

## АГРЕГАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО АЛКАЛОИДА БЕРБЕРИНА С КОФЕИНОМ И ФУЛЛЕРЕНОМ C<sub>60</sub> В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Меджитов Р.А., Шупова Е.В., Бучельникова В.А., Бучельников А.С.

Севастопольский государственный университет

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ; e-mail: asbuchelnikov@sevsu.ru

Поступила в редакцию: 26.08.2021

**Аннотация.** Работа посвящена исследованию агрегации алкалоида растительного происхождения берберина с кофеином и фуллереном C<sub>60</sub> в водных растворах. Методом спектрофотометрического титрования была исследована агрегация данных молекул. С помощью статико-термодинамических моделей получены оценки равновесных констант агрегации, при этом константа гетероассоциации берберина и кофеина оценена впервые. Методом молекулярного докинга получено подтверждение этих количественных оценок. Полученные результаты находятся в полном согласии с выводами проведенных ранее подобных исследований. Сформулированы направления дальнейшей работы по изучению агрегации берберина с биологически важными молекулами.

**Ключевые слова:** берберин, кофеин, фуллерен C<sub>60</sub>, агрегация, равновесная константа, спектрофотометрия.

### ВВЕДЕНИЕ

Берберин, или 5,6-дигидро-9,10-диметоксибензо[g]-1,3-бензодиоксо[5,6-a] хинолизиний (BER; рис. 1а), является широко распространенным в природе алкалоидом растительного происхождения. Кроме барбариса (*Berberis vulgaris*), которому обязан своим названием, он содержится и во многих других видах растений, чаще всего в корнях. С давних пор препараты берберина использовались для лечения бактериальных инфекций, прежде всего, желудочно-кишечного тракта [1,2]. В последние несколько десятилетий было обнаружено, что берберин эффективен при лечении различных типов рака, сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа, болезней крови, нейродегенеративных заболеваний и некоторых других [1-6]. Количество публикаций, посвященных берберину и его биологической активности, растет экспоненциально, что подтверждает неослабевающий интерес ученых к этому веществу [1,3].

В числе прочих следует выделить исследования молекулярных механизмов медико-биологического действия берберина. Считается, что он проявляет свою активность посредством антиоксидантного и иммуномодулирующего эффектов [7]. Имеется ряд свидетельств в пользу ДНК-тропного действия берберина [8-10], т.е. когда молекула берберина реализует свою активность путем связывания с ДНК (преимущественно интеркаляционного типа). Кроме того, было показано, что берберин в присутствии других соединений резко изменяет индекс своей активности. Так, при добавлении кофеина (CAF; рис. 1б) на порядок уменьшается цитотоксическая активность берберина в отношении клеток рака груди MCF-7 [9], при одновременном введении берберина и пентоксифиллина ослабляется острая почечная недостаточность, вызванная приемом диклофенака [11]. Последнее время активно исследуются взаимодействия берберина с различными наночастицами [12-15], среди которых особое место занимает фуллерен C<sub>60</sub> [13,15]. В частности, было показано, что водный коллоидный раствор фуллерена C<sub>60</sub> усиливает биодоступность берберина за счет того, что является для него своеобразной системой доставки [13].

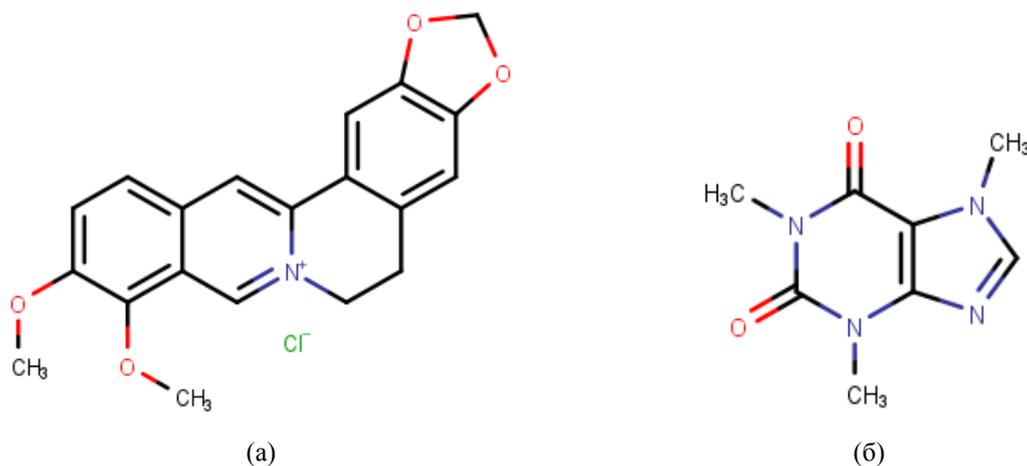


Рисунок 1. Структурные формулы молекул берберина (а) и кофеина (б)

Как правило, подобные исследования, проведенные в конкретных биологических условиях, носят эмпирический характер, и потому их выводы не могут быть непосредственно перенесены на другие системы. Другими словами, бывает сложно предсказать поведение смесей биологически активных соединений в каждом конкретном случае. Выходом из ситуации может быть количественная характеристика взаимодействий этих соединений друг с другом, т.е. нахождение величины равновесной константы их ассоциации, поскольку этот подход максимально независим от внешних условий. В нашем случае необходимо найти константы взаимодействия берберина с кофеином и фуллереном  $C_{60}$ . Решению этой задачи и посвящена настоящая работа. Выбор кофеина обусловлен тем, что, во-первых, он является наиболее распространенным и хорошо изученным производным ксантина, что позволяет проводить сравнительный анализ с другими веществами, и во-вторых, литературный поиск не дал результатов по агрегации берберина и кофеина, а это означает, что система BER-CAF будет исследована в настоящей работе впервые.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Приготовление растворов.*

Раствор фуллерена  $C_{60}$  был приготовлен методом замены растворителя. Сухой порошок фуллерена  $C_{60}$  растворили в толуоле, затем добавили дистиллированную деионизированную воду и сонифицировали в течение нескольких часов в ультразвуковой ванне. Далее образовавшуюся эмульсию аккуратно отобрали шприцем и поместили в колбу. При помощи ротационного испарителя из этой колбы удаляли азеотропную смесь «толуол - вода» при температуре 80-90 °С. Полученный раствор был отцентрифугирован в течение 5 минут при скорости ротора 15000 об/мин. Супернатант использовали без дальнейшей очистки. Характеризация с помощью методов  $^1H$  ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии и спектрофотометрии показала, что водный коллоидный раствор фуллерена  $C_{60}$  не уступает по своим характеристикам таким же растворам, использовавшимся ранее (например, в работе [13]). Концентрация исходного водного коллоидного раствора фуллерена  $C_{60}$  была оценена как 0,21 мг/мл или  $8 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

Порошки хлорида берберина (Sigma Cat. No.: B3251) и кофеина (Sigma Cat. No.: C0750) использовались без дальнейшей очистки. Навески веществ растворялись в дистиллированной деионизированной воде, полученные растворы далее разводились до нужной концентрации. Так, взвесили 1,04 мг порошка берберина с молярной массой 371,81 г/моль и растворили в 35 мл дистиллированной деионизированной воды. Получили раствор берберина с концентрацией  $8 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

Для проведения эксперимента по исследованию агрегации BER-CAF приготовили раствор берберина для разбавления с концентрацией  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л следующим образом: 10 мл исходного раствора берберина смешали с 30 мл воды. Взвесили 61,45 мг порошка кофеина с молярной массой 194,19 г/моль и растворили в 2,637 мл полученного раствора берберина. Получили смесь BER-CAF с концентрациями берберина  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л и кофеина  $1,2 \cdot 10^{-1}$  моль/л.

Из-за наличия фонового поглощения водного раствора фуллерена  $C_{60}$  необходимо проводить синхронное титрование раствора  $C_{60}$  и смеси BER- $C_{60}$ . Для этого в первую кювету налили 0,75 мл раствора фуллерена  $C_{60}$  с исходной концентрацией и добавили 1,25 мл дистиллированной деионизированной воды. Во вторую кювету налили столько же раствора  $C_{60}$ , 0,5 мл исходного раствора берберина и 0,75 мл воды. Таким образом, в обеих кюветках концентрация фуллерена  $C_{60}$  стала одинаковой и равной  $3 \cdot 10^{-4}$  моль/л. Во второй кювете концентрация берберина составила  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Отдельно приготовили раствор берберина для разбавления с концентрацией  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л: 10 мл исходного раствора берберина смешали с 30 мл воды.

### *Спектрофотометрическое титрование.*

Для нахождения равновесных констант ассоциации был выбран простой и вместе с тем достаточно информативный метод спектрофотометрического титрования. Раствор берберина смешивали с водным раствором  $C_{60}$  либо с раствором кофеина и разбавляли раствором берберина той же концентрации ( $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л). Таким образом, на протяжении всего эксперимента концентрация берберина поддерживалась постоянной, в то время как концентрации кофеина / фуллерена  $C_{60}$  изменялись от максимальной концентрации до нуля.

Титрование проводилось в полистироловых кюветках с длиной оптического пути 1 см в диапазоне длин волн 300–550 нм с шагом 0,5 нм. Регистрация спектров осуществлялась с помощью двухлучевого спектрофотометра Lambda 365 (Perkin Elmer, США).

### *Методы численной оптимизации.*

Результатом эксперимента титрованием являлся набор спектров, каждый из которых соответствовал определенной концентрации кофеина / фуллерена  $C_{60}$ . Для каждого набора была получена кривая титрования, т.е. зависимость оптической плотности растворов на длине волны 345 нм, соответствующей максимуму поглощения чистого берберина, от концентрации кофеина / фуллерена  $C_{60}$ .

Для нахождения параметров комплексобразования эти кривые были аппроксимированы статистико-термодинамическими моделями, учитывающими специфику динамического равновесия в том или ином растворе. Аппроксимация была выполнена методом минимизации квадратичной функции невязки вида

$$\Delta = \sum_i (A_i^{\text{exp}} - A_i^{\text{mod}})^2, \quad (1)$$

где  $A_i^{\text{exp}}$ ,  $A_i^{\text{mod}}$  – экспериментальные и теоретические, т.е. рассчитанные по модели, значения оптической

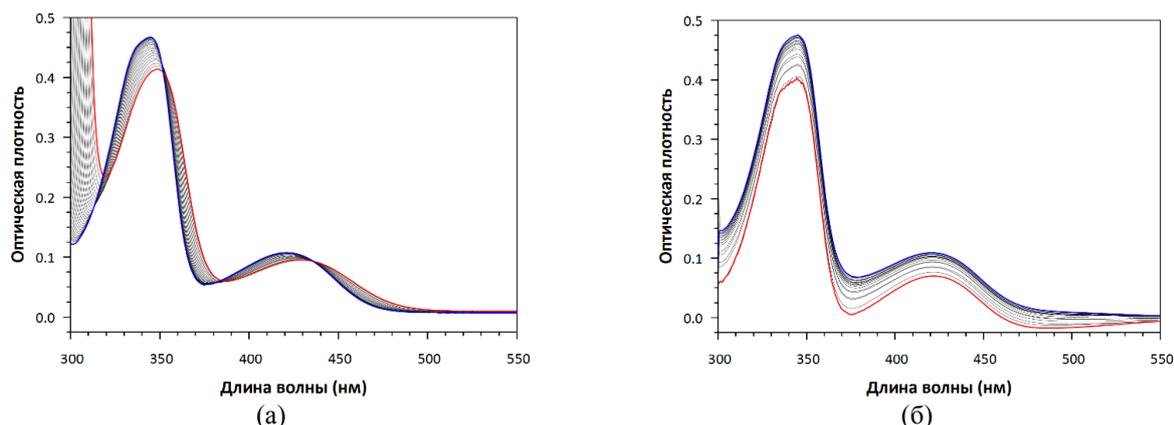


Рисунок 2. Электронные спектры поглощения смесей берберина с кофеином (а) и фуллереном  $C_{60}$  (б)

плотности в  $i$ -й точке кривой титрования. Значения подгоночных параметров считались найденными, если найден минимум функции невязки (1).

Алгоритм численной оптимизации реализован средствами языка программирования Python 3.

*Молекулярный докинг.*

Молекулярное моделирование комплексов берберина с кофеином и фуллереном  $C_{60}$  было выполнено с целью получения пространственных структур комплексов и оценки расположения хромофоров молекул относительно друг друга. Для проведения молекулярного докинга был использован программный пакет AutoDock Vina 1.1.2, позволяющий провести так называемый гибкий докинг (flexible docking) с учетом конформационной подвижности молекул. Визуализация полученных комплексов осуществлена в программе PyMol.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Качественный анализ спектров поглощения.*

Результатом спектрофотометрического титрования явились два набора спектров (рис. 2) при различных концентрациях кофеина / фуллерена  $C_{60}$ .

На рисунке 2а виден bathochromный сдвиг полос поглощения берберина на несколько нанометров одновременно с уменьшением интенсивности поглощения (гипохромный эффект), что подтверждает образование комплексов берберина и кофеина. Отчетливо видны также, как минимум, три изобестических точки, которые указывают на наличие в системе строго фиксированного количества типов комплексов

На рисунке 2б заметно понижение оптической плотности раствора с незначительным изменением профиля спектра. Наиболее вероятно, эти изменения также указывают на образование комплексов между молекулами берберина и частицами водного коллоидного раствора фуллерена  $C_{60}$ .

Проведенный качественный анализ спектров дает основания для использования статистико-термодинамических моделей комплексообразования берберина с кофеином и фуллереном  $C_{60}$  и дальнейшего нахождения значений равновесных констант ассоциации с их помощью.

*Статистико-термодинамическая модель гетероассоциации BER-CAF.*

Молекулы берберина и кофеина имеют в своей структуре планарные сопряженные  $\pi$ -электронные системы, что в сочетании с изложенным выше позволяет предположить образование «стопочных» агрегатов в растворе. Это определяет выбор статистико-термодинамической модели гетероассоциации BER-CAF. Применим модель 1:2 гетероассоциации, опубликованную ранее в работе [16] для количественного описания агрегации бромистого этидия и кофеина.

В рамках модели будем полагать, что молекулы берберина не агрегируют друг с другом, а молекулы кофеина агрегируют друг с другом, образуя димеры. При этом образуется также гетеродимер, содержащий одну молекулу берберина и одну молекулу кофеина. Обозначим мономерную концентрацию берберина через  $x_1$ , а мономерную концентрацию кофеина – через  $y_1$ . Тогда закон сохранения массы выразится системой уравнений следующего вида:

$$\begin{cases} x_0 = x_1 + K_h x_1 y_1 \\ y_0 = y_1 + 2K_y y_1^2 + K_h x_1 y_1 \end{cases}, \quad (2)$$

где  $K_h$ ,  $K_y$  – равновесные константы гетероассоциации и самоассоциации кофеина соответственно,  $x_0$ ,  $y_0$  – общие концентрации берберина и кофеина соответственно.

Поскольку кофеин не поглощает в данном диапазоне длин волн, то его вклад в общее поглощение равен нулю. Поэтому выражение для наблюдаемой оптической плотности выглядит следующим образом:

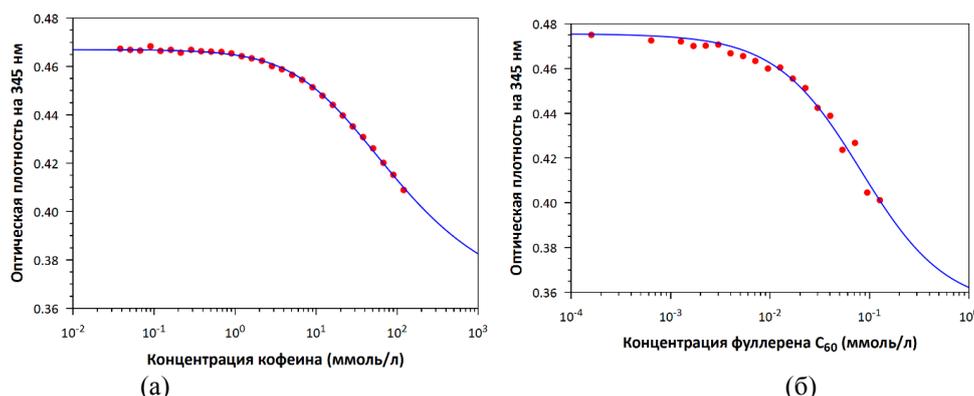


Рисунок 3. Кривые титрования смесей берберина с кофеином (а) и фуллереном  $C_{60}$  (б)

$$A(y_0) = \varepsilon_m x_1 + \varepsilon_h K_h x_1 y_1 = (\varepsilon_m - \varepsilon_h) x_1 + \varepsilon_h x_0, \quad (3)$$

где  $\varepsilon_m$ ,  $\varepsilon_h$  – молярные коэффициенты экстинкции молекулы берберина, находящейся соответственно в мономерном и в связанном с кофеином состоянии. Параметр  $\varepsilon_m$  находится из точки кривой титрования при  $y_0 = 0$  как  $\varepsilon_m = A(0)/x_0$ .

Выражение (3) описывает кривую титрования. При минимизации функционала (1) подгоночными параметрами являются  $K_h$  и  $\varepsilon_h$ .

*Статистико-термодинамическая модель комплексообразования BER- $C_{60}$ .*

При описании комплексообразования берберина с фуллереном  $C_{60}$  применим модель, опубликованную в работе [17] и описывающую агрегацию фуллерена  $C_{60}$  с метиленовым голубым. В рамках данной модели предполагается одновременная посадка до  $N$  молекул берберина на поверхность молекулы фуллерена  $C_{60}$  с микроскопической константой  $K_h$ . Полагая  $y_1$  концентрацией несвязанного фуллерена  $C_{60}$ , запишем систему уравнений закона сохранения массы

$$\begin{cases} x_0 = x_1 + NK_h x_1 y_1 (1 + K_h x_1)^{N-1} \\ y_0 = y_1 (1 + K_h x_1)^N \end{cases}, \quad (4)$$

которая имеет аналитическое относительно  $x_1$  решение в виде:

$$x_1 = \frac{-(1 + NK_h y_0 - K_h x_0) + \sqrt{(1 + NK_h y_0 - K_h x_0)^2 + 4K_h x_0}}{2K_h}. \quad (5)$$

Выражение для наблюдаемой оптической плотности совпадает с выражением (3), поскольку фуллерен  $C_{60}$  не поглощает в заданном диапазоне длин волн (точнее, его фоновое поглощение вычитается из общего спектра смеси). Окончательное выражение для описания кривой титрования записывается в виде:

$$A(y_0) = (\varepsilon_m - \varepsilon_h) \frac{-(1 + NK_h y_0 - K_h x_0) + \sqrt{(1 + NK_h y_0 - K_h x_0)^2 + 4K_h x_0}}{2K_h} + \varepsilon_h x_0. \quad (6)$$

Подгоночными параметрами при фиксированном  $N$  также являются  $K_h$  и  $\varepsilon_h$ .

*Расчет равновесных параметров комплексообразования BER-CAF и BER- $C_{60}$ .*

Для расчета параметров комплексообразования BER-CAF из работы [16] было взято значение константы самоассоциации  $K_y$  кофеина, равное 12 л/моль.

На рисунке 3а изображена экспериментальная кривая титрования точками красного цвета и теоретическая кривая сплошной линией синего цвета. Налицо хорошее соответствие теории (уравнения (2), (3)) эксперименту. На рисунке 3б изображена аналогичная аппроксимация эксперимента уравнением (6), в котором положили  $N = 5$ . Результаты аппроксимации приведены в таблице 1.

Таблица 1. Расчетные параметры комплексообразования BER-CAF и BER- $C_{60}$

Параметр	BER-CAF	BER- $C_{60}$				
		$N = 1$	$N = 2$	$N = 3$	$N = 4$	$N = 5$
$K_h$ , л/моль	22,42	16051,65	6809,11	4319,55	3162,92	2494,85
$\varepsilon_h$ , л/моль·см	18110,83	18020,44	17785,32	17709,30	17671,72	17649,33
$R^2$	0,9990	0,9819	0,9824	0,9825	0,9826	0,9826

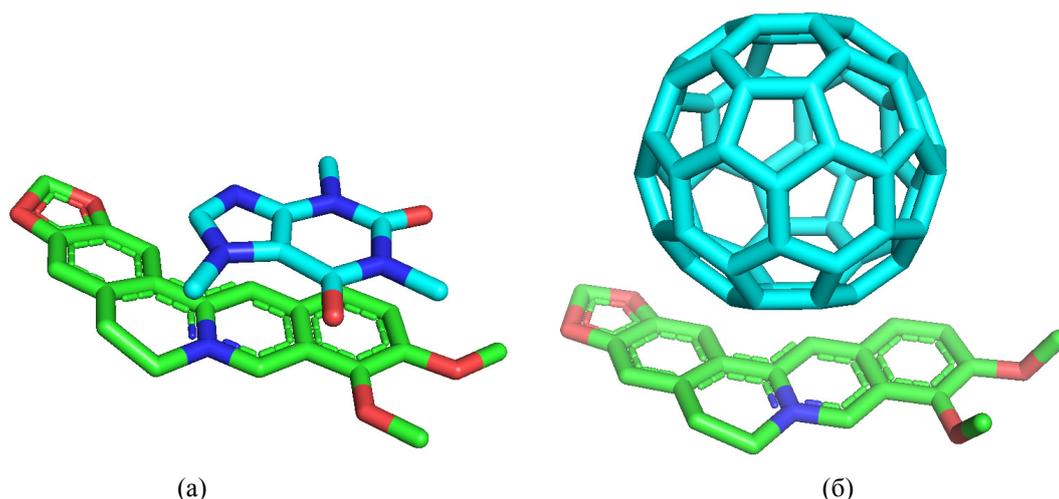


Рисунок 4. Пространственные структуры комплексов берберина с кофеином (а) и фуллереном  $C_{60}$  (б)

Также был проведен расчет при различных  $N$  от 1 до 5. Однако значения коэффициента детерминации (табл. 1) показывают, что качество аппроксимации при уменьшении  $N$  практически не изменяется. Значение равновесной константы агрегации возрастает с уменьшением максимального числа молекул берберина, которые могут одновременно уместиться на поверхности фуллерена  $C_{60}$ .

Полученные результаты находятся в полном согласии с выводами работ [16,17], в которых исследования проводились в схожих условиях. Так, по порядку совпадают константы комплексообразования берберина с кофеином (22 л/моль; константа агрегации бромистого этидия с кофеином оставила 71 л/моль [16]) и с фуллереном  $C_{60}$  (2500 л/моль; константа агрегации метиленового голубого с фуллереном  $C_{60}$  составила 2100 л/моль при том же  $N = 5$  [17]).

*Моделирование пространственных структур комплексов BER-CAF и BER- $C_{60}$ .*

Для визуализации исследуемых комплексов был использован метод молекулярного докинга. В системе BER-CAF в качестве рецептора была выбрана молекула берберина, а в системе BER- $C_{60}$  – молекула фуллерена  $C_{60}$ . На рис. 4 изображены пространственные структуры 1:1 комплексов BER-CAF и BER- $C_{60}$ .

Интересно отметить, что изменения энергии Гиббса  $\Delta G$  реакции комплексообразования в системах BER-CAF и BER- $C_{60}$  по итогам расчета структур равны соответственно -2,8 и -4,8 ккал/моль. Равновесные константы комплексообразования, рассчитанные с помощью уравнения Вант-Гоффа, равны 100 л/моль для BER-CAF и 3300 л/моль для BER- $C_{60}$ , что очень близко к значениям констант, полученным из эксперимента. Таким образом, результаты молекулярного моделирования могут служить дополнительным подтверждением правильности расчетных значений параметров комплексообразования берберина с кофеином / фуллереном  $C_{60}$  из таблицы 1. Для более точного расчета, включая расчет комплексов BER- $C_{60}$  при  $N = 5$ , требуется использовать методы молекулярной динамики.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результатом проведенного исследования является количественная оценка параметров агрегации, в первую очередь, равновесной константы ассоциации, берберина с кофеином и фуллереном  $C_{60}$ . Стоит отметить, что, насколько нам известно, константа комплексообразования BER-CAF была рассчитана впервые. Эти значения прекрасно согласуются с данными аналогичных экспериментов, проведенных ранее. Более того, они подтверждаются предварительными результатами молекулярного моделирования. Все это позволяет сделать вывод о правильности предложенных методов и подходов, а значит развивать данную тематику дальше.

Знание величины константы агрегации позволит в будущем оценить взаимодействие берберина с биологически важными молекулами, прежде всего, ДНК, и, что наиболее важно, сопоставить эту оценку с реальным биологическим экспериментом. В свою очередь, это откроет перспективу управления биологическим действием берберина путем изменения концентраций молекул, с которыми он образует комплексы.

Таким образом, последующие исследования будут связаны с углублением изучения агрегации берберина с кофеином и фуллереном  $C_{60}$ , с изучением связывания его с ДНК, а также поведения берберина в тройных системах Берберин-Лиганд-ДНК. Отдельным вопросом будет молекулярное моделирование всех перечисленных систем с использованием методов молекулярной динамики.

### Список литературы / References:

1. Gao Y., Wang F., Song Y., Liu H. The status of and trends in the pharmacology of berberine: A bibliometric review (1985-2018). *Chin. Med.*, 2020, vol. 15, no. 1, art. no. 7. doi: 10.1186/s13020-020-0288-z
2. Malhotra B., Kulkarni G.T., Dhiman N., Joshi D.D., Chander S., Kharkwal A., Sharma A.K., Kharkwal H. Recent advances on berberis aristata emphasizing berberine alkaloid including phytochemistry, pharmacology and drug delivery system. *J. Herb. Med.*, 2021, vol. 27, art. no. 100433. doi: 10.1016/j.hermed.2021.100433

3. Patel P. A bird's eye view on a therapeutically 'wonder molecule': Berberine. *Phytomedicine Plus*, 2021, vol. 1, no. 3, art. no. 100070. doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100070
4. Sodomova M., Berchova-Bimova K., Marzocco S., Liskova A., Kubatka P., Hassan S.T.S. Berberine in human oncogenic herpesvirus infections and their linked cancers. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 6, art. no. 1014. doi: 10.3390/v13061014
5. Chang W., Chen L., Hatch G.M. Berberine as a therapy for type 2 diabetes and its complications: From mechanism of action to clinical studies. *Biochem. Cell Biol.*, 2015, vol. 93, no. 5, pp. 479-486. doi: 10.1139/bcb-2014-0107
6. Habtemariam S. Recent advances in berberine inspired anticancer approaches: From drug combination to novel formulation technology and derivatization. *Molecules*, 2020, vol. 25, no. 6, art. no. 1426. doi: 10.3390/molecules25061426
7. Kumar A., Ekavali Chopra K., Mukherjee M., Pottabathini R., Dhull D.K. Current knowledge and pharmacological profile of berberine: An update. *Eur. J. Pharmacol.*, 2015, vol. 761, pp. 288-297. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.068
8. Bhadra K., Kumar G.S. Interaction of berberine, palmatine, coralyne, and sanguinarine to quadruplex DNA: A comparative spectroscopic and calorimetric study. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.*, 2011, vol. 1810, no. 4, pp. 485-496. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.01.011
9. Hill G.M. Attenuation of cytotoxic natural product DNA intercalating agents by caffeine. *Sci. Pharm.*, 2011, vol. 79, no. 4, pp. 729-747. doi: 10.3797/scipharm.1107-19
10. Bhowmik D., Hossain M., Buzzetti F., D'Auria R., Lombardi P., Kumar G.S. Biophysical studies on the effect of the 13 position substitution of the anticancer alkaloid berberine on its DNA binding. *J. Phys. Chem. B*, 2012, vol. 116, no. 7, pp. 2314-2324. doi: 10.1021/jp210072a
11. Al-Kuraishy H., Al-Gareeb A., Hussien N. Synergistic effect of berberine and pentoxifylline in attenuation of acute kidney injury. *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.*, 2019, vol. 9, no. 2, art. no. 69. doi: 10.4103/IJCIIS.IJCIIS\_85\_18
12. Kyzyma O., Bashmakova N., Gorshkova Yu., Ivankov O., Mikheev I., Kuzmenko M., Kutovyy S., Nikolaienko T. Interaction between the plant alkaloid berberine and fullerene C<sub>70</sub>: Experimental and quantum-chemical study. *J. Mol. Liq.*, 2019, vol. 278, pp. 452-459. doi: 10.1016/j.molliq.2019.01.062
13. Grebinyk A., Prylutska S., Buchelnikov A., Tverdokhle N., Grebinyk S., Evstigneev M., Matyshevska O., Cherepanov V., Prylutsky Yu., Yashchuk V., Naumovets A., Ritter U., Dandekar T., Frohme M. C<sub>60</sub> fullerene as an effective nanopatform of alkaloid berberine delivery into leukemic cells. *Pharmaceutics*, 2019, vol. 11, no. 11, art. no. 586. doi: 10.3390/pharmaceutics11110586
14. Grebinyk A., Yashchuk V., Bashmakova N., Gryn D., Hagemann T., Naumenko A., Kutsevol N., Dandekar T., Frohme M. A new triple system DNA-Nanosilver-Berberine for cancer therapy. *Appl. Nanosci.*, 2019, vol. 9, no. 5, pp. 945-956. doi: 10.1007/s13204-018-0688-x
15. Grebinyk A., Prylutska S., Grebinyk S., Evstigneev M., Krysiuk I., Skaterna T., Horak I., Sun Y., Drobot L., Matyshevska O., Prylutsky Yu., Ritter U., Frohme M. Antitumor efficiency of the natural alkaloid berberine complexed with C<sub>60</sub> fullerene in Lewis lung carcinoma in vitro and in vivo. *Cancer Nanotechnol.*, 2021, vol. 12, no. 1, art. no. 24. doi: 10.1186/s12645-021-00096-6
16. Baranovsky S.F., Bolotin P.A., Evstigneev M.P., Chernyshev D.N. Interaction of ethidium bromide and caffeine with DNA in aqueous solution. *J. Appl. Spectrosc.*, 2009, vol. 76, no. 1, pp. 132-139. doi: 10.1007/s10812-009-9139-5
17. Buchelnikov A.S., Kostyukov V.V., Yevstigneev M.P., Prylutsky Yu.I. Mechanism of complexation of the phenothiazine dye methylene blue with fullerene C<sub>60</sub>. *Russ. J. Phys. Chem. A*, 2013, vol. 87, no. 4, pp. 662-667. doi: 10.1134/S0036024413040067

#### AGGREGATION OF PLANT ALKALOID BERBERINE WITH CAFFEINE AND C<sub>60</sub> FULLERENE IN AQUEOUS SOLUTION

Medzhitov R.A., Shupova E.V., Buchelnikova V.A., Buchelnikov A.S.

Sevastopol State University

33 Universitetskaya str., Sevastopol, 299053, Russia; e-mail: asbuchelnikov@sevsu.ru

**Abstract.** The work is devoted to the study of aggregation of the plant alkaloid berberine with caffeine and C<sub>60</sub> fullerene in aqueous solutions. The aggregation of these molecules was investigated by UV/Vis titration technique. Statistical thermodynamic models were used to estimate the equilibrium aggregation constants, while the hetero-association constant of berberine and caffeine was estimated for the first time. The molecular docking technique was used to confirm these quantitative estimates. The results obtained are in full agreement with the conclusions of previous similar studies. The directions of further work on the study of the aggregation of berberine with biologically important molecules are formulated.

**Key words:** berberine, caffeine, C<sub>60</sub> fullerene, aggregation, equilibrium constant, UV/Vis spectroscopy.