



Spectroscopic Investigation for Altered Interaction of Five Isoquinoline Alkaloids in Rhizoma Coptidis with Bovine Serum Albumin

Xiaoyan YANG*, Yuanyuan ZHAO, Yuanyuan ZHANG, Qing MIAO,
Peipei MIAO, Jin SU, Baojuan XUE & Yujie ZHANG*

School of Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

SUMMARY. Rhizome *Coptidis* (the rhizome of *Coptis chinensis* Franch), has been commonly employed in traditional oriental medicine for two thousand years, while protoberberine-type alkaloids are considered to be responsible for its pharmacological effects. In spite of the similarities of *Rhizoma Coptidis* alkaloids in structure, there are significant differences in terms of their pharmacological and physiological activities. When it comes to clarifying the intrinsic mechanism, in this investigation, five alkaloids (berberine, jatrorrhizine, palmatine, epiberberine and coptisine) from *Rhizoma Coptidis* were systematically evaluated for their interaction with bovine serum albumins (BSA) through fluorescence quenching technique as well as ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectroscopy. Meanwhile, the equilibrium solubility of five alkaloids in phosphate buffers (pH = 7.4) and their partition coefficients in the *n*-octanol-water/buffer solution systems were determined by a high performance liquid chromatography (HPLC). The results revealed that all alkaloids could powerfully quench the intrinsic fluorescence of BSA by static quenching and binding to it strongly with a single binding site on BSA at 25, 30, and 37 °C; nevertheless, five alkaloids showed different binding ability with BSA and the order of their binding strengths was as follows: jatrorrhizine > coptisine > palmatine > berberine ≈ epiberberine. The thermodynamic parameters, such as free energy (ΔG), enthalpy (ΔH) as well as entropy changes (ΔS) at different temperatures, suggested that five alkaloids binding to BSA were spontaneous inter-molecular interactions. The electrostatic interaction played a major role in stabilizing coptisine-BSA and berberine-BSA complexes, while the hydrophobic effect played an important part in stabilizing jatrorrhizine-BSA, epiberberine-BSA and palmatine-BSA complexes. The synchronous fluorescence and UV-Vis absorption spectra indicated that the polarity around tryptophan residues has experienced a decrease with the presence of alkaloids. Based on above experiments, a theoretical model was established to predict the plasma protein binding rate with the dynamic change concentration of BSA or alkaloids. According to the conclusions as well as physico-chemical constants, it can be deduced that the significant differences among the specific binding between five protoberberine alkaloids and BSA may be closely related to the polarity and molecular flexibility of alkaloids. This study provided valuable information for drug development and clinical application of protoberberine alkaloids.

RESUMEN. Rizoma *Coptidis* (el rizoma de *Coptis chinensis* Franch) se ha empleado comúnmente en la medicina tradicional oriental desde hace dos mil años, donde los alcaloides de tipo protoberberina se consideran responsables de sus efectos farmacológicos. A pesar de las similitudes en la estructura de los alcaloides, hay diferencias significativas en cuanto a sus actividades farmacológicas y fisiológicas. Para tratar de aclarar el mecanismo intrínseco, se evaluaron sistemáticamente cinco alcaloides de *Rhizoma Coptidis* (berberina, jatrorrhizina, palmatina, epiberberina y coptisina) para estudiar su interacción con albúmina de suero bovino (BSA) mediante extinción de la fluorescencia, así como espectroscopía UV-Vis. También se determinó por HPLC la solubilidad de equilibrio de los cinco alcaloides en tampón fosfato (pH = 7,4) y sus coeficientes de partición en los sistemas de solución-octanol-agua *n*/tampón. Los resultados revelaron que todos los alcaloides podrían apagar la fluorescencia intrínseca de BSA por atenuación estática y unión a ella fuertemente con un único sitio de unión en BSA a 25, 30 y 37 °C; sin embargo, los cinco alcaloides mostraron una capacidad de unión distinta con BSA y el orden de sus puntos de unión ha sido el siguiente: jatrorrhizina > coptisina > palmatina > epiberberina ≈ berberina. Los parámetros termodinámicos, como la energía libre (ΔG), entalpía (ΔH), así como cambios de entropía (ΔS) a diferentes temperaturas, sugieren que la unión a BSA fue debida a interacciones inter-moleculares espontáneas. La interacción electrostática desempeñó un papel importante en la estabilización de los complejos coptisina-BSA y berberina-BSA, mientras que el efecto hidrófobo jugó un papel importante en la estabilización de jatrorrhizina-BSA, epiberberina-BSA y los complejos palmatina-BSA. La fluorescencia sincrónica y los espectros de absorción UV-Vis indicaron que la polaridad alrededor de los residuos de triptófano ha experimentado una disminución con la presencia de los alcaloides. Sobre la base de experimentos anteriores, se estableció un modelo teórico para predecir la tasa de unión a proteínas plasmáticas con la concentración de cambio dinámico de BSA o alcaloides. De acuerdo con estas conclusiones, así como por las constantes físico-químicas, se puede deducir que las diferencias significativas entre la unión específica entre los cinco alcaloides y BSA pueden estar estrechamente relacionada con la polaridad y la flexibilidad molecular. Este estudio proporciona información valiosa para el desarrollo de fármacos y la aplicación clínica de alcaloides de tipo protoberberina.

KEY WORDS: Bovine serum albumin (BSA), Fluorescence spectroscopy, Interaction, protoberberine-type alkaloids, *Rhizoma Coptidis*, Structure-activity relationship, UV-Vis spectroscopy.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: zhyj227@126.com (Yujie Zhang), xiaoyanyang811@126.com (Xiaoyan Yang).