


«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директор Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України,
академік НАН України,
Микола СПІВАК
_____ березня 2026 р.



ВИСНОВОК

**Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів
дисертації Заремби Андрія Анатолійовича
на тему: «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних
антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2»,
поданої на здобуття ступеня доктора філософії
за спеціальністю 091 Біологія та біохімія**

Витяг

**з протоколу № 5 розширеного засідання відділу репродукції вірусів
від «19» березня 2026 року**

Присутні: д.б.н., с.н.с., член-кор. НАН України, зав. відділу молекулярної генетики бактеріофагів Товкач Ф.І. (*головуючий на засіданні*); к.б.н., с.досл., с.н.с. відділу репродукції вірусів Артюх Л.О. (*секретар*); аспірант, м.н.с. відділу репродукції вірусів Заремба А.А. (*здобувач*); д.б.н., с.н.с., член-кор. НАН України, заст. директора Інституту Лазаренко Л.М.; д.б.н., с.н.с., зав. лабораторії вірусів рослин Кириченко А.М.; д.б.н., проф. кафедри вірусології Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка Шевченко Т.П.; к.б.н., с.досл., зав. відділу репродукції вірусів Загородня С.Д.; д.б.н., с.н.с., зав. відділу фітопатогенних бактерій Пасічник Л.А.; к.б.н., с.н.с., с.н.с. відділу молекулярної генетики бактеріофагів Романюк Л.В.; к.б.н., с.досл., с.н.с. відділу біохімії мікроорганізмів Гузенко О.В.; к.б.н., с.досл., с.н.с. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Жолобак Н.М.; д.б.н., проф., член-кор. НАН України, головний науковий співробітник відділу загальної та ґрунтової мікробіології Іутинська Г.О.; к.б.н., с.н.с. відділу молекулярної генетики бактеріофагів Кушкіна А.І.; к.б.н., доц., с.н.с. відділу фізіології промислових мікроорганізмів Грецький І.О.; к.б.н., с.н.с., с.н.с. відділу фітопатогенних бактерій Данкевич Л.А.; к.б.н., с.н.с., с.н.с. відділу загальної та ґрунтової мікробіології Леонова Н.О.; к.б.н., с.н.с., с.н.с. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Тимошок Н.О.; к.б.н., с.н.с. відділу репродукції вірусів Повниця О.Ю.; к.б.н., с.н.с. відділу репродукції вірусів Зелена Л.Б.; д.філос., н.с. відділу загальної та ґрунтової мікробіології Лобода М.І.; к.б.н., н.с. відділу репродукції вірусів Затовська Т.В.; к.б.н., н.с. відділу репродукції вірусів Науменко К.С.; аспірант, пров.інж. відділу загальної та

грунтової мікробіології Шевчук Н.В.; аспірант, пров.інж. відділу загальної та ґрунтової мікробіології Сильчук А.А.; аспірант, м.н.с. відділу репродукції вірусів Заремба П.Ю.; аспірант, пров.інж. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Дубова І.О.

Присутні на засіданні 26 осіб, з них 6 – доктори біологічних наук і 14 – кандидати наук/доктори філософії.

Порядок денний:

Обговорення дисертаційного дослідження аспіранта відділу репродукції вірусів Заремба Андрія Анатолійовича на тему «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2», поданого на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

Науковий керівник – к.б.н., с.досл., завідувач відділу репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України Загородня Світлана Дмитрівна.

Дисертація виконувалась у відділі репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (протокол № 4 від 28 березня 2023 року).

Виступили:

Здобувач Заремба Андрій Анатолійович представив доповідь і презентацію за основними положеннями дисертації «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2», поданої на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

Після закінчення презентації Заремба А.А. присутніми на захисті фахівцями були поставлені наступні запитання:

1. Чи є можливість отримання цих молекулярних конструкцій (HASDI) для аналізу *in vitro/in vivo*? Це трициклічні інтеркалючі конструкції? Як щодо того, що трициклічні сполуки мають самі по собі антивірусні властивості? Що Ви скажете, що індазоли/фенозини мають здатність інтеркалювати та можуть бути використані як зонди? (Жолобак Н.М.)

2. Новизна роботи, коротко? Шлях до практичного впровадження? (Лазаренко Л.М.)

3. Уточнення, чи було у меті і в завданнях вказано про ВЕБ, мені здається що звучав лише SARS-CoV-2? Чи можна твердження щодо гетерогенності популяції SARS-CoV-2 відносити до окремого висновку Вашої роботи? Методично потрібно показати слайд як проводилося дослідження. (Кириченко А.М.)

4. Яка молекулярна конструкція інгібітора білка, що має апоптичний вплив на ВЕБ? Як антиандрогенний ефект кетодаролутаміду може впливати на противірусні властивості цієї сполуки? (Тимошок Н.О.)

5. Як ця речовина (інтеркалятор) буде потрапляти до ВЕБ? Чи є вже такі конструкції доставки проти ВЕБ? Що стало підґрунтям поєднати у Вашій роботі ці два різні віруси?

Які сполуки Ви ще перевіряли у своїх аналізах, перелік, кількість? Чому виплила саме ця речовина для поглиблених досліджень? Які ще сполуки були споріднені але із меншою активністю? По своєму спектру застосування, ці ліки належать до одного напрямку чи різних? (Шевченко Т.П.)

6. Чому Ви увагу звернули на епісомну форму ВЕБ, а не реплікативну? Наскільки Ваші сполуки матимуть побічні ефекти, фармакокінетика? Є висновки відносно одного і відносно іншого вірусу, але мені здається, що було б доцільно зробити загальний висновок про соціальну значимість цих вірусів і про причину, чого їх обрано для досліджень. Останній абзац після висновків потрібно якось назвати. (Товкач Ф.І.)

7. Як Ви думаєте, на яких етапах репродукції потрібно застосовувати Ваші сполуки? (Жолобак Н.М.)

Після відповідей на запитання виступили:

Науковий керівник – Загородня С.Д.:

Дисертаційна робота Заремби Андрія відзначається високою актуальністю, науковою новизною та відповідністю сучасним міжнародним тенденціям розвитку вірусології та біоінформатики. Отримані результати мають як фундаментальне, так і прикладне значення та свідчать про сформованість у здобувача компетентностей, необхідних для самостійної наукової роботи і може бути рекомендована до офіційного захисту.

Рецензенти дисертаційної роботи виступили зі своїми рецензіями, наголосили на позитивних аспектах дослідження та висловили свої побажання та зауваження:

Зелена Л.Б. - к.б.н., с.н.с. відділу репродукції вірусів:

Дисертаційна робота спрямована на створення нових потенційних противірусних агентів проти SARS-CoV-2 та вірусу Епштейна-Барр. Дослідження фокусується на виявленні ключових біологічних мішеней у життєвому циклі цих патогенів для подальшого проектування препаратів на основі їхньої структури

Дисертаційна робота має класичну структуру, складається з двох розділів «Огляду літератури», з розділу, присвяченому «Методології роботи», двох розділів результатів власних досліджень, обговоренню результатів роботи, висновків та додатків.

Загальна кількість використаних джерел налічує 299 найменувань, з урахуванням власних публікацій. Робота містить 49 рисунків, 8 таблиць і 5 додатків.

Огляд літератури складається з двох розділів. В першому представлена сучасна інформація про будову, життєвий цикл об'єктів даного дослідження, вірусів Епштейна-Барр та SARS-CoV-2, та сучасний стан таргетної антивірусної терапії щодо цих вірусів. Особливої уваги заслуговує розділ роботи, присвячений огляду структуро орієнтованого дизайну ліків, в якому автор наводить основні

етапи цього процесу та приклади інструментів, за допомогою яких проводять пошук та дизайн ліків. Зокрема детально розкритий метод молекулярного докінгу та його різновидів. Автор також відзначає роль дослідника, який має бути як спрямованим на кінцевий результат, так і залученим у сам процес дизайну. В цілому огляд літератури демонструє добре володіння дисертантом сучасними даними світової літератури з обраної теми дисертації.

У розділі «Методологія роботи» детально описано широкий спектр застосованих методик та підходів, серед яких підготовка вхідних даних, молекулярний докінг і віртуальний скринінг, ітераційний дизайн, наведено методiku обробки та аналізу отриманих результатів.

Розгляду експериментальних даних присвячено два розділи роботи, в яких наведено результати Розробки інгібіторів репродукції вірусу Епштейна-Барр шляхом застосування структуро орієнтованого дизайну ліків та Аналізу мутаційного потенціалу SARS-COV-2 і розробки/пошуку інгібіторів його проникнення шляхом застосування структуро орієнтованого дизайну ліків.

У розділі обговорення автором проведено критичний аналіз отриманих даних у контексті біологічних властивостей вірусів та обраної стратегії дизайну противірусних агентів. Викладені результати досліджень та сформульовані висновки не викликають заперечень

Одним із ключових досягнень роботи є розробка структури EBAl – першого у своєму роді низькомолекулярного інгібітора вірусного фактору BHRF1. Це дослідження демонструє можливість створення малих молекул, здатних специфічно взаємодіяти з ВНЗ-зв'язуючою ділянкою вірусних білків. Це відкриває шлях до подолання механізмів вірусного уникнення апоптозу.

Також здійснено розробку ДНК-інтеркаляторів HASDI та HASDI-G2, здатних до високоселективного розпізнавання гену EBNA1. Отримані результати є важливими з огляду на таргетність пригнічення транскрипційної активності патогенних геномів, що є критично важливим для лікування латентних вірусних інфекцій.

У роботі також проведено дослідження, яке виявило раніше невідому консервативну кишеню в межах рецепторзв'язуючого домену (RBD) S-глікопротеїну вірусу SARS-CoV-2, універсальну для варіантів Ухань, Р.1, Кластер 5, Дельта та Оміврон. Це дозволило розробити хімічну структуру, здатну взаємодіяти з цією кишенею. Це є підґрунтям для створення універсальних інгібіторів, стійких до швидкої мутаційної мінливості вірусу.

Загалом, представлена дисертаційна робота робить вагомий внесок у сучасну біологію та, вірусологію зокрема, пропонуючи інноваційні підходи до пригнічення життєдіяльності вірусу Епштейна-Барр (ЕБВ) та SARS-CoV-2. Наукова новизна роботи полягає не лише в ідентифікації нових хімічних сполук, а й у доведенні фундаментальних принципів дизайну ліків проти складних біологічних мішеней.

Результати дисертаційних досліджень представлені у 12 публікаціях. Серед них – 7 статей у спеціалізованих міжнародних і вітчизняних виданнях: три статті у Q1, дві - Q2, одна - Q4 та одна стаття у фаховому періодичному виданні категорії «Б». Основні результати роботи пройшли апробацію на п'яти вітчизняних і закордонних конференціях.

Доповідь попередньо заслуховували на засіданні відділу репродукції вірусів. Усі зауваження, висловлені під час обговорення, враховано в повному обсязі, на кожне з поставлених запитань було надано вичерпні відповіді.

Дисертація виконана на високому рівні і є логічно завершеним науковим дослідженням. Отримані в межах дисертаційного дослідження результати становлять значний практичний інтерес для фахівців у галузях вірусології, біохімії та фармакології.

В цілому, дисертаційна робота Андрія Заремби відповідає вимогам «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 №44 від 12 січня 2022 року зі змінами від 21 березня 2022 року та може бути представлена до захисту.

Жолобак Н.М. - к.б.н., с.н.с. відділу проблем інтерферону та імунomodляторів:

Актуальність теми та її зв'язок із сучасними науковими програмами, планами, темами. Застосування методів інформатики та біоінформативних підходів до пошуку та розробки антивірусних сполук є не тільки модним, а й дуже актуальним напрямком на стику наук: фармацевтичної хімії та вірусології. Вказаний підхід зумовлений також нагальною потребою наявності широкого спектру антивірусних препаратів в сучасних умовах, коли скупченість населення, висока міграційна активність, порушена система надання медичної допомоги, хронічний стресовий стан, неповноцінне харчування та життя в умовах бойових дій створюють ідеальні передумови для стрімкого розповсюдження патогенних вірусів, враження широких мас населення, а як наслідок – розвиток епідемічних процесів з подальшою їх глобалізацією.

Робота виконана в межах наукових проектів відділу репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: «Особливості репродукції ДНК-вмісних вірусів людини за впливу потенційних противірусних речовин» (реєстраційний номер 0220U000575, 2020-2024рр.), «Прогнозування біоактивності та створення сучасних підходів до синтезу гетероциклічних сполук для потреб фарміндустрії» (реєстраційний номер 0123U10137, 2023-2024рр.) та «Дослідження топологічних особливостей функціональної поверхні факторів життєвого циклу SARS-CoV-2 на предмет їх потенціалу до взаємодії з низькомолекулярними хімічними сполуками» (реєстраційний номер 0125U002921, 2025-2026рр.).

Мета, завдання, об'єкт і предмет дослідження. В роботі Андрія Анатолійовича сформульована мета: розробити *de novo* і провести пошук хімічних сполук, які потенційно здатні націлено протидіяти реалізації життєвого циклу ВЕБ і SARS-CoV-2, а також дослідити біологічні особливості відповідних факторів життєвого циклу цих патогенів, необхідних для успішного застосування структуро орієнтованого дизайну ліків.

об'єкт роботи – фактори життєвого циклу ВЕБ та SARS-CoV-2 придатні для їх використання в ролі цілей для структуро орієнтованого дизайну ліків – RBD S-глікопротеїну (SARS-CoV-2), BHRF1 (ВЕБ) та вірусний геном (ВЕБ).

Предмет досліджень – *de novo* розроблені і ідентифіковані хімічні сполуки, які потенційно здатні втручатись у функціонування RBD S-глікопротеїну SARS-CoV-2, BHRF1 та геному ВЕБ, а також важливі для успішного застосування СОДЛ біологічні особливості цих вірусних факторів.

Завдання роботи і використані методи:

1. *De novo* розробити малу молекулу, потенційно здатну до націленого інгібування антиапоптотичного фактора ВЕБ — білка BHRF1. Як методологічну основу використати ітераційний підхід з методом симуляції молекулярної динаміки в ролі основного джерела даних щодо стабільності ліганд-рецепторного комплексу.

2. *De novo* розробити молекулярну конструкцію, здатну високоселективно взаємодіяти з геном транскрипційного фактора ВЕБ EBNA1. В ролі структурної основи використати поліінтеркалятори, як клас сполук з доведеною здатністю до взаємодії з ДНК.

3. Проаналізувати мутаційний потенціал SARS-CoV-2 шляхом пошуку залежностей між ступенем вакцинованості і поширеністю різних варіантів патогену серед населення Німеччини, Індії та України.

4. Ідентифікувати спільну для різних варіантів SARS-CoV-2 кишеню, розташовану в межах інтерфейсу взаємодії рецепторзв'язуючого домену його S-глікопротеїну і придатну для пошуку та розробки антикоронавірусних ліків. В ролі методу для дослідження топології поверхні цілі використати симуляцію молекулярної динаміки.

5. *De novo* розробити малу молекулу, здатну до стабільної взаємодії з відкритою кишенею (п. 4) і таким чином потенційно придатну до застосування в ролі селективного інгібітора RBD S-глікопротеїну різних варіантів SARS-CoV-2. Як методологічну основу використати ітераційний підхід з методом симуляції молекулярної динаміки в ролі основного джерела даних щодо стабільності ліганд-рецепторного комплексу.

6. Дослідити затверджену FDA (Food and Drug Administration) базу лікарських сполук на предмет наявності потенційно активних інгібіторів RBD S-глікопротеїну SARS-CoV-2. Як методологічну основу використати класичний метод віртуального скринінгу з подальшою валідацією результатів методом симуляції молекулярної динаміки ліганд-рецепторного комплексу.

Таким чином, задля успішного виконання зазначених завдань передбачалось застосування ітераційного підходу та таких *класичних методів структури орієнтованого дизайну ліків* як віртуальний скринінг на основі напівгнучкого молекулярного докінгу та симуляція молекулярної динаміки ліганд-рецепторних комплексів. При цьому, окрім класичних параметрів стабільності комплексу, як от середньоквадратичне відхилення та залежність кількості міжмолекулярних взаємодій від часу симуляції, траєкторія симуляції молекулярної динаміки ліганд-рецепторного комплексу також використовувалась для обрахунку вільної енергії зв'язування методами MM/PBSA та MM/GBSA.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій. Сформульовані наукові положення та отримані висновки ґрунтуються на масиві вирішених розрахункових задач, використаних симуляційних підходів та класичних біоінформатичних підходів віртуального скринінгу, оцінки та ступінчастого відсіву.

Наукова новизна одержаних результатів (чітко сформулювати особистий внесок здобувача). Автором вперше розроблено та охарактеризовано ряд молекулярних структур, потенційно здатних інгібувати репродукцію вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2.

Зокрема, розроблено молекулярну конструкцію (HASDI і його покращений варіант HASDI-G2), High-Affinity Selective DNA Intercalator – Generation 2, яка в симуляційних експериментах довела свою здатність високоселективно розпізнавати фрагмент нуклеїнової кислоти певної послідовності

Автором також *de novo* розроблено EBAI (Epstein-Barr antiapoptotic inhibitor) – потенційний інгібітор білка BHRF1, антиапоптотичного фактора ВЕБ, який, окрім ключової ролі в літичному циклі патогену, асоціюється з виживанням трансформованих клітин

de novo, розроблено молекулярну структуру, потенційно здатну до стабільної взаємодії з RBD варіантів Ухань, Омикрон, Дельта та Кластер 5, що окрім прикладного значення, принципово підтверджує можливість розробки універсального інгібітора прикріплення SARS-CoV-2.

Теоретичне значення та практична цінність результатів дослідження. Отримані результати дослідження дозволяють глибоко розуміти молекулярну машинерію реалізації вірусної програми та використовувати ці знання для розробки високоактивних таргетних сполук. Знайдені в результаті виконання роботи біологічно активні конструкції мають перспективу практичного впровадження після спектра відповідних досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Повнота апробації та публікацій (відповідність вимогам чинного Порядку присудження ступеня PhD). Робота повністю відповідає вимогам: опубліковано 3 статті в Q1, 2 – в Q2, 1 – в Q4 і 1 – в Б-категорії. Викладена в роботі наукова інформація апробована на 5 конференціях у 2020–2025 роках. – Повністю відповідає вимогам МОН.

Структура, логіка викладу та оформлення дисертації. Дисертаційна робота написана логічно, структурована відповідно до вимог ВАК щодо робіт на здобуття ступеня доктора філософії (PhD) і має всі необхідні розділи: анотацію на 2-х мовах, зміст, список умовних скорочень, відповідні розділи: в 1 – детально описано життєвий цикл ВЕБ та SARS, молекулярні особливості вказаного процесу. А також проведено аналіз для кожного вірусу: стан у розробці та пошуку таргетних антивірусних препаратів.

У розділі 2 описано структуро орієнтований дизайн ліків, а в розділі 3 – методологічні прийоми, використані в роботі, зокрема Молекулярний докінг і віртуальний скринінг, Симуляцію молекулярної динаміки, Розрахунок вільної енергії зв'язування, Ітераційний дизайн малих лігандів, розрахунок фармакокінетичної прийнятності. Розділ 4 присвячено викладу результатів розробки інгібіторів репродукції ВЕБ шляхом застосування структуро орієнтованого дизайну ліків, а розділ 5 – результатам аналізу мутаційного потенціалу SARS-COV-2 і розробки/пошуку інгібіторів його проникнення шляхом застосування структуро орієнтованого дизайну ліків. В роботі є окремий розділ обговорення результатів (6), висновки та перелік використаних джерел – 299 тільки англійських.

Зауваження та дискусійні положення (за наявності). Назва роботи присвячена пошуку та розробці таргетних антивірусних сполук, які апіорі ще не є ліками. Звичайно, всі очікують, що нові активні сполуки стануть ліками, але цей процес є тривалим і не завжди результативним. Тому в тексті, мабуть, варто утриматися від вживання слова ліки в констатуючій частині.

Взяті в роботу сполуки феназин та індазол є високоактивними. Можливо, в обговоренні варто позначити особливості їх властивостей/застосування в рамках таргетної антивірусної терапії у порівнянні із вже відомим спектром застосування? [Феназин – це конденсована ароматична діазинова система, редокс-активна платформа, структурний мотив багатьох природних антибіотиків, перспективна основа для створення фармакологічних та біоелектрохімічних агентів. З точки зору хімії — це класичний приклад гетероароматичної π -кон'югованої системи з вираженими електронно-акцепторними властивостями. З точки зору біології – універсальний інструмент мікробної конкурентної стратегії.

Індазол є слабкою основою (за рахунок атома N у положенні 2) і може проявляти амфотерні властивості залежно від заміщення. В фармацевтичній хімії індазолний фрагмент є фармакофорним мотивом у багатьох біологічно активних молекулах. Основні напрямки його застосування – протизапальні засоби, протипухлинні препарати (інгібітори тирозинкінази), антимикробні сполуки, нейроактивні агенти (наприклад: акситиниб — інгібітор VEGFR, що містить індазолне ядро). В медичній хімії індазол є структурним ізостером індолу, що дозволяє модифікувати ліпофільність, регулювати pK_a , підвищувати селективність до мішені. Завдяки цьому індазолне ядро активно використовується в дизайні таргетних малих молекул. Похідні індазолу використовують як фунгіциди, регулятори росту рослин, інсектицидні компоненти. В матеріалознавстві – це компоненти органічних напівпровідників, флуоресцентні зонди, лігандні системи в координаційній хімії. В біохімічних дослідженнях індазолні похідні застосовуються як селективні інгібітори ферментів та інструментальні молекули для вивчення сигнальних шляхів.

Вважаю, що швидкість пристосувальних змін SARS-CoV-2 вже досить детально вивчена і представлена в літературі, тому думаю, що з метою певного зменшення об'єму дисертаційної роботи проведений Адрієм Зарембою аналіз можна не включати в текст дисертації, а дати посилання на відповідні публікації, в тому числі і власні. Це можна обґрунтувати також тим, що робота не представляється в розрізі епідеміології, а виконана, в основному, в області біоінформатики.

Позитивним є розуміння дисертантом можливих змін факторів позитивного відбору, яким в майбутньому може виступати і потенційний інгібітор. Але, на мою думку, проведений аналіз зміни варіантного складу SARS-CoV-2 під впливом масової вакцинації, хоч і може розглядатися як крупномасштабний польовий експеримент, не дає відповіді на питання щодо внутрішньої стратегії змін вірусу за умови дії pan-viral inhibitors.

Важливим компонентом дисертаційної роботи міг би бути аналіз/передбачення резистентності тест-вірусів до запропонованих молекул-лігандів. Тобто провести *in silico* аналіз/прогнозування можливих мутацій EBV

білків, що впливають на зв'язувальну афінність інгібіторів, та мутацій, що можуть викликати резистентність SARS-CoV-2 до запропонованих молекул лігандів.

ЗАГАЛЬНИЙ ВИСНОВОК. Дисертаційна робота Заремби Андрія Анатолійовича «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2» є завершеним самостійним науковим дослідженням, виконаним на належному методологічному рівні. Автором проведено глибокий аналіз матеріалу, отримано результати моделювання взаємодії лігандів із таргетними структурами *in silico*, які характеризуються науковою новизною, мають теоретичне значення з точки зору стратегії пошуку антивірусних молекул та суттєве практичне значення, оскільки пропонують для подальшого вивчення певні активні за отриманими в роботі висновками антивірусні сполуки. Оскільки робота присвячена розробці сполук з антивірусними ефектами, які розглядаються як перспективні компоненти таргетної терапії проти SARS-COV-2 та ВЕБ, можна зробити висновок, що вона відповідає заявленій спеціальності – вірусологія. За структурою, логікою та змістом роботи відповідає вимогам до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Висловлені зауваження/побажання не знижують загальної позитивної оцінки роботи. Вважаю, що дисертація відповідає встановленим вимогам і після врахування висловлених зауважень може бути подана до захисту.

В обговоренні дисертаційної роботи Заремби А.А. брали участь: Товкач Ф.І., Леонова Н.О., Жолобак Н.М., Тимошок Н.О.

Результати голосування щодо рекомендації до захисту дисертації Заремби Андрія Анатолійовича:

«За» – 25

«Проти» – немає

«Утримались» – немає

ВИСНОВОК

Обґрунтування вибору теми дослідження. Вірус Епштейна-Барр (ВЕБ) і SARS-CoV-2 є двома патогенами, які щорічно забирають сотні тисяч життів та призводять до посиленого тиску на світову систему охорони здоров'я, не враховуючи мільярдні економічні збитки через зниження працездатності економічно активного прошарку населення. Попри це обидва цих віруси не мають затверджених ефективних методів лікування, лише симптоматична терапія є нині доступною. Таким чином, дослідження з розробки нових антивірусних засобів проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2 є актуальним і критично важливим напрямком в тому числі і фундаментальної науки. Застосування структуро орієнтованого дизайну (СОДЛ) як найбільш сучасного підходу до розробки ліків, при цьому, дозволяє значно пришвидшити і одночасно здешевити цей процес.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках теми наукових проєктів відділу репродукції вірусів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України: «Особливості репродукції ДНК-вмісних вірусів людини за впливу потенційних противірусних речовин» (реєстраційний номер 0220U000575, 2020-2024 рр.), «Прогнозування біоактивності та створення сучасних підходів до синтезу гетероциклічних сполук для потреб фарміндустрії» (реєстраційний номер 0123U10137, 2023-2024 рр.) та «Дослідження топологічних особливостей функціональної поверхні факторів життєвого циклу SARS-CoV-2 на предмет їх потенціалу до взаємодії з низькомолекулярними хімічними сполуками» (реєстраційний номер 0125U002921, 2025-2026 рр.).

Мета і завдання дослідження. Розробка *de novo* і пошук хімічних сполук потенційно здатних націлено протидіяти життєдіяльності вірусу Епштейна-Барр і SARS-CoV-2, а також дослідження біологічних особливостей відповідних факторів життєвого циклу цих патогенів, необхідних для успішного застосування структуро орієнтованого дизайну ліків.

Для досягнення мети дисертантом були сформовані такі завдання:

1. *De novo* розробити малу молекулу потенційно здатну до націленого інгібування антиапоптотичного фактору вірусу Епштейна-Барр – білка BHRF1.
2. *De novo* розробити молекулярну конструкцію здатну високоселективно взаємодіяти з геном транскрипційного фактору вірусу Епштейна-Барр EBNA1. В ролі структурної основи використати поліінтеркалятори, як клас сполук з доведеною здатністю до взаємодії з ДНК.
3. Проаналізувати мутаційний потенціал SARS-CoV-2 шляхом пошуку залежностей між ступенем вакцинованості і поширеністю різних варіантів патогену серед населення Німеччини, Індії та України.
4. Ідентифікувати, спільну для різних варіантів SARS-CoV-2, кишеню розташовану в межах інтерфейсу взаємодії рецепторзв'язуючого домену його S-глікопротеїну з hACE2 і придатну для пошуку та розробки антикоронавірусних ліків.
5. *De novo* розробити малу молекулу здатну до стабільної взаємодії з відкритою кишенею (п. 4) і таким чином потенційно придатну до застосування

в ролі селективного інгібітора RBD S-глікопротеїну різних варіантів SARS-CoV-2.

6. Дослідити затверджену FDA базу лікарських сполук на предмет наявності потенційно активних інгібіторів RBD S-глікопротеїну SARS-CoV-2.

Об'єкт дослідження. Фактори життєвого циклу вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2 придатні для їх використання в ролі цілей для структуро орієнтованого дизайну ліків – RBD S-глікопротеїну (SARS-CoV-2), BHRF1 (БЕБ) та вірусний геном (БЕБ).

Предмет дослідження. *De novo* розроблені і ідентифіковані хімічні сполуки потенційно здатні втручатись у функціонування RBD S-глікопротеїну SARS-CoV-2, BHRF1 та геному вірусу Епштейна-Барр, а також важливі для успішного застосування СОДЛ біологічні особливості цих вірусних факторів.

Методи дослідження. Задля успішного виконання завдань дисертант в основному опирався на ітераційний підхід, який, в свою чергу, базувався на класичних методах структуро орієнтованого дизайну ліків: високоефективному віртуальному скринінгові та симуляції молекулярної динаміки. Для підтвердження отриманих результатів, окрім таких класичних параметрів стабільності комплексу, як от середньоквадратичне відхилення та залежність кількості міжмолекулярних взаємодій від часу симуляції, дисертант також використовував траєкторію симуляції молекулярної динаміки ліганд-рецепторного комплексу для обрахунку вільної енергії зв'язування методами ММ/PBSA та ММ/GBSA. У випадку SARS-CoV-2 як патогену з менш дослідженою біологією, він також застосував порівняльний аналіз динаміки поширення різних варіантів вірусу в контексті наростання вакцинованості населення на початку пандемії, що дозволило визначити ступінь еволюційної лабільності даного емерджентного коронавірусу.

Наукова новизна дослідження полягає здебільшого, хоча і не обмежується, в розробці і ідентифікації нових, до того невідомих, молекулярних конструкцій націлених не лише на білкові фактори, а і на геном патогену. Останнє є в значній мірі унікальним прецедентом, оскільки здебільшого завдання впливу на генетичну інформацію передбачає використання високоімуногенних білкових систем, на кшталт, CRISPR/Cas9.

Розглядаючи більш детально, наукова новизна роботи базується на таких основних положеннях:

Розроблено хімічну структуру, потенційно здатну виступити першим у своєму роді низькомолекулярним інгібітором антиапоптозного фактору вірусу Епштейна-Барр білка BHRF1 – EBAl. Це на принциповому рівні доводить можливість розробки малої хімічної речовини здатної взаємодіяти з ВНЗ-зв'язуючою ділянкою BCL-2-подібних білків вірусного походження.

Розроблено дві модульні молекулярні конструкції (HASDI і HASDI-G2) здатні до інтеркаляції та високоселективного розпізнавання певної послідовності ДНК гену EBNA1 – ключового транскрипційного фактору БЕБ. Подібні структури є першими у своєму роді. Їх розробка доводить принципову можливість дизайну ДНК-поліінтеркаляторів, здатних не лише до невибіркової взаємодії з ДНК, а і до націленого зв'язування з цією макромолекулою. Останнє відкриває двері до розробки агентів, здатних пригнічувати транскрипційну активність певних регіонів ДНК, до прикладу, патогенного походження. Це

особливо важливо у випадку ДНК-вмісних вірусів, здатних до встановлення високорегульованої латентної інфекції.

Визначено, що постійно циркулююча у певній популяції господаря когорта варіантів SARS-CoV-2 характеризується високою гетерогенністю складу. На прикладі змін у співвідношенні різних варіантів під впливом масової вакцинації населення дисертантом показано, що ця особливість призводить до швидкої адаптації SARS-CoV-2 до факторів позитивного відбору. Опіраючись на ці дані, він дослідив hACE2-зв'язуючий інтерфейс рецепторзв'язуючого домену S-глікопротеїну варіантів Ухань, P.1 і Кластер 5 цього патогену. Отримані дані дозволили ідентифікувати до того невідому кишеню в межах hACE2-зв'язуючого інтерфейсу RBD, придатну до взаємодії з потенційним лігандом і, що найважливіше, присутню в різних варіантів SARS-CoV-2. Останнє може вказувати на її відносно консервативний характер.

Розроблено хімічну структуру, потенційно здатну виступити низькомолекулярним інгібітором RBD S-глікопротеїну SARS-CoV-2. Показано, що отримана молекула є здатною до співставного за силою зв'язування з варіантами Ухань, Омикрон, Дельта та Кластер 5 у ділянці відкритої кишені. Це дозволило дисертанту як додатково підтвердити відносну консервативність цього покету та його придатність для взаємодії з малим лігандом, так і показати потенціал розробленої конструкції до впливу на різні варіанти SARS-CoV-2, що особливо важливо в контексті високої гетерогенності його популяції.

Під час поглиблених досліджень з пошуку інгібіторів RBD SARS-CoV-2 дисертант також визначив, що затверджений FDA антиандроген кетодаролутамід має потенціал до зв'язування з RBD в критичній для його функціонування ділянці. Цей потенціал прояснює раніше відомі але недостатньо інтерпретовані літературні звіти в яких хворі на рак простати, що отримували антиандрогенну терапію мали нижчий рівень захворюваності на COVID-19.

Також слід зазначити, що успішні результати, отримані здобувачем в межах його дисертаційної роботи за рахунок інтеграції ітеративного підходу до класичної методології СОДЛ, свідчать на користь високого потенціалу подібної комбінації у сфері фармакологічних досліджень.

Теоретичне значення. Як аспект процесу набування навичок у представленні результатів експериментальних досліджень широкій науковій спільноті та підтвердження їх теоретичної важливості дисертантом було опубліковано ряд наукових праць, в яких він послідовно виклав ключові аспекти власних досліджень.

В науковій статті «De novo designed EBAI as a potential inhibitor of the viral protein BHRF1. Research in silico» було оприлюднено результати *in silico* тестування розробленого дисертантом інгібітора антиапоптотичного білка ВЕБ BHRF1. Він був названий розробником EBAI і своєю наявністю довів можливість застосування керованої дослідником методології СОДЛ інтегрованої в ітераційний підхід для розробки малих конкурентних інгібіторів.

В науковій статті «In silico study of HASDI (high-affinity selective DNA intercalator) as a new agent capable of highly selective recognition of the DNA sequence» дисертант представив першу у своєму роді молекулярну конструкцію здатну впливати безпосередньо на геном вірусу Епштейна-Барр. Чим

обґрунтував можливість теоретичної розробки органічних агентів здатних розпізнавати патогенну генетичну інформацію.

В науковій статті «In silico development of HASDI-G2 as a novel agent for selective recognition of the DNA sequence» було оприлюднено наступне покоління конструкцій здатних до впливу на вірусний геном, яке характеризувалось покращеною селективністю.

Роки досліджень і глибокого занурення в специфіку молекулярної біології вірусу Епштейна-Барр були підсумовані дисертантом у вигляді оглядової публікації «A thorough insight into the life cycle of the Epstein-Barr virus. From the molecular to the organismal level».

Науковою статтею «Patterns of the influence of vaccination on the dynamics of different SARS-CoV-2 variants spread. Two-year analysis» дисертант розпочав свій шлях у пошукові ліків для протидії SARS-CoV-2. Тут він доводить до наукової спільноти свої висновки щодо ступеня еволютивної лабільності патогену і акцентує увагу на причинно-наслідкових зв'язках між різноманітністю популяції SARS-CoV-2 і швидкістю його пристосування.

В науковій статті «In silico Identification of a Viral Surface Glycoprotein Site Suitable for the Development of Low Molecular Weight Inhibitors for Various Variants of the SARS-CoV-2» було опубліковано результати дослідження де отримані знання щодо важливості врахування різних варіантів нового коронавірусу були використанні разом із класичними методами дослідження динаміки зміни топології поверхні білків для ідентифікації до того невідомої кишені на поверхні рецептор зв'язуючого домену (RBD) S-глікопротеїну SARS-CoV-2.

Логічним продовженням стала наукова стаття «De novo designed inhibitor has high affinity to four variants of the RBD of S-glycoprotein of SARS-CoV-2 - an in silico study» в якій дисертант представив науковій спільноті розроблену ним малу молекулу потенційно здатну інгібувати щонайменше чотири варіанти SARS-CoV-2, чим довів як можливість розробки універсального інгібітора стійкого до еволюційних адаптацій даного коронавірусу, так і показав перспективи використання розробленої ним методології.

Практичне значення. В межах дисертаційної роботи дисертантом було розроблено і ідентифіковано ряд молекулярних структур, націлених на такі економічно та соціально важливі патогени як вірус Епштейна-Барр і SARS-CoV-2. Подальший їх розвиток як основи для створення відповідних таргетних препаратів дозволить протидіяти цим вірусам, пов'язаним порушенням і відповідною втратою працездатності економічно активного прошарку населення на недоступному нині рівні.

Методологічні підходи використані здобувачем в цій роботі і їх відпрацьоване поєднання також можуть бути основою для створення протоколів швидкої розробки таргетних антивірусних препаратів, зокрема в умовах пандемії, спричиненої емерджентним патогеном.

Особистий внесок здобувача. Здобувач здійснював попередній аналіз літературних даних в процесі підготовчого етапу кожного із досліджень, разом з науковим керівником склав чіткий план як кожного експерименту, так і роботи загалом. Здобувач особисто проводив підготовку програмного забезпечення для подальших обрахунків, написання і тестування відповідних

скриптів, та відбір необхідних вхідних даних. Він здійснив всі необхідні обрахунки, проаналізував отримані результати і сформував на основі останніх повноцінну дисертаційну роботу, яка повністю висвітлює його наукові ідеї, гіпотези і методологічні підходи. У співавторстві та під керівництвом наукового керівника здобувач представив як результати аналізу літературних даних, так і безпосередньо отримані експериментально дані широкій науковій спільноті в межах семи наукових статей опублікованих в фахових періодичних виданнях світового класу.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертаційної роботи було оприлюднено на: міжнародній електронній конференції «6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (1-30 листопада 2020 р.); міжнародній електронній конференції «9th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry» (1-30 листопада 2023 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти мікробіології, вірусології та біотехнології у воєнний та післявоєнний час» (15-16 листопада 2023 р.); V науково-практичній конференції «Молодь та сучасні проблеми мікробіології і вірусології» (19–20 листопада 2024 р.); міжнародній електронній конференції «The 1st International Electronic Conference on Medicinal Chemistry and Pharmaceutics» (1-30 листопада 2025 р.).

Публікації. Результати роботи представлено у 12-ти публікаціях. Серед них 7 наукових статей у фахових міжнародних і вітчизняних виданнях: 3 статті опубліковано у журналах Q1, 2 статті – в журналі Q2, 1 стаття – в журналі Q4, 1 стаття – у фаховому періодичному виданні категорії «Б», а також 5 тез на міжнародних і вітчизняних конференціях.

Список опублікованих статей за темою дисертації

1. Zaremba, A., Zaremba, P., and Zahorodnia, S. (2025). A thorough insight into the life cycle of the Epstein-Barr virus. From the molecular to the organismal level. *Current Research in Microbial Sciences* 9, 100505. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2025.100505>. (Q1)
2. Zaremba, A., Zaremba, P., and Zahorodnia, S. (2025). In silico development of HASDI-G2 as a novel agent for selective recognition of the DNA sequence. *Sci Rep* 15, 8577. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89967-1>. (Q1)
3. Zaremba, A.A., Zaremba, P.Y., and Zahorodnia, S.D. (2023). In silico study of HASDI (high-affinity selective DNA intercalator) as a new agent capable of highly selective recognition of the DNA sequence. *Sci Rep* 13, 5395. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32595-4>. (Q1)
4. Zaremba, A., Zaremba, P., and Zahorodnia, S. (2023). De novo designed inhibitor has high affinity to four variants of the RBD of S-glycoprotein of SARS-CoV-2 – an in silico study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 41, 9389–9397. <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2141886>. (Q2)
5. Zaremba, A.A., Zaremba, P.Y., and Platonov, M.O. (2023). De novo designed EBAI as a potential inhibitor of the viral protein BHRF1. *Research in silico. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 41, 3680–3685. <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2053746>. (Q2)
6. Zaremba, A., Zaremba, P., Muchnyk, F.V., Baranova, G., and Zahorodnia, S. (2021). In silico Identification of a Viral Surface Glycoprotein Site Suitable for the Development of Low Molecular Weight Inhibitors for Various Variants of the SARS-

7. Zaremba, A., Zaremba, P., Budzanivska, I., and Zahorodnia, S. (2022). Patterns of the influence of vaccination on the dynamics of different SARS-CoV-2 variants spread. Two-year analysis. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv Series Biology 89, 39–45.
<https://doi.org/10.17721/1728.2748.2022.89.39-45>. (Б)

8. Zaremba, A., Zaremba, P., and Zahorodnia, S. In silico identification of a new potential drug-binding pocket on the surface of the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 S-glycoprotein. The 1st International Electronic Conference on Medicinal Chemistry and Pharmaceuticals, 1–30 November 2025, Basel, Switzerland, online.

9. Zaremba A., and Zahorodnia S. In silico study of ketodarolutamide as a potential inhibitor of the SARS-CoV-2 RBD interaction with human ACE2. The V Scientific Conference “Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology”, 19-20 November 2024, Kyiv, Ukraine, P. 48.

10. Zaremba A., and Zahorodnia S. 3D structure data validation of the SARS-CoV-2 protein E transmembrane domain pentamer form as a potential target for drug development. Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period, 15-16 November 2023, Kyiv, Ukraine, P. 277–278.

11. Zaremba, A., Shalimov, O., Onys'ko, P., and Zahorodnia, S. In silico identification of a potential inhibitor of the SARS-CoV-2 S-glycoprotein receptor-binding domain interaction with human ACE2. 9th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1–30 November 2023, Basel, Switzerland, online.

12. Zaremba, A., Zaremba, P., and Zagorodnya, S. Selective DNA intercalation of massive molecules as a new method of highly specific inhibition of transcription. 6th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1–30 November 2020, Basel, Switzerland, online.

Структура та обсяг дисертації. Загальний обсяг рукопису становить 229 сторінок комп'ютерного тексту. Робота складається з анотації, вступу, двох розділів огляду літератури, розділу методології роботи, двох розділів з результатами оригінальних досліджень, розділу обговорення результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Роботу ілюстровано 49 рисунками, 8 таблицями та доповнено 5 додатками. Перелік використаної літератури містить 299 джерел.

Оцінка мови та стилю дисертації. Дисертацію написано фаховою українською мовою, текстове подання матеріалу відповідає стилю науково-дослідної літератури.

Рецензенти рекомендують: відповідно до пп. 15, 16 «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, пропонується такий склад разової ради:

Голова ради:

Кириченко Ангеліна Миколаївна, доктор біологічних наук (03.00.06 – вірусологія), старший науковий співробітник, завідувач лабораторії вірусів рослин Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Рецензент:

Жолобак Надія Михайлівна, кандидат біологічних наук (03.00.06 – вірусологія), старший дослідник, старший науковий співробітник відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Офіційні опоненти:

Задорожна Вікторія Іванівна, доктор медичних наук (14.02.03 – соціальна медицина), професор, член-кореспондент НАМН України, в.о. директора Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України;

Вакал Сергій Євгенович, кандидат біологічних наук (03.00.04 – біохімія), провідний науковець у галузі машинного навчання/штучного інтелекту групи молекулярних досліджень і моделювання відділу розробки ліків, Orion Pharma, м. Турку, Фінляндія. (Lead ML/AI Scientist, Molecular Prospecting and Modeling, Medicine Design, Orion Pharma, Tengströminkatu 8, Turku, Finland);

Нипорко Олексій Юрійович, кандидат біологічних наук (03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія), доцент, завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики Інституту високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Усі члени разової спеціалізованої вченої ради не мають реальний чи потенційний конфлікт інтересів щодо здобувача **Заремби Андрія Анатолійовича**.

У результаті попередньої експертизи дисертації **Заремби Андрія Анатолійовича** і повноти публікацій основних результатів дослідження ухвалено:

1. Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації **Заремби Андрія Анатолійовича** на тему: «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2».

2. За актуальністю, ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів дисертація **Заремби А.А.** 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.

3. Рекомендувати дисертаційну роботу **Заремби А.А.** на тему: «Структуро орієнтована розробка і пошук таргетних антивірусних сполук проти вірусу Епштейна-Барр та SARS-CoV-2» до захисту на здобуття ступеня доктора

філософії у разовій спеціалізованій вченій раді за спеціальністю 091 – Біологія та біохімія.

4. Рекомендувати Вченій раді Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України затвердити склад разової спеціалізованої вченої ради.

Голова засідання, д.б.н., с.н.с.,
член-кор. НАН України, завідувач відділу
молекулярної генетики бактеріофагів
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України



Федір ТОВКАЧ

Секретар засідання, к.б.н.,
старший дослідник, с.н.с. відділу
репродукції вірусів
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д.К. Заболотного НАН України



Любов АРТЮХ