

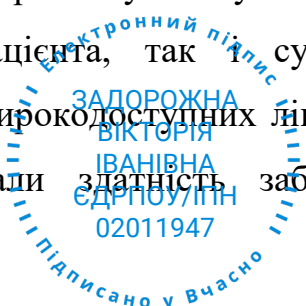
Голові разової спеціалізованої вченої ради
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України
доктору біологічних наук, старшому
науковому співробітнику, завідуючій
лабораторії вірусів рослин Інституту
мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України
Кириченко Ангеліні Миколаївні

ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора, член-кореспондента НАМН України, в.о. директора Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України Задорожної Вікторії Іванівни на дисертацію Заремби Андрія Анатолійовича на тему: «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2», подану до захисту на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія та Біохімія

Актуальність теми дисертаційної роботи

Незважаючи на тривале вивчення вірусів людини, значний прогрес в технології їх молекулярно-генетичних досліджень та навіть можливість відтворення життєздатних штучних вірусів, залишається значна низка невирішених проблем, що обмежує ефективність реагування як на відомі вірусні загрози, так і на емерджентні інфекції, прикладом яких є COVID-19. Віруси є найбільш швидко еволюціонуючою формою життя на нашій планеті і, на жаль, значна частка серед них є патогенною. Робота Заремби А.А. присвячена вивченню 2 із них, а саме вірусу SARS-CoV-2 (емерджентний для людини збудник) і вірусу Епштейна-Барр (ВЕБ) (давно відомий персистуючий вірус) — двом дуже різним в багатьох аспектах патогенам, але подібним у постійному щорічному тиску на світову систему охорони здоров'я та за тягарем як для пацієнта, так і суспільства загалом. Очевидною є критична потреба у широкодоступних лікарських засобах із специфічною дією на ці патогени, які б мали здатність забезпечити вірусний кліренс та повернути пацієнта до



повноцінного життя. Саме фундаментальні підходи щодо пошуку і розробки нових лікарських засобів проти ВЕБ та SARS-CoV-2 були покладені в основу роботи автора.

Ступінь обґрунтованості наукових положень і висновків, сформульованих у дисертації, та їх відповідність темі дисертації

Наукові положення і висновки логічно витікають із змісту дисертаційної роботи, яка має класичну структуру. Вона складається зі вступу, 2 розділів огляду літератури, розділу методології роботи, 2 розділів, що висвітлюють результати оригінальних досліджень, розділу обговорення результатів та висновків.

У вступі надано коротке обґрунтування передумов і актуальності теми дослідження, мету, об'єкт, предмет, відповідні до мети завдання, а також ряд загальних характеристик роботи, які дають первинне розуміння значення отриманих результатів, ступеня їх висвітлення в публікаціях і ролі здобувача в усіх процесах.

У першому розділі огляду літератури дисертант підсумовує інформацію щодо молекулярних особливостей та механізмів життєвих циклів вірусів Епштейна-Барр і SARS-CoV-2. Опираючись на опубліковані дані, він описує структури віріонів і геномів цих патогенів, те, яким чином відбувається ураження пермісивних клітин, зокрема первинна рецепція і проникнення. Дисертант на рівні молекулярних взаємодій характеризує процеси, які лежать в основі реалізації генетичної програми кожного з патогенів, а у випадку ВЕБ — яким чином відбувається перехід між різними варіантами латентності та між латентною та літичною частинами життєвого циклу. Також автор оцінює сучасний стан розробки та пошуку специфічних препаратів проти цих вірусів. Загалом перший розділ роботи забезпечує контекстуальне розуміння ключової ролі S-глікопротеїну і його рецепторзв'язуючого домену у випадку SARS-CoV-2, а ВНRF1 – у випадку ВЕБ із чітким обґрунтуванням перспективи кліренсу ВЕБ за умови націлювання активної складової лікарського засобу на його геном.

У другому розділі огляду літератури описуються методологічні передумови власного дослідження автора. Він оцінює все різноманіття методів структуро

орієнтованого дизайну ліків — від побудови цільової макромолекули на основі сиквенсу до *de novo* розробки малих лігандів, безпосередньо виходячи з даних тривимірної структури цілі. Характеризує переваги та недоліки кожного з широкого спектру описаних підходів і чітко постулює ключову роль дослідника як фігури, яка повинна бути залучена на кожному з етапів *in silico* розробки нових біологічно активних молекул.

Третій розділ дисертації присвячений методам і підходам, які були застосовані в роботі. Охарактеризовано джерела отримання статистичних даних, які використані для порівняльного аналізу поширення різних варіантів SARS-CoV-2 у загальній популяції цих вірусів на різних географічних територіях із урахуванням різних за своїм соціально-економічним розвитком країн. Показано, яким чином відбувалася підготовка бібліотек лігандів і макромолекул, які програмні інструменти були застосовані. Подальші процеси віртуального скринінгу на основі масового молекулярного докінгу та симуляції молекулярної динаміки також є описаними на високому і достатньому для повторення досліджень рівні. Це ж стосується і обрахунку вільної енергії зв'язування та аналізу отриманих результатів. У цій частині роботи Заремба А.А. чітко описав, яким чином він зумів інтегрувати послідовні етапи аналізу, модифікації і симуляції задля створення нових лігандів, опираючись майже виключно на структуру рецептора. Загалом цей розділ формує чітке розуміння методології роботи.

Четвертий розділ дисертації є першим розділом, присвяченим власним результатам роботи. У ньому дисертант надав дані тестування розроблених ним інгібіторів репродукції вірусу Епштейна-Барр. На основі того, що ЕВАІ (Epstein-Barr Antiapoptotic Inhibitor) здатен у 2 паралельних симуляційних експериментах відновлювати своє положення в межах ВНЗ-зв'язуючої ділянки ВНRF1, показано його високий потенціал до інгібування антиапоптотичної дії цього віропротеїну. Не обмежуючись лише однією ціллю і очевидно маючи на увазі потребу в розробці агентів, здатних прямо таргетувати вірусну ДНК, у наступній частині розділу дисертант описує результати дослідження хімічних конструкцій,

отриманих шляхом глибокої ітеративної модифікації біс-інтеркалятора XR5944 — HASDI і HASDI-G2. У випадку HASDI шляхом диференційного експерименту, який включав дві симуляції, де послідовністю інтеркаляції були послідовність націлювання і ген KCNH2, дисертант показав набагато більшу спорідненість цієї конструкції до цільової послідовності ніж до випадкової частини геному людини. Для підтвердження цього твердження автор, окрім структурних параметрів, використав і енергетичні дані. Однак, як було зазначено в роботі, не підтвердилося очікуване явище прямої дестабілізації комплексу HASDI з нецільовою послідовністю, що свідчить про завищений внесок неселективних сил у комплексоутворення. Враховуючи це явище, автор розробив і описав результати дослідження HASDI-G2 як покращеної версії HASDI. Шляхом диференційного експерименту, який включав 7 симуляцій цієї конструкції у комплексі з ДНК-дуплексами різної ступні відміни від еталону, було підтверджено, що поряд із збереженням високого рівня спорідненості до цілі покращена конструкція володіє здатністю розпізнавати послідовності, які відрізняються навіть однією нуклеотидною парою — спостерігалась чітка дестабілізація таких комплексів. З цього розділу чітко стає зрозумілим, які конструкції були розроблені дисертантом і чому він вважає, що вони є перспективними з точки зору подальшої протидії вірусу Епштейна-Барр.

У п'ятому розділі дисертант описує процес розробки і пошуку нових низькомолекулярних сполук - інгібіторів первинної рецепції в контексті емерджентного патогену, яким є SARS-CoV-2. При чому, на відміну від ВЕБ, дисертант побудував цей процес, починаючи з відповідей на фундаментальні питання еволюційних особливостей цього патогену, які дозволили створити базис для ідентифікації нової придатної для пошуку ліків кишені на поверхні RBD S-глікопротеїну і в кінцевому рахунку розробки ліганду з потенціалом до взаємодії з RBD чотирьох варіантів SARS-CoV-2. Різниця в підходах очевидно пов'язана з відсутністю на момент проведення досліджень повного спектру необхідних даних щодо цього нового для людської популяції вірусу. Зокрема автором було проаналізовано доступну з відкритих джерел інформацію щодо поширення різних

варіантів SARS-CoV-2, ступеня мобільності населення, рівнів охоплення вакцинацією, захворюваності і летальності для Індії, Німеччини та України. Порівняння зазначених параметрів в контексті локальних особливостей розвитку пандемії в популяціях цих країн за дворічний період дозволило ідентифікувати стійкі закономірності у зміні штамового розмаїття. Повторюване в різних популяціях надзвичайно швидке витіснення одним варіантом інших під дією фактору позитивного відбору було інтерпретоване здобувачем як фундаментальна ознака SARS-CoV-2, пов'язана з широким різноманіттям постійно циркулюючих варіантів патогену. Як зазначається, успішний антиковідний засіб повинен бути стійким до мутацій в зоні його взаємодії.

Наступним кроком здобувача було глибоке дослідження молекулярних особливостей ACE2-зв'язуючої ділянки RBD різних варіантів SARS-CoV-2 на предмет консервативної кишені, придатної для націленої розробки малої молекули. Така кишеня була ідентифікована. Під час 4 симуляційних досліджень було показано, що комплекси розробленої речовини з RBD варіантів Ухань, Омікрон, Дельта та Кластер 5 (був певний час поширений серед фермерів у Данії, що вирощують норок, та їхніх домашніх контактів) є схожими за своєю високою стабільністю, а енергетичний вигравш комплексоутворення є однаково високим. Додатковим, але не менш важливим дослідженням, описаним у цьому розділі, є пошук можливих лігандів RBD серед вже ліцензованих лікарських засобів. Здобувач у кілька етапів, які включали поступову фільтрацію бібліотеки сполук на основі даних молекулярного докінгу і симуляції молекулярної динаміки, визначив, що кетодаролутамід є єдиною молекулою з потенціалом до формування стабільного комплексу з RBD.

У шостому розділі дисертаційної роботи узагальнено отримані результати, проведено їх обговорення з урахуванням даних світового і вітчизняного наукового досвіду, обґрунтовано власну наукову позицію про високий потенціал як розроблених речовин, так і використаної методології, з урахуванням впливу можливих ризиків, одночасно демонструючи перспекиви подальших досліджень.

У висновках, які є заключною частиною дисертації, тезисно підсумовуються основні результати з їх інтерпретацією зі сторони загальнонаукових і практичних перспектив, не оминаючи, при цьому, слабких сторін, притаманних виключно розрахунковим дослідженням.

Загалом у роботі Заремби А.А. представлені результати тестування розроблених і ідентифікованих методами структуро орієнтованого дизайну молекулярних конструкцій, націлених на ключові біологічні макромолекули вірусів Епштейна-Барр і SARS-CoV-2. Тож назва дисертації повністю відповідає її суті. Усі положення роботи, які детально розглянуті в її розділах та критично опрацьовані в обговоренні, є науково обґрунтованими і повністю відповідають як завданням, так і висновкам дисертації.

Ступінь методологічної достовірності та науково-фундаментального значення отриманих результатів

У розділі дисертації «Методологія роботи» чітко і детально описано кожен із використаних методів і підходів. Це порівняльний аналіз масивів даних, молекулярний докінг в контексті масового віртуального скринінгу, симуляція молекулярної динаміки і «End-Point»-методи розрахунку вільної енергії зв'язування MM/PBSA і MM/GBSA. Як окремий підхід, який органічно поєднує останні 2 методи, є ітераційне покращення спорідненості ліганду до цілі на основі структури. Кожен із зазначених методів є реалізованим на високому сучасному рівні, що також підтверджується і публікаціями дисертанта.

Зі сторони науково-фундаментального значення отриманих результатів, так само, як і їх **новизни**, слід зазначити, що здобувачем вперше на момент проведення досліджень:

- розроблено хімічну структуру, потенційно здатну виступити низькомолекулярним інгібітором антиапоптотичного фактору вірусу Епштейна-Барр білка BHRF1 – EBAl;

- розроблено молекулярні конструкції, здатні сиквенспецифічно таргетувати ДНК ВЕБ, утворюючи стабільні комплекси з ДНК гену EBNA1 (HASDI і HASDI-G2);

- ідентифіковано кишеню в межах hACE2-зв'язуючого інтерфейсу RBD, придатну для використання в структуроорієнтованому дизайні ліків і присутню в різних варіантах SARS-CoV-2;

- розроблено низькомолекулярну хімічну структуру, потенційно здатну виступити інгібітором взаємодії RBD з hACE2. При чому не лише у випадку варіанту Ухань, а і варіантів Омикрон, Дельта та Кластер 5;

- визначено, що затверджений FDA антиандроген кетодаролутамід має потенціал до зв'язування RBD в зоні його взаємодії з hACE2.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів, ступінь їх викладу у наукових працях

Теоретичний внесок здобувача у світову систему наукових знань є значним і повністю висвітленим в його наукових публікаціях, серед яких найбільш вагомими є дані, представлені в 7 високорівневих наукових статтях. Серед них 3 статті опубліковано у журналах Q1, 2 статті – в журналі Q2, 1 стаття – в журналі Q4, 1 стаття – у фаховому періодичному виданні категорії «Б».

Зокрема в одній із статей було оприлюднено результати *in silico* тестування розробленого дисертантом інгібітору антиапоптотичного білка ВЕБ ВHRF1. В інших 2 публікаціях послідовно висвітлено підхід здобувача щодо потенціального впливу на геном ВЕБ із метою кліренсу вірусу. Цим здобувач виніс на загальносвітове обговорення першої поки теоретичної, але, тим не менше, перспективної можливості протидії цьому патогену на недоступному нині рівні. Доповнені і значно розширені дані першого розділу дисертації були опубліковані як оглядова стаття. Ще в одній статті дисертант виніс на публічне обговорення свої висновки щодо ступеня еволюційної лабільності SARS-CoV-2, вперше на період публікації акцентуючи увагу на причинно-наслідкових зв'язках між різноманітністю популяції патогену і швидкістю його адаптації до нового біологічного хазяїна. Наступними 2 послідовними публікаціями автор доніс до наукової спільноти свій прогрес у розробці інгібітора первинної рецепції нового коронавірусу з клітиною людини — від досліджень консервативної кишені RBD до безпосереднього тестування розробленої структури.

Якщо розглянути дисертацію з практичної сторони, то здобувачем було розроблено і ідентифіковано ряд молекулярних структур, націлених на такі економічно та соціально важливі патогени як ВЕБ і SARS-CoV-2. Ці молекулярні структури можна розглядати як основи для створення відповідних таргетних препаратів, що дозволить значно ефективніше протидіяти цим вірусам та їх наслідкам впливу як на організм пацієнта, так і на відповідний економічний та соціальний тягар для суспільства. Методологічні підходи, використані здобувачем, також можна інтерпретувати з практичної сторони, оскільки їх відпрацьоване поєднання може бути основою для створення протоколів швидкої розробки таргетних антивірусних препаратів, зокрема в умовах пандемії, спричиненої емерджентним патогеном.

Загальна оцінка змісту та наукового рівня дисертації

Дисертаційна робота Заремби А.А. викладена якісною науковою мовою і є чітко структурованою, надаючи читачеві всі необхідні дані для розуміння і інтерпретації кожного із аспектів роботи. Вона складається з вступу, огляду літератури, методології досліджень, результатів експериментальних досліджень, обговорення результатів дослідження, висновків. Анотації українською та англійською мовами відповідають положенням, що викладені в тексті дисертації та не містять даних, які були б відсутні в основному тексті роботи, оформлені відповідно до діючого Порядку присудження наукових ступенів. З аналізу змісту дисертації мною, як офіційним опонентом, вбачається дотримання вимог академічної доброчесності в повному обсязі. Робота містить посилання на згадані у тексті джерела інформації, автором дотримано вимоги норм законодавства про авторське право, надано повну інформацію про результати наукової діяльності та використані методи досліджень.

Дискусійні положення, запитання та побажання щодо змісту дисертації

Викладені в дисертації результати досліджень, їх аналіз та сформульовані висновки в цілому не викликають принципових або критичних зауважень, але разом з тим є дискусійні запитання до дисертанта та деякі зауваження:

1. Чи не допускаєте Ви, що при оцінці зміни частки сиквенсів різних варіантів SARS-CoV-2 у Індії в 2021 р. можуть бути допущені неточності, пов'язані з недосконалістю і вибірковістю епідеміологічного нагляду того часу? А саме, обстеження, головним чином, лише важких випадків, неоднакова технічна спроможність або наявність відповідних лабораторій у різних регіонах країни тощо.
2. Який механізм залежності підвищення мінливості вірусу SARS-CoV-2 від обсягів впровадження вакцинації Ви припускаєте? Чи не може це бути прямо чи опосередковано пов'язано з імунним імпринтигом внаслідок застосування вакцин на основі штаму Ухань або частково чи повністю обумовлено підвищенням специфічного популяційного імунітету за рахунок зростання інтенсивності циркуляції вірусу, зокрема варіанту Delta та ін., внаслідок його адаптації до людської популяції?
3. Ви говорите про виражену гетерогенність популяції вірусу SARS-CoV-2. Фено- і генотипова гетерогенність характерна в тій чи іншій мірі для всіх вірусів. Чи досліджували Ви гетерогенність популяції вірусів Епштейна-Барр? Які її особливості, зокрема за літературними даними?
4. Також ми не зовсім погоджуємося з Вашим твердженням, що гетерогенність популяції вірусу SARS-CoV-2 за його генетичними варіантами є причиною його швидкої адаптації до факторів позитивного відбору. Фактично, кожний новий варіант, який у подальшому набував домінуючого значення, характеризувався більш вираженою адаптацією до людської популяції. Тобто гетерогенність за варіантами скоріше слід розглядати не як причину, а як наслідок адаптації.
5. Не зовсім коректно варіанти вірусів SARS-CoV-2 позначати як 98F і 439K, що насправді характеризує певні мутації в певному варіанті вірусу.
6. Не зрозуміло, чи графіки на рисунках 5.2 та 5.4 наводяться за літературними даними чи є результатом Вашого аналізу матеріалу. Рисунки 5.4 та 5.6 мають однакову назву при різних графіках.
7. Побажанням дисертанту на майбутнє є більш уважно ставитися до пунктуації при оформленні своїх результатів роботи.

Усі висловлені зауваження та побажання не є такими, що зменшують значущість та якість дисертації, і не впливають на загальну позитивну оцінку.

Загальний висновок та оцінка дисертації

Дисертаційна робота Заремби Андрія Анатолійовича на тему «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2» є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми, обґрунтованість наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації, їх достовірність та наукова новизна, повнота викладу в опублікованих працях свідчать про наукову самостійність автора, його високий рівень теоретичної підготовки та володіння сучасними методами дослідження. Разом з тим, вибрана тема і дійсні результати роботи дозволяють стверджувати про розв'язання ряду актуальних наукових завдань в галузі біології.

Таким чином, дисертаційна робота Заремби Андрія Анатолійовича відповідає спеціальності 091 Біологія та біохімія та вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 р. № 261 і пп. 6, 7, 8 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44., а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія та біохімія.

Офіційний опонент:

доктор медичних наук, професор,
член-кореспондент НАМН України
в.о. директора ДУ «Інститут епідеміології
та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського
НАМН України

Вікторія ЗАДОРЖНА

Документ підписано у сервісі Вчасно (продовження)
Відгук_Задорожна_Вікторія_Іванівна.pdf

Документ відправлено (05417087): 11:10 29.04.2026
Документ отримано (05417087): 11:10 29.04.2026

Відправник документу

Електронний підпис

11:10 29.04.2026

ЄДРПОУ/ІПН: 02011947

Юр. назва: ДО ІЕІХ ІМ. Л.В. ГРОМАШЕВСЬКОГО

ДИРЕКТОР: ЗАДОРЖНА ВІКТОРІЯ ІВАНІВНА

Час перевірки КЕП/ЕЦП: 11:10 29.04.2026

Статус перевірки сертифікату: Сертифікат діє

Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000CC218C010158C806

Тип підпису: удосконалений

Тип сертифікату: кваліфікований