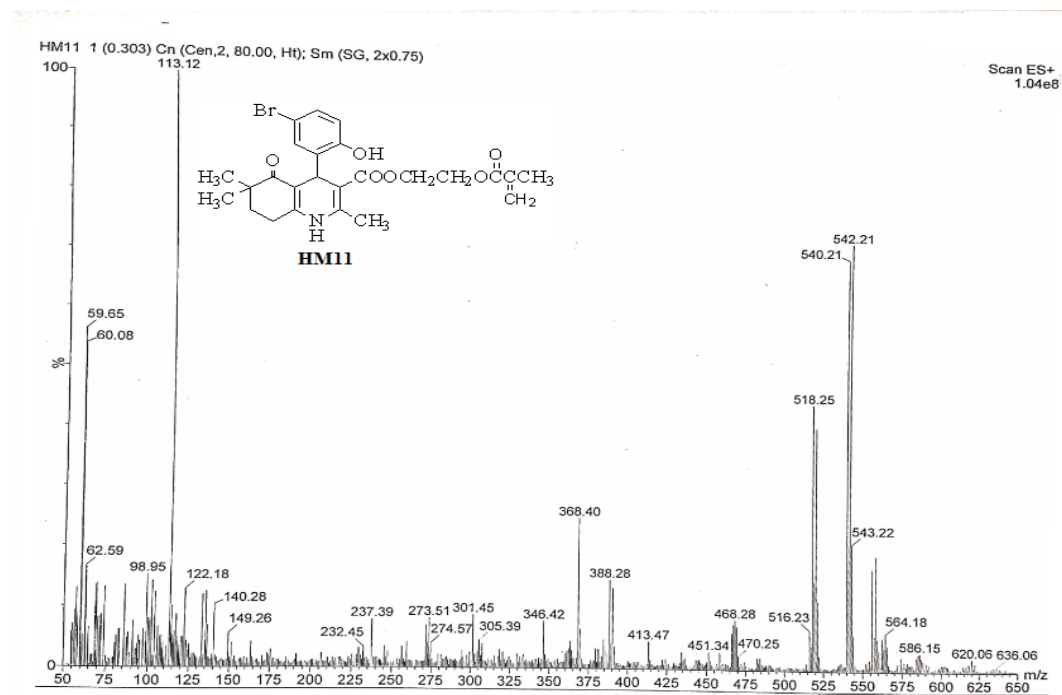
HM10'un ^{13}C -NMR spektrumu



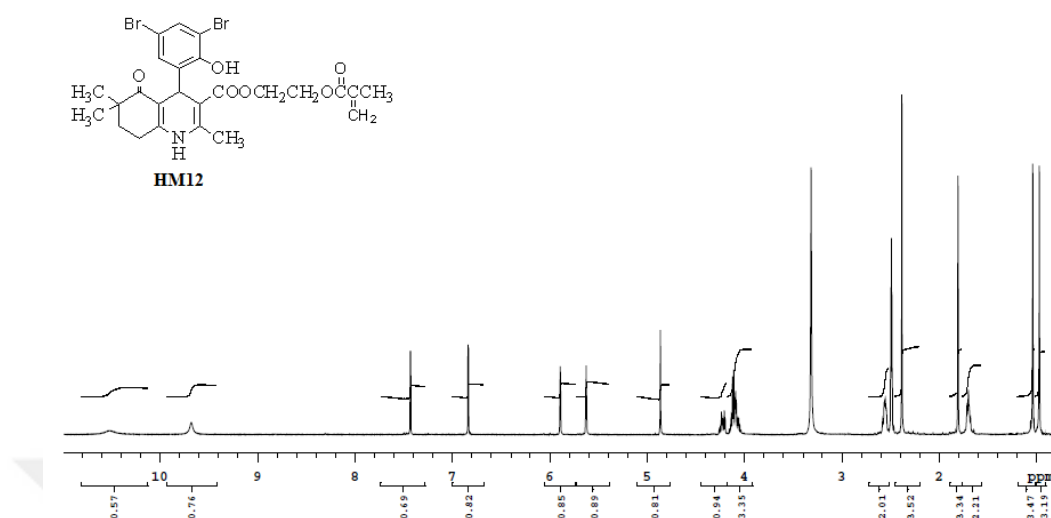
HM11'in IR spektrumu



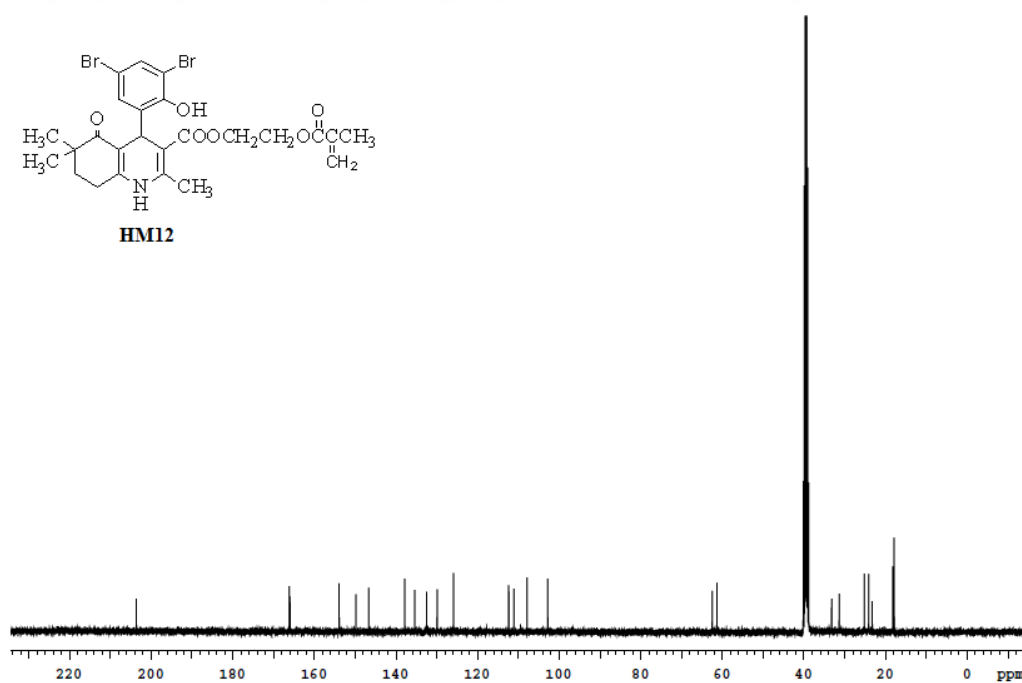
HM11'in kütle spektrumu



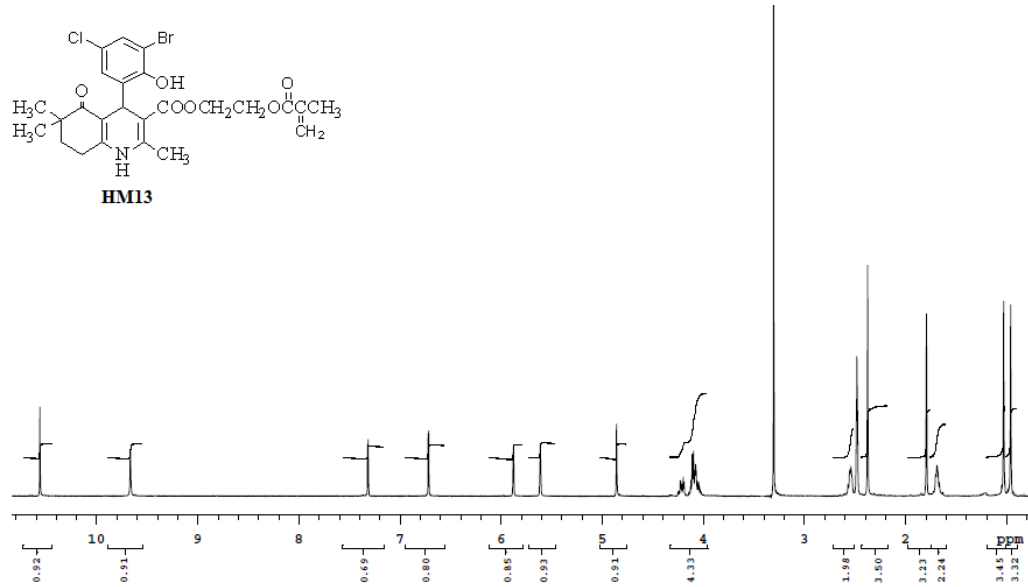
HM12'nin ^1H -NMR spektrumu



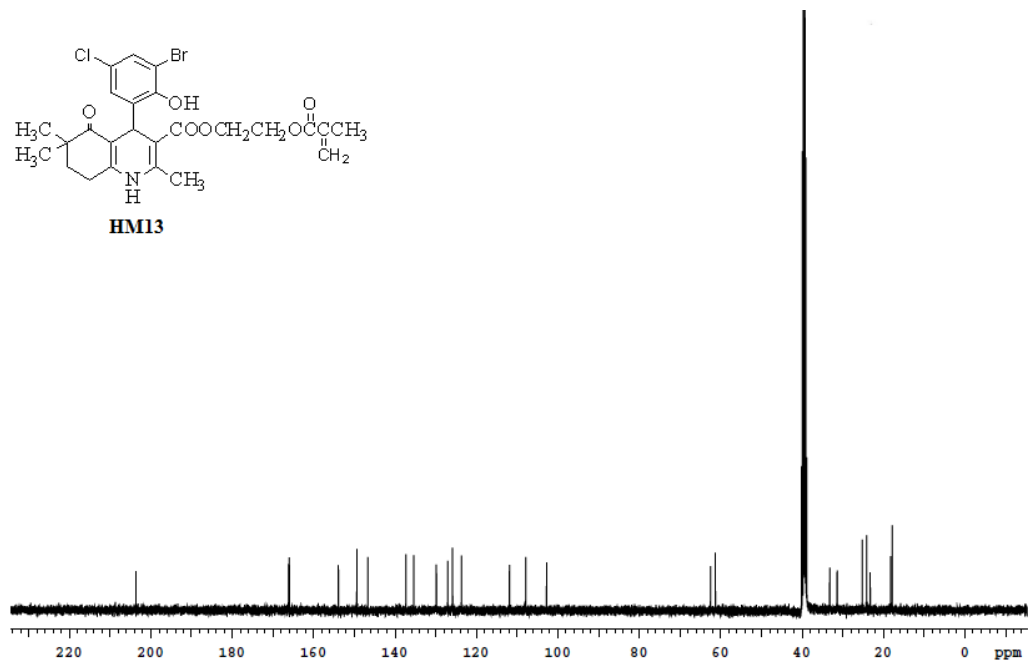
HM12'nin ^{13}C -NMR spektrumu



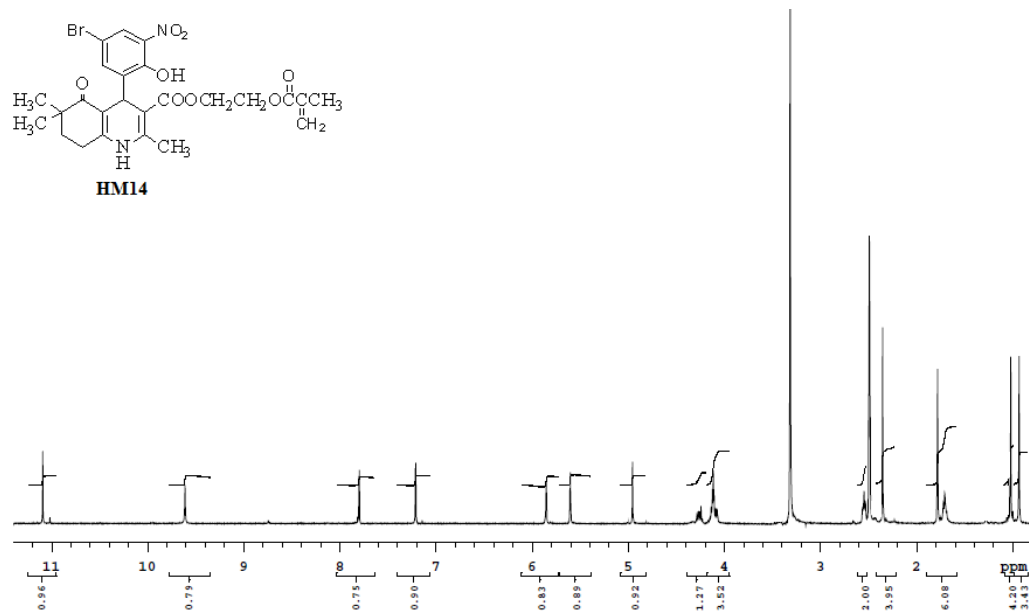
HM13'ün ^1H -NMR spektrumu



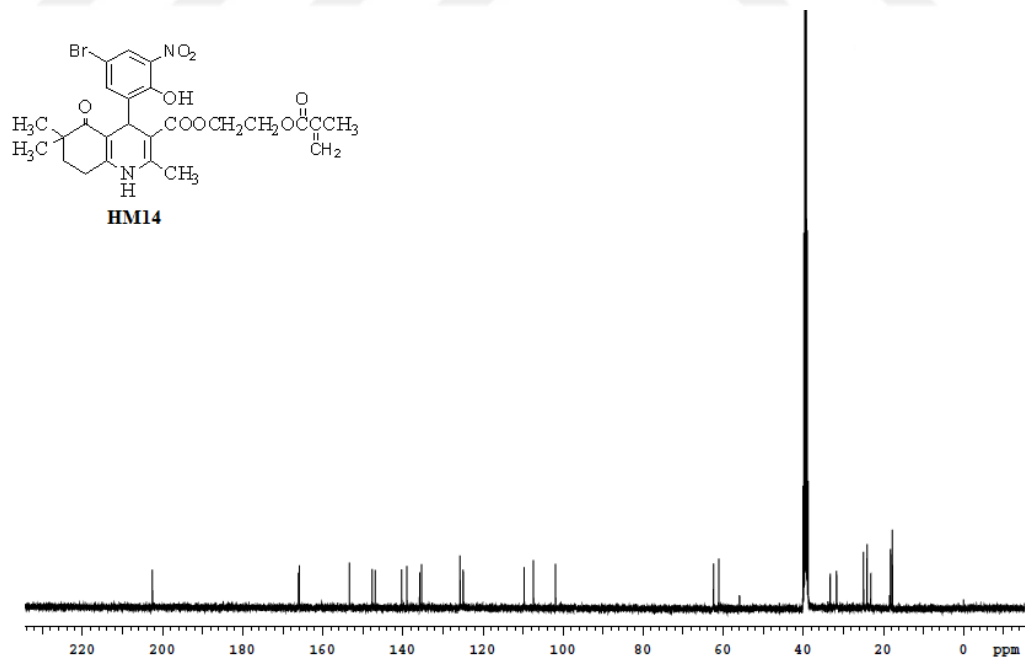
HM13'ün ^{13}C -NMR spektrumu



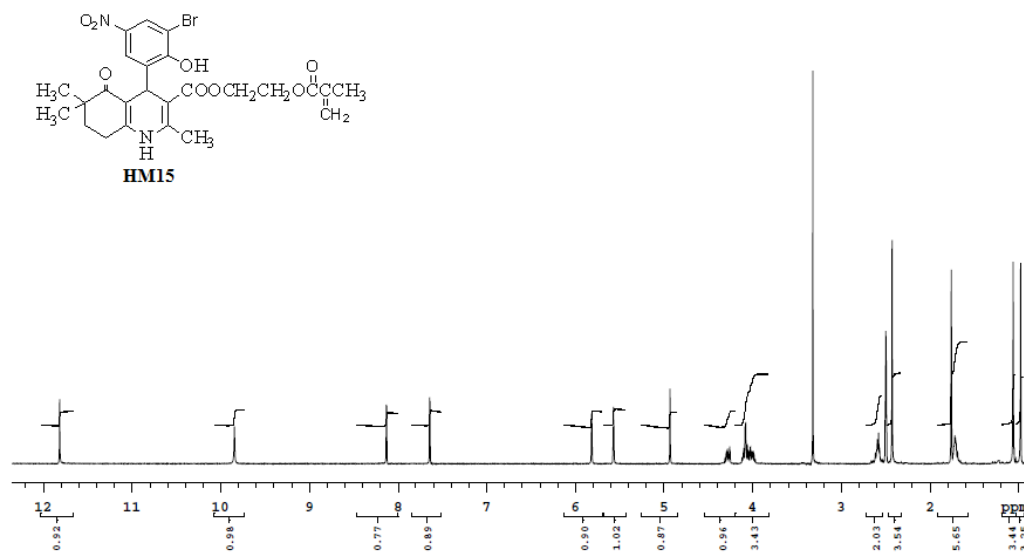
HM14'ün ^1H -NMR spektrumu



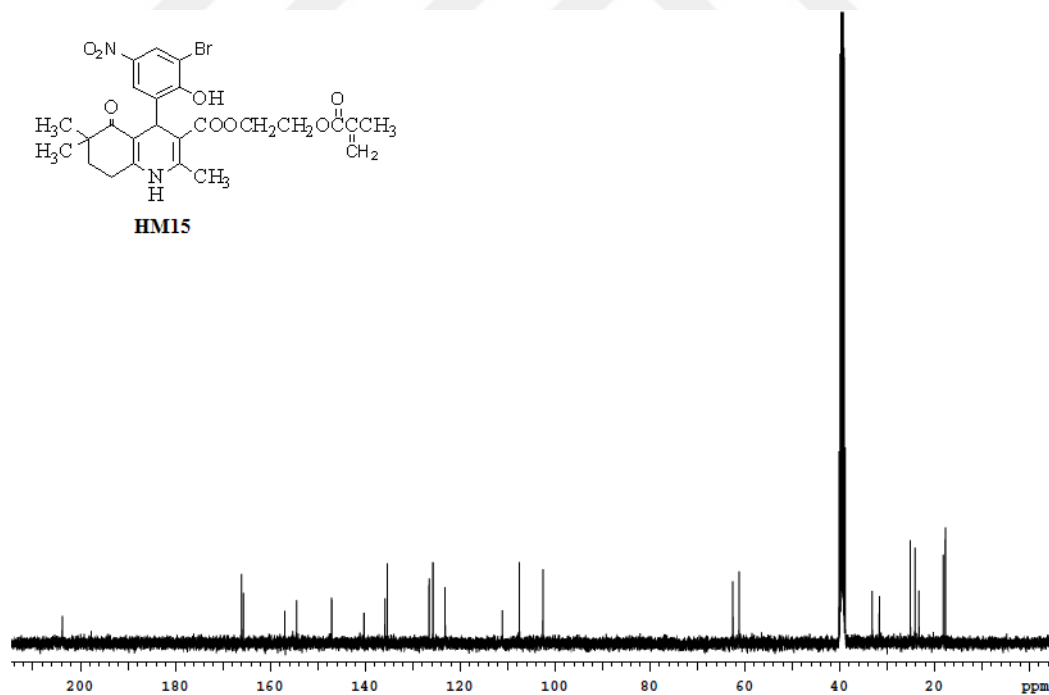
HM14'ün ^{13}C -NMR spektrumu



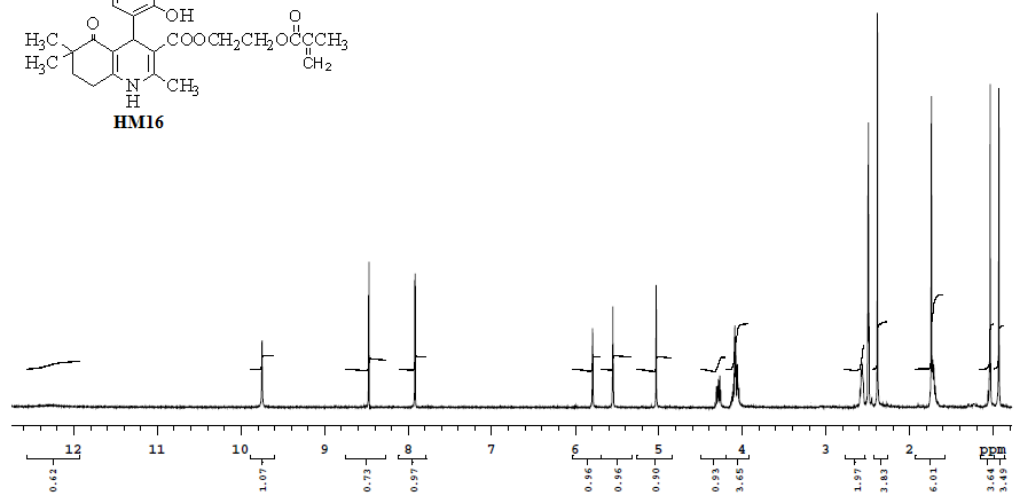
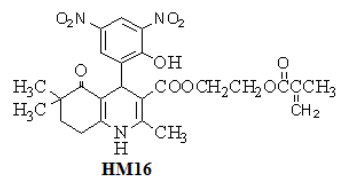
HM15'in ^1H -NMR spektrumu



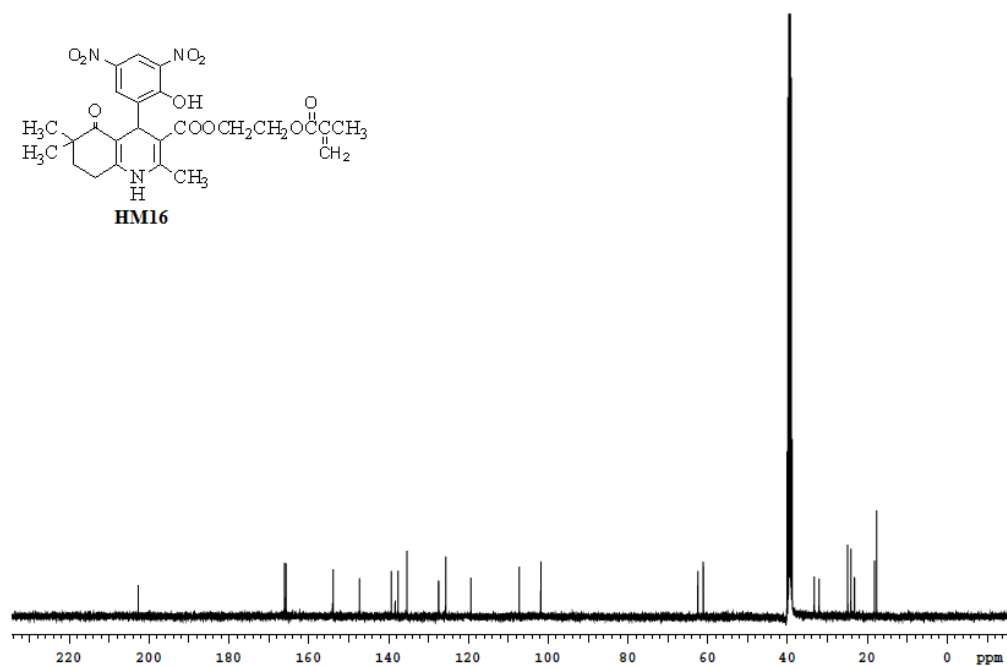
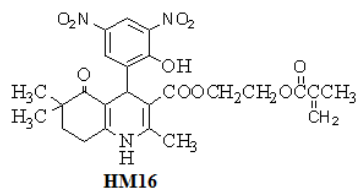
HM15'in ^{13}C -NMR spektrumu



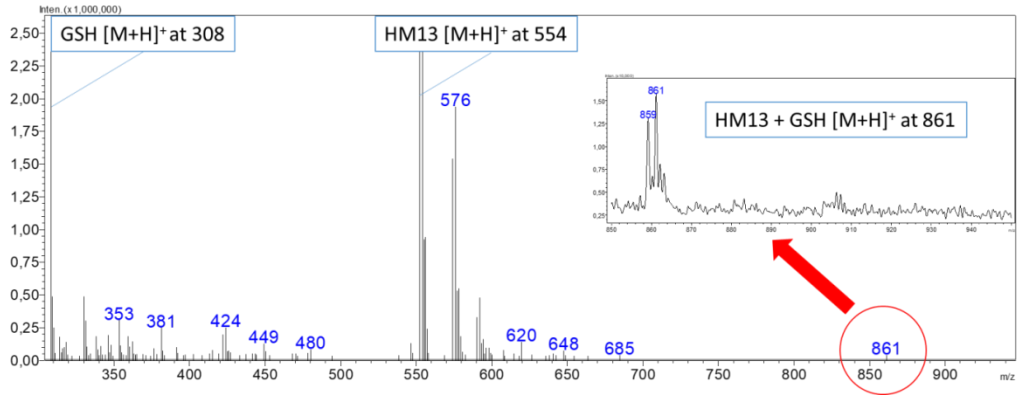
HM16'nin ^1H -NMR spektrumu



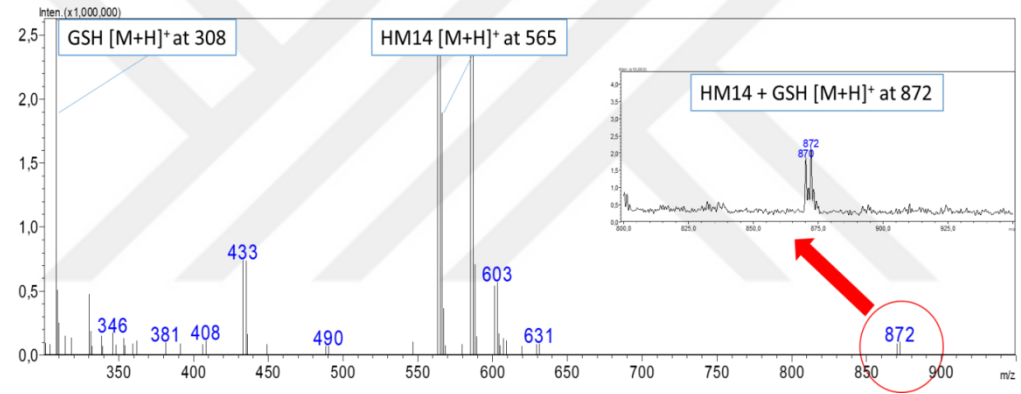
HM16'nin ^{13}C -NMR spektrumu



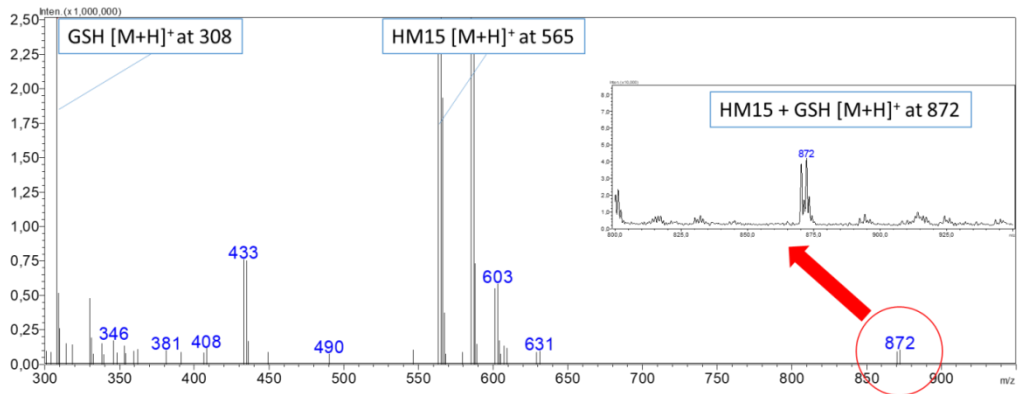
HM13-GSH karışımının t=120 dk' da elde edilen MS spektrumları.



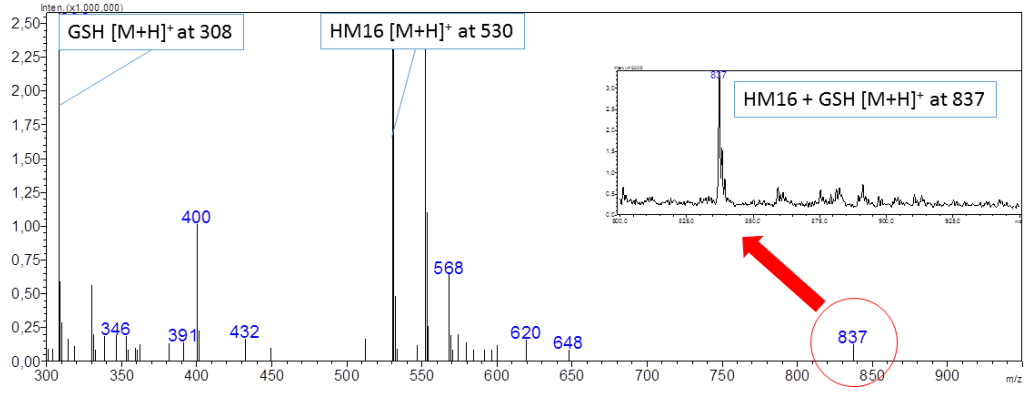
HM14-GSH karışımının t=120 dk' da elde edilen MS spektrumları.



HM15-GSH karışımının t=120 dk' da elde edilen MS spektrumları.



HM16-GSH karışımının t=120 dk' da elde edilen MS spektrumları.





Discovery of Michael acceptor containing 1,4-dihydropyridines as first covalent inhibitors of L-/T-type calcium channels

Hande Aygün Cevher^a, David Schaller^b, Maria A. Gandini^c, Ozan Kaplan^d, Eder Gambeta^c, Fang Xiong Zhang^c, Mustafa Çelebier^d, Muhammad Nawaz Tahir^e, Gerald W. Zamponi^c, Gerhard Wolber^b, Miyase Gözde Gündüz^{a,*}

^a Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, 06100 Sıhhiye, Ankara, Turkey

^b Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacy, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 2 + 4, 14195 Berlin, Germany

^c Department of Physiology & Pharmacology, Hotchkiss Brain Institute and Alberta Children's Hospital Research Institute, University of Calgary, 3330 Hospital Drive NW, Calgary T2N 4N1, Canada

^d Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Hacettepe University, 06100 Sıhhiye, Ankara, Turkey

^e Department of Physics, University of Sargodha, Sargodha, Pakistan

ARTICLE INFO

Keywords:
Dihydropyridine
Hexahydroquinoline
Calcium channel blocker
Whole-cell patch clamp
Covalent binding
Molecular modeling

ABSTRACT

1,4-Dihydropyridines (DHPs) are an important class of blockers targeting different calcium channel subtypes and have great therapeutic value against cardiovascular and neurophysiologic conditions. Here, we present the design of DHP-based hexahydroquinoline derivatives as either selective or covalent inhibitors of calcium channels. These compounds were synthesized via a modified Hantzsch reaction under microwave irradiation and characterized by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and mass spectra. Additionally, the proposed structure of HM12 was resolved by single crystal X-ray analysis. The abilities of the target compounds to block both L- and T-type calcium channels were evaluated by utilizing the whole-cell patch clamp technique. Our results identified covalent inhibitors of calcium channels for the first time, which could be achieved by introducing a Michael acceptor group into the ester side chain of the compounds. The proposed covalent binding between the compounds and the cysteine amino acid (Cys1492) within the DHP binding pocket of L-type calcium channel was supported by docking and pharmacophore analysis as well as a glutathione reactivity assay.

1. Introduction

Voltage-gated calcium channels are crucial regulators of calcium influx into excitable cells of heart, brain, and smooth and skeletal muscle. Different subtypes of calcium channels have been identified and shown to mediate critical physiological processes varying from neurotransmitter release to muscle contraction and gene transcription [1]. Consequently, they are considered as therapeutic targets for the treatment of various pathologies ranging from cardiovascular to neurological and psychiatric diseases [2]. Many current therapeutic agents, particularly 1,4-dihydropyridines (DHPs), target the L-type calcium channel Ca_v1.2 isoform and are widely prescribed for the treatment of hypertension [3]. Subsequently, T-type calcium channels have emerged as suitable pharmacological targets for the therapeutic intervention into neurophysiologic disorders such as pain and epilepsy [4] and can also be targeted by DHPs [5–8].

As a consequence of these distinct physiological roles, the

identification of new agents targeting calcium channels is of utmost importance. DHPs have been the most studied scaffold by medicinal chemists so far for this purpose. Ongoing efforts to modify this privileged structure led to a new generation of compounds with a condensed ring system (hexahydroquinoline) possessing selective or equipotent activity on different calcium channel subtypes [6,7,9,10]. Within these DHP-based hexahydroquinoline (HHQ) derivatives, modification of the ester moiety determined the blocking affinity for both L- and T-type channels [6]. Exemplarily, 3-pyridylmethyl moiety as the alkyl group in the ester function provided the development of DHPs, represented by N10, with high selectivity for T-type calcium channels over L-type [7]. These findings suggested that focusing on the modifications of the ester side chain is a rational approach to identify more efficient calcium channel blockers.

Bioisosteric replacement is still one of the most commonly used drug design strategies and is considered not only to improve the potency but also to maintain the original biological activity [11]. As bioisosters

* Corresponding author.

E-mail address: miyasegunduz@yahoo.com (M.G. Gündüz).

<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103187>

Received 10 June 2019; Received in revised form 23 July 2019; Accepted 5 August 2019

Available online 07 August 2019

0045-2068/ © 2019 Elsevier Inc. All rights reserved.

12th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 26-29 Haziran 2018, Ankara, Türkiye’de sunulan poster

range for Ras proteins (3). The mutation of position 12 glycine replaces to cysteine (mutation G12C) enables a electrophilic targeting to the mutant form but not the wild type form. The inhibitors irreversibly bind the mutant G12C Ras and stabilizes the protein in inactive GDP form (4).

MATERIALS AND METHODS:

Molecular docking calculations were performed to understand the interactions between several designed benzothiazole derivatives and K-Ras G12C (pdb: 4L8G) enzyme, by using CDocker method in Accelrys Discovery Studio 3.5 software (5).

RESULTS:

Binding properties of benzothiazole derivatives were investigated and it was found that Tyr32, Thr35 and Gly60 amino acids were playing an important role for enzyme-ligand interactions and compounds were bound to enzyme with -71,89 to -34,39 kcal/mol binding energies.

CONCLUSIONS:

With the results of the study, it is inevitable that, the strategy on mutation-selective inhibitors will be the important milestone in the mutation-specific anti-Ras treatments.

REFERENCES:

1. William BC, Gregory JT (2017) The Molecular Basis of Human Cancer, 2nd ed. pp:1-24
2. Takashima A, Faller DV (2013) Expert Opin Ther Targets. 17(5):507–531.
3. John J, Rensland H, et al., (1993). J Biol Chem. 268:923–929.
4. Marín-Ramos NI, Ortega Gutiérrez S, et al., (2018). Seminars in Cancer Biology. in press.
5. Accelrys, Discovery Studio v3.5. (2012).

P-444: STRUCTURAL ELUCIDATION OF SOME CINICALLY USED KINASE INHIBITORS BY 2D ROESY NMR SPECTRA

¹ Karaaslan, C., ² Goker, H.,

¹ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Ankara University,

² Central Instrumental Analysis Laboratory, Faculty of Pharmacy, Ankara University

INTRODUCTION:

Erlotinib HCl and Gefitinib (4-aminophenylquinazoline derivatives) are anticancer agents that act as a protein kinase inhibitors for epidermal growth factor receptor (EGFR) associated tyrosine kinase. They are both used in the treatment of chemoresistant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) and Erlotinib has been reported to be effective in the treatment of several other types of cancer as well. There is a complexity about the previously published NMR data of Erlotinib and its HCl salt.

MATERIALS AND METHODS:

In this work, total structural assignments of Erlotinib, Erlotinib HCl and Gefitinib have been achieved by using 2D-NMR experiments. 2D NMR data of Erlotinib, Erlotinib HCl and Gefitinib have been performed by a detailed 2D NMR study using COSY, DEPT, 1H-13C correlated HSQC and HMBC, and ROESY methods, leading to a full 1H and 13C signals assignments.

RESULTS:

ROESY experiment gives the best important data for their structural elucidation. In addition, virtual 3D conformational data of Erlotinib and Gefitinib also support these findings.

CONCLUSIONS:

Total structural assignments of Erlotinib, Erlotinib HCl and Gefitinib have been achieved by using 2D-NMR experiments, including DEPT, COSY, ROESY, HSQC and HMBC.

ROESY experiment gives the best important data for their structural elucidation.

ACKNOWLEDGEMENTS:

Central Laboratory of Pharmacy Faculty of Ankara University provided support for the acquisition of the NMR and mass spectrometer used in this work. We thanks for providing Erlotinib HCl and Gefitinib to ATABAY Pharmaceuticals And Fine Chemicals Inc.

P-445: SYNTHESIS OF CONDENSED 1,4-DIHYDROPYRIDINE DERIVATIVES AND THEIR EFFECTS ON L-T-TYPE CALCIUM CHANNELS.

¹ Aygun, H., ² Zhang, FX., ² Zamponi, GW., ¹ Gunduz, MG.

¹ Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Ankara, Turkey

² University of Calgary, Hotchkiss Brain Institute and Alberta Children's Hospital Research Institute, Department of Physiology and Pharmacology, Calgary, Canada

INTRODUCTION:

1,4-Dihydropyridines (1,4-DHPs) interact at a specific class of voltage-gated calcium channel to produce their cardiovascular effects and are used to treat conditions such as hypertension and angina (1). Although their primary target in the cardiovascular system is the L-type calcium channel isoform, however, a number of 1,4-DHPs also block different kinds of calcium channels, mainly low-voltage-activated T-type calcium channels (2). In the present study, we synthesized eight 1,4-DHP derivatives in which substituted cyclohexane rings are fused to the DHP ring, and determined how different substituents on the phenyl ring affect L- and T-type calcium channel block.

EK-3: Tez Çalışması Orjinallik Raporu

Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevlerinin Sentezi ve L-/T-Tipi Kalsiyum Kanalları Üzerine Etkileri

ORJİNALLİK RAPORU

% 25	% 19	% 11	% 20
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 14
2	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 Yayın	% 4
3	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 2
4	Submitted to Higher Education Commission Pakistan Öğrenci Ödevi	% 1
5	link.springer.com İnternet Kaynağı	% 1
6	Iryna Drapak, Lina Perekhoda, Tetiana Tsapko,	

EK-4: Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Hande Aygün Cevher
Ödev başlığı: Hande Aygün Cevher Tez
Gönderi Başlığı: Kondanse 1,4-Dihidropiridin Türevle...
Dosya adı: Hande_tez.docx
Dosya boyutu: 4.05M
Sayfa sayısı: 78
Kelime sayısı: 10,993
Karakter sayısı: 78,487
Gönderim Tarihi: 09-Eyl-2019 01:46PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1169511378

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONDANSE 1,4-DİHİDROPIRİDİN TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE L-Tİ-
TİPİ KALSİYUM KANALLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Eğ. Hande AYGÜN CEVHER

Farmasötik Kimya Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2019

9. ÖZGEÇMİŞ

HANDE AYGÜN

BİREYSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi : 14 Haziran 1991
Doğum Yeri : Kadirli
Uyruğu : T.C.
Medeni Hali : Evli
Telefon : 0507 503 9439
E-posta : Ecz_hndaygun@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

2010-2015 : Lisans
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
2005-2009 : Lise Öğretim
M. Adnan Özçelik Anadolu Lisesi / MERSİN

MESLEKİ DENEYİM

2018- ... : Ankara Eczacı Odası
Sıralı Dağıtım Birimi/Eczacı
2015-2017 : Elixir İlaç Araştırma ve Geliştirme A.Ş.
ARGE Uzmanı