

Химия и технология лекарственных препаратов
и биологически активных соединений
Chemistry and technology of medicinal compounds
and biologically active substances

УДК 615.281.8, 544.165, 615.275.4

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

EDN FUJWGT



ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Технология PROTAC® и перспективы ее применения в борьбе с инфекциями

М.А. Захарова✉, М.В. Чудинов

МИРЭА — Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова),
Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: matildafox@mail.ru

Аннотация

Цели. Описать фармацевтическую технологию направленной деградации белковых молекул (PROTAC®, PROteolysis TArgeting Chimera), подходы к конструированию молекулы PROTAC®, методы подбора и синтеза лигандов и линкера, а также применение данной технологии в борьбе с различными заболеваниями и возможные ограничения ее использования.

Результаты. Обзор охватывает 77 источников, в основном за 2020–2023 гг. В обзоре изложен принцип технологии PROTAC®, который заключается в конструировании химерной молекулы, состоящей из трех фрагментов. Один фрагмент специфически связывается с биомшенью, другой рекрутирует протеолитическую систему клетки-хозяина, а третий связывает их между собой. Описаны направления современного развития технологии, а также возможности и ограничения химерных молекул в борьбе с разными типами инфекционных заболеваний.

Выводы. Показаны перспективы использования технологии PROTAC® в борьбе с онкологическими, нейродегенеративными, аутоиммунными и инфекционными заболеваниями.

Ключевые слова

PROTAC, убиквитин-протеасомная система, лигазы E3, молекулярный дизайн, противовирусные препараты

Поступила: 30.08.2023

Доработана: 03.11.2023

Принята в печать: 11.04.2024

Для цитирования

Захарова М.А., Чудинов М.В. Технология PROTAC® и перспективы ее применения в борьбе с инфекциями. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):214–231. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

REVIEW ARTICLE

PROTAC® technology and potential for its application in infection control

Maria A. Zakharova✉, Mikhail V. Chudinov

MIREA — Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

✉ Corresponding author; e-mail: matildafox@mail.ru

Abstract

Objectives. To describe the pharmaceutical technology of controlled degradation of protein molecules (PROTAC®, Proteolysis Targeting Chimera), approaches to the design of the PROTAC® molecule, methods of ligand and linker selection and synthesis, as well as the application of this technology in dealing with a variety of diseases and the possible limitations of its use.

Results. The review covers 77 sources, mostly from 2020–2023. The review outlines the principle of PROTAC® technology: the construction of a chimeric molecule consisting of three fragments. One fragment specifically binds to the biotarget, another recruits the proteolytic system of the host cell, and the third binds them together. The main areas of the current development of the technology are described herein, as well as the opportunities and limitations of chimeric molecules in the fight against different types of infectious diseases.

Conclusion. The potential to use PROTAC® technology to combat cancer as well as neurodegenerative, autoimmune, and infectious diseases is shown.

Keywords

PROTAC, ubiquitin-proteasome system, E3 ligases, molecular design, antiviral drugs

Submitted: 30.08.2023

Revised: 03.11.2023

Accepted: 11.04.2024

For citation

Zakharova M.A., Chudinov M.V. PROTAC® technology and potential for its application in infection control. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2024;19(3):214–231. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-214-231>

ВВЕДЕНИЕ

Технология химерных молекул для направленной деградации белков (PROTAC®, PROteolysis TArgeting Chimeras) — одна из самых перспективных разработок в рациональном дизайне лекарственных препаратов. Концепция лекарств, основанных на направленной деградации избранных белков-мишеней, была предложена в 2001 г. [1], но активное развитие ее началось лишь несколько лет назад. В 2016 г. база данных PubMed¹ содержала ссылки лишь на 13 публикаций с ключевым словом «PROTAC», а в 2022 г. таких ссылок насчитывалось уже 479. Хотя на настоящий момент ни один лекарственный препарат, основанный на этой технологии, еще не получил одобрения FDA (U.S. Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством

пищевых продуктов и медикаментов США), на различных стадиях клинических испытаний находится не менее 15 таких препаратов, в основном, противоопухолевых. Теоретический механизм действия молекулы PROTAC® схематически представлен на рис. 1. Целевая молекула строится из 3 блоков: блок 1 отвечает за связывание с белком-мишенью, блок 2 — за взаимодействие с ферментом убиквитинлигазой E3 (EC 2.3.2.27)², а блок 3 связывает их между собой. Молекула PROTAC® связывается первым фрагментом-лигандом с целевым белком-мишенью, а второй фрагмент взаимодействует с лигазой E3. Таким образом, белковые молекулы оказываются физически сближены. Основная функция лигаз E3 — запуск механизма мечения различных белков пептидным фрагментом — убиквитином. Этот механизм опосредован еще одним ферментом — лигазой E2 — и служит в клетке

¹ <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.

² <https://www.brenda-enzymes.org/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.

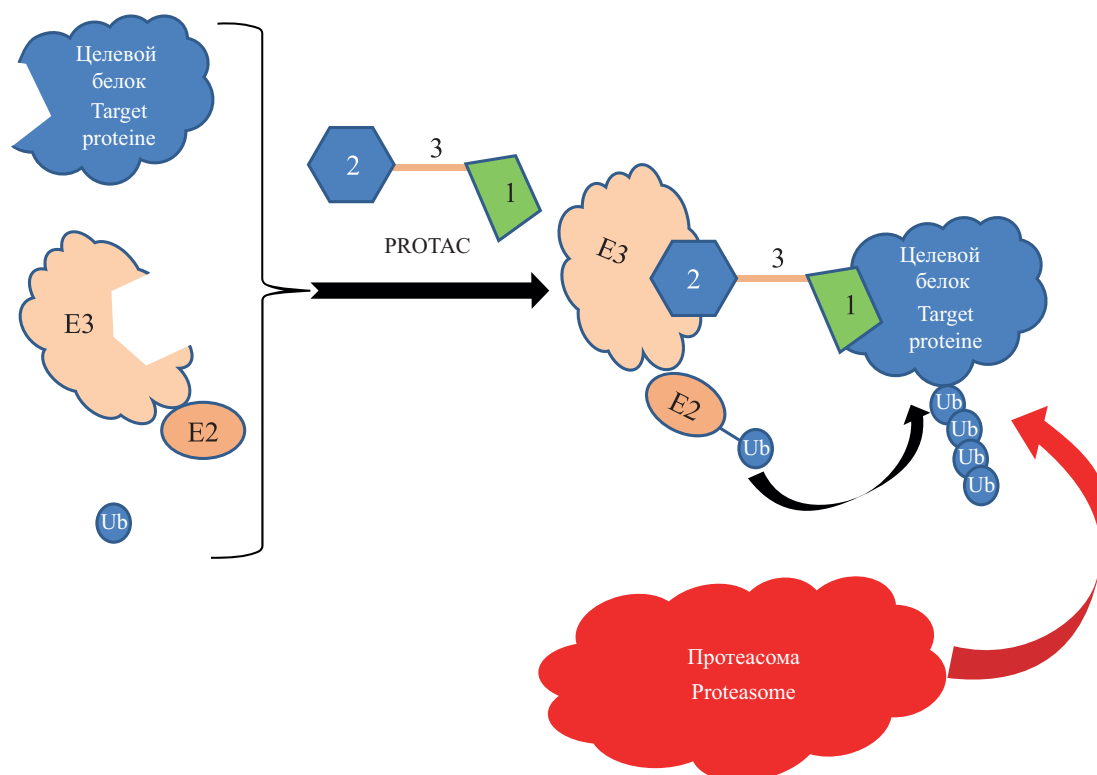


Рис. 1. PROTAC-индуцированная деградация целевого белка убиквитин-протеасомной системой (Ub — убиквитин)

Fig. 1. PROTAC-induced degradation of the target protein by the ubiquitin-proteasome system (Ub — ubiquitin)

для разрушения «ненужных» белковых молекул специальным протеасомным ферментным комплексом [2]. В результате действия молекулы PROTAC® молекула целевого белка оказывается помечена полиубиквитиновой цепочкой и подвергается атаке протеасомы, в результате которой разрушается.

Очевидным полем для применения технологии служит борьба с онкологическими заболеваниями. Селективное направленное разрушение компонентов опухолевых клеток — это главное направление химиотерапии рака, а технология PROTAC® позволяет атаковать такие мишени, которые недоступны обычным препаратам — суицидным ингибиторам. Технология может использоваться в борьбе с нейродегенеративными заболеваниями, например, при болезни Альцгеймера, аутоиммунными болезнями и во всех областях, где используются специфически нацеливаемые препараты, например, моноклональные антитела. Здесь проявляется несомненное достоинство PROTAC® — относительная простота и дешевизна действующей субстанции, построенной из малых молекул, получаемых обычным химическим синтезом.

Достоинствам и перспективам технологии посвящено немало обзорных работ, вышедших в последние годы [3–10]. Однако простота идеи скрывает немало сложностей в ее воплощении. Этот обзор

посвящен достижениям и проблемам в конструировании химерных молекул, предназначенных для селективной деградации белков-мишеней, а также перспективам применения технологии PROTAC® в борьбе с инфекционными агентами.

Конструирование молекулы PROTAC®

Молекула PROTAC® состоит из трех структурных компонентов. Каждый из них выбирается в соответствии со строением биомишени, что в свою очередь определяет фармакодинамические и фармакокинетические свойства химеры. Алгоритм конструирования следующий: чаще всего выбирают хорошо изученные лиганды с доказанной аффинностью к мишени. В структуре лиганда определяется точка модификации, предпочтительно на периферии, там, где не будет затронут фармакофор, и в этой точке к ней присоединяется линкерная группа. Для полученного полупродукта проверяют связывание с мишенью и в случае успеха на другой конец линкера присоединяют лиганд к лигазе E3, выбранный из набора известных структур. Конструирование молекулы PROTAC® завершено, но ее работоспособность будет зависеть от множества нюансов в выборе всех трех компонентов.

Выбор лигандов к лигазе E3

Количество убиквитин-переносящих лигаз в организме человека превышает 600 [2], но лишь немногие из них имеют низкомолекулярные лиганды и пригодны для работы с молекулой PROTAC®. Лигаза E3 — фермент, выполняющий функцию присоединения убиквитина к произвольному белку, и в этом смысле различий между разными типами лигаз почти нет. Однако некоторые из них имеют своеобразную «кнопку включения» — сайт связывания низкомолекулярного лиганда. Взаимодействие с этим лигандом активирует фермент. Фактически из всего возможного разнообразия на практике обычно используют 3 лигазы — CRBN (cereblon), VHL (сокр. от нем. Von Hippel–Lindau) и cIAP (cellular inhibitor of apoptosis). На них приходится более 95% описанных активных химер PROTAC®, и более

половины — на CRBN [6]. Известные синтетические лиганды к трем этим белкам приведены на рис. 2.

Лиганды CRBN — это талидомид **1** и его производные **2–5**; их связывание с CRBN отвечает за противоопухолевую активность этих соединений [12]. Лиганды других используемых ферментов — псевдопептидные молекулы, содержащие неприродные аминокислоты. Сравнение структур лигандов объясняет причины популярности CRBN: простота, синтетическая доступность и активность в рацемической форме. Есть и еще одна причина этого выбора — активность молекул PROTAC®, нацеленных на один и тот же белок, но сконструированных под разные лигазы, различна [3]. На CRBN построены самые эффективные химеры. Однако выбор лигазы должен определяться в первую очередь биомиссией, т.к. в разных органах и тканях протеом имеет существенные различия [13, 14].

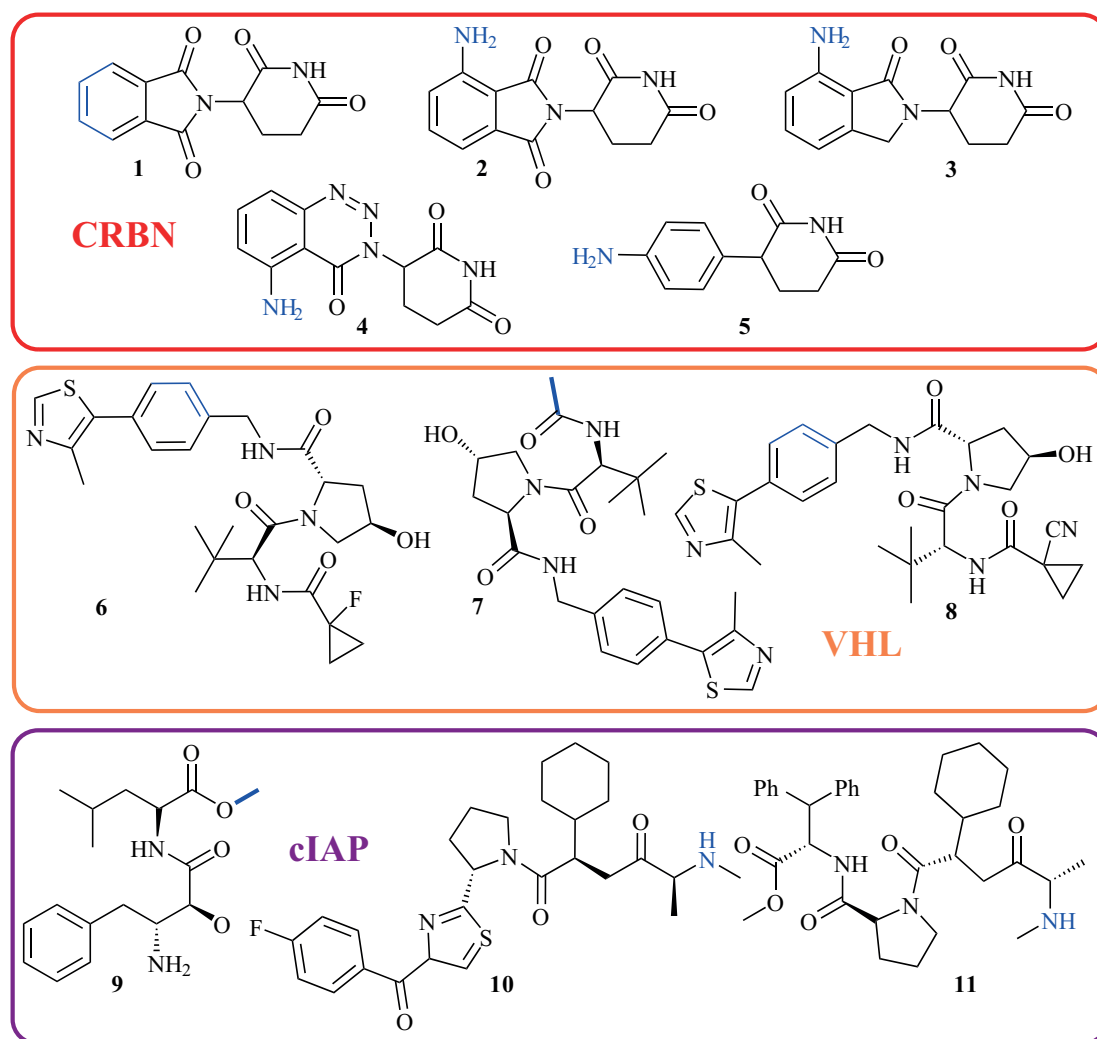


Рис. 2. Лиганды лигаз E3. Синим отмечены возможные точки модификации [11]

Fig. 2. Ligands of ligases E3. Possible modification points are marked in blue [11]

Синтез лигандов к CRBN

По данным обзора [11], частота применения лигандов к CRBN в успешных молекулах PROTAC® различается в зависимости от точки присоединения и типа линкера (рис. 3).

Самые распространенные лиганды **15–17** основаны на структуре помалидомида **2**, методы их синтеза представлены на схеме 1. Из наиболее доступного Вос-*L*-глутамин в присутствии конденсирующего агента (обычно карбонилдиимидзола) получают циклическое производное **12**, которое после удаления защитной группы ацилируют 3-замещенным фталевым ангидридом. К полученным производным **14** присоединяют линкерные группы либо прямым замещением фтора на амин **15**, либо сначала восстанавливают нитрогруппу соединения **14b** до амина и получают помалидомид **2**, который ацилируют или алкилируют по аминогруппе. Аналогично из 3-гидроксифталевого ангидрида получают 4-гидрокситалидомид **14c**, который алкилируют по фенольному гидроксилу для синтеза лигандов типа **18**. Лиганды типов **19–20**, в которых линкер

присоединен через углеродную цепочку, получают Pd-катализируемым кросс-сочетанием с терминальными ацетиленами. Есть немало альтернативных путей к этим структурам, но практически все они основаны на конденсации замещенного фталевого ангидрида с глутамином, глутаминовой кислотой или циклическим 3-аминопиперидин-2,6-дионом **13**. Различия определяются, главным образом, удобством присоединения линкерной цепочки и общим выходом синтетической схемы.

Сходным образом получают производные, замещенные по 4 положению фенильного кольца фталевого ангидрида. Более подробно ознакомиться с методами синтеза лигандов ЕЗ можно в обзорной статье Bricelj *et al.* [11].

Выбор линкерной группы и сборка молекулы PROTAC®

Эффективность действия химерной молекулы зависит не только от аффинности лигандов к целевому белку и лигазе ЕЗ, но и от правильного подбора связывающей их линкерной группы. Ряд

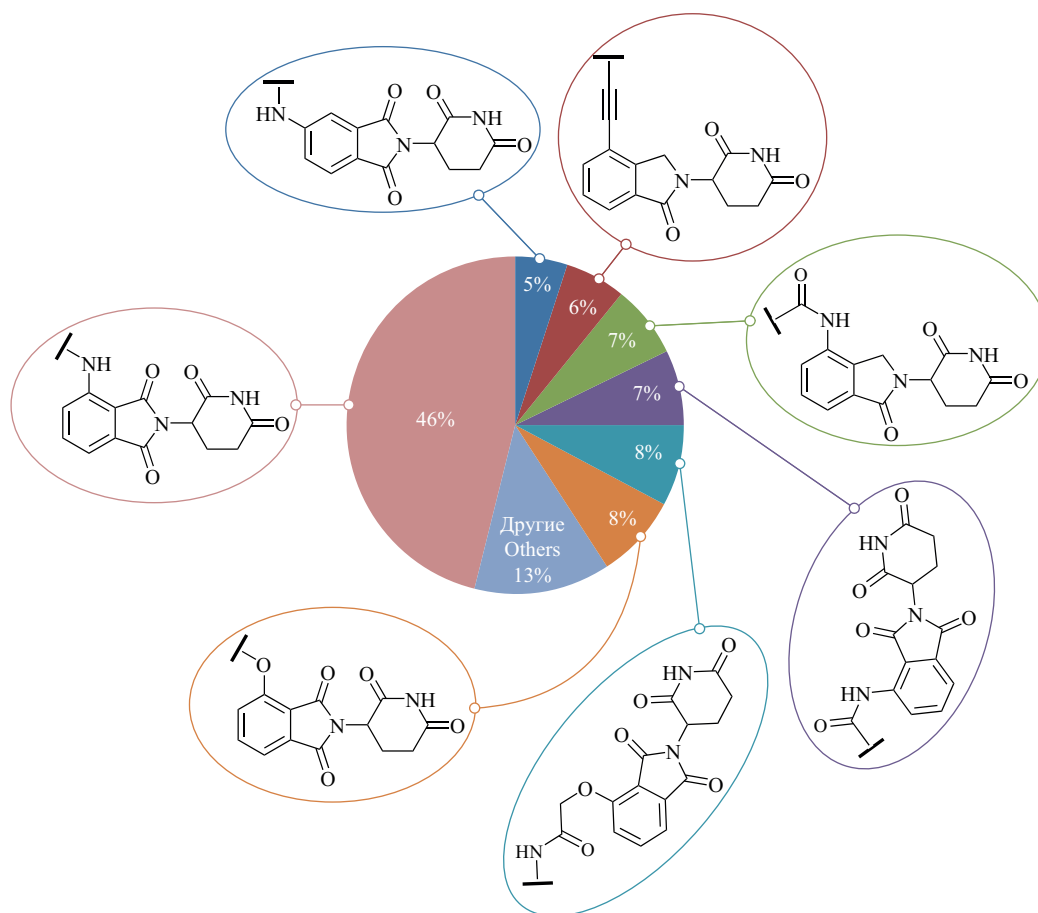
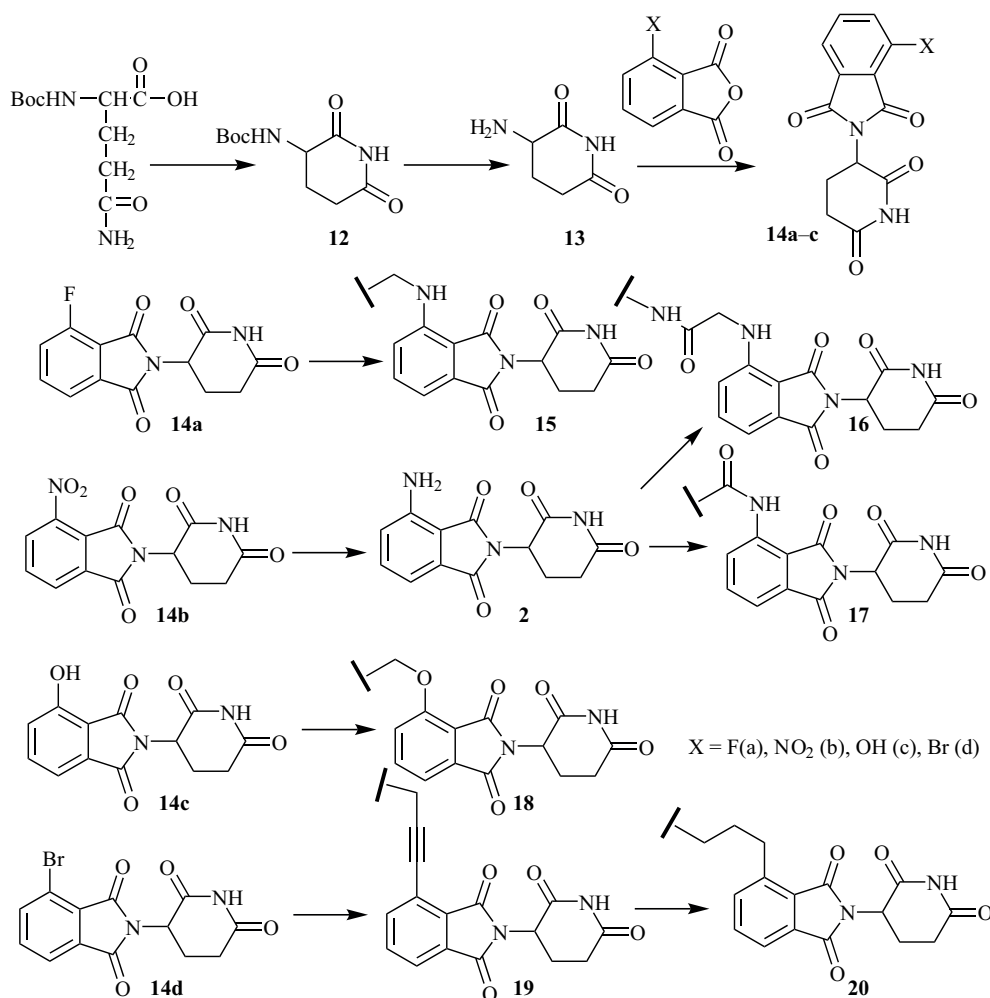


Рис. 3. Структуры синтетических лигандов к CRBN в успешных молекулах PROTAC® [11]

Fig. 3. Structures of synthetic ligands to CRBN in successful PROTAC® [11]

**Схема 1.** Синтез лигандов CRBN на основе 3-замещенного фталевого ангидрида**Scheme 1.** Synthesis of CRBN ligands based on 3-substituted phthalic anhydride

исследований [15, 16] показал, что длина, гибкость и структурные особенности линкерной группы играют критическую роль для образования троичного комплекса «целевой белок–PROTAC®–лигаза ЕЗ». Чаще всего в роли исходного линкера выбирают простые и относительно короткие углеводородные цепочки или полиэтиленгликоли, которые в процессе оптимизации структуры постепенно видоизменяют. Точка присоединения линкера к лигандам и ориентация линкерной цепочки должны быть подобраны так, чтобы не снижать аффинность лигандов. Чаще всего подбор осуществляют методами рационального дизайна, исходя из установленной структуры сайта связывания. Основные правила подбора точки присоединения таковы: (1) молекулярный фрагмент лиганда нельзя сильно изменять, чтобы не утратить аффинность; (2) линкер должен входить в активный центр со стороны, доступной для сольватации [6]. Пример влияния линкера на активность химерной молекулы показан

в работе Cao *et al.* [17] (рис. 4). Химерная молекула SK-575 **22** была разработана для деградации ядерного белка PARP1 (поли(ADP-рибоза)полимераза) — валидированной онкомишени — и базировалась на структуре ингибитора **21** (Olaparib). Она показала эффективную деградацию белка-мишени (>99%) при концентрации 100 нМ в модельной клеточной системе, однако ее гомологи имели меньшую активность. Сопоставимой активностью обладали гомологи **23с–е**, у которых длина спейсерной цепочки отличалась на 1–2 атома. Более короткие или более длинные линкеры заметно снижали активность химеры. Изомер **24** при той же концентрации разрушал лишь 77% целевого белка. Предположительно, точка присоединения линкера влияет на стабильность троичного комплекса. В большей степени на эффективность деградации белка-мишени оказывает влияние тип линкера. Аналоги соединения **22** с полиэтиленгликольными линкерами были в 3–5 раз менее активны (таблица).

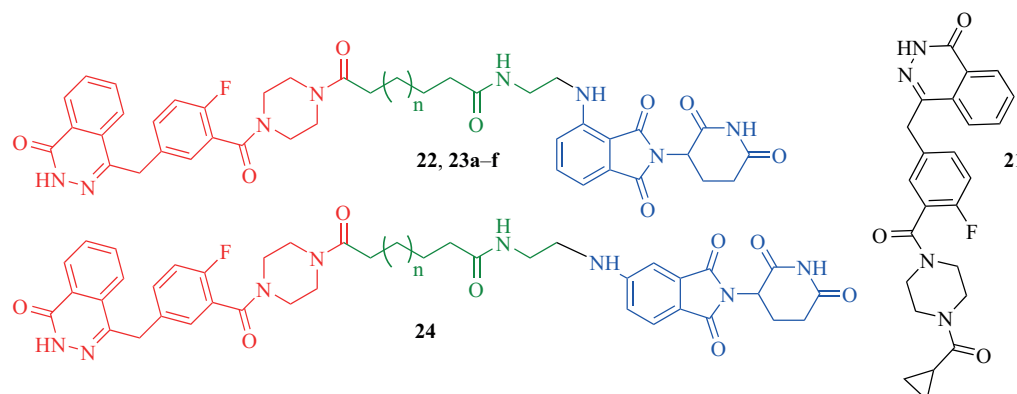


Рис. 4. Структуры молекул PROTAC® для деградации PARP1 (синий фрагмент — лиганд CRBN, красный — лиганд к PARP1, зеленый — спейсерная группа) [17] и исходного ингибитора

Fig. 4. Structures of PROTACs® for degradation of poly(ADP-ribose)polymerase (PARP1) (blue is the CRBN ligand, red is the ligand to PARP1, green is the spacer group) [17] and the initial inhibitor

Таблица. Значение IC_{50} (μM) в зависимости от длины линкера

Table. IC_{50} (μM) value depending on linker length

Соединение Compound	22 $n = 7$	23a $n = 1$	23b $n = 3$	23c $n = 5$	23d $n = 6$	23e $n = 8$	23e $n = 9$	24 $n = 7$
IC_{50} , μM	$0.019 \pm 0.006^*$	>10	0.83 ± 0.26	0.123 ± 0.071	0.029 ± 0.008	0.021 ± 0.003	0.025 ± 0.004	0.035 ± 0.015

Примечание: n — количество углеродных групп в цепи. IC_{50} (μM) — концентрация полумаксимального ингибирования.

* Показатели говорят о высокой эффективности соединения **22**.

Note: n is the number of carbon groups in the chain. IC_{50} (μM) is concentration of half-maximal inhibition.

* Parameters show the high efficiency of compound **22**.

Стоит отметить, что степень деградации целевого белка зависит от множества факторов, и аффинность к целевому белку не является прямым показателем эффективности молекулы PROTAC®. Для работы молекулы PROTAC® аффинность необходима, но высокая константа связывания с целевым белком не гарантирует ее эффективность.

Последовательность работ по конструированию молекул PROTAC®, описывающая экспериментальные приемы и применяемые тестовые системы, представлена в форме протокола в работе [18]. Принципы дизайна молекул PROTAC®, ориентированных на различные мишени, подробно обсуждаются в работах [19, 20]. Разработка и сборка конечной молекулы в большинстве работ описана в пошаговой последовательности (синтез лигандов — выбор спейсера — сборка химеры — изучение активности), но быстрый синтез больших библиотек целевых молекул для высокоэффективного скрининга и оптимизации может стать одним из направлений развития технологии. Примеры технологических платформ для высокоэффективного синтеза библиотек молекул PROTAC® приведены в работах [21–23].

ВЫБОР МИШЕНИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ

Выбор целевого белка является главным в конструировании молекулы PROTAC®, он определяется поставленной задачей терапии. Сама концепция направленного разрушения белка выглядит наиболее подходящей для борьбы с онкологическими заболеваниями [24–26]. Действительно, первые молекулы PROTAC®, прошедшие клинические испытания I и II фазы, направлены на андрогеновые (ARV-110, **25**) [27, 28] и эстрогеновые (ARV-471, **26**) [29] рецепторы и предназначены для борьбы с раком простаты и раком молочной железы соответственно (рис. 5).

Важным достоинством технологии PROTAC® в сравнении с традиционными лекарственными препаратами является то, что для связывания химеры может использоваться не только активный сайт белка-мишени, но и любой его фрагмент. Таким образом, спектр биомишеней расширяется за счет множества ранее недоступных для терапии целей.

Ориентация на хорошо изученные мишени объединяет все удачные примеры разработки химерных молекул — разрушителей белков. Мишенями для

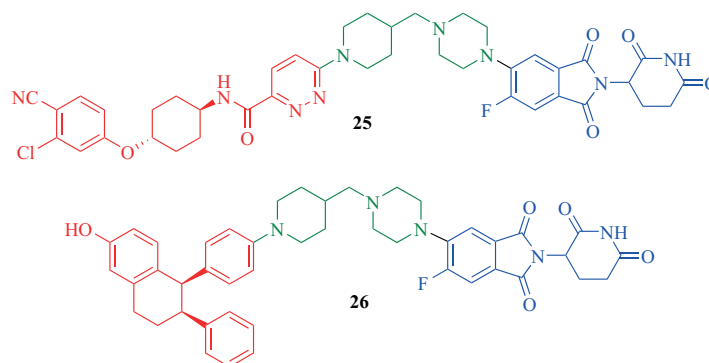


Рис. 5. Первые клинически успешные примеры применения технологии PROTAC® (синий фрагмент — лиганд CRBN, красный — лиганд к целевому рецептору, зеленый — спейсерная группа)

Fig. 5. The first clinically successful examples of PROTAC® technology application (blue is the CRBN ligand, red is the ligand to the target receptor, green is the spacer group)

молекул PROTAC® служат рецепторы [27, 29, 30], протеинкиназы [31], бромодомен-содержащие белки и белки-трансдукторы [3], а также множество других протеинов.

Как все успешные инновации, технология PROTAC® породила целый спектр новых направлений, объединенных идеей использования собственных механизмов клетки для атаки биомишени.

Первым таким направлением стало использование альтернативных путей деградации целевых белков, не опосредованных убиквитин-протеасомной системой. Аутофагия — еще один из способов избавления клеток от ненужных компонентов [32]. Takahashi *et al.* [33] показали, что возможно сконструировать молекулы **27–28**, названные ими AUTAC (аутофаг-нацеленная химера) (рис. 6),

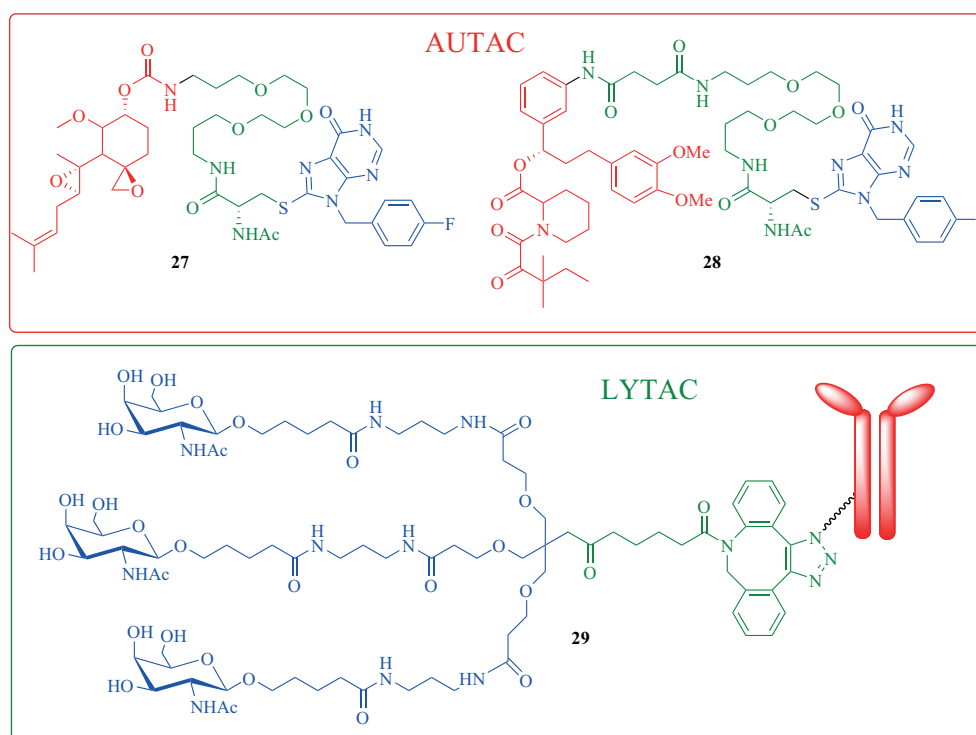


Рис. 6. Структуры AUTAC **27–28** (синий фрагмент — гуанилатный маркер, красный — лиганд к целевому рецептору, зеленый — спейсерная группа) [33] и LYTAC **29** (синий — лиганд ASGPR, красный — антитело к целевому белку, зеленый — спейсерная группа) [39]

Fig. 6. The structures of autophagy-targeted chimera (AUTAC) **27–28** (blue is a guanylate marker, red is a ligand to the target receptor, green is a spacer group) [33] and lysosome-targeted chimera (LYTAC) **29** (blue is an ASGPR ligand, red is an antibody to the target protein, green is a spacer group) [39]

которые используют механизм аутофагии для направленного разрушения целевого белка. Как и молекула PROTAC®, такая химера действует внутри клетки. AUTAC связывает «боеголовку» для целевого белка с производным гуанина, которое помечает белок для уничтожения путем аутофагии [34]. Направленный протеолиз может вызываться так называемыми белками теплового шока (HSP). Химеры, использующие связывание с белком HSP90 (HEMTAC), описаны в работе Li *et al.* [35]. Около 40% белков относятся к мембранным или внеклеточным, эти мишени недостижимы для протеасомной системы и не подвержены аутофагии. Многие из них играют важную роль в процессах канцерогенеза, возрастных и аутоиммунных заболеваниях [36]. Против внеклеточных белков может быть задействован лизосомальный путь деградации [37, 38]. Описан ряд структур, так называемых LYTAC (лизосома-нацеленная химера), в которых для транспорта внеклеточного белка-мишени в лизосому используют лиганды к специфическим белкам-переносчикам CI-M6PR [38] или ASGPR 29 [39, 40] (рис. 6). В роли лигандов к целевому белку использовали моноклональные антитела [39] или аптамеры [40, 41].

Альтернативой технологии PROTAC® является активно разрабатываемая технология RIBOTAC — химерные молекулы, нацеленные на разрушение РНК [42]. В этом случае изменяется не только способ деградации, но и тип биомишени. Когда мишенью выступает нуклеотидная последовательность, связывание с ней обычно обеспечивает либо антисмысловой олигонуклеотид, либо малая интерферирующая РНК (siRNA). Использовать лиганды такого типа для нацеливания химеры значит отказаться практически от всех преимуществ новой технологии — простоты и дешевизны синтеза, стабильности молекулы, возможности использовать энтеральные пути введения в организм. Поэтому в технологии RIBOTAC для нацеливания на мишень используют малые молекулы, селективно связывающиеся с РНК, особенно с теми РНК, которые образуют устойчивые вторичные и третичные структуры [43] (рис. 7). Разрушителем мишени выступает интерферон-зависимая рибонуклеаза L (EC 3.1.26) — фермент, участвующий в работе иммунной системы. Он активируется олигоаденилатным фрагментом, который в структуре RIBOTAC отвечает за связывание с рибонуклеазой. Поиски лигандов рибонуклеазы среди других малых молекул описаны в работе [45].

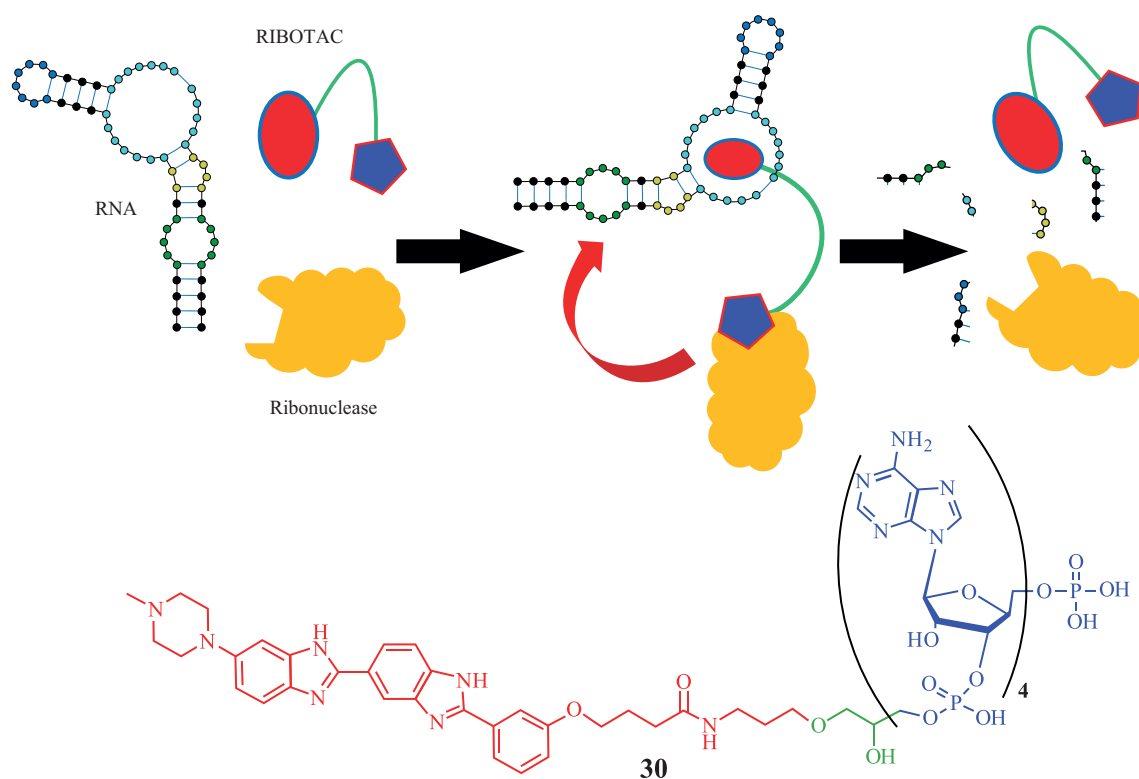


Рис. 7. RIBOTAC-индуцированная деградация РНК рибонуклеазой L. МикроРНК-210-нацеленная химерная молекула TGP-210-RL **30** [44] (синий фрагмент — лиганд к рибонуклеазе L, красный — лиганд к МикроРНК-210, зеленый — спейсерная группа)

Fig. 7. RIBOTAC-induced degradation of RNA by ribonuclease L. MicroRNA-210 is a targeted chimeric molecule TGP-210-RL **30** [44] (blue is a ligand to ribonuclease L, red is a ligand to microRNA-210, green is a spacer group)

Еще одна альтернатива — химеры, в которых лигандом к целевому белку выступают не малые молекулы, а различные биополимеры: пептиды, олигонуклеотиды или антитела (Non-small molecule PROTACs или NSM-PROTAC) [46]. Такие конструкции утрачивают ряд преимуществ исходной технологии, взамен приобретая более точное нацеливание на ранее недоступные мишени.

ПРОБЛЕМЫ ТЕХНОЛОГИИ И СПОСОБЫ ИХ РЕШЕНИЯ

Существует набор сложностей, изначально присущих технологии PROTAC®, которые пока не дают ей захватить лидирующие позиции в дизайне лекарственных средств [47]. Первой такой проблемой являются изначально плохие фармакологические свойства большинства химерных молекул. Почти все они выбиваются из принятых параметров лекарственного подобию (*drug-likeness*) из-за значительных размеров и молекулярной массы. Низкая растворимость также затрудняет разработку лекарственных форм для перорального введения. Отчасти эта проблема может быть решена традиционными методами структурно-ориентированного дизайна [48, 49].

Другая сложность в разработке химерных молекул связана с относительно слабым набором доступных инструментов для этой работы. Если для поиска и оптимизации традиционных лекарственных препаратов существует огромное разнообразие физико-химических методов и тестовых систем, то для новой технологии такого множества подходов еще не разработано. Как упоминалось ранее, эффективность действия молекулы PROTAC® не связана напрямую с легко измеряемой аффинностью, а скорее со стабильностью троичного комплекса и параметрами белок-белкового взаимодействия. От чего зависят эти величины, а также селективность молекул PROTAC®, пока до конца неясно. Таким образом, рациональный дизайн новых химер еще не скоро превратится в рутинную процедуру. Обзор, посвященный инструментам и методам рационального дизайна молекул PROTAC®, представлен Liu *et al.* [50].

Еще одна проблема связана с механизмом действия молекул PROTAC®. Когда традиционные суицидные ингибиторы попадают в клетку, каждая молекула препарата «убивает» только одну молекулу-мишень (фермент или рецептор), таким образом, действие препарата напрямую связано с концентрацией и аффинностью. Но PROTAC® рекрутирует собственные системы клетки, и после распада белка-мишени химера включается в новый каталитический цикл. Таким образом, действие препарата

будет продолжаться вплоть до полного выведения или разрушения всех молекул PROTAC®. Это открывает путь, с одной стороны, к высочайшей эффективности, а с другой — к неконтролируемым побочным эффектам. Крайне желательно предусмотреть химический «выключатель» — способ прекратить или возобновить действие молекулы-разрушителя в нужный момент.

Такого рода разработки ведутся в области фотофармакологии [52]. Пример фотопереключаемой молекулы PROTAC® показан на рис. 8. Исходной структурой послужила химерная молекула ARV-771 **31**, нацеливаемая на онкомишень BRD-4. Длина спейсера в ней составляет 11 Å, и если ее изменить в большую или меньшую сторону, стабильность троичного комплекса нарушается и PROTAC® перестает работать. В структуре фотопереключаемой молекулы **32a** полиэтиленгликольный спейсер заменен на фрагмент замещенного *транс*-азобензола равной длины. При облучении светом с длиной волны 530 нм азобензол изомеризуется в *цис*-форму **32b**, при этом расстояние между лигандами сокращается до 8 Å и вещество утрачивает активность. Обратный переход инициируется облучением при 415 нм.

«Выключатель» может иметь и чисто химическую природу. Описаны варианты химерных противораковых молекул, использующих фолатную систему нацеливания [53]. В нормальных клетках рецепторы фолиевой кислоты присутствуют в незначительном количестве, в сравнении с многими типами опухолевых клеток, активно экспрессирующих эти рецепторы. Когда неактивное пролекарство **33**, конъюгированное с фолиевой кислотой, транспортируется в раковые клетки, активная субстанция — PROTAC® ARV-771 **31** — высвобождается под действием эндогенных гидролаз (рис. 9).

Другой способ приблизить фармакодинамику молекулы PROTAC® к обычным моделям состоит в использовании ковалентных ингибиторов в качестве «боеголовки». Если лиганд в составе химеры связывается с целевым белком ковалентно, при разрушении мишени протеасомой высвобождается уже отработанная молекула, неспособная снова включиться в каталитический цикл. Таким образом, молекула PROTAC® начинает работать как обычный суицидный ингибитор, но сохраняет преимущество в спектре мишеней. Есть и другие концепции дизайна технологии PROTAC®, использующие ковалентное связывание, в том числе обратимое [55]. В работе Jin *et al.* [56] предлагается контролировать процесс деградации целевого белка, вводя в клетку вещество, селективно связывающее активную молекулу PROTAC®.

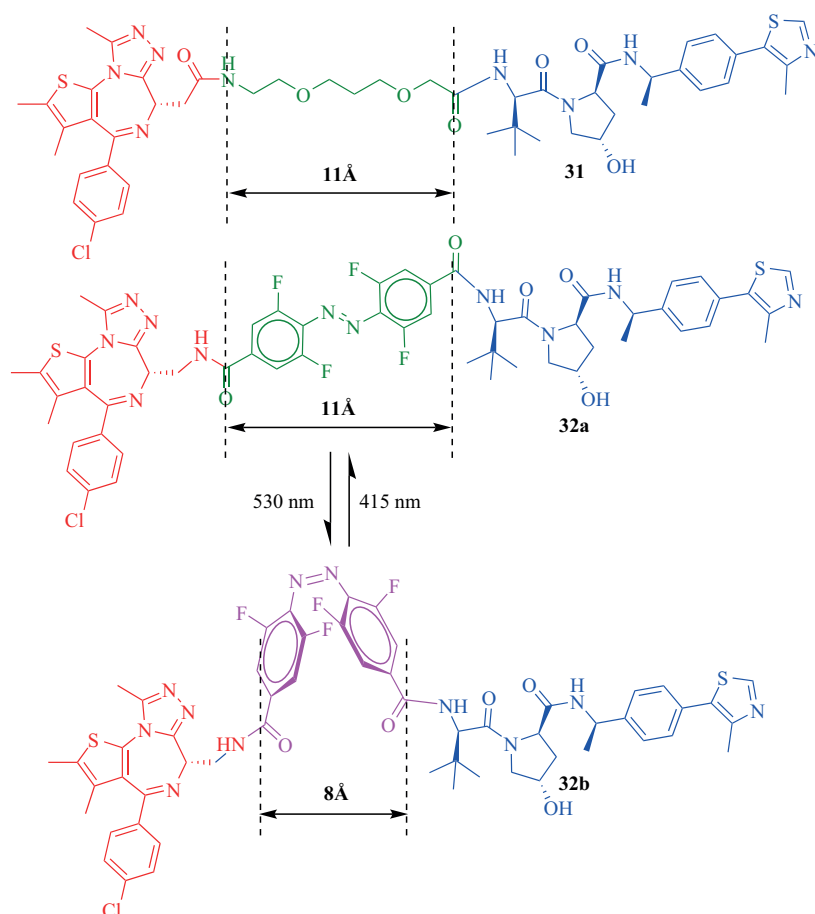


Рис. 8. Фотопереключаемая молекула PROTAC® (синий фрагмент — лиганд к лигазе E3 VHL, красный — лиганд к целевому белку BRD4, зеленый — спейсерные группы) [51]

Fig. 8. Photoinduced switching PROTAC® (blue is ligand to the E3 VHL ligase, red is ligand to the target protein BRD4, and green is spacer groups) [51]

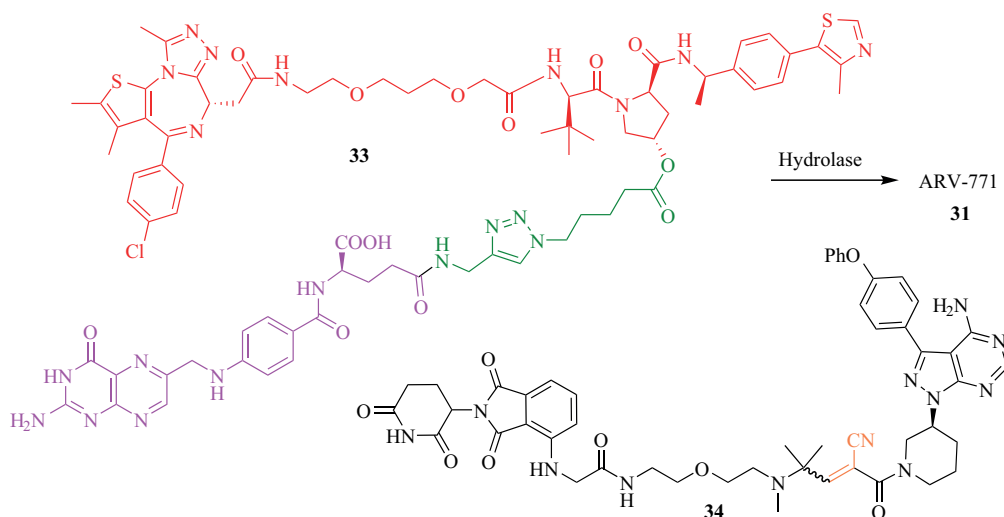


Рис. 9. PROTAC® 33 с фолатной системой доставки в опухолевую клетку (красным выделен фрагмент исходной активной субстанции, фиолетовым — фолатная группа, зеленым — спейсерный фрагмент) [53]; ковалентный PROTAC® (оранжевый фрагмент — акриламидная группа, отвечающая за ковалентное связывание с мишенью) [54]

Fig. 9. PROTAC® 33 with folate delivery system to the tumor cell (the fragment of the initial active substance is highlighted in red, the folate group is highlighted in purple, the spacer fragment is highlighted in green) [53]; covalent PROTAC® (an orange fragment is an acrylamide group responsible for covalent binding to the target) [54]

ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ PROTAC® В БОРЬБЕ С ИНФЕКЦИЯМИ — ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

На первый взгляд, использование новой технологии против патогенных организмов и вирусов кажется очень перспективным, однако количество публикаций, описывающих антибактериальные или противовирусные молекулы PROTAC®, пока сравнительно невелико. Следует рассматривать стратегии применения направленной деградации белков против бактериальных, вирусных и протозойных инфекций отдельно вследствие существенных различий между биомишенями.

Строго говоря, применение технологии PROTAC® в ее исходном виде против прокариотических клеток, то есть бактерий, невозможно, т.к. убиквитин-протеасомная система существует только у эукариот. Но сама идея направленной деградации целевых белков через активацию собственных систем клетки вполне может быть распространена на бактериальные клетки. В 2022 г. Morreale *et al.* [57] предложили концепцию VasPROTAC, опирающуюся на протеазную систему грамположительных бактерий и микобактерий ClpCP, сходную с убиквитин-протеазной системой эукариот. По сравнению с эукариотическими протеасомами, которые распознают сложные полиубиквитиновые цепочки, механизм активации ClpCP гораздо проще. Меткой деградации служит фосфатная группа, связанная с остатком аргинина целевого белка. В качестве доказательства жизнеспособности концепции, исследователи проверили эффективность деградации модельного белка (стрептавидина) *in vitro*, соединив его лиганд (биотин) с фосфорилированным аргинином через линкер в соединении VasPROTAC-1 **35** (рис. 10).

Соединение **35** в концентрации 100 мМ действительно разрушало целевой белок *in vitro*

в присутствии ClpCP у *Bacillus subtilis*. Однако фармакокинетика VasPROTAC-1, построенного на основе фосфорилированного аргинина, неудовлетворительна, а гуанидинфосфатная группа нестабильна. Исследователи предложили замену аргинин-фосфатного лиганда на циклические пептидные молекулы, подобные цикломарину А — антибиотику, выделенному из морского актиномицета и обладающему значительной аффинностью к ClpCP.

VasPROTAC на настоящий момент скорее фундаментальная концепция, чем технология. Для применения на практике нужно преодолеть еще немало препятствий. Высокая избирательность молекулы PROTAC® в случае антибактериальной терапии скорее недостаток: бесчисленное разнообразие генетически изменчивых патогенных микроорганизмов делает крайне затруднительным выбор мишени и универсальный подход к конструированию химеры. Тем не менее есть авторитетные обзоры [58–61], подтверждающие актуальность таких исследований.

Противопротозойные молекулы PROTAC® кажутся более вероятными, т.к. возбудители относятся к эукариотам, убиквитин-протеасомная система у них присутствует, хотя и менее изучена, чем человеческая. Однако исследований, описывающих такие химеры, на настоящий момент еще не опубликовано.

Наибольшее число работ, посвященных применению технологии в борьбе с инфекциями, направлено на разработку противовирусных молекул PROTAC®. Жизненный цикл вируса протекает в человеческой клетке, а значит, для деструкции белковых компонентов вируса убиквитин-протеасомная система подходит. Перспективной кажется и технология RIBOTAC, т.к. вирусная РНК имеет значительные отличия. Однако остается ряд неразрешенных вопросов: доступны ли места локализации вируса в клетке для протеасомы? Может ли химера не только снизить

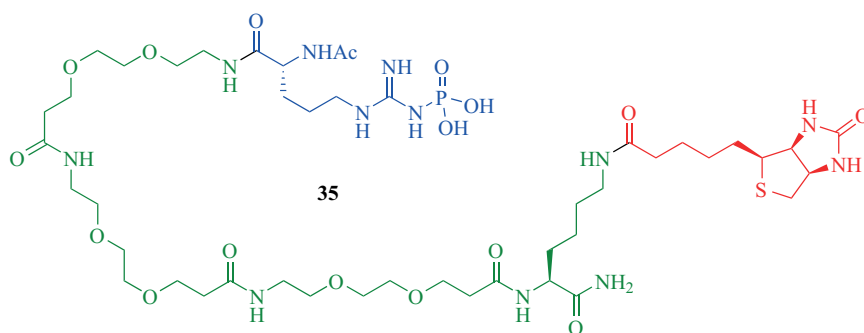


Рис. 10. VasPROTAC-1 — модельная химера, использующая протеазную систему ClpCP для разрушения стрептавидина (синим выделен лиганд ClpCP, красным — лиганд к целевому белку, биотин, зеленым — линкерная группа) [57]

Fig. 10. VasPROTAC-1 is a model chimera using the ClpCP protease system to destroy streptavidin (the ClpCP ligand is blue, the target protein ligand, biotin, is red, and the linker group is green) [57]

вирусную нагрузку, но и предотвратить заражение? Проблемы использования технологии в борьбе с вирусами рассмотрены в нескольких обзорных работах [14, 60–64].

Возможны два пути применения технологии в борьбе с вирусной инфекцией: разрушение собственно вирусных мишеней или разрушение белков клетки-хозяина, ответственных за патологические процессы. Примеров использования PROTAC® для деградации белков вируса пока относительно немного. Структуры наиболее активных из описанных соединений приведены на рис. 11.

Li *et al.* [65] использовали пентациклическую тритерпеноидную олеаноловую кислоту как «боеголовку» для нацеливания на гемагглютинин вируса гриппа. Олеаноловая кислота проявляет противовирусное действие в отношении вируса гриппа А и обладает умеренной аффинностью к гемагглютинину [66]. Были синтезированы два набора молекул PROTAC® с лигандами к лигазам CRBN и VHL и с различными спейсерными группами. Деструкцию целевого белка проводили *in vitro* в модельной клеточной системе. Максимальный уровень деструкции гемагглютинина (средняя концентрация деградации $DC_{50} = 1.44 \mu M$) показало соединение **36** с лигандом VHL.

Осельтамивир является известным препаратом для лечения гриппа, ингибирующим нейраминидазу вируса гриппа — фермент, участвующий в процессе репликации. Соединения на основе осельтамивира были использованы для нацеливания на нейраминидазу штамма вируса гриппа А H1N1 [67]. Была получена большая серия соединений, в которых использовались лиганды к CRBN и VHL, разнообразные линкеры и различный тип присоединения линкера к молекуле осельтамивира. *In vitro* наилучшую активность продемонстрировало соединение **37** (полумаксимальная эффективная концентрация $EC_{50} = 0.33 \mu M$), почти такую же, как у препарата сравнения — осельтамивира фосфата ($EC_{50} = 0.36 \mu M$). Соединение не проявляет цитотоксичности по отношению к нормальным клеткам в концентрации до $50 \mu M$.

Функция сериновой протеазы NS3/4A вируса гепатита С заключается в расщеплении вирусного полипротеина, это важная стадия репликации вируса. Таким образом, деградация протеазы NS3/4A с помощью PROTAC® должна ингибировать образование и размножение вириона. Телапревир, пептидомиметический ингибитор протеазы NS3/4A, использовали как «боеголовку» соединения **38**, а трициклический имидный фрагмент послужил в нем лигандом

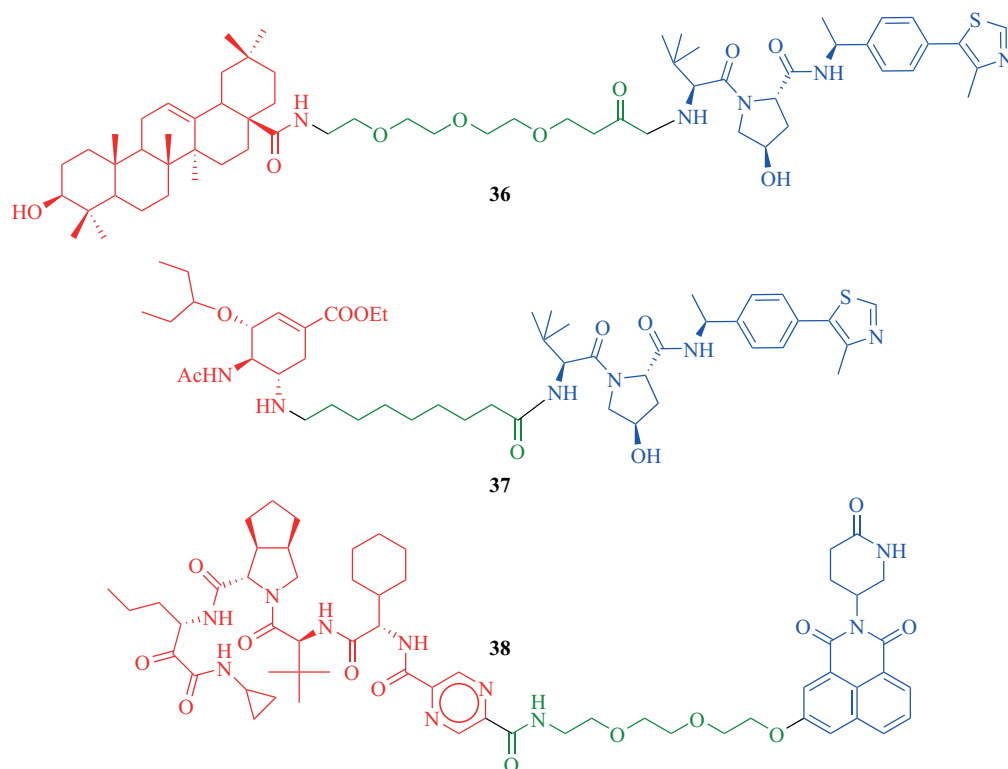


Рис. 11. Структуры молекул PROTAC®, направленных на различные вирусные белки (синим выделены лиганды E3, красным — лиганды к целевому белку, зеленым — линкерные группы)

Fig. 11. Structures of PROTACs® aimed at various viral proteins (E3 ligands are blue, ligands to the target protein are red, linker groups are green)

лигазы E3 CRBN. Соединение **38** в клеточной модели показало высокую способность к разрушению протеазы ($DC_{50} = 50 \text{ nM}$) [68].

Для разрушения нуклеиновых кислот вируса SARS-CoV2 применяли описанную выше технологию RIBOTAC [69, 70], связывая антисмысловые последовательности с лигандами к рибонуклеазе L.

Отмечено, что некоторые собственные способы борьбы организма с вирусами аналогичны действию технологии PROTAC®. Так, например, одна из лигаз E3 (URB5) имеет родство к белку коронавируса MERS-CoV ORF4b, подавляющему иммунную систему клетки. В результате ее действия этот белок помечается полиубиквитиновой цепочкой и разрушается протеасомой, повышая сопротивляемость организма вирусу [71]. Существуют и природные вещества, работающие по сходному принципу: метаболит APL-16-5 (**39**, рис. 12), выделенный из грибка *Aspergillus* sp. CPCC 400735, обладает противовирусным действием в отношении гриппа А за счет того, что является лигандом одновременно полимеразы вируса и лигазы E3 TRIM25 [72].

Другой способ борьбы с вирусной инфекцией — подавление патологических клеточных процессов, вызванных вирусом. В этом случае действие технологии PROTAC® более традиционно. Инфекция,

вызываемая цитомегаловирусом, развивается при участии циклин-зависимых протеинкиназ (cyclin-dependent kinases, CDK), ингибиторы которых тестируются в роли противовирусных препаратов [73]. В частности, соединение SNS-032 **40** компании *Selleck* (США), селективный ингибитор CDK, послужило основой для противовирусного препарата PROTAC® **41** [74]. Соединение **41** ($EC_{50} = 0.025 \pm 0.001 \mu\text{M}$) оказалось почти в четыре раза более эффективным, чем исходное SNS-032 ($EC_{50} = 0.105 \pm 0.004 \mu\text{M}$).

В поисках эффективной терапии для COVID-19 во время пандемии было заново проверено множество зарегистрированных препаратов из самых разных классов. В частности, некоторая эффективность против коронавирусной инфекции обнаружилась у индометацина — старого противовоспалительного препарата. *Desantis et al.* [75] разработали несколько препаратов PROTAC®, использующих структуру индометацина в роли «боеголовки», нацеленной на простагландин-Е синтазу 2 (prostaglandin-E synthase 2, PGE-2). Этот фермент взаимодействует с коронавирусным белком NSP7, необходимым для репликации SARS-CoV2. Точный механизм противовирусного действия индометацина неясен, однако разрушение PGE-2 подавляет репликацию. Наиболее активное

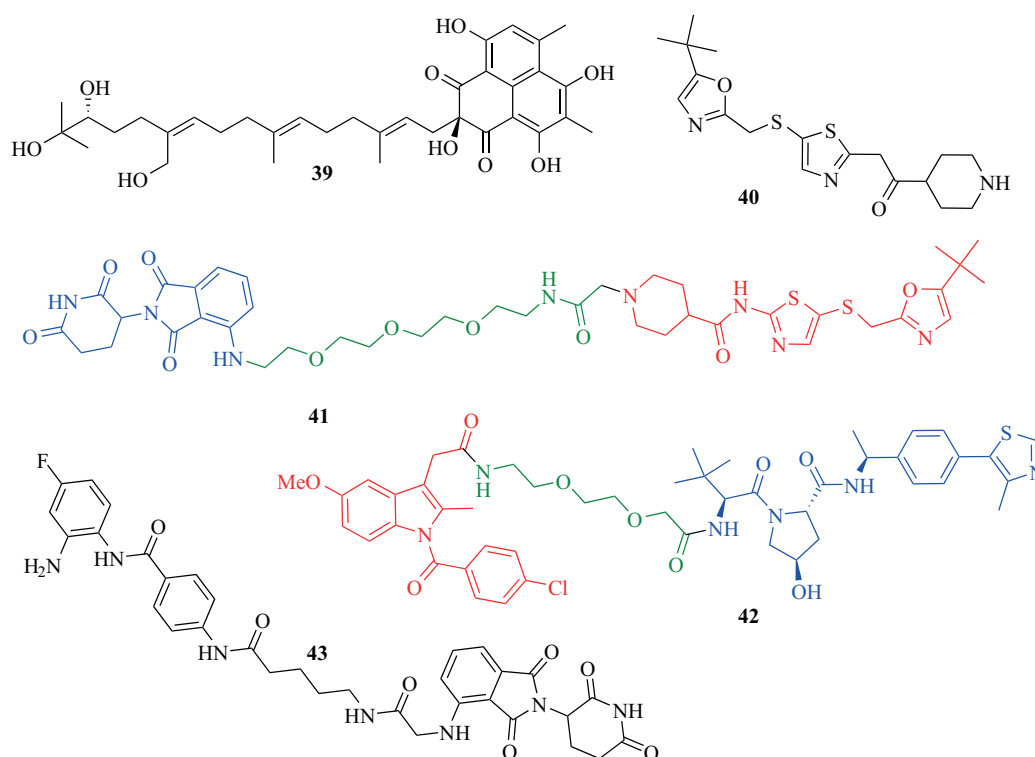


Рис. 12. Структуры антивирусных молекул PROTAC® (синим выделены лиганды E3, красным — лиганды к целевому белку, зеленым — линкерные группы)

Fig. 12. Structures of antiviral PROTACs® (E3 ligands are blue, ligands to the target protein are red, linker groups are green)

соединение **42** ($EC_{50} = 18.1 \mu M$) в 5 раз эффективнее индометацина ($EC_{50} = 94.4 \mu M$). Интересно, что эти препараты PROTAC® активны и против других типов коронавирусов, например, HCoV-OC43, при этом они не проявляют цитотоксичности в отношении незараженных клеток.

Одной из причин высокой смертности от COVID-19 является гиперактивация воспалительного ответа, вызываемая гистон-деацетилазами (histone deacetylases, HDAC). Ингибирование HDAC-3 снижает воспаление. Нацеленные на HDAC-3 химеры для лечения COVID-19 были предложены Zahid *et al.* [76] на основе противовоспалительного препарата PROTAC® HD-TAC7 **43** (*MedChemExpress*, США). Компьютерный анализ показал, что предложенные молекулы теоретически могут быть использованы для борьбы с воспалительными реакциями при COVID-19, однако возможности практического применения ограничиваются нерешенными проблемами фармакокинетики. Молекулярно-динамическое моделирование и компьютерный анализ использованы также в работе [77] для конструирования возможных молекул PROTAC®, нацеленных на протеазу SARS-CoV-2 — еще одну подтвержденную вирусную мишень. Однако результаты расчетов предстоит проверить химическим синтезом и исследованием активности на моделях и *in vivo*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

PROTAC®, технология направленной деградации белков, основана на использовании гетеробифункциональных молекул для привлечения механизмов внутриклеточной деградации белков к интересующему внутриклеточному белку-мишени. Эта химически индуцированная близость между молекулярным

механизмом деградации белка и мишенью приводит к полиубиквитинированию и протеасомной деградации целевого белка. Химерная молекула PROTAC® собирается из трех частей: лиганда к белку-мишени, лиганда к ферменту лигаза E3, рекрутирующему убиквитин-протеасомную систему, и связывающего их между собой линкера. Общедоступная база данных PROTAC-DB 2.0³ содержит информацию о 3270 разработанных химерах, 360 «боеголовках», 1500 линкерах и 80 лигандах лигаз E3, а также данные об известных кристаллических структурах трюичных комплексов.

Изначально рассчитанная на борьбу с онкологическими и нейродегенеративными заболеваниями технология может быть направлена и против инфекций. Новые модификации предполагают использование не только протеасомной системы, но и других защитных механизмов клетки. В роли биологической мишени также выступают нуклеиновые кислоты. По состоянию на конец 2022 г. не менее 20 проектов PROTAC® по всему миру проходили клинические испытания и как минимум один из них достиг третьей фазы. Точное нацеливание собственных защитных систем организма, не менее эффективное, чем технология моноклональных антител, но более дешевое, открывает путь к лечению самых различных заболеваний.

Вклад авторов

Все авторы в равной степени внесли свой вклад в исследовательскую работу.

Authors' contribution

All authors equally contributed to the research work.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Sakamoto K.M., Kim K.B., Kumagai A., Mercurio F., Crews C.M., Deshaies R.J. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2001;98(15):8554–8559. <https://doi.org/10.1073/pnas.141230798>
2. Kleiger G., Mayor T. Perilous journey: a tour of the ubiquitin-proteasome system. *Trends Cell Biol.* 2014;24(6):352–359. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.12.003>
3. Bekes M., Langley D.R., Crews C.M. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022;21(3):181–200. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00371-6>
4. He M., Cao C., Ni Z., Liu Y., Song P., Hao S., *et al.* PROTACs: great opportunities for academia and industry (an update from 2020 to 2021). *Signal Transduct. Target. Ther.* 2022;7(1):181. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00999-9>
5. Королева О.А., Дутикова Ю.В., Трубников А.В., Зенов Ф.А., Манасова Е.В., Штиль А.А., Куркин А.В. PROTAC — стратегия развития мишень-направленных лекарств: принципы и ограничения. *Известия Академии Наук. Серия химическая.* 2022;71(11):2310–2334. [Koroleva O.A., Dutikova Yu.V., Trubnikov A.V., *et al.* PROTAC: targeted drug strategy. Principles and limitations. *Russ. Chem. Bull.* <https://doi.org/10.1007/s11172-022-3659-z>]

³ <http://cadd.zju.edu.cn/protacdb/>. Дата обращения 26.02.2024. / Accessed February 26, 2024.

- [Original Russian Text: Koroleva O.A., Dutikova Yu.V., Trubnikov A.V., Zenov F.A., Manasova E.V., Shtil' A.A., Kurkin A.V. PROTAC: targeted drug strategy. Principles and limitations. *Izvestiya Akademii Nauk. Seriya khimicheskaya*. 2022;71(11):2310–2334 (in Russ.).]
- Cao C., He M., Wang L., He Y., Rao Y. Chemistries of bifunctional PROTAC degraders. *Chem. Soc. Rev.* 2022;51(16):7066–7114. <https://doi.org/10.1039/d2cs00220e>
 - Liu Z., Hu M., Yang Y., Du C., Zhou H., Liu C., *et al.* An overview of PROTACs: a promising drug discovery paradigm. *Mol. Biomed.* 2022;3(1):46. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00112-0>
 - Yang N., Kong B., Zhu Z., Huang F., Zhang L., Lu T., *et al.* Recent advances in targeted protein degraders as potential therapeutic agents. *Mol. Divers.* 2024;28:309–333. <https://doi.org/10.1007/s11030-023-10606-w>
 - Li S., Chen T., Liu J., Zhang H., Li J., Wang Z., *et al.* PROTACs: Novel tools for improving immunotherapy in cancer. *Cancer Lett.* 2023;560:216128. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216128>
 - Guedeney N., Cornu M., Schwalen F., Kieffer C., Voisin-Chiret A.S. PROTAC technology: A new drug design for chemical biology with many challenges in drug discovery. *Drug Discov. Today.* 2023;28(1):103395. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103395>
 - Bricej A., Steinebach C., Kuchta R., Gutschow M., Sosic I. E3 Ligase Ligands in Successful PROTACs: An Overview of Syntheses and Linker Attachment Points. *Front. Chem.* 2021;9:707317. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.707317>
 - Chamberlain P.P., Lopez-Girona A., Miller K., Carmel G., Pagarigan B., Chie-Leon B., *et al.* Structure of the human Cereblon-DDB1-lenalidomide complex reveals basis for responsiveness to thalidomide analogs. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2014;21(9):803–809. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2874>
 - Simpson L.M., Glennie L., Brewer A., Zhao J.F., Crooks J., Shpiro N., *et al.* Target protein localization and its impact on PROTAC-mediated degradation. *Cell Chem. Biol.* 2022;29(10):1482–1504.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.08.004>
 - Shah V.J., Đikić I. Localization matters in targeted protein degradation. *Cell Chem. Biol.* 2022;29(10):1465–1466. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.09.006>
 - Bemis T.A., La Clair J.J., Burkart M.D. Unraveling the Role of Linker Design in Proteolysis Targeting Chimeras. *J. Med. Chem.* 2021;64(12):8042–8052. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c00482>
 - Gadd M.S., Testa A., Lucas X., Chan K.H., Chen W., Lamont D.J., *et al.* Structural basis of PROTAC cooperative recognition for selective protein degradation. *Nat. Chem. Biol.* 2017;13(5):514–521. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2329>
 - Cao C., Yang J., Chen Y., Zhou P., Wang Y., Du W., *et al.* Discovery of SK-575 as a Highly Potent and Efficacious Proteolysis-Targeting Chimera Degradator of PARP1 for Treating Cancers. *J. Med. Chem.* 2020;63(19):11012–11033. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00821>
 - Carmony K.C., Kim K.B. PROTAC-induced proteolytic targeting. In: Dohmen R., Scheffner M. (Eds.). *Ubiquitin Family Modifiers and the Proteasome*. Methods in Molecular Biology. Humana Press; 2012. V. 832. P. 627–638. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-474-2_4419
 - Bondeson D.P., Smith B.E., Burslem G.M., Buhimschi A.D., Hines J., Jaime-Figueroa S., *et al.* Lessons in PROTAC Design from Selective Degradation with a Promiscuous Warhead. *Cell Chem. Biol.* 2018;25(1):78–87.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.09.010>
 - Paiva S.L., Crews C.M. Targeted protein degradation: elements of PROTAC design. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2019;50:111–119. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.02.022>
 - Rao Z., Li K., Hong J., Chen D., Ding B., Jiang L., *et al.* A practical “preTACs-cytoblot” platform accelerates the streamlined development of PROTAC-based protein degraders. *Eur. J. Med. Chem.* 2023;251:115248. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115248>
 - Guo L., Zhou Y., Nie X., Zhang Z., Zhang Z., Li C., *et al.* A platform for the rapid synthesis of proteolysis targeting chimeras (Rapid-TAC) under miniaturized conditions. *Eur. J. Med. Chem.* 2022;236:114317. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114317>
 - Bhela I.P., Ranza A., Balestrero F.C., Serafini M., Aprile S., Di Martino R.M.C., *et al.* A Versatile and Sustainable Multicomponent Platform for the Synthesis of Protein Degradators: Proof-of-Concept Application to BRD4-Degrading PROTACs. *J. Med. Chem.* 2022;65(22):15282–15299. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01218>
 - Liu Z., Zhang Y., Xiang Y., Kang X. Small-Molecule PROTACs for Cancer Immunotherapy. *Molecules.* 2022;27(17):5439. <https://doi.org/10.3390/molecules27175439>
 - Li J., Chen X., Lu A., Liang C. Targeted protein degradation in cancers: Orthodox PROTACs and beyond. *The Innovation.* 2023;4(3):100413. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2023.100413>
 - Yedla P., Babalghith A.O., Andra V.V., Syed R. PROTACs in the Management of Prostate Cancer. *Molecules.* 2023;28(9):3698. <https://doi.org/10.3390/molecules28093698>
 - Gao X., Burris Iii H.A., Vuky J., Dreicer R., Sartor A.O., Sternberg C.N., *et al.* Phase 1/2 study of ARV-110, an androgen receptor (AR) PROTAC degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). *J. Clin. Oncol.* 2022;40(6_suppl):17–17. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.6_suppl.017
 - Ha S., Luo G., Xiang H. A Comprehensive Overview of Small-Molecule Androgen Receptor Degradators: Recent Progress and Future Perspectives. *J. Med. Chem.* 2022;65(24):16128–16154. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01487>
 - Hamilton E.P., Schott A.F., Nanda R., Lu H., Keung C.F., Gedrich R., *et al.* ARV-471, an estrogen receptor (ER) PROTACdegrader, combined with palbociclib in advanced ER+/human epidermal growth factor receptor 2–negative (HER2–) breast cancer: Phase 1b cohort (part C) of a phase 1/2 study. *J. Clin. Oncol.* 2022;40(16_suppl):TPS1120–TPS1120. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.TPS1120
 - Xu H., Ohoka N., Yokoo H., Nemoto K., Ohtsuki T., Matsufuji H., *et al.* Development of Agonist-Based PROTACs Targeting Liver X Receptor. *Front. Chem.* 2021;9:674967. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.674967>
 - Yu F., Cai M., Shao L., Zhang J. Targeting Protein Kinases Degradation by PROTACs. *Front. Chem.* 2021;9:679120. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.679120>
 - Dikic I., Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2018;19(6):349–364. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0003-4>
 - Takahashi D., Moriyama J., Nakamura T., Miki E., Takahashi E., Sato A., *et al.* AUTACs: Cargo-Specific Degradators Using Selective Autophagy. *Mol. Cell.* 2019;76(5):797–810.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.09.009>
 - Li X., Liu Q., Xie X., Peng C., Pang Q., Liu B., *et al.* Application of Novel Degradators Employing Autophagy for Expediting Medicinal Research. *J. Med. Chem.* 2023;66(3):1700–1711. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01712>

35. Li Z., Ma S., Zhang L., Zhang S., Ma Z., Du L., *et al.* Targeted Protein Degradation Induced by HEMTACs Based on HSP90. *J. Med. Chem.* 2023;66(1):733–751. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01648>
36. Brown K.J., Seol H., Pillai D.K., Sankoorikal B.J., Formolo C.A., Mac J., *et al.* The human secretome atlas initiative: implications in health and disease conditions. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013;1834(11):2454–2461. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.04.007>
37. Banik S.M., Pedram K., Wisnovsky S., Ahn G., Riley N.M., Bertozzi C.R. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. *Nature.* 2020;584(7820):291–297. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2545-9>
38. Caianiello D.F., Zhang M., Ray J.D., Howell R.A., Swartzel J.C., Branham E.M.J., *et al.* Bifunctional small molecules that mediate the degradation of extracellular proteins. *Nat. Chem. Biol.* 2021;17(9):947–953. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00851-1>
39. Ahn G., Banik S.M., Miller C.L., Riley N.M., Cochran J.R., Bertozzi C.R. LYTACs that engage the asialoglycoprotein receptor for targeted protein degradation. *Nat. Chem. Biol.* 2021;17(9):937–946. <https://doi.org/10.1038/s41589-021-00770-1>
40. Wu Y., Lin B., Lu Y., Li L., Deng K., Zhang S., *et al.* Aptamer-LYTACs for Targeted Degradation of Extracellular and Membrane Proteins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2023;62(15):e202218106. <https://doi.org/10.1002/anie.202218106>
41. Kong L., Meng F., Wu S., Zhou P., Ge R., Liu M., *et al.* Selective degradation of the p53-R175H oncogenic hotspot mutant by an RNA aptamer-based PROTAC. *Clin. Transl. Med.* 2023;13(2):e1191. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1191>
42. Dey S.K., Jaffrey S.R. RIBOTACs: Small Molecules Target RNA for Degradation. *Cell Chem. Biol.* 2019;26(8):1047–1049. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.07.015>
43. Childs-Disney J.L., Yang X., Gibaut Q.M.R., Tong Y., Batey R.T., Disney M.D. Targeting RNA structures with small molecules. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2022;21(10):736–762. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00521-4>
44. Costales M.G., Suresh B., Vishnu K., Disney M.D. Targeted Degradation of a Hypoxia-Associated Non-coding RNA Enhances the Selectivity of a Small Molecule Interacting with RNA. *Cell Chem. Biol.* 2019;26(8):1180–1186e5. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2019.04.008>
45. Borgelt L., Haacke N., Lampe P., Qiu X., Gasper R., Schiller D., *et al.* Small-molecule screening of ribonuclease L binders for RNA degradation. *Biomed. Pharmacother.* 2022;154:113589. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113589>
46. Ma S., Ji J., Tong Y., Zhu Y., Dou J., Zhang X., *et al.* Non-small molecule PROTACs (NSM-PROTACs): Protein degradation kaleidoscope. *Acta Pharm. Sin. B.* 2022;12(7):2990–3005. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.022>
47. Gao H., Sun X., Rao Y. PROTAC Technology: Opportunities and Challenges. *ACS Med. Chem. Lett.* 2020;11(3):237–240. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.9b00597>
48. O'Brien Laramy M.N., Luthra S., Brown M.F., Bartlett D.W. Delivering on the promise of protein degraders. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023;22(5):410–427. <https://doi.org/10.1038/s41573-023-00652-2>
49. Cecchini C., Pannilunghi S., Tardy S., Scapozza L. From Conception to Development: Investigating PROTACs Features for Improved Cell Permeability and Successful Protein Degradation. *Front. Chem.* 2021;9:672267. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.672267>
50. Liu X., Zhang X., Lv D., Yuan Y., Zheng G., Zhou D. Assays and technologies for developing proteolysis targeting chimera degraders. *Future Med. Chem.* 2020;12(12):1155–1179. <https://doi.org/10.4155/fmc-2020-0073>
51. Pfaff P., Samarasinghe K.T.G., Crews C.M., Carreira E.M. Reversible Spatiotemporal Control of Induced Protein Degradation by Bistable PhotoPROTACs. *ACS Cent. Sci.* 2019;5(10):1682–1690. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.9b00713>
52. Zeng S., Zhang H., Shen Z., Huang W. Photopharmacology of Proteolysis-Targeting Chimeras: A New Frontier for Drug Discovery. *Front. Chem.* 2021;9:639176. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.639176>
53. Liu J., Chen H., Liu Y., Shen Y., Meng F., Kaniskan H.U., *et al.* Cancer Selective Target Degradation by Folate-Caged PROTACs. *J. Am. Chem. Soc.* 2021;143(19):7380–7387. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c00451>
54. Gabizon R., Shraga A., Gehrtz P., Livnah E., Shorer Y., Gurwicz N., *et al.* Efficient Targeted Degradation via Reversible and Irreversible Covalent PROTACs. *J. Am. Chem. Soc.* 2020;142(27):11734–11742. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b13907>
55. Yuan M., Chu Y., Duan Y. Reversible Covalent PROTACs: Novel and Efficient Targeted Degradation Strategy. *Front. Chem.* 2021;9:691093. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.691093>
56. Jin Y., Fan J., Wang R., Wang X., Li N., You Q., *et al.* Ligation to Scavenging Strategy Enables On-Demand Termination of Targeted Protein Degradation. *J. Am. Chem. Soc.* 2023;145(13):7218–7229. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c12809>
57. Morreale F.E., Kleine S., Leodolter J., Junker S., Hoi D.M., Ovchinnikov S., *et al.* BacPROTACs mediate targeted protein degradation in bacteria. *Cell.* 2022;185(13):2338–2353e18. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.05.009>
58. Gopal P., Dick T. Targeted protein degradation in antibacterial drug discovery? *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2020;152:10–14. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2019.11.005>
59. Sarathy J.P., Aldrich C.C., Go M.L., Dick T. PROTAC antibiotics: the time is now. *Expert Opin. Drug Discov.* 2023;18(4):363–370. <https://doi.org/10.1080/17460441.2023.2178413>
60. Venkatesan J., Murugan D., Rangasamy L. A Perspective on Newly Emerging Proteolysis-Targeting Strategies in Antimicrobial Drug Discovery. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(12):1717. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121717>
61. Espinoza-Chavez R.M., Salerno A., Liuzzi A., Ilari A., Milelli A., Uliassi E., *et al.* Targeted Protein Degradation for Infectious Diseases: from Basic Biology to Drug Discovery. *ACS Bio Med. Chem. Au.* 2023;3(1):32–45. <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.2c00063>
62. Desantis J., Goracci L. Proteolysis targeting chimeras in antiviral research. *Future Med. Chem.* 2022;14(7):459–462. <https://doi.org/10.4155/fmc-2022-0005>
63. Ma Y., Frutos-Beltran E., Kang D., Pannecouque C., De Clercq E., Menendez-Arias L., *et al.* Medicinal chemistry strategies for discovering antivirals effective against drug-resistant viruses. *Chem. Soc. Rev.* 2021;50(7):4514–4540. <https://doi.org/10.1039/d0cs01084g>
64. Reboud-Ravaux M., ElAmri C. COVID-19 Therapies: Protease Inhibitions and Novel Degradation Strategies. *Front. Drug Discov.* 2022;2. <https://doi.org/10.3389/fddsv.2022.892057>
65. Li H., Wang S., Ma W., Cheng B., Yi Y., Ma X., *et al.* Discovery of Pentacyclic Triterpenoid PROTACs as a Class of Effective Hemagglutinin Protein Degradation. *J. Med. Chem.* 2022;65(10):7154–7169. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c02013>

66. Li W., Yang F., Meng L., Sun J., Su Y., Shao L., *et al.* Synthesis, Structure Activity Relationship and Anti-influenza A Virus Evaluation of Oleanolic Acid-Linear Amino Derivatives. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 2019;67(11):1201–1207. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00485>
67. Xu Z., Liu X., Ma X., Zou W., Chen Q., Chen F., *et al.* Discovery of oseltamivir-based novel PROTACs as degraders targeting neuraminidase to combat H1N1 influenza virus. *Cell Insight*. 2022;1(3):100030. <https://doi.org/10.1016/j.cellin.2022.100030>
68. De Wispelaere M., Du G., Donovan K.A., Zhang T., Eleuteri N.A., Yuan J.C., *et al.* Small molecule degraders of the hepatitis C virus protease reduce susceptibility to resistance mutations. *Nat. Commun.* 2019;10(1):3468. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11429-w>
69. Haniff H.S., Tong Y., Liu X., Chen J.L., Suresh B.M., Andrews R.J., *et al.* Targeting the SARS-CoV-2 RNA Genome with Small Molecule Binders and Ribonuclease Targeting Chimera (RIBOTAC) Degradation. *ACS Cent. Sci.* 2020;6(10):1713–1721. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00984>
70. Su X., Ma W., Feng D., Cheng B., Wang Q., Guo Z., *et al.* Efficient Inhibition of SARS-CoV-2 Using Chimeric Antisense Oligonucleotides through RNase L Activation. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2021;60(40):21662–21667. <https://doi.org/10.1002/anie.202105942>
71. Zhou Y., Zheng R., Liu D., Liu S., Disoma C., Li S., *et al.* UBR5 Acts as an Antiviral Host Factor against MERS-CoV via Promoting Ubiquitination and Degradation of ORF4b. *J. Virol.* 2022;96(17):e0074122. <https://doi.org/10.1128/jvi.00741-22>
72. Zhao J., Wang J., Pang X., Liu Z., Li Q., Yi D., *et al.* An anti-influenza A virus microbial metabolite acts by degrading viral endonuclease PA. *Nat. Commun.* 2022;13(1):2079. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29690-x>
73. Wild M., Kicuntod J., Seyler L., Wangen C., Bertzbach L.D., Conradie A.M., *et al.* Combinatorial Drug Treatments Reveal Promising Anticytomegaloviral Profiles for Clinically Relevant Pharmaceutical Kinase Inhibitors (PKIs). *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(2):575. <https://doi.org/10.3390/ijms22020575>
74. Hahn F., Hamilton S.T., Wangen C., Wild M., Kicuntod J., Bruckner N., *et al.* Development of a PROTAC-Based Targeting Strategy Provides a Mechanistically Unique Mode of Anti-Cytomegalovirus Activity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(23):12858. <https://doi.org/10.3390/ijms222312858>
75. Desantis J., Mercorelli B., Celegato M., Croci F., Bazzacco A., Baroni M., *et al.* Indomethacin-based PROTACs as pan-coronavirus antiviral agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2021;226:113814. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113814>
76. Zahid S., Ali Y., Rashid S. Structural-based design of HD-TAC7 PROTeolysis TARgeting chimeras (PROTACs) candidate transformations to abrogate SARS-CoV-2 infection. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2023;41(23):14566–14581. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2183037>
77. Shaheer M., Singh R., Sobhia M.E. Protein degradation: a novel computational approach to design protein degrader probes for main protease of SARS-CoV-2. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2022;40(21):10905–10917. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.1953601>

Об авторах

Захарова Мария Андреевна, аспирант, кафедра биотехнологии и промышленной фармации, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 6). E-mail: zaharova_ma@mirea.ru. <https://orcid.org/0009-0004-3043-7438>

Чудинов Михаил Васильевич, к.х.н., доцент кафедры биотехнологии и промышленной фармации, Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: chudinov@mirea.ru. Scopus Author ID 6602589900, ResearcherID L-5728-2016, SPIN-код РИНЦ 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>

About the authors

Maria A. Zakharova, Postgraduate Student, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: zaharova_ma@mirea.ru. <https://orcid.org/0009-0004-3043-7438>

Mikhail V. Chudinov, Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Biotechnology and Industrial Pharmacy, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: chudinov@mirea.ru. Scopus Author ID 6602589900, ResearcherID L-5728-2016, RSCI SPIN-code 3920-8067, <https://orcid.org/0000-0001-9735-9690>