

**AGOMELATİN'İN MODEL MEMBRANLAR İLE ETKİLEŞMESİNİN YAPISAL
VE İŞLEVSEL AÇIDAN BİYOFİZİKSEL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Proje No: 210T125

Prof.Dr. Feride SEVERCAN

HAZİRAN 2012

ANKARA

Önsöz

Antidepresan ilaç agomelatin'in model membranlarda moleküler düzeyde oluşturduğu olası etkilerin anlaşılması amacıyla gerçekleştirilen bu çalışma 15 Nisan 2011'de başlamış ve 15 Nisan 2012'de bitmiştir. Proje TÜBİTAK Temel Bilimler Araştırma Grubu tarafından olarak desteklenmiştir (210T125).

Prof. Dr. Feride SEVERCAN

İçindekiler

Önsöz.....	2
Özet.....	8
Abstract.....	9
1.Giriş	10
1.1. Çalışmanın Amacı	10
2. Genel Bilgiler	12
2.1. Depresyon.....	12
2.2.Antidepresan ilaç Agomelatin	13
2.3. Model Membranlar	15
2.4. Projede Kullanılan Biyofiziksel Teknikler	16
2.4.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi	16
2.4.2 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC).....	18
3. Gereç ve Yöntem.....	20
3.1. Kullanılan Kimyasallar.....	20
3.2. Agomelatin'in model membranlar ile etkileşiminin FTIR ile incelenmesi.....	20
3.2.2. FTIR model membran çalışmalarında kullanılan analiz yöntemleri	23
3.3 DSC Çekimleri	23
4. Bulgular ve Tartışma	24
4.1. Agomelatin' in DPPC model membranı üzerine etkileri	24
4.1.1. Agomelatin-DPPC etkileşimi DSC çalışmaları.....	24
4.1.2 Agomelatin- DPPC etkileşimi FTIR çalışmaları	25
4.2. Agomelatin' in SM model membranı üzerine etkileri.....	33
4.2.1. Agomelatin-Spingomiyelin etkileşimi DSC çalışmaları	33
4.2.2 Agomelatin- SM etkileşimi FTIR çalışmaları	35
5.Kemometrik Analizler	41
6. Sonuç	43
7.Kaynakça	45

Şekiller Listesi

Şekil 1. DPPC 'nin kimyasal yapısı.	20
Şekil 2. SM'nin kimyasal yapısı.	20
Şekil 3. (a) Örneğin tampon çözeltisi çıkarılmadan önceki; (b) Tampon çözeltisinin ve (c) örneğin tampon çözeltisi çıkarıldıktan sonraki 3200 – 1000 cm ⁻¹ dalga boyu aralığındaki FT-IR spektrumları.	21
Şekil 4. Atmosferik havanın 4000-400 cm ⁻¹ bölgesindeki FT-IR spektrumu.	22
Şekil 5. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen DPPC lipozomları DSC termogramı.	24
Şekil 6. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren DPPC lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin 20 °C' deki FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH ₂ asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiştir).....	26
Şekil 7. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH ₂ asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	27
Şekil 8. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH ₂ simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	28
Şekil 9. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH ₂ asimetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.....	29
Şekil 10. %: İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH ₂ simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.....	29
Şekil 11. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren DPPC lipozomlarının 1770-1000 cm ⁻¹ arası parmakizi spetrumu.20 oC' deki FTIR spektrumu. (Spektrumlar C=O gerilme moduna göre normalize edilmiştir.)	30
Şekil 12. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	31

Şekil 13. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının PO ₂ -antisimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	32
Şekil 14. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen SM lipozomları DSC termogramı.....	33
Şekil 15. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren SM lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin 20 °C’ deki FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH ₂ asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiştir).....	35
Şekil 16. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH ₂ asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	36
Şekil 17. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH ₂ simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	36
Şekil 18. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH ₂ antisimetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.....	37
Şekil 19. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH ₂ simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.....	38
Şekil 20. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren SM lipozomlarının 1770-1000 cm ⁻¹ arası 20 °C’ deki parmakizi FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH ₂ asimetrik gerilme moduna göre normalize edilmiştir.).....	39
Şekil 21. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının PO ₂ -antisimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.....	40
Şekil 22. %1 mol, %3 mol, %6 mol, % 12 mol, % 18 mol ve % 24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış DPPC lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi. (spektrumların ikilcil türevleri üzerine ward algoritması uygulanmıştır).....	41
Şekil 23. %1 mol, %3 mol, %6 mol, % 12 mol, % 18 mol ve % 24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış SM lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen	

sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi. (spektrumların ikilcil türevleri üzerine ward algoritması uygulanmıştır).....42

Tablolar Listesi

- Tablo 1.** Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen DPPC liposomlarının faz geçiş sıcaklığı(T_m) ve band genişliği (ΔT) değerleri.**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
- Tablo 2.** Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen SM liposomlarının faz geçiş sıcaklığı(T_m) ve band genişliği (ΔT) değerleri. 32

Özet

Depresyon son yıllarda halk arasında en sık gözlenen psikiyatrik hastalıklar arasında yer almaktadır. Depresyonun tedavisi temel olarak psikiyatrik ilaçlar ile yürütülmektedir. Geçtiğimiz son birkaç yıl içerisinde Valdoksan ticari adıyla piyasaya sürülen agomelatin'in bağımlılık yapıcı etkisinin olmaması, ilaç bırakma durumunda hastanın sorun yaşamaması ve ilacın yalnızca etki ettiği özel reseptörlere bağlanması gibi nedenlerle diğer psikiyatrik ilaçlara göre çok daha az yan etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Agomelatin'in membran yapısı üzerindeki etki mekanizması henüz tam olarak netlik kazanmamıştır, örneğin literatürde agomelatin'in biyolojik membran lipitleri ile etkileşimi üzerine herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmamızda, agomelatin'in dipalmitilfosfatidilkolin (DPPC) ve spingomiyelin (SM) model membranları ile etkileşimi kızıl ötesi Fourier transform (FTIR) spektroskopisi ve diferensiyel tarama kalorimetresi (DSC) teknikleri ile incelenmiştir. DSC ve FTIR spektroskopisi çalışmaları agomelatin'in DPPC çok tabakalı membranın faz geçiş sıcaklığını düşük değerlere, SM membranda ise yüksek değerlere kaydırıldığını göstermiştir. FTIR çalışmalarında CH₂ gerilme bandlarının frekans değerlerinin incelenmesi, agomelatin'in lipit esnekliğini azalttığı, diğer deyimle lipit düzenini artırdığını göstermiştir. Sıvı kristal fazda ise, ilacın konsantrasyonu 6% molün üstüne çıktıkça lipit düzenindeki artış azalmıştır. Bunun yanı sıra agomelatin ilavesi çok yüksek konsantrasyon haricindeki (24% mol) tüm dozlarda, her iki fazda da DPPC lipozomlarının bant genişliğini artırmaktadır ki bu da lipit dinamiğini artırdığını belirtmektedir. C=O gerilme bantlarının frekans değerlerinin incelenmesi, agomelatin'in yüksek dozlarda gliserol iskeletinde hidrojen bağı yapma kapasitesini artırdığını, düşük dozlarda ise azalttığını göstermektedir. Gözlemlendiğimiz PO₂⁻ antisimetrik bant frekansındaki azalma, agomelatinin fosfat grupları civarındaki hidrojen bağlanmasını artırdığını gösterir. SM model membranları için, jel fazda, ilacın konsantrasyonu arttıkça sistem daha düzenli hale gelmiştir. Öte yandan, sıvı kristal fazda, düşük konsantrasyonlardaki agomelatin (1 ve 3 mol %) sistemi daha düzensiz hale getirmiş olup, yüksek konsantrasyonlardaki agomelatin ise sistemi daha düzenli hale getirmiştir. Benzer şekilde, düşük konsantrasyonlardaki agomelatin (1 and 3 mol%), lipit dinamiğini azaltmakta, ancak yüksek konsantrasyonlarda uygulandığında lipit dinamiğini artırmaktadır. Agomelatin, SM kafa gruplarındaki hidrojen bağlanmasının kuvvetini, düşük dozlarda uygulandığı zaman azaltmakta olup, yüksek konsantrasyonlarda uygulandığı zaman ise artırmaktadır. Hem DSC ve FTIR çalışmaları her iki tip lipit membran için ilacın, C₂-C₈ bölgelerinden ziyade, lipitlerin daha derin, iç kısımlarında konumlandığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, DPPC, Spingomiyelin, FTIR, DSC

Abstract

Depression is one of the most commonly seen psychiatric diseases in the population in recent years. Treatment of depression is mainly carried out by psychiatric drugs. In the past few years, agomelatine which is released to the market with a trade name, Valdoxane, has been thought to have far less side effects due to its non-addictive nature, not having trouble when the drug is quitted, and also due to its property of binding only to the specific receptor that the drug interacts with. The action mechanism of agomelatine on the membrane structure has not been clarified yet, for instance, no studies has been found in the literature about the interaction of agomelatin with the lipids of biological membranes. In this current study, the interaction of agomelatine with the model membranes of dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) and sphingomyelin (SM) is examined by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and Differential scanning calorimetry (DSC). DSC and FTIR studies show that, agomelatine shifts the phase transition temperature of DPPC multilamellar membrane to the lower degrees, however, it shifts the phase transition temperature of SM membrane to the higher degrees. The analysis of the frequency values for the CH₂ stretching bands, in FTIR studies, indicates that, for DPPC membranes, agomelatine leads to a decrease in the flexibility of the lipids, it leads to an increase in the lipid order of the system. However in liquid crystalline phase ordering effect decreases as concentration increases above 6 mol %. Besides, administration of agomelatine decreases the bandwidth values of the DPPC liposomes, indicating a decrease in the lipid dynamics in both phases except at a very high concentration of agomelatin (24 mol %) . The analysis of the frequency values of C=O stretching bands, shows that, agomelatine, at higher concentrations, enhances the hydrogen bonding capacity in the glycerol backbone, however it reduces the hydrogen bonding capacity at lower concentrations. The decrement observed in the band frequency value of the PO²⁻ antisymmetric stretching band, indicates that, agomelatine enhances the hydrogen bonding around the phosphate groups. For SM model membranes, increasing concentrations of drug makes the system more ordered in the gel phase. On the other hand, in the liquid crystalline phase, agomelatin at low concentrations (1 and 3 %) disorders the system, while at higher concentrations (6-24 mol %) orders the sytem. Similarly, agomelatine decreases lipid dynamics of SM at low concentrations (1 and 3 mol%), while it increases the dynamics at higher concentrations. Addition of agomelatine, decreases the strength of hydrogen bonding in the SM head groups, at low concentrations, while at higher concentrations, it increases the strength of hydrogen bonding. Both DSC and FTIR studies indicate that, the drug is placed in the deep interiors of the lipid membranes, rather than in the C₂-C₈ region of the lipids, in both types of lipid membranes.

Keywords: Agomelatine, DPPC, Sphingomyelin, FTIR, DSC

1.Giriş

1.1. Çalışmanın Amacı

Psikiyatrik bozukluklar değişen yaşam koşulları ve artan stres faktörü nedeniyle günümüzde görülen en yaygın hastalıklar arasındadır. Yeme ve uyku bozuklukları, madde bağımlılığı, hareket bozuklukları, şizofreni, bipolar bozukluk, anksiyete bozuklukları, dikkat ve konsantrasyon sağlama güçlükleri ve depresyon gibi bozukluklar psikiyatrik hastalıkların en bilinen örnekleri arasında yer almaktadır. Başlı başına bir psikiyatrik rahatsızlık olan uyku bozukluklarının çeşitli psikiyatrik rahatsızlıklarda %75 oranında görüldüğü dikkat çekmektedir. Bu hastalıklar arasından depresyon ile birlikte ortaya çıkan uyku bozuklukları özel ve önemli bir yer tutmaktadır. Depresyon rahatsızlığı çeken kişilerin uyku düzenlerinde meydana gelen değişiklikler, hastalığın teşhisi safhasında önemli bir biyolojik gösterge olarak kabul edilmektedir.

Psikiyatrik hastalıkların, özellikle depresyonun, tedavisi için kullanılan en etkili yöntemlerden biri psikiyatrik ilaç tedavisidir. Yürütülen çalışmalarla her gün, çeşitli sınıf ve özelliklerde var olan ilaçlara, etkinliği daha fazla ve bununla birlikte yan etkileri daha az olan birçok yeni ilaç eklenmektedir. Avrupa'da son yıllarda piyasaya Valdoxan ticari adı ile sürülen agomelatin de bu bağlamda ortaya çıkan, uyku bozuklukları ile birlikte depresyon tedavisinde de kullanım alanı bulan çok yeni bir psikiyatrik ilaçtır. Aktif ajan agomelatin (N(2-(7-methoxy-1-naphthyl)ethyl) acetamide), (PAPP v.d., 2003; LÔO v.d., 2002), salınım seviyelerindeki değişikliklere bağlı olarak depresyonun oluşumunda önemli rol oynayan nörotransmitterlerden Melatonin'e ait reseptörün MT1 ve MT2 konumlarında agonisti ve Serotonin'e ait 5-HT_{2C} alt grubu reseptörün antagonisti olarak aktivite göstermektedir. MT1 ve MT2 Melatonin reseptörleri ile 5-HT_{2C} Serotonin reseptörleri sirkadyan ritmin düzenlenmesinde görevlidirler. Diğer antidepresan ilaçların etken maddelerinden farklı olarak, agomelatin, Melatonin reseptörlerinde agonist olması ile antidepresan aktivitesini gösterirken, aynı zamanda 5-HT_{2C} tip Serotonin reseptörlerinde antagonist olması sebebiyle de sirkadyan ritmin düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle agomelatin, diğer antidepresanlardan farklı olarak depresyonun oluşumu ile ortaya çıkan belirtilerin giderilmesi ile birlikte aynı zamanda uykunun hızlı göz hareketi safhasını (REM) etkilemeden, uyku düzeninin yeniden sağlanmasında da önemli bir yere sahiptir. Belirtilen etki mekanizması ile bu alanda kullanılan diğer ilaçlara göre tamamen yeni bir etki mekanizmasına sahip olan bu ilaç, ilerleyen yıllarda depresyonun tedavisi için

büyük umut vaat etmektedir. Çok yeni bir ilaç olması nedeniyle literatürde bu ilacın biyolojik sistemlerle etkileşmesi hakkında önemli bir veri açığı bulunmaktadır.

Bu çalışmamızda değişik konsantrasyonlarda Agomelatin'in, beyin hücre membranında yüksek miktarda bulunan nötr Dipalmitoylfosfotidilkolin (DPPC) ve spingomiyelin (SM) (N-Acyl-4-sphingenyl-1-O-phosphorylcholine) mebranlar ile etkileşimleri spektroskopik (FTIR) ve kalorimetrik (DSC) teknikler kullanılarak farklı membran fazlarında araştırılmıştır. İlaçların etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi için, ilaçların membran ile etkileşimlerini incelemek büyük önem taşımaktadır. Fakat biyolojik membranlar genellikle birden fazla çeşit lipit ve proteinlerden oluştuğu için karmaşık bir yapıya sahiptirler, bu nedenle ilaçların membranla etkileşmelerini yorumlayabilmek zordur. Bu sebepten ötürü çalışmalara bileşenleri değiştirebilen model membranlarla başlamak genel bir yaklaşımdır. Biz de bu projemizde Agomelatin-membran etkileşmelerini biyolojik membranların, özellikle beyin hücre membranının, içeriğinde önemli bir yeri bulunan DPPC ve SM model membranlar kullanarak inceledik.

Bu kapsamda Valdoxan isimli psikiyatrik ilacın aktif ajanı olan agomelatin'in,

- membran lipit faz geçiş eğrisi ve faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş) üzerine etkisi ve olası alt bölgelerin varlığı (yanlamasına faz ayrılması gibi) DSC tekniği ile direk olarak gözlemlendi,
- yapısal bir parametre olan lipit açıl zincir esnekliği (lipitlerin düzeni) üzerine etkisi FTIR spektroskopisi ile incelendi,
- yapısal bilgi veren lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskeletinde hidrojen bağlanmasının şiddeti üzerindeki etkisi FTIR spektroskopisi ile incelendi,
- lipit dinamiği gibi fonksiyonel parametrelerde meydana getirdiği değişimler FTIR spektroskopisi ile incelendi,
- ve bu bilgiler sayesinde agomelatinin membrandaki konumu hakkında bilgi edinildi.

Bu çalışmalara ek olarak, FTIR spektrumlarındaki değişimleri baz alan kümeleme (cluster) analizi ile gruplar ayrıştırıldı.

2. Genel Bilgiler

2.1. Depresyon

Psikiyatrik bozukluklar olarak sınıflandırdığımız yeme ve uyku bozuklukları, hareket bozuklukları, şizofreni, bipolar bozukluk (manik depresyon), anksiyete bozuklukları, dikkat ve konsantrasyon sağlama güçlükleri ve depresyon gibi rahatsızlıklar değişen yaşam koşulları ve artan stres faktörü nedeniyle günümüzde en yaygın görülen akıl ve ruh sağlığı hastalıkları arasında yer almaktadır. Bu hastalıklar içinde karmaşık bir psikiyatrik bozukluk olarak tanımlanan depresyon, günümüzde insan nüfusunun %15'i gibi büyük bir oranını etkilemektedir (LANNI v.d., 2009). Aynı zamanda depresyon dünya çapında, en çok morbidite ve mortalite oranına sahip olan 10 hastalıktan biri olarak gösterilmektedir (ROSENZWEIG-LIPSON v.d., 2007).

Depresyon, ortaya çıkardığı fizyolojik, nörohormonal, davranışsal ve psikolojik belirtilerin bütünü nedeni ile heterojen bir sendrom olarak ifade edilmektedir (FUCHS v.d., 2006; NESTLER v.d., 2002). Kişinin yeme alışkanlıklarının değişmesi, uyku bozukluklarının ortaya çıkması, bunun sonucunda oluşan aşırı yorgunluk durumu, sürekli devam eden üzümlük, bıkkınlık, umutsuzluk halleri ile değersizlik, amaçsızlık, suçluluk hissi, ve bunlarla birlikte dikkatte ve konsantrasyon sağlamada (WEILAND-FIELDER v.d., 2004; PORTER v.d., 2003), hafızada (AIRAKSINEN v.d., 2004; MACQUEEN v.d., 2002; AUSTİN v.d., 2001), ve karar vermekte büyük güçlük (CHAMBERLAIN ve SAHAKIAN, 2004), bu hastalığın belirtileri arasında yer almaktadır (HAN v.d., 2009).

Bu belirtilerin içinde, özellikle uyku bozuklukları ile depresyon gibi psikiyatrik hastalıkların ilişkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, farelerde kronik uyku azalması sonucu depresyon benzeri nörobiyolojik ve nöroendokrin değişiklikler görülmektedir (NOVATI v.d., 2008; ROMAN v.d., 2005). Buna bağlı olarak da uyku bozuklukları ve depresyon gibi minor ruhsal hastalıklar arasında güçlü bir bağ olduğu saptanmıştır (MAYERS ve BALDWIN, 2006; ROTENBERG v.d., 2000). Depresyonda olan kişilerin uyku örüntüsündeki değişiklikler, hastalığın tanısında önemli bir biyolojik gösterge olarak kabul edilmektedir. Bu örüntüdeki tipik özellikler, kısa sürede REM dönemine girme, geceleri sık uyanma, sabahları erkenden uyanma olarak özetlenebilir.

2.2. Antidepresan ilaç Agomelatin

Psikiyatrik ilaçların duyusal bilgiyi, olumsuz uyarıların azami ölçüde değerlendirilmesini sağlayarak olumlu uyarıları baz alan işleyiş sistemini tetiklemeleri sebebiyle, depresyonun etkilerinin azalmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (HARMER, 2008). Bu tedavi yöntemi ile depresyonun yol açtığı belirtiler gün geçtikçe azaltılabilmekte, böylece kişinin duygusal durumu, iştah kontrolü, dikkat ve konsantrasyon sağlama, ya da hafıza gibi alanlarda meydana gelen bozuklukları büyük ölçüde giderilebilmektedir.

Beyin hücrelerinden salgılanan Serotonin, Dopamin, Norepinefrin, GABA, Glutamat ve Melatonin gibi nörotransmitterlerdeki değişimler, psikiyatrik ilaçların etki mekanizmalarının çözümlenmesinde önemli belirteçlerdir (LEONARD, 2000). Önerilen etki mekanizmalarında ise, psikiyatrik ilaçların depresyonun oluşmasında etkili olan çeşitli beyin fonksiyonlarını ve çevresel uyarılara karşı oluşturulan cevapları kontrol eden nörotransmitterlerin (sinyal ileticilerin) miktarlarında meydana gelen anomalilerin (BRUNELLO v.d., 2002; OWENS v.d., 1994; KLERMAN v.d., 1965; SCHILDKRAUT, 1965) giderilmesini sağlayarak depresyonun etkilerinin ortadan kalkmasına yardımcı olduğu sonucuna varılmıştır (LEONARD, 2000).

Psikiyatrik ilaçlar sınıfında yer alan ve depresyon tedavisinde etkin bir biçimde kullanılmakta olan antidepresanlar farmakolojik etkilerine göre nörotransmitter katabolizması inhibitörleri (monoamin oksidaz inhibitörleri- MAO), geri alım inhibitörleri (serotonin ve norepinefrin geri alım inhibitörleri- SRI, NRI), reseptör agonistleri (5-HT1A), reseptör antagonistleri (α 2-AR, 5-HT2) ile sinyal iletimindeki diğer stimülatör veya inhibitörleri olmak üzere çeşitli sınıflara ayrılır. Farklı grupların sahip olduğu farklı etki mekanizmaları sebebiyle her bir grup ilacın depresyon hastalarında farklı kognitif fonksiyonların değişmesini ve düzeltilmesini sağladığı düşünülmektedir. Günümüze kadar çok sayıda antidepresanın etki mekanizmaları ve yol açtığı düzelmeler ile farmakolojik profilleri, etkinlikleri, yan etkileri ve diğer birtakım ilaçlarla etkileşimlerini gözlemlemeye ilişkin yapılmış olan birçok çalışma literatürde yer almaktadır (LANNI v.d., 2009; DEUPREE v.d., 2007).

Psikiyatrik ilaçların yaygın kullanımı nedeniyle yürütülen araştırmalar sonucunda her geçen gün yeni etken maddeler ortaya çıkarılmakta, böylece var olan psikiyatrik ilaçların

yerine etkinliği daha fazla ve yan etkileri daha az olan yeni ilaçlar geliştirilerek piyasaya sürülmektedir (CALLADO v.d., 2009; OWEN, 2009). Bu kapsamda, çok yakın bir zamanda geliştirilen ve piyasaya Valdoxan adıyla sürülen ilacın etken maddesi olan agomelatin, bilinen diğer psikiyatrik ilaçlardan farklı ve yeni bir etki mekanizmasına sahip olması açısından diğer ilaçlar karşısında bazı avantajlara sahiptir. Bu avantajlardan en önemlisi uyku bozukluğu ile birlikte seyreden depresyon tedavisinde yakın gelecekte büyük umut vaat etmesidir (ESER v.d., 2008).

Agomelatin'in, kronik hafif stres modeli gibi davranış testleri uygulanan sıçan modellerinde antidepresan aktivitesi gösterdiği bulunmuştur (POPOLI, 2009). Agomelatin, diğer antidepresanların izlediği, monoaminlerin geri alımı ya da metabolize edilmesi (AGID v.d., 2007) gibi klasik etki mekanizmalarından farklı bir etki mekanizmasına sahiptir. Agomelatin'in antidepresan aktivitesi, salınım seviyelerindeki değişim ile depresyonun oluşmasında önemli rol oynayan nörotransmitterlerden Melatonin'e ait reseptörün MT1 ve MT2 konumlarında agonisti (RODRIGUEZ v.d., 2007; MILLAN v.d., 2003; VAN REETH v.d., 2001; CONWAY v.d., 2000; YING v.d., 1996; YOUS v.d., 1992) ve Serotonin'e ait 5-HT2C alt grubu reseptöründe ise antagonist olmasını temel almaktadır (ARENDE ve RAJARATNAM, 2008; CHAGRAOUI v.d., 2003; MILLAN v.d., 2003, CUSSAC v.d., 2002).

Melatonin gece saatlerinde, bir diğer deyişle karanlık evrede salgılanan ve aydınlıkta salgılanması engellenen, sirkadyan ritm adı da verilen biyoritmin düzenlenmesinde görevli olan bir nrohormondur (TUMA v.d., 2001). MT1 ve MT2 Melatonin reseptörleri ile 5-HT2C Serotonin reseptörleri sirkadyan ritmin düzenlenmesinde görevlidirler. Bu nedenle belirtilen reseptörlerin ekspresyonları biyoritmin kontrol edildiği bölgelerde artış göstermektedir (MASANA v.d., 2000, SERFATY v.d. 2010). Diğer antidepresanlardan farklı olarak, agomelatin, Melatonin reseptörlerinde agonist olarak antidepresan aktivitesini gösterirken, 5-HT2C tip Serotonin reseptörlerinde antagonist olması özelliğiyle sirkadyan ritmin düzenlenmesine de katkıda bulunmaktadır (SAN ve ARRANZ, 2008). Agomelatin'in antidepresan aktivitesi farklı hayvan modellerinde araştırılmış ve depresyona karşı etkili bir ilaç olabileceği önerilmiştir (STRAT ve GORWOOD, 2008). Bu bilgiler ışığında agomelatin diğer antidepresanlardan farklı olarak yalnızca kaygı depresyona karşı geliştirilmiş bir ilaç değildir. Aynı zamanda uykunun hızlı göz hareketi safhasını (REM) etkilemeden uyku düzeninin yeniden sağlanması da önemli bir yere sahiptir (OWEN, 2009).

Agomelatin'in, diğer psikiyatrik ilaçlara göre çok az oranda yan etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Venlafaksin ile kıyaslandığında agomelatin kullanımının seksüel fonksiyonları daha az etkilendiği, Paroksetin ile kıyaslandığında ise ilacın ani kesilmelerine karşı yeniden ortaya çıkabilecek depresyon belirtilerinin minimum düzeyde olduğu saptanmıştır (OWEN, 2009; KENNEDY v.d., 2010). Diğer psikiyatrik ilaçlarla kıyaslandığında, yukarıda bahsedildiği üzere yan etkilerinin asgari düzeyde olması ile birlikte bağımlılık yapıcı etkilerinin bulunmaması, ilaç bırakma konusunda hastanın sıkıntı çekmemesi ve etkileşim içinde bulunduğu reseptörlerin dışında başka reseptörlere bağlanmaması, agomelatin'in yakın gelecekte güvenli ve etkili biçimde depresyon tedavisinde kullanılabilmesi için büyük önem arz etmektedir (GOODWIN v.d., 2007; KASPER v.d., 2010). Fakat tüm bu olumlu özelliklerinin yanında, ilacın özellikle uzun süreli tedaviler sonrası meydana getirebileceği birtakım farklı yan etkilerin de araştırılması gerekmektedir.(BODINAT v.d. ,2010; JOCKERS v.d., 2008; LEMOINE v.d., 2007). Örneğin yapılan küçük çaplı çalışmalarda ilacın bazı karaciğer enzimlerinin aktivitesini arttırdığı gözlemlenmiş, böylece karaciğer fonksiyonlarında çeşitli olumsuz etkilerinin olabileceğinin sinyallerine ulaşılmıştır (VUKOVIC v.d., 2009).

2.3. Model Membranlar

Biyolojik membranlar kompozisyon olarak içerdikleri farklı çeşit ve oranlarda lipit ve proteinler nedeniyle çok karmaşık bir yapıya sahiptirler. Bu karmaşık yapı ilaç-membran etkileşimlerinin incelenmesinde sonuçları yorumlama güçlükleri yaratabilmektedir. Bu sistemlerdeki etkileşimleri anlamaya yardımcı olması açısından, çalışmalara kontrollü olarak bileşenleri değiştirilebilen daha basit yapıdaki model membranlarla başlamak genel bir yaklaşımdır (SEVERCAN v.d., 2005; KORKMAZ ve SEVERCAN, 2005; KARP, 1999). SM beyin hücre membranında yüksek miktarda bulunan bir lipit çeşididir.(O'BRIEN ve SAMPSON, 1965; O'BRIEN ve ROUSER, 1964.) Bu çalışmada ilacın beyindeki etkisini daha iyi anlayabilmek için ilacın DPPC model membran ve SM model membran ile etkileşimi incelenmiştir

Bu çalışma için tasarlanan model membranlar, bir diğer adıyla lipozomlar fosfolipit moleküllerinin tampon çözeltiler içerisinde biraraya gelip küresel bir şekil oluşturarak meydana getirdikleri yapay membranlardır. Model membran oluşumunda kullanılan fosfolipitler farklı açıl zincir uzunluğuna sahip nötr ya da yüklü (+ / -) lipitler olabilmektedir. Model membran oluşumlarında kullanılan lipitlerin tür ve özelliklerine ve

amaca bağılı olarak iki veya çok katmanlı lipit tabakası formunda olup hücre membranı ile ortak özellikler göstermektedir. Bu nedenledir ki membran çalışmalarında kullanımları çok yaygındır (KARP, 1999; CANTOR ve SCHIMMEL, 1980). Lipit bileşenleri ve ilaç konsantrasyonları istenilen şekilde değiştirilebilen model membranlar sayesinde ilaçların membran lipitleri ile etkileşimleri detaylı bir biçimde incelenebilmekte, böylece lipitlerde ilaçlardan kaynaklı olarak meydana gelebilen yapısal ve fonksiyonel değişimler hakkında bilgi edinilebilmektedir (MCAULEY v.d., 2009). Bu projede hücre membranının ana bileşenlerinden olan 16 karbon uzunluklu doymuş çift açıl zincirli DPPC çok katmanlı lipozomları ve beyin hücre membranlarında yüksek miktarda bulunan faz geçiş sıcaklığı DPPC'ye göre fizyolojik sıcaklıklara daha yakın ve tek bir çift bağ içeren 18 karbon uzunluklu SM lipozomları kullanılmıştır (DENNIS v.d., 2002). MLV'ler büyük yarı çaplı olmaları nedeniyle ilaç-membran etkileşimleri çalışmalarında biyolojik membranları daha iyi temsil edebilen ve çok yaygın kullanılan modellerdir (SEVERCAN v.d., 2005; KORKMAZ ve SEVERCAN, 2005). Bu model sistemlerden elde edilen bilgiler, ileride çeşitli lipit ve proteinlerden oluşan karmaşık yapıdaki biyolojik membranlarda ilaçtan kaynaklanan değişimleri yorumlamakta kullanılmıştır.

İlaç-membran etkileşimi araştırmalarında faz geçiş eğrisi, faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş), açıl zincir esnekliği (düzen), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskelet üzerindeki hidrojen bağlanmasının şiddeti ve lipit dinamiği gibi parametreler ayrıntılı olarak analiz edilmektedir.

Bu projede incelenmiş olan membran bileşenlerin yapısındaki değişimler örneğin lipit düzen ve dinamiğindeki farklılaşmalar günümüzde iyon kanal akımları fonksiyonlarındaki değişimler ile ilişkilendirilmektedir (GARIP v.d., 2010; OZEK v.d., 2010; AWAYDA v.d., 2004; Lee, 2003). Bu değişimler ile çeşitli hastalıklar arasında yakın ilişki olduğu düşünüldüğünden, bahsedilen parametrelerde meydana gelen değişimlerin saptanması bu hastalıkların tedavi edilmesi açısından da büyük önem taşımaktadır (ADIBHATLA ve HATCHER, 2007).

2.4. Projede Kullanılan Biyofiziksel Teknikler

2.4.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi kızılötesi dalga boyunda elektromanyetik ışınla uygulamasıyla moleküllerin titreşimlerini ölçerek değişik titreşim gruplarını görüntüleyen ve böylece moleküllerin mikroçevresi hakkında önemli bilgiler veren bir tekniktir.

FTIR spektroskopisinden elde edilen bir spektrum, bir bileşiğin yapısındaki bağ türleri, fonksiyonel gruplar ve dolayısı ile sistemde mevcut moleküllerin belirlenmesi; bunların konsantrasyonu, bu moleküllerin yapı ve fonksiyonu hakkında önemli bilgiler verir. Bir bileşiğin titreşim spektrumu o bileşiğe özgüdür ve optik izomerler dışında hiçbir bileşiğin titreşim spektrumu bir başkası ile aynı değildir.

Her bir fonksiyonel grubun teşhisi o grup için belirgin olan titreşim frekansları ile sağlanır. Bir çok fonksiyonel gruplara ait titreşim frekansları, literatürde daha önce yer alan tablolardan veya atlaslardan faydalanılarak tanımlanmaya çalışılır.

Genel olarak FTIR spektrumlarında kullanılan değişkenler bant şiddeti / bantın altında kalan alan, bant konumu (frekans değeri) ve bant genişliğidir. Bant şiddeti ve alanı maddenin konsantrasyonu hakkında bilgi verirken, bant konumu ilgili bantın tanımlanmasını, bant konumundaki değişimler incelenen banta göre örneğin, lipit düzen/düzensizliği veya kafa grubu veya kafa grubuna yakın bölgelerin hidrojen bağlanmasının şiddeti hakkında, bant genişliği ise lipit dinamiği hakkında bilgi verir (CAMERON ve CHARETTE, 1981; CAKMAK v.d., 2003; TOYRAN ve SEVERCAN, 2003). Özellikle biyolojik çalışmalarda, biyolojik sistemleri, zarar vermeden moleküler düzeyde inceleyebilmesi nedeniyle FTIR spektroskopisi tekniği daha da önem kazanmaktadır (BOYAR ve SEVERCAN, 1997; MELIN v.d., 2000; SEVERCAN v.d., 2000; MELIN v.d., 2001; CAKMAK v.d., 2006; GORGULU v.d., 2007; GARIP v.d., 2007). Kızılötesi spektroskopisinin bu derece yaygın bir şekilde kullanılmasının altında yatan nedenler çeşitlidir:

- (i) örnek hazırlaması işlemlerinin daha kolay olması;
- (ii) örneklerin gaz, sıvı ve katı hallerinde hazırlanabiliyor olması;
- (iii) nitel yorumların yapılabiliniyor olması,
- (iv) verilerin hızlı bir şekilde elde edilebilmesi,
- (v) elde edilen sonuçların kullanıcıdan bağımsız olması,

FTIR spektroskopisi ayrıca biyolojik çalışmalar açısından lipitlerin diğer biyomoleküllerle etkileşimleri, proteinlerin ikincil yapılarının belirlenmesi, kanser, diyabet gibi patolojik durumların doku ve membran düzeyinde tanım ve teşhisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (MANTSCH , 1984; BOYAR ve SEVERCAN, 1997; FUKUYAMA v.d., 1999;; LIU v.d., 1996; RAMESH v.d., 2002; TOYRAN v.d., 2004;). FTIR spektroskopisi moleküler düzeyde patolojik doku ve hücrelerin tanımlanmasında çok etkili olduğundan, bu çalışmada epilepsinin hücre ve dokuda meydana getirdiği etkilerin incelenmesinde kullanılmıştır.

2.4.2 Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC)

Diferansiyel tarama kalorimetresi (DSC) biyomoleküllerin termal ve buna bağlı termodinamik özellikleri hakkında hassas bilgiler veren bir tekniktir (CASTELLI v.d., 2001, INOUE v.d., 2001, KAZANCI v.d., 2001; KORKMAZ ve SEVERCAN 2005;). Bu metodda referans ve örnek aynı anda değişen sıcaklıklara tabi tutulur. Değişen sıcaklıkla birlikte örnekte faz geçişi gerçekleştiğinde örnek tarafından absorbe edilen termal enerji referansa eklenir. Böylelikle, bu referansa eklenen enerji spesifik bir faz geçişinde örnek tarafından absorbe edilen enerjiye eşittir. Referansa verilen enerji dengeleme enerjisi olarak tanımlanabilir ki bu enerjinin kayıt altına alınması bize örneğin faz geçiş enerjisinin ölçümünü verir (CASTELLI v.d., 2003; BRADRICK v.d., 1989).

DSC ilaç-membran etkileşmesi çalışmalarında , ilaçların membran faz geçiş özellikleri üzerine etkilerini araştırmak üzere kullanılmıştır (SEVERCAN v.d., 2005b; KORKMAZ ve SEVERCAN, 2005; ZHAO v.d., 2007). Membran lipitlerin faz geçiş özelliklerini araştırmak biyolojik membranların yapı ve fonksiyonunu anlamak açısından çok önemlidir. Normal vücut sıcaklığı olan 37 °C'de membranın iki tabakalı lipit yapısı sıvı kristal faz şeklinde isimlendirilir. Bu fazda fosfolipit moleküllerinin zincirleri birbirine paralel şekilde uzanır ama her bir molekülün açıl zincir esnekliği fazladır (gauche yapısı) Eğer sıcaklık düşerse lipitler normal sıvı kristal fazdan jel faza geçerler ki bu fazda fosfolipit zincir esnekliği çok kısıtlıdır (trans yapısı). İşte bu lipitlerin jel fazdan sıvı kristal faza geçmeleri onların faz geçişi olarak isimlendirilir (KARP, 1999). Membran çalışmalarında DSC ile membran lipitlerinin faz geçiş özellikleri yani faz geçiş sıcaklığı (T_m, °C), kooperativiti , faz geçiş entalpisi (ΔH, kkal/mol) ve entropisi analiz edilir (MAVROMOUSTAKOS v.d., 1997). Faz geçiş sıcaklığı ana geçiş sıcaklığın orta noktası olarak, faz geçiş entalpisi ise

molekül içi ve moleküller arası Van der Waals bağları ile trans-gauche izomerlerinin bozulması ile oluşan faz geçişi sırasındaki enerji olarak tanımlanmaktadır (KOYAMA v.d., 1999). Kooperativite ise faz geçişine katılan lipid moleküllerinin yaklaşık miktarı ile ilgili olup lipid düzenliliği hakkında bilgi veren bir parametredir. Yüksek kooperativite değerleri faz geçişine daha fazla lipid molekülünün katıldığı anlamına gelmektedir (CECKLER ve CUNNINGHAM, 1997). Kooperativite ve entalpi değerleri aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanır:

$$\text{Kooperativite birimi} = \Delta H_{\text{ovH}} / \Delta H_{\text{0}} \text{ kal}$$

$\Delta H_{\text{0}} \text{ kal}$: ana geçiş sıcaklığının altındaki alan

ΔH_{ovH} : van't Hoff entalpi

$$\Delta H_{\text{ovH}} = 6.9 T_m^2 / [(T_2 - T_1) / 2]$$

T_m : faz geçiş orta noktası (oK)

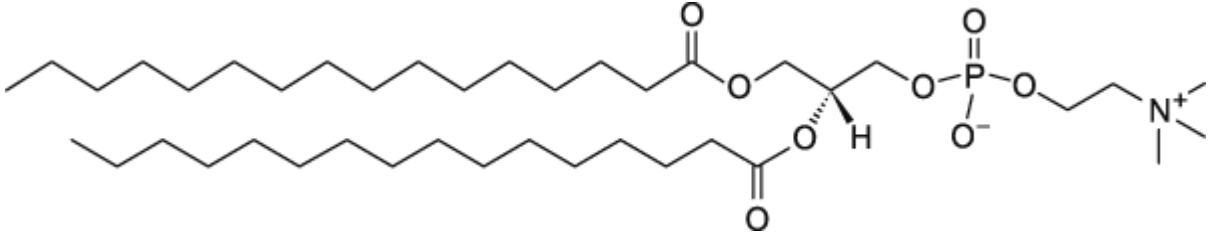
T_1 ; başlama sıcaklığı (oK)

T_2 : bitiş sıcaklığı (oK)

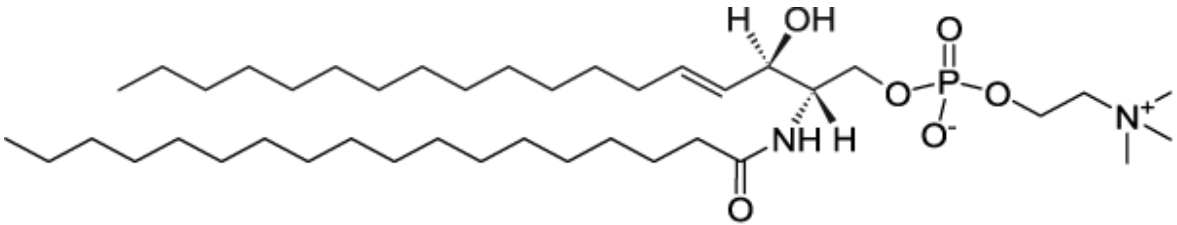
3. Gereç ve Yöntem

3.1. Kullanılan Kimyasallar

Agomelatin, DPPC ve SM sigmadan temin edilmiştir.



Şekil 1. DPPC 'nin kimyasal yapısı.



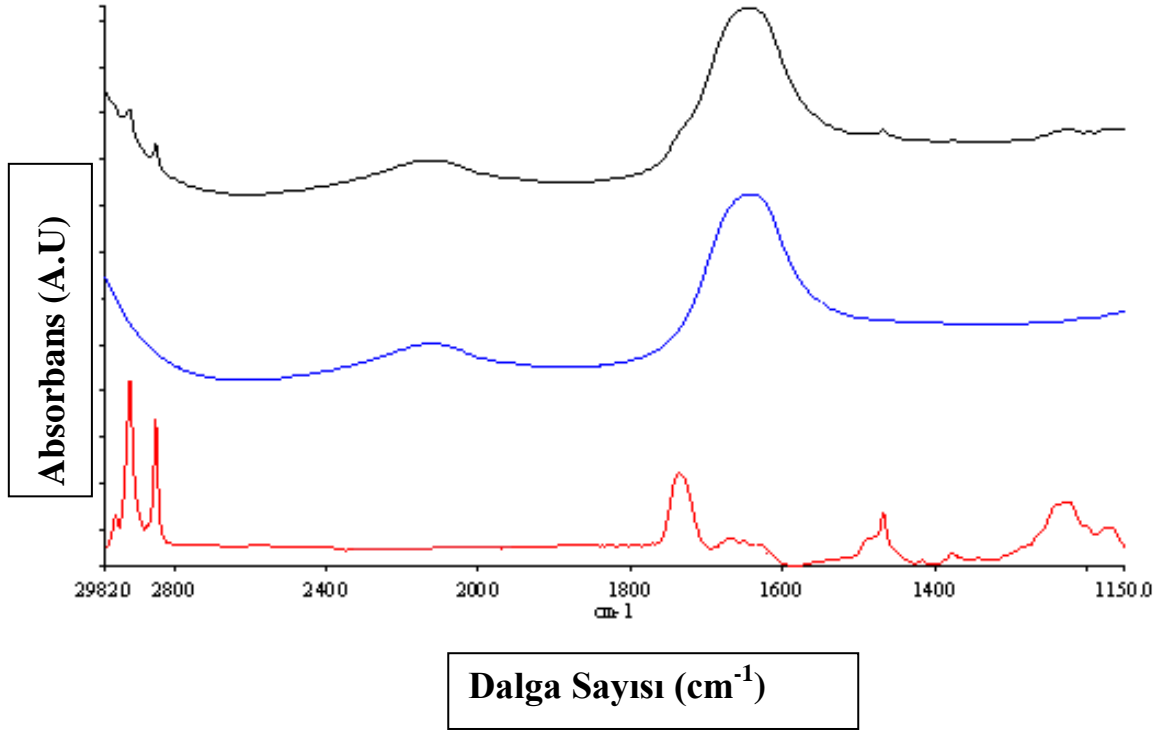
Şekil 2. SM'nin kimyasal yapısı.

3.2. Agomelatin'in model membranlar ile etkileşiminin FTIR ile incelenmesi

2,5 mg. agomelatin, 1000 µl etanol içinde çözülerek stok solusyon hazırlandı. Stok solusyonlardan %1 mol, %3 mol, %6 mol, %12 mol, %18 mol ve %24 mol agomelatin içeren model membranları hazırlamak için gerekli miktarlar alınıp etil alkol azot gazı ile uçuruldu. Örneklere sırasıyla önce 5mg lipid sonra 150 µl kloroform eklendi.Çözünen örneklerdeki kloroform azot gazı ile uzaklaştırıldı. Organik çözücülerini tamamen ortamdaki uzaklaştırma amacıyla örneklere 2 saat süreli, döndürerek kurutma işlemi uygulandı. Daha sonra örnekler üzerine fosfat tampon (pH=7.4) çözeltisi eklendi. DPPC model membran faz geçiş sıcaklığı 41 °C civarında olduğu için yaklaşık 60-62 °C sıcaklığındaki su banyosunda 20 dk. boyunca ısıtıp vorteks ile karıştırmak suretiyle çok katlı liposomlar oluşturuldu. Böylelikle FTIR çalışmasında sıvı ortamda incelemek üzere örnekler hazır hale getirildi. FTIR çekimleri ısıya dayanıklı CaF₂ (kalsiyum florür) camlarla ve 12 µm

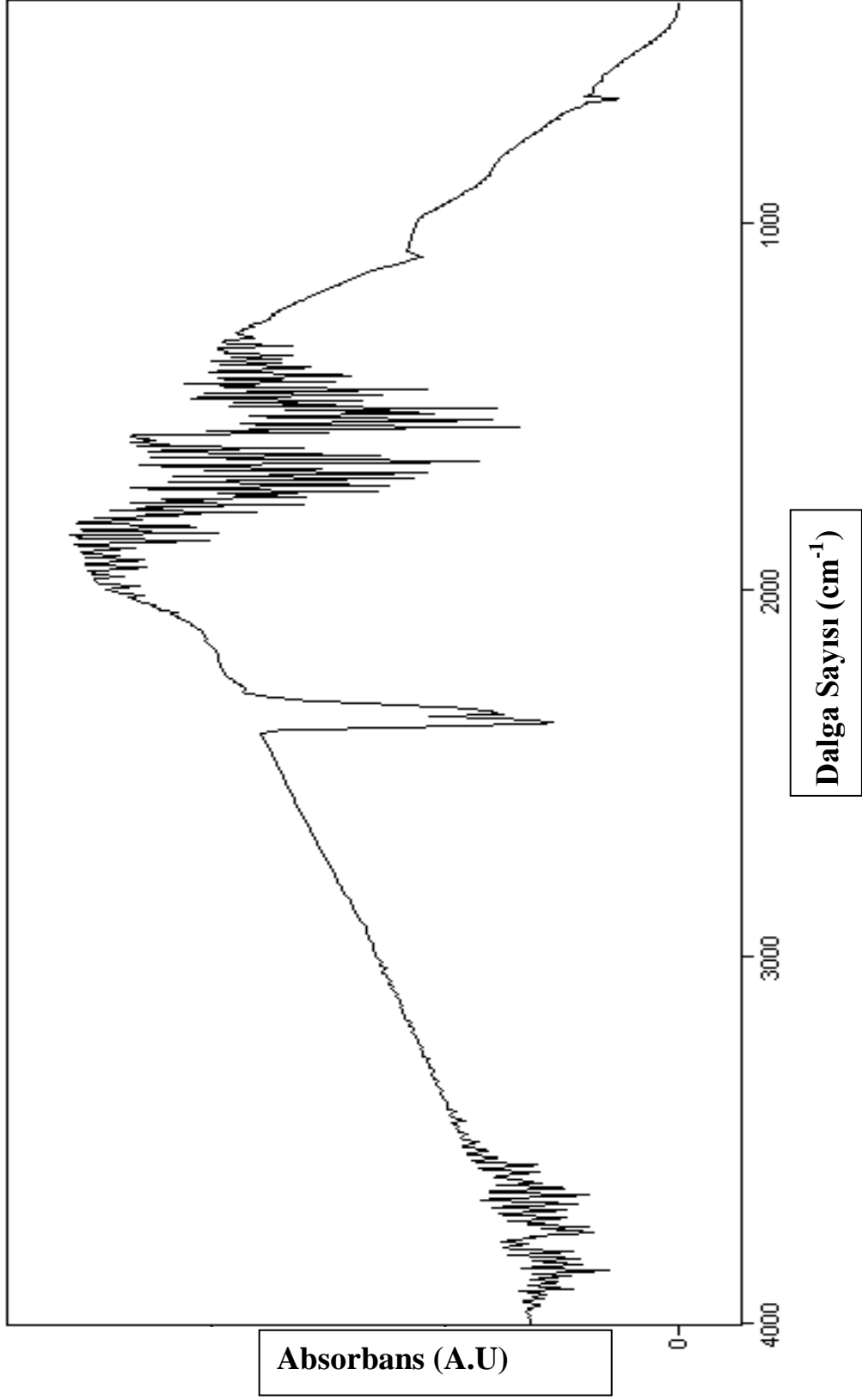
aralık yerleştirilerek 4000 – 1000 cm^{-1} frekans aralığında gerçekleştirildi. Bu çalışma her derecede 5 dakika inkübe etmek koşuluyla 20-60 °C aralığında 2°C aralıklarla yapıldı.

FTIR çalışmaları; örneklerin tampon çözeltisinde çözülmesi ile sıvı ortamda gerçekleştirilmiştir. Örneklerin yanı sıra, tampon çözeltisinde aynı koşullar altında FTIR spektrumu çekilmiştir. Tampon çözeltisi içinde bulundurduğu örneğin soğurma bandlarını gizlemekte ve analizlerinin yapılmasını engellemektedir. Bundan dolayı, aynı sıcaklıktaki tampon çözeltisinin spektrumu her bir örneğin spektrumundan çıkartılmaktadır. Şekil 3, örneğin tampon çözeltisi içindeki spektrumunu (a), tampon çözeltisinin spektrumunu (b) ve örneğin tampon çözeltisinden çıkarıldıktan sonraki spektrumunu (c) göstermektedir.



Şekil 3. (a) Örneğin tampon çözeltisi çıkarılmadan önceki; (b) Tampon çözeltisinin ve (c) örneğin tampon çözeltisi çıkarıldıktan sonraki 3200 – 1000 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki FT-IR spektrumları.

Atmosferdeki CO_2 ve H_2O 'dan kaynaklanan soğurma bantları, araştırılan doku örneğinin soğurma bantlarını kamufle edebilir. Dolayısıyla, bu atmosferik su buharının etkisini azaltmak amacıyla FT-IR spektrometresinden sürekli kuru hava geçirilmektedir. Buna ek olarak, örnek çekimi öncesinde havanın çekimi yapılmakta ve elde edilen spektrum bilgisayar programı aracılığıyla örnek spektrumundan matematiksel olarak çıkarılmaktadır. Şekil 4'de sözü edilen hava spektrumu gösterilmiştir.



Şekil 1. Atmosferik havanın 4000-400 cm⁻¹ bölgesindeki FT-IR spektrumu.

3.2.2. FTIR model membran çalışmalarında kullanılan analiz yöntemleri

Model membranlara ait FTIR spektrumlarından bir çok bilgi elde edilebilir. Membran hakkında yapısal bilgi veren parametreler order (düzen), ve disorder (düzensizlik), parametreleridir. Bu parametreler FTIR analizinde CH₂ gerilme modu frekans (veya dalgasayısı) değerindeki değişim ile izlenir (CASAL ve MANTSCH, 1984, CASAL v.d., 1980). Bu bandların bant genişliği ise sistemin dinamiği hakkında bilgi verir (CASAL v.d., 1980). Ayrıca lipid kafa grubuna yakın ve kafa grubuna ait bantların frekans kaymaları o grupların hidrojen bağı yapma kapasitelerini gösterir (SEVERCAN v.d., 2005a)

3.3 DSC Çekimleri

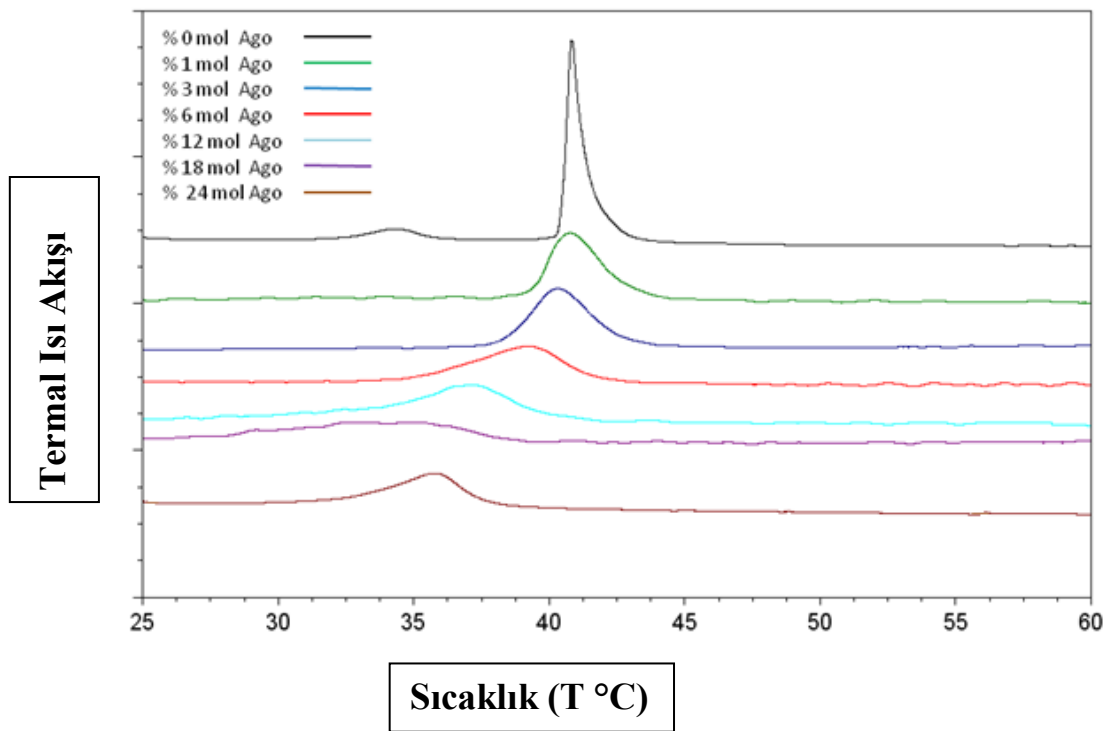
DSC çalışmaları için 2,5 mg. agomelatini 1mL saf etil alkol içinde çözülüp stok solüsyon hazırlandı. Değişik konsantrasyonlarda agomelatini içeren model membranları (%1mol, %3mol, %6mol, %12mol, %18mol) hazırlamak için stok solüsyondan gerekli miktarlar alınıp etil alkol azot gazı ile uçuruldu. Örnekler sırasıyla önce 2mg lipid sonra 20 µl kloroform eklendi. Çözünen örneklerdeki kloroform azot gazı ile uzaklaştırıldı. Spin Vak cihazı kullanılarak 2 saat süreli kurutma işlemi ile organik çözücüler tamamen sistemden uzaklaştırıldı. Bu kurutulmuş sisteme 50 µl tampon çözelti katıldı ve lipidin faz sıcaklığının yaklaşık 20 °C derece üzerinde döndürüp ısıtılarak model membran elde edildi. DSC çekimleri 50 µl'lik miktarlarda özel alüminyum panlar kullanılarak gerçekleştirildi. Çekimler 20-70 °C aralıklarında 1 °C/dak sıcaklık artış oranıyla elde edildi. Elde edilen spektrumlar Origin 7 programında analiz edildi. Analiz edilen spektrumlardan DPPC faz geçiş özellikleri (entalpi, kooperativite) daha önce bahsedilen eşitlikler kullanılarak hesaplandı.

4. Bulgular ve Tartışma

4.1. Agomelatin' in DPPC model membranı üzerine etkileri

4.1.1. Agomelatin-DPPC etkileşimi DSC çalışmaları

Şekil 5 değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen DPPC liposomlarına ait DSC termogramlarını göstermektedir. Tablo 1 ise bu liposomların faz geçiş sıcaklıklarını ve band genişliklerini göstermektedir. Şekilde ~34 °C'de görülen küçük bant saf DPPC lipozomunun ön faz geçiş sıcaklığını, 40.84 °C'de görülen büyük bant ana faz geçiş sıcaklığını göstermektedir. Şekilden de görüldüğü gibi agomelatin ilavesi ön faz geçiş sıcaklık bandını tam olarak kaybetmekle birlikte. Şekil 5 ve Tablo 1'den görüldüğü gibi agomelatin DSC termogramının bant genişliğinde artmaya neden olmuş ve faz geçiş sıcaklığını düşük değerlere kaydırmıştır. Bant genişliğindeki bu artma ve faz geçiş sıcaklığındaki bu düşme lipozomun büyüklüğünde ve paketlenmesinde bir değişikliğin olduğunu ve sistemin daha düzensiz hale geldiğini gösterir (KORKMAZ ve SEVERCAN, 2005).



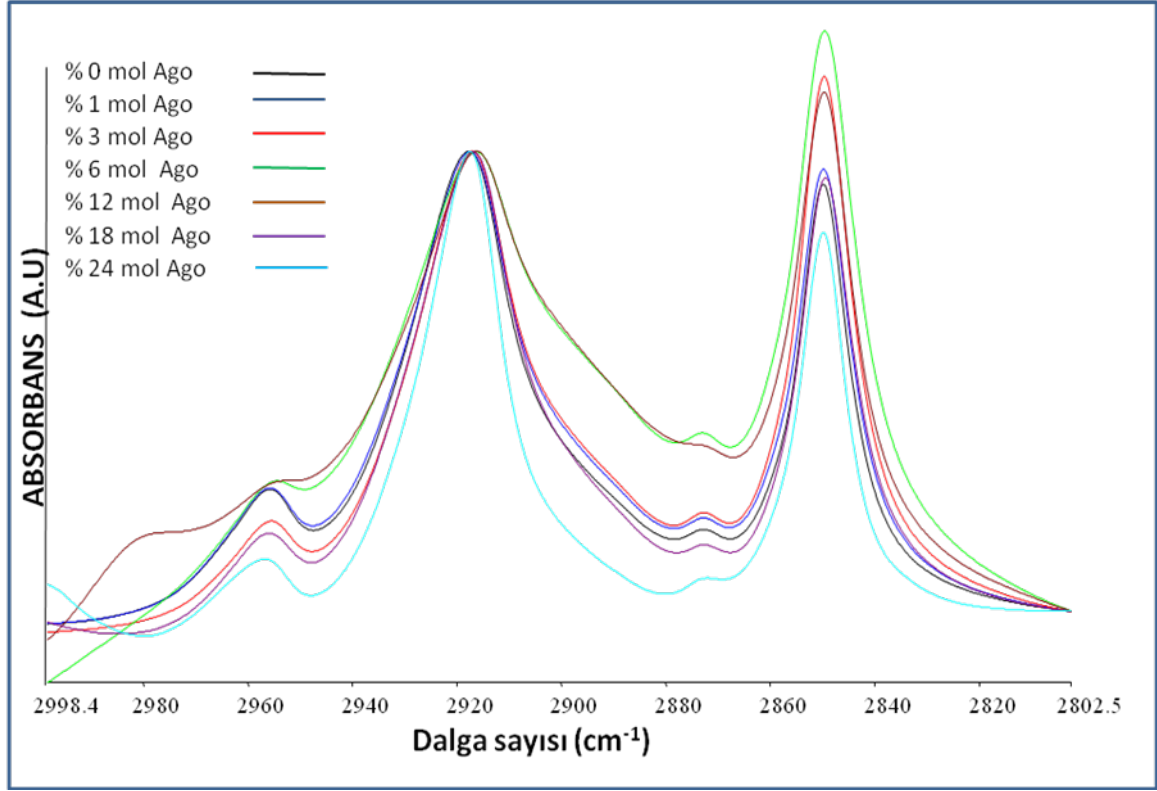
Şekil 5. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen DPPC lipozomları DSC termogramı.

Tablo 1. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen DPPC liposomlarının faz geçiş sıcaklığı(T_m) ve band genişliği (ΔT) değerleri.

Örnek	T_m (°C)	ΔT (°C)
DPPC	41.84	0.62
DPPC + %1 mol ago.	40.77	2.14
DPPC + %3 mol ago.	40.30	2.52
DPPC + %6 mol ago.	39.26	3.79
DPPC + %12 mol ago.	37.14	4.14
DPPC + %18 mol ago.	34.72	11.25
DPPC + %24 mol ago.	34.68	3.72

4.1.2 Agomelatin- DPPC etkileşimi FTIR çalışmaları

Çalışmamızda değişik konsantrasyonlardaki (%1 ile %24 mol arasında değişen) agomelatinin DPPC ve SM lipozomlarının üzerine etkileri sıcaklığa bağlı olarak FTIR spektroskopisi ile incelenmiştir. FTIR spektrumlarının analizinde CH_2 antisimetrik gerilme ($\sim 2920\text{ cm}^{-1}$), CH_2 simetrik gerilme ($\sim 2850\text{ cm}^{-1}$), $C=O$ gerilme ($\sim 1735\text{ cm}^{-1}$) ve PO^{2-} antisimetrik çift bağ gerilme ($\sim 1080\text{ cm}^{-1}$) bantları dikkate alınmıştır.

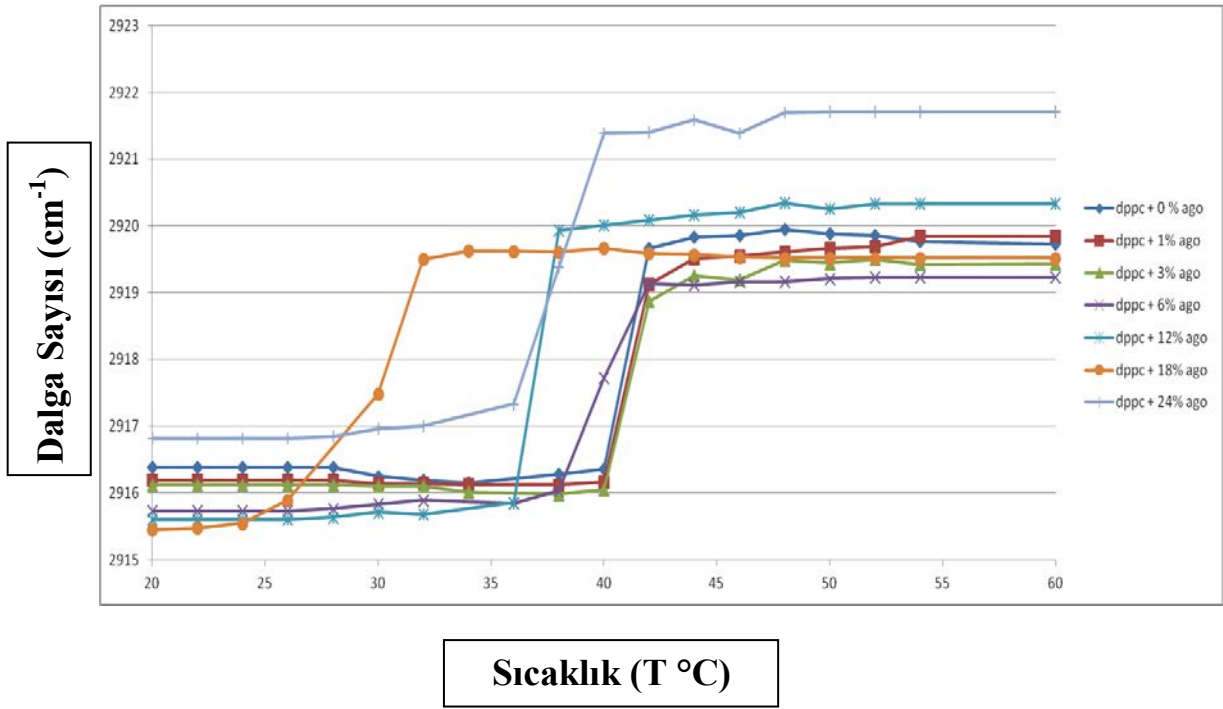


Şekil 6. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren DPPC lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin 20 °C’ deki FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH₂ asimetric gerilme bandına göre normalize edilmiştir)

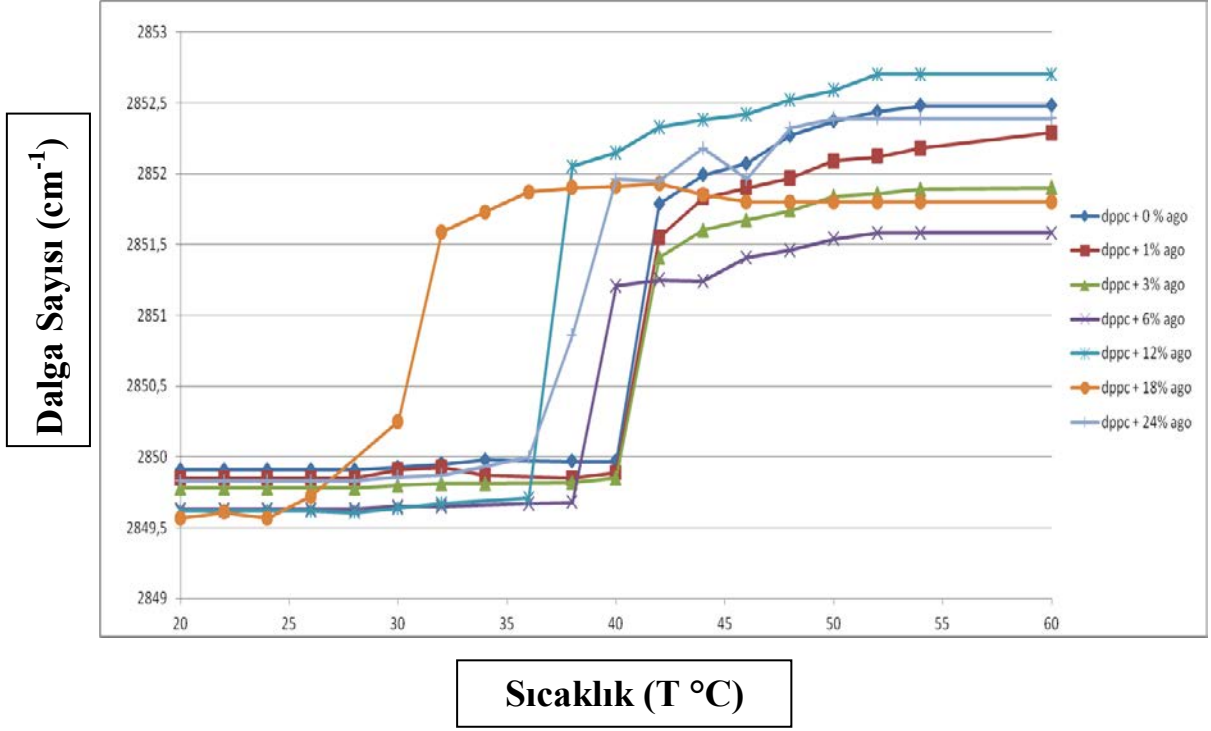
CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerinin frekans değişimi membranın faz geçiş davranışı ve düzenliliği hakkında bilgi vermektedir (MANTSCH v.d., 1984; SEVERCAN v.d, 2000). Dolayısıyla, bu bant frekansındaki değişimler sayesinde farklı konsantrasyonlardaki agomelatin ilavesi ile frekans değerlerinde kayma ve bant genişliklerinde değişim gözlenmektedir. Bu konuda daha detaylı bilgi edinebilmek için C-H gerime bantlarının frekans (maksimum bant pozisyonu) ve bant genişliği membran jel ve sıvı kristal fazlarına karşılık gelen sıcaklıklarda okunmuş ve hesaplanmıştır. Bu bantın frekans değerleri fosfolipitlerin açıl zincirlerinin konformasyonel düzenine bağlıdır. Bu değerler sistemdeki ortalama trans/gauche izomerizasyonunu incelemek için kullanılır.

Şekil 7 ve 8 sırasıyla değişik agomelatin konsantrasyonları (% 1 - 24 mol) içeren DPPC liposomlarının CH₂ antisimetrik ve CH₂ simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimini göstermektedir. Şekil 7’de ~41°C’de görülen ani artış jel fazdan sıvı-kristal faza geçişin bir göstergesidir. Jel fazdan sıvı-kristal faza geçiş membrandaki tüm trans

konformasyonlarının gauche konformasyonuna değişimi ile gerçekleşir (UMEMURA v.d.,1980; CASAL ve MANTSCH ,1984). Yani saf DPPC liposomunun ana faz geçiş sıcaklığı (T_m) ~ 41 °C'dır. Şekilden görüldüğü gibi agomelatin DPPC liposomlarının ana faz geçiş sıcaklığını düşük değerlere kaydırmıştır. CH_2 simetrik titreşim frekansının sıcaklığa göre değişimi incelendiğinde (Şekil 8) her iki fazda da frekans değerlerini düşürdüğü yani lipidleri daha düzenli hale getirdiği anlaşılmıştır. CH_2 asimetrik titreşim frekanslarının değişiminde genel olarak benzer sonuç bulunmuştur. Bununla birlikte sıvı kristal fazda Şekillerden izlenen genel davranış, alcaak konsantrasyonlarda düzeni artırma etkisi daha belirginken konsantrasyon 6 mol % den 12 ye çıkınca düzeni artırma etkisinin azaldığı ve daha yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin düzensizliğe doğru gittiğidir.

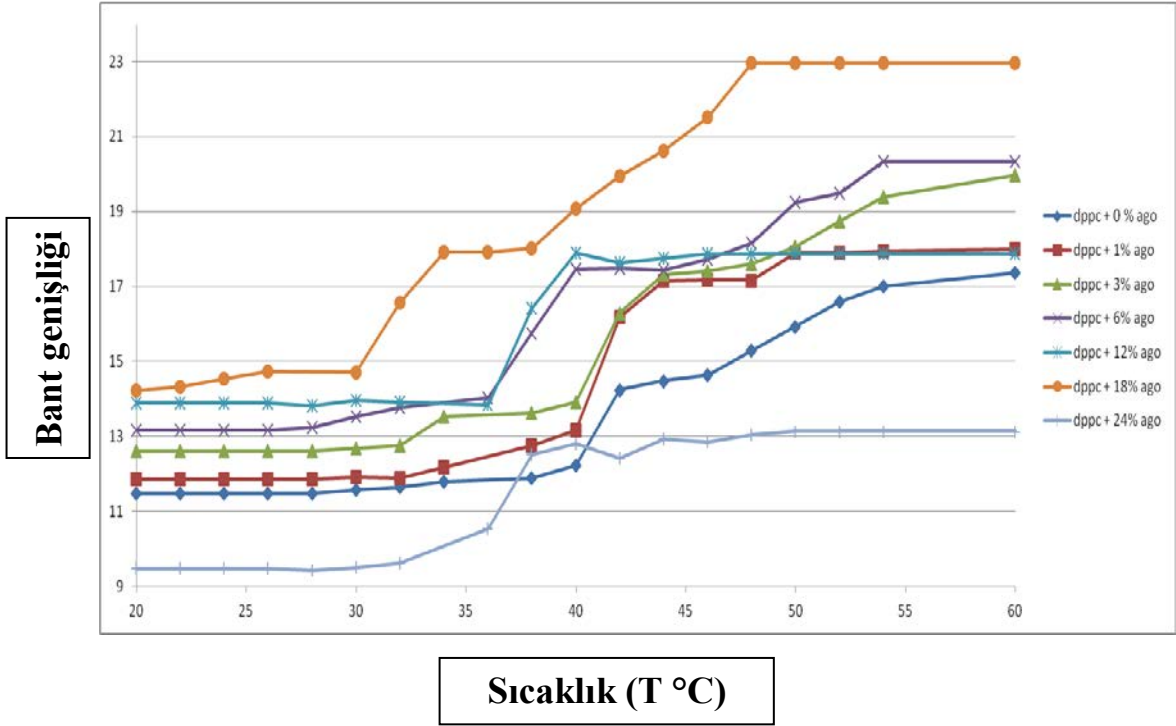


Şekil 7. İlaç uygulanmamış %0 mol (♦), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve %24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

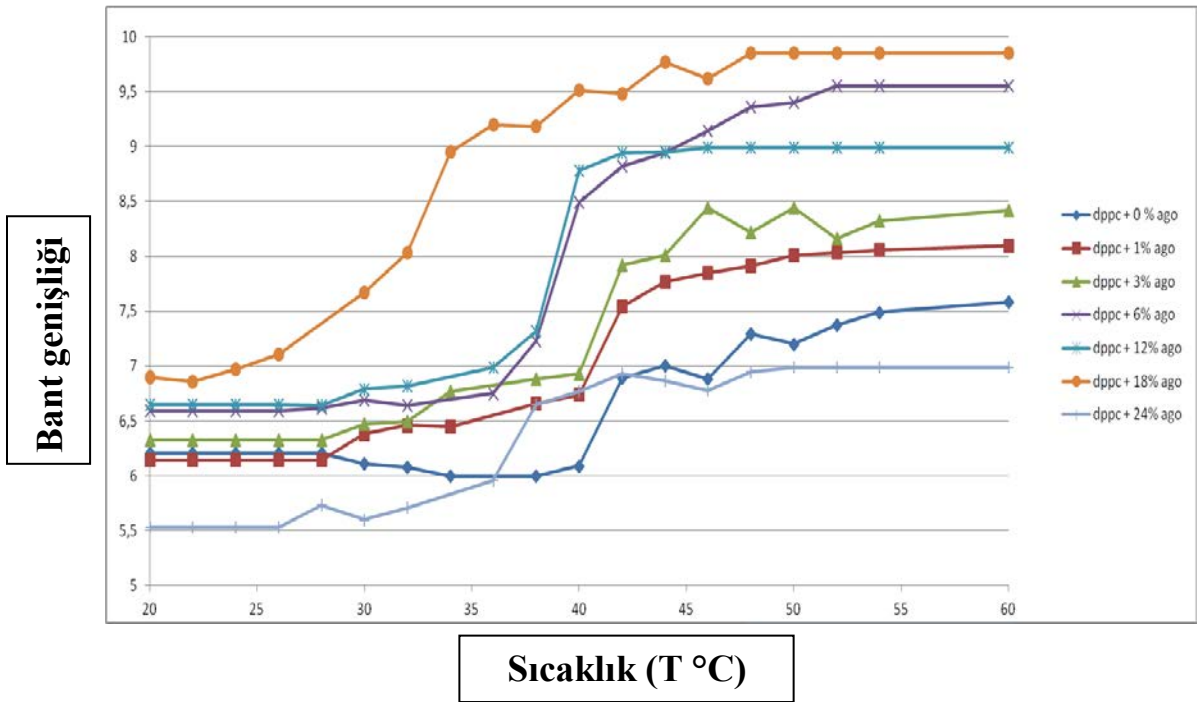


Şekil 8. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının CH₂ simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

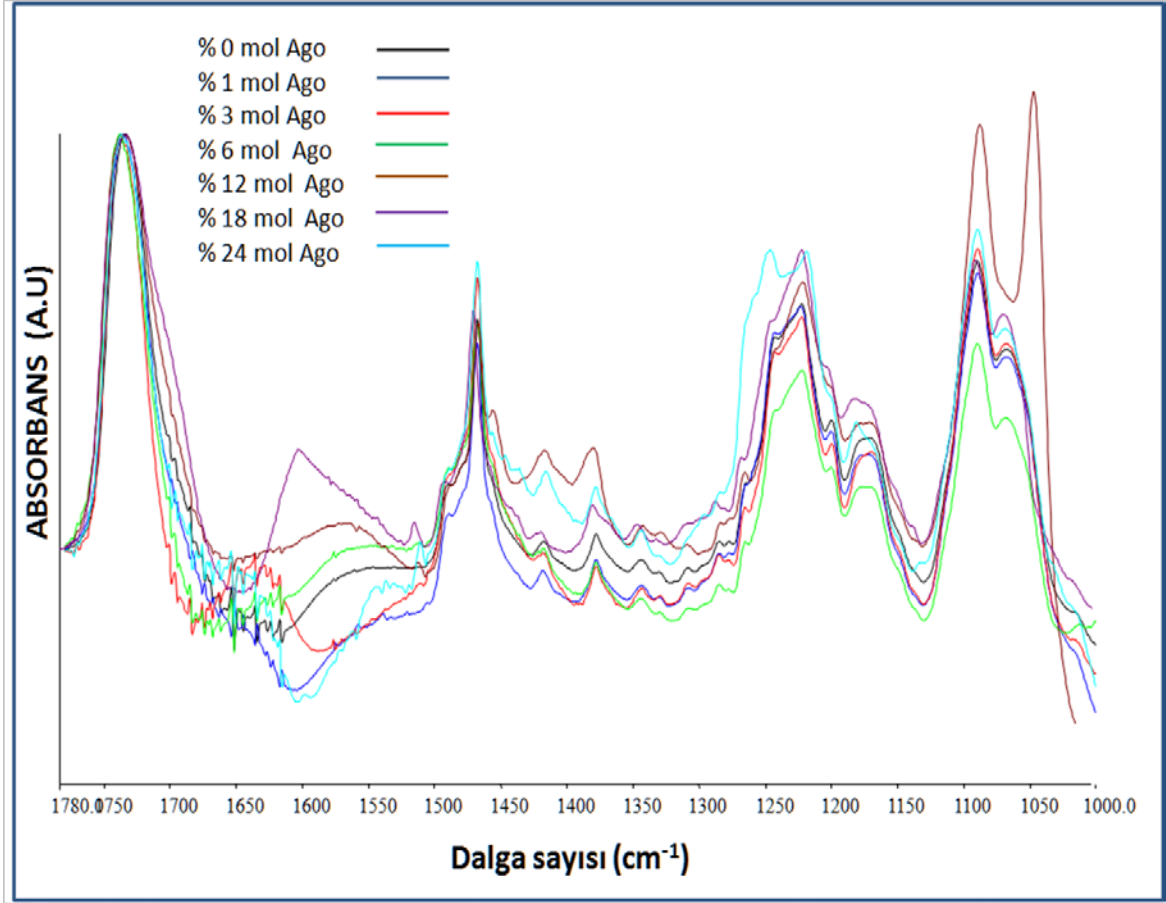
Şekil 9 ve 10, agomelatin varlığında ve yokluğunda DPPC liposomlarında CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimini göstermektedir. C-H gerilme bandlarının genişliklerindeki değişiklikler bize sistemin dinamiği hakkında bilgi vermektedir. Band genişliğindeki artma sistemin dinamiğinin arttığını, azalma ise sistemin dinamiğinin azaldığını gösterir (TAKAHASHI v.d., 1991; SEVERCAN v.d., 2000; SEVERCAN v.d., 2005a; KORKMAZ ve SEVERCAN, 2005). Şekil 9'dan görüldüğü gibi agomelatin ilavesi hem jel fazda hemde sıvı-kristal fazda DPPC liposomlarının band genişliğini artırmaktadır. Bu bize agomelatinin DPPC'nin lipit dinamiğini artırdığını göstermektedir.



Şekil 9. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatini içeren DPPC lipozomlarının CH₂ asimetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.



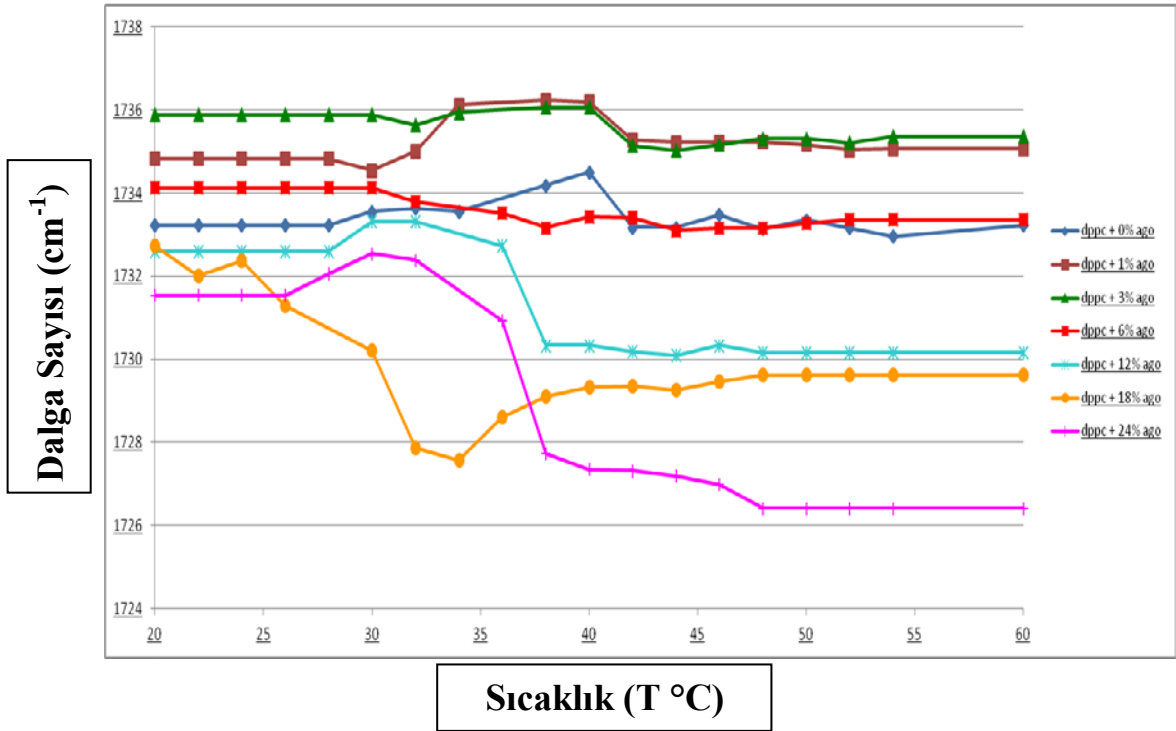
Şekil 10. %: İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatini içeren DPPC lipozomlarının CH₂ simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.



Şekil 11. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren DPPC lipozomlarının 1770-1000 cm^{-1} arası parmakizi spetrumu. 20 °C’ deki FTIR spetrumu. (Spektrumlar C=O gerilme moduna göre normalize edilmiştir.)

Agomelatinin fosfolipit gliserol gruplarıyla etkileşimini incelemek için C=O gerilme bant frekansları analiz edilmiştir. Şekil 11’de değişik konsantrasyonlarda agomelatinin varlığı ve yokluğunda DPPC çok katlı lipozomlarının 1770-1000 cm^{-1} bölgesi FTIR spetrumu gösterilmiştir. Görüldüğü üzere C=O gerilme modunun 1740 cm^{-1} dalga boyunda yer almıştır. Bu band lipidin kafa grubuna yakın gliserol kısmını izler. Şekil 12’de ise C=O gerilme modunun sıcaklığa bağlı frekans değişimleri görülmektedir. Düşük ilaç dozlarında frekans değerlerinde gözlenen artış, fosfolipitlerin kafa gruplarına yakın kısımlarındaki gliserol iskeletindeki hidrojen bağı yapma kapasitesinin azaldığının, yüksek dozlarda gözlenen frekans değerlerindeki azalma ise hidrojen bağı yapma kapasitesinin arttığının veya yeni hidrojen bağlarının oluştuğunun göstergesidir. (TURKER v.d., 2011). Şekilden görüldüğü üzere agomelatininin düşük konsantrasyon miktarlarında titreşim frekanslarında

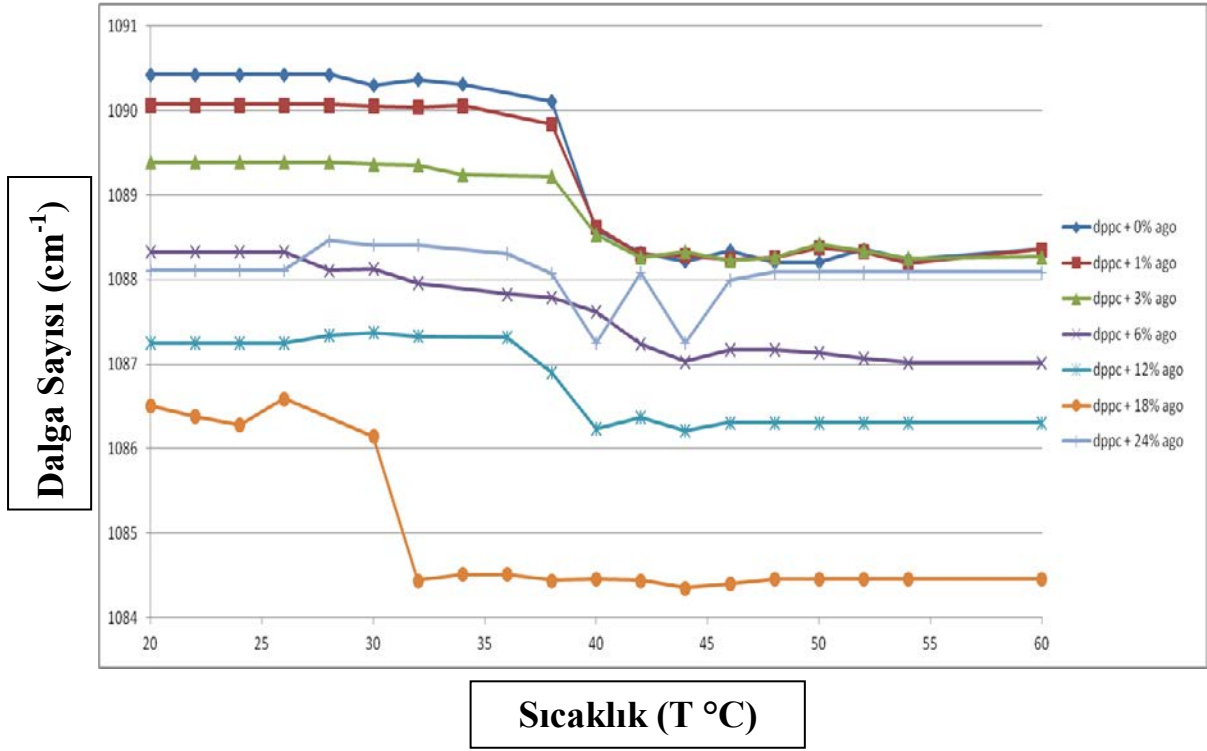
daha yüksek değerlere kaymaya neden olmuştur. Bu da agomelatinin düşük dozda uygulandığında fosfolipit kafa grupları çevresinde gliserol iskeletinde hidrojen bağı yapma kapasitesini azaltıcı yönde etki gösterdiğini veya yeni hidrojen bağlarının oluşumuna sebebiyet verdiğini göstermektedir. Yüksek konsantrasyon miktarında uygulandığında ise frekans değerlerinde daha düşük değerlere kaymaya neden olmuştur bu da agomelatinin yüksek dozlarının fosfolipit kafa grupları çevresinde gliserol iskeletinde hidrojen bağı yapma kapasitesini artırıcı yönde etki göstermektedir. Buna dehidrasyon etkisi denmektedir.



Şekil 12. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

Şekil 13'deki grafikte ise farklı sıcaklıklarda elde edilmiş, agomelatin konsantrasyonuna bağlı PO^{2-} antisimetrik bant frekans değerleri görülmektedir. PO^{2-} bandı fosfolipidlerin kafa grubu ile ilgili hidrasyonundaki değişiklikler hakkında bilgi verir (MENDELSON ve MANTSCH 1986). Bu bandın frekansındaki azalma liposomların kafa gruplarının birbirleri ile agomelatin ya da çevredeki su molekülleri ile hidrojen bağlanması yaptığını gösterir (SEVERCAN v.d., 2005). Şekil 10'dan görüldüğü gibi her üç fazda agomelatin

ilavesi frekansta azalmaya sebep olmuştur. Bu bize agomelatin ilavesinin hidrojen bağlanmasını arttırdığını gösterir.

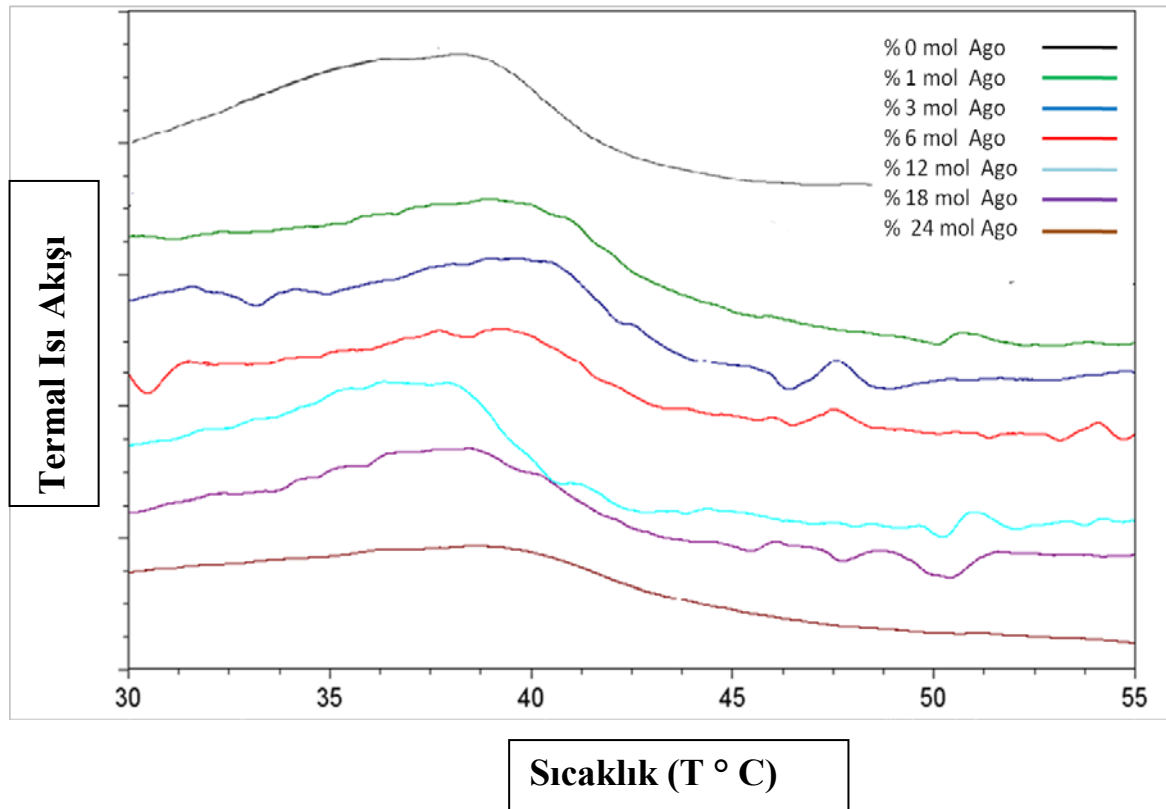


Şekil 13. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren DPPC lipozomlarının PO₂-antisimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

4.2. Agomelatin' in SM model membranı üzerine etkileri

4.2.1. Agomelatin-Spingomiyelin etkileşimi DSC çalışmaları

Şekil 14, değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen spingomiyelin (SM) liposomlarına ait DSC termogramlarını göstermektedir. Şekilden de görüldüğü gibi SM liposomlarının ana faz geçiş sıcaklığı 37.44 °C'dir.(CHIU v.d.,2009). Saf SM membran için elde edilen DSC termogramı literatürle uyum içindedir (CHIU v.d.,2009) bu termogramda ön faz geçişi görülmemektedir. SM deki asimetrik açıl zincir nedeniyle DPPC ye göre daha geniş bir termogram elde edilmektedir. Şekil 18 ve Tablo 2'den görüldüğü üzere, agomelatin konsantrasyonu arttıkça SM liposomlarının band genişliği artmakta ve faz geçiş sıcaklığı hafifçe yüksek değerlere doğru kaymaktadır. Bu bize agomelatinin, konsantrasyon artışına bağlı olarak, az da olsa sistemi daha düzensiz hale getirdiğini göstermektedir.

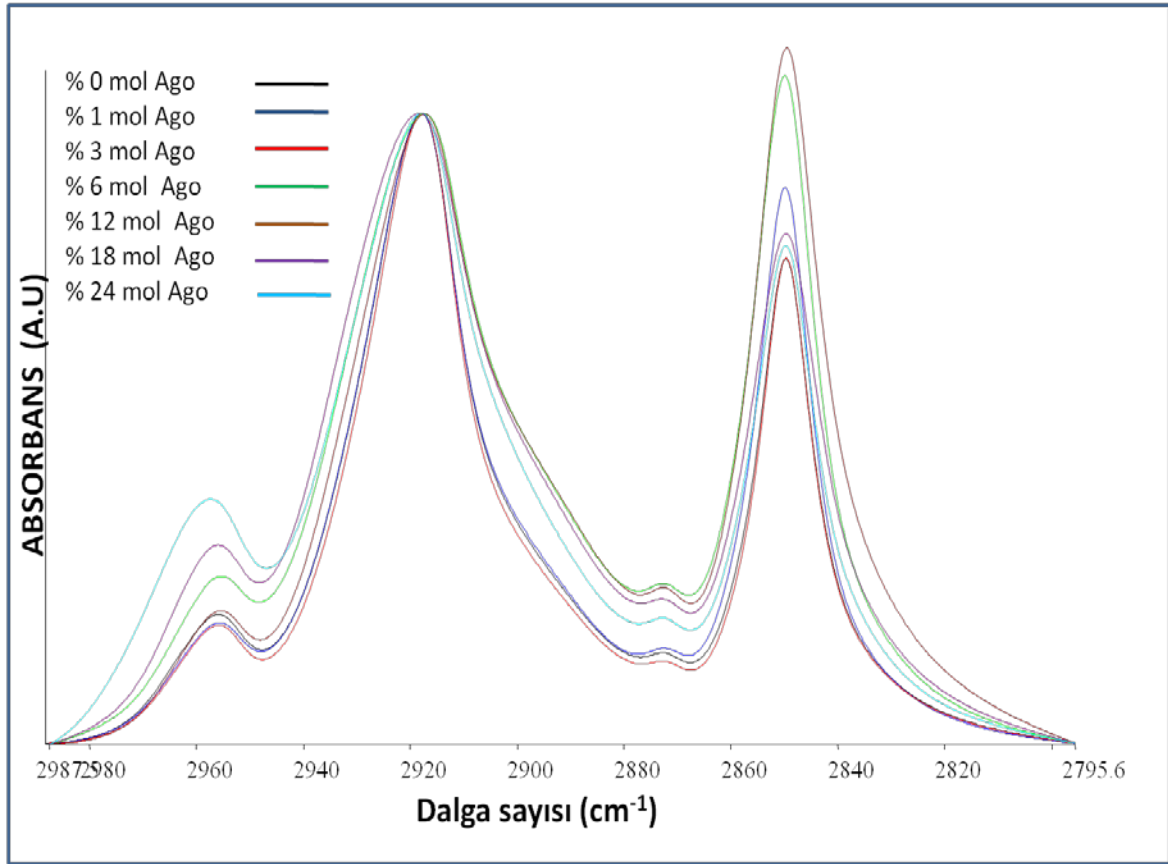


Şekil 14. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen SM lipozomları DSC termogramı.

Tablo 2. Değişik konsantrasyonlarda agomelatin içeren ve içermeyen SM lipozomlarının faz geçiş sıcaklığı (T_m) ve band genişliği (ΔT) değerleri.

Örnek	T_m (°C)	ΔT (°C)
SM	37.44	10.42
SM + %1 mol ago.	41.39	10.17
SM + %3 mol ago.	39.69	14.44
SM + %6 mol ago.	39.32	14.04
SM + %12 mol ago.	39.14	11.46
SM + %18 mol ago.	38.46	2.64
SM + %24 mol ago.	38.99	9.60

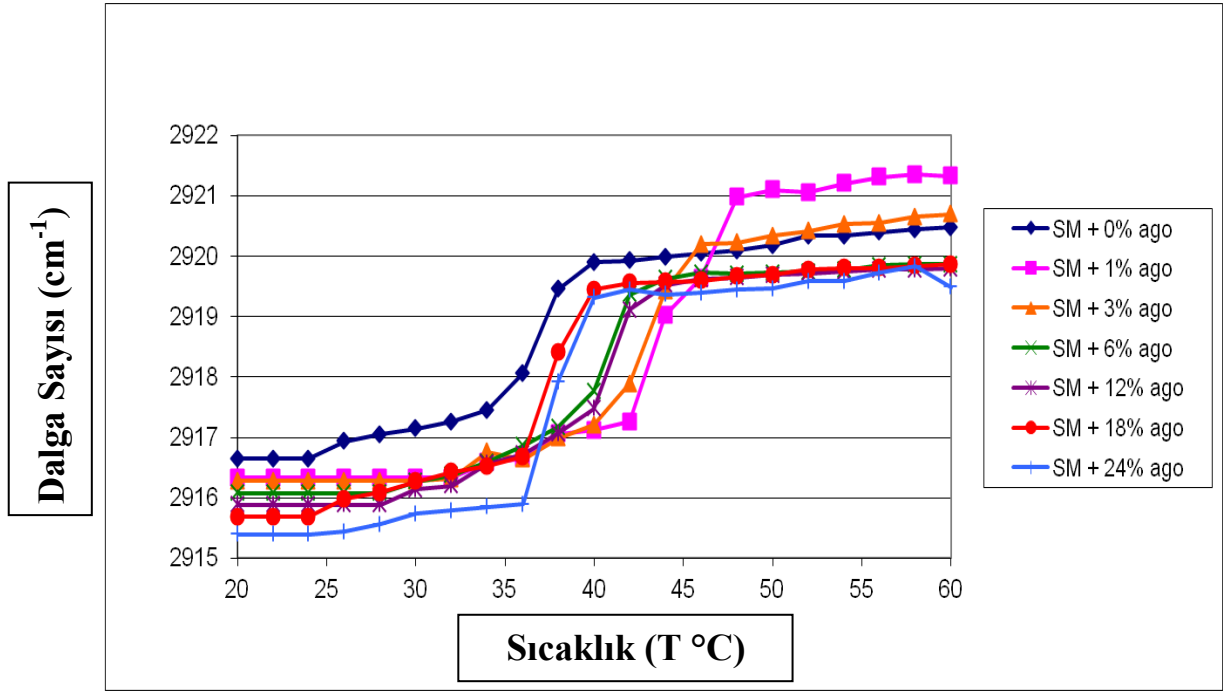
4.2.2 Agomelatin- SM etkileşimi FTIR çalışmaları



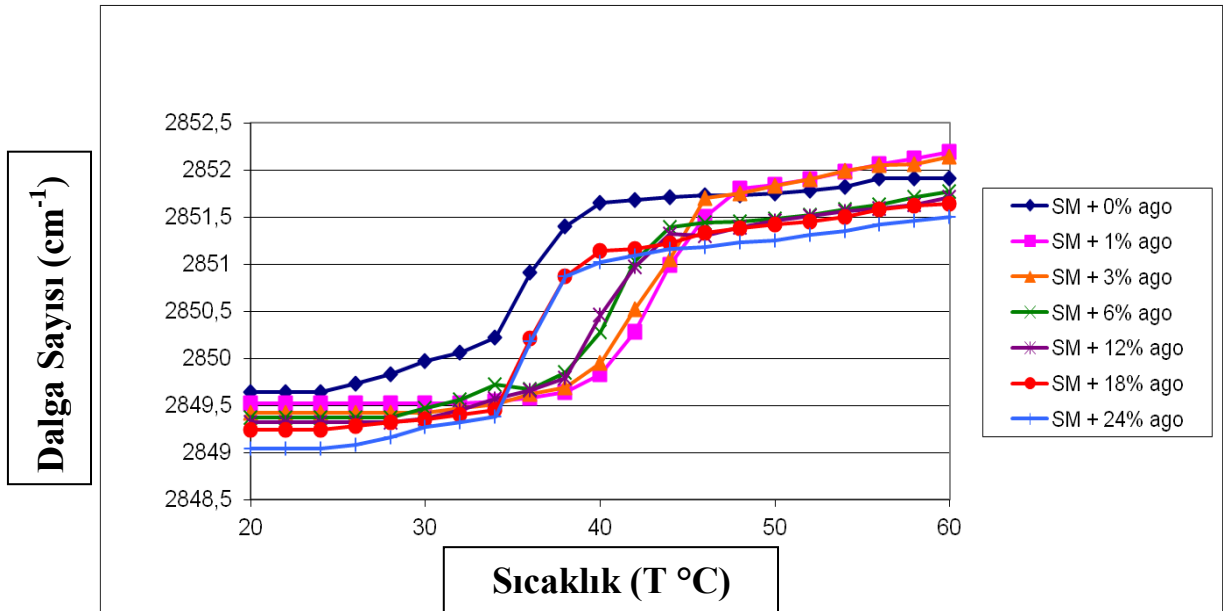
Şekil 15. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatin içeren SM lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin 20 °C’ deki FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH₂ asimetrik gerilme bandına göre normalize edilmiştir)

Şekil 16 ve 17 sırasıyla değişik agomelatin konsantrasyonları (% 1 - 24 mol) içeren SM lipozomlarının CH₂ antisimetrik ve CH₂ simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimini göstermektedir. Saf SM lipozomunun ana faz geçiş sıcaklığı (T_m) ~37.5 °C’ dir. Şekilden görüldüğü gibi agomelatin SM lipozomlarının ana faz geçiş sıcaklığını yüksek değerlere kaydırmıştır. Jel faza karşılık gelen sıcaklıklarda (<T_m), agomelatin ilavesi CH₂ simetrik ve antisimetrik bandının frekans değerlerinde düşüşe neden olmuştur, ki bu davranış agomelatinin jel fazda lipid düzenini artırdığını gösterir. Sıvı kristal fazda ise konsantrasyona bağlı farklı etki görülmektedir. Agomelatin düşük konsantrasyonlarda (1-3

mol%) frekans değerlerinde artırıp sistemi daha düzensiz yaparken daha yüksek konsantrasyonlarda membranın düzenini artırmaktadır.

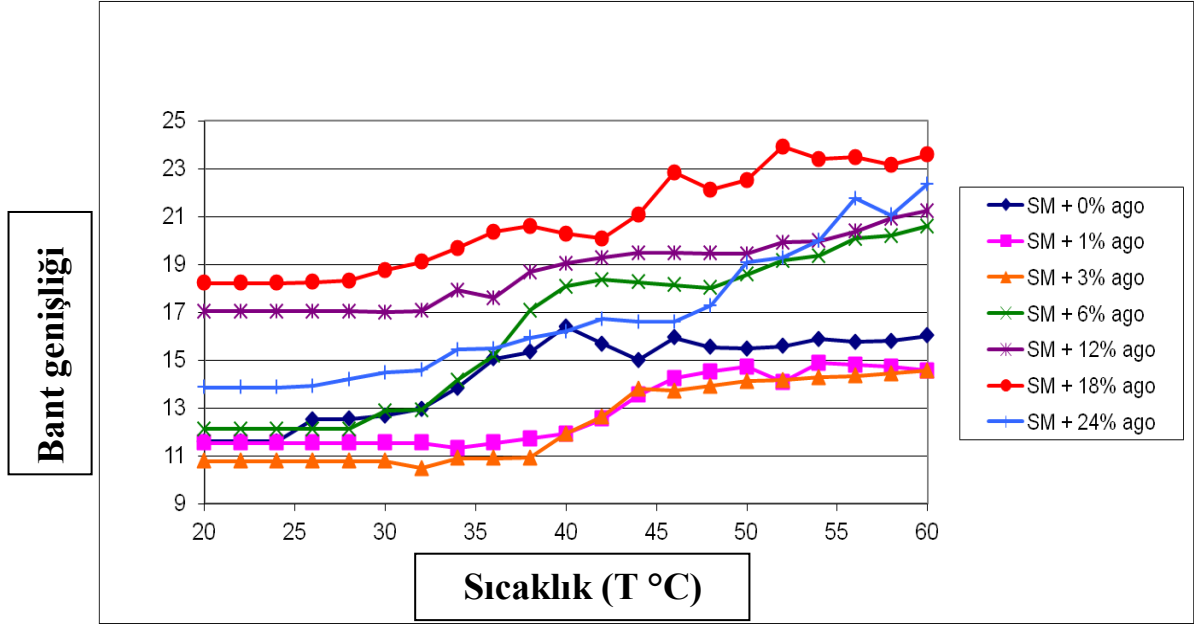


Şekil 16. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

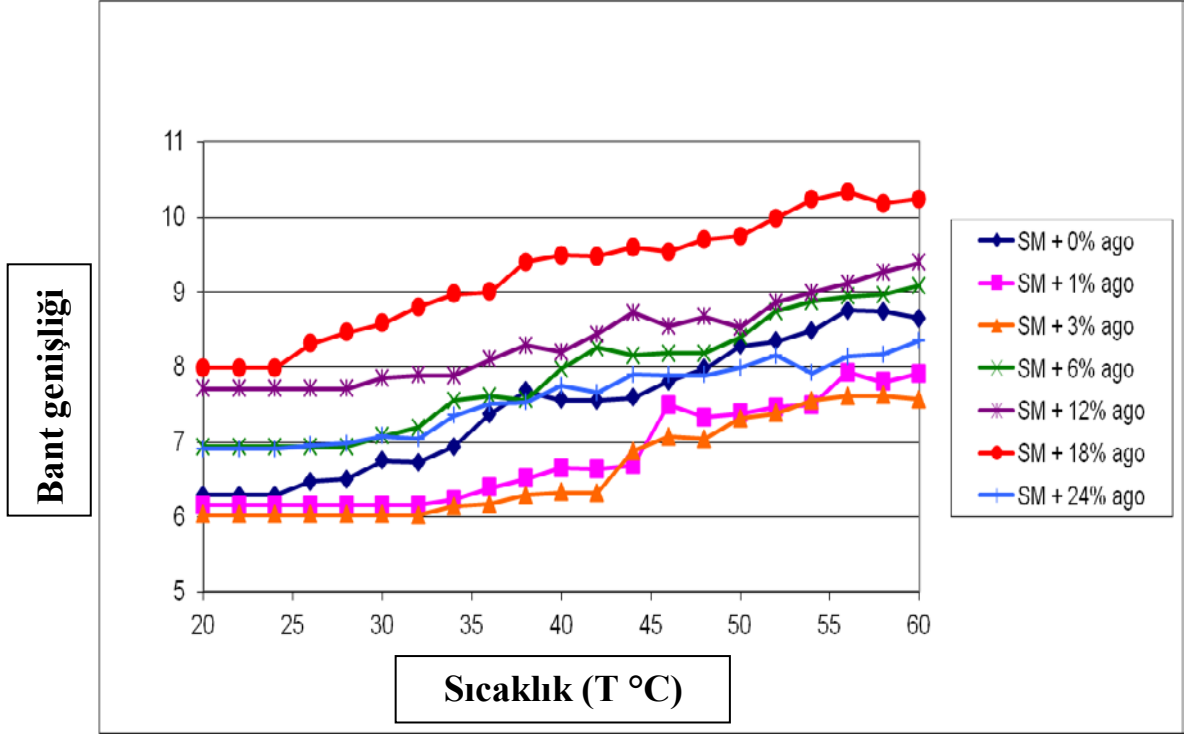


Şekil 17. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

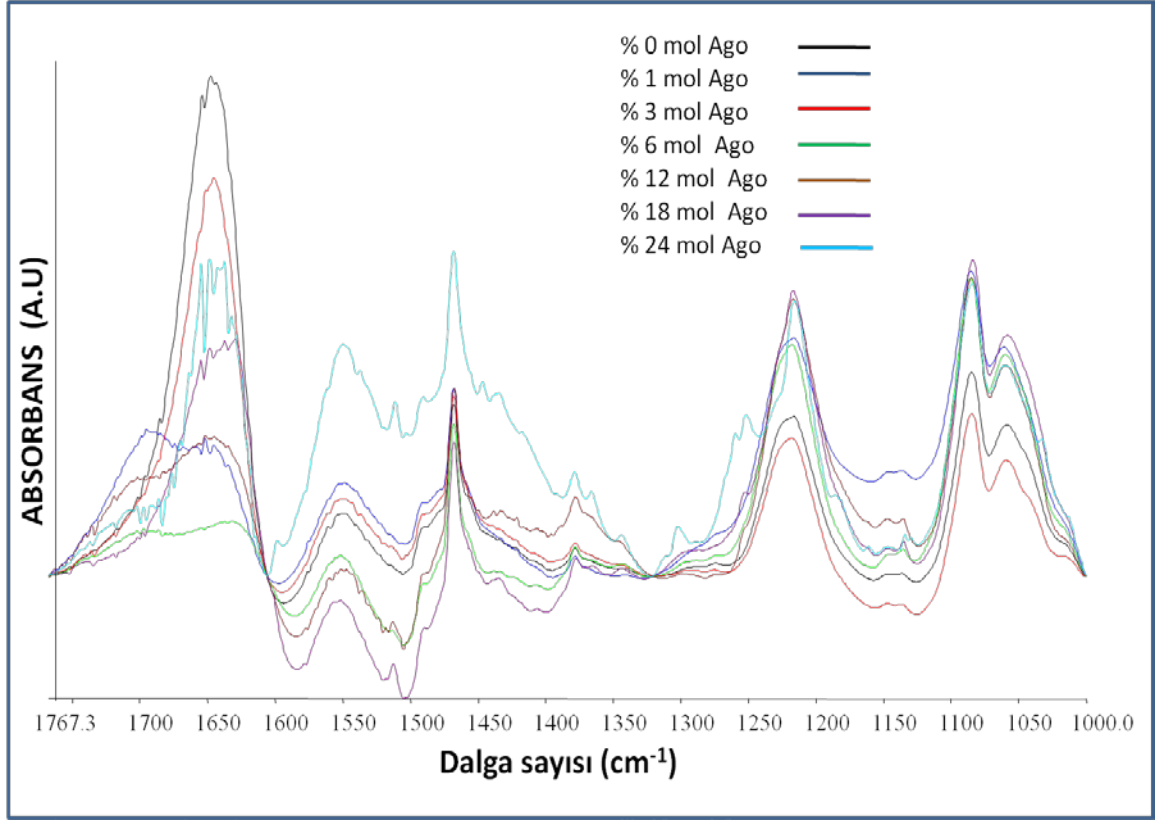
Şekil 18 ve 19, agomelatin varlığında ve yokluğunda SM lipozomlarında CH₂ antisimetrik ve simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimini göstermektedir. Şekil 19'dan görüldüğü gibi agomelatin ilavesi hem jel fazda hem de sıvı-kristal fazda SM lipozomlarının düşük dozlarda bant genişliğini azaltırken yüksek dozlarda bant genişliğinin artmasına neden olmaktadır. Bu bize agomelatinin SM'in lipit dinamiğini düşük dozlarda azalttığını, yüksek dozlarda ise artırdığını göstermektedir.



Şekil 18. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının CH₂ antisimetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.

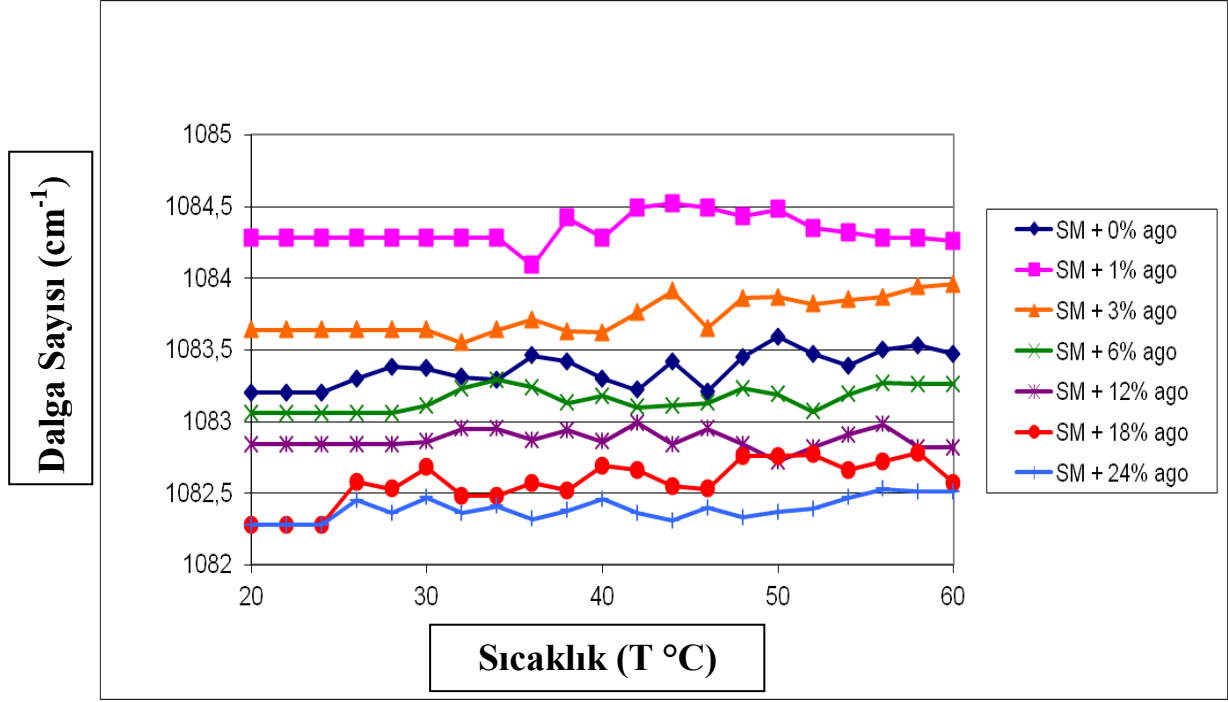


Şekil 19. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatine içeren SM lipozomlarının CH2 simetrik gerilme modu bant genişliğinin sıcaklığa göre değişimi.



Şekil 20. İlaç katılmamış %0 mol (siyah), %1 mol (mavi), %3 mol (kırmızı), %6 mol (yeşil), % 12 mol (kahverengi), % 18 mol (mor) ve % 24 mol (açık mavi) agomelatini içeren SM lipozomlarının 1770-1000 cm^{-1} arası 20 °C’ deki parmakizi FTIR spektrumu. (Spektrumlar CH₂ asimetrik gerilme moduna göre normalize edilmiştir.)

Şekil 20’de değişik konsantrasyonlarda agomelatini varlığı ve yokluğunda SM çok katlı lipozomlarının 1770-1000 cm^{-1} bölgesi FTIR spektrumu gösterilmiştir. Görüldüğü üzere spektrumlarında 1740 cm^{-1} dalga boyunda gözlenen C=O gerilme modu bulunmamaktadır ve bu bulgumuz literatürle uyum içindedir (DREISSIG v.d.,2009). Bunun nedeni şekil 2’de de görüldüğü gibi SM’in seramid kafa grubunun açıl zincirler ile birleştiği bölgede bir adet C=O grubunun bulunması ve çok büyük olan seramid kafa grubunun C=O molekülünü kapatmasıdır.

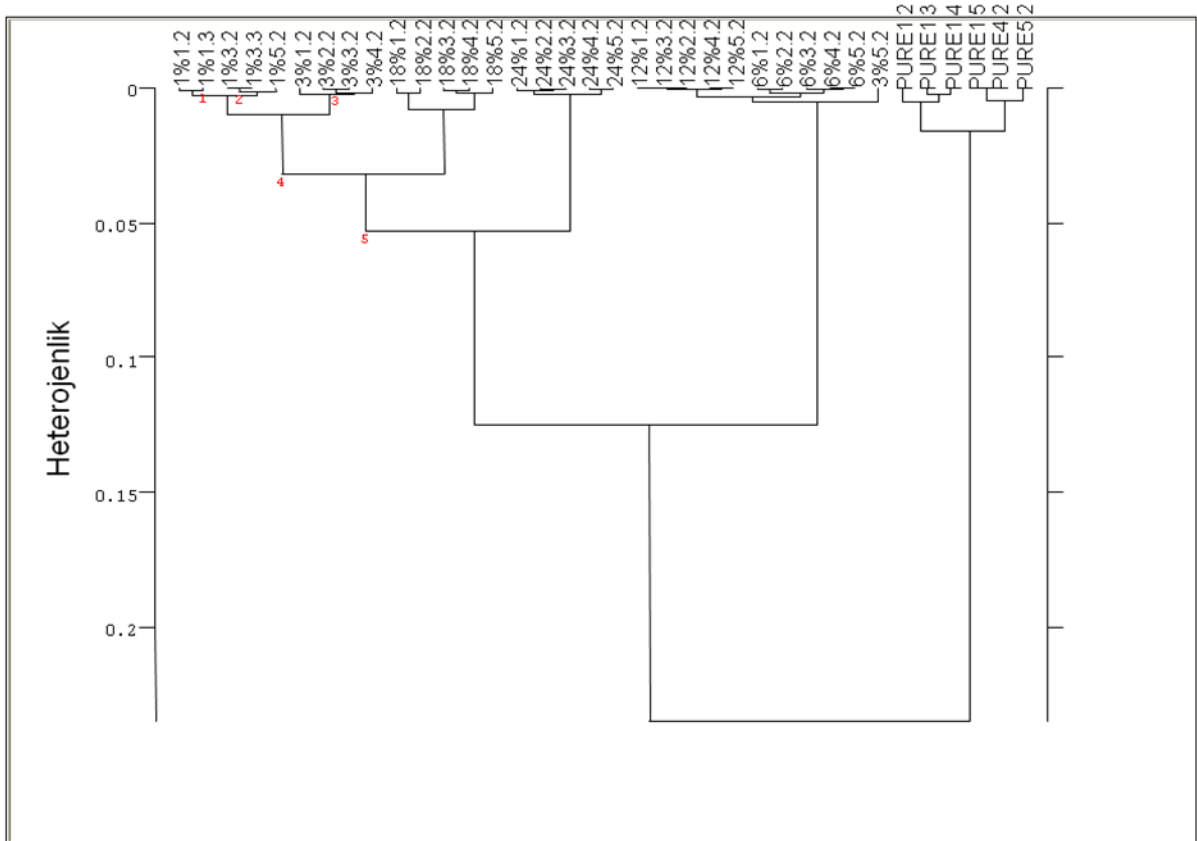


Şekil 21. İlaç uygulanmamış %0 mol (◆), %1 mol (■), %3 mol (▲), %6 mol (×), %12 mol (*), %18 mol(●) ve % 24 (†) mol agomelatin içeren SM lipozomlarının PO²⁻ antisimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa göre değişimi.

Şekil 21'deki grafikte ise farklı sıcaklıklarda elde edilmiş, agomelatin konsantrasyonuna bağlı PO²⁻ antisimetrik bant frekans değerleri görülmektedir. Şekilden görüldüğü gibi bütün fazlarda agomelatin ilavesi frekansta yüksek konsantrasyonlarda azalmaya sebep olurken düşük konsantrasyonlarda frekans değerlerini artırmıştır. Bu bize agomelatin ilavesinin hidrojen bağlanmasını düşük konsantrasyonlarda azaltırken yüksek konsantrasyonlarda artırdığını gösterir.

5.Kemometrik Analizler

Spektrumlara, özel bir analiz programı yardımı ile cluster analizi uygulanmıştır, bu analiz uygulanırken spektral farklılıklar baz alınarak gruplar arasında ayırım elde edilmiştir. Cluster analizi gruplar arasındaki heterojenlik ile ilgili bilgi vermektedir, gruplar arası heterojenlik arttıkça analiz edilen gruplar arasındaki farklılıkta artmaktadır.

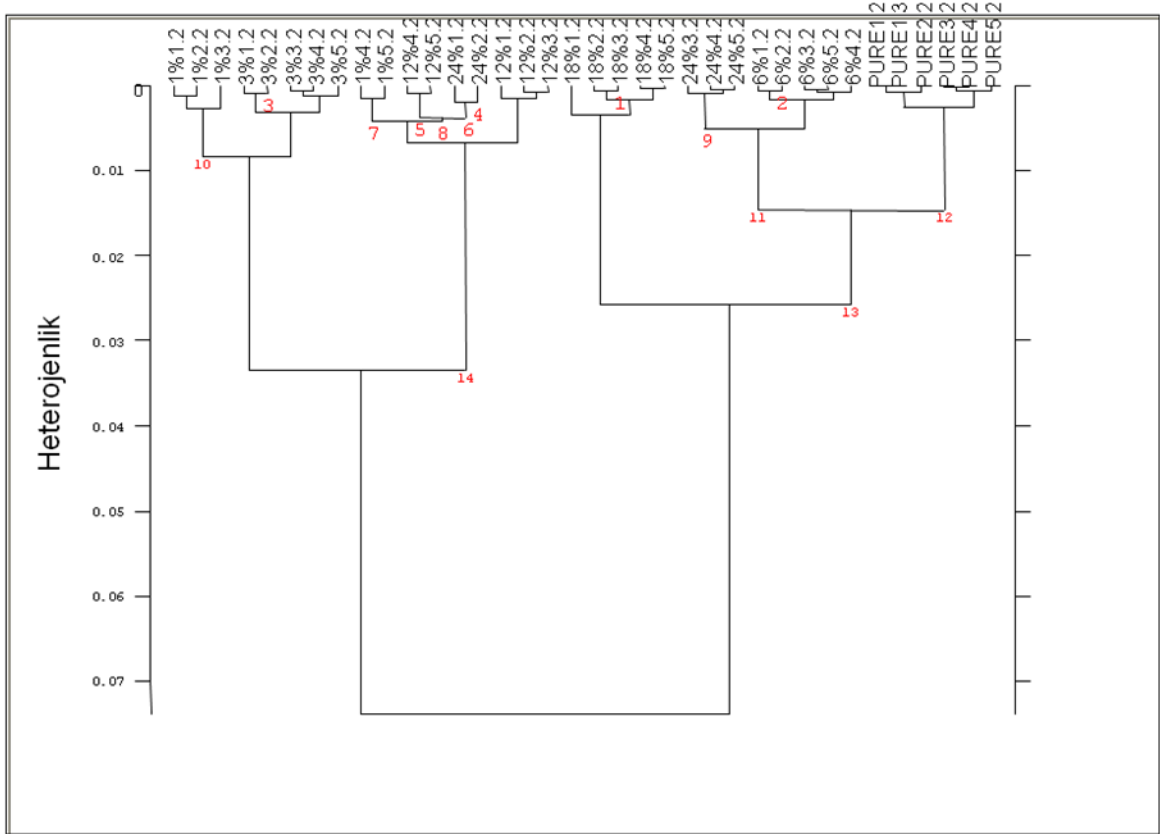


Şekil 22. %1 mol, %3 mol, %6 mol, %12 mol, %18 mol ve %24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış DPPC lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi. (spektrumların ikilcil türevleri üzerine ward algoritması uygulanmıştır)

Şekil 22’de%1-24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış DPPC lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi görülmektedir. Görüldüğü üzere en yüksek heterojenlik ilaç eklenmemiş saf membranlarda görülmüştür.

Şekil 23’de ise %1-24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış SM lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi görülmektedir. Burada da en yüksek heterojenlik ilaç eklenmemiş saf membralarda görülmüştür.

Cluster analizi sonucunda ilaç eklenmemiş saf membranlar ile ilaç eklenmiş membranlar başarılı bir şekilde ayrılmışlardır.



Şekil 23. %1 mol, %3 mol, %6 mol, % 12 mol, % 18 mol ve % 24 mol agomelatin içeren ve ilaç katılmamış SM lipozomlarının C-H gerilme bölgesinin sıvı kristal faza denk gelen sıcaklıklardaki FTIR spektrumlarının cluster analizi. (spektrumların ikilcil türevleri üzerine ward algoritması uygulanmıştır)

6. Sonuç

Daha önceki çalışmalarda agomelatin'in, salınım seviyelerindeki değişim ile depresyonun oluşmasında önemli rol oynayan nörotransmitterlerden Melatonin'e ait reseptörün MT1 ve MT2 konumlarında agonisti (RODRIGUEZ v.d., 2007; MILLAN v.d., 2003; VAN REETH v.d., 2001; CONWAY v.d., 2000; YING v.d., 1996; YOUS v.d., 1992) ve Serotonin'e ait 5-HT_{2C} alt grubu reseptöründe ise antagonist olduğu görülmüştür (ARENDRT ve RAJARATNAM, 2008; CHAGRAOUI v.d., 2003; MILLAN v.d., 2003, CUSSAC v.d., 2002).

Agomelatin'in, diğer psikiyatrik ilaçlara göre çok az oranda yan etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Diğer psikiyatrik ilaçlarla kıyaslandığında, yan etkilerinin asgari düzeyde olması ile birlikte bağımlılık yapıcı etkilerinin bulunmaması, ilaç bırakma konusunda hastanın sıkıntı çekmemesi ve etkileşim içinde bulunduğu reseptörlerin dışında başka reseptörlere bağlanmadığı önerilmiştir (GOODWIN v.d., 2007; KASPER v.d., 2010; STAHL v.d., 2010). Fakat bu çalışmamızda agomelatinin DPPC ve SM model membranları ile etkileşime girdiği ortaya çıkmıştır.

DPPC model membranını incelediğimizde agomelatin lipozomun büyüklüğünde ve paketlenmesinde bir değişikliğe neden olduğu ve sistemi daha düzensiz hale getirdiği gözlenmiştir. Bununla birlikte sıvı kristal fazda şekillerden izlenen genel davranış, alçak konsantrasyonlarda düzeni artırma etkisi daha belirginken konsantrasyon 6 mol % den 12 mol % ve üzerine çıkınca düzeni artırma etkisinin azaldığı ve daha yüksek konsantrasyonlarda bu etkinin düzensizliğe doğru gittiğidir. Agomelatin ilavesi hem jel fazda hemde sıvı-kristal fazda DPPC liposomlarının band genişliğini artırmaktadır. Bu bize agomelatinin DPPC'nin lipit dinamiğini artırdığını göstermektedir. Agomelatinin fosfolipitlerin açıl zincirleriyle etkileşmesinin yanı sıra gliserol iskeletinde de değişimlere yol açmıştır. Agomelatin düşük dozda uygulandığında fosfolipit kafa grupları çevresinde gliserol iskeletinde hidrojen bağı yapma kapasitesini azaltıcı yönde etki göstermiştir. Yüksek konsantrasyon miktarında uygulandığında ise fosfolipit kafa grupları çevresinde gliserol iskeletinde hidrojen bağı yapma kapasitesini artırıcı yönde etki göstermektedir. Ayrıca agomelatin ilavesi fosfolipitlerin kafa gruplarında hidrojen bağlanmasını artırdığını görülmüştür.

SM membranlarda ise agomelatin, jel fazda lipid düzenini artırmaktadır. Sıvı kristal fazda ise konsantrasyona bağlı farklı etki görülmektedir. Agomelatin düşük konsantrasyonlarda (1-3 mol%) frekans değerlerinde artırıp sistemi daha düzensiz yaparken daha yüksek konsantrasyonlarda membranın düzenini artırmaktadır. Ayrıca agomelatin SM'in lipit dinamiğini düşük dozlarda (1-3 mol%) azalttığını, yüksek dozlarda ise artırmaktadır. Son olarak agomelatin ilavesi SM kafa gruplarında hidrasyonu düşük konsantrasyonlarda azaltırken yüksek konsantrasyonlarda artırdığı görülmüştür.

DSC ve FTIR çalışmaları sonucunda ilacın membran içinde konumu tahmin etmek mümkündür. DSC termogramlarında ilaç ilavesi ile meydana gelen genişleme ve FTIR faz egrisinde genişleme görülmemesi, ilacın C₂-C₈ bölgesinde değil, membranın daha derinlerinde yer aldığını göstermektedir (YEAGLE, 2005).

Membran bileşenlerin yapısındaki değişimler örneğin lipit düzen ve dinamiğindeki farklılaşmalar günümüzde iyon kanal akımları fonksiyonlarındaki değişimler ile ilişkilendirilmektedir (GARIP v.d., 2010; OZEK v.d., 2010; AWAYDA v.d., 2004; LEE, 2003). Bu değişimler ile çeşitli hastalıklar arasında yakın ilişki olduğu düşünüldüğünden, bahsedilen parametrelerde meydana gelen değişimlerin saptanması bu hastalıkların tedavi edilmesi açısından da büyük önem taşımaktadır (ADIBHATLA and HATCHER, 2007).

Ayrıca bu çalışmada agomelatinin membranlarda konsantrasyona bağlı farklı etki yaptığı görülmüştür. Benzer etki başka ilaçlarla örneğin vitamin D2 nin ve antikanser ilacı olan tamoksifenin membranlarla etkileşmesinde de görülmüştür (KAZANCI v.d.,2001, SEVERCAN v.d., 2000) . Agomelatinde de görülen bu konsantrasyona bağlı bu etkinin daha ayrıntılı olarak saptanması gerekmektedir. Bu nedenle ileriki çalışmalarda ilaç konsantrasyonunun 2 mol % aralıklarla değiştirilerek, konsantrasyona bağlı etkinin hassas olarak saptanması ilacın etkin kullanımı için çok gereklidir.

Sonuç olarak bu proje çalışması depresyon tedavisinde ve uyku düzensizliği hastalıklarının tedavisinde büyük umut vaad eden agomelatin adlı ilaç etkin maddesinin beyin membranında yüksek oranda bulunan DPPC ile Spingomiyelinden elde edilmiş model membranlarla etkileşmesini moleküler düzeyde yapısal (lipid faz geçişi, lipid düzeni, hidrojen bağlanmasının seviyesi) ve fonksiyonel (lipid dinamiği) olarak incelemektedir. Bu çalışmaların beyin membranında bulunan diğer lipidlerden ve tüm bu lipidlerin ikili karışımından oluşan membranlarla devam etmesi gerekmektedir. Daha sonraki aşamada bu ikili lipid karışımlarına proteinleri temsilen model olarak kullanılan

küçük kanal yapıcı peptitler katılabilir.Bu çalışmalar sonuçlandığında ilacın biyolojik beyin membranı ile etkileşmesini ve böylece ilacın etki mekanizmasını daha iyi anlamak mümkün olacaktır.

7.Kaynakça

ADIBHATLA R. M. and Hatcher J. F.,Role of lipids in brain injury and diseases. Future Lipidol. 2, 403-422, (2007).

AGID Y., Buzsáki G., Diamond D.M., Frackowiak R., Giedd J., Girault J.A., Grace A., Lambert J.J., Manji H., Mayberg H., Popoli M., Prochiantz A., Richter-Levin G., Somogyi P., Spedding M., Svenningsson P., Weinberger D., Viewpoint - How can drug discovery for psychiatric disorders be improved?, Nature Reviews Drug Discovery, 6, 3, 189-201, (2007).

AIRAKSINEN, E., Larsson, M.L., Lundberg, I., Forsell, Y., Cognitive functions in depressive disorders: evidence from a population based study, Psychol. Med. 34, 83–91, (2004).

ARENDR J. ve Rajaratnam S.M.W., The British Journal of Psychiatry, 193, 267–269, (2008).

AUSTIN M.P., Mitchell P., Goodwin G.M. ,Cognitive deficits in depression - Possible implications for functional neuropathology, British Journal of Psychiatry, 178, 200-206, (2001).

AWAYDA M.S., Shao W., Guo F., Zeidel M. and Hill W. G., ENaC membrane interactions: regulation of channel activity by membrane order. J. Gen. Physiol. 123, 709-727, (2004).

BODINAT C., Guardiola-Lemaitre B.,Mocaër E. Renard P. Muñoz|| C. Millan M.J., Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development, Nature Reviews Drug Discovery, doi:10.1038/nrd3140, (2010).

BOYAR H., Severcan F., Tamoxifen-model membrane interactions: An FTIR study, J. Mol Structure, 408/409, 265-268, (1997).

BRADRICK T. D., Freire E., Georghiou S., High-sensitivity differential scanning calorimetric study of the interaction of melittin with dipalmitoylphosphatidylcholine fused unilamellar vesicles, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 982, 1, 26, 94-102, (1989).

BRUNELLO N., Mendlewicz J., Kasper S., Leonard B., Montgomery S., Nelson J. C., Paykel E., Versiani M., Racagni G., The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression, *European Neuropsychopharmacology*, 12, 461–475, (2002).

CAKMAK G., Togan I., Uguz C., Severcan F., FT–IR spectroscopic analysis of rainbow trout liver exposed to nonylphenol, *Appl. Spectrosc.*, 57, 835–841, (2003).

CAKMAK G., Togan I., Severcan, F., 17 β -estradiol induced compositional, structural and functional changes on rainbow trout liver, revealed by FTIR spectroscopy: A comparative study with nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 77, 1, 53-63, (2006).

CAMERON P.G., Charette G.M., Automation of Fourier Transform Infrared of Temperature-Induced Phenomena, *Appl. Spectrosc.*, 35, 224, (1981).

CANTOR C.R., Schimmel P.R., *Biophysical Chemistry, Part 1: The conformation of biological macromolecules*, New York, W. H. Freeman and Company, (1980).

CALLADO L.F., Ballesteros J., Uriguen L., Comparative assessment of current antidepressants efficacy and search for new targets and strategies for the treatment of depression, *European Journal of Psychiatry*, 23, 98-103, Suppl. S, (2009).

CASAL H. L., Cameron, D. G., Smith, I. C. P., and Mantsch, H. H., Fourier transform infrared spectra of *A. Laidlawii* membranes, *Biochemistry*, 19: 444-451, (1980).

CASAL H. L., Mantsch, H. H., Polymorphic phase behaviour of phospholipid membranes studied by infrared spectroscopy, *Biochim Biophys Acta*, 779: 381-401, (1984).

CASTELLI F., Grazia Sarpietro M., Messina C., De Lazzari A., Di Rosa D., Giannetto A., Differential scanning calorimetry differences in micronized and unmiconized nimesulide uptake processes in biomembrane models, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19, 237-243, (2003).

CECKLER, T. L., Cunningham, B. A., Transition Stat Thermodynamics of Lipid Bilayers Characterized by Differential Scanning Calorimetry, *The Chemical Educator*, 2,1-17, (1997).

CHAGRAOUI A., Protais P., Filloux T., Mocaër E., Agomelatine (S20098) antagonizes the penile erections induced by the stimulation of 5-HT_{2C} receptors in Wistar rats, *Psychopharmacology* 170, 1, 17–22, (2003).

CHAMBERLAIN, R., Sahakian, B., Cognition in mania and depression: psychological models and clinical implications, *Curr. Psychiatry Rep.*, 6, 451–458, (2004).

CHIU M.H., Wan C.P.L., Weers P.M.M, Prenner J.E., Apolipoprotein III interaction with model membranes composed of phosphatidylcholine and sphingomyelin using differential scanning calorimetry, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1788, 2160–2168, (2009).

CUSSAC D., Newman-Tancredi A., Pateau V., Millan M.J., Antagonist properties of the melatonin agonist S 20098 (Agomelatine) at recombinant, human (h) Serotonin (5-HT_{2c}), receptors, *Int J Neuropsychopharmacol* 5(Suppl), S68, (2002).

DEUPREE J.D., Montgomery M.D., Bylund D.B., Pharmacological properties of the active metabolites of the antidepressants desipramine and citalopram, *European Journal of Pharmacology*, 576, 1-3, 55-60, (2007).

DENNIS E.A., Varela-Nieto I., Alonso A., Membrane Properties of Sphingomyelins, *FEBS Letters*, 531, 33-37,(2002).

DREISSIG I., Machill S., Salzer R., Krafft K., Quantification of brain lipids by FTIR spectroscopy and partial least squares regression, *Spectrochimica Acta Part A*, 71, 2069–2075, (2009).

ESER D., Baghai T.C., Moller H.J., Efficacy and safety of agomelatine in the treatment of depression, *Psychopharmakotherapie*, 15, 2, 51-56, (2008).

FUCHS E., Simon M., Schmelting B., Pharmacology of a new antidepressant: Benefit of the implication of the melatonergic system, *Clinical Psychopharmacology* 21, S17–S20, Suppl 1, (2006).

FUKUYAMA Y., Yoshida S., Yanagisawa S., Shimizu M., A Study on the Differences Between Oral Squamous Cell Carcinomas and Normal Oral Mucosas Measured by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Biospectroscopy*, 5, 117-126, (1999).

GARIP S., Bozoglu F., Severcan F., Differentiation of mesophilic and thermophilic bacteria with FTIR spectroscopy, *Applied Spectroscopy*, 61, 2, 186-192, (2007).

GARIP S., Severcan F., Determination of simvastatin-induced changes in bone composition and structure by Fourier transform infrared spectroscopy in rat animal model., *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52(4),580-588, (2010).

GOODWIN G.M., Effective management of depressed mood with Agomelatine, a melatonergic antidepressant, *European Psychiatry*, 22, S91, Suppl. 1, (2007).

GORGULU S.T., Dogan M., Severcan F. A Novel method in the characterization of Higher Plants, *Applied Spectroscopy*, 63, 2, 194-196, (2007).

H. Hauser, G. Poupart, in: P.L. Yeagle (Ed.). *The structure of biological membranes*, CRC Press. Boca Raton. FL, 1992, pp. 3-71.

HAN J.H., Kushner S.A., Yiu A.P., Hsiang H.L., Buch T., Waisman A., Bontempi B., Neve R.L., Frankland P.W., Josselyn S.A., Selective Erasure of a Fear Memory, *Science* 323, 5920, 1492– 1496, (2009).

HARMER C.J., Serotonin and emotional processing: Does it help explain antidepressant drug action?, *Neuropharmacology*, 55, 6, 1023-1028, (2008).

INOUE T., Shin-ichi Y., Yasuhito M., Masao S., Effect of fatty acids on phase behavior of hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer: saturated versus unsaturated fatty acids, *Chemistry and Physics of Lipids*, 109, 2, 117-133, (2001).

JOCKERS, R., Maurice, P., Boutin, J. A. & Delagrangé, P., Melatonin receptors, heterodimerization, signal transduction and binding sites: what's new?, *Br. J. Pharmacol.* 154, 1182–1195 (2008).

KARP, G., In: *Cell and Molecular Biology*, 2nd ed, Chapter 4. John, Wiley & Sons, Inc, (1999).

KASPER S., Hajak G., Wulff K., Hoogendijk W.J.G., Montejo A.L., Smeraldi E., Rybakowski J.K., Quera-Salva M.A., Wirz-Justice A.M., Picarel-Blanchot F., Bayle F.J., Efficacy of the Novel Antidepressant Agomelatine on the Circadian Rest-Activity Cycle and Depressive and Anxiety Symptoms in Patients With Major Depressive Disorder: A Randomized, Double-Blind Comparison With Sertraline, *Journal Of Clinical Psychiatry*, 71(2), 109-120, (2010).

KAZANCI N., Toyran N., Haris P.I., Severcan F., Vitamin D2 at high and low concentrations exert opposing effects on molecular order and dynamics of dipalmitoyl phosphatidylcholine membranes, *Spectroscopy*, 15, 47-55, (2001).

KENNEDY S.H, Rizvi S.J., Agomelatine in the Treatment of Major Depressive Disorder Potential for Clinical Effectiveness, *CNS DRUGS*, 24(6), 479-499, (2010).

KLERMAN G.L., Cole J., Clinical Pharmacology of Imipramine and Related Antidepressant Compounds, *Pharmacological Reviews*, 17, 2, 101-141, (1965).

KORKMAZ F., Severcan F., Effect of progesterone on DPPC membrane: Evidence for lateral phase separation and inverse action in lipid dynamics, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 440, 2, 141-147, (2005).

KOYAMA T. M., Stevens, C. R., Borda, E. J., Grobe, K. J., and Cleary, D., Characterizing the Gel to Liquid Crystal Transition in Lipid-Bilay Model Systems, *Chem Educator*, 4: 12-15, (1999).

LANNI C., Govoni S., Lucchelli A., Boselli C., Depression and antidepressants: molecular and cellular aspects, *Cellular and Molecular Life Sciences* 66, 18, 2985-3008, (2009).

LEMOINE, P., Guilleminault, C. & Alvarez, E., Improvement in subjective sleep in major depressive disorder with a novel antidepressant, agomelatine: randomized, double blind comparison with venlafaxine. *J. Clin. Psychiatry* 68, 1723–1732 (2007).

LEONARD B., Clinical implications of mechanisms of action of antidepressants, *Advances in Psychiatric Treatment*, 6, 178–186, (2000).

LOO H, Hale A, D'haenen H., Determination of the dose of agomelatine, a melatoninerigic agonist and selective 5-HT_{2C} antagonist, in the treatment of major depressive disorder. A placebo controlled dose range study, *Int Clin Psychopharmacol*, 17, 239–247, (2002).

MC AULEY W.J.; Mader K.T., Tetteh J., Lane M.E., Hadgraft J., Simultaneous monitoring of drug and solvent diffusion across a model membrane using ATR-FTIR spectroscopy, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38, 4, 378-383, (2009).

MACQUEEN G.M., Galway T.M., Hay J., Young L.T., Joffe R.T., Recollection memory deficits in patients with major depressive disorder predicted by past depressions but not current mood state or treatment status, *Psychological Medicine*, 32, 2, 251-258, (2002).

MANTSCH H.H., Biological Applications of Fourier transform infrared spectroscopy. A study of phase transitions in biomembranes, *J. of Molecular Structure*, 113, 201-212, (1984).

MASANA M.I.; Benloucif S., Dubocovich M.L., Circadian rhythm of MT1 Melatonin receptor expression in the suprachiasmatic nucleus of the C3H/HeN mouse, *Journal of Pineal Research*, 28, 3, 185-192, (2000).

MAYERS A.G., Baldwin D.S., The relationship between sleep disturbance and depression, *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 10, 1, 2-16, (2006).

MAVROMOUSTAKOS T., Theodoropoulou E., Yang D.P., The use of high-resolution solid-state NMR spectroscopy and differential scanning calorimetry to study interactions of anaesthetic steroids with membrane, *Biochim Biophys Acta.*, 1328, 1, 65-73, (1997).

MELIN A.M., Perromat A., Deleris G., Pharmacologic application of Fourier transform IR spectroscopy: In vivo toxicity of carbon tetrachloride on rat liver, *Biopolymers (Biospectroscopy)*, 57, 160-168, (2000).

MELIN A.M., Perromat A., Gerard D., Sensitivity of deinococcus radiodurans to γ irradiation: A novel approach by Fourier transform infrared spectroscopy, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 394, 265-274, (2001).

MILLAN M.J., Gobert A., Lejeune F., Dekeyne A., Newman-Tancredi A., Pasteau V., Rivet J-M., Cussac D., The novel melatonin agonist Agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine(2C) receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways , *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306, 3, 954-964, (2003).

NESTLER, E.J., Barrot, M., DiLeone, R.J., Eisch, A.J., Gold, S.J., Monteggia, L.M., Neurobiology of depression, *Neuron*, 34, 13–25, (2002).

NOVATI A., Roman V., Cetin T, Hagewoud R., den Boer J.A., Luiten P.G., Meerlo P., Chronically Restricted Sleep Leads to Depression-Like Changes in Neurotransmitter Receptor Sensitivity and Neuroendocrine Stress Reactivity in Rats , *Sleep*, 31, 11, 1579-1585, (2008).

O'BRIEN J.S., Rouser G., The fatty acid composition of brain sphingolipids: sphingomyelin, ceramide, cerebroside, and cerebroside sulfate, *Journal Of Lipid Research*, 5(3), 339-343, (1964).

O'BRIEN J.S., Sampson E.L., Lipid composition of the normal human brain:gray matter, white matter, and myelin, *Journal Of Lipid Research* , 6 (4) 537-545, (1965).

OWENS M.J., Nemeroff C.B., Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter, *Clinical Chemistry*, 40, 288–295, (1994).

OWEN RT., Agomelatine: A novel pharmacological approach to treating depression, *Drugs Today (Barc)*, 45, 8, 599-608, (2009).

OZEK N.S., Sara Y., Onur R., Severcan F., Low Dose Simvastatin Induces Compositional, Structural and Dynamical Changes on Rat Skeletal Extensor Digitorum Longus Muscle Tissue *Bioscience reports* 30, 1, 41-50, (2010).

PAPP M., Gruca P., Boyer P.A., Mocaie E., Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat , *Neuropsychopharmacology*, 28, 4, 694-703, (2003).

PORTER, R.J., Gallagher, P., Thompson, J.M., Youg, A.H., Neurocognitive impairment in drug-free patients with major depressive disorder. *Br. J. Psychiatry* 82, 214–220, (2003).

POPOLI M., Agomelatine Innovative Pharmacological Approach in Depression, *CNS Drugs*, 23, 27-34, Suppl. 2, (2009).

RAMESH J., Kapelushnik J., Mordehai J., Moser A., Huleihel M., Erukhimovitch V., Novel methodology for the follow-up of acute lymphoblastic leukemia using FTIR microspectroscopy, *Journal of biochemical and biophysical methods*, 51, 251-261, (2002).

ROMAN V., Walstra I., Luiten P.G.M., Meerlo P., Too little sleep gradually desensitizes the serotonin 1A receptor system, *Sleep*, 28, 12, 1505-1510, (2005).

RODRIGUEZ E.H., Imbesi M., Manev R., Uz T., Manev H., The pattern of melatonin receptor expression in the brain may influence antidepressant treatment, *Med Hypotheses.*, 69, 1, 120–124, (2007).

ROSENZWEIG-LIPSON S., Beyer C.E., Hughes Z.A., Khawaja X., Rajarao S.J., Malberg J.E., Rahman Z., Ring R.H., Schechter L.E., Differentiating antidepressants of the future: efficacy and safety. *Pharmacology and Therapeutics*, 113, 134–153, (2007).

ROTENBERG V.S., Indursky P., Kayumov L., Sirota P., Melamed Y., The relationship between subjective sleep estimation and objective sleep variables in depressed patients, *International Journal of Psychophysiology*, 37, 3, 291-297, (2000).

SAN L., Arranz B., Agomelatine: A novel mechanism of antidepressant action involving the melatonergic and the serotonergic system, *European Psychiatry*, 23, 6, 396-402, (2008).

SCHILDKRAUT J.J., The Catecholamine Hypothesis of Affective-Disorders - a Review of Supporting Evidence , *American Journal of Psychiatry*, 122, 5, 509-522, (1965).

SERFATY M.A. , Osborne D. , Buszewicz M.J. , Blizard R., Raven P.W.,A randomized double-blind placebo-controlled trial of treatment as usual plus exogenous slow-release melatonin (6 mg) or placebo for sleep disturbance and depressed mood, *International Clinical Psychopharmacology*, 25(3),132-142,(2010).

SEVERCAN F.; Kazanci N; Zorlu F.;Tamoxifen increases membrane fluidity at high concentrations *Bioscience Reports*, 20, 3, 177-184(2000)

SEVERCAN F., Toyran N., Kaptan N., Turan B., FTIR study of the effect of diabetes on rat liver and heart tissues in the C-H region, *Talanta*, 53, 55-59, (2000a).

SEVERCAN F., Sahin I., Kazanci N., Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes - evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry, *Biochimica et Biophysica Acta- Biomembranes*, 1668, 2, 215-222, (2005a).

SEVERCAN F., Sahin I., Kazanci N., Melatonin strongly interacts with zwitterionic model membranes-evidence from Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1668, 2, 215-222, (2005b).

STRAT Y.L., Gorwood P., Agomelatine, an innovative pharmacological response to unmet needs, *Journal of Psychopharmacology*, 22, 7, suppl, 4-8, (2008).

TAKAHASHI H., French S.M., Wong P.T.T., Alteration in hepatic lipids and proteins by chronic ethanol intake: A high pressure Fourier transform infrared spectroscopic study on alcoholic liver disease in the rat, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 15, 219-223, (1991).

TOYRAN N., SEVERCAN F., Competitive effect of vitamin D₂ and Ca²⁺ on phospholipid model membranes: An FT-IR study, *Chem Phys Lipids*, 123, 2, 165-76, (2003).

TOYRAN N., Zorlu F., Dönmez G., Oğe K., Severcan F., Chronic hypoperfusion alters the content and structure of proteins and lipids of rat brain homogenates: A Fourier transform infrared spectroscopy study, *European Biophysics Journal*, 33, 549-554, (2004).

TUMA J., Strubbe J.H., Mocaer E., Koolhaas J.M., S20098 affects the free-running rhythms of body temperature and activity and decreases light-induced phase delays of circadian rhythms of the rat, *Chronobiology International*, 18, 5, 781-799, (2001).

TURKER S., Wassall S., Stillwell W., Convulsant agent pentylenetetrazol does not alter the structural and dynamical properties of dipalmitoylphosphatidylcholine model membranes, *Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis*, 2, 379-386. ., (2011)

UMEMURA J., Cameron D.G., Mantsch H.H., A Fourier transform infrared spectroscopic study of the molecular interaction of cholesterol with 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, *Biochim Biophys Acta*, 602, 32-44, (1980).

VUKOVIC J, Dragojevic-Simic V, Jandric D, Choice of appropriate antidepressant agent with impaired liver function: case report, *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 105, 137-137, Suppl. 1, (2009).

WEILAND-FIELDER P., Erickson, K., Waldeck, T., Luckenbaug, D.A., De, Pike, Boone, O., Charney, D., Neumeister, A., Evidence for continuing neuropsychological impairments in depression, *J. Affect. Disord*, 82, 253–258, (2004).

ZHAO L., Feng S., Kocherginsky N., Kostetski I., DSC and EPR investigations on effects of cholesterol component on molecular interactions between paclitaxel and phospholipid within lipid bilayer membrane, *International Journal of Pharmaceutics*, 338, 258-266, (2007).

**TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. FERİDE SEVERCAN
Proje No:	210T125
Proje Başlığı:	AGOMELATİN'İN MODEL MEMBRANLAR İLE ETKİLEŞMESİNİN YAPISAL VE İŞLEVSEL AÇIDAN BİYOFİZİKSEL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI
Proje Türü:	Hızlı Destek
Proje Süresi:	12
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	ORTA DOĞU TEKNİK Ü. FEN EDEBİYAT F. BİYOLOJİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/04/2011 - 15/04/2012
Onaylanan Bütçe:	24748.0
Harcanan Bütçe:	24748.0
Öz:	Agomelatin'in, DPPC ve SM model membranları ile etkileşmesi FTIR spektroskopisi ve DSC teknikleriyle incelendi. Agomelatin DPPC membranlarda jel fazda tüm konsantrasyonlarda, sıvı kristal fazda ise düşük konsantrasyonlarda lipit düzenini artırdı, her iki fazda membran dinamiğini azalttı. SM membranlarında ilaç ilavesiyle jel fazda sistem daha düzenli hale geldi. Sıvı kristal fazda ise düşük konsantrasyonda lipit düzensizliği artarken, yüksek konsantrasyonda daha düzenli oldu. Benzer olarak ilaç membran dinamiğini düşük dozlarda azaltırken, yüksek dozlarda arttırdı.
Anahtar Kelimeler:	Agomelatin, DPPC, Spingomyelin, FTIR, DSC
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- AGOMELATİN'İN MODEL MEMBRANLAR İLE ETKİLEŞMESİNİN YAPISAL VE İŞLEVSEL AÇIDAN BİYOFİZİKSEL YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI (Bildiri)