



Шмелёва Н.П. ✉, Савинова О.В., Бореко Е.И., Сивец Н.В.

Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Беларусь

## Противовирусная активность Гроприносина в отношении спектра возбудителей актуальных вирусных инфекций

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Вклад авторов:** Шмелёва Н.П. – научное руководство и дизайн исследования; Савинова О.В. – получение данных, обработка результатов, подготовка статьи; Бореко Е.И. – обработка результатов, подготовка и окончательное оформление; Сивец Н.В. – обзор публикаций по теме, редактирование.

Подана: 05.03.2025

Принята: 10.03.2025

Контакты: shmelevanatalia@mail.ru

### Резюме

**Цель.** Изучение противовирусной активности образца лекарственного средства Гроприносин в отношении спектра ДНК- и РНК-содержащих возбудителей актуальных вирусных инфекций человека на культуре клеток.

**Материалы и методы.** В работе использовали SARS-CoV-2, вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) и его вариант, устойчивый к действию ацикловира (ВПГ-1<sub>АЦВ</sub>), аденовирус 5-го типа (АДВ), цитомегаловирус (ЦМВ), респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), риновирус (РВ). Исследования с ЦМВ выполняли на монослойной культуре клеток карциномы легкого человека А549, с остальными вирусами – на перевиваемой культуре Vero Е6 методом оценки ингибирования цитопатического эффекта.

**Результаты.** Максимальная переносимая концентрация (МПК) Гроприносина для культур клеток варьировала от 1600 до 800 мкг/мл. При обработке средой поддержки, содержащей различные концентрации Гроприносина, за 24 ч до инфицирования (схема I) отношение МПК/EC<sub>50</sub> для SARS-Cov-2 составило 48,8; при инфицировании непосредственно перед внесением среды поддержки (схема II) – 156,9. Препарат проявил противовирусный эффект также в отношении репродукции ВПГ-1 при обеих схемах использования (МПК/EC<sub>50</sub> 35,5 и 6,6 соответственно), в том числе в отношении ВПГ-1<sub>АЦВ</sub> (МПК/EC<sub>50</sub> 8,2 и 21,4 соответственно). В отношении остальных вирусов более высокая эффективность установлена при I схеме применения: ЦМВ – МПК/EC<sub>50</sub> 32,8 и 11,6; РСВ – 16,6 и 10,7; АДВ – 30,1 и 6,1; РВ – 21,8 и 7,1 соответственно.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о выраженных противовирусных свойствах испытанного образца препарата Гроприносин в отношении спектра возбудителей актуальных вирусных инфекций человека.

**Ключевые слова:** Гроприносин, SARS-CoV-2, вирусы простого герпеса 1-го типа, ациклоvir-устойчивый ВПГ-1, аденовирус 5-го типа, цитомегаловирус, респираторно-синцитиальный вирус, риновирус, противовирусные свойства

Shmialiova N. ✉, Savinova O., Boreko E., Sivets N.

Research Institute of Hygiene, Toxicology, Epidemiology, Virology and Microbiology  
of the Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Minsk, Belarus

## Antiviral Activity of Groprinosin Against a Spectrum of Pathogens of Current Viral Infections

**Conflict of interest:** nothing to declare.

**Authors' contribution:** Shmialiova N. – scientific supervision and study design; Savinova O. – data acquisition, results processing, article preparation; Boreko E. – processing of results, preparation and finalization; Sivets N. – review of publication on the topic, editing.

Submitted: 05.03.2025

Accepted: 10.03.2025

Contacts: shmelevanatalia@mail.ru

### Abstract

**Purpose.** Study of the antiviral activity of a sample of the drug Groprinosin against a spectrum of DNA and RNA pathogens of current human viral infections in cell culture.

**Materials and methods.** The study used SARS-CoV-2, herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and its variant resistant to acyclovir (HSV-1<sub>ACV</sub>), adenovirus type 5 (ADV), cytomegalovirus (CMV), respiratory syncytial virus (RSV), rhinovirus (RV). Studies with CMV were performed on a monolayer culture of human lung carcinoma cells A549, with other viruses – on a transplantable Vero E6 culture using the method of assessing the inhibition of the cytopathic effect.

**Results.** The maximum tolerated concentration (MTC) of Groprinosin for cell cultures ranged from 1,600 to 800 µg/ml. When treated with the support medium containing different concentrations of Groprinosin 24 h before infection (scheme I), the MIC/EC50 ratio for SARS-Cov-2 was 48.8, when infected immediately before the addition of the support medium (scheme II) – 156.9. The drug also showed antiviral activity against the reproduction of HCV-1 with both schemes of use (MTC/EC50 35.5 and 6.6, respectively), including against HSV-1<sub>ACV</sub> (MTC/EC50 8.2 and 21.4, respectively). With respect to other viruses, higher efficacy was established with scheme I: CMV – MTC/EC50 32.8 and 11.6; RSV – 16.6 and 10.7; ADV – 30.1 and 6.1; RV – 21.8 and 7.1, respectively.

**Conclusion.** The obtained data indicate pronounced antiviral properties of the tested sample of the drug Groprinosin against the spectrum of pathogens of current human viral infections.

**Keywords:** Groprinosin, SARS-CoV-2, herpes simplex virus type 1, acyclovir-resistant HSV-1, adenovirus type 5, cytomegalovirus, respiratory syncytial virus, rhinovirus, antiviral properties

### ■ ВВЕДЕНИЕ

Инфекционные болезни, вызываемые вирусными инфекциями, по частоте и распространенности, а также ущербу, наносимому здоровью людей, продолжают занимать одно из первых мест в структуре общей патологии человека. Этиотропные лекарственные средства, действующие на определенный этап репродукции вирусов,

наряду с вакцинопрофилактикой интерфероном и его индукторами, играют важную роль в борьбе с вирусными инфекциями.

Гроприносин (Groprinosin, инозин пранобекс) – комплексный препарат, сочетающий в себе свойства универсального иммуномодулятора с прямой противовирусной активностью. Под различными торговыми названиями комплекс зарегистрирован в 73 странах (Австрия, Бельгия, Великобритания, Германия, Канада, Польша, Франция, Япония и др.) в качестве лекарственного средства для лечения ряда вирусных и иммунодефицитных заболеваний. Эффективность препарата обусловлена присутствием производного пурина – инозина. Второй компонент – соль 4-ацетамидобензойной кислоты и N,N-диметиламино-2-пропанола – повышает проницаемость биологических мембран для инозина.

Противовирусное действие Гроприносина обусловлено угнетением репликации ДНК и РНК вирусов посредством связывания с рибосомой пораженной вирусом клетки и изменением ее строения на стадии транскрипции, что нарушает образование новых вирусных частиц и уменьшает вирусемию. Иммуностимулирующее действие препарата основано на стимуляции дифференцировки Т-лимфоцитов в цитотоксические Т-клетки и Т-хелперы, на повышении продукции лимфокинов. Гроприносин способствует выработке интерлейкинов 1, 2, интерферона, потенцирует функциональную активность естественных киллеров.

Гроприносин участвует в активации нейтрофилов и моноцитов, усиливает хемотаксис и фагоцитоз, что приводит к нормализации клеточного иммунитета. В то же время, стимулируя дифференцировку В-лимфоцитов в плазматические клетки и повышая продукцию антител, препарат нормализует гуморальный иммунитет [1].

Противовирусная активность Гроприносина в отношении вирусов гриппа А и В *in vitro* была показана нами ранее при проведении лабораторных исследований в 2018 г. Также ранее было установлено противовирусное действие препарата в отношении возбудителя коронавирусной инфекции человека COVID-19 [2]. Исследования *in vitro* в отношении других возбудителей ОРВИ в Республике Беларусь не проводились.

Сезонные вирусные инфекции, переохлаждения, физические и психоэмоциональные перегрузки, недостаток витаминов способствуют снижению активности иммунного ответа и активизации хронического процесса. По статистике, более половины населения инфицированы вирусами герпеса. Поэтому при выборе лекарственного средства для лечения респираторной инфекции следует также учитывать необходимость воздействия на вирусы группы герпеса [3].

## ■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение противовирусной активности Гроприносина в отношении вирусов герпеса, цитомегаловируса, респираторно-синцитиального вируса, аденовируса и риновируса на культуре клеток.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Накопление и хранение вирусов выполняли общепринятыми методами. Работы с вирусосодержащим материалом проводили с соблюдением правил работы с материалом I-II групп риска согласно СанПиН «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки»,

утвержденным постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 6 января 2017 г. № 2 [4], в специально оборудованных защитных технологических линиях персоналом, специально подготовленным для этих работ.

В работе использовали вирусы простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1 штамм 1 С (титр 8,1 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл)) и его вариант, устойчивый к действию ацикловира, – ВПГ-1<sub>АЦВ</sub> (титр 6,1 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл), аденовирус 5-го типа (титр 5,0 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл) из Специализированной коллекции вирусов и бактерий, патогенных для человека, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

Вирус герпеса 5-го типа (цитомегаловирус) штамм AD-169 (титр 6,0 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл), респираторно-синцитиальный вирус человека штамм А2 (титр 3,3 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл), риновирус человека 17 штамм 33342 (титр 5,1 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл) получены из коллекции Influenza Reagent Resource (IRR).

Исследования с цитомегаловирусом выполняли на монослойной перевиваемой культуре клеток карциномы легкого человека А549. С остальными вирусами исследования проводили на перевиваемой культуре клеток почки африканской зеленой марышки Vero Е6. Все культуры клеток производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (лаборатория иммунологии и клеточных технологий).

В качестве ростовой среды для культуры клеток использовали среду DMEM (LT22-9815) с добавлением 10% сыворотки эмбрионов крупного рогатого скота (LT22-4425), оба реагента производства LT Biotech; в качестве среды поддержки – ту же среду без сыворотки.

Гроприносин предоставлен производителем ОАО «Гедеон Рихтер» (Венгрия), серия H29084A, срок годности 09.2025. Таблетку препарата растворяли и готовили двукратные разведения препарата от 1600 до 25 мкг/мл на среде поддержки.

Противовирусные свойства Гроприносина в отношении вирусов исследовали методом оценки ингибирования цитопатического действия вируса (ЦПД) [4]. После формирования на 96-луночных планшетах монослоя клеток ростовую среду заменяли средой поддержки с содержанием Гроприносина в различных концентрациях.

Одну группу инфицировали вирусом спустя сутки инкубации со средой поддержки (группа I – профилактика), вторую группу – непосредственно перед внесением среды поддержки (группа II – лечебная). Доза инфицирования составляла 0,01–0,001 ТЦИД<sub>50</sub>/клетка. После инкубации в СО<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С регистрировали морфологические изменения монослоя клеток (ЦПД вируса, увеличение ×80). После развития цитопатического эффекта вируса вычисляли его инфекционный титр. МПК определяли как максимальную концентрацию веществ, не оказывающую влияния на морфологию культуры клеток.

Инфекционный титр вируса рассчитывали методом Рида и Менча в lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл. Критерием противовирусного действия считали снижение титра вируса в присутствии соединений в сравнении с контролем. Вычисляли также 50% и 90% эффективные концентрации (ЕС<sub>50</sub> и ЕС<sub>90</sub>) и отношение МПК к ЕС<sub>50</sub> и ЕС<sub>90</sub> [5]. Отношения МПК к ЕС<sub>50</sub> и ЕС<sub>90</sub> применяли в качестве величин, свидетельствующих о широте диапазона активных нетоксичных концентраций вещества. Обработку полученных данных (вычисление титра вируса и средней ошибки) выполняли общепринятыми методами статистики для малых значений n в несгруппированном ряду данных [6]. ЕС<sub>50</sub> и ЕС<sub>90</sub> вычисляли с использованием компьютерной программы Fung K.P. [7], основанной на пробит-анализе и взвешенной линейной регрессии.

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При выполнении исследований установлено, что МПК препарата варьировала от 1600 до 800 мкг/мл. На основе результатов оценки ЦПД в группах с различными разведениями инфицирующего вирусосодержащего материала вычисляли титр вируса, определяли величину снижения титра вируса в сравнении с контрольной группой. Для дополнительной оценки противовирусной активности препарата были вычислены значения  $EC_{50}$  и  $EC_{90}$ , а также диапазон эффективных концентраций, нетоксических для культур клеток (широта фармакологического действия, отношение МПК/ $EC_{50}$  и МПК/ $EC_{90}$ ) (см. таблицу).

При I схеме обработки среднеэффективная концентрация для SARS-Cov-2 составила 16,4 (18,4÷14,6) мкг/мл, при II схеме – 5,1 (21,9÷1,2) мкг/мл. Диапазон эффективных концентраций, нетоксических для культуры клеток с вирусингибирующим действием, составил 12,1 (исходя из величины  $EC_{90}$ =65,8 мкг/мл, группа I) и 8,0 (исходя из величины  $EC_{90}$ =99,5 мкг/мл, группа II). Согласно принятой оценке степени выраженности противовирусного действия, возбудитель высокочувствителен к действию препарата (степень активности оценивается как высокая). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высокой степени противовирусного действия испытанного образца препарата при разных схемах обработки клеток.

Также Гроприносин проявляет противовирусный эффект в отношении репродукции вируса герпеса 1-го типа при обеих схемах использования. Однако более широкий диапазон активных концентраций и наибольшая активность установлены в группе I, где инфицирование проводили после суток инкубации со средой поддержки, содержащей препарат: МПК/ $EC_{50}$  35,5, МПК/ $EC_{90}$  15,8. В отношении варианта герпеса 1-го типа, устойчивого к действию ацикловира (ВПГ-1<sub>АЦВ</sub>), более эффективна I схема применения препарата: МПК/ $EC_{50}$  21,4, МПК/ $EC_{90}$  12,7.

**Вычисленные значения  $EC_{50}$  и  $EC_{90}$  противовирусной активности Гроприносина**  
**Calculated  $EC_{50}$  and  $EC_{90}$  values of antiviral activity of Groprinosin**

| Вирус                | $EC_{50}/EC_{90}$ , мкг/мл               |   | МПК/ $EC_{50}$ ,<br>МПК/ $EC_{90}$ |              | Оценка степени активности |           |
|----------------------|--|---|------------------------------------|--------------|---------------------------|-----------|
|                      | группа I                                 | группа II                                   | группа I                           | группа II    | группа I                  | группа II |
| SARS-CoV-2*          | 16,4 (18,4÷14,6)<br>65,8 (73,9÷58,6)     | 5,1(21,9÷1,2)<br>99,5 (415,8÷22,9)          | 48,8<br>12,1                       | 156,9<br>8,0 | высокая                   | высокая   |
| ВПГ-1                | 45,0 (48,9÷41,4)<br>101,1 (109,9÷93,0)   | 120,48 (122,9÷118,1)<br>199,0 (202,9÷195,1) | 35,5<br>15,8                       | 6,6<br>4,0   | высокая                   | средняя   |
| ВПГ-1 <sub>АЦВ</sub> | 97,0 (110,2÷85,4)<br>323,6 (367,5÷284,9) | 74,9 (81,1÷69,3)<br>125,6 (135,8÷116,1)     | 8,2<br>2,3                         | 21,4<br>12,7 | средняя                   | высокая   |
| ЦМВ                  | 48,8 (59,6÷40,0)<br>289,6 (353,6÷237,2)  | 68,8 (81,4÷58,2)<br>377,05 (445,6÷319,0)    | 32,8<br>5,5                        | 11,6<br>2,1  | высокая                   | низкая    |
| РСВ                  | 96,5 (108,2÷86,1)<br>418,1 (468,7÷372,9) | 149,2 (308,4÷72,1)<br>1187,2 (2454,4÷574,2) | 16,6<br>3,8                        | 10,7<br>1,3  | средняя                   | низкая    |
| АДВ                  | 53,2 (59,6÷47,4)<br>142,5 (159,8÷127,1)  | 132,0 (191,4÷91,1)<br>464,5 (673,4÷320,4)   | 30,1<br>11,2                       | 6,1<br>1,7   | высокая                   | низкая    |
| РВ                   | 36,6 (39,8÷33,7)<br>76,4 (83,0÷70,3)     | 112,05 (193,0÷65,0)<br>794,5 (1368,7÷461,2) | 21,8<br>10,5                       | 7,1<br>1,0   | высокая                   | низкая    |

Примечание: \*обработка данных, приведенных в работе [2], с остальными вирусами – из отчета по НИР рег. № НИР 20231404.

В отношении цитомегаловируса наиболее эффективной оказалась I схема применения, регистрируется широкий диапазон активных концентраций: МПК/ЕС<sub>50</sub> 32,8, МПК/ЕС<sub>90</sub> 5,5.

В отношении РСВ препарат характеризовался средней активностью при I схеме применения: МПК/ЕС<sub>50</sub> 16,6 и МПК/ЕС<sub>90</sub> 3,8. В группе II активность препарата в отношении РСВ была низкой: МПК/ЕС<sub>50</sub> 10,7 и МПК/ЕС<sub>90</sub> 1,3.

В отношении репродукции аденовируса препарат проявил высокую активность при I схеме применения: МПК/ЕС<sub>50</sub> 30,1 и МПК/ЕС<sub>90</sub> 3,2 – и низкую при II схеме: МПК/ЕС<sub>50</sub> 6,1 и МПК/ЕС<sub>90</sub> 1,7.

МПК/ЕС<sub>50</sub> и МПК/ЕС<sub>90</sub> Гропринозина в экспериментах с риновирусом по I схеме применения составили 21,8 и 10,5 соответственно, что характеризует активность препарата как высокую. При II схеме применения активность препарата в отношении риновируса очень низкая: МПК/ЕС<sub>50</sub> 7,1 и МПК/ЕС<sub>90</sub> 1,0.

Как видно из представленных данных, противовирусная активность в отношении разных вирусов различается. Наиболее выраженное снижение титра вируса (>3,32 Ig ТЦИД<sub>50</sub>/мл) было зарегистрировано в отношении РСВ при применении Гропринозина по I схеме в МПК (1600–800 мкг/мл), однако это не сопровождалось высоким отношением МПК/ЕС<sub>90</sub> (3,8). Значительно более широкий диапазон активных концентраций Гроприносин показывает при I схеме применения в отношении ВПГ-1 и аденовируса. При II схеме постановки эксперимента наиболее широкий диапазон активных концентраций установлен в отношении ВПГ-1<sub>АЦВ</sub> (МПК/ЕС<sub>90</sub> 12,7).

## ■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о выраженных противовирусных свойствах испытанного образца препарата Гроприносин, серия Н29084А, срок годности 09.2025, в отношении возбудителей вирусных инфекций человека.

Наибольшую активность препарат демонстрирует в отношении всех исследованных вирусов при предобработке клеточного монослоя. В группе II (лечебная) наибольшую активность Гроприносин демонстрирует в отношении варианта герпеса 1 С, устойчивого к действию ацикловира. Наименьшую активность в этой группе препарат проявляет в отношении риновируса.

## ■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Latsheva T.V., Pavlova K.S. Comparative assessment of the effectiveness of Groprinosin and conventional therapy in patients frequently and long-term suffering from respiratory viral diseases. *Klin. pharmacol. ter.* 2016;25(4):36–40. (In Russian)
2. Savinova O.V., et al. Study of the antiviral activity of Groprinosin against the causative agent of coronavirus infection SARS-CoV-2 in vitro. *Recipe.* 2022;25(1):46–51. (In Russian)
3. Melekhina E.V., et al. Experience of using the drug inosine pranobex in children with recurrent respiratory infections. *RMJ.* 2021;6:27–32. (In Russian)
4. Safety requirements for work with opportunistic microorganisms and pathogenic biological agents, for the organization and implementation of their accounting, storage, transfer and transportation, approved by the Resolution of the Ministry of Health of the Republic of Belarus dated January 6, 2017 No. 2. (In Russian)
5. Votyakov V.I., et al. (1986) *Primary study of antiviral properties of synthetic and natural compounds: method. recommendations.* Minsk: Belarusian Research Institute of Epidemiology and Microbiology. (In Russian)
6. Rokitsky P.F. (1973) *Biological statistics: a textbook.* 3rd ed., corrected. Minsk: Higher School. (In Russian)
7. Fung K.P. A computer program in BASIC for estimation of ED50 and LD50. *Comput Biol Med.* 1989;19(2):131–5. doi: 10.1016/0010-4825(89)90005-x