

Изучение антибактериальных свойств новых производных кофеина в отношении условно-патогенных бактерий *in vitro*

Е.А. Бондарева¹, Д.В. Решетников², Л.Г. Бурова¹, С.С. Патрушев², Л.Н. Захарова¹,
А.Н. Евстропов¹, Э.Э. Шульц²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Невосприимчивость микробов ко многим классам антимикробных препаратов является глобальной угрозой для здоровья человека и обуславливает необходимость поиска новых соединений, обладающих противомикробным действием, с низкой токсичностью и потенциально широким спектром биологической активности.

Ц е л ь . Изучить *in vitro* способность новых производных ксантинов (кофеина, 1-бутилтеобромона и 7-бутилтеофиллина) подавлять рост *Staphylococcus (S.) aureus*, *Bacillus (B.) cereus*, *Escherichia (E.) coli* и *Pseudomonas (P.) aeruginosa*.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Антибактериальная активность производных ксантинов, синтезированных в лаборатории медицинской химии Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, изучалась *in vitro* методом серийных разведений в жидкой питательной среде в отношении культур *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*.

Р е з у л ь т а т ы . Три вещества, в том числе исходные субстанции – кофеин и 7-бутилтеофиллин, антибактериальных свойств в отношении тест-микробов не проявили. Все исследованные производные ксантинов не подавляли рост *E. coli* и *P. aeruginosa*; 9 соединений, содержащих фрагменты эфиров аминокислот или ацетиленовый заместитель в положении С-8 ксантинового остова, проявили антибактериальную активность в отношении *S. aureus* и (или) *B. cereus*.

З а к л ю ч е н и е . При изучении способности природного ксантина кофеина и 12 его производных подавлять рост культур условно-патогенных бактерий выявлены антибактериальные свойства у ряда аминокислотных производных в отношении *S. aureus* и *B. cereus*. Наилучший эффект продемонстрировали соединения, содержащие фрагменты эфиров альфа- и бета-аминокислот (*L*-валина и бета-фенил-бета-аланина), что определяет перспективность дальнейших исследований.

Ключевые слова: кофеин, ксантины, антибактериальная активность, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Образец цитирования: Бондарева Е.А., Решетников Д.В., Бурова Л.Г., Патрушев С.С., Захарова Л.Н., Евстропов А.Н., Шульц Э.Э. Изучение антибактериальных свойств новых производных кофеина в отношении условно-патогенных бактерий *in vitro* // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(1):45-52. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-1-45-52

Поступила в редакцию 15.07.2022
Прошла рецензирование 29.11.2022
Принята к публикации 17.12.2022

Автор, ответственный за переписку
Евстропов Александр Николаевич: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: evstrop@gmail.com

Received 15.07.2022
Revised 29.11.2022
Accepted 17.12.2022

Corresponding author
Alexandr N. Evstropov: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: evstrop@gmail.com

Study of the antibacterial properties of new caffeine derivatives against opportunistic pathogenic bacteria *in vitro*

E.A. Bondareva¹, D.V. Reshetnikov², L.G. Burova¹, S.S. Patrushev², L.N. Zakharova¹, A.N. Evstropov¹, E.E. Schults²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. The resistance of microbes to many classes of antimicrobial drugs is a global threat to human health and necessitates the search for new compounds with antimicrobial activity, with low toxicity and a potentially wide range of biological activity.

Aim. To study *in vitro* the ability of new xanthine derivatives (caffeine, 1-butyltheobromine and 7-butyltheophylline) to inhibit growth *Staphylococcus (S.) aureus*, *Bacillus (B.) cereus*, *Escherichia (E.) coli* and *Pseudomonas (P.) aeruginosa*.

Materials and methods. The antibacterial activity of xanthine derivatives synthesized in the Laboratory of Medicinal Chemistry of the N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry was studied *in vitro* using serial dilutions in a liquid nutrient medium against *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa* cultures.

Results. Three substances, including the starting material – caffeine and 7-butyltheophylline, did not show antibacterial properties against test microbes. All xanthine derivatives studied did not inhibit the growth of *E. coli* and *P. aeruginosa*; 9 compounds containing fragments of amino acid esters or an acetylene substituent in the position of the C-8 xanthine backbone showed antibacterial activity against *S. aureus* and (or) *B. cereus*.

Conclusion. When studying the ability of natural xanthine caffeine and 12 of its derivatives to inhibit the growth of cultures of opportunistic bacteria, antibacterial properties against *S. aureus* and *B. cereus* were revealed in a number of amino acid derivatives. The best effect was shown by compounds containing fragments of alpha- and beta-amino acid esters (*L*-valine and beta-phenyl-beta-alanine), which determines the prospects for further research.

Keywords: caffeine, xanthines, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Citation example: Bondareva E.A., Reshetnikov D.V., Burova L.G., Patrushev S.S., Zakharova L.N., Evstropov A.N., Shults E.E. Study of the antibacterial properties of new caffeine derivatives against opportunistic pathogenic bacteria *in vitro*. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(1):45-52. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-1-45-52

ВВЕДЕНИЕ

Возникновение микробной невосприимчивости к антибиотикам представляет собой глобальную угрозу для здоровья человека. Особую озабоченность во всем мире вызывает распространение клинических изолятов, обладающих устойчивостью ко многим классам антимикробных препаратов. Количество штаммов среди микробов-оппортунистов, таких как *Staphylococcus (S.) aureus*, *Escherichia (E.) coli*, постоянно растет. По имеющимся данным до 56 % выделяемых метициллинрезистентных штаммов *S. aureus* невосприимчивы к 3–7 группам антимикробных препаратов [1, 2]. В Европе отмечен высокий уровень встречаемости метициллинрезистентных изолятов *S. aureus* – 16.9 %. В России среди нозокомиальных штаммов *S. aureus* частота метициллинрезистентных изолятов достигает 24.9 % [3]. Серьезной проблемой является множественная лекарственная устойчивость *E. coli*. На сегодняш-

INTRODUCTION

The emergence of microbial resistance to antibiotics is a global threat to human health. The spread of clinical isolates that are resistant to many classes of antimicrobial drugs is of particular concern worldwide. The number of strains of opportunistic microbes, such as *Staphylococcus (S.) aureus*, *Escherichia (E.) coli*, is constantly rising. According to available data, up to 56% of methicillin-resistant strains of *S. aureus* have resistance to 3–7 groups of antimicrobial drugs [1, 2]. In Europe, there is a high level of occurrence of methicillin-resistant isolates of *S. aureus* – 16.9%. In Russia, among nosocomial *S. aureus* isolates, the frequency of methicillin-resistant isolates reaches 24.9% [3]. A serious problem is multidrug resistance of *E. coli*. To date, more than 60% of *E. coli* strains are resistant to cephalosporins, including third-generation cephalosporins [4]. The high resistance of *Pseudomonas (P.) aeruginosa* to antibiotics is associated with the formation of biofilm

ний день более 60 % штаммов *E. coli* нечувствительны к цефалоспорином, в том числе к цефалоспорином третьего поколения [4]. Высокая способность *Pseudomonas (P.) aeruginosa* противостоять антибиотикам связана с формированием биопленки и появлением резистентных к большому количеству лекарственных средств клеток персистеров [5].

Вышеизложенное обуславливает необходимость поиска новых соединений, обладающих противомикробным действием, в том числе против условно-патогенных микроорганизмов, с низкой токсичностью и потенциально широким спектром биологической активности. Существенное значение в поиске имеет доступность исходного сырья, возможности для химической модификации и направленного усиления биологической активности первичных субстанций.

Природный 1,3,7-триметилксантин кофеин используется в качестве биостимулятора в медицине [6, 7] и представляет несомненный интерес как соединение-лидер для разработки новых агентов с ценной биологической активностью и пониженной токсичностью [8]. Внимание привлекают исследования, направленные на введение заместителей по положению C-8, поскольку замещение ксантинов по этому положению позволяет предотвратить их быстрое окисление в процессе метаболизма и, возможно, повлиять на антимикробные свойства субстанции [9, 10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить *in vitro* способность новых производных ксантинов (кофеина, 1-бутилтеобромин и 7-бутилтеофиллина) подавлять рост *S. aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosa*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были исследованы исходные субстанции (кофеин, 1-бутилтеобромин и 7-бутилтеофиллин) и производные, синтезированные в лаборатории медицинской химии Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН. Реакцией 8-бромкофеина с гидрохлоридами метиловых или третбутиловых эфиров альфа-аминокислот: глицина, L-валина, фенилглицина, фенилаланина, метионина или метиловым эфиром бета- и омега-аминокислот бета-аланина, бета-фенил-бета-аланина и 9-аминопеларгоновой кислоты синтезировали соответствующие производные, содержащие фрагменты аминокислот в положении C-8 кофеина: Dr-vl, Dr-gc, Dr-pg, Dr-pl, Dr-mt, Dr-in, Dr-pgc, Dr-pn. Производные пуриновых

and the appearance of persister cells that are tolerant to a large number of drugs [5].

The above makes it necessary to search for new compounds with antimicrobial activity, including against opportunistic microorganisms, with low toxicity and a potentially wide range of biological activity. The availability of raw materials, opportunities for chemical modification and targeted enhancement of biological activity of starting material are essential in the search.

Natural 1,3,7-trimethylxanthine caffeine is used as a biostimulator in medicine [6, 7] and is of undoubted interest as a lead-compound for the development of new agents with valuable biological activity and low toxicity [8]. Attention is drawn to studies aimed at the introduction of substituents at the C-8 position, since the substitution of xanthines at this position prevents their rapid oxidation during metabolism and, possibly, affects the antimicrobial properties of the substance [9, 10].

AIM OF THE RESEARCH

To study *in vitro* the ability of new xanthine derivatives (caffeine, 1-butyltheobromine and 7-butyltheophylline) to inhibit the growth of *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*.

MATERIALS AND METHODS

The starting material (caffeine, 1-butyltheobromine and 7-butyltheophylline) and derivatives synthesized in the Laboratory of Medicinal Chemistry of the N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry were studied. During the reaction of 8-bromine-caffeine with hydrochlorides of methyl or tert-butyl esters of alpha-amino acids: glycine, L-valine, phenylglycine, phenylalanine, methionine or methyl ester of beta- and omega- amino acids of beta-alanine, beta-phenyl-beta-alanine and 9-aminopelargonic acid were synthesized the corresponding derivatives containing fragments of amino acids in the C-8 position of caffeine: Dr-vl, Dr-gc, Dr-pg, Dr-pl, Dr-mt, Dr-in, Dr-pgc, Dr-pn. Derivatives of purine alkaloids Dr-172 and Dr-174 were synthesized by the reaction of 8-bromine-7-butyl theophylline or 8-bromine-1-butyltheobromine with beta-alanine methyl ester hydrochloride. To determine the effect of the nature of a substituent at the C-8 position of xanthine backbone, the antibacterial activity of compound Dr 250-4 containing an acetylene substituent at the C-8 position was investigated.

The following strains were used as test cultures: *S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P, *B. cereus* ATCC 10702, *E. coli* ATCC 25922, and *P. aeruginosa* ATCC 9027. These strains were received from the collection of the State Research Center for Applied Biotechnology and Microbiology, Obolensk settlement.

алкалоидов Dr-172 и Dr-174 синтезировали по реакции 8-бром-7-бутилтеофиллина или 8-бром-1-бутилтеобромина с гидрохлоридом метилового эфира бета-аланина. Для определения влияния природы заместителя в положении С-8 ксантинового остова исследовали антибактериальную активность соединения Dr 250-4, содержащего ацетиленовый заместитель в положении С-8.

В качестве тест-культур использованы штаммы *S. aureus* ATCC 6538 FDA 209P, *B. cereus* ATCC 10702, *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 9027 из коллекции ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», пос. Оболенск.

Культивирование бактерий проводили на агаровой и бульонной средах Мюллера – Хинтона в аэробных условиях при температуре +37 °С. Время культивирования составляло 1–2 сут. Анализ антибактериальной активности проводили методом последовательных разведений в жидкой среде в общем объеме 1 мл. Все соединения предварительно растворяли в 0.05 мл диметилсульфоксида и доводили до нужной концентрации 0.9% раствором хлорида натрия. Вносимую дозу культур бактерий определяли по Мак Фарланду и контролировали количество жизнеспособных клеток высевом на плотную питательную среду (табл. 1).

Отсутствие признаков роста в жидкой среде контролировали путем посева на поверхность агаровой среды с последующей инкубацией в стандартных условиях. В качестве отрицательного контроля тест-культуру вносили в 1 мл бульона и культивировали в тех же условиях с последующим посевом на агаровую питательную среду и учетом роста бактерий.

Для каждого соединения, проявившего антибактериальную активность, определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) – наименьшую дозу вещества, полностью подавлявшую рост бактерий [11, 12]. По результатам пяти повторных экспериментов рассчитали средние значения МИК и стандартную погрешность.

Моделирование пленкообразования проводили на фрагментах поливинилхлоридной интубационной трубки, которые полностью погружа-

The bacteria were cultured on Mueller Hinton agar and Mueller Hinton broth under aerobic conditions at a temperature of +37°C. The culturing time was 1–2 days. The analysis of antibacterial activity was carried out using the serial dilutions method in a liquid medium in a total volume of 1 ml. All compounds were previously dissolved in 0.05 ml of dimethylsulfoxide and brought to the desired concentration with 0.9% sodium chloride. The applied dose of bacterial cultures was determined according to McFarland standard, and the number of viable cells was assessed by inoculating a dense nutrient medium (Table 1).

The absence of signs of growth in the liquid medium was verified by plating on the surface of the agar medium, followed by incubation under standard conditions. As a negative control, the test culture was introduced into 1 ml of broth and cultured under the same conditions, followed by plating on an agar medium and evaluation of bacterial growth.

For each compound that showed antibacterial activity, the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined, i.e. the smallest dose of the substance that completely inhibited bacterial growth [11, 12]. Based on the results of five repeated experiments, the average values of the MIC and the standard error were calculated.

Modeling of film formation was carried out on fragments of a polyvinyl chloride tracheal tube, which were completely immersed in a liquid nutrient medium with appropriate dilution of the substance, after which a dose of *S. aureus* was inoculated. On the second day, the tube fragment was withdrawn, washed using 0.9% sodium chloride, and immersed in a 0.02% ethylenediaminetetraacetic acid solution for 10 min to detach bacterial cells; then the obtained material was plated on a dense nutrient medium with the subsequent determination of the MIC.

RESULTS AND DISCUSSION

As a result of the studies, it was found that the starting material – caffeine, 7-butyltheophylline and beta-alanine derivative of 7-butyltheophylline (Dr-172) – did not show antibacterial properties. All xanthine derivatives did not inhibit the growth of *E. coli* and *P. aeruginosa*.

Таблица 1. Вносимые дозы бактериальных культур
Table 1. Inoculated doses of bacterial cultures

№ п/п No.	Бактериальная культура / Bacterial culture	Инокулюм, КОЕ/0.1 мл Inoculum, CFU/0.1 ml
1	<i>S. aureus</i> ATCC 6538 FDA 209P	$(6.39 \pm 0.87) \times 10^3$
2	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	$(6.50 \pm 0.76) \times 10^3$
3	<i>E. coli</i> ATCC 25922	$(6.61 \pm 0.70) \times 10^3$
4	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	$(6.06 \pm 1.11) \times 10^3$

лись в жидкую питательную среду с соответствующим разведением исследуемой субстанции, после чего вносили посевную дозу золотистого стафилококка. На вторые сутки фрагмент трубки извлекали, подвергали отмывке с использованием 0.9% раствора хлорида натрия, затем помещали в 0.02% раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты на 10 мин для открепления бактериальных клеток и далее производили высеивание на плотную питательную среду с последующим определением МИК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что исходные субстанции кофеин, 7-бутилтеофиллин и бета-аланиновое производное 7-бутилтеофиллина (Dr-172) антибактериальных свойств не проявили. Все исследованные производные ксантинов не подавляли рост *E. coli* и *P. aeruginosa*.

Среди субстанций, подавлявших рост *S. aureus* (табл. 2), наилучшую активность показали соединения, содержащие фрагменты трет-бутилового эфира *L*-валина – Dr-vl (МИК = 333.2 ± 57.78 мкг/мл) и метилового эфира β -фенил- β -аланина – Dr-pn (МИК = 408.4 ± 91.65 мкг/мл). Соединение, содержащее в ксантиновой структуре фрагмент длинноцепочечной аминокислоты (9-аминопеларгоновой кислоты) – Dr-pg, полностью ингибировало рост культуры *S. aureus* в дозе 483.3 ± 44.1 мкг/мл, Dr-pl – в дозе 583.3 ± 63.33 мкг/мл. У трех веществ МИК были выше и составили: для кофеин-метионина Dr-mt – 850 ± 76.36 мкг/мл, для кофеин-бета-аланина Dr-in – 866 ± 66.67 мкг/мл, для производного кофеин-глицина Dr-gc – 916.7 ± 60.09 мкг/мл. МИК для бета-аланинового производного 1-бутилтеобромина Dr-174 составила 666.7 ± 60.09 мкг/мл, что ниже, чем МИК для бета-аланиновых производных кофеина Dr-in и 7-бутилтеофиллина Dr-172 (866 ± 66.67 мкг/мл и >1000 мкг/мл соответственно) (см. табл. 2). Производное кофеина Dr-pgc не проявило антибактериальной активности в отношении *S. aureus*.

Для наиболее активных в отношении *S. aureus* соединений – Dr-vl и Dr-pn изучили способность подавлять образование биопленки на поверхности интубационной трубки. Вещество, содержащее фрагмент трет-бутилового эфира *L*-валина (Dr-vl), подавляло способность к пленкообразованию в МИК = 266.7 ± 16.67 мкг/мл, а производное кофеина, содержащее бета-фенил-бета-аланин (Dr-pn) – в МИК = 275 ± 25 мкг/мл.

Among the substances that inhibited the growth of *S. aureus* (Table 2), the compounds containing fragments of *L*-valine – Dr-vl tert-butyl ester (MIC = 333.2 ± 57.78 μ g/ml) and β -phenyl- β -alanine methyl esters – Dr-pn (MIC = 408.4 ± 91.65 μ g/ml) showed the best activity. The compound containing a fragment of a long-chain amino acid (9-aminopelargonic acid) – Dr-pg in the xanthine structure, completely inhibited the growth of *S. aureus* culture at a dose of 483.3 ± 44.1 μ g/ml, Dr-pl – at a dose of 583.3 ± 63.33 μ g/ml. In three substances, the MIC was higher and amounted to: 850 ± 76.36 μ g/ml for caffeine-methionine Dr-mt, 866 ± 66.67 μ g/ml for caffeine-beta-alanine Dr-in, 916.7 ± 60.09 μ g/ml for caffeine-glycine derivative Dr-gc. The MIC for the beta-alanine derivative of 1-butyltheobromine Dr-174 was 666.7 ± 60.09 μ g/ml, which is lower than the MIC for the beta-alanine derivatives of caffeine Dr-in and 7-butyltheophylline Dr-172 (866 ± 66.67 μ g/ml and >1000 μ g/ml, respectively) (see Table 2). The caffeine derivative Dr-pgc showed no antibacterial activity against *S. aureus*.

For the compounds most active against *S. aureus*, Dr-vl and Dr-pn, the ability to inhibit biofilm formation on the surface of the endotracheal tube was studied. The substance, containing a fragment of *L*-valine tert-butyl ester (Dr-vl), inhibited the film formation at MIC = 266.7 ± 16.67 μ g/ml, and the caffeine derivative containing beta-phenyl-beta-alanine (Dr-pn) – at MIC = 275 ± 25 μ g/ml.

Nine amino acid derivatives were able to inhibit the growth of *B. cereus* culture (Table 3). Substances that inhibited the growth of *S. aureus* at a concentration > 500 μ g/ml showed lower MIC values for inhibiting the growth of *B. cereus*. For caffeine-phenylalanine Dr-pl, this indicator was 150 ± 25 μ g/ml, for caffeine-methionine Dr-mt – 150 ± 17.68 μ g/ml and for caffeine-beta-alanine Dr-in – 150 ± 25 μ g/ml. Hybrid compounds Dr-pg, Dr-pgc, Dr-vl had MIC values equal to 233.3 ± 16.67 , 225 ± 25 and 206.2 ± 29.54 μ g/ml, respectively. The caffeine-beta-phenyl-beta-alanine derivative Dr-pn had an antibacterial activity against *B. cereus* in higher concentrations (MIC = 366.7 ± 66.67 μ g/ml). The caffeine-glycine derivative (Dr-gc) – MIC = 583.3 ± 83.33 μ g/ml showed even less activity against *B. cereus*.

Thus, all derivatives of caffeine and 1-butyltheobromine, containing fragments of amino acid methyl esters at the C-8 position of the xanthine backbone, showed antibacterial activity against *S. aureus* and/or *B. cereus* test strains.

Additionally, the antibacterial activity of 8-ethinylcaffeine (Dr 250-4) containing an acetylene substituent at the C-8 position of the xanthine backbone was determined. This compound completely inhibited the growth of *S. aureus* at a concentration

Таблица 2. Антибактериальная активность производных кофеина, содержащих аминокислотные фрагменты, в отношении *S. aureus***Table 2.** Antibacterial activity of caffeine derivatives, containing amino acid fragments, against *S. aureus*

№ п/п No.	Вещество / Substance	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл Minimum inhibitory concentration, µg/ml
1	Dr-pg	483.3 ± 44.1
2	Dr-pl	583.3 ± 63.33
3	Dr-mt	850 ± 76.36
4	Dr-in	866 ± 66.67
5	Dr-vl	333.2 ± 57.78
6	Dr-gc	916.7 ± 60.09
7	Dr-pn	408.4 ± 91.65
8	Dr-174	666.7 ± 60.09
9	Dr-172	>1000

Девять аминокислотных производных оказались способны тормозить рост культуры *B. cereus* (табл. 3). Вещества, которые ингибировали рост *S. aureus* в концентрации > 500 мкг/мл, показали меньшие значения МИК, подавляющие рост *B. cereus*. Для кофеин-фенилаланина Dr-pl этот показатель составил 150 ± 25 мкг/мл, для кофеин-метионина Dr-mt – 150 ± 17.68 мкг/мл и для кофеин-бета-аланина Dr-in – 150 ± 25 мкг/мл. Гибридные соединения Dr-pg, Dr-pgc, Dr-vl имели значения МИК, равные 233.3 ± 16.67, 225 ± 25 и 206.2 ± 29.54 мкг/мл соответственно. Производное кофеин-бета-фенил-бета-аланин Dr-pn оказывало антибактериальное действие в отношении *B. cereus* в более высоких концентрациях (МИК = 366.7 ± 66.67 мкг/мл). Еще меньшую активность в отношении данного тест-микроба проявило производное кофеин-глицин (Dr-gc) – МИК = 583.3 ± 83.33 мкг/мл.

Таким образом, все производные кофеина и 1-бутилтеобромина, содержащие фрагменты

of 587.5 ± 59.07 µg/ml and inhibited the growth of *B. cereus* at a concentration of 383.3 ± 72.65 µg/ml.

CONCLUSION

The ability of natural xanthine caffeine and 12 of its derivatives to inhibit the growth of four cultures of opportunistic bacteria was studied. In most amino acid derivatives of caffeine, the antibacterial properties against *S. aureus* and *B. cereus* have been revealed. The best effect was demonstrated by compounds containing fragments of alpha- and beta-amino acid esters (*L*-valine and beta-phenyl-beta-alanine), which determines the prospects for further research.

Financing. The chemical part of the work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 18-13-00361 P).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Таблица 3. Антибактериальная активность производных кофеина, содержащих аминокислотные фрагменты, в отношении *B. cereus***Table 3.** Antibacterial activity of caffeine derivatives, containing amino acid fragments, against *B. cereus*

№ п/п No.	Вещество / Substance	Минимальная ингибирующая концентрация, мкг/мл Minimum inhibitory concentration, µg/ml
1	Dr-pg	233.3 ± 16.67
2	Dr-pl	150 ± 25
3	Dr-mt	150 ± 17.68
4	Dr-in	150 ± 25
5	Dr-pgc	225 ± 25
6	Dr-vl	206.2 ± 29.54
7	Dr-gc	583.3 ± 83.33
8	Dr-pn	366.7 ± 66.67
9	Dr-174	708.3 ± 41.67

метиловых эфиров аминокислот в положении С-8 ксантинового остова, проявили антибактериальную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* и/или *B. cereus*.

Дополнительно была определена антибактериальная активность 8-этинилкофеина (Dr 250-4), содержащего ацетиленовый заместитель в положении С-8 ксантинового остова. Это соединение полностью ингибировало рост *S. aureus* в концентрации 587.5 ± 59.07 мкг/мл и подавляло рост *B. cereus* в концентрации 383.3 ± 72.65 мкг/мл.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была изучена способность природного ксантина кофеина и 12 его производных подавлять рост четырех культур условно-патогенных бакте-

рий. Выявлены антибактериальные свойства у большинства аминокислотных производных кофеина в отношении *S. aureus* и *B. cereus*. Наилучший эффект продемонстрировали соединения, содержащие фрагменты эфиров альфа- и бета-аминокислот (*L*-валина и бета-фенил-бета-аланина), что определяет перспективность дальнейших исследований.

Финансирование. Химическая часть работы выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-13-00361 П).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guo Y., Song G., Sun M., Wang J., Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus* // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020;10:107. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00107.
- Романов А.В., Дехнич А.В., Сухорукова М.В. и др., исследоват. группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2013–2014 // Клини. микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(1):57–62.
- Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). 2018. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> (дата обращения: 02.12.2022).
- Pormohammad A., Nasiri M.J., Azimi T. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis // Infect. Drug Resist. 2019;12:1181–1197. DOI: 10.2147/IDR.S201324.
- Pang Z., Raudonis R., Glick B.R. et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies // Biotechnol. Adv. 2019;37(1):177–192. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013.
- Chrysant S.G. The impact of coffee consumption on blood pressure, cardiovascular disease and diabetes mellitus // Expert Rev. Cardiovasc. Ther. 2017;15(3):151–156. DOI: 10.1080/14779072.2017.1287563.
- Monteiro J., Alves M.G., Oliveira P.F., Silva B.M. Pharmacological potential of methylxanthines: Retrospective analysis and future expectations // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2019;59(16):2597–2625. DOI: 10.1080/10408398.2018.1461607.
- Faudone G., Arifi S., Merk D. The medicinal chemistry of caffeine // J. Med. Chem. 2021;64(11):7156–7178. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00261.

REFERENCES

- Guo Y., Song G., Sun M., Wang J., Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020;10:107. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00107.
- Romanov A.V., Dekhnich A.V., Sukhorukova M.V. et al. and the “MARATHON” Study Group. Antimicrobial resistance of nosocomial *Staphylococcus aureus* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013–2014. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(1):57–62. (In Russ.)
- Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). (2018). URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf> (accessed 02.12.2022).
- Pormohammad A., Nasiri M.J., Azimi T. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli* strains simultaneously isolated from humans, animals, food, and the environment: a systematic review and meta-analysis. Infect. Drug Resist. 2019;12:1181–1197. DOI: 10.2147/IDR.S201324.
- Pang Z., Raudonis R., Glick B.R. et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Biotechnol. Adv. 2019;37(1):177–192. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013.
- Chrysant S.G. The impact of coffee consumption on blood pressure, cardiovascular disease and diabetes mellitus. Expert Rev. Cardiovasc. Ther. 2017;15(3):151–156. DOI: 10.1080/14779072.2017.1287563.
- Monteiro J., Alves M.G., Oliveira P.F., Silva B.M. Pharmacological potential of methylxanthines: Retrospective analysis and future expectations. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2019;59(16):2597–2625. DOI: 10.1080/10408398.2018.1461607.
- Faudone G., Arifi S., Merk D. The medicinal chemistry of caffeine. J. Med. Chem. 2021;64(11):7156–7178. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c00261.

9. Nehlig A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption // *Pharmacol. Rev.* 2018;70(2):384-411. DOI: 10.1124/pr.117.014407.
10. Kadi A.A., El-Tahir K.E.H., Jahng Y., Kahman A.F.M.M. Synthesis, biological evaluation and Structure Activity Relationships (SARs) study of 8-(substituted) aryloxy-caffeine // *Arab. J. Chem.* 2019;12(8):2356-2364. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.02.021.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К, 2012. Ч. 1. 944 с.
12. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. 2018. URL: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m07/> (дата обращения: 02.12.2022).
9. Nehlig A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacol. Rev.* 2018;70(2):384-411. DOI: 10.1124/pr.117.014407.
10. Kadi A.A., El-Tahir K.E.H., Jahng Y., Kahman A.F.M.M. Synthesis, biological evaluation and Structure Activity Relationships (SARs) study of 8-(substituted) aryloxy-caffeine. *Arab. J. Chem.* 2019;12(8):2356-2364. DOI: 10.1016/j.arabjc.2015.02.021.
11. Mironov A.N. (ed.) (2012). *Guidelines for Preclinical Studies of Medicines*. Moscow: Grif. Part 1. 944 p. (In Russ.)
12. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 11th ed. (2018). URL: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m07/> (accessed 02.12.2022).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бондарева Елена Александровна – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-3921-4677.

Решетников Данила Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории медицинской химии ФГБНУ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1749-1243.

Бурова Любовь Георгиевна – канд. мед. наук, старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9736-6441.

Патрушев Сергей Сергеевич – канд. хим. наук, научный сотрудник лаборатории медицинской химии ФГБНУ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-4932-0091.

Захарова Людмила Николаевна – канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Евстропов Александр Николаевич – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-1551-3154.

Шульц Эльвира Эдуардовна – д-р хим. наук, профессор, заведующий лабораторией медицинской химии ФГБНУ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-0761-9696.

ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Bondareva – Assistant, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-3921-4677.

Danila V. Reshetnikov – Junior Researcher, Laboratory of Medicinal Chemistry, N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1749-1243.

Lyubov G. Burova – Dr. Sci. (Med.), Senior Lecturer, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9736-6441.

Sergey S. Patrushev – Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Medicinal Chemistry, N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-4932-0091.

Lyudmila N. Zakharova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-7933-8394.

Alexander N. Evstropov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-1551-3154.

Elvira E. Schults – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head, Laboratory of Medicinal Chemistry, N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-0761-9696.