

# Fosfodiesteraz Enzimleri ve İnhibitörleri

## Phosphodiesterase Enzymes and Inhibitors: Review

Mehtap TUĞRAK,<sup>a</sup>  
Kaan KÜÇÜKOĞLU<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Farmasötik Kimya AD,  
Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,  
Erzurum

Geliş Tarihi/Received: 04.09.2015  
Kabul Tarihi/Accepted: 22.12.2015

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Kaan KÜÇÜKOĞLU  
Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,  
Farmasötik Kimya AD, Erzurum  
TÜRKİYE/TURKEY  
kucukogluk35@hotmail.com

**ÖZET** Siklik nükleotid fosfodiesteraz enzimleri, vücutta her dokuda ve hücrede bulunabilen enzimlerdir. cAMP ve cGMP'yi hidroliz ettikleri için hücre sinyallerinde önemli rol oynarlar. PDE süper ailesi PDE1-PDE11 arasında olmak üzere 11 tanedir. Memeli hücrelerinde her bir aile 20'den fazla gen vermek için dört farklı gen taşımaktadır. Bu genler 50'den fazla farklı PDE proteinini kodlarlar. PDE enzimleri içerisinde özellikle PDE1 ve PDE6 iyi karakterize edilmiş izozimlerdir. PDE'ler hücre ve dokularda spesifik dağılım gösteren enzimlerdir. Vücudun farklı doku ve organlarında bulunan PDE enzimleri farklılık gösterir. Bu sayede çeşitli hücre fonksiyonlarında farklı fizyolojik olaylara aracılık edebilirler. PDE izozimlerinin hücre ve doku fonksiyonlarına özel katkıları ve patofizyolojik düzenlenmeleri bugün önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Bu durum, etkileri henüz tam olarak belirlenmediği için özellikle PDE7-PDE11 gibi yeni PDE ailelerini daha çok ilgilendirmektedir. İnflamasyon, nörodejenerasyon ve kanser gibi birçok patolojik durumda meydana gelen değişiklikler, hücre içi sinyallerle ilgili PDE'lerin serbestleşmesini, bu patolojilerin önlenmesini, ayrıca bu tür patolojik durumların tedavisinde gözlemlenen zorlukları açıklayabilir. Bu konularda yapılacak araştırmalar sonucu elde edilecek bulgular henüz kesin tedavisi bulunmayan hastalıkların tedavisinde yeni gelişmelere yol açabilir. Bu çalışmada, PDE enzimlerinin özellikleri, vücutta buldukları doku ve organlar ile patofizyolojik olaylardaki rolleri açıklanmış, ilaveten PDE inhibitörü ilaçlar anlatılmıştır. Ayrıca yeni geliştirilen ve ruhsatlandırma çalışmaları devam eden PDE inhibitörü bileşikler hakkında da bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Fosfodiesteraz inhibitörleri; 2',3'-siklik AMP; 2',3'-siklik GMP

**ABSTRACT** Cyclic nucleotide phosphodiesterase enzymes can be found in every tissue and cell in the body. They play an important role in cell signaling because they hydrolyze cAMP and cGMP. PDE superfamily is 11 units, including PDE1-PDE11. Each family in mammalian cells encompasses 1 to 4 distinct genes, to give more than 20 genes. These genes encode more than 50 different PDE proteins. PDE enzymes in particular PDE1 and PDE6 are isozymes have been well characterized. PDEs are enzymes exhibiting specific distribution in cells and tissues. PDE enzymes located in different tissues and organs of the body vary. In this way, they can mediate different physiological events in various cell functions. Today, private contributions and pathophysiological regulations of PDE isoenzymes in cell and tissue functions constitute an important research field. This situation is more relevant for especially new PDE families such as PDE7-PDE11, because their effects have not been fully determined. Changes that occurs in many pathological situations such as inflammation, neurodegeneration and cancer, may explain the liberalization of PDEs related to the intracellular signaling as well as prevention of this pathologies, besides the difficulties observed in the treatment of such pathological conditions. The findings obtained as a result of researches on these topics may lead to new developments in the treatment of diseases without a definitive treatment yet. In this review, properties of PDE enzymes, tissues and organs in the body where PDE enzymes located as well as their roles in pathophysiological processes have been explained, in addition to the PDE inhibitor drugs have been disclosed. Furthermore, information about newly developed and PDE inhibitor compounds ongoing registration studies have also been provided.

**Key Words:** Phosphodiesterase inhibitors; 2',3'-cyclic AMP; 2',3'-cyclic GMP

doi: 10.5336/pharmsci.2015-47872

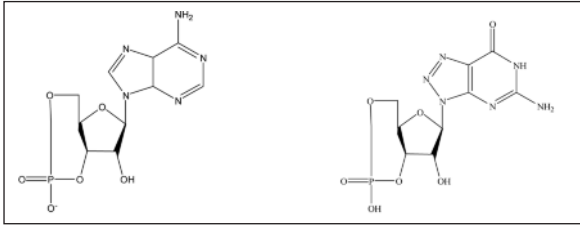
Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Pharm Sci 2016;5(1):17-35

## FOSFODİESTERAZ ENZİMLERİ

**A**denozin 3',5'-siklik monofosfat (cAMP) ve guanozin 3',5'-siklik monofosfat (cGMP) birincil ve ikincil haberci olarak tanımlanan moleküllerdir. cAMP ve cGMP vücutta her yerde bulunabilirler (Şekil 1). Hücre içinde kalsiyum, inositol 1,4,5-trisfosfat (IP3) ile belli bir uyum içinde, hücre içi sinyalizasyonunu düzenler.<sup>1,2</sup>

Fosfodiesteraz (phosphodiesterase) enzimleri kısaca PDE olarak ifade edilir. Siklik nükleotid PDE'ler, hücre içi ikincil haberci moleküller olan cAMP ve cGMP'yi hidroliz ederek parçalanmalarına neden olan enzimlerdir. Her iki nükleotid de PDE enzimlerinin varlığına bağlı olarak stabil değildir. Havayollarında her iki nükleotidin hücre içi yüksek konsantrasyonları, protein kinaz A (PKA) ve B (PKB)'nin aktivasyonu üzerinden etki ile düz kas relaksasyonuna neden olmakta ve pek çok immün ve inflamatuvar hücrenin aktivasyonunu



**ŞEKİL 1:** Adenozin 3'-5'-siklik monofosfat ve guanozin 3'-5'-siklik monofosfat düzlemsel görünümü.

baskılamaktadır. cAMP'nin hücre içi artışı, etkisini PKA aktivasyonu üzerinden göstererek mast hücresi, eozinofil, nötrofil, monosit ve lenfosit gibi pek çok immün ve inflamatuvar hücrenin kemotaksisini, aktivasyonunu ve degranülasyonunu baskılamakta, havayolu düz kas hücrelerinin gevşemesine neden olmakta, düz kas mitogenezisini baskılamakta ve eksitator nonadrenerjik nonkolinerjik (NANC) liflerin etkinliğini baskılamakta, inhibitör NANC liflerin etkinliğini artırmaktadır.<sup>4</sup>

PDE enzimlerinin genetik olarak farklı alt tiplerinin varlığının fark edilmesi ile şimdiye kadar 11 adet PDE izoenzimi ayırt edilebilmiştir (Tablo 1). Bunların dizimleri, substrat spesifisimleri, kofaktör gereksinimleri ve inhibitörlere olan duyarlılıkları birbirlerinden farklıdır. PDE'leri fonksiyonel açıdan ayırt eden başlıca faktör, onların cAMP ve cGMP'ye olan rölafit afiniteleridir.<sup>5</sup>

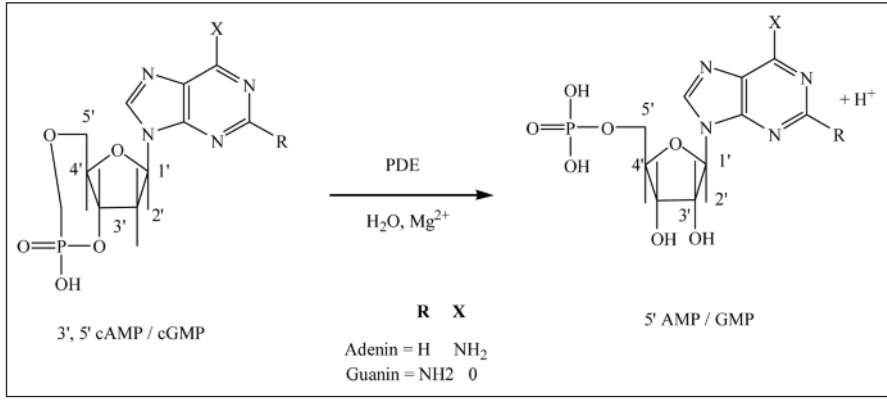
Siklik nükleotid PDE'ler ile adenilil ve guanilil siklazlar hidroliz olur (Şekil 2). PDE1'den PDE11'e kadar PDE'lerin isimlendirilmesi biyokimyasal özelliklerine, düzenlenmelerine ve farmakolojik ajanlara duyarlılığına, ürünlerin hangi genlere göre kurulduğuna bağlı olarak yapılmıştır.<sup>6</sup>

PDE izozimlerinin substratları, özellikleri ve spesifik inhibitörlerine ait bilgilerin özeti Tablo 2'de görülmektedir. Siklik nükleotidlerin, santral sinir sistemindeki [central nervous system (CNS)]

**TABLO 1:** Fosfodiesteraz enzimlerinin dokulara dağılımı ve fonksiyonları.<sup>3</sup>

PDE	Başlıca doku/organ dağılımı	cAMP/cGMP afinitesi
PDE1	Kalp, beyin, akciğer, düz kas	
PDE2	Adrenal bez, kalp, akciğer, karaciğer, trombosit	
PDE3	Kalp, akciğer, karaciğer, trombosit, immün hücre	cAMP-selektif
PDE4		cAMP-spesifik
HPDE4*	Beyin, pariyetal hücre, immün hücre, havayolu düz kası	
LPDE4**	İmmün hücre (bazofil, eozinofil, makrofaj, mast hücre monosit, nötrofil, T-hücre, B-hücre) Havayolu düz kası	
PDE5	Akciğer, trombosit, düz kas	cGMP-spesifik
PDE6	Fotoreseptörler	cGMP-spesifik
PDE7	İskelet kası, kalp, böbrek, beyin, T-hücre	cAMP-selektif
PDE8	Testis, karaciğer, iskelet kası, kalp, böbrek, beyin, T-hücre	cAMP-selektif
PDE9	Böbrek, karaciğer, akciğer, beyin	cGMP-spesifik
PDE10	Testis, beyin	cAMP-selektif, cGMP-sensitiv
PDE11	İskelet kası, böbrek, karaciğer, hipofiz	cGMP-sensitiv

\* HPDE4: Yüksek afinite ile roliprama bağlanan PDE4 konformerleri. \*\* LPDE4: Düşük afinite ile roliprama bağlanan PDE4 konformerleri; PDE: Fosfodiesteraz.

**TABLO 2:** Fosfodiesteraz enzim ailelerinin sınıflandırılması.<sup>3</sup>

PDE ailesi	Substrat	Özellik	Spesifik inhibitör
PDE1	cAMP, cGMP	Ca-kalmodulin ile aktive	Nimodipin
PDE2	cAMP, cGMP	cGMP ile aktive	EHNA
PDE3	cAMP, cGMP	cGMP ile inhibe	Silostamid, milrinon
PDE4	cAMP	cGMP duyarsız	Rolipram, Ro-201724, roflumilast
PDE5	cGMP	PKA/PKG fosforillenmiş	Zaprinast, DMPP0, E4021, sildenafil
PDE6	cGMP	Transdusin ile aktive	Zaprinast, DMPP0, E4021, sildenafil
PDE7	cAMP	Rolipram duyarsız	BRL 50481, ICI242
PDE8	cAMP	Rolipram duyarsız IBMX duyarsız	Bilinmiyor
PDE9	cGMP	IBMX duyarsız	Bilinmiyor
PDE10	cAMP, cGMP	Bilinmiyor	Bilinmiyor
PDE11	cAMP, cGMP	Bilinmiyor	Bilinmiyor

PKG: Protein kinaz G; PKA: Protein kinaz A; CaMK: Ca<sup>2+</sup>/Kalmoduline bağlı protein kinaz enzim sınıfı; PDE: Fosfodiesteraz.

dopaminerjik, noradrenerjik, serotonerjik ve glutamaterjik nöronların sinyal uyum sağlama ve sinaptik iletimlerinde yer alan bir dizi hücrel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir.<sup>7-10</sup>

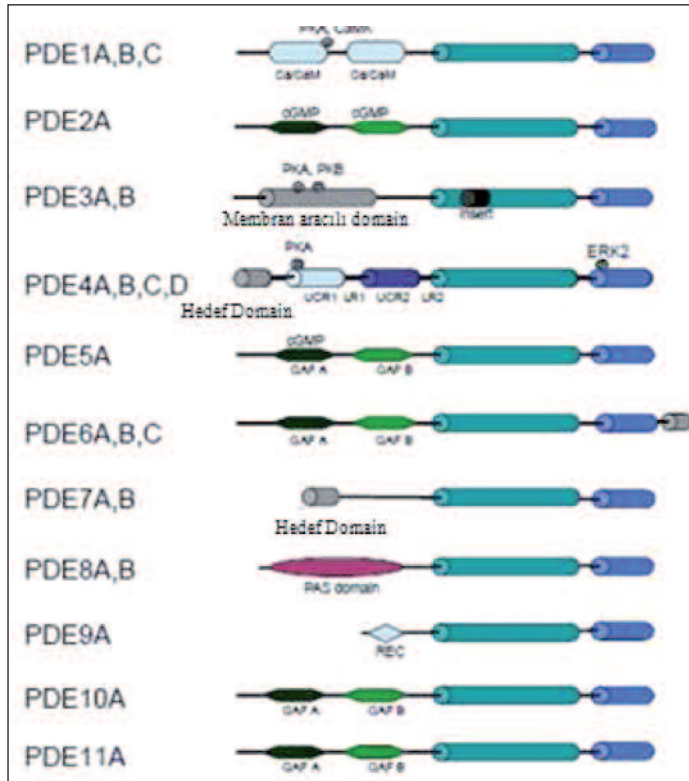
## FOSFODİESTERAZ AİLESİ

cAMP-PDE'nin etkinliği ilk olarak Butcher ve Sutherland tarafından 1962 yılında keşfedilmiştir. Bu nedenle, 1970-1980'li yıllarda PDE faaliyetlerinin biyokimyasal karakterizasyonu ve fonksiyonel rolünün belirlenmesi üzerinde durulmuştur. PDE etkinliklerinin biyokimyasal karakterizasyonu, PDE aktivitesi muhtelif parçaların ayrılmasına izin verilen doku sitozolik fraksiyonları, anyon değiştirme kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir. Günümüzde PDE süper ailesinin kapsamını oluşturan, 11 PDE

ailesi ve en az 21 izoformu saptanmıştır. Bunlar yapı, substrat spesifikliği, inhibitör seçiciliği, doku ve hücrelerdeki dağılım ile kinazlar, protein-protein etkileşimleri ve hücre altı dağılımları aracılığıyla düzenlenme biçimindeki farklılıklar ile birbirlerinden ayrılırlar.<sup>11-14</sup>

## GENEL YAPI

Farklı memeli PDE'leri ortak yapısal determinantlara sahiptir: İki yüz yetmiş amino asitten oluşan katalitik etki alanı; amino terminali ve PDE1 için CaM'nin bağlanma sahası üzerinde bulunduğu katalitik alan arasındaki düzenleyici kısım; cGMP için allosterik bağlanma yerleri (GAF etki alanları); PDE2, PDE5, PDE6, PDE10 ve PDE11 için fosforilasyon siteleri; PDE4 için fosfatidik bağlanma sitesi; PDE8 için PAS etki alanı; PDE1 ve PDE4 için otomatik engelleyici diziler ve PDE2 ile PDE4 için



**ŞEKİL 3:** Fosfodiesteraz süper ailesini oluşturan farklı fosfodiesteraz ailelerinin yapıları.<sup>13</sup>

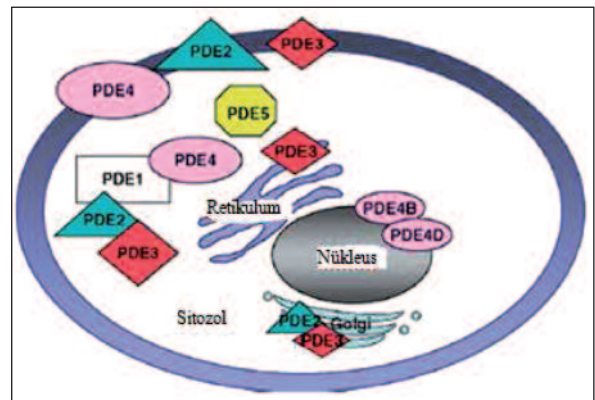
PDE: Fosfodiesteraz; ERK2: Sikline bağımlı kinaz enzim grubundan bir serin/treonin kinaz enzimi; UCR1 ve UCR2: Hedefe yakın korunmuş bölgeler;

LR1 ve LR2: Bağlayıcı bölgeler; GAF A ve GAF B: PDE6 enziminin azot taşıyan katalitik alt üniteleri;

PAS domain: Sinyal sensörü olarak görev yapan birçok proteinin bulunduğu bölge; REC: Sinyal alıcı veya cevap düzenleyici bölge.

membran ilişkisi ile etki alanı.<sup>15,16</sup> Bu yapıların yanı sıra dimerleştirme motifleri; prenile veya katalitik etki alanı ve karboksi sınırı arasında henüz belirlenmemiş mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (MAP kinaz) fonksiyonu ile fosforile edilmesi PDE'lere bir etki alanı sağlamaktadır (Şekil 3).<sup>13</sup>

Memelilerde her bir aile, 20'den fazla gen vermek üzere bir-dört farklı geni de kapsamına almaktadır. Her bir gen, muhtemelen memeli hücrelerinde üretilmiş olan 50'den fazla PDE proteininin uç uca eklenmesi ve/veya çok sayıda protein ürününü kodlayan birden fazla promotörlerin kullanımı ile üretilir. PDE proteinlerinin bu çeşitliliği sayesinde, cAMP ve cGMP ile çeşitli protein efektörlerinin indüklenmesi sonucunda PDE'lerin hücre içi lokalizasyonu sağlanabilir. Biyokimyasal ve histokimyasal çalışmalar, kardiyak dokularda, PDE2, PDE3 ve PDE4'ün sitozolik dağılımlarının sarkolemma ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.<sup>17-19</sup> PDE3'ün özellikle sarkoplazmik retikulum, PDE2 ve PDE3'ün golgi endozomu, PDE4'ün ise



**ŞEKİL 4:** Kardiyak dokularda fosfodiesteraz ailelerinin hücre altı dağılımı.<sup>5</sup>

PDE: Fosfodiesteraz.

çekirdek zarı ile ilişkili olduğu saptanmıştır.(Şekil 4).<sup>20-22</sup>

## ÇEŞİTLİ FOSFODİESTERAZ AİLELERİNİN ÖZELLİKLERİ VE KAREKTERİZASYONU

### PDE1 Ailesi

Cheung ile Kakiuchi ve Yamazaki aynı anda sığır ve fare beyinlerinden aldıkları örneklerde 148

amino asitten oluşan bir kalsiprotein keşfetmişlerdir. Bu proteinin, kalsiyuma aktivatör ya da regülatör olarak bağımlı ısıya dayanıklı bir faktör (CDA ya da CDR) veya PDE aktive eden faktör (PAF) aracılığıyla,  $4Ca^{2+}$  mol/mol ile bağ yaptığını ortaya koymuşlardır. CaM adını alan bu protein, kalsiyuma bağımlı bir şekilde, siklik nükleotid PDE1'i aktive etmektedir. Bu buluş, damar düz kasında kromatografi ile PDE etkinliğinin fraksiyonundan izole edilerek vasıflandırılmasına olanak sağlamıştır. Bu PDE'lerin bir kısmı, özellikle  $Ca^{+2}/CaM$  tarafından aktive edildikleri anlaşıldığından beri, CaM-PDE olarak adlandırılmışlardır.<sup>23</sup> CaM-PDE'nin tam aktivasyonu için,  $4Ca^{+2}$ 'nin, CaM ile kooperatif bağlanma yapması gerekmektedir.<sup>24</sup>

### Yapı

PDE1 salgılanan hücrelerde, hormonlarda sitozolik  $Ca^{2+}$  düzeyinin artması ile PDE1 aktive olur, cAMP ya da cGMP sentezini stimüle eden hormonlara yanıt olarak cAMP değeri düşer.<sup>25</sup> Bunun aksine, in vivo PDE1 fosforilasyonu cAMP ya da cGMP potansiyalizasyonuna neden olabilir. Sitozolik  $Ca^{+2}$  düzeyinin yükselmesi ve guanil ya da adenil siklazın aktivasyonunu içeren birikim ve siklik nükleotid etkilerinin uzamasında rol oynayabilir. Bu bağlamda, PDE1'in belli formları nöronlarda sinaptik plastisiteye katkıda bulunabilir. PDE1 sitozolik fraksiyonu; PDE1'in birçok nöron lifinde bulunan dorsal ganglion kökünde yüksek miktarda olduğunu göstermiştir.<sup>26</sup>

### Dağılım

PDE1A beyinde yüksek miktarda mevcuttur. İnsan sperm hücresinde, PDE1A sıkıca CaM'ye bağlı olarak bulunur ve bu nedenle kalıcı bir şekilde aktive edilir.<sup>27</sup> PDE1B1 mRNA'sı beyin, hipokampus, kuyruklu nöronal hücrelerde ağırlıklı olarak bulunur. PDE1B1, Purkinje hücreleri ve ekspresyonu geniş dopaminerjik nöronlarda dopamin D1 ve dopamin reseptör mRNA'sı taşıyan beyin bölgeleri ile ilişkilidir.<sup>28</sup> PDE1B1 aynı zamanda kalp ve iskelet kasında da bulunur.<sup>29</sup> PDE1C1 mRNA'sı, özellikle beyin ile kalpte mevcuttur.<sup>30</sup> PDE1C1'in önemli bir türünün fare serebellar granül hücrelerinde yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır.<sup>31</sup>

### Fonksiyonel Rol

PDE1A1'in kronik nitrogliserin tedavisine yanıt olarak sıçan aortunda yukarı regülasyona neden olduğu rapor edilmiştir.<sup>32</sup> PDE1B mRNA'sının, anti-CD3/CD28'i aktiflediği, insan T-lenfositlerinden kaynaklı alerjik hastalıklarda rol oynadığı ve IL-13 düzenlenmesine katıldığı bildirilmiştir.<sup>33</sup> Hücre üzerinde yapılan çalışmalar, PDE1B1'in engellenmesinin insan lösemi hücrelerinde apoptoza neden olabileceğini göstermektedir.<sup>34</sup> PDE1C'nin indüksiyonu, arteriyel düz kas hücrelerinin çoğalması ve glukoz ile indüklenen insülinin salgılanması üzerinde azaltıcı etkinliğe sahiptir.<sup>35</sup> Transgenik bir fare kuşağının belirli bir PDE izoziminin fonksiyonunu tanımlamak için kullanılmasıyla, PDE1B'nin uyuşturulmuş fare üzerinde dopamin agoniste yanıt olarak abartılı lökomotor hiperaktivite gösterdiği ve konumsal öğrenmeyi engelleyen görüntüler sergilediği gösterilmiştir.<sup>36</sup>

### PDE2 Ailesi

İlk olarak Beavo ve ark. tarafından keşfedilen PDE2, önce cGMP ile stimüle edilen PDE olarak adlandırılmıştır (CGS-PDE). Sıçan karaciğer süpernatantından veya çeşitli dokulardan alınan sıçan ham parçacık fraksiyonları üzerine, deney süresince cGMP ilave edilmesiyle cAMP-PDE hazırlanmıştır. Safılaştırılmış PDE2'nin üzerinde yapılan çalışmalar açıkça göstermiştir ki, PDE2 hem cAMP ve cGMP'yi hidroliz eder ve allosterik pozitif kinetik ile cAMP ve cGMP tarafından düzenlenir hem de cGMP substratı ve efektörü olarak tercih edilir.<sup>37,38</sup>

### Yapı

PDE2 enzimleri sığır kalp, adrenal doku, karaciğer ve beyin korteksinden saflaştırılmıştır. PDE2, endotel hücrelerinin yanı sıra trombositlerden de karakterize edilmiştir.<sup>39-45</sup>

### Dağılım

PDE2 proteini, adrenal medulla, kalp, sıçan ventrikülü, kahverengi adipoz doku, karaciğer ve beyinde görülür. Beyinde PDE2, koku epiteli içinde koku duyu nöronları, yumru ve tüberküloz, hipokampus piramidal ve granül hücrelerine lokalize olur. PDE2 proteinleri ve mRNA'lar sığır, insan ve en-

dotelyal hücreler, ana pulmoner arter tabakası ve makrofajlarda karakterize edilmiştir.<sup>46-52</sup>

### PDE3 Ailesi

Bu enzim, 1980'li yıllarda yeni kardiyotonik ilaçların hedefi olarak belirlenmiştir. Rolipramın (Şekil 5) keşfinden sonra, cAMP-PDE için kuvvetli selektif inhibitör ve zara bağlı PDE3 ü ayırt etmek için kalp cAMP-PDE'de çözündürülmüş; ROI-PDE (rolipram ile inhibe edilen PDE) ve cGI-PDE (cGMP ile inhibe edilen PDE) bulunmuştur. PDE3 enzimi başlangıçta, kalp, karaciğer, trombosit ve adipoz dokuda esas olarak saptanmıştır. Farklı araştırmacılar tarafından PDE3 ilk defa homojenliği elde etmek için kalp ve trombositte saflaştırılmıştır.<sup>53-59</sup>

### Yapı

PDE3'ün klonlanması iki genden bir PDE3 ailesini ortaya koymaktadır. Her iki PDE3 izoformunda, karboksü ucu sonundaki kısmı ve katalitik alanı enzimin lokalizasyonu için önemli bir NH<sub>2</sub>-terminali domainini ihtiva eder ve yapısal olarak benzerdir. PDE3 katalitik alanı, diğer PDE'lerin tam tersi şekilde, cGMP-PDE3 duyarlılıkları dâhil edilebilen bir 44 amino asit uç ile karakterize edilmektedir.<sup>60</sup>

### Dağılım

PDE3B esas olarak, adipositler, hepatositler ve spermatozoidlerde; PDE3A ise kalp, trombosit, damar düz kası ve oositlerde ağırlıklı olarak mevcuttur.<sup>61</sup>

### Fonksiyonel Rol

PDE3A eksikliği olan fareler yaşayabilirler. Oositleri normal ovülasyon sayısında olmasına rağmen, mayozun yeniden başlaması için PDE3A aktivitesi gerekir ki bu da farelerin tamamen kısır olduklarını gösterir.<sup>62</sup> Farenin h-hücrelerinde PDE3B aşırı olduğunda, insülin salgılanmasının bozulması ve glu-

koz intoleransı sonucunda, Tip 2 diyabet belirtilerini gösterecek değişiklikler ortaya çıkmaktadır.<sup>63</sup>

### PDE4 Ailesi

PDE4, cAMP'ye spesifik bir PDE'dir. Esasen beyindeki nöroinflamatuvar hücreler, iltihaplı hücreler, kalp damar dokuları ve düz kasında bulunur ama trombositlerde yoktur.<sup>64-66</sup> PDE4 ün spesifik olarak, rolipram ile baskılandığı gösterilmiştir (K<sub>i</sub>=12:08). Ro-201724 ve cGMP'ye karşı hassas olmadığı bulunmuştur (Şekil 5).<sup>53,54</sup>

### Yapı

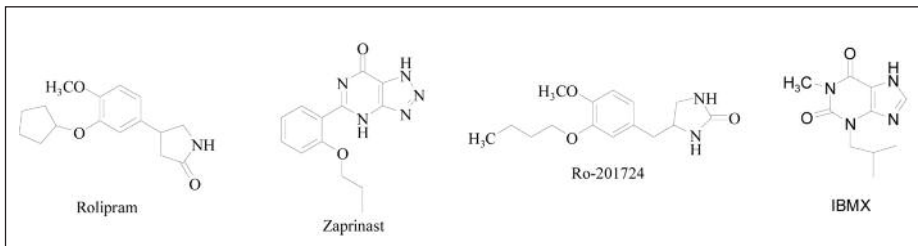
PDE4 ailesi, en az 35 farklı PDE4 proteinini kodlayan çeşitli mRNA'larla dört genin (PDE4A, PDE4B, PDE4C, PDE4D) birleşmesi sonucu oluşur.<sup>67-75</sup> Rolipram, prototipik PDE4 inhibitörüdür, düşük afiniteli rolipram bağlanma sahası (LARBS) ve yüksek afiniteli bağlanma sitesi (HARBS) olarak adlandırılan iki siteye bağlanabilir.<sup>76,77</sup>

### Fonksiyonel Rol

Transgenik farelerde Conti ve ark. tarafından PDE4 izozimlerinin tüm işlevsel rolleri gösterilmiştir. PDE4D eksikliği olan farelerde büyümenin gecikmesi, ayrıca canlılık ve diş doğurganlığında azalma görülmüştür.<sup>78</sup> PDE4D'den yoksun farenin antidepresif benzeri bir profile sahip olması, PDE4D'nin depresyon farmakoterapisinde bir rolünün olduğunu göstermektedir.<sup>79,80</sup>

### PDE5 Ailesi

PDE5, daha önce adı geçen cGMP-PDE, cGMP bağlayıcı cGMP-spesifik PDE (Cs-BPDE) ya da PDE V olarak adlandırılmıştır. İlk olarak sıçan trombositleri ve sıçan akciğerinde bir cGMP PDE eş-saflaştırıcı protein kinaz farklı bir cGMP bağlayıcı protein olarak karakterize edilmiştir.<sup>81-84</sup> İnsan, sığır ve fare



ŞEKİL 5: Rolipram, zaprinast, Ro-201724 ve IBMX'in kimyasal yapıları.

vasküler düz kasları içinde PDE5 saf hale getirilir. Özel olarak hidroliz eden bir sitozolik PDE izozimi cGMP olmadan Ca/CaM tarafından aktive edilir ve zaprinast (M&B 22948) ile inhibisyonu sağlar (Şekil 5). Günümüzde zaprinast PDE5 inhibisyonunun simgesi olarak kullanılmaktadır.<sup>53,85</sup>

### Yapı

McAllister-Lucas ve ark. sığır akciğer cDNA klonundan cG-BPDE yapısını çıkarmışlardır. Amino terminal 142 kalıntıları diğer PDE'ler ve PKG tarafından fosforile bir serin ihtiva eden önemli bir homoloji göstermiştir. İnsan cG-BPDE (PDE5A) cDNA'dan izole ve karakterize edilmiştir. PDE5A mRNA'sının, aortik düz kas hücrelerinde, kalp, plasenta, iskelet kasları, pankreas ve çok daha az oranda, beyin, karaciğer ve akciğerde bulunduğu gösterilmiştir.<sup>86,87</sup>

### Dağılım

Fare dokularında Western blot analizi yapılarak beyin ve böbrekte daha düşük, kalp ve beyinciği takiben (serebellar Purkinje nöronlarında lokalize), akciğerde en yüksek PDE5 ekspresyonu saptanmıştır.<sup>88</sup> PDE5'in, sıçan pulmoner arterlerinde akciğer direncini kontrol ettiği ifade edilmiştir.<sup>89</sup> Son zamanlarda köpek, sıçan ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, PDE5'in beta ( $\beta$ ) reseptörleri aracılığı ile kardiyak yanıtları düzenlediği gösterilmiştir.<sup>90</sup> 85-kDa PDE5 esas insan plateletlerinde ifade edilmiş ve plateletlerin ana cGMP-PDE hidrolitik aktivitesiyle temsil edildiği ortaya çıkarılmıştır.<sup>91</sup>

### Fonksiyonel Rol

PDE5'in, kan basıncının azalmasına neden olduğu bilindiğinden bu yana zaprinast tarafından PDE5 inhibisyonunun özel damar rahatlatan etkisiyle ilişkili cGMP artışını tetiklediği gösterilmiştir.<sup>53,92</sup> NO donörleri bir işlevsel endotelyumu içeren aort ile muameleye tabi tutulduğunda, PDE5 inhibitörünün rahatlatıcı etkilerinin, PDE5 NO/cGMP'nin gevşetici etkisinden kaynaklandığını göstermiştir.<sup>93-95</sup>

### PDE6 Ailesi

Retinal PDE'nin, cGMP metabolizmasının düzenlenmesi için ana site olduğu gösterildikten sonra bu PDE'nin kısmen saflaştırılması sığır fotoreseptörlerinin, cGMP tarafından allosterik olarak düzenle-

nen cGMP-PDE'nin olduğunu ortaya koymaktadır. PDE6, cAMP için yüksek, cGMP için daha yüksek bir afiniteye sahiptir.<sup>96,97</sup>

### Yapı

Günümüzde, PDE6'nın klonlama, yapısal çalışmalar ve görsel transdüksiyon silsilesinde önemli bir bileşen olduğu gösterilmiştir.<sup>98</sup> PDE6, iki büyük katalitik alt birimden oluşmaktadır.<sup>99</sup> Bu alt birimlerin her biri ayrı bir gen ürünüdür.<sup>100</sup>

### Fonksiyonel Rol

PDE6 fototransdüksiyonda önemli bir rol oynar.<sup>101</sup>

### PDE7 Ailesi

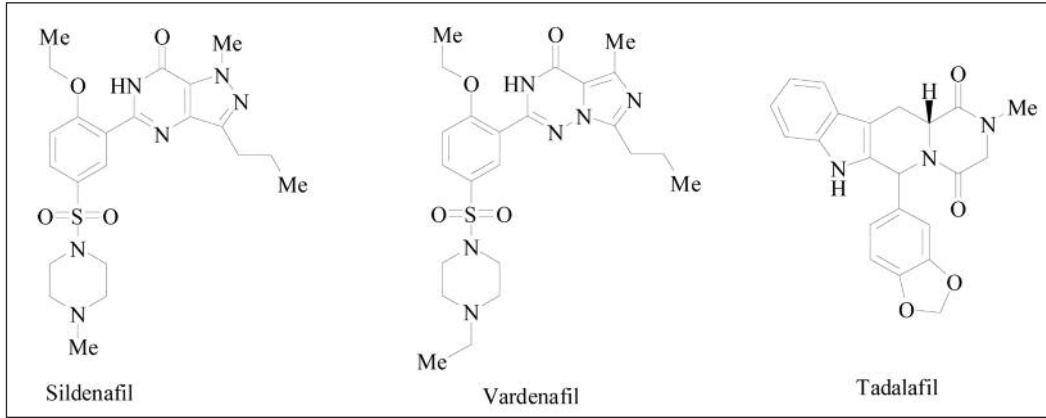
İnsan glioblastoma cDNA hücresinden izole edilmiştir. Yüksek afiniteli cAMP ve düşük  $V_{max}$  tarafından karakterize edilen yeni bir cAMP spesifik PDE ile kodlandığı gösterilmiştir. PDE3 ve PDE4'ün diğer özelliklerini paylaşmaz. Beavo terminolojisine göre, bu yeni aile roliprama duyarız PDE7 ailesi olarak tanımlanmıştır. Bu aile PDE7A ve PDE7B kodlayan iki gen içerir. PDE7 ailesi GAF etki gibi düzenleyici sahaları içermez.<sup>6</sup>

### PDE7A

PDE7A, mRNA endotelyal ve immün hücrelerde aynı zamanda insan proinflatuar hücrelerinde neredeyse her yerde bulunacak şekilde dağılır.<sup>102,103</sup> PDE7A, mRNA tarafından yaygın nöronal ve nöronal olmayan hücre popülasyonlarında, sıçan beyinde dağılım gösterir. Periferik organlarda, PDE7A mRNA'sının böbrek medulla, testis, karaciğer ve böbrek üstü bezlerinde yüksek seviyede olduğu görülmüştür.<sup>104</sup>

### PDE7B

PDE7B cDNA'sı aynı zamanda, insan PDE7A bir amino asit sekansı ve klonlama ile fare meme bezinden elde edilen sentezlenmiş dizi (EST) veri tabanında tanımlanmıştır.<sup>105,106</sup> PDE7B mRNA'sı bol miktarda iskelet kasları ve pankreasta, ayrıca beyin ve kalpte bulunur. İnsan PDE7B'si için türetilmiş amino asit dizisi, insan PDE7A'sında %64'e denktir. Rekombinant PDE7B (53 kDa), PDE7A (sırasıyla, 0,13 ve 0,16  $\mu$ M) ile aynı Km değerine sahiptir ve  $V_{max}$  değeri rekombinant insan PDE7A'sının 1/2-1/3'ü arasındadır.<sup>105</sup>



ŞEKİL 6: FDA onaylı ilk üç PDE5 inhibitörünün kimyasal formülleri.

## PDE8 Ailesi

### PDE8A

PDE8A yüksek afiniteli, cAMP duyarlı PDE'dir ( $K_m=0,15 \mu M$ ). Rolipram ve 3-izobutil-1-metilksantin (IBMX)'e karşı duyarsız olup, insan ve fare testisinden klonlanmıştır (Şekil 5). PDE8 mRNA'sı en yüksek düzeyde testiste, takiben azalan sırayla göz, karaciğer, iskelet kası, kalp, böbrek, yumurtalık ve beyinde bulunur.<sup>107-109</sup>

### PDE8B

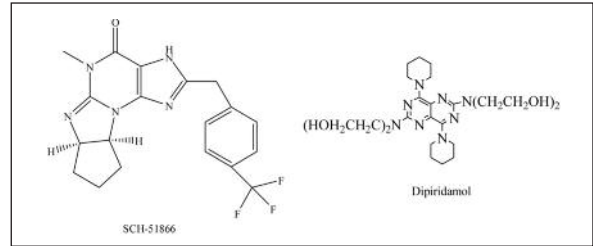
PDE8 ailesinde ikinci bir genin PDE8B ve PDE8A'nın üzerinde %65'lik özdeşlik gösterip kodladığı, EST veri tabanlı bir arama sayesinde keşfedilmiştir. mRNA kodlayan PDE8B, tiroid bezinde spesifik olarak ve bol miktarda bulunur.<sup>110</sup>

## PDE9 Ailesi

PDE9, ilk defa 1998 yılında, aynı anda ve bağımsız olarak, Soderling ve ark. ile Hayashi ve ark. tarafından tanımlanmıştır.<sup>108,109,111</sup> Rekombinant PDE9A1 cGMP'ye ( $K_m=0,07 \mu M$  sırasıyla PDE5 ve PDE6'dan 40-170 kat daha az) son derece spesifiktir ve IBMX veya sildenafille karşı duyarsızdır (Şekil 6). Ancak PDE1/PDE5 inhibitörleri tarafından, (örneğin SCH-51866) inhibe edilir (Şekil 7). PDE9A1 mRNA'sı yüksek düzeyde böbrekte, ayrıca düşük düzeyde karaciğer, akciğer ve beyinde dağılım gösterir.<sup>108,109</sup>

## PDE10 Ailesi

PDE10 ailesi fare ile insan fetal beyin ve fetal akciğerinden çift tabakalı gen ailesi olarak 1999 yılında izole edilip karakterizasyonu yapılmıştır.<sup>112-114</sup> Tü-



ŞEKİL 7: SCH-51866 ve dipiridamolün kimyasal formülleri.

retilmiş amino asit dizisi, 779 amino asit içerir ve N-terminal fraksiyonunda iki GAF alanı arasında bulunur. Genomik organizasyon üzerine bir çalışmada PDE10A'nın iki GAF alanı içermesine rağmen, her ikisi de GAF alanları taşıyan PDE5A ve PDE6B'den farklı bir gen organizasyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Bu durum, PDE10A için ata genin, Caenorhabditis elegans gibi daha düşük bir organizmada var olduğunu göstermektedir.<sup>115</sup>

## PDE11 Ailesi

PDE11 ailesi, PDE10A'dan (%41 kimliği ve %64 benzerlik) ziyade PDE5 (%50 kimliği ve %71 benzerlik) katalitik sahasına benzer çift alt-tabaka PDE ailesindedir. PDE11 mRNA'sı iskelet kası, prostat, böbrek, karaciğer, hipofiz ve tükürük bezleri ile testiste yüksek seviyede bulunmaktadır. PDE11A1 (491 amino asit), insan iskelet kasından klonlanmış ve PDE11A1'in 55.786 Da'luk bir moleküler kütleye sahip olduğu düşünülmüştür. Sadece bir GAF alanı içerir. PDE11A, IBMX ( $IC_{50}=50 \mu M$ ), zaprinast ( $IC_{50}=12 \mu M$ ) ve dipiridamol ( $IC_{50}=0.37 \mu M$ ) duyarlıdır (Şekil 7).<sup>116</sup>



## PDE AİLELERİNİN SPESİFİK İNHİBİTÖRLERİ

İlk tanımlanan PDE inhibitörü 1962 yılında tanımlanan teofilindir (Şekil 8).<sup>117</sup> Bir yıl sonra, yeni bir ksantin analogu olan IBMX'in, teofilinden 100 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir.<sup>118</sup> Teofilin ve IBMX'in PDE1 ve PDE5'i aynı şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.<sup>119</sup> Son 10 yılda, seçici ve güçlü çok sayıda PDE inhibitörü geliştirilmiştir. Bunlardan

bazıları nanomolar ve subnanomolar aralıkta çok güçlü bir şekilde enzim inhibisyonu gösterebilir. Bu inhibitörlerde PDE üzerine olan etkinlik bir aile üzerine son derece spesifiktir. İnsan PDE izoenzim ailelerinde, onların ana substratları, spesifik ve spesifik olmayan inhibitörleri Tablo 3'te görülmektedir. Bu durumda, 40 yıllık süre içerisinde, PDE inhibitörlerinin gücünün 108 kat daha arttığı görülmüştür. PDE inhibitörleri ağırlıklı olarak doku-

**TABLO 3:** İnsan fosfodiesteraz izoenzim ailelerinde; onların ana substratları, spesifik ve spesifik olmayan inhibitörleri ve erkek ve dişi ürogenital sistemlerde potansiyel hedef organlar.<sup>120</sup>

PDE izoenzimi	Majör substrat	İnhibitör (selektif)	Ürogenital hedef doku (bozukluk)
PDE1	cAMP/cGMP	Vinposetin 8-metoksimetil-IBMX	Mesane (OA, LCB)
PDE2	cAMP	EHNA	
PDE3	cAMP	Amrinon Silostamid Enoksimon Milrinon Ouazinon (Ro 13-6438) Siguazodan Trequinsin (HL 725) Zardaverin	HCC (ED) Mesane (OA, LCB)
PDE4	cAMP	Etazolat Ro-201724 Roflumilast Rolipram Zardaverin ZK 803616	Klitoris (FSD) HCC (ED) Prostat (BPS, PCa) Üreter (USD) Vajina (FSD)
PDE5	cGMP	CP 461 DA 8159 E 4021 Eksisulind Sildenafil NCX 911 (sildenafil nitrat) TA 1709 Tadalafil Vardenafil Zaprinast (M&B 22948)	Klitoris (FSD) HCC (ED) Prostat (BPS, PCa) Üreter (USD) Mesane (OA; LCB) Vajina (FSD)
PDE6	cGMP	Papaverin Sildenafil Zaprinast Dipiridamol	
PDE7	cAMP	Papaverin Dipiridamol	
PDE8	cAMP	Papaverin Dipiridamol	
PDE9	cGMP	Papaverin Dipiridamol Zaprinast (M&B 22948)	
PDE10	cAMP/cGMP	Papaverin Dipiridamol	Vajina (FSD)
PDE11	cAMP/cGMP	Dipiridamol Tadalafil Zaprinast (M&B 22948)	Klitoris (FSD) Prostat (BPS, PCa)

BPS: Benign prostat hiperplazisi; cAMP: Siklik adenozin monofosfat; cGMP: Siklik guanozin monofosfat; ED: Erektile disfonksiyon; EHNA: 9-Eritro-2-(hidroksil-3-nonil)adenin; FSD: Kadın cinsel fonksiyon bozukluğu; HCC: İnsan korpus kavemosumu; IBMX: 3-İzobutil-1-metilksantin; LCB: Düşük uyumlu mesane; OA: Aşırı aktif mesane; PCa: Prostat kansinomu; PDE: Fosfodiesteraz; USD: Üriner sistemde taş bulunması.

larda PDE izozimlerini karakterize etmek, farmakolojik bir araç olarak, ayrıca PDE'lerin işlevsel rolünü tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır.

## PDE1 İNHİBİTÖRLERİ

Nimodipin, özellikle L-tipi kalsiyum kanalını antagonize eden dihidropiridin türevi bir ilaçtır (Şekil 8). İlk olarak, bir CaM-PDE inhibitörü olarak tanımlanmıştır.<sup>121</sup>

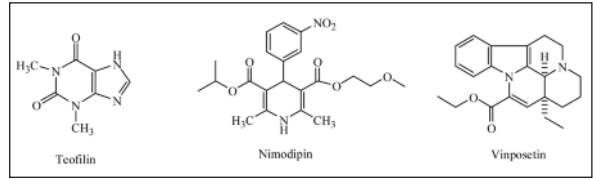
Vinposetin bazal spesifik bir önleyici olarak tanımlanmıştır ve PDE1 aktif CaM ve temel olarak PDE1'i karşılaştırmak için farmakolojik bir araç olarak kullanılır (Şekil 8). Bu bileşiğin PDE1'in çeşitli alt tiplerini inhibe ettiği saptanmıştır (IC<sub>50</sub>= 8-50 µM<sup>31</sup>). Aynı zamanda 60 µM bir IC<sub>50</sub> değeri ile PDE7B'yi inhibe eder.<sup>105</sup> Ancak, BK (Ca) kanallardaki doğrudan aktivatör etkisi nedeni ile, PDE1'in işlevsel rolünü araştırmak için özel bir araç olarak kullanılması mümkün değildir.<sup>122</sup>

Zaprinast (M&B 22948), ilk olarak CaM ile aktive edilen PDE önleyicisi olarak keşfedilmiştir.<sup>123</sup> Bununla birlikte, CaM aktif fraksiyonunda PDE1'den PDE5'in izolasyonu net bir biçimde göstermektedir ki aslında zaprinast PDE5 için spesifiktir, daha yüksek konsantrasyonda PDE1'i inhibe eder. 53 SCH-51866 PDE1 inhibitörü olarak kullanılır (Gen ve eklere göre, IC<sub>50</sub> 13-100 µM arasında değişir).<sup>31</sup> Ancak bu madde aynı potansiyel ile PDE1 ve PDE5'i inhibe eder (IC<sub>50</sub> sırasıyla 70 ve 60 nM).<sup>124</sup> Ayrıca, SCH-51866, yeni keşfedilmiş PDE izozimlerini inhibe eder: PDE7B (IC<sub>50</sub>=1,5 µM), PDE9A (IC<sub>50</sub>=1,55 µM), PDE11A3 ve PDE11A4 (IC<sub>50</sub>=9-25 µM).<sup>105,108,109,125</sup>

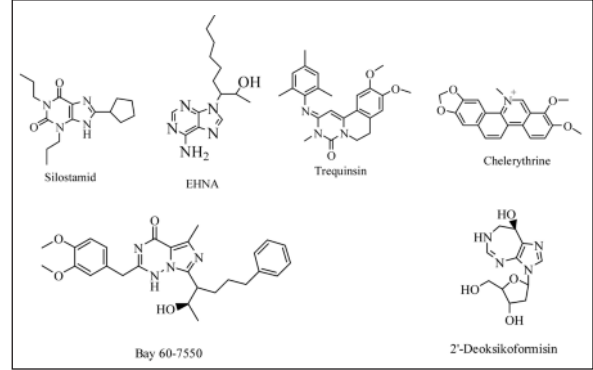
Dolayısıyla bugün dokuda PDE1'in işlevsel rolünü değerlendirmek için kullanılabilir etkilili ve spesifik bir PDE1 inhibitörü bulunmamaktadır.

## PDE2 İNHİBİTÖRLERİ

1994 yılına kadar PDE2'nin spesifik inhibitörleri bilinmemekteydi. Bu nedenle, bazı bileşikler spesifik durumda PDE2'yi araştırmak üzere seçilmiştir. Örneğin, silostamid seçici bir PDE3 inhibitörüdür; sıgır aortik endotel hücrelerinde PDE2'yi, cGMP-stimüle edilmiş inhibitörü olarak PDE3'ü tümüyle inhibe eder (Şekil 9).<sup>126</sup>



ŞEKİL 8: Teofilin, nimodipin ve vinposetin kimyasal yapıları.



ŞEKİL 9: Silostamid, EHNA, trequinsin, chelerythrine, Bay 60-7550 ve 2'-deoksikoformisin kimyasal yapıları.

Bununla birlikte, daha düşük konsantrasyonlarda, EHNA adenosin deaminazı inhibe eder (K<sub>i</sub>=10<sup>-9</sup> M) (Şekil 9). Bu nedenle, bir PDE2 inhibitörü olarak dikkatli kullanılması gerekir. Örneğin, 2'-deoksikoformisin (1-30 µM), PDE2'nin üzerinde belirli etkiye sahip bir adenosin deaminaz inhibitörüdür (Şekil 9). EHNA'nın perfüze sıçan akciğer modelinde hipoksik pulmoner damar büzülmesine ters etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>127</sup> Dipiridamol, trequinsin (Şekil 9), silostamidin yanı sıra chelerythrine protein kinaz C (PKC) inhibitörü olarak kullanıldığında PDE2 ile etkileşmektedir (Şekil 9).<sup>128</sup> Bazıları cGMP'ye benzer şekilde hareket eder; düşük konsantrasyonda PDE2'yi etkinleştirir, daha yüksek konsantrasyonda ise inhibe eder. Bu etki, testte kullanılan cAMP konsantrasyonuna da bağlıdır.<sup>44,129,130</sup> Son zamanlarda, iki yeni PDE2 inhibitörü bulunmuştur: IC933 (IC<sub>50</sub>=0,004 µM ve selektivite oranı 235) ve Bay 60-7550 (Şekil 9). Bay 60-7550, PDE2A enziminin inhibitörü olup, nesne ve sosyal tanıma yeteneklerini geliştirerek nöronal cGMP, sinaptik plastisite ve bellek performansını artırır.<sup>131,132</sup> Bu iki inhibitör, PDE2 araştırma alanının ve yeni terapötik hedeflerin yolunu açacaktır.<sup>133</sup>

### PDE 3 İNHİBİTÖRLERİ

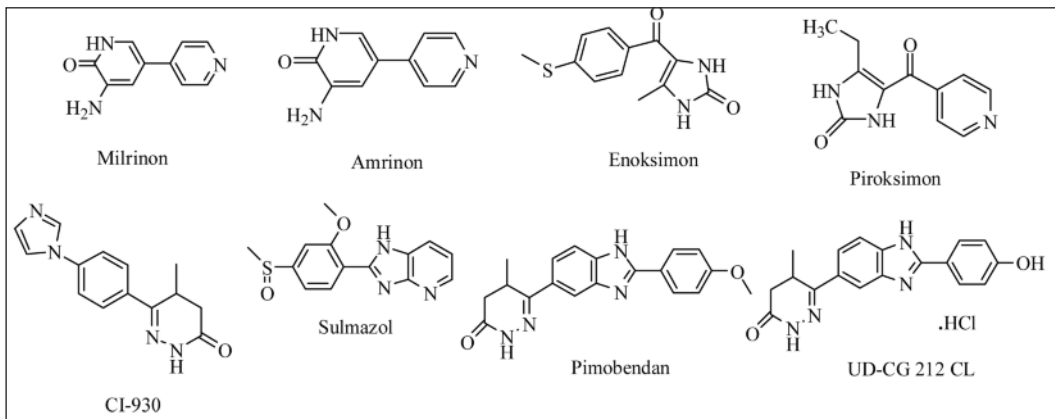
Silostamid (OPC-3689), trombosit cAMP-PDE potansiyel seçici bir inhibitör olarak tanımlanmıştır.<sup>134</sup> Plateletlerden ve damar düz kaslarından izole edilen cAMP-PDE üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, gevşetici ve antiagregan etkisinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca trombosit cAMP-PDE'sinin, vasküler düz kas cAMP-PDE'sinden farklı olduğu da gösterilmiştir.<sup>54</sup>

PDE3 inhibitörleri yaygın olarak 1980-1990'lı yıllarda incelenmiştir. Bazıları sempatomimetik olmayan kalp yetmezliğinin tedavisi için kardiyotonik ajan olarak kullanılmıştır.<sup>135,136</sup> Ancak, aritmojenik özellikleri yüzünden kalp yetersizliğinde PDE3 inhibitörlerinin kullanımı durdurulmuştur. Milrinon üzerinde çok çalışılan, PDE3 inhibitörü olarak yaygın kullanıma sahip ve kalp yetmezliğinin akut tedavisinde kullanılmak suretiyle uzun vadeli riskleri azaltan bir ilaçtır.<sup>137</sup>

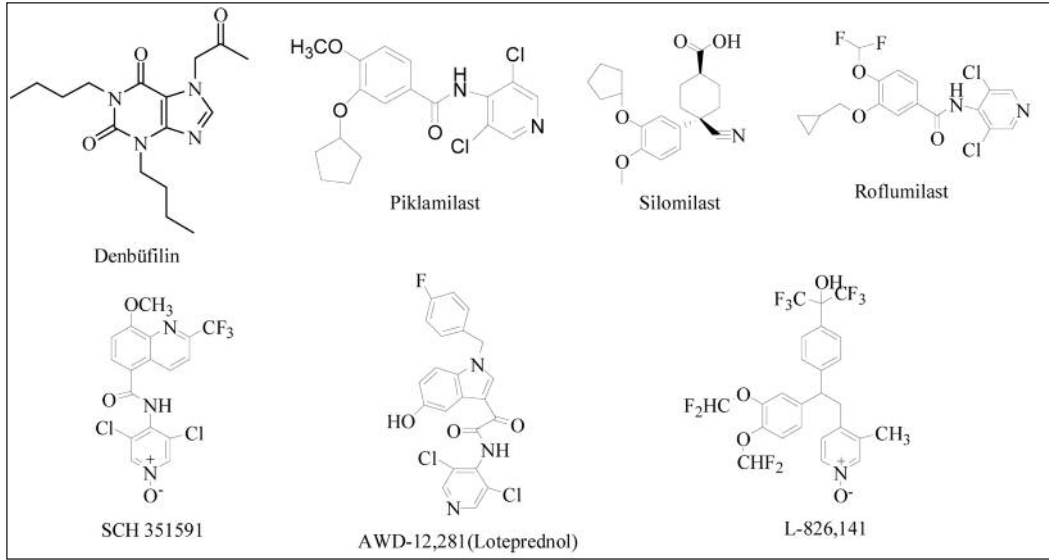
Milrinon (Primacor) ilgili bir bileşik olan amrinondan 25 kat daha güçlüdür, aynı zamanda 10 kat yüksek konsantrasyonlarda PDE4 ve PDE5'i inhibe etmektedir (Şekil 10).<sup>20</sup> Enoksimon, piroksimon, CI-930, sulmazol, pimobendan ve metaboliti UD-CG 212 CL tümü  $10^{-7}$ - $10^{-5}$  M arasında değişen konsantrasyonlarda PDE3'ü inhibe eder (Şekil 10). Ancak milrinon hariç, bu bileşiklerin daha yüksek konsantrasyonlarda PDE4 ve PDE5'i inhibe etme özellikleri de vardır.<sup>56,66,138</sup>

### PDE4 İNHİBİTÖRLERİ

Rolipram (ZK 62711, Schering AG), antidepresan bir bileşiktir.<sup>139</sup> Rolipramın cAMP-PDE beyin homojenatlarında inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek rolipram seçiciliği, PDE4 için damardan saflaştırılmış PDE'de gösterilmiştir.<sup>54,56</sup> Bu nedenle, yeni, potansiyel ve seçici PDE4 inhibitörleri sentezlemek için prototip olarak kabul edilmiştir.<sup>140</sup> Bir ksantin türeviden olan denbufilin aynı zamanda PDE4 için seçici bir inhibitördür; ancak 10 kat daha yüksek bir konsantrasyonda PDE5'i de inhibe eder (Şekil 11).<sup>20</sup> PDE4, antiinflamatuvar ilaçların tasarlanması için yeni bir hedef olarak karakterize edildiğinden beri, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tedavisi için bazı rolipram analogları, piklamilast (Rhône-Poulenc Rorer, RP-7034), CDP-840 (Celltech Therapeutics Limited and Merck Frosst,  $IC_{50}=2-30$  nM) ve türeviden L-791943 geliştirilmeye başlanmıştır (Şekil 11).<sup>141-146</sup> Ancak, bu rolipram analoglarının olumsuz kusturucu etkileri, klinik çalışmalarında başarısız olmalarına yol açmıştır. Ayrıca, PDE4 inhibitörlerinin diğer kimyasal yapıları, yeni bir sınıf aramak için kullanılmıştır. Benziladenin türevleri in vivo ortamda güçlü ve seçici inhibitörler olarak sentezlenmiştir (NCS 613,  $IC_{50}=42$  nM; NCS 706,  $IC_{50}=0,1$  nM).<sup>147-150</sup> Silomilast (Ariflo; SB 207499, GlaxoSmithKline,  $IC_{50}=95$  nM), roflumilast (Daxas\Altana,  $IC_{50}=0,8$  nM), SCH 351591 ( $IC_{50}=58$  nM), V11294A ( $IC_{50}=405$  nM), AWD 12-281 (Loteprednol) (Elbion AG,  $IC_{50}=9,7$  nM) gibi daha az kusturucu özelliğe sahip bazı yeni PDE4 inhibitörlerinin klinik ara-



ŞEKİL 10: Bazı PDE3 inhibitörü kardiyotonik ilaçların kimyasal yapıları.



ŞEKİL 11: Bazı PDE4 inhibitörlerinin kimyasal yapıları.

tırma çalışmaları hâlen sürmektedir (Şekil 11).<sup>151-155</sup> Ayrıca, Merck firmasının geliştirdiği L-826,141 PDE4 alt tiplerine biraz ayırım yapmaktadır ( $IC_{50}=0,26$  2,4 nM katalitik alanı aktivitesi için PDE4A, B, C ve D) (Şekil 11).<sup>156</sup>

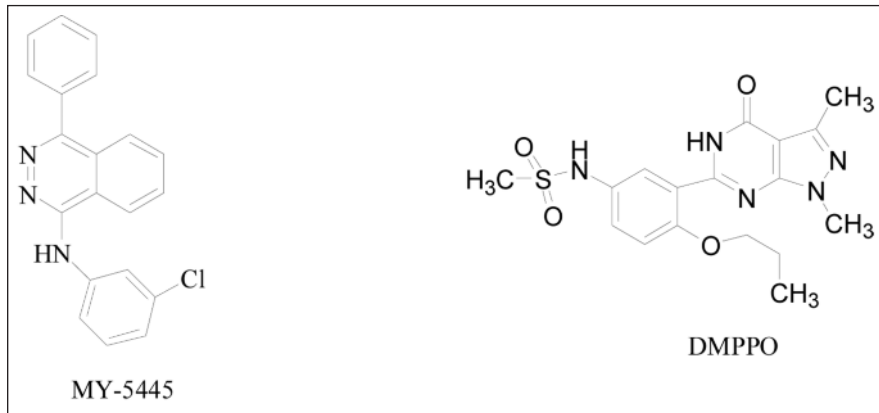
Günümüzde başta silomilast ve roflumilast olmak üzere çeşitli selektif PDE4 inhibitörleri KOAH'da klinik deneme aşamasındadır. Bunlardan sadece silomilast ve roflumilast faz III klinik çalışmaları ve ruhsat için başvuru aşamasına gelebilmiştir. Silomilastın KOAH'da kullanımı 2003 yılında Gıda ve İlaç Allerjisi [Food and Drug Administration (FDA)] tarafından onaylanmıştır. Roflumilast için klinik geliştirme programı hem astım

hem de KOAH'da yürütülmekte olup, ruhsat için 2004 yılında Avrupa Birliğine başvuru yapılmıştır.<sup>157</sup>

Bu PDE4 inhibitörleri astım ve KOAH'da yeni antiinflamatuvar ilaçlardır. Astımın yanı sıra PDE4 inhibitörleri kullanılarak depresyonun tedavi edilebileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır.

### PDE5 İNHİBİTÖRLERİ

İlk karakterize seçici PDE5 inhibitörünün zaprinast olduğu gösterilmiştir.<sup>53</sup> MY-5445 bileşiği de PDE5'i inhibe etme özelliğine sahiptir ( $K_i=1,3$   $\mu$ M) (Şekil 12).<sup>143</sup> Dipiridamol, uzun süredir PDE5 inhibitörü olarak kullanılmaktadır. Zaprinast vazodila-



ŞEKİL 12: MY-5445 ve DMPP0'nun kimyasal formülleri.

tör bir bileşik olup, kimyasal yapısı, koroner vazodilatör olarak daha güçlü ve seçici bileşikler ortaya çıkarmak için kullanılmıştır. Örneğin, DMPP0 3 nM'lik Ki değerine sahip bir bileşiktir (Şekil 12).<sup>158</sup> Bu bileşiğin oral yoldan farelerde kronik pulmoner hipertansiyonda hipoksi süresince etkili olduğu gösterilmiştir.<sup>159</sup> Hâlen, üç tane PDE5 inhibitörü erektil disfonksiyon tedavisi için piyasada bulunmaktadır; sildenafil, vardenafil ve tadalafil. Bu bileşikler ayrıca PDE11 ile de etkileşirler.<sup>160</sup> Sildenafil, nöron uyarmak ve sıçanda inme sonrası fonksiyonel iyileşmeyi teşvik etmek için kullanılmıştır.<sup>79,80</sup> Sıçanda hipoksinin neden olduğu akciğer hipertansiyonunda etkili olduğu ve sigara içenlerde endotel bağımlı vazodilatasyonu geliştirdiği saptanmıştır.<sup>161,162</sup> Ayrıca daha önce belirtildiği gibi, sildenafil ve vardenafil nesne bilgisinin bellek konsolidasyonunu artırır.<sup>163</sup> Vardenafil ve tadalafil PDE5/6 inhibitörleri, B-kronik lenfositik lösemi hücrelerinde kaspaz bağımlı apoptozu teşvik edebilir.<sup>164</sup>

Sildenafil, vardenafil ve tadalafil, PDE5 inhibitörlerinin muhtemel terapötik etkilerini araştırmak ve PDE5 hücre içi sinyal rolünü aydınlatmak için güvenli farmakolojik araçları temsil etmektedir.

#### PDE5 İnhibitörlerinin Yan Etkileri

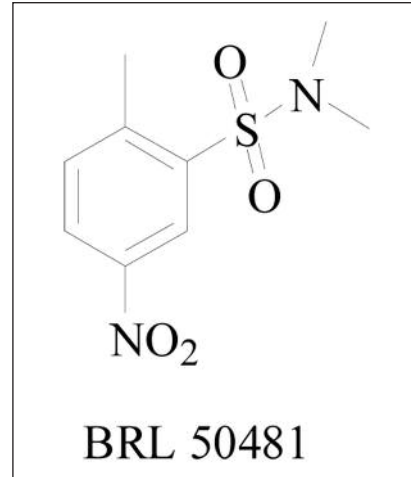
En sık görülen yan etkiler; görme bozukluğu, kızarıklık, baş ağrısı, dispeptik yakınmalar, konjestiyon ve kas ağrısıdır. Bu yakınmalar genellikle hafif ve geçicidir. Bununla birlikte nadiren de olsa ciddi yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. PDE5 inhibitörleri tedavisi sırasında izlenen yan etkiler Tablo 4'te görülmektedir.<sup>165</sup>

#### PDE6 İNHİBİTÖRLERİ

PDE5 ve PDE6, yapısal olarak ilişkili olduğundan, PDE5'i inhibe eden bileşikler PDE6 ile de etkileşim halindedir.<sup>167</sup> Zaprinast ve dipiridamol (sırasıyla Ki=140 ve 380 nM E4021) PDE5 gibi potansiyel olarak PDE6'yı inhibe eder.<sup>99,168</sup> PDE6 inhibitörlerinin görme üzerindeki olumsuz etkileri ve PDE6'nın spesifik lokalizasyonu nedeni ile, retina üzerinde, PDE6 inhibitörleri ile ilgili hiçbir ilaç araştırması bulunmamaktadır.

**TABLO 4:** PDE5 inhibitörlerinin yan etkileri.<sup>166</sup>

	Sildenafil	Vardenafil	Tadalafil
Baş ağrısı	%12,8	%16	%14,5
Kızarıklık	%10,4	%12	%4,1
Dispepsi	%4,6	%4	%12,3
Nazal konjesyon	%1,1	%10	%4,3
Baş dönmesi	%1,2	%2	%2,3
Görme sorunları	%1,9	<%2	
Sırt ağrısı			%6,5
Kas ağrısı			%5,7



**ŞEKİL 13:** PDE7 inhibitörü BRL 50481'in kimyasal yapısı.

#### PDE7/8/9/10/11 İNHİBİTÖRLERİ

Keşfedilen bu yeni aileler için bilinen çok az seçici inhibitör vardır. IC242 seçici olarak PDE7A'yı 0,37 µM IC<sub>50</sub> değeri ile inhibe eder.<sup>169,170</sup> Son zamanlarda, BRL 50481, in vitro ortamda kabul edilebilir bir PDE7 inhibitörü olarak keşfedilmiştir (Ki=180 nM) (Şekil 13). Tiyadiazoller, güçlü ve seçici PDE7 inhibitörlerinin yeni bir yapısal sınıfıdır.<sup>171</sup> Son PDE aileleri için, bilinen inhibitörlerine karşı sadece kendi diferansiyel duyarlılığı bildirilmiştir. IBMX'e karşı duyarsız PDE8A, dipiridamol ile inhibe edilir.<sup>107</sup> PDE9A zaprinasta duyarlıdır (IC<sub>50</sub>=35 µM).<sup>111</sup> PDE10A ise IC<sub>50</sub> değerleri 1,2 ve 0,45 µM olan cAMP ve cGMP hidroliz inhibisyonu ile dipiridamol tarafından inhibe edilir.<sup>114</sup> PDE11A varyantları dipiridamol (IC<sub>50</sub>=0,8-1,8 µM) ve zaprinasta (IC<sub>50</sub>=5-28 µM) duyarlıdır.<sup>172</sup>

Hiç şüphe yok ki yakın gelecekte, PDE8-PDE11 için selektif PDE inhibitörleri keşfedilecek, fonksiyonel rolü ve bu yeni PDE'lerin potansiyel terapötik etkileri bilinerek fikir sahibi olunacaktır.

## SONUÇ

Sonuç olarak, 11 farklı PDE ailesinin çeşitli deney hayvanlarından elde edilen veriler ışığında pek çok patolojide önemli rol oynadığı görülmüştür. PDE1, PDE4, PDE5, PDE7 ve PDE10 gibi neredeyse 10 ailenin beyin üzerine etki ettiği saptanmıştır. Ayrıca, PD ve HD hastalıklarını da içeren hareket bozuklukları PDE faaliyetinde izoformlara bağlı değişiklikler göstermiştir. İzofomların PDE inhibitörlerinin gelişmesinde ve hastalık patolojisinde faydalı olacağı bulunmuştur.

Vücutta her hücre ve dokuda bulunan ayrıca ökaryotik dağılan PDE süper ailesi, yeni tedavi ve özel yaklaşımlar geliştirmek için iyi bir fırsatı temsil etmektedir. Özellikle tedavisi bulunamamış kalıcı hastalıklarda PDE'lerin faydalı olabileceği düşünülmektedir. cAMP ve cGMP'yi hidroliz etmek suretiyle hücre içi enzimlerle kanser, inflamasyon, nörodejenerasyon, oksidatif stres gibi pek çok patoloji düzeltiler. PDE birleşme yeri spesifik ve lokal olarak bu kompleksin fonksiyonel du-

rumunu düzenler. Bu nedenle yukarı düzenleme, ters patolojik durumlarda değiştirilmiş birleşme yerlerinin güçlü ve seçici bir inhibitör kullanımı sonucunda en az yan etki ile bu durumdan kurtulabilir. Ayrıca, bazı patolojilerde birleşme yerlerinin gen tedavisi ya da aşağı düzenlenmiş ek yeri N-terminal alanının pozitif düzenlenmesi yararlı olacaktır.

Ayrıca yapılan araştırmalar; PDE3'ün kalp kasılmasında pozitif inotropik etkili olabileceğini, PDE5 inhibitörlerinin erektil disfonksiyon ve KOAH tedavisinde kullanılabileceğini, PDE4 inhibitörlerinin antidepresan etkiye sahip ayrıca KOAH tedavisinde kullanılmasının mümkün olduğunu ve PDE3 inhibitörlerinin antiagregan etkili olduğunu göstermektedir.

Önümüzdeki yıllarda farklı PDE izoenzimleri üzerinde spesifik etkiye sahip, değişik hastalıkların tedavisinde kullanılma potansiyeli olan PDE inhibitörlerinin klinikte kullanılmaya başlanması beklenmektedir.

## Teşekkür

*Bu çalışmanın hazırlanması, yazımı ve kaynakların düzenlenmesinde bize önemli katkılarda bulunan değerli öğrencimiz Merve Keleş'e teşekkürlerimizi sunarız.*

## KAYNAKLAR

- Ashman DF, Lipton R, Melicow MM, Price TD. Isolation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate from rat urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1963;11:330-4.
- Sutherland EW, Rall TW. Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem* 1958;232 (2):1077-91.
- Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents. *Pharmacol Ther* 2006;109(3):366-98.
- Torphy TJ, Barnette MS, Underwood DC, Griswold DE, Christensen SB, Murdoch RD, et al. Ariflo (SB 207499), a second generation phosphodiesterase 4 inhibitor for the treatment of asthma and COPD: from concept to clinic. *Pulm Pharmacol Ther* 1999;12(2):131-5.
- Soto FJ, Hanania NA. Selective phosphodiesterase-4 inhibitors in chronic obstructive lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2005; 11(2):129-34.
- Beavo JA. Cyclic-nucleotide phosphodiesterases-functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev* 1995;75(4):725-48.
- Greengard P. The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science* 2001;294(5544):1024-30.
- Lesch KP, Lerer B. The 5-HT receptor-G-protein-effector system complex in depression. I. Effect of glucocorticoids. *J Neural Transm Gen Sect* 1991;84(1-2):3-18.
- Majewski HK, Musgrave IF. Second messenger pathways in the modulation of neurotransmitter release. *Aust N Z J Med* 1995;25(6):817-21.
- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H. Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res* 2004;24(3):165-205.
- Houslay MD. Underpinning compartmentalised cAMP signalling through targeted cAMP breakdown. *Trends Biochem Sci* 2010;35(2):91-100.
- Soderling SH, Beavo JA. Regulation of cAMP and cGMP signaling: new phosphodiesterases and new functions. *Curr Opin Cell Biol* 2000;12(2):174-9.
- Francis SH, Turko IV, Corbin JD. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: relating structure and function. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001;65:1-52.
- Mehats C, Andersen CB, Filipanti M, Jin SL, Conti M. Cyclic nucleotide phosphodiesterases and their role in endocrine cell signaling. *Trends Endocrin Metab* 2002;13(1):29-35.
- Ho YS, Burden LM, Hurley JH. Structure of the GAF domain, a ubiquitous signaling motif and a new class of cyclic GMP receptor. *EMBO J* 2000;19(20):5288-99.

16. Zoraghi R, Corbin JD, Francis SH. Properties and functions of GAF domains in cyclic nucleotide phosphodiesterases and other proteins. *Mol Pharmacol* 2004;65(2):267-78.
17. Okruhlicová L, Tribulová N, Eckly A, Lugnier C, Slezák J. Cytochemical distribution of cyclic AMP-dependent 3',5'-nucleotide phosphodiesterase in the rat myocardium. *Histochem J* 1996;28(3):165-72.
18. Okruhlicová L, Tribulová N, Styk J, Eckly A, Lugnier C, Slezák J. Species differences in localization of cardiac cAMP-phosphodiesterase activity: a cytochemical study. *Mol Cell Biochem* 1997;173(1-2):183-8.
19. Okruhlicová L, Vrbjar N, Lugnier C. Characterization of type 4 cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE4) in cardiac sarcolemma. *Exp Clin Cardiol* 1998;3:188-92.
20. Lugnier C, Komasa N. Modulation of vascular cyclic-nucleotide phosphodiesterases by cyclic-gmp - role in vasodilatation. *Eur Heart J* 1993;14(Suppl 1):141-8.
21. Geoffroy V, Fouque F, Nivet V, Clot JP, Lugnier C, Desbuquois B, et al. Activation of a cGMP-stimulated cAMP phosphodiesterase by protein kinase C in a liver Golgi-endosomal fraction. *Eur J Biochem* 1999;259(3):892-900.
22. Lugnier C, Keravis T, Le Bec A, Pauvert O, Proteau S, Rousseau E. Characterization of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoforms associated to isolated cardiac nuclei. *Biochim Biophys Acta* 1999;1472(3):431-46.
23. Huang CY, Chau V, Chock PB, Wang JH, Sharma RK. Mechanism of activation of cyclic-nucleotide phosphodiesterase: requirement of the binding of 4 Ca<sup>2+</sup> to calmodulin for activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78(2):871-74.
24. Goraya TA, Masada N, Ciruela A, Cooper DM. Sustained entry of Ca<sup>2+</sup> is required to activate Ca<sup>2+</sup>-calmodulin-dependent phosphodiesterase 1A. *J Biol Chem* 2004;279(39):40494-504.
25. Giorgi M, Giordano D, Rosati J, Tata AM, Augusti-Tocco G. Differential expression and localization of calmodulin-dependent phosphodiesterase genes during ontogenesis of chick dorsal root ganglion. *J Neurochem* 2002;80(6):970-9.
26. Lefievre L, de Lamirande E, Gagnon C. Presence of cyclic nucleotide phosphodiesterases PDE1A, existing as a stable complex with calmodulin, and PDE3A in human spermatozoa. *Biol Reprod* 2002;67(2):423-30.
27. Polli JW, Kincaid RL. Molecular cloning of DNA encoding a calmodulin-dependent phosphodiesterase enriched in striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(22):11079-83.
28. Yu J, Wolda SL, Frazier AL, Florio VA, Martins TJ, Snyder PB, et al. Identification and characterization of a human calmodulin-stimulated phosphodiesterase PDE1B1. *Cell Signal* 1997;9(7):519-29.
29. Loughney K, Martins TJ, Harris EA, Sadhu K, Hicks JB, Sonnenburg WK, et al. Isolation and characterization of cDNAs corresponding to two human calcium, calmodulin-regulated, 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Biol Chem* 1996;271(2):796-806.
30. Yan C, Zhao AZ, Bentley JK, Beavo JA. The calmodulin-dependent phosphodiesterase gene PDE1C encodes several functionally different splice variants in a tissue-specific manner. *J Biol Chem* 1996;271(41):25699-706.
31. Kim D, Rybalkin SD, Pi XC, Wang YN, Zhang CX, Munzel T, et al. Upregulation of phosphodiesterase 1A1 expression is associated with the development of nitrate tolerance. *Circulation* 2001;104(19):2338-43.
32. Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of adenylate cyclase and cyclic nucleotide phosphodiesterases 1 and 4 in interleukin-13 production by activated human T cells. *Biochem Pharmacol* 2001;62(4):495-507.
33. Jiang X, Li JP, Paskind M, Epstein PM. Inhibition of calmodulin-dependent phosphodiesterase induces apoptosis in human leukemic cells. *P Natl Acad Sci USA* 1996;93(20):11236-41.
34. Rybalkin SD, Rybalkina I, Beavo JA, Bornfeldt KE. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 1C promotes human arterial smooth muscle cell proliferation. *Circ Res* 2002;90(2):151-7.
35. Reed TM, Repaske DR, Snyder GL, Greengard P, Vorhees CV. Phosphodiesterase 1B knock-out mice exhibit exaggerated locomotor hyperactivity and DARPP-32 phosphorylation in response to dopamine agonists and display impaired spatial learning. *J Neurosci* 2002;22(12):5188-97.
36. Manganiello VC, Tanaka T, Murashima S. Cyclic-GMP stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases. In: Beavo J, Houslay MD, eds. *Cyclic Nucleotide Phosphodiesterases Structure Regulation Drug Action*. Vol. 2. 1sted. Chichester: Wiley; 1990. p.61-86.
37. Erneux C, Couchie D, Dumont JE, Baraniak J, Stec WJ, Abbad EG, et al. Specificity of cyclic-gmp activation of a multi-substrate cyclic-nucleotide phosphodiesterase from rat-liver. *Eur J Biochem* 1981;115(3):503-10.
38. Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol Rev* 2006;58(3):488-520.
39. Miot F, Vanhaastert PJ, Erneux C. Specificity of cGMP binding to a purified cGMP-stimulated phosphodiesterase from bovine adrenal-tissue. *Eur J Biochem* 1985;149(1):59-65.
40. Pyne NJ, Cooper ME, Houslay MD. Identification and characterization of both the cytosolic and particulate forms of cyclic gmp-stimulated cyclic-amp phosphodiesterase from rat-liver. *Biochem J* 1986;234(2):325-34.
41. Whalin ME, Strada SJ, Thompson WJ. Purification and partial characterization of membrane-associated type-II (cGMP-activatable) cyclic nucleotide phosphodiesterase from rabbit brain. *Biochim Biophys Acta* 1988;972(1):79-94.
42. Murashima S, Tanaka T, Hockman S, Manganiello V. Characterization of particulate cyclic-nucleotide phosphodiesterases from bovine brain-purification of a distinct cgmp-stimulated isoenzyme. *Biochemistry* 1990;29(22):5285-92.
43. Lugnier C, Schini VB. Characterization of cyclic nucleotide phosphodiesterases from cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochem Pharmacol* 1990;39(1):75-84.
44. Asano T, Ochiai Y, Hidaka H. Selective-inhibition of separated forms of human platelet cyclic nucleotide phosphodiesterase by platelet aggregation inhibitors. *Mol Pharmacol* 1977;13(3):400-6.
45. Yanaka N, Kurosawa Y, Minami K, Kawai E, Omori K. cGMP-phosphodiesterase activity is up-regulated in response to pressure overload of rat ventricles. *Biosci Biotechnol Biochem* 2003;67(5):973-9.
46. Coudray C, Charon C, Komasa N, Mory G, Diot-Dupuy F, Manganiello V, et al. Evidence for the presence of several phosphodiesterase isoforms in brown adipose tissue of Zucker rats: modulation of PDE2 by the fa gene expression. *FEBS Lett* 1999;456(1):207-10.
47. Juilfs DM, Fülle HJ, Zhao AZ, Houslay MD, Garbers DL, Beavo JA. A subset of olfactory neurons that selectively express cGMP-stimulated phosphodiesterase (PDE2) and guanylyl cyclase-D define a unique olfactory signal transduction pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(7):3388-95.
48. Meyer MR, Angele A, Kremmer E, Kaupp UB, Muller F. A cGMP-signaling pathway in a subset of olfactory sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(19):10595-600.
49. Van Staveren WC, Steinbusch HW, Markerink-Van IJttersum M, Repaske DR, Goy MF, Kotera J, et al. mRNA expression patterns of the cGMP-hydrolyzing phosphodiesterases types 2, 5, and 9 during development of the rat brain. *J Comp Neurol* 2003;467(4):566-80.
50. van Staveren WC, Steinbusch HW, Markerink-van IJttersum M, Behrends S, de Vente J. Species differences in the localization of cGMP-producing and NO-responsive elements in the mouse and rat hippocampus using cGMP immunocytochemistry. *Eur J Neurosci* 2004;19(8):2155-68.
51. Bender AT, Ostenson CL, Giordano D, Beavo JA. Differentiation of human monocytes in vitro with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor produces distinct changes in cGMP phosphodiesterase expression. *Cell Signal* 2004;16(3):365-74.

52. Lugnier C, Schoeffer P, Le Bec A, Strouthou E, Stoclet JC. Selective inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases of human, bovine and rat aorta. *Biochem Pharmacol* 1986;35(10):1743-51.
53. Lugnier C, Stierle A, Beretz A, Schoeffer P, Lebec A, Wermuth CG, et al. Tissue and substrate specificity of inhibition by alkoxy-arylactams of platelet and arterial smooth muscle cyclic nucleotide phosphodiesterases relationship to pharmacological activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;113(3):954-9.
54. Weishaar RE, Kobylarz-Singer DC, Steffen RP, Kaplan HR. Subclasses of cyclic AMP-specific phosphodiesterase in left ventricular muscle and their involvement in regulating myocardial contractility. *Circ Res* 1987;61(4):539-47.
55. Komasa N, Lugnier C, Le Bec A, Serradeil-Le Gal C, Barthelemy G, Stoclet JC. Differential sensitivity to cardiotoxic drugs of cyclic AMP phosphodiesterases isolated from canine ventricular and sinoatrial-enriched tissues. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989;14(2):213-20.
56. Harrison SA, Reifsnnyder DH, Gallis B, Cadd GG, Beavo JA. Isolation and characterization of bovine cardiac muscle cGMP-inhibited phosphodiesterase: a receptor for new cardiotoxic drugs. *Mol Pharmacol* 1986;29(5):506-14.
57. Macphee CH, Harrison SA, Beavo JA. Immunological identification of the major platelet low-Km cAMP phosphodiesterase: probable target for anti-thrombotic agents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83(17):6660-3.
58. Degerman E, Belfrage P, Newman AH, Rice KC, Manganiello VC. Purification of the putative hormone-sensitive cyclic AMP phosphodiesterase from rat adipose tissue using a derivative of cilostamide as a novel affinity ligand. *J Biol Chem* 1987;262(12):5797-807.
59. He R, Komasa N, Ekholm D, Murata T, Taira M, Hockman S, et al. Expression and characterization of deletion recombinants of two cGMP-inhibited cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDE-3). *Cell Biochem Biophys* 1998;29(1-2):89-111.
60. Meacci E, Taira M, Moos M Jr, Smith CJ, Movsesian MA, Degerman E, et al. Molecular cloning and expression of human myocardial cGMP-inhibited cAMP phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(9):3721-5.
61. Masciarelli S, Horner K, Liu C, Park SH, Hinckley M, Hockman S, et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 3A-deficient mice as a model of female infertility. *J Clin Invest* 2004;114(2):196-205.
62. Harndahl L, Wierup N, Enerback S, Mulder H, Manganiello VC, Sundler F, et al. Beta-cell-targeted overexpression of phosphodiesterase 3B in mice causes impaired insulin secretion, glucose intolerance, and deranged islet morphology. *J Biol Chem* 2004;279(15):15214-22.
63. Houslay MD, Sullivan M, Bolger GB. The multienzyme PDE4 cyclic adenosine monophosphate-specific phosphodiesterase family: intracellular targeting, regulation, and selective inhibition by compounds exerting anti-inflammatory and antidepressant actions. *Adv Pharmacol* 1998;44:225-342.
64. Boswell-Smith V, Spina D, Page CP. Phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol* 2006;147(Suppl 1):S252-7.
65. Stoclet JC, Keravis T, Komasa N, Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Exp Opin Invest Drugs* 1995;4:1081-100.
66. Swinnen JV, Joseph DR, Conti M. Molecular cloning of rat homologues of the *Drosophila melanogaster dunce* cAMP phosphodiesterase: evidence for a family of genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86(14):5325-9.
67. Livi GP, Kmetz P, McHale MM, Cieslinski LB, Sathe GM, Taylor DP, et al. Cloning and expression of cDNA for a human low-Km, rolipram-sensitive cyclic AMP phosphodiesterase. *Mol Cell Biol* 1990;10(6):2678-86.
68. Bolger G, Michaeli T, Martins T, St John T, Steiner B, Rodgers L, et al. A family of human phosphodiesterases homologous to the *dunce* learning and memory gene product of *Drosophila melanogaster* are potential targets for antidepressant drugs. *Mol Cell Biol* 1993;13(10):6558-71.
69. McLaughlin MM, Cieslinski LB, Burman M, Torphy TJ, Livi GP. A low-Km, rolipram-sensitive, cAMP-specific phosphodiesterase from human brain. Cloning and expression of cDNA, biochemical characterization of recombinant protein, and tissue distribution of mRNA. *J Biol Chem* 1993;268(9):6470-6.
70. Obernolte R, Bhakta S, Alvarez R, Bach C, Zuppan P, Mulkins M, et al. The cDNA of a human lymphocyte cyclic-AMP phosphodiesterase (PDE IV) reveals a multigene family. *Gene* 1993;129(2):239-47.
71. Baecker PA, Obernolte R, Bach C, Yee C, Shelton ER. Isolation of a cDNA encoding a human rolipram-sensitive cyclic AMP phosphodiesterase (PDE IVD). *Gene* 1994;138(1-2):253-6.
72. Sullivan M, Egerton M, Shakur Y, Marquardsen A, Houslay MD. Molecular-cloning and expression, in both COS-1 cells and cerevisiae human cytosolic type-IVA, cyclic-AMP specific phosphodiesterase (hPDE-IVA-h6.1). *Cell Signal* 1994;6(7):793-812.
73. Engels P, Sullivan M, Müller T, Lübbert H. Molecular-cloning and functional expression in yeast of a human cAMP-specific phosphodiesterase subtype (PDE IV-C). *FEBS Lett* 1995;358(3):305-10.
74. Owens RJ, Lumb S, Rees-Milton K, Russell A, Baldock D, Lang V, et al. Molecular cloning and expression of a human phosphodiesterase 4C. *Cell Signal* 1997;9(8):575-85.
75. Schneider HH, Schmiechen R, Brezinski M, Seidler J. Stereospecific binding of the antidepressant rolipram to brain protein structures. *Eur J Pharmacol* 1986;127(1-2):105-15.
76. Jacobitz S, McLaughlin MM, Livi GP, Burman M, Torphy TJ. Mapping the functional domains of human recombinant phosphodiesterase 4A: structural requirements for catalytic activity and rolipram binding. *Mol Pharmacol* 1996;50(4):891-9.
77. Jin SL, Richard FJ, Kuo WP, D'Ercole AJ, Conti M. Impaired growth and fertility of cAMP-specific phosphodiesterase PDE4D-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(21):11998-2003.
78. Zhang HT, Huang Y, Jin SL, Frith SA, Suvana N, Conti M, et al. Antidepressant-like profile and reduced sensitivity to rolipram in mice deficient in the PDE4D phosphodiesterase enzyme. *Neuropsychopharmacology* 2002;27(4):587-95.
79. Zhang R, Wang Y, Zhang L, Zhang Z, Tsang W, Lu M, et al. Sildenafil (Viagra) induces neurogenesis and promotes functional recovery after stroke in rats. *Stroke* 2002;33(11):2675-80.
80. Hamet P, Coquil JF. Cyclic GMP binding and cyclic GMP phosphodiesterase in rat platelets. *J Cyclic Nucleotide Res* 1978;4(4):281-90.
81. Coquil JF, Franks DJ, Wells JN, Dupuis M, Hamet P. Characteristics of a new binding protein distinct from the kinase for guanosine 3':5'-monophosphate in rat platelets. *Biochim Biophys Acta* 1980;631(1):148-65.
82. Francis SH, Lincoln TM, Corbin JD. Characterization of a novel cGMP binding protein from rat lung. *J Biol Chem* 1980;255(2):620-6.
83. Francis SH, Corbin JD. Purification of cGMP-binding protein phosphodiesterase from rat lung. *Methods Enzymol* 1988;159:722-9.
84. Thomas MK, Francis SH, Corbin JD. Characterization of a purified bovine lung cGMP-binding cGMP phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1990;265(25):14964-70.
85. McAllister-Lucas LM, Sonnenburg WK, Kadlecak A, Seger D, Trong HL, Colbran JL, et al. The structure of a bovine lung cGMP-binding, cGMP-specific phosphodiesterase deduced from a cDNA clone. *J Biol Chem* 1993;268(30):22863-73.
86. Loughney K, Hill TR, Florio VA, Uher L, Rosman GJ, Wolda SL, et al. Isolation and characterization of cDNAs encoding PDE5A, a human cGMP-binding, cGMP-specific 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Gene* 1998;216(1):139-47.



87. Giordano D, Giorgi M, Sette C, Biagioni S, Augusti-Tocco G. cAMP-dependent induction of PDE5 expression in murine neuroblastoma cell differentiation. *FEBS Lett* 1999;446(2-3):218-22.
88. Pauvert O, Lugnier C, Keravis T, Marthan R, Rousseau E, Savineau JP. Effect of sildenafil on cyclic nucleotide phosphodiesterase activity, vascular tone and calcium signaling in rat pulmonary artery. *Br J Pharmacol* 2003; 139(3):513-22.
89. Senzaki H, Chen CH, Masutani S, Taketazu M, Kobayashi J, Kobayashi T, et al Assessment of cardiovascular dynamics by pressure-area relations in pediatric patients with congenital heart disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122(3):535-47.
90. Takimoto E, Belardi D, Tocchetti CG, Vahebi S, Cormaci G, Ketner EA, et al. Compartmentalization of cardiac beta-adrenergic inotropy modulation by phosphodiesterase type 5. *Circulation* 2007;115(16):2159-67.
91. Schoeffter P, Lugnier C, Demesy-Waeldele F, Stoclet JC. Role of cyclic AMP-and cyclic GMP-phosphodiesterases in the control of cyclic nucleotide levels and smooth muscle tone in rat isolated aorta. A study with selective inhibitors. *Biochem Pharmacol* 1987;36(22):3965-72.
92. Martin W, Furchgott RF, Villani GM, Jothianandan D. Phosphodiesterase inhibitors induce endothelium-dependent relaxation of rat and rabbit aorta by potentiating the effects of spontaneously released endothelium-derived relaxing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;237(2):539-47.
93. Harris AL, Lemp BM, Bentley RG, Perrone MH, Hamel LT, Silver PJ. Phosphodiesterase isozyme inhibition and the potentiation by zaprinast of endothelium-derived relaxing factor and guanylate cyclase stimulating agents in vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* 1989;249(2):394-400.
94. Rapoport RM, Murad F. Endothelium-dependent and nitrovasodilator-induced relaxation of vascular smooth muscle: role of cyclic GMP. *J Cyclic Nucleotide Protein Phosphor Res* 1983;9(4-5):281-96.
95. Goridis C, Virmaux N. Light-regulated guanosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase of bovine retina. *Nature* 1974;248(5443):57-8.
96. Coquil JF, Virmaux N, Mandel P, Goridis C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase of retinal photoreceptors. Partial purification and some properties of the enzyme. *Biochim Biophys Acta* 1975;403(2):425-37.
97. Stryer L. Vision: from photon to perception. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(2):557-9.
98. Gillespie PG, Beavo JA. Inhibition and stimulation of photoreceptor phosphodiesterases by dipyrindamole and M&B 22,948. *Mol Pharmacol* 1989;36(5):773-81.
99. Charbonneau H, Prusti RK, LeTrong H, Sonnenburg WK, Mullaney PJ, Walsh KA, et al. Identification of a noncatalytic cGMP-binding domain conserved in both the cGMP-stimulated and photoreceptor cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(1):288-92.
100. Pugh EN Jr, Lamb TD. Phototransduction in vertebrate rods and cones: molecular mechanisms of amplification recovery and like adaptation. In: DeGrip WJ, Pugh EN, Stavenga DG, eds. *Handbook of Biological Physics: Molecular Mechanisms in Visual Transduction*. Vol. 3. 1sted. Amsterdam: Elsevier; 2000. p.183-255.
101. Miró X, Casacuberta JM, Gutiérrez-López MD, de Landázuri MO, Puigdomènech P. Phosphodiesterases 4D and 7A splice variants in the response of HUVEC cells to TNF-alpha(1). *Biochem Biophys Res Commun* 2000;274(2):415-21.
102. Smith SJ, Brookes-Fazakerley S, Donnelly LE, Barnes PJ, Barnette MS, Giembycz MA. Ubiquitous expression of phosphodiesterase 7A in human proinflammatory and immune cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284(2):L279-89.
103. Miró X, Pérez-Torres S, Palacios JM, Puigdomènech P, Mengod G. Differential distribution of cAMP-specific phosphodiesterase 7A mRNA in rat brain and peripheral organs. *Synapse* 2001;40(3):201-14.
104. Sasaki T, Kotera J, Yuasa K, Omori K. Identification of human PDE7B, a cAMP-specific phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;271(3):575-83.
105. Gardner C, Robas N, Cawkill D, Fidock M. Cloning and characterization of the human and mouse PDE7B, a novel cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;272(1):186-92.
106. Fisher DA, Smith JF, Pillar JS, St Denis SH, Cheng JB. Isolation and characterization of PDE8A, a novel human cAMP-specific phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;246(3):570-7.
107. Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Identification and characterization of a novel family of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *J Biol Chem* 1998;273(25):15553-8.
108. Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Cloning and characterization of a cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(15):8991-6.
109. Hayashi M, Matsushima K, Ohashi H, Tsunoda H, Murase S, Kawarada Y, et al. Molecular cloning and characterization of human PDE8B, a novel thyroid-specific isozyme of 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;250(3):751-6.
110. Fisher DA, Smith JF, Pillar JS, St Denis SH, Cheng JB. Isolation and characterization of PDE9A, a novel human cGMP-specific phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1998;273(25):15559-64.
111. Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Isolation and characterization of a dual-substrate phosphodiesterase gene family: PDE10A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(12):7071-6.
112. Loughney K, Snyder PB, Uher L, Rosman GJ, Ferguson K, Florio VA. Isolation and characterization of PDE10A, a novel human 3', 5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Gene* 1999;234(1):109-17.
113. Fujishige K, Kotera J, Michibata H, Yuasa K, Takebayashi S, Okumura K, et al. Cloning and characterization of a novel human phosphodiesterase that hydrolyzes both cAMP and cGMP (PDE10A). *J Biol Chem* 1999;274(26):18438-45.
114. Fujishige K, Kotera J, Yuasa K, Omori K. The human phosphodiesterase PDE10A gene genomic organization and evolutionary relatedness with other PDEs containing GAF domains. *Eur J Biochem* 2000;267(19):5943-51.
115. Fawcett L, Baxendale R, Stacey P, McGrouther C, Harrow I, Soderling S, et al. Molecular cloning and characterization of a distinct human phosphodiesterase gene family: PDE11A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(7):3702-7.
116. Hetman JM, Robas N, Baxendale R, Fidock M, Phillips SC, Soderling SH, et al. Cloning and characterization of two splice variants of human phosphodiesterase 11A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(23):12891-5.
117. Butcher RW, Sutherland EW. Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. I. Purification and properties of cyclic 3',5'-nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'-phosphate in human urine. *J Biol Chem* 1962;237:1244-50.
118. Chasin M, Harris DN. Inhibitory and activators of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1976;7:225-64.
119. Lugnier C, Gauthier C, Le Bec A, Soustre H. Cyclic nucleotide phosphodiesterases from frog atrial fibers: isolation and drug sensitivities. *Am J Physiol* 1992;262(3 Pt 2):H654-60.
120. Uckert S, Hedlund P, Andersson KE, Truss MC, Jonas U, Stief CG. Update on phosphodiesterase (PDE) isoenzymes as pharmacologic targets in urology: present and future. *Eur Urol* 2006;50(6):1194-207.
121. Epstein PM, Fiss K, Hachisu R, Andrenyak DM. Interaction of calcium antagonists with cyclic AMP phosphodiesterases and calmodulin. *Biochem Biophys Res Commun* 1982;105(3):1142-9.

122. Wu SN, Li HF, Chiang HT. Vinpocetine-induced stimulation of calcium-activated potassium currents in rat pituitary GH3 cells. *Biochem Pharmacol* 2001;61(7):877-92.
123. Bergstrand H, Kristofferson J, Lundquist B, Schurmann A. Effects of antiallergic agents, compound 48/80, and some reference inhibitors on the activity of partially purified human lung tissue adenosine cyclic 3',5'-monophosphate and guanosine cyclic 3',5'-monophosphate phosphodiesterases. *Mol Pharmacol* 1977;13(1):38-43.
124. Vemulapalli S, Watkins RW, Chintala M, Davis H, Ahn HS, Fawzi A, et al. Antiplatelet and antiproliferative effects of SCH 51866, a novel type 1 and type 5 phosphodiesterase inhibitor. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996;28(6):862-9.
125. Yuasa K, Kotera J, Fujishige K, Michibata H, Sasaki T, Omori K. Isolation and characterization of two novel phosphodiesterase PDE11A variants showing unique structure and tissue-specific expression. *J Biol Chem* 2000;275(40):31469-79.
126. Kessler T, Lugnier C. Rolipram increases cyclic GMP content in L-arginine-treated cultured bovine aortic endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 1995;290(2):163-7.
127. Haynes JJr, Killilea DW, Peterson PD, Thompson WJ. Erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine inhibits cyclic-3',5'-guanosine monophosphate-stimulated phosphodiesterase to reverse hypoxic pulmonary vasoconstriction in the perfused rat lung. *J Pharmacol Exp Ther* 1996;276(2):752-7.
128. Eckly-Michel AE, Le Bec A, Lugnier C. Chelerythrine, a protein kinase C inhibitor, interacts with cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Eur J Pharmacol* 1997;324(1):85-8.
129. Komas N, Le Bec A, Stoclet JC, Lugnier C. Cardiac cGMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterases: effects of cGMP analogues and drugs. *Eur J Pharmacol* 1991;206(1):5-13.
130. Yamamoto T, Yamamoto S, Osborne JC Jr, Manganiello VC, Vaughan M, Hidaka H. Complex effects of inhibitors on cyclic GMP-stimulated cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1983;258(23):14173-7.
131. Snyder PB, Esselstyn JM, Loughney K, Wolda SL, Florio VA. The role of cyclic nucleotide phosphodiesterases in the regulation of adipocyte lipolysis. *J Lipid Res* 2005;46(3):494-503.
132. Boess FG, Hendrix M, van der Staay FJ, Erb C, Schreiber R, van Staveren W, et al. Inhibition of phosphodiesterase 2 increases neuronal cGMP, synaptic plasticity and memory performance. *Neuropharmacology* 2004;47(7):1081-92.
133. Reneerkens OA, Rutten K, Bollen E, Hage T, Blokland A, Steinbusch HW, et al. Inhibition of phosphodiesterase type 2 or type 10 reverses object memory deficits induced by scopolamine or MK-801. *Behav Brain Res* 2013;236(1):16-22.
134. Hidaka H, Hayashi H, Kohri H, Kimura Y, Hosokawa T, Igawa T, et al. Selective inhibitor of platelet cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase, cilostamide, inhibits platelet aggregation. *J Pharmacol Exp Ther* 1979;211(1):26-30.
135. Bristol JA, Sircar I, Moos WH, Evans DB, Weishaar RE. Cardiotonic agents. 1. 4,5-dihydro-6-[4-(1H-imidazol-1-yl)phenyl]-3 (2H)-pyridazinones: novel positive inotropic agents for the treatment of congestive heart failure. *J Med Chem* 1984;27(9):1099-101.
136. Moos WH, Humblet CC, Sircar I, Rithner C, Weishaar RE, Bristol JA, et al. Cardiotonic agents. 8. Selective inhibitors of adenosine 3',5'-cyclic phosphate phosphodiesterase III. Elaboration of a five-point model for positive inotropic activity. *J Med Chem* 1987;30(11):1963-72.
137. Cruickshank JM. Phosphodiesterase III inhibitors: long-term risks and short-term benefits. *Cardiovasc Drugs Ther* 1993;7(4):655-60.
138. Brunkhorst D, v der Leyen H, Meyer W, Nigbur R, Schmidt-Schumacher C, Scholz H. Relation of positive inotropic and chronotropic effects of pimobendan, UD-CG 212 Cl, milrinone and other phosphodiesterase inhibitors to phosphodiesterase III inhibition in guinea-pig heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989;339(5):575-83.
139. Schwabe U, Miyake M, Ohga Y, Daly JW. 4-(3-cyclopentyl-4-methoxyphenyl)-2-pyrrolidone (ZK 62711): a potent inhibitor of adenosine cyclic 3',5'-monophosphate phosphodiesterases in homogenates and tissue slices from rat brain. *Mol Pharmacol* 1976;12(6):900-10.
140. Marivet MC, Bourguignon JJ, Lugnier C, Mann A, Stoclet JC, Wermuth CG. Inhibition of cyclic adenosine-3',5'-monophosphate phosphodiesterase from vascular smooth muscle by rolipram analogues. *J Med Chem* 1989;32(7):1450-7.
141. Torphy TJ, Udem BJ. Phosphodiesterase inhibitors: new opportunities for the treatment of asthma. *Thorax* 1991;46(7):512-23.
142. Manning CD, Burman M, Christensen SB, Cieslinski LB, Essayan DM, Grous M, et al. Suppression of human inflammatory cell function by subtype-selective PDE4 inhibitors correlates with inhibition of PDE4A and PDE4B. *Br J Pharmacol* 1999;128(7):1393-8.
143. Souness JE, Maslen C, Webber S, Foster M, Raeburn D, Palfreyman MN, et al. Suppression of eosinophil function by RP 73401, a potent and selective inhibitor of cyclic AMP-specific phosphodiesterase: comparison with rolipram. *Br J Pharmacol* 1995;115(1):39-46.
144. Perry MJ, O'Connell J, Walker C, Crabbe T, Baldock D, Russell A, et al. CDP840: a novel inhibitor of PDE-4. *Cell Biochem Biophys* 1998;29(1-2):113-32.
145. Alexander RP, Warrelow GJ, Eaton MA, Boyd EC, Head JC, Porter JR, et al. CDP840. A prototype of a novel class of orally active anti-inflammatory phosphodiesterase 4 inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 2002;12(11):1451-6.
146. Guay D, Hamel P, Blouin M, Brideau C, Chan CC, Chaurat N. Discovery of L-791,943: a potent, selective, non emetic and orally active phosphodiesterase-4 inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett* 2002;12(11):1457-61.
147. Bourguignon JJ, Desaubry L, Raboisson P, Wermuth CG, Lugnier C. 9-Benzyladenines: potent and selective cAMP phosphodiesterase inhibitors. *J Med Chem* 1997;40(12):1768-70.
148. Raboisson P, Lugnier C, Muller C, Reimund JM, Schultz D, Pinna G, et al. Design, synthesis and structure-activity relationships of a series of 9-substituted adenine derivatives as selective phosphodiesterase type-4 inhibitors. *Eur J Med Chem* 2003;38(2):199-214.
149. Boichot E, Wallace JL, Germain N, Corbel M, Lugnier C, Lagente V, et al. Anti-inflammatory activities of a new series of selective phosphodiesterase 4 inhibitors derived from 9-benzyladenine. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;292(2):647-53.
150. Reimund JM, Raboisson P, Pinna G, Lugnier C, Bourguignon JJ, Muller CD. Anti-TNF-alpha properties of new 9-benzyladenine derivatives with selective phosphodiesterase-4-inhibiting properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288(2):427-34.
151. Christensen SB, Guider A, Forster CJ, Gleason JG, Bender PE, Karpinski JM, et al. 1,4-cyclohexanecarboxylates: potent and selective inhibitors of phosphodiesterase 4 for the treatment of asthma. *J Med Chem* 1998;41(6):821-35.
152. Hatzelmann A, Schudt C. Anti-inflammatory and immunomodulatory potential of the novel PDE4 inhibitor roflumilast in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297(1):267-79.
153. Billah MM, Cooper N, Minnicozzi M, Warneck J, Wang P, Hey JA, et al. Pharmacology of N-(3,5-dichloro-1-oxido-4-pyridinyl)-8-methoxy-2-(trifluoromethyl)-5-quinoline carboxamide (SCH 351591), a novel, orally active phosphodiesterase 4 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302(1):127-37.
154. Gale DD, Landells LJ, Spina D, Miller AJ, Smith K, Nichols T, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile following oral administration of the phosphodiesterase (PDE)4 inhibitor V11294A in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2002;54(5):478-84.

155. Draheim R, Egerland U, Rundfeldt C. Anti-inflammatory potential of the selective phosphodiesterase 4 inhibitor N-(3,5-dichloropyrid-4-yl)-[1-(4-fluorobenzyl)-5-hydroxyindole-3-yl]-glyoxylic acid amide (AWD 12-281), in human cell preparations. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;308(2):555-63.
156. Claveau D, Chen SL, O'Keefe S, Zaller DM, Styhler A, Liu S, et al. Preferential inhibition of T helper 1, but not T helper 2, cytokines in vitro by L-826,141 [4-[2-(3,4-bisdifluoromethoxyphenyl)-2-[4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-hydroxypropan-2-yl)-phenyl]-ethyl]3-methylpyridine-1-oxide], a potent and selective phosphodiesterase 4 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;310(2):752-60.
157. Lipworth BJ. Phosphodiesterase-4 inhibitors for asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 2005;365(9454):167-75.
158. Coste H, Grondin P. Characterization of a novel potent and specific inhibitor of type V phosphodiesterase. *Biochem Pharmacol* 1995;50(10):1577-85.
159. Eddahibi S, Raffestin B, Le Monnier de Gouville AC, Adnot S. Effect of DMPPQ, a phosphodiesterase type 5 inhibitor, on hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Br J Pharmacol* 1998;125(4):681-8.
160. Weeks JL, Zoraghi R, Beasley A, Sekhar KR, Francis SH, Corbin JD. High biochemical selectivity of tadalafil, sildenafil and vardenafil for human phosphodiesterase 5A1 (PDE5) over PDE11A4 suggests the absence of PDE11A4 cross-reaction in patients. *Int J Impot Res* 2005;17(1):5-9.
161. Sebkhı A, Strange JW, Phillips SC, Wharton J, Wilkins MR. Phosphodiesterase type 5 as a target for the treatment of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2003;107(25):3230-5.
162. Kimura M, Higashi Y, Hara K, Noma K, Sasaki S, Nakagawa K, et al. PDE5 inhibitor sildenafil citrate augments endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Hypertension* 2003;41(5):1106-10.
163. Prickaerts J, Sik A, van Staveren WC, Koopmans G, Steinbusch HW, van der Staay FJ, et al. Phosphodiesterase type 5 inhibition improves early memory consolidation of object information. *Neurochem Int* 2004;45(6):915-28.
164. Sarfati M, Mateo V, Baudet S, Rubio M, Fernandez C, Davi F, et al. Sildenafil and vardenafil, types 5 and 6 phosphodiesterase inhibitors, induce caspase-dependent apoptosis of B-chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 2003;101(1):265-9.
165. Hatzimouratidis K, Amar E, Eardley I, Giuliano F, Hatzichristou D, Montorsi F, et al; European Association of Urology. Guidelines on male sexual dysfunction: erectile dysfunction and premature ejaculation. *Eur Urol* 2010;57(5):804-14.
166. Başar M, Bal F. [Current status of phosphodiesterase type 5 therapy in the medical treatment of erectile dysfunction]. *Turk Urol Sem* 2010;1:85-91.
167. Cote RH. Characteristics of photoreceptor PDE (PDE6): similarities and differences to PDE5. *Int J Impot Res* 2004;16(Suppl 1):S28-33.
168. D'Amours MR, Granovsky AE, Artemyev NO, Cote RH. Potency and mechanism of action of E4021, a type 5 phosphodiesterase isozyme-selective inhibitor, on the photoreceptor phosphodiesterase depend on the state of activation of the enzyme. *Mol Pharmacol* 1999;55(3):508-14.
169. Lee ME, Markowitz J, Lee JO, Lee H. Crystal structure of phosphodiesterase 4D and inhibitor complex(1). *FEBS Lett* 2002;530(1-3):53-8.
170. Lee R, Wolda S, Moon E, Esselstyn J, Hertel C, Lerner A. PDE7A is expressed in human B-lymphocytes and is up-regulated by elevation of intracellular cAMP. *Cell Signal* 2002;14(3):277-84.
171. Vergne F, Bernardelli P, Lorthiois E, Pham N, Proust E, Oliveira C, et al. Discovery of thiazoles as a novel structural class of potent and selective PDE7 inhibitors. Part 2: metabolism-directed optimization studies towards orally bioavailable derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 2004;14(18):4615-21.
172. Hetman JM, Robas N, Baxendale R, Fidock M, Phillips SC, Soderling SH, et al. Cloning and characterization of two splice variants of human phosphodiesterase 11A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(23):12891-5.