



Université de Strasbourg



## FACULTE DE PHARMACIE

N° d'ordre : 2679

### MEMOIRE DE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année : 2024-2025

Sujet : **PROTACS : une innovation en oncologie**

Présenté par : LEBUZULIER Maverick

Soutenu le 11/04/2025 devant le jury constitué de

Dr. Julie Karpenko, Présidente

Dr. Julie Karpenko, Directrice de thèse

Autres membres du jury :

Dr. Didier Rognan

Dr. Marcella De Giorgi

Dr. Christophe Decroos

Approuvé par le doyen et par le Président de l'Université de Strasbourg



## **RESUME**

Le cancer demeure l'une des principales causes de mortalité dans le monde avec environ 20 millions de nouveaux cas diagnostiqués chaque année. Malgré les avancées des thérapies ciblées telles que les inhibiteurs de kinases et les anticorps monoclonaux, la résistance aux traitements et l'incapacité à cibler certaines protéines dites « undruggables » soulignent la nécessité de nouvelles approches thérapeutiques. En exploitant le système ubiquitine-protéasome, les PROTACs permettent la dégradation sélective des protéines pathologiques. À la différence des inhibiteurs traditionnels qui bloquent l'activité enzymatique, les PROTACs éliminent directement les protéines ciblées ce qui permet de contourner certains mécanismes de résistance.

Les PROTACs sont des molécules bifonctionnelles composées de trois éléments essentiels : un ligand qui se lie à la protéine d'intérêt, un autre qui recrute une ligase E3 et un linker reliant ces deux parties. Lorsque le PROTAC forme un complexe ternaire avec la protéine cible et la ligase E3, la protéine cible est marquée par ubiquitination ce qui la conduit à être dégradée par le protéasome.

Actuellement en phase clinique avancée, des PROTACs comme l'ARV-110 et l'ARV-471, respectivement ciblant le récepteur aux androgènes dans le cancer de la prostate et le récepteur des œstrogènes (ER) dans le cancer du sein, montrent une efficacité supérieure à celle des traitements conventionnels. Ces molécules offrent également des profils de sécurité prometteurs. Néanmoins, plusieurs défis demeurent notamment en ce qui concerne la solubilité, la pénétration cellulaire et la biodisponibilité. De plus, le nombre limité de ligases E3 recrutés par les PROTACs actuels et les risques de toxicité dus à une distribution non ciblée restent des obstacles majeurs à leur adoption clinique à grande échelle.

Au-delà de l'oncologie, les PROTACs montrent également un potentiel intéressant pour traiter des maladies neurodégénératives. Des stratégies innovantes, telles que les nano-PROTACs ou les PROTACs sensibles à la lumière, sont explorées pour améliorer la stabilité, la biodisponibilité et la spécificité des traitements. Cette thèse examine en détail le mécanisme d'action des PROTACs, leurs applications cliniques ainsi que les défis à surmonter pour optimiser cette technologie révolutionnaire.

En conclusion, les PROTACs représentent une avancée majeure dans le domaine de la médecine de précision offrant de nouvelles possibilités pour traiter des maladies complexes et résistantes. Leur capacité à cibler des protéines auparavant inaccessibles pourrait transformer le traitement de nombreuses pathologies ouvrant la voie à des thérapies plus efficaces et plus sélectives.



Mise à jour oct. 2024

<b>Doyen</b>	Esther KELLENBERGER
<b>Directeurs adjoints</b>	Julien GODET Béatrice HEURTAULT Emilie SICK
<b>Directeur adjoint étudiant</b>	Léo FERREIRA-MOURIAUX
<b>Responsable administrative</b>	Rachel MOUEZY

### LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

#### Maîtres de Conférences :

#### Professeurs :

Philippe	BOUCHER	Physiologie
Nathalie	BOULANGER	Parasitologie
Line	BOUREL	Chimie thérapeutique
Pascal	DIDIER	Biophotonique
Saïd	ENNAHAR	Chimie analytique
Valérie	GEOFFROY	Microbiologie
Philippe	GEORGEL	Bactériologie, Virologie
Béatrice	HEURTAULT	Pharmacie galénique
Esther	KELLENBERGER	Bio-Informatique
Maxime	LEHMANN	Biologie cellulaire
Eric	MARCHIONI	Chimie analytique
Rachel	MATZ-WESTPHAL	Pharmacologie
Francis	MEGERLIN	Droit et économie pharm.
Yves	MELY	Physique et Biophysique
Nathalie	NIEDERHOFFER	Pharmacologie
Jean-Yves	PABST	Droit Economie pharm.
Françoise	PONS	Toxicologie
Valérie	SCHINI-KERTH	Pharmacologie
Florence	TOTI	Pharmacologie
Thierry	VANDAMME	Biogalénique
Catherine	VONTHRON	Pharmacognosie
Pascal	WEHRLÉ	Pharmacie galénique

Nicolas	ANTON	Pharmacie biogalénique
Fareeha	BATOOL	Biochimie
Martine	BERGAENTZLÉ	Chimie analytique
Elisa	BOMBARDA	Biophysique
Aurélié	BOURDERIOUX	Pharmacochimie
Emmanuel	BOUTANT	Virologie et Microbiologie
Véronique	BRUBAN	Physiologie et physiopath.
Anne	CASSET	Toxicologie
Thierry	CHATAIGNEAU	Pharmacologie
Manuela	CHIPER	Pharmacie biogalénique
Guillaume	CONZATTI	Pharmacie galénique
Félicie	COTTARD	Biotechnologie pharmaceutique
Marcella	DE GIORGI	Pharmacochimie
Serge	DUMONT	Biologie cellulaire
Gisèle	HAAN-ARCHIPOFF	Plantes médicinales
Célien	JACQUEMARD	Chémoinformatique
Julie	KARPENKO	Pharmacochimie
Sergio	ORTIZ AGUIRRE	Pharmacognosie
Sylvie	PERROTEY	Parasitologie
Romain	PERTSCHI	Chimie en flux
Frédéric	PRZYBILLA	Biostatistiques
Patrice	RASSAM	Microbiologie
Eléonore	REAL	Biochimie
Andreas	REISCH	Biophysique
Ludivine	RIFFAULT-VALOIS	Analyse du médicament

#### Professeurs-praticiens hospitaliers

Julien	GODET	Biostatistiques - science des données
Jean-Marc	LESSINGER	Biochimie
Bruno	MICHEL	Pharm. clinique santé publique
Pauline	SOULAS-SPRAUEL	Immunologie
Geneviève	UBEAUD-SÉQUIER	Pharmacocinétique

Carole	RONZANI	Toxicologie
Emilie	SICK	Pharmacologie
Yaouba	SOUAIBOU	Pharmacognosie
Maria-Vittoria	SPANEDDA	Chimie thérapeutique
Jérôme	TERRAND	Physiopathologie
Nassera	TOUNSI	Chimie physique
Aurélié	URBAIN	Pharmacognosie

#### Enseignants contractuels

Alexandra	CHAMPERT	Pharmacie d'officine
Matthieu	FOHRER	Pharmacie d'officine

Bruno	VAN OVERLOOP	Physiologie
Maria	ZENIOU	Chimiogénomique

Philippe	GALAIS	Droit et économie pharm.
Philippe	NANDE	Ingénierie pharmaceutique
Caroline	WEHRLÉ	Pharmacie d'officine

**Maîtres de conférences - praticiens hospitaliers**

Julie	BRUNET	Parasitologie
Pierre	COLIAT	Pharmacie clinique
Nelly	ÉTIENNE-SELLOUM	Pharmacologie- pharm. clinique
Vincent GIES	Immunologie	Damien REITA Biochimie

**Assistants hospitaliers universitaires**

Abdelmalek	BENDJAMA	Production de méd. anticancéreux
Maxime	PETIT	Pharmacotechnie

## SERMENT DE GALIEN

JE JURE,

en présence des Maîtres de la Faculté,  
des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens  
et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit  
dans les préceptes de mon art et de  
leur témoigner ma reconnaissance en  
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique,  
ma profession avec conscience et de respecter non  
seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles  
de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne dévoiler à personne les secrets  
qui m'auront été confiés et dont j'aurai eu  
connaissance dans la pratique de mon art.

Si j'observe scrupuleusement ce serment,  
que je sois moi-même honoré  
et estimé de mes confrères  
et de mes patients.



## **REMERCIEMENTS**

Ce travail est l'aboutissement de plusieurs années de formation. Il n'aurait jamais été possible sans l'accompagnement et le soutien de nombreuses personnes. À chacune et chacun, je tiens à adresser mes plus sincères remerciements.

Avant tout, je remercie chaleureusement ma directrice de thèse, Dr. Julie Karpenko, pour son expertise, sa disponibilité et ses conseils avisés. Sa passion pour la recherche et son accompagnement attentif ont été des sources d'inspirations, m'aidant à surmonter les défis rencontrés au cours de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma gratitude aux membres du jury, pour leurs observations constructives et leurs intérêts pour ce projet.

Je tiens également à remercier mes camarades de promotion, avec qui j'ai partagé des moments mémorables. À ma famille, qui m'a soutenu dans cet écrit, je vous exprime toute ma reconnaissance.

Je tiens également à remercier à Adrian, Hugo, Chloé, Sofiane et Peggy, merci pour votre amitié précieuse, votre soutien sans faille et ces moments qui ont rendu ce parcours plus léger. Cette thèse est aussi un peu la vôtre.

Enfin, je souhaite adresser un remerciement tout spécial à Lucie, pour son soutien indéfectible, sa compréhension et sa présence rassurante. Elle a été à mes côtés dans les périodes d'incertitude, me rappelant l'importance de persévérer et de croire en mes capacités.

À toutes les personnes, qu'elles soient nommées ici ou non, qui ont contribué à la réalisation de cette thèse, je tiens à dire un grand merci. Votre soutien, vos conseils et votre bienveillance ont été essentiels pour mener ce projet à son terme.

## Table des matières

<b>RESUME</b> .....	3
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	7
<b>LISTES DES ABREVIATIONS</b> .....	11
<b>LISTES DES FIGURES</b> .....	14
<b>LISTES DES TABLES</b> .....	14
1) <b>Épidémiologie du cancer et impact sur la santé publique</b> .....	16
1) <b>Limites des thérapies classiques</b> .....	17
1) <b>Importance de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques</b> .....	19
1) <b>Objectif de la thèse</b> .....	21
<b>I. LES PROTACS : DEFINITION ET MECANISME D’ACTION</b> .....	23
1) <b>Système ubiquitine protéasome</b> .....	23
2) <b>Définition des PROTACs</b> .....	25
3) <b>Protéines « undruggable » comme cibles thérapeutiques des PROTACs</b> .....	26
4) <b>Ligases E3 exploitées dans les PROTACs</b> .....	27
a) <b>MDM2</b> .....	27
b) <b>IAP</b> .....	28
c) <b>CRBN</b> .....	28
d) <b>VHL</b> .....	29
5) <b>Linker</b> .....	31
6) <b>Mécanisme d’action des PROTACs</b> .....	32
7) <b>Différentes classes de PROTACs</b> .....	35
a) <b>BioPROTACs</b> .....	36
b) <b>Nano PROTACS</b> .....	37
c) <b>Les PROTACs activables</b> .....	37
i) <b>Click and release PROTAC</b> .....	37
ii) <b>PROTACs activables par des enzymes</b> .....	38
iii) <b>PROTACs photo-activables</b> .....	39
d) <b>PROTAC-Anticorps</b> .....	41
e) <b>LYTAC, AUTAC</b> .....	41
<b>II. AVANTAGES ET LIMITES DES PROTACS</b> .....	44
1) <b>Limites</b> .....	44
a) <b>Taille moléculaire importante et perméabilité cellulaire réduite</b> .....	44
b) <b>Effets hors cible et toxicité</b> .....	44
c) <b>Défis liés à la stabilité métabolique</b> .....	45
d) <b>Effet crochet (Hook Effect)</b> .....	45
2) <b>Avantages</b> .....	45
a) <b>Notion de recyclage</b> .....	45

b)	Capacité à cibler les protéines "undruggable" .....	46
c)	Réduction de la résistance aux médicaments .....	46
d)	Amélioration de la spécificité .....	46
e)	Innovations dans l'administration .....	47
3)	Comparaisons a d'autre classes thérapeutiques .....	47
III.	APPLICATION EN ONCOLOGIE .....	51
1)	Cancer de la prostate.....	52
2)	Cancer du sein .....	55
3)	Autres cibles .....	58
a)	<i>BTK</i> .....	58
b)	<i>ALK</i> .....	59
c)	<i>KRAS</i> .....	61
d)	<i>CDK9</i> .....	62
e)	<i>BCR-ABL</i> .....	63
f)	<i>STAT3</i> .....	64
IV.	APPLICATION EN DEHORS DE L'ONCOLOGIE .....	66
1)	Maladies neurodégénératives.....	66
a)	Maladie d'Alzheimer .....	66
b)	Maladie de Parkinson .....	67
2)	PROTACs ciblant les virus .....	69
3)	PROTACs ciblant les bactéries .....	69
4)	PROTACs anti-inflammatoire .....	70
V.	DISCUSSION ET PERPESCTIVES .....	72
	Bibliographie.....	74



## LISTES DES ABREVIATIONS

- ADN : Acide désoxyribonucléique
- ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase
- APOBEC: Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like
- AR : Recepteur des androgènes
- ARN : Acide ribonucléique
- ATP: Adénosine triphosphate
- AUTAC : Autophagy-Targeting Chimera
- BCL6 : B-Cell Lymphoma 6
- BCR : B-Cell Receptor
- BET : Bromodomain and Extra-Terminal domain
- BRD : Bromodomain-containing protein
- BRD4 : Bromodomain-containing protein 4
- BTK : Bruton's Tyrosine Kinase
- CBNPC : cancer bronchique non à petites cellules
- CDC4 : Cell Division Cycle 4
- CDK : Cyclin-Dependent Kinase
- CIM6PG : Chloromethyl-6-Phosphogluconate
- COVID-19 : Coronavirus Disease 2019
- CRBN : Céréblon
- CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
- CRL4 : Cullin-Ring Ligase 4
- CRPC : Castration-Resistant Prostate Cancer
- CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4
- CUL2 : Cullin-2
- DC50 : half-maximal degradation concentration
- DDB1 : DNA Damage-Binding Protein 1
- Dmax : Dégradation maximale
- DMND : Diamond-based PROTAC
- EC50 : half maximal effective concentration
- EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor
- EML4 : echinoderm microtubule-associated protein-like 4
- ERD : Estrogen Receptor Degradar
- ERR $\alpha$  : Estrogen receptor-Related Receptor alpha
- ER $\alpha$  : Récepteur  $\alpha$  estrogènes
- FAK : Focal Adhesion Kinase
- FLT3 : Fms-like tyrosine kinase 3
- GSK : GlaxoSmithKline
- HDAC8 : Histone Deacetylase 8
- HER: Human Epidermal Growth Factor Receptor
- HIF alpha : Hypoxia-Inducible Factor alpha
- HPV-16 : papillomavirus humain de type 16
- IAP : Inhibiteur des protéines apoptotiques
- IKZF1 : Zinc finger protein Ikaros
- IKZF3 : Zinc finger protein Aiolos

- IMID : immunomodulateurs
- JAK : Janus Kinase
- KD : Constante de Dissociation
- KRAS : Kirsten Rat Sarcoma Virus
- LMC : Leukemia Myeloid Chronic
- LRRK2 : Leucine-Rich Repeat Kinase 2
- LTreg : Lymphocytes T régulateurs
- LYTAC : Lysosome-Targeting Chimera
- MA : Maladie d'Alzheimer
- MAFF : MusculoAponeurotic Fibrosarcoma F
- MAP : Microtubule-Associated Protein
- MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase
- MAPT : Microtubule-Associated Protein Tau
- MDM2: Mouse Double Minute 2
- MetAP-2 : méthionine aminopeptidase-2
- MND : Motor Neuron Disease
- MP : Maladie de Parkinson
- MYC : Myelocytomatosis
- NA : Neuraminidase
- NADP : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
- NAP : Nanoformulated PROTAC
- NF $\kappa$ B : Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
- NGD1 : Neo-Generated Degradier 1
- NIR : Near-Infrared
- NPM : nucleophosmin
- NQO1 : NAD(P)H Quinone Oxidoreductase 1
- NRF-2 : Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PARP : Poly(ADP-Ribose) Polymerase
- PDL : Programmed Death-Ligand
- PDT : Photodynamic Therapy
- PEG : Polyethylene Glycol
- PEPTAC : Peptide-based PROTAC
- PIP3 : Phosphatidylinositol (3,4,5)-Trisphosphate
- POI : Protéine d'intérêt
- pRB : Retinoblastoma Protein
- PROTACs : Proteolysis Targeting Chimeras
- RAK : Raf-related kinasemdmé
- RAS : Rat Sarcoma virus
- SARM : modulateur sélectif des récepteurs aux androgènes
- SCF  $\beta$ -TRCP: Skp1-Cullin-F-box  $\beta$ -transducing repeat-containing protein
- SCF: Skp1-Cullin-F-box
- SERD : dégradateur sélectif du ER
- SH2 : Src Homology 2
- SNIPER: Specific and Non-genetic IAP-dependent Protein Erase
- SPARC : Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine
- STAT3 : Signal Transducer and Activator of Transcription 3
- TAD : Transcriptional Activation Domain
- TCO : Trans-Cyclooctene
- TSPO : Translocator Protein
- TZ : Tetrazine
- UPS: Ubiquitin Proteasome System

- VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
- VHL : Von Hippel-Lindau
- VIF : Viral Infectivity Factor
- VHC : Virus de l'Hépatite C

## **LISTES DES FIGURES**

Figure 1 : Nombre de cas de cancer diagnostiqués en 2022 .....	16
Figure 2 : Nombre de décès diagnostiqués en 2022.....	17
Figure 3 : Mécanismes de résistance des cellules cancéreuses aux thérapies.....	19
Figure 4 : Chronologie des avancées thérapeutiques : Les principales thérapies ciblées approuvées de 1997 à 2024 .....	20
Figure 5 : Mécanisme du système ubiquitine-protéasome .....	24
Figure 6 : Rôles fonctionnels des positions de la poly-ubiquitination.....	25
Figure 7 : Schéma de la structure fonctionnelle d'un PROTAC.....	26
Figure 8 : Évolution des publications sur les PROTACs dans PubMed.....	27
Figure 9 : Bases des ligands des différentes E3 ligases utilisées dans les PROTACs.....	30
Figure 10 : Exemples de linkers les plus fréquemment utilisés dans les PROTACs.....	32
Figure 11 : Mécanisme d'action des PROTACs : de la liaison à la dégradation protéasomale.....	33
Figure 12 : Structure chimique du premier PROTAC capable de pénétrer dans les cellules développées par Craig Crews et collaborateurs .....	34
Figure 13 : Structure chimique du SARM-nutline PROTAC.....	35
Figure 14 : Ciblage et dégradation de la protéine LIN28 via un ARN-PROTAC .....	36
Figure 15 : Mécanisme d'activation des PROTACs click-and-release pour la dégradation ciblée de BRD4 .....	38
Figure 16 : Activation spécifique des PROTACs par NQO1 pour la dégradation de BRD4.....	39
Figure 17 : PROTAC activable par lumière proche infrarouge pour la dégradation ciblée de la POI.....	40
Figure 18 : Ab-PROTAC : Ciblage précis pour la dégradation de BRD4 (POI) dans les cellules cancéreuses HER2-positives .....	41
Figure 19 : LYTACs : Acheminement et dégradation des protéines pathologiques via le lysosome.....	42
Figure 20 : Chronologie des avancées majeures dans le développement des PROTACs (Liste non exhaustive) .....	51
Figure 21 : Structure chimique du premier PROTAC ciblant les récepteurs aux androgènes .....	52
Figure 22 : Structure d'un PROTAC perméable aux cellules ciblant le récepteur des androgènes et MDM2 ...	53
Figure 23 : Évolution des PROTACs ciblant le récepteur aux androgènes : de l'ARCC4 à l'ARD-2585 .....	54
Figure 24 : Structure chimique d'ARV-110 : PROTAC ciblant le récepteur aux androgènes .....	55
Figure 25 : Structures de PROTACs ciblant les récepteurs des œstrogènes .....	57
Figure 26 : Structure chimique de l'ARV-471 : PROTAC ciblant les récepteurs des œstrogènes .....	58
Figure 27 : Structure chimique de P13I : PROTAC ciblant BTK .....	59
Figure 28 : Structures de PROTACs ciblant ALK : MS4077, MS4078 et SIAIS117 .....	60
Figure 29 : Structures des PROTACs XY-4-88 et LC-2 pour la dégradation ciblée de KRAS G12C .....	62
Figure 30 : Structures des PROTACs ciblant CDK9 : PROTAC 2 et BO3.....	63
Figure 31 : Structures de PROTACs ciblant BCR-ABL : P22D1 et SIAIS056 .....	64
Figure 32 : Structure chimique de SD-36 : PROTAC ciblant STAT3.....	65
Figure 33 : Structures des PROTACs C004019 et FMF-06-049 pour le ciblage et la dégradation des protéines tau pathologiques dans la maladie d'Alzheimer .....	67
Figure 34 : Structure du PROTAC DGY-08-097 montrant le télaprévir (rouge) ciblant la protéine NS3/4A, le ligand de CRBN (bleu).....	69
Figure 35 : Structure du BacPROTAC3 (sCyM1 en bleu, JQ1 en rouge) .....	70
Figure 36 : Structure du ZCY-PROTAC basé sur le diterpénoïde ZCY-001 (rouge) ciblant MAFF via la technologie PROTAC pour réguler la voie MAFF-Nrf2.....	71

## **LISTES DES TABLES**

Tableau 1 : Comparaison PROTACs vs autres approches thérapeutiques .....	49
--------------------------------------------------------------------------	----

**PREMIERE PARTIE**  
**INTRODUCTION GENERALE**

## 1) Épidémiologie du cancer et impact sur la santé publique

Le cancer désigne un large éventail de maladies déclenchées par des aberrations génétiques, pouvant affecter pratiquement n'importe quel tissu du corps humain. Il se caractérise par une prolifération incontrôlée de cellules, capable d'envahir les tissus voisins et de se propager, un phénomène connu sous le nom de métastase. A contrario des cellules saines, les cellules cancéreuses échappent aux mécanismes naturels de régulation notamment l'apoptose. La plupart des cancers, à l'exception des cancers hématologiques comme les leucémies, se manifeste par la formation de tumeurs solides causées par cette prolifération anormale. (1)

D'après l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le cancer est la deuxième cause de décès dans le monde, après les maladies cardiovasculaires. En 2022, environ 20 millions de nouveaux cas ont été diagnostiqués (*Figure 1*) et près de 9,7 millions de décès y étaient liés (*Figure 2*). Ces données témoignent de l'ampleur de la maladie et de son impact sur la santé publique. Les cancers les plus fréquemment diagnostiqués chez les deux sexes sont le cancer du poumon, touchant plus de 2 millions de personnes, suivi par le cancer du sein, le cancer colorectal et le cancer de la prostate (*Figure 1*). Par ailleurs, on estime qu'environ 53,5 millions de personnes vivaient encore cinq ans après avoir reçu un diagnostic de cancer, illustrant les progrès réalisés dans les traitements ainsi que l'importance croissante des soins post-diagnostic. (1,2)



Figure 1 : Nombre de cas de cancer diagnostiqués en 2022

Une personne sur cinq sera touchée par un cancer au cours de sa vie. Parmi ces cas, un homme sur neuf et une femme sur douze en mourront. En 2022, le cancer du poumon s'est imposé comme la principale cause de décès, avec environ 1,8 million de morts, soit près de 18,7 % des décès liés au cancer (*Figure*

2). Les cancers du sein (600 000 décès), colorectal (900 000 décès), du pancréas (460 000 décès), et de l'estomac et du foie suivent dans ce classement. Ces chiffres mettent en lumière l'urgence d'élaborer des approches plus efficaces en matière de prévention et de traitement. (1)



Figure 2 : Nombre de décès diagnostiqués en 2022

Le cancer se développe à travers un processus complexe où des cellules normales subissent une transformation en cellules tumorales. Ce phénomène peut être précédé de lésions précancéreuses et est souvent accéléré par une interaction entre des facteurs génétiques et environnementaux. Parmi les facteurs impliqués, on retrouve la pollution, les infections chroniques, telles que celles liées aux virus de l'hépatite B et C, qui augmentent le risque de cancer du foie, ainsi que des comportements à risque comme le tabagisme et une consommation excessive d'alcool. Ces éléments favorisent l'apparition et la progression des cancers. Cela en fait un enjeu majeur pour les systèmes de santé publique à l'échelle mondiale. (2) Dans ce contexte, les traitements actuels, malgré leurs avancées, révèlent des limites qu'il est essentiel de dépasser.

## 2) Limites des thérapies classiques

Le traitement du cancer a pour principal objectif la guérison complète du patient. Lorsque la guérison n'est pas possible, le traitement vise à ralentir la progression de la maladie le plus longtemps possible. Par la même occasion, il cherche également à améliorer la qualité de vie en réduisant les symptômes et en limitant les effets secondaires liés à la pathologie. (3)

La chimiothérapie conventionnelle, qui est une première ligne de traitement, agit en bloquant la division des cellules qui se multiplient rapidement, une caractéristique des cellules cancéreuses. Cependant, la

chimiothérapie affecte aussi des cellules normales qui se renouvellent rapidement comme celles de la moelle osseuse et du système digestif, ce qui entraîne des effets secondaires fréquents tels que l'aplasie médullaire et des troubles digestifs. Bien qu'elle soit utilisée dans différents contextes (adjuvant, néoadjuvant ou palliatif), cette méthode montre ses limites. Cela souligne l'importance de développer de nouvelles thérapies ciblées, plus précises et moins toxiques, basées sur la biologie moléculaire des tumeurs (*Figure 3*). (3)

La résistance des traitements anti-cancéreux reste le principal facteur contraire à la guérison des patients. Ce phénomène est lié à plusieurs aspects, notamment la cinétique tumorale, ainsi que son hétérogénéité qui permettent aux cellules cancéreuses de s'adapter et d'échapper aux traitements (*Figure 3*). En effet, les cancers sont des maladies qualifiées de dynamiques devenant hétérogènes au fil du temps. La cinétique tumorale dans les tumeurs à faible croissance, comme le cancer de la prostate les rend souvent difficile à traiter car elles échappent aux mécanismes classiques de suppression.

Un exemple est l'hétérogénéité tumorale qui joue un rôle crucial dans cette résistance. Les cellules cancéreuses accumulent des altérations génétiques dues à des mutations lentes liées à l'âge ou à des modifications fréquentes des gènes notamment par l'action des enzymes Apolipoprotein B mRNA Editing Enzyme Catalytic Polypeptide-like (APOBEC), qui accélèrent l'évolution de la tumeur. (4) Cela crée une diversité de sous-populations de cellules cancéreuses qui répondent différemment aux traitements (*Figure 3*). (5)

Également, le microenvironnement tumoral joue un rôle central dans la résistance aux traitements anticancéreux (*Figure 3*). Constitué de cellules immunitaires, de tissu conjonctif (stroma) et d'un réseau vasculaire, il soutient la survie des cellules cancéreuses par l'activation de lymphocytes T régulateurs (LTreg) freinant l'efficacité des réponses immunitaires. Tandis que la sécrétion de facteurs de croissance stimule la prolifération tumorale. En parallèle, l'acidification de l'environnement local contribue également à limiter l'action des traitements. (5)

Ces adaptations, combinées aux pressions sélectives induites par les traitements, renforcent la capacité des cellules tumorales à échapper aux thérapies contribuant à la progression de la maladie (*Figure 3*). (4) Face à ces obstacles, de nouvelles approches thérapeutiques sont en cours de développement, visant à cibler plus efficacement ces mécanismes de résistance tout en élargissant les perspectives pour les patients.

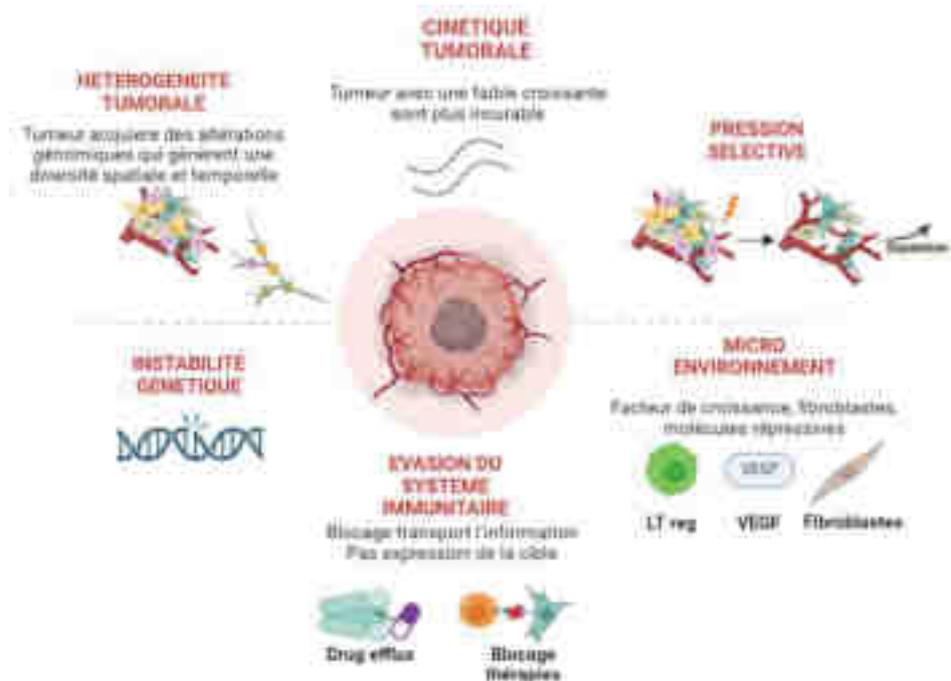


Figure 3 : Mécanismes de résistance des cellules cancéreuses aux thérapies

### 3) Importance de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques

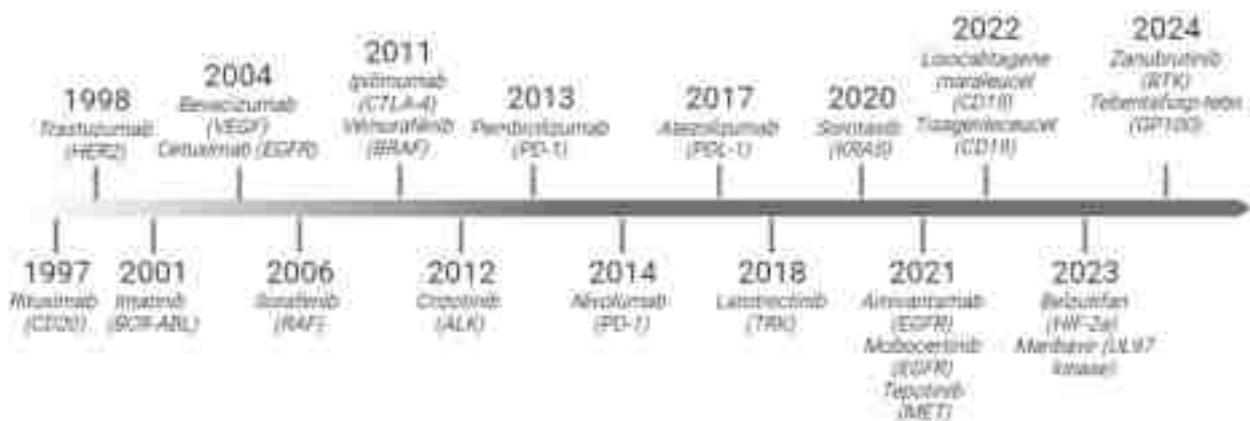
Les inconvénients majeurs de la chimiothérapie conventionnelle sont principalement dus à son manque de sélectivité vis-à-vis des cellules cancéreuses. Ces inconvénients ont conduit à la mise en place de nouveaux traitements plus précis et plus adaptés. L'idée de traitements ciblés remonte aux travaux de Paul Ehrlich, fin du XIXe siècle, qui envisageait une "solution miracle" spécifique aux maladies infectieuses. Ce concept a été adapté aux traitements du cancer avec des avancées majeures comme le développement d'anticorps monoclonaux, par exemple le trastuzumab, utilisé pour le cancer du sein Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 positif (HER2+) et d'inhibiteurs de kinases comme l'imatinib, un traitement clé pour la leucémie myéloïde chronique (*Figure 4*). (3)

Les thérapies ciblées reposent sur des approches innovantes qui ont permis d'améliorer les taux de survie surtout pour des cancers difficiles à traiter. Elles bloquent différents mécanismes, ralentissant la croissance tumorale et limitant la propagation des cellules cancéreuses. Cette approche repose sur les mutations et les caractéristiques biologiques propres à chaque patient. (3)

Parmi celles-ci, les inhibiteurs de petites molécules se distinguent par leur capacité à interrompre des voies de signalisation clés impliquées dans la croissance et la survie tumorale (*Figure 4*). Une des autres stratégies est la thérapie hormonale qui s'avère particulièrement efficace pour les cancers dépendants

des hormones, comme le cancer de la prostate ou le cancer du sein. Elle agit soit en limitant l'activité des récepteurs hormonaux, soit en réduisant la production des hormones elles-mêmes.

En parallèle, l'immunothérapie a révolutionné la prise en charge de nombreux cancers grâce aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire tels que les anticorps anti-programmed cell death protein 1 (anti-PD-1), anti-programmed cell death protein ligand 1(anti-PD-L1) ou anti Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (anti-CTLA-4). Ces traitements permettent de réactiver le système immunitaire pour qu'il puisse cibler et éliminer les cellules tumorales plus efficacement (*Figure 4*). Malgré les avancées significatives qu'elles représentent, ces approches doivent encore surmonter l'obstacle majeur que constitue l'apparition de résistances qui limite souvent leur efficacité. (3)



*Figure 4 : Chronologie des avancées thérapeutiques : Les principales thérapies ciblées approuvées de 1997 à 2024*

Ces thérapies ont aussi l'avantage de préserver la qualité de vie des patients. Elles s'inscrivent dans le cadre de la médecine de précision qui vise à proposer des traitements plus adaptés et efficaces. Cela permet aux patients de mieux tolérer les traitements, même sur une longue période.

Cependant, ces traitements ne sont pas sans limites. Ils sont souvent réservés aux patients avec des anomalies moléculaires spécifiques. De plus, des mécanismes comme la surexpression des cibles thérapeutiques, l'amplification génétique, l'efflux des médicaments ou encore des mutations altérant le site de liaison des traitements peuvent en limiter l'efficacité. (4,6)

Pour répondre à ces défis, les Proteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) offrent une solution innovante. Ces molécules ciblent les protéines pathologiques et les dégradent, même celles considérées jusqu'ici comme "undruggable". Grâce à leur mécanisme d'action unique, les PROTACs pourraient élargir les options thérapeutiques pour de nombreux patients.

#### 4) Objectif de la thèse

Cette thèse a pour objectif d'évaluer le potentiel des PROTACs dans le traitement des maladies, avec une attention particulière portée à leur application en oncologie. En tant que nouvelle classe de petites molécules, les PROTACs se distinguent par leur capacité unique à dégrader des protéines pathologiques, offrant ainsi une alternative innovante aux traitements classiques.

Ce travail vise à approfondir la compréhension de cette technologie et à identifier les opportunités qu'elle présente pour surmonter les limites des traitements existants. En outre, cette thèse explore les défis cliniques liés au développement des PROTACs, notamment leur biodisponibilité, leur spécificité et les contraintes associées.

Pour une meilleure lisibilité des mécanismes d'action, les éléments graphiques sont codés par couleur : le ligand ciblant la protéine d'intérêt (POI) sera représenté en rouge, celui ciblant la ligase E3 en bleu, et le linker en noir.

## **DEUXIEME PARTIE**

### **LES PROTACs : UNE NOUVELLE APPROCHE THERAPEUTIQUE**

## **I. LES PROTACS : DEFINITION ET MECANISME D’ACTION**

### **1) Système ubiquitine protéasome**

Les protéines remplissent énormément de fonctions essentielles et diverses au sein des cellules. Parmi elles, certaines interviennent dans des processus cellulaires comme le transport, la structure, ou la régulation cellulaire, tandis que d'autres ont une activité enzymatique. Les protéines cellulaires ont besoin d'une gestion efficace de la protéostasie, un mécanisme essentiel à l'équilibre cellulaire. L'un de ces aspects est la dégradation des protéines, permettant d'éliminer celles qui deviennent inutiles ou dysfonctionnelles.

La dégradation des protéines ou protéolyse, est assurée par des protéases qui peuvent être de simples protéines monomériques ou des complexes multi-sous-unités désignés sous le nom de protéasomes. Pendant longtemps, on a considéré que la plupart des protéines intracellulaires avaient une durée de vie prolongée.

Ce n'est qu'au début des années 1980 que les recherches menées par le laboratoire d'Avram Hershko ont révélé que certaines protéines étaient marquées de façon covalente par une petite protéine appelée ubiquitine. Cette modification ciblait alors ces protéines pour leur dégradation par le protéasome nécessitant l'intervention de l'adénosine triphosphate (ATP). Pour ces recherches Avram Hershko, Aaron Ciechanover et Irwin Rose ont reçu le Prix Nobel de Chimie en 2004. (7)

Le système ubiquitine-protéasome (UPS) est une voie biologique essentielle conservée chez les organismes allant de la levure à l'humain. Le système régule les niveaux de protéines intracellulaires en maintenant un équilibre de la protéostasie dans divers processus cellulaires (cycle cellulaire, apoptose, réparation de l'acide désoxyribonucléique (ADN), la signalisation cellulaire, réponse au stress). Il permet également l'élimination des protéines dénaturées, mutées ou en quantité excessive.

L'UPS repose sur un système finement orchestré impliquant l'ubiquitination des protéines à dégrader. Ce marquage est réalisé par un ensemble d'enzymes organisées en un complexe à trois étapes. Les protéines marquées sont ensuite dirigées vers le protéasome 26S, où elles sont dégradées de manière sélective garantissant ainsi une régulation précise. (6–8)

Ce système repose sur une cascade enzymatique impliquant trois acteurs principaux : E1, E2 et E3, présents dans le cytoplasme où ils collaborent pour marquer et diriger les protéines cibles vers leur dégradation. Le processus débute avec l'enzyme E1, qui active l'ubiquitine en consommant de l'ATP

et en formant une liaison thioester avec celle-ci. L'ubiquitine activée est ensuite transférée à un résidu cystéine de l'enzyme E2, qui joue le rôle de transporteur intermédiaire, facilitant son passage à l'étape suivante. Enfin, la ligase E3, ou enzyme de conjugaison de l'ubiquitine identifie spécifiquement les protéines cibles et catalyse le transfert de l'ubiquitine généralement sur des résidus lysine. Ce processus garantit la spécificité essentielle de la voie permettant un ciblage précis des protéines à dégrader. (5,6,9)

Ce processus aboutit à plusieurs types d'ubiquitination : la mono-ubiquitination (une seule ubiquitine fixée à une protéine), la multi-ubiquitination (plusieurs ubiquitines attachées à des sites distincts) et la poly-ubiquitination (formation de chaînes d'ubiquitine).

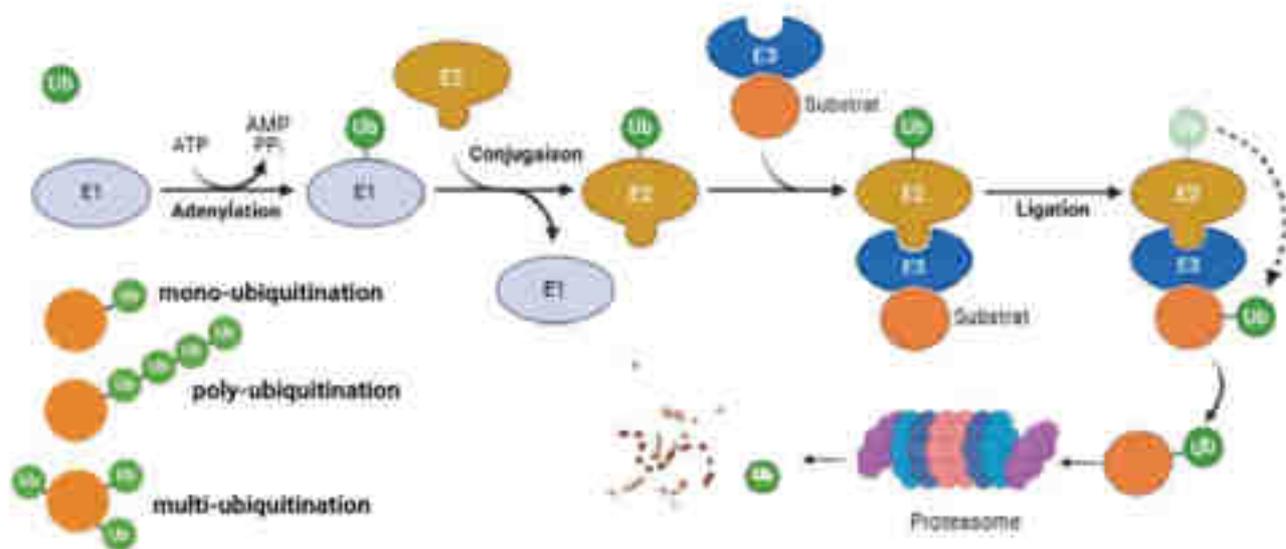
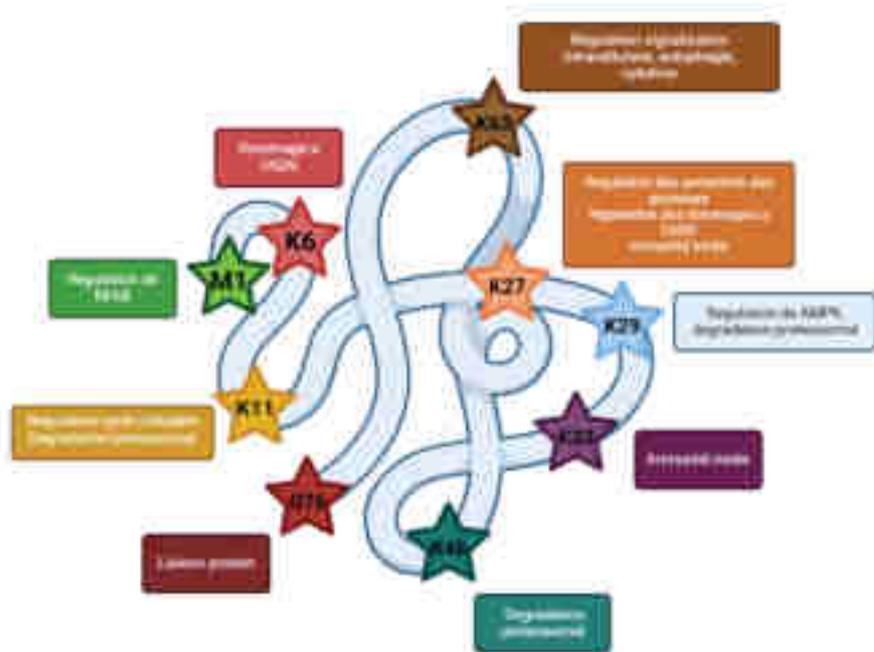


Figure 5 : Mécanisme du système ubiquitine-protéasome

Comme présenté dans la Figure 6, les chaînes poly-ubiquitines peuvent être formées à partir des sept résidus lysine de l'ubiquitine (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63) ou à son extrémité N-terminale (Met1). Ces chaînes adoptent en fonction des résidus impliqués des fonctions biologiques variées. Les chaînes liées au résidu lysine K48 jouent un rôle central dans la signalisation de la dégradation des protéines par le protéasome 26S, constituant un mécanisme fondamental pour maintenir la protéostasie. À l'inverse, celles associées au résidu lysine K63 participent à l'autophagie et la signalisation intracellulaire. (5,10)

D'autres résidus lysine jouent également des rôles spécifiques. Par exemple, les liaisons formées sur la lysine K6 interviennent dans la réparation des dommages à l'ADN, tandis que celles sur la lysine K33 modulent le cycle cellulaire, la signalisation Nuclear Factor kappa B (NFκB) et les réponses immunitaires. Les chaînes liées à la lysine K11 sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire et dans la signalisation pour la dégradation via le protéasome. Enfin, les chaînes linéaires formées à partir

de l'extrémité N-terminale M1 jouent un rôle clé dans la signalisation NFκB. La *Figure 6* illustre ces fonctions biologiques en mettant en évidence les différentes chaînes poly-ubiquitines et leur rôle dans des processus tels que la dégradation protéasomale, la signalisation intracellulaire, l'immunité et la réparation de l'ADN. (10) (12)



*Figure 6 : Rôles fonctionnels des positions de la poly-ubiquitination*

## 2) Définition des PROTACs

Les PROTACs constituent une classe de molécules hétéro-bifonctionnelles conçues pour induire la dégradation d'une protéine d'intérêt (POI) via l'UPS. Ils se composent de deux éléments principaux : un ligand qui se fixe spécifiquement à une POI et un autre ligand capable de recruter une ligase E3, liés entre eux par un linker. Cette architecture permet d'induire l'interaction de la ligase E3 avec la POI artificiellement, ce qui provoque l'ubiquitination de la POI et sa dégradation par l'intermédiaire de l'UPS (*Figure 7*). (6) (12)

Les PROTACs proposent un mécanisme d'action inédit. Ils permettent de neutraliser les fonctions des protéines sans nécessairement se lier au site actif. De plus, les PROTACs ne sont pas eux-mêmes dégradés par le protéasome. Ils sont recyclés pour dégrader les copies suivantes de la POI, contrairement à une inhibition classique où une molécule inhibitrice par protéine est nécessaire.

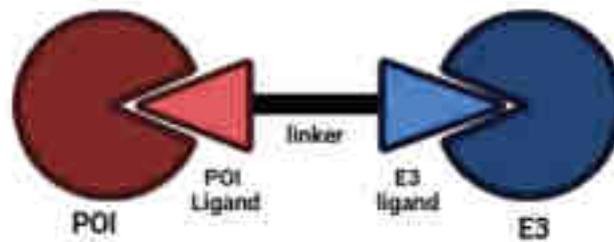


Figure 7 : Schéma de la structure fonctionnelle d'un PROTAC

En conséquence, l'un des principaux atouts des PROTACs réside dans leur aptitude à cibler des protéines traditionnellement jugées « undruggable » par les approches thérapeutiques classiques. Ces protéines qui sont souvent impliquées dans des processus essentiels liés à des maladies, représentent un défi majeur en pharmacologie mettant en évidence tout le potentiel thérapeutique offert par les PROTACs dans le traitement de maladies telles que le cancer, les pathologies neurodégénératives et les infections virales.

(6)

### 3) Protéines « undruggable » comme cibles thérapeutiques des PROTACs

Les protéines qualifiées d'« undruggable » correspondent à des cibles impliquées dans des pathologies qui sont difficiles à moduler avec les stratégies thérapeutiques conventionnelles. Ces cibles représentent un défi en raison de caractéristiques comme l'absence de sites de liaison exploitables, des structures atypiques ou des localisations cellulaires qui limitent l'accès des petites molécules.

Ce défi concerne environ 80 % des protéines humaines, et son importance est amplifiée lorsque ces protéines jouent un rôle central dans la progression tumorale. Par exemple, les protéines Rat Sarcoma virus (RAS), Raf-related kinase (RAK), p53 et Myelocytomatosis oncogene (MYC), bien établies pour leur implication dans le cancer demeurent jusqu'à présent difficiles à cibler de manière efficace. Les PROTACs ont permis d'aborder avec succès une variété de cibles thérapeutiques notamment des récepteurs nucléaires Poly (ADP-ribose) polymérase 1 (PARP1), des kinases BCR-ABL, Cyclin-dependent kinases (CDK)4/6/9, et des régulateurs épigénétiques Bromodomain-containing protein 4 (BRD4), Histone Deacetylase 8 (HDAC8). (14,15)

L'intérêt grandissant pour cette technologie se reflète dans l'augmentation notable du nombre de publications consacrées aux PROTACs sur PubMed. Comme le montre la Figure 8, les publications sont passées de 16 entre 2008 et 2010 à 1 261 entre 2023 et 2025, soulignant leur potentiel ainsi que leur importance scientifique et clinique.



Figure 8 : Évolution des publications sur les PROTACs dans PubMed

Pour comprendre comment ces molécules innovantes parviennent à cibler des protéines d'une telle complexité, il est crucial d'examiner en détail leur mécanisme d'action.

#### 4) Ligases E3 exploitées dans les PROTACs

Les ubiquitine ligases E3 occupent une place centrale dans le maintien de l'équilibre des protéines intracellulaires. Toutefois, leur mutation, leur surexpression ou leur dérégulation sont fréquemment associées à la progression de divers cancers. Avec plus de 600 gènes identifiés dans le génome humain, elles constituent une vaste ressource pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Malgré ce potentiel, seulement quatre ligases E3 sont fréquemment exploitées dans les PROTACs pour le traitement des cancers : Mouse Double Minute 2 (MDM2), Inhibiteur des Protéines Apoptotiques (IAP), Céréblon (CRBN) et von Hippel-Lindau (VHL). Ainsi, le ligand pour la ligase E3 sélectionné doit avoir une affinité et une spécificité élevée pour la ligase E3 afin d'assurer la formation réussie et complète du complexe ternaire. (11)

##### a) MDM2

MDM2 est une ligase E3 qui régule les niveaux de p53, une protéine indispensable à la surveillance génomique. En conditions normale, ce mécanisme repose sur l'ubiquitination de p53 par MDM2 orientant p53 vers le protéasome pour sa dégradation. Cette interaction assure un équilibre prévenant une suractivation de p53 dans les cellules saines. (16)

Dans de nombreuses pathologies cancéreuses, la surexpression de MDM2 perturbe cet équilibre en accélérant la destruction de p53. Privée de ses fonctions de suppresseur tumoral, p53 ne peut plus inhiber la prolifération cellulaire ni induire l'apoptose. Ce dysfonctionnement favorise la croissance de cellules malignes et confère une résistance accrue aux traitements comme observé dans des cancers agressifs tels que les sarcomes et le cancer du sein. Ainsi, MDM2 s'impose comme une cible prioritaire pour de nouvelles approches thérapeutiques.

Les PROTACs exploitent le rôle de MDM2 selon deux stratégies distinctes. Une première approche consiste à déclencher la dégradation de MDM2 elle-même, permettant à p53 de s'accumuler et de réactiver ses propriétés antitumorales. (17) La seconde approche repose sur l'exploitation de MDM2 associé à des ligands à base d'imidazoline (*Figure 9*) en tant que ligase E3 pour orchestrer la dégradation ciblée de protéines impliquées les cancers. (16)

### **b) IAP**

Les inhibiteurs des protéines apoptotiques régulent l'apoptose en inhibant l'activité des caspases, des enzymes essentielles pour déclencher ce processus. Les principaux membres de cette famille : c-IAP1, c-IAP2 et XIAP jouent un rôle dans de nombreux cancers (hématologique, solide) où leur surexpression favorise la survie des cellules tumorales. (18)

En tant que ligases E3, les IAP orchestrent des mécanismes d'ubiquitination au sein des voies de signalisation cellulaire. Les SNIPER (Specific and Non-genetic IAP-dependent Protein Erasers) exploitent spécifiquement c-IAP1 pour déclencher la dégradation ciblée de protéines pathologiques. Cependant, cette approche présente une limite importante : les ligands utilisés pour activer c-IAP1 (*Figure 9*) peuvent provoquer son auto-ubiquitination entraînant sa destruction par le protéasome. (18)

Malgré cette contrainte, les PROTACs intégrant des IAP se révèlent prometteurs dans des contextes oncologiques. Ces composés ont permis de cibler efficacement des protéines impliquées dans la progression tumorale notamment BRD4, AR et BCL-XL. (18)

### **c) CRBN**

CRBN joue un rôle en tant que récepteur au sein du complexe ligase E3/CRL4 (Cullin-Ring Ligase 4) impliqué dans le contrôle de fonctions cellulaires critiques telles que la réparation de l'ADN et l'apoptose. En s'associant à DDB1 (DNA Damage-Binding Protein 1), il permet au complexe CRL4 de cibler des protéines spécifiques pour leur ubiquitination, conduisant à leur dégradation par le protéasome. Ce complexe catalyse l'ubiquitination de protéines spécifiques permettant leur élimination

ciblée. CRBN est également la cible de plusieurs immunomodulateurs (IMiDs) largement utilisés : notamment la thalidomide, la lénalidomide et la pomalidomide (*Figure 9*). (19,20)

Dans le domaine des PROTACs, les dérivés de la thalidomide servent de base pour recruter CRBN. Leur capacité à induire l'ubiquitination de facteurs de transcription tels qu'Ikaros repose sur la formation d'interfaces spécifiques, un mécanisme éclairé par la structure cocrystalline de CRBN et de la thalidomide, décrite par *Fischer et al.* en 2014. (9)

Cependant, l'ingénierie de CRBN pour des applications thérapeutiques est un défi en raison de son association naturelle avec DDB1, pouvant compliquer son expression et sa purification. Des approches récentes comme le design de constructions CRBN optimisées ont permis d'exprimer des versions solubles et stables de CRBN dans *E. coli* facilitant ainsi les études structurales et les criblages de nouveaux dégradeurs. (21)

#### d) VHL

L'exploitation de la ligase Von Hippel-Lindau représente une avancée majeure dans le développement des PROTACs. Cette ligase E3, en association avec Culline 2 (CUL2), Élongines B et C, ainsi que Rbx-1 constitue un complexe ubiquitine-ligase impliqué dans le maintien de l'homéostasie cellulaire. (22)

VHL est particulièrement connue pour son interaction avec le facteur inductible par l'hypoxie 1-alpha (HIF-1 $\alpha$ ). En présence d'oxygène, l'hydroxylation d'un résidu proline sur HIF-1 $\alpha$  permet sa reconnaissance par VHL entraînant son ubiquitination et sa dégradation via le système ubiquitine-protéasome. En revanche, en conditions d'hypoxie, ce mécanisme est inhibé favorisant l'accumulation de HIF-1 $\alpha$  et l'activation de gènes pro-angiogéniques tels que Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). (22)

Dans le cadre des PROTACs, l'utilisation de VHL comme ligase offre un avantage pharmacologique car cette protéine est peu exprimée dans les plaquettes réduisant ainsi les risques d'effets hors cible tels que la thrombocytopenie. Les PROTACs exploitant VHL utilisent cette voie pour cibler et dégrader sélectivement des protéines oncogéniques offrant ainsi une approche innovante pour le traitement du cancer. (22)

Les PROTACs récemment développés s'appuient majoritairement sur des ligands capables de recruter soit la protéine Von Hippel-Lindau, soit CRBN, les deux ligases E3 couramment utilisées. Le choix de la ligase dépend en grande partie des caractéristiques de la protéine cible à dégrader. Les PROTACs

dépendant de VHL présentent l'avantage de nécessiter généralement moins d'optimisation en termes de géométrie du linker. En revanche, les ligands CRBN grâce à leur poids moléculaire plus faible et à leur propriété adaptée au développement pharmaceutique s'imposent comme des outils prometteurs pour les thérapies innovantes.

La sélection du ligand de ligase E3 revêt une importance critique pour garantir une affinité et une spécificité suffisantes, éléments essentiels à la formation d'un complexe ternaire stable. Les études montrent que les PROTACs intégrant des ligands CRBN surpassent souvent ceux reposant sur des ligands peptidiques de VHL en termes d'efficacité dans l'inhibition des voies de signalisation. Par ailleurs, parmi les ligands CRBN, la pomalidomide s'est révélée particulièrement performante offrant une stabilité moléculaire par rapport à la thalidomide et la lenalidomide, ce qui en fait un choix privilégié pour des applications thérapeutiques avancées. (9,23)

Ces observations soulignent l'importance des ubiquitine ligases comme cibles prometteuses pour la mise au point de thérapies novatrices en oncologie. En intégrant cette machinerie cellulaire complexe, les PROTACs exploitent le système ubiquitine-protéasome pour éliminer des protéines pathogènes, ouvrant ainsi la voie à des avancées thérapeutiques majeures.

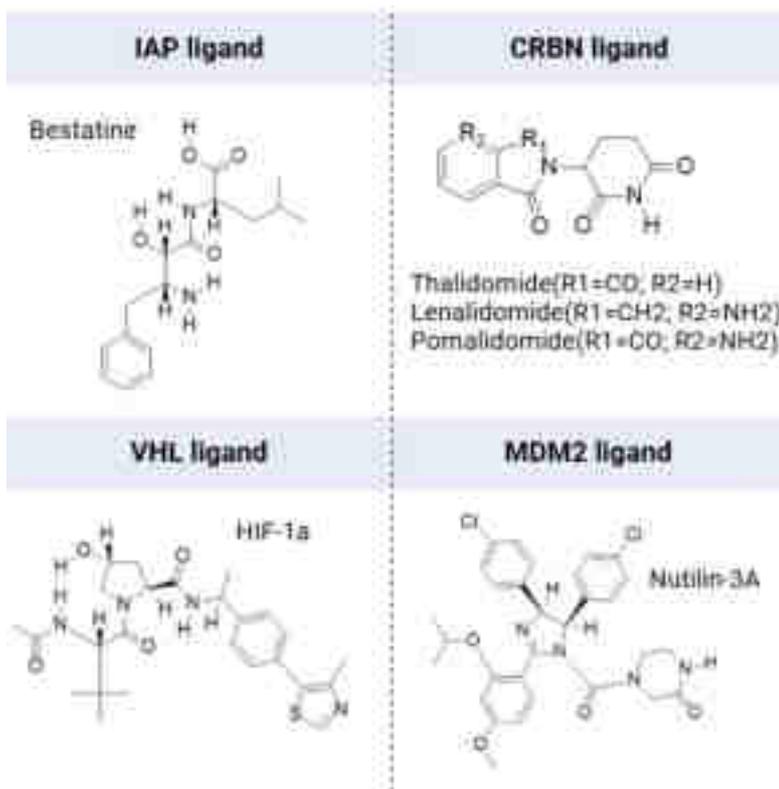


Figure 9 : Bases des ligands des différentes E3 ligases utilisées dans les PROTACs

## 5) Linker

Dans la conception des PROTACs, le choix du linker est déterminant. Ses caractéristiques comme la longueur, la nature chimique, la flexibilité et le point d'attache influencent directement la capacité du complexe ternaire à se former et à fonctionner efficacement (*Figure 10*). Si le linker est trop court, les interactions spatiales entre les composants deviennent défavorables rendant difficile l'établissement du complexe. En revanche, un linker trop long peut introduire une instabilité en augmentant le mouvement relatif des molécules, ce qui compromet la performance du PROTAC. (24)

Pour améliorer la solubilité dans l'eau, l'incorporation de chaînes hydrophiles comme le polyéthylène glycol (PEG) est une approche courante. Les premières générations de PROTACs reposaient souvent sur des linkers flexibles tels que des chaînes alkyles ou PEG. Si ces structures convenaient pour des applications *in vitro*, elles présentaient des inconvénients notables *in vivo* comme une faible stabilité métabolique. Ces limitations ont conduit à une transition vers des linkers rigides qui se sont révélés plus adaptés au développement clinique. (9,25)

L'utilisation de linkers rigides s'est avérée avantageuse pour renforcer la stabilité et optimiser les propriétés pharmacocinétiques, notamment la biodisponibilité orale. Les travaux de Hoogendoorn et ses collègues ont montré que les PROTACs dotés de segments aliphatiques courts (6 à 10 carbones) surpassaient ceux équipés de liens à base de PEG en termes d'efficacité biologique. (9,25)

Les innovations récentes incluent l'intégration de cycles rigides tels que le triazole, la pyridine et la pipérazine. Ces structures offrent une meilleure interaction entre la protéine cible et la ligase E3, réduisent la flexibilité excessive et augmentent la durée d'action, en améliorant l'absorption cellulaire et la sélectivité des PROTACs en réduisant les interactions non spécifiques. (24)

Le triazole s'est démarqué grâce à sa multifonctionnalité et à sa capacité à stabiliser les complexes ternaires. Il contribue également à ralentir le métabolisme des molécules tout en augmentant leur sélectivité et leur efficacité. Les PROTACs incorporant un triazole comme élément rigide affichent une demi-vie plasmatique supérieure à celle de leurs homologues à linker flexible, tout en maintenant une affinité comparable pour leurs cibles respectives. (9,24,25)

Bien que les linkers PEG aient progressivement perdu en popularité en raison de leur faible stabilité métabolique, ils pourraient être réévalués pour des PROTACs visant des cibles nécessitant une haute solubilité. Par ailleurs, l'intégration de linkers photosensibles ouvre de nouvelles perspectives pour le

contrôle spatio-temporel de l'activité des PROTACs, ce qui pourrait révolutionner leur pharmacocinétique et leur sélectivité en clinique. (24)

Enfin, l'application de l'intelligence artificielle pour la conception rationnelle des linkers apparaît comme un levier stratégique pour optimiser leur structure et leurs propriétés pharmacologiques. L'avenir des PROTACs repose sur ces innovations, visant à maximiser leur efficacité tout en minimisant leur toxicité et leurs limitations actuelles. (26)

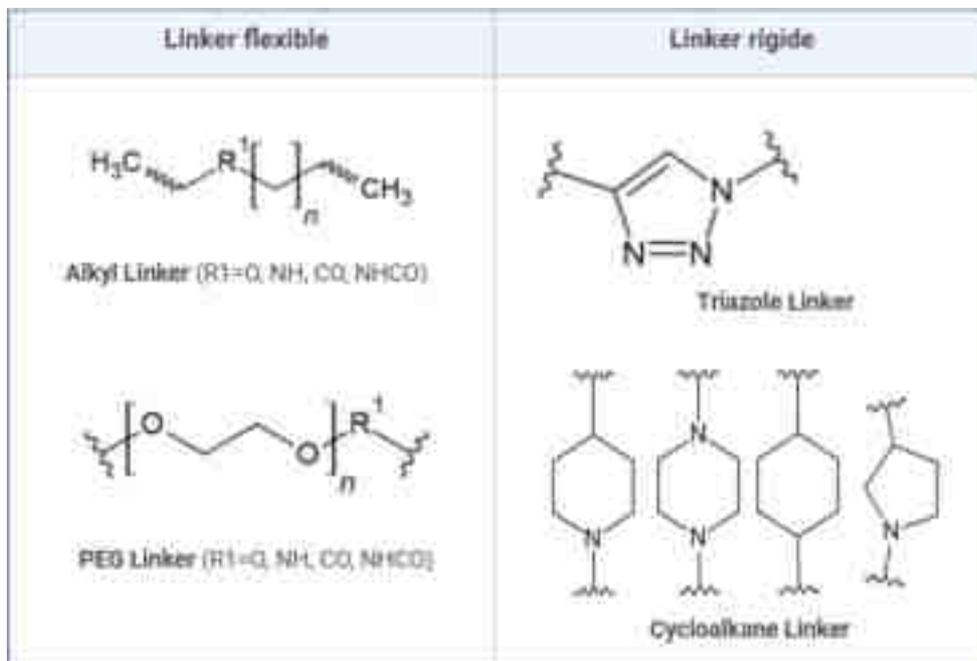


Figure 10 : Exemples de linkers les plus fréquemment utilisés dans les PROTACs

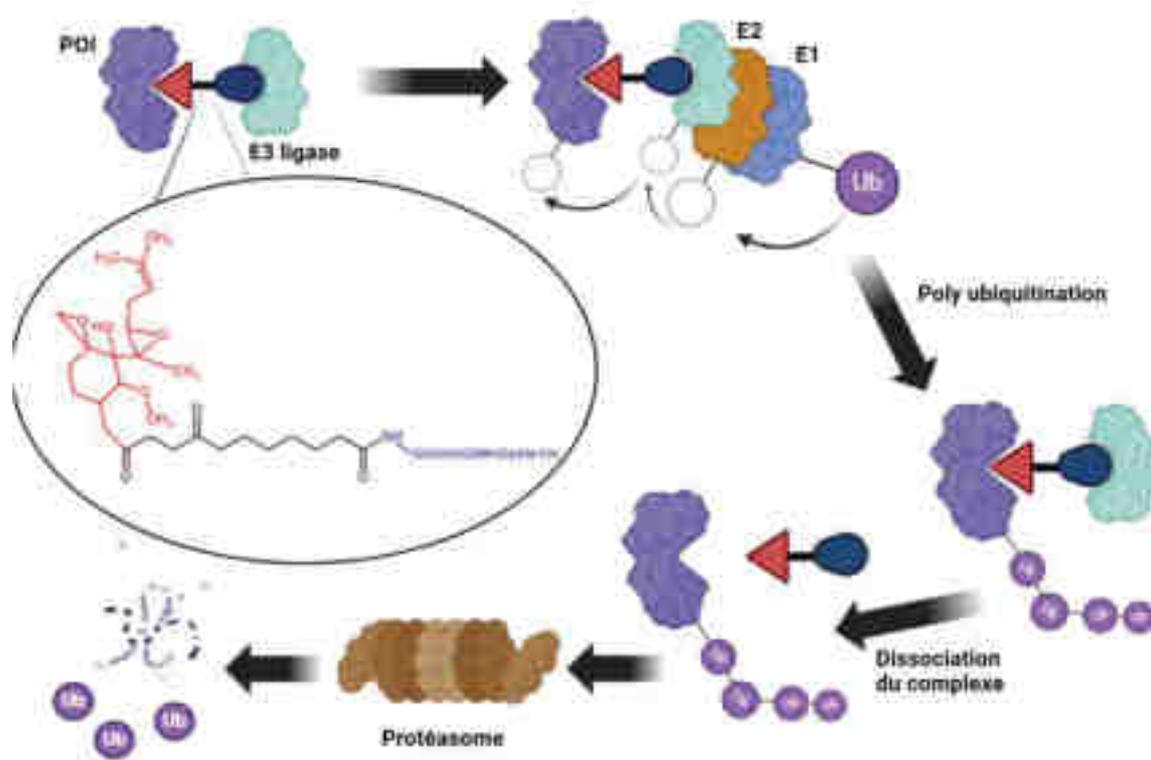
## 6) Mécanisme d'action des PROTACs

Pour rappel, les PROTACs exploitent le système UPS pour induire la dégradation ciblée de protéines. Ils sont composés de deux ligands reliés par un linker chimique : l'un se lie spécifiquement à la POI, tandis que l'autre cible une ubiquitine ligase E3 (Figure 7). Pour illustrer leur mécanisme d'action en détails, on va s'appuyer sur l'exemple des premiers PROTACs.

L'utilisation du système ubiquitine-protéasome pour cibler la dégradation spécifique de protéines a été exploré pour la première fois en 1995 par Gosink et Vierstra. Leur étude a révélé qu'il était possible de diriger cette dégradation en utilisant des ligases E2 recombinantes produites par des bactéries *E. coli* modifiées génétiquement. Ce concept a été enrichi par l'introduction de molécules chimériques capables de recruter simultanément une ubiquitine ligase et une protéine cible, décrit pour la première fois dans un brevet déposé par Proteinix, ouvrant ainsi la voie à des approches innovantes pour manipuler le système ubiquitine-protéasome.(9,27)

Par la suite, *Zhou et al.* (28) ont proposé un concept basé sur une thérapie génique induisant la dégradation de protéines spécifiques. Ils ont développé une protéine de fusion en combinant une sous-unité de l'ubiquitine ligase de type Skp1-Cullin-F-box (SCF), en particulier la protéine Cell Division Cycle 4 (Cdc4) de la levure avec E7N, un segment de la protéine E7 du papillomavirus humain capable de se lier à la protéine phosphorylée du rétinoblastome (pRb). Cette fusion permettait à la ligase SCF de recruter pRb, entraînant son ubiquitination et sa dégradation. (28)

En 2001, Raymond Deshaies et Craig Crews de l'Université de Yale, ont introduit le concept des PROTACs. Ils ont développé une première molécule ciblant la méthionine aminopeptidase-2 (MetAP-2), représentée en violet (*Figure 11*), afin de provoquer son ubiquitination et sa dégradation via la ligase E3 Skp1-Cullin-F-box  $\beta$ -transducin repeat-containing protein (SCF  $\beta$ -TRCP), représentée en vert dans la *Figure 11*. Ce PROTAC était composé de deux éléments : l'ovalicine, partie rouge de la molécule, un inhibiteur covalent qui se lie au site actif de MetAP-2 (*Figure 11*), et un phosphopeptide dérivé de Inhibitor of  $\text{NF}\kappa\text{B}$  alpha ( $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ ), partie bleue, reconnu par la F-box  $\beta$ -TRCP du complexe SCF (*Figure 11*).

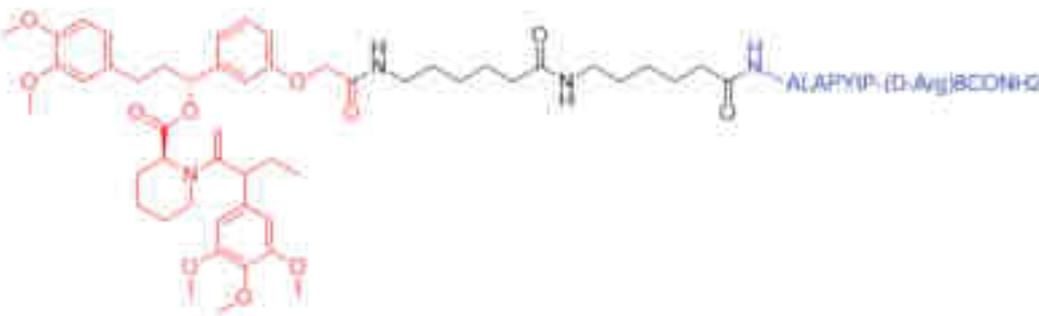


*Figure 11 : Mécanisme d'action des PROTACs : de la liaison à la dégradation protéasomale*

Cette molécule a démontré, lors d'expériences *in vitro*, une capacité notable à recruter MetAP-2, à induire son ubiquitination et à en faciliter la dégradation via les protéasomes dans des extraits de *Xenopus*. Cependant, en condition cellulaire son efficacité était fortement limitée par une faible perméabilité liée au ligand polypeptidique SCF  $\beta$ -TRCP. De plus, son activation nécessitait une

phosphorylation préalable du phosphopeptide ainsi qu'une micro-injection pour atteindre une efficacité acceptable. Ces contraintes, associées à une dépendance à l'utilisation de lentivirus, augmentaient les risques de toxicité et limitaient son potentiel clinique. (9)

En 2004, Craig Crews et son équipe ont franchi une étape importante en développant un PROTAC capable de pénétrer dans les cellules. (29) Cette molécule ciblait la protéine régulatrice du cycle cellulaire FKBP12 F36V et intégrait un ligand spécifique en rouge (*Figure 12*) couplé à un domaine de recrutement de VHL en bleu (*Figure 12*) modifié par une queue de polyarginine pour optimiser sa perméabilité cellulaire. Il s'est avéré efficace *in cellulo* en induisant la dégradation de FKBP12 F36V dans des cellules HeLa à une concentration de 25  $\mu$ M. En parallèle, un linker chimique de type alkylamide a été conçu pour optimiser l'interaction entre les domaines de liaison de la cible et de VHL. (9,29)



*Figure 12 : Structure chimique du premier PROTAC capable de pénétrer dans les cellules développées par Craig Crews et collaborateurs*

Il serait pertinent de conclure ce sous-chapitre en évoquant le premier PROTAC à petite molécule perméable, conçu en 2008 : le SARM-nutline PROTAC. Ce composé a marqué un tournant en démontrant que les ligases E3 pouvaient être efficacement recrutées par de petites molécules, ouvrant ainsi la voie à une nouvelle génération de PROTACs plus performants et biodisponibles. (30)

Ce PROTAC est structuré autour de trois éléments clés : un ligand ciblant le récepteur aux androgènes, un modulateur sélectif des récepteurs aux androgènes (SARM) affichant une affinité de liaison avec un  $K_i$  de 4 nM ; un linker à base de polyéthylène glycol ; et un ligand recrutant la ligase E3 MDM2, le nutline. (30)

L'efficacité de ce composé a été évaluée sur des cellules HeLa traitées avec une concentration de 10  $\mu$ M pendant 7 heures, entraînant une diminution notable des niveaux de récepteurs aux androgènes. Cette

dégradation a été confirmée comme étant dépendante du protéasome car elle était atténuée dans les cellules prétraitées avec 10  $\mu$ M d'époxomicine, un inhibiteur spécifique des protéases du protéasome. (30)

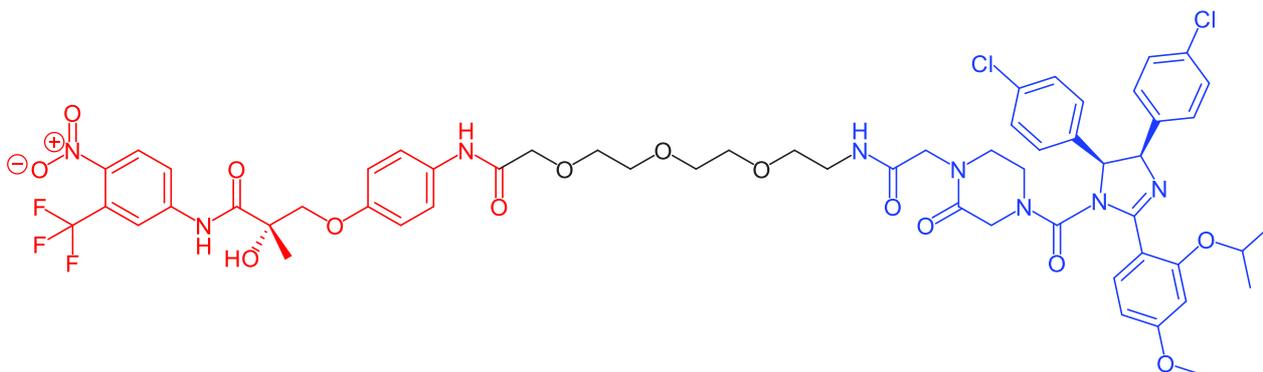


Figure 13 : Structure chimique du SARM-nutline PROTAC

Les avancées scientifiques récentes ont permis le développement de nouvelles classes de PROTACs, élargissant leurs possibilités d'action à des cibles autrefois hors de portée. Ces approches représentent une étape clé dans la recherche, ouvrant de nouvelles perspectives thérapeutiques pour traiter des pathologies complexes et cibler des protéines jusqu'alors considérées comme hors d'atteinte.

## 7) Différentes classes de PROTACs

La classification des PROTACs en trois catégories principales : petites molécules, hybrides et bioPROTACs continue de faire l'objet de discussions dans la communauté scientifique. Les PROTACs classiques reposent sur des ligands à petites molécules, comme le PROTAC SARM-nutline. Les bioPROTACs, en revanche, s'appuient sur des ligands peptidiques, protéiques ou ARN pour cibler les POI et sont soit encodés génétiquement et exprimés directement dans la cellule, soit exprimés dans les bactéries et administrés en utilisant des stratégies de formulation dans des nanoparticules lipidiques. Enfin, les PROTACs hybrides associent un ligand de type petite molécule avec un ligand de type peptide ou biomolécule offrant une combinaison des avantages mais également des inconvénients de chacune. Le tout premier PROTAC, décrit en 2001, peut d'ailleurs être reclassé dans cette dernière catégorie. (31)

Il est important de noter qu'il existe une grande diversité de types de PROTACs, reflétant l'évolution rapide de ce domaine. Toutefois dans cette thèse, seuls les types les plus pertinents pour les avancées scientifiques et thérapeutiques seront abordés.

### a) BioPROTACs

Zhou *et al.* (28) ont développé les premiers bioPROTACs ciblant la protéine de rétinoblastome pRb. Les chercheurs ont transfecté les cellules mammifères SAOS-2 avec un plasmide encodant pour une fusion de la protéine  $\beta$ -TRCP, qui participe à la formation d'un complexe E3 de type SCF, avec un peptide N-terminale issu de la protéine E7 du papillomavirus humain de type 16 (HPV-16), capable d'interagir avec pRb. Expression du complexe  $\beta$ -TRCP-E7 a conduit à une dégradation de 90% de la protéine pRb dans les cellules. (32)

Depuis, des bioPROTACs visant des protéines cancéreuses telles que HER2, MYC et KRAS ont montré un potentiel thérapeutique prometteur, comme l'a démontré Pan *et al.* (33) qui ont conçu un bioPROTAC basé sur le facteur d'infectivité du virion (Vif) pour cibler une protéine pro-oncogène KRAS. Ce bioPROTAC recombinant, exprimé dans *E. coli* et administré par voie intra-péritonéale dans le modèle de la souris xénotransplante a démontré l'inhibition de la croissance des cellules tumorales exprimant KRAS. Toutefois, des améliorations dans les modes d'administration, notamment par des injections intratumorales, restent nécessaires pour maximiser leur efficacité. (31)

Parallèlement, d'autres approches comme les (ARN)-PROTACs ou O'PROTACs (PROTAC à oligonucléotides pour cibler les protéines de liaison à l'ADN) ont été conçus pour des cibles pour lesquelles il n'existe pas d'inhibiteurs de type petites molécules, notamment les facteurs de transcription et les protéines de liaison à l'ARN. Les ARN-PROTACs et O'PROTACs exploitent des séquences d'ARN ou d'ADN pour se fixer aux POI et recruter une ligase E3. Dans un exemple, une approche a permis de développer un bioPROTAC basé sur l'ARN ciblant la protéine de liaison à l'ARN carcinogène Lin28. Ce PROTAC a été efficace dans le modèle de la souris après une injection intratumorale, (Figure 14). La séquence ARN spécifique (rouge) reconnaît la protéine LIN28, tandis que le PROTAC recrute une ligase E3. Ce processus conduit à l'ubiquitination de LIN28, marquant la protéine pour sa dégradation par le protéasome. (34)

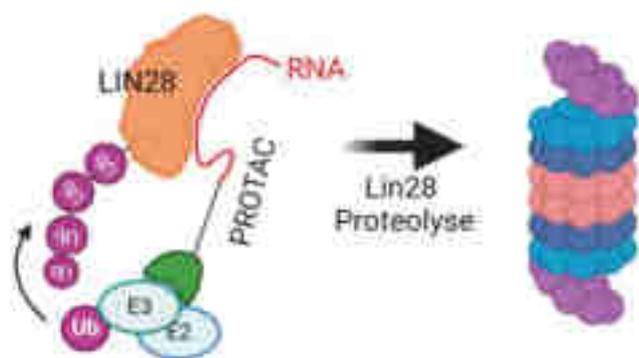


Figure 14 : Ciblage et dégradation de la protéine LIN28 via un ARN-PROTAC

## b) Nano PROTACS

Les Nano-PROTACs représentent une avancée significative en combinant les atouts des PROTACs classiques avec ceux des nanotechnologies. En intégrant des nanovecteurs tels que les liposomes, les nanoparticules polymériques ou encore les nanogels, ces systèmes permettent de surmonter des limitations majeures des PROTACs comme la faible solubilité et la faible perméabilité cellulaire. Des exemples comme SIAIS117 ciblant l'Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) et utilisant des nanoparticules d'or a permis de dégrader plus de 80 % des protéines ALK en 12 heures à une concentration de 4  $\mu\text{M}$  démontrant une amélioration significative de la biodisponibilité. (35)

Par ailleurs, *Tao et al.* (36) ont encapsulé le PROTAC ARV-771 qui cible la protéine BRD4, un régulateur transcriptionnel et épigénétique, jouant un rôle important dans le développement des cancers dans des nanoparticules polymériques sensibles au glutathion. BRD4 est directement impliqué dans la régulation transcriptionnelle de c-MYC, un oncogène clé dans de nombreux cancers.

En favorisant la dégradation de BRD4, ARV-771 entraîne une inhibition de la transcription de c-MYC réduisant ainsi son expression et limitant la prolifération tumorale. L'encapsulation d'ARV-771 a permis d'augmenter son efficacité en améliorant sa pénétration cellulaire et sa libération intracellulaire de manière contrôlée. En conséquence, la dégradation de BRD4 a atteint 74 % avec ARV-771 encapsulée contre seulement 35 % pour la formulation libre entraînant une réduction de l'expression de c-MYC de 56 % contre 13 % pour ARV-771 libre.(23,36,37)

## c) Les PROTACs activables

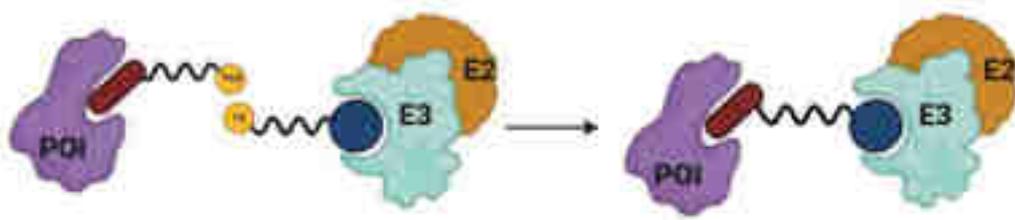
Il serait avantageux de concevoir un PROTAC activable localement capable de s'activer uniquement dans le tissu tumoral ou la cellule cible, afin de minimiser les effets secondaires systémiques et d'améliorer la sélectivité du traitement. Dans ce sous-chapitre, nous allons explorer plusieurs types de PROTACs activables qui permettent un contrôle spatial et temporel de la dégradation des protéines cibles.

### i) *Click and release PROTAC*

Les click-and-release PROTACs utilisent des réactions bio-orthogonales pour déclencher l'activité de dégradation uniquement dans les cellules tumorales minimisant ainsi les effets hors cible. Cette approche repose sur l'assemblage intracellulaire de deux précurseurs chimiques, formant ainsi un PROTAC actif une fois à l'intérieur de la cellule. Par exemple, *Lebraud et al.* (38) ont développé le PROTAC NGP-1 ciblant la protéine BRD4 qui repose sur une chimie de click permettant de former une molécule active à partir de deux précurseurs intracellulaires : le trans-cyclooctène (TCO), lié à un ligand ciblant la protéine

d'intérêt et la tétrazine (Tz) couplée à une molécule recrutant CRBN, (*Figure 15*). Lorsque ces deux éléments réagissent ensemble dans les cellules, elles sont capables de dégrader jusqu'à 80 % de BRD4.

Former le PROTAC directement dans la cellule plutôt que de le préformer *in vitro* permet d'améliorer sa pénétration membranaire, d'éviter les problèmes de solubilité et de mauvaise stabilité métabolique souvent rencontrés avec les PROTACs de haut poids moléculaire et d'assurer une activation ciblée uniquement dans les cellules tumorales réduisant ainsi les effets hors cible. (39,40)



*Figure 15 : Mécanisme d'activation des PROTACs click-and-release pour la dégradation ciblée de BRD4*

### *ii) PROTACs activables par des enzymes*

Les PROTACs activables par des enzymes exploitent la surexpression d'enzymes spécifiques dans les cellules tumorales pour limiter leur activité aux tissus malades. Par exemple, *Liang et al.* (41) ont développé le NGP-26 cible spécifiquement la protéine BRD4. Pour cela, ils ont incorporé un groupe quinone verrouillé par triméthyle, en rose (*Figure 16*). La caractéristique unique du groupe quinone verrouillé par triméthyle est sa capacité à être réduit par une enzyme appelée NAD(P)H quinone déshydrogénase 1 (NQO1), qui est connue pour être surexprimée dans les cellules tumorales. Dans les tissus sains, le composé reste inactif.

Mais une fois à l'intérieur des cellules cancéreuses, le groupe masquant est réduit par NQO1 et donc éliminé, ce qui libère le ligand E3 actif permettant ainsi le recrutement de la ligase VHL. Cette stratégie améliore considérablement la sélectivité de la dégradation des protéines d'intérêt, minimisant les effets secondaires et les risques de toxicité hors cible. La *Figure 16* illustre ce processus d'activation enzymatique pour des traitements oncologiques ciblés. (39,41)

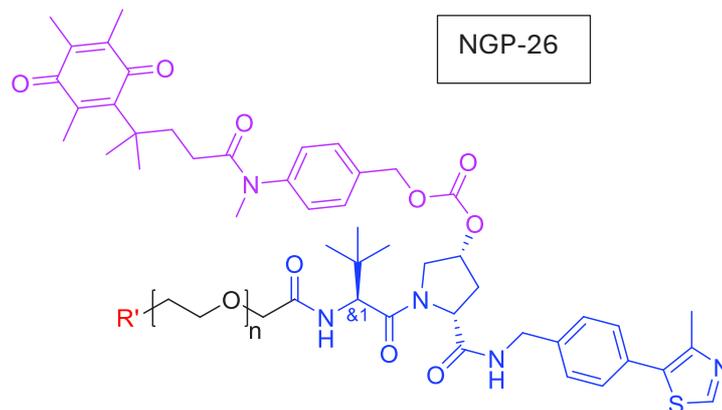
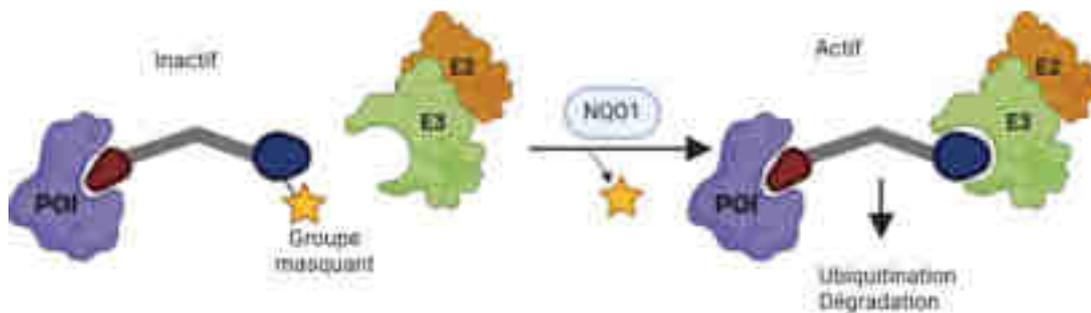


Figure 16 : Activation spécifique des PROTACs par NQO1 pour la dégradation de BRD4

Etant donné que la catégorie des PROTACs activables est large, on pourrait mentionner également les Pro-PROTAC qui sont sensibles à l'hypoxie, conçus en utilisant les caractéristiques hypoxiques des tissus tumoraux. En 2021, *Zhang et al.* (42) ont synthétisé un PROTAC activable par l'hypoxie (Ha-PROTAC) ciblant l'EGFR (Epithelial Growth Factor Receptor). Ce composé intègre un groupe 4-nitrobenzyle clivable spécifiquement en condition d'hypoxie. Les études ont montré que cet Ha-PROTAC augmentait de 65 % la dégradation d'EGFR cultivées sous des niveaux d'oxygène réduits (1 % O<sub>2</sub>), en comparaison avec des conditions normoxiques (21 % O<sub>2</sub>). (42)

### iii) PROTACs photo-activables

Les PROTACs photo-activables constituent une innovation en permettant un contrôle précis de l'activité dans le temps et l'espace. Grâce à un groupe photo-labile, ces PROTACs restent inactifs jusqu'à une irradiation lumineuse spécifique, qui déclenche leur activation uniquement dans la zone et au moment souhaités. Cette approche offre un avantage majeur en réduisant la toxicité et en améliorant la sélectivité. Cependant, des défis subsistent notamment le choix de la longueur d'onde pour une activation efficace et non toxique. L'optimisation de ces paramètres pourrait faire des PROTACs photo-activables une technologie clé pour la médecine de précision (*Figure 17*).

Les années 2021 et 2023 ont marqué l'émergence de photoPROTACs activés par la lumière UV ou plus précisément par la lumière proche infrarouge (NIR). En 2023, *Li et al.* (43) ont introduit un nano-

PROTAC (NAP) activable par NIR combinant un photosensibilisateur NIR (en rose) capable de produire de l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) à la suite d'une irradiation lumineuse. Ce système repose sur un ligand BRD4 (bleu) qui cible la protéine d'intérêt et un ligand VHL (rouge) qui recrute la ligase E3 VHL nécessaires à la dégradation de BRD4. Ces deux éléments sont reliés par un lien clivable par  $^1O_2$  (vert), qui se fragmente sous l'effet de l'oxygène singulet. (Figure 17). (43)

Initialement inactif, ce système est activé par une irradiation NIR (700-900 nm) libérant le PROTAC actif pour dégrader BRD4. Ce NAP a montré une dégradation spécifique de BRD4 réduisant ses niveaux de plus de 70 % dans les zones tumorales irradiées. Associé à la thérapie photodynamique (PDT), il a permis une suppression significative de la croissance tumorale atteignant une réduction de taille de 50 à 80 % dans des modèles murins.(43,44)

Cette technologie qui limite l'activité aux zones irradiées améliore la spécificité et réduit les effets hors cible. Cependant, bien que le PROTAC photo-encagé améliore la précision et réduit les interactions non spécifiques, son activation reste irréversible ce qui pose des défis pour un contrôle prolongé de l'activité. De plus, la pénétration très limitée de la lumière dans la peau (quelques micromètres) restreint son utilisation aux cancers cutanés ou nécessite de combiner cette approche avec des techniques invasives telles que l'injection intratumorales ou l'utilisation de fibres optiques pour atteindre des tumeurs profondes.

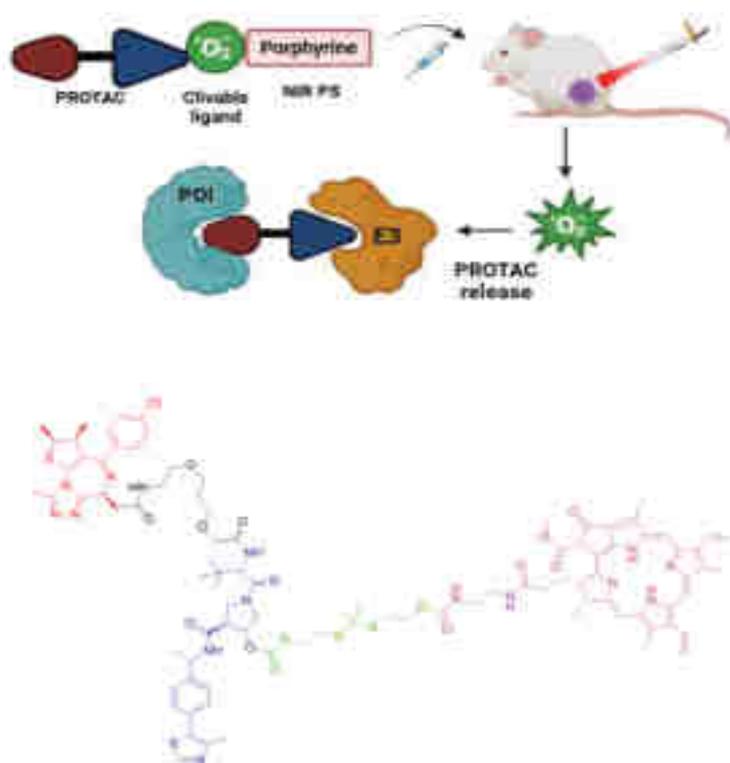
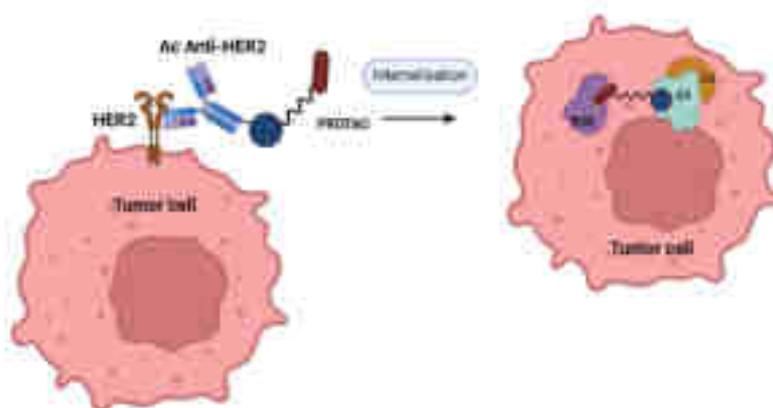


Figure 17 : PROTAC activable par lumière proche infrarouge pour la dégradation ciblée de la POI

#### d) PROTAC-Anticorps

Comme présenté dans la *Figure 18*, un Ab-PROTAC est constitué d'un anticorps dirigé contre un antigène, auquel est attaché un PROTAC via linker disulfure. Un exemple de cette technologie est un Ab-PROTAC conçu par *Maneiro et al.* (45) pour cibler BRD4 dans les cellules cancéreuses surexprimant le récepteur HER2. En utilisant HER2 comme point d'ancrage, l'anticorps guide le PROTAC spécifiquement vers les cellules tumorales, épargnant les tissus sains. Une fois pénétré dans la cellule grâce à l'anticorps internalisant, le PROTAC actionne la dégradation de BRD4. (45)

Les chercheurs ont montré que cette approche a permis une dégradation de plus de 90 % de BRD4 dans des modèles tumoraux *in vitro* à des concentrations basses de 100 nM après 4 heures d'incubation. Des analyses de biodistribution ont révélé que les concentrations d'Ab-PROTAC dans les tissus sains notamment les reins et le foie étaient inférieures à 1 ng/mL ce qui limite les effets hors cible et réduit la toxicité potentielle. En termes de pharmacocinétique, l'utilisation d'un lien disulfure stabilisé a considérablement prolongé la demi-vie plasmatique de l'Ab-PROTAC à environ 14 jours chez les modèles animaux, alors que la formulation libre non conjuguée affiche une demi-vie de seulement 6 heures. (45)

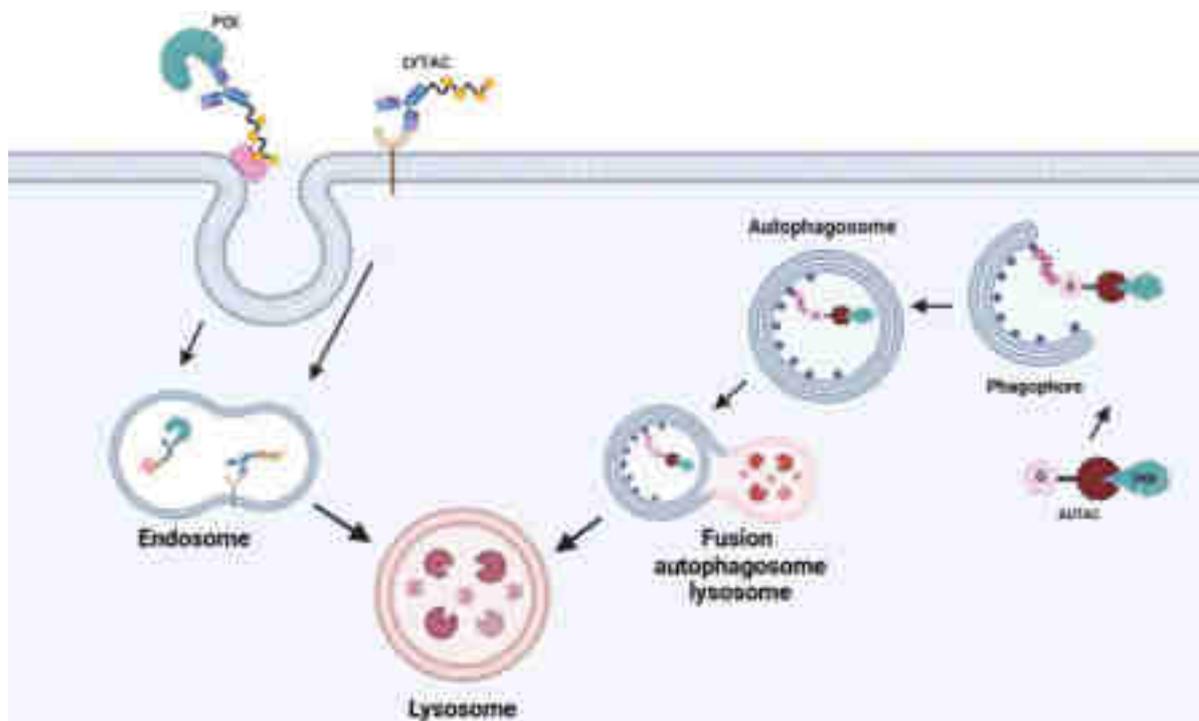


*Figure 18 : Ab-PROTAC : Ciblage précis pour la dégradation de BRD4 (POI) dans les cellules cancéreuses HER2-positives*

#### e) LYTAC, AUTAC

Les lysosomes et les autophagosomes jouent un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre cellulaire en assurant le recyclage et la dégradation des composants intracellulaires. Leur dysfonctionnement est souvent impliqué dans des pathologies comme les maladies neurodégénératives ou les cancers. L'autophagie joue un rôle clé dans l'élimination des protéines toxiques et des organites endommagés, mais sa dysrégulation, qu'elle soit insuffisante ou excessive, en fait une cible privilégiée pour développer de nouvelles approches thérapeutiques.

Dans ce contexte, les LYTACs (Lysosome Targeting Chimeras) exploitent le récepteur mannose-6-phosphate indépendant des cations (CI-M6PR) pour diriger spécifiquement des protéines extracellulaires ou membranaires vers les lysosomes, où elles sont dégradées. Ces molécules associent un ligand spécifique du CI-M6PR à un anticorps, visant la protéine à dégrader, par exemple le récepteur EGFR. (28) Ces LYTACs ont réussi à réduire le niveau d'expression du EGFR de plus de 70 %, prouvant leur efficacité pour cibler des protéines jusque-là difficiles à éliminer (*Figure 19*). (46) (47)



*Figure 19 : LYTACs : Acheminement et dégradation des protéines pathologiques via le lysosome*

Les AUTACs (Autophagy Targeting Chimeras) utilisent l'autophagie ciblée pour éliminer des composants intracellulaires pathologiques tels que des protéines agrégées ou des organites dysfonctionnels. Ces molécules rajoutent un tag *S*-guanine sur la protéine ou l'organelle à dégrader, ce qui déclenche la polyubiquitination sur les lysines K63, un signal distinct de celui utilisé par le système ubiquitine-protéasome (les lysines K48), qui est reconnu par l'autophagosome et dirige les cibles vers leur dégradation lysosomale (*Figure 19*). (29) (49)

Un exemple notable est l'AUTAC 4 conçu pour cibler les mitochondries endommagées via une interaction avec la protéine translocatrice mitochondriale (TSPO). Dans des modèles cellulaires de syndrome de Down, l'AUTAC 4 a montré sa capacité à restaurer les fonctions mitochondriales en augmentant le potentiel membranaire et en réduisant la fragmentation des mitochondries. Ainsi, contrairement aux PROTACs, les AUTACs offrent la possibilité de cibler des structures plus

volumineuses, comme les mitochondries, le réticulum endoplasmique ou encore les peroxysomes. (41)  
(49)

Avant d'aborder les opportunités qu'offrent la technologie de PROTAC en oncologie, il est crucial d'en examiner les avantages et les limites. Les PROTACs et technologies associées se démarquent par leur capacité à cibler des protéines autrefois jugées « undruggable ». Cependant, ces approches sont confrontées à plusieurs défis notamment leur taille moléculaire importante, leur faible biodisponibilité orale, et la nécessité d'optimiser leur perméabilité cellulaire.

Malgré ces contraintes, l'oncologie apparaît comme un domaine privilégié pour l'application de ces innovations. En s'attaquant à des cancers agressifs et/ou résistants aux traitements conventionnels, ces technologies redéfinissent les stratégies thérapeutiques.

## **II. AVANTAGES ET LIMITES DES PROTACS**

### **1) Limites**

Malgré leur immense potentiel en tant que thérapies innovantes, les PROTACs rencontrent des obstacles majeurs qui limitent leur pleine exploitation. Ces défis concernent notamment leurs propriétés pharmacocinétiques, leur biodisponibilité, leur capacité à cibler spécifiquement certains tissus et le risque d'effets secondaires liés à des interactions hors cible. Leur structure complexe et leur mécanisme d'action unique nécessitent encore des optimisations pour répondre aux exigences cliniques.

#### **a) Taille moléculaire importante et perméabilité cellulaire réduite**

Les PROTACs avec leur structure bimodulaire se caractérisent par une taille moléculaire souvent supérieure à 800 Da, ce qui les place en dehors des limites établies par la règle des 5 de Lipinski. Ces propriétés entraînent des propriétés sous-optimales de leur absorption, distribution, métabolisme et excrétion. La capacité des PROTACs diffuser passivement à travers la membrane gastro-intestinale est souvent limitée, ce qui limite leur biodisponibilité lorsqu'ils sont administrés par voie orale. De plus, certains PROTACs, notamment les PROTACs hybrides contenant un peptide, rencontrent des difficultés à traverser la membrane cellulaire. À titre d'illustration, plusieurs PROTACs initialement conçus pour cibler la kinase ALK ont échoué à atteindre leur cible en raison de leur perméabilité cellulaire insuffisante. (13) (51)

#### **b) Effets hors cible et toxicité**

L'un des principaux défis des PROTACs est leur incapacité à différencier les tissus sains des tissus pathologiques, ce qui peut provoquer des effets secondaires graves et affecter la tolérance des patients. A titre d'exemple, la protéine BCL-XL souvent ciblée en oncologie pour ses propriétés anti-apoptotiques est également présente dans les plaquettes. Un PROTAC conçu pour cibler cette protéine a montré une forte efficacité contre les cellules tumorales *in vitro* mais a causé une toxicité significative en réduisant le nombre de plaquettes de plus de moitié dans certains modèles précliniques *in vivo*. Cette toxicité peut conduire à des risques élevés de thrombocytopenie et de complications hémorragiques, ce qui limite son utilisation clinique. (35,52)

La spécificité tissulaire des PROTACs est particulièrement difficile à maîtriser en raison de leur mode d'action qui repose sur le recrutement d'une ligase E3 pour ubiquitiner les protéines cibles en vue de leur dégradation. L'utilisation de ligases telles que CRBN, largement exprimées dans de nombreux types cellulaires peut entraîner une dégradation non spécifique dans les tissus sains. Ces limitations mettent

en évidence la nécessité de stratégies innovantes pour améliorer la sélectivité tissulaire des PROTACs, telles que le ciblage de ligases spécifiques à certains types de tissus ou l'optimisation de leurs propriétés chimiques. (51) Par exemple, la ligase VHL souvent utilisée dans la conception des PROTACs, est faiblement exprimée dans les plaquettes permettant ainsi le développement de composés comme le DT2216 qui réduit la toxicité plaquettaire tout en conservant une efficacité antitumorale. (52)

### c) Défis liés à la stabilité métabolique

Les PROTACs souffrent fréquemment d'une demi-vie réduite en raison de leur vulnérabilité à la dégradation métabolique, ce qui limite leur efficacité *in vivo*. Par exemple, des composés comme l'ARD-69 et l'ARV-110, ciblant le récepteur aux androgènes dans le cancer de la prostate, malgré leur forte activité *in vitro*, nécessitent des administrations quotidiennes pour maintenir leur efficacité. Des approches d'optimisation, telles que l'introduction d'hétérocycles rigides dans les linkers, ont permis d'améliorer leur stabilité métabolique, offrant la possibilité d'espacer les administrations et de renforcer leur potentiel clinique. Ces avancées visent à prolonger leur demi-vie et à minimiser les variations pharmacocinétiques, améliorant ainsi leur performance thérapeutique. (53) (54)

### d) Effet crochet (Hook Effect)

Lorsqu'une concentration excessive de PROTACs est atteinte, le système se retrouve saturé limitant ainsi l'efficacité de la dégradation protéique. Ce phénomène, désigné sous le terme d'effet crochet (Hook Effect) a été observé notamment dans le cas des PROTACs ciblant BCL-XL. Ces derniers présentent une efficacité optimale à environ 100 nM, mais des concentrations plus élevées comme 1  $\mu$ M entraînent une baisse significative de leur performance en raison d'une saturation du complexe ternaire. Ce constat souligne l'importance de l'optimisation des doses pour éviter des réductions de performance et garantir une efficacité constante dans les processus de dégradation ciblée. (33) (51)

## 2) Avantages

### a) Notion de recyclage

Les PROTACs se démarquent par une pharmacologie basée sur des événements, capable d'initier plusieurs cycles de dégradation pour une seule protéine cible. Contrairement aux inhibiteurs traditionnels, qui nécessitent une interaction constante pour bloquer l'activité enzymatique, une molécule PROTAC peut successivement éliminer plusieurs copies de la cible.

Cette stratégie catalytique permet d'obtenir des effets thérapeutiques significatifs avec des doses minimales, limitant ainsi les effets indésirables. De plus, leur conception modulaire offre une souplesse unique. Les linkers, ainsi que les ligands visant la cible ou la ligase E3, peuvent être adaptés pour

optimiser la spécificité et l'efficacité. Cette flexibilité élargit leur champ d'application, y compris pour des protéines jusqu'ici inaccessibles aux approches classiques. (14,55)

### **b) Capacité à cibler les protéines "undruggable"**

Un des avantages majeurs des PROTACs réside dans leur capacité à cibler des protéines dites "undruggable", représentant environ 80 % du protéome humain. Ces protéines sont souvent inaccessibles aux petites molécules classiques en raison de l'absence de poches de liaison exploitables. Grâce à leur mécanisme de formation de complexes ternaires, les PROTACs permettent de dégrader des cibles complexes, telles que les facteurs de transcription ou les protéines non enzymatiques. À titre d'exemple, le BETd-260, un PROTAC ciblant BRD4, a induit une dégradation de 98 % à une IC50 remarquablement basse de seulement 51 pM, démontrant ainsi l'efficacité des PROTACs face à des cibles difficiles. (51) En outre, les PROTACs peuvent être conçus pour cibler des protéines autrement difficiles à traiter, comme les facteurs de transcription (par exemple, STAT3 et MYC) ou des protéines comme KRAS G12C, qui manquent des ligands de type petite molécule.

### **c) Réduction de la résistance aux médicaments**

Les résistances aux traitements traditionnels, souvent dues à des mutations dans les protéines cibles, représentent un obstacle majeur dans le traitement de nombreuses maladies. Par exemple, l'ARD-69, un PROTAC dirigé contre le récepteur aux androgènes (AR), parvient à dégrader plus de 95 % de la protéine AR dans des cellules résistantes à l'enzalutamide, avec une DC50 inférieure à 1 nM. Par exemple, le GMB-475 dégrade la protéine BCR-ABL portant la mutation T315I, résistante à l'imatinib, avec une IC50 de 1,98  $\mu$ M. (51)

### **d) Amélioration de la spécificité**

La formation de complexes ternaires par les PROTACs améliore considérablement leur spécificité envers leurs cibles. Contrairement aux petites molécules qui se lient souvent de manière non sélective, les PROTACs exploitent des interactions stériques uniques entre la protéine cible et la ligase E3, ce qui permet de réduire les effets hors cible. Par exemple, le THAL-SNS-032, conçu pour cibler spécifiquement CDK9, agit efficacement sans interférer avec d'autres kinases CDK, ce qui démontre une spécificité accrue. Cette spécificité réduite des effets hors cible contribue à diminuer les effets secondaires indésirables et améliore l'efficacité thérapeutique globale des PROTACs. (51)

### e) Innovations dans l'administration

L'émergence de nouveaux systèmes d'administration pour les PROTACs ont permis l'optimisation de leur biodisponibilité, leur stabilité et leur capacité à cibler précisément les cellules. Parmi ces progrès, les nanoparticules polymères se distinguent en offrant une libération modulée du PROTAC ce qui permet un ciblage spécifique. Par exemple, les polymères réactifs au glutathion (GSH) facilitent la libération ciblée du PROTAC ARV-771 directement dans les cellules tumorales.

De plus, les nanoparticules lipidiques qui présentent une biocompatibilité accrue sont capables de cibler de manière sélective les tumeurs via des récepteurs spécifiques, comme le récepteur aux folates, l'intégrine  $\alpha\beta3$ , surexprimée dans plusieurs cancers agressifs, est ciblée via des nanoparticules modifiées par des peptides cRGD et le récepteur GP60 et la protéine SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) permet une accumulation tumorale préférentielle des nanoparticules à base d'albumine. Cette capacité permet un ciblage de haute précision. (51)

Par ailleurs, les hydrogels, conçus pour résoudre les problèmes d'hydrophobicité des PROTACs, garantissent une libération continue et localisée maximisant ainsi l'efficacité du traitement. Afin de limiter les effets secondaires hors cible, des PROTACs activés par des stimuli tels que la lumière, l'hypoxie ou des enzymes ont été développés comme la nitroréductase, la NQO1. (41) Par exemple, des PROTACs encapsulés dans des nanoparticules peuvent être activés par irradiation infrarouge permettant une activation contrôlée et ciblée du traitement. (43,44)

### 3) Comparaisons à d'autres classes thérapeutiques

En opposition aux traitements traditionnels qui dépendent de l'inhibition continue de l'activité enzymatique des protéines cibles, les PROTACs fonctionnent selon un mécanisme catalytique. Cela signifie qu'une seule molécule peut dégrader plusieurs copies de la cible protéique augmentant ainsi leur efficacité à faible concentration, tout en limitant les effets secondaires (*Tableau 1*). (56,57)

De plus, en comparaison avec les approches géniques comme CRISPR-Cas9, qui induisent des modifications permanentes du génome, les PROTACs offrent une modulation réversible des protéines, permettant une plus grande flexibilité et réduisant les risques associés à des modifications irréversibles (*Tableau 1*). (56,57)

Les inhibiteurs de kinases bloquent l'activité enzymatique des kinases en se liant à leurs sites actifs. En revanche, les PROTACs dégradent les protéines cibles, éliminant non seulement leur activité enzymatique mais aussi leurs fonctions non enzymatiques. Cela permet de cibler des protéines dites

"undruggables", comme KRAS ou MYC. De plus, contrairement aux inhibiteurs de kinases qui peuvent être neutralisés par des mutations dans leurs sites actifs, les PROTACs surmontent cette contrainte en assurant une dégradation complète des protéines, quel que soit l'état de leurs sites de liaison, *Tableau 1*. (56,57)

Les immunothérapies telles que les inhibiteurs de PD-1/PD-L1 stimulent le système immunitaire pour qu'il attaque les cellules tumorales. Les PROTACs ciblent spécifiquement des protéines à dégrader sans solliciter la réponse immunitaire. Cette différence permet aux PROTACs d'échapper aux résistances fréquemment observées dans les immunothérapies qui surviennent lorsque les tumeurs s'adaptent à la pression du système immunitaire, *Tableau 1*. (56,57)

Les anticorps monoclonaux se concentrent principalement sur les protéines situées à la surface des cellules ou dans l'espace extracellulaire limitant ainsi leur champ d'action. Les PROTACs peuvent cibler des protéines intracellulaires ce qui élargit considérablement le répertoire des cibles thérapeutiques, *Tableau 1*. (56,57)

Les thérapies épigénétiques telles que les inhibiteurs d'HDAC modifient l'expression génétique en agissant sur des enzymes. Les PROTACs ciblent directement les régulateurs épigénétiques comme BRD4 pour les dégrader supprimant ainsi leur activité biologique. Cette approche fait des PROTACs une solution prometteuse pour traiter les cancers et d'autres maladies complexes liées à des altérations épigénétiques, *Tableau 1*. (56,57)

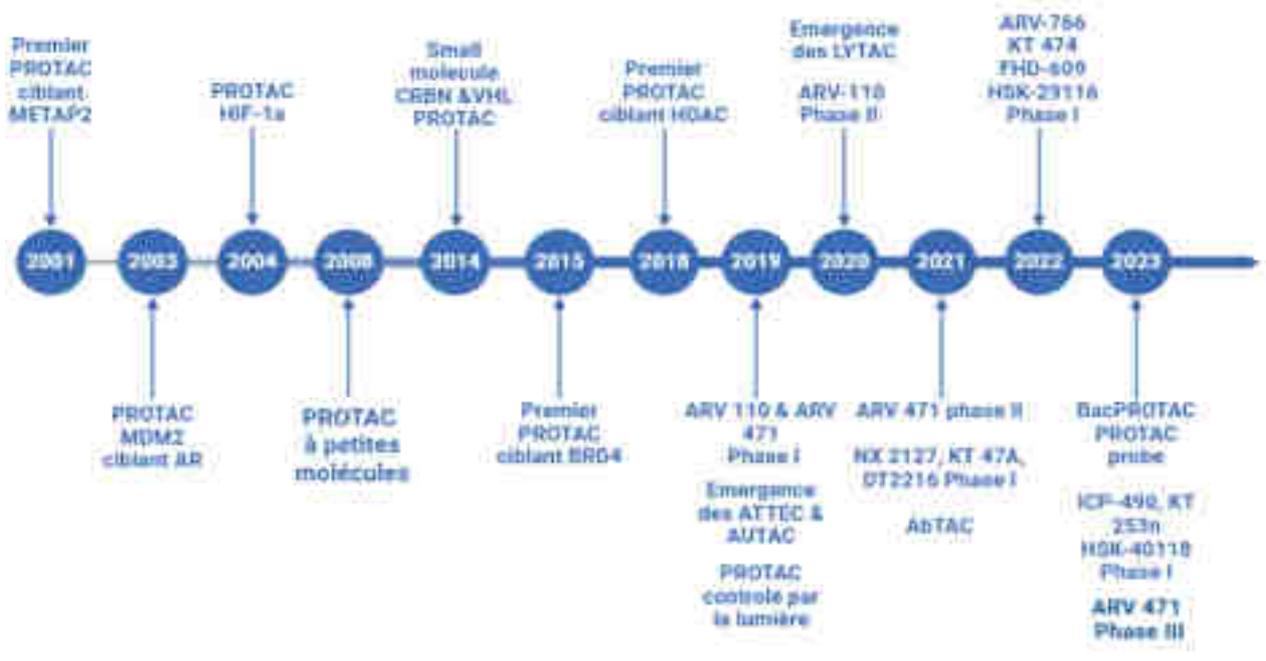
Aspect	PROTACs	Inhibiteurs de Kinases	Immunothérapies	Anticorps Monoclonaux	Thérapies Génétiques	Thérapies Épигénétiques
<b>Mécanisme d'action</b>	Dégradation des protéines via UPS.	Inhibition de l'activité enzymatique.	Stimulation du système immunitaire.	Bloque les interactions protéiques extracellulaires ou membranaires.	Modifications irréversibles du génome.	Modulation de l'expression des gènes via les enzymes épигénétiques.
<b>Cibles</b>	Toute cible intracellulaire	Kinases avec des sites actifs bien définis.	Protéines immunitaires comme PD-1, PD-L1, CTLA-4.	Protéines extracellulaires ou membranaires (ex. HER2, CD20).	Toutes les protéines codées génétiquement.	Régulateurs épигénétiques comme HDAC, BRD4.
<b>Résistance</b>	Faible sensibilité aux mutations grâce à une dégradation complète des protéines.	Résistance fréquente due à des mutations dans le site actif.	Résistance adaptative des tumeurs à la pression immunitaire.	Résistance possible via la modulation des antigènes ou des cibles membranaires.	Peu réversible, avec un risque élevé d'effets hors cible.	Limitée par des mutations ou des mécanismes compensatoires.
<b>Spécificité</b>	Très élevée, élimination complète des cibles spécifiques avec réduction des effets hors cibles.	Dépend de l'accès au site actif et peut être limitée par la variabilité des cibles.	Dépend de la réponse immunitaire, avec un risque de toxicité hors cible (effet immunitaire).	Cible principalement des protéines membranaires ou extracellulaires.	Risques d'effets imprévisibles liés à des modifications permanentes du génome.	Spécificité enzymatique modérée avec un potentiel d'effets secondaires hors cible.
<b>Durée d'action</b>	Réversible, action limitée dans le temps grâce à leur mécanisme catalytique.	Réversible, mais souvent limitée par la pharmacocinétique et la dynamique des mutations.	Longue durée, dépend de la stimulation et de la mémoire immunitaire.	Longue durée en raison de la demi-vie des anticorps.	Permanente, avec des risques d'effets imprévus à long terme.	Temporaire, avec modulation continue nécessaire pour maintenir les effets.
<b>Applications principales</b>	Oncologie, troubles neurodégénératifs, infections virales, maladies immunitaires.	Cancers (kinases oncogéniques), maladies inflammatoires.	Cancers, maladies auto-immunes (ex. lupus, polyarthrite rhumatoïde).	Cancers (HER2, CD20), maladies auto-immunes, infectieuses (COVID-19).	Cancers, thérapies génétiques pour maladies rares.	Cancers, modulation génétique pour les maladies métaboliques et neurologiques.
<b>Limites</b>	Biodisponibilité faible, pénétration cérébrale limitée, conception complexe.	Résistance fréquente, dépendance aux sites actifs accessibles.	Coût élevé, efficacité limitée dans certaines sous-populations tumorales.	Limité aux cibles extracellulaires ou membranaires, coût élevé.	Coût élevé, complexité technique, risques de modifications permanentes non contrôlées.	Modifications réversibles mais limitées par l'efficacité enzymatique et les résistances.
<b>Exemples</b>	ARV-110 (cancer de la prostate), ARV-471 (cancer du sein), SD-36 (STAT3, leucémie).	Imatinib, Erlotinib (EGFR), Ibrutinib (BTK).	Pembrolizumab (anti-PD-1), Atezolizumab (anti-PD-L1).	Trastuzumab (HER2), Rituximab (CD20).	CRISPR/Cas9, TALEN.	Vorinostat (HDAC), PROTACs ciblant BRD4.

Tableau 1 : Comparaison PROTACs vs autres approches thérapeutiques

**TROISIEME PARTIE**  
**APPLICATION EN ONCOLOGIE**

### III. APPLICATION EN ONCOLOGIE

Les PROTACs incarnent une avancée révolutionnaire dans le domaine des thérapies ciblées. Depuis leur conception au début des années 2000, cette technologie a connu une progression remarquable tant sur le plan scientifique que dans ses applications cliniques. Comme illustré dans la *Figure 20*, les deux dernières décennies ont été marquées par des développements rapides avec l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques ainsi que l'émergence de stratégies complémentaires telles que les LYTACs, AUTACs et Ab-PROTACs, ou bien encore une multiplication des essais cliniques en cours.



*Figure 20 : Chronologie des avancées majeures dans le développement des PROTACs (Liste non exhaustive)*

Actuellement, de grandes industries pharmaceutiques participent à leur développement. Tout d'abord, AstraZeneca cible le lymphome à cellules B6 (BCL6). GlaxoSmithKline (GSK) s'intéresse au facteur associé au P300/CBP et au PCAF/GCN5 qui sont des histone acétyltransférases (HAT), jouant un rôle clé dans la régulation de l'expression génique et l'acétylation des histones. Enfin, Pfizer et Boehringer Ingelheim développent respectivement des PROTACs pour la tyrosine kinase de Burton (BTK) et la kinase d'adhésion focale (FAK). En parallèle, ABBVie se concentre sur la compréhension des mécanismes de résistance aux PROTACs, tandis que Promega développe des outils pour le profilage cinétique et mécanistique.(53) (54)

Parmi ces essais cliniques, les deux composés d'Arvinas Inc. ARV-110 (*Figure 24*) et ARV-471 (*Figure 26*) se démarquent. L'ARV-110 cible le récepteur des androgènes, avec une efficacité démontrée contre

les formes sauvages et mutées, ainsi qu'un profil de sécurité et de tolérance prometteur observé en phase I. Aujourd'hui l'ARV-110 est en phase I/II. L'ARV-471 vise le récepteur des œstrogènes et fait l'objet d'études cliniques chez des femmes atteintes de cancers du sein avancés ER positif/HER2 négatif, est actuellement en phase III contre le cancer du sein métastatique avancé. (53)

Les sections suivantes détailleront leurs applications cliniques dans le traitement des cancers, en soulignant leur potentiel à transformer les approches thérapeutiques pour des pathologies oncologiques complexes et difficiles à traiter.

### 1) Cancer de la prostate

Le récepteur aux androgènes, un récepteur nucléaire de 919 AA activé par la testostérone ou la dihydrotestostérone joue un rôle clé dans la progression du cancer de la prostate. Cependant, les résistances aux traitements anti-androgéniques représentent un défi de taille notamment dans les cas de cancers métastasés. Ces résistances incluent des mutations ponctuelles du récepteur AR, une surexpression, l'apparition de produits d'épissage alternatifs, ainsi qu'une signalisation persistante. Face à ces limitations, les PROTACs se distinguent par leur capacité à dégrader le récepteur en contournant ainsi les mutations et les mécanismes de résistance. Cette approche innovante en fait des outils prometteurs pour surmonter les échecs des thérapies traditionnelles et offrir de nouvelles perspectives dans le traitement des cancers de la prostate résistants aux anti-androgènes. (9)

En 2003, *Sakamoto et al.* (58) ont rapporté le développement de PROTACs ciblant les récepteurs d'androgènes en dérivant la dihydrotestostérone. Ce composé (*Figure 21*) recrutait la ligase E3 SCF $\beta$ -TRCP via un phosphopeptide dérivé de I $\kappa$ B $\alpha$  et possédait un linker alkylamide. Cependant, la faible perméabilité cellulaire de ce PROTAC reste une limitation majeure. Par exemple, il nécessitait des micro injections pour démontrer son efficacité à dégrader l'AR dans des cellules HEK 293 conçues pour exprimer GFP-AR. (58)

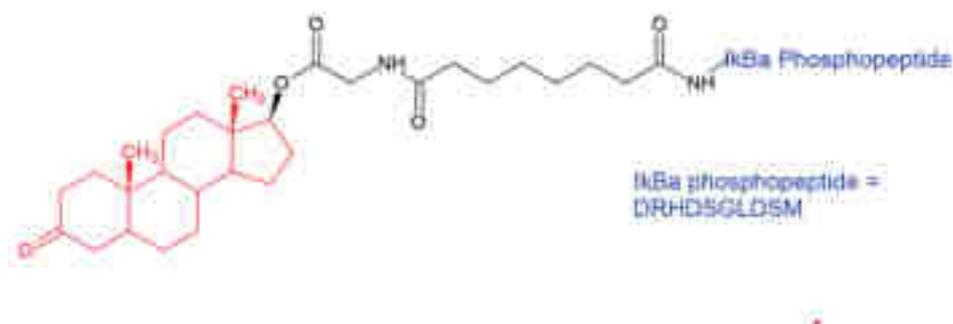


Figure 21 : Structure chimique du premier PROTAC ciblant les récepteurs aux androgènes

En 2008, Schneekloth *et al.* ont développé un PROTAC doté d'une perméabilité cellulaire améliorée. Ce composé combinait un ligand non stéroïdien ciblant le récepteur aux androgènes et un ligand imidazoline pour la ligase E3 MDM2 reliés par un linker en polyéthylène glycol conçu pour renforcer sa stabilité. Ce PROTAC a démontré sa capacité à recruter l'AR dans le complexe MDM2, entraînant son ubiquitination et sa dégradation à une concentration efficace de 10  $\mu$ M dans des cellules HeLa exprimant l'AR. (59)

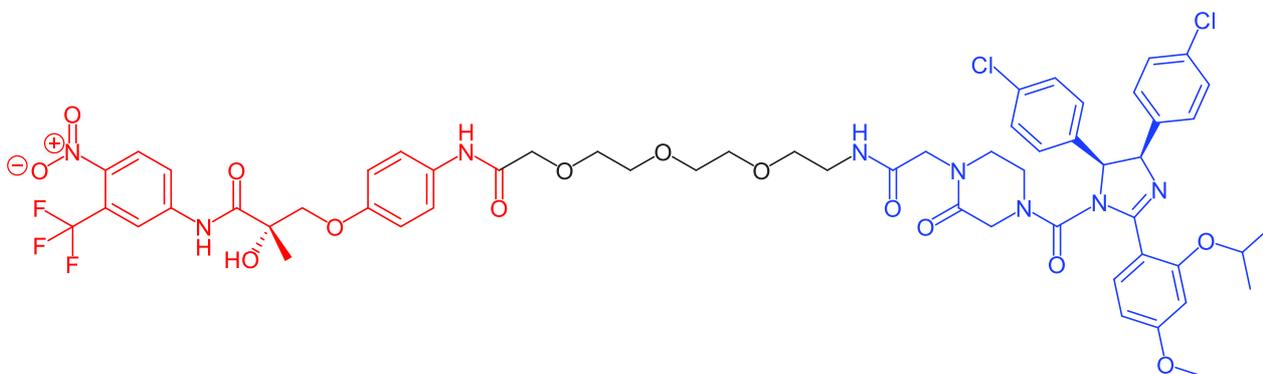


Figure 22 : Structure d'un PROTAC perméable aux cellules ciblant le récepteur des androgènes et MDM2

En 2018, ARCC-4 (Figure 23) dépendant de VHL conçu à partir de l'enzalutamide et d'un linker éther hydrophobe a démontré une dégradation efficace de l'AR atteignant un Dmax supérieur à 95 % avec une DC50 de 5 nM. La Dmax ou dégradation maximum correspond à l'efficacité maximale de dégradation d'une protéine cible par un PROTAC. Elle représente le pourcentage le plus élevé de la protéine dégradée après exposition au PROTAC. Cette molécule a également conservé son efficacité (>90%) contre des mutants cliniquement pertinents dans des cellules HEK 293 (F876L, T877A, H874Y, M896V, et L702H) tout en affichant une sélectivité remarquable en n'induisant aucun effet sur d'autres récepteurs hormonaux. (60)

En 2019, ARD-69 (Figure 23) a marqué une avancée notable grâce à l'optimisation de son linker et de ses ligands. Ce PROTAC dépendant de VHL a permis une dégradation quasi complète de l'AR (>95 %) en seulement 4 heures à une concentration de 100 nM et a également montré une activité prometteuse *in vivo*. Bien que son efficacité sur la croissance tumorale dans des modèles murins soit limitée, ARD-69 a conduit au développement de dérivés comme ARD-266 (Figure 23), qui a démontré une efficacité comparable (DC50 de 0,2–1 nM, >95 % élimination AR) malgré une affinité réduite pour VHL, suggérant que l'interaction avec l'E3 peut être optimisée sans compromettre l'activité des PROTACs. (61) (62)

En 2021, ARD-2585 (Figure 23), dépendant de CRBN et biodisponible par voie orale a démontré une efficacité supérieure à celle de l'enzalutamide dans des modèles murins de tumeurs, inhibant la croissance tumorale de manière significative avec une réduction allant jusqu'à 74,3 % à une dose de 40 mg/kg. De plus, ARD-2585 n'a montré aucun signe de toxicité chez les souris et présente une biodisponibilité orale de 51 %, ce qui en fait une approche pratique et innovante pour le traitement des cancers hormonodépendants. (63)

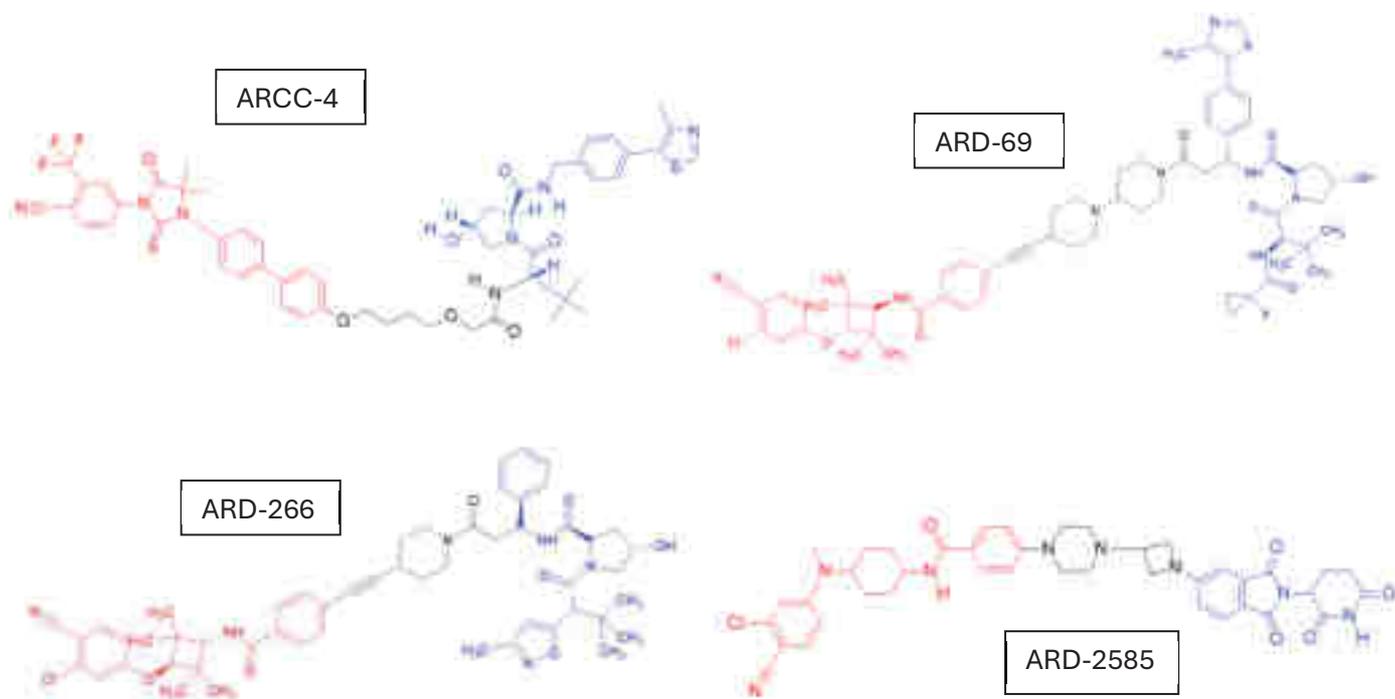


Figure 23 : Évolution des PROTACs ciblant le récepteur aux androgènes : de l'ARCC4 à l'ARD-2585

L'ARV-110 (Figure 24) développé par Arvinas Biopharmaceuticals est un PROTAC administrable par voie orale conçu pour cibler le récepteur des androgènes dans le cancer de la prostate résistant à la castration (CRPC) métastatique. En recrutant la ligase E3 CRBN, il facilite l'ubiquitination et la dégradation de l'AR, en ciblant particulièrement des formes mutées du récepteur insensible aux inhibiteurs classiques. Premier PROTAC à atteindre les essais cliniques, il est actuellement en phase I/II depuis mars 2019 (NCT03888612), marquant une étape décisive pour cette technologie en oncologie. (64) Il porte le nom de Bavdegalutamide.

Les études précliniques ont montré une efficacité impressionnante de l'ARV-110, avec une DC50 inférieure à 1 nM et une Dmax dépassant 95 % dans des modèles *in vivo*. Des analyses protéomiques ont confirmé une forte sélectivité pour l'AR dans les lignées cellulaires sans effet significatif sur d'autres protéines. L'ARV-110 inhibe efficacement (70–100 %) la prolifération des cellules dépendantes de l'AR, supprime l'expression de gènes régulés par l'AR et induit l'apoptose. Il a également démontré une

activité robuste contre des mutations cliniquement pertinentes de l'AR et conserve son efficacité en présence de niveaux élevés d'androgènes. (47) (65)

Les essais cliniques de phase I ont révélé une activité antitumorale prometteuse, notamment chez des patients présentant des mutations spécifiques ou une amplification de l'AR. Cependant, des défis pharmacocinétiques et des effets indésirables, comme des élévations hépatiques de grade 3/4, ont été observés. Ces effets ont été liés à une interaction médicamenteuse avec la rosuvastatine. En progression vers la phase III, l'ARV-110 continue de faire l'objet d'évaluations approfondies pour confirmer son efficacité et affiner son profil de sécurité. (47) (65)

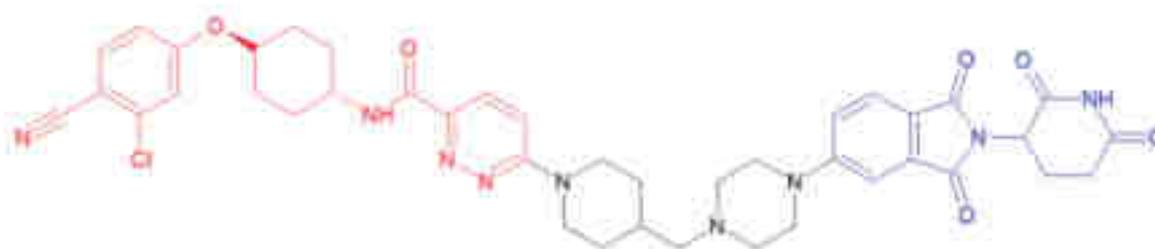


Figure 24 : Structure chimique d'ARV-110 : PROTAC ciblant le récepteur aux androgènes

Les PROTACs ciblant le récepteur aux androgènes ont prouvé leur capacité à contourner les résistances aux traitements traditionnels du cancer de la prostate. Encouragés par ces résultats prometteurs, des stratégies similaires ont été étendues à d'autres récepteurs hormonaux, notamment dans le cancer du sein, où les PROTACs ont montré une efficacité notable dans la dégradation ciblée du récepteur des œstrogènes.

## 2) Cancer du sein

Les récepteurs des œstrogènes (ER) sont des récepteurs hormonaux nucléaires composés de 475 à 600 acides aminés. Ils jouent un rôle essentiel dans la régulation de la transcription des gènes impliqués dans la reproduction et diverses fonctions physiologiques. Environ 78 % des cancers du sein diagnostiqués sont positifs pour le ER (ER+), leur croissance étant généralement stimulée par l'activation de ce récepteur sous l'effet des œstrogènes. (9,66)

Le traitement standard du cancer du sein ER+ repose sur plusieurs catégories de médicaments. Les inhibiteurs de l'aromatase, tels que l'anastrozole, le létrozole et l'exémestane, agissent en réduisant la production d'œstrogènes. En parallèle, les antagonistes des récepteurs aux œstrogènes comme le fulvestrant, bloquent directement l'action de ces récepteurs, en particulier le récepteur ER $\alpha$ . Les

modulateurs sélectifs du récepteur aux œstrogènes (SERMs) dont le tamoxifène et le raloxifène influencent quant à eux l'activité de ce récepteur de manière plus modérée. De plus, les inhibiteurs de CDK4/6 tels que le palbociclib, le ribociclib et l'abémaciclib, agissent sur le cycle cellulaire pour freiner la prolifération des cellules. (66)

Cependant, la résistance aux traitements anti-œstrogènes constitue un défi majeur dans la prise en charge des cancers ER+. Cette résistance peut découler de plusieurs mécanismes, notamment la perte d'expression du ER (conversion en ER-), des mutations dans le gène codant le récepteur, des altérations des régulateurs transcriptionnels, ou encore la compensation par des voies de signalisation alternatives. Parmi les options actuelles, le fulvestrant, un dégradateur sélectif du ER (SERD), offre une avancée significative par rapport aux modulateurs sélectifs. Ce traitement agit en modifiant la conformation du ER en perturbant sa localisation nucléaire et en empêchant la formation d'homodimères ce qui entraîne sa dégradation. Malgré ses avantages, le fulvestrant présente des limites notamment une administration par voie parentérale et une efficacité limitée contre certaines mutations du ER. (66)

En 2011, *Itoh et al.* (67) ont conçu un PROTAC (*Figure 25*), ciblant le récepteur des œstrogènes et reposant sur la ligase E3 cIAP1. Ce composé associe l'agoniste estrone à un ligand de cIAP1 via un linker PEG-amide. Le PROTAC a démontré une efficacité remarquable avec une dégradation presque complète du RE (90-95%) après 24 heures de traitement à une concentration de 30  $\mu$ M dans les cellules MCF-7. Par ailleurs, d'autres dégradeurs ER dépendants de cIAP1, ont été rapportés, utilisant l'hydroxytamoxifène comme ligand de ciblage à la place de l'estrone. (9,67)

En 2019, *Hu et al.* (60) ont développé ERD-308 (*Figure 25*), dépendant de la ligase E3 VHL. Ce composé utilise un dérivé du raloxifène comme ligand de ciblage des ER. L'optimisation de la longueur du linker entre six et neuf carbones, ainsi que l'ajout d'une fonction éther, ont significativement amélioré son efficacité. ERD-308 a montré une dégradation de l'ER $\alpha$  supérieure à 95 % à des concentrations inférieures à 5 nM dans les lignées cellulaires MCF-7 et T47D. (8) (70)

La même année, *Peng et al.* (71) ont conçu un PROTAC (*Figure 25*), ciblant ERR $\alpha$  (Estrogen receptor-Related Receptor alpha), un récepteur nucléaire ayant une forte identité de séquence avec ER $\alpha$ , en associant un ligand VHL à un fragment modifié de XCT790, un agoniste inverse puissant étudié du récepteur ERR $\alpha$ . (72) Ce composé a permis une dégradation efficace d'ERR $\alpha$  dans les cellules modèles du cancer du sein, MDA-MB-231. En plus de sa capacité à dégrader ERR $\alpha$ , ce PROTAC a réduit l'expression de gènes en aval impliqués dans le métabolisme énergétique. (9,71)

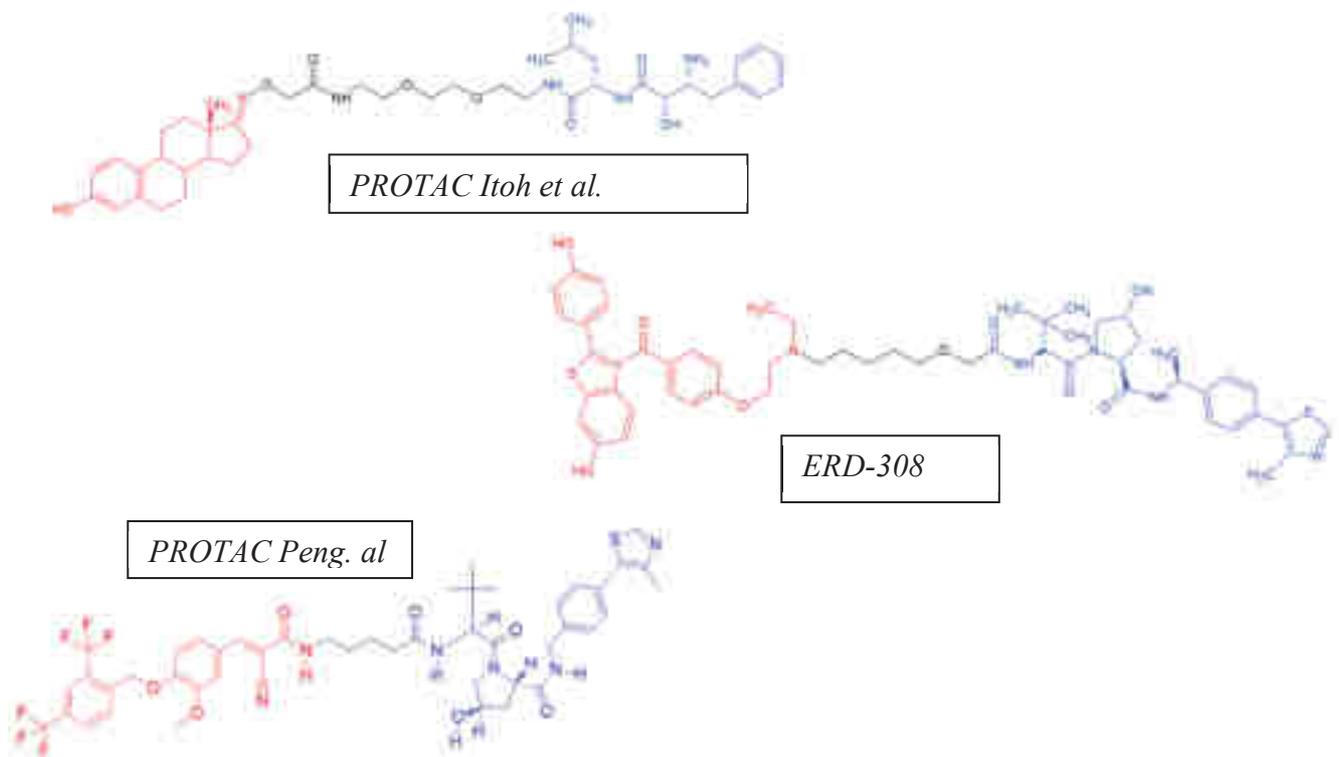


Figure 25 : Structures de PROTACs ciblant les récepteurs des œstrogènes

L'ARV-471 (Figure 26) développé par Arvinas Biopharmaceuticals est un PROTAC administrable par voie orale conçu pour cibler les récepteurs des œstrogènes. Actuellement dans plusieurs essais cliniques de phase III (NCT04072952) portant le nom de vepdegestrant, est évalué en monothérapie ou en combinaison avec l'inhibiteur de CDK4/6 palbociclib pour le traitement des cancers du sein métastatiques ER+/HER2-. Structuré de manière similaire à l'ARV-110, un PROTAC destiné au traitement du cancer de la prostate, l'ARV-471 associe un ligand ER à un ligand de recrutement de CRBN via un linker azahétérocyclique. (9,73)

Les études précliniques ont révélé une efficacité prometteuse de l'ARV-471, avec une DC50 de 0,9 nM et une Dmax de 95 % dans les cellules MCF7 ER+ après 72 heures de traitement. Cette molécule réduit de manière significative l'expression des gènes régulés par l'ER et inhibe la prolifération des cellules dépendantes du récepteur. Dans des modèles de xénogreffes dérivés de patientes atteintes de cancer du sein, l'ARV-471 a montré une activité antitumorale notable lorsqu'il est administré à une dose orale de 10 mg/kg avec une inhibition de 98% de la croissance tumorale. (9,73)

En comparaison, le fulvestrant a montré une inhibition de la croissance tumorale de seulement 62 %. Les essais cliniques de l'ARV-471 ont révélé un taux de bénéfice clinique de 42 % tout en étant bien toléré sans effets indésirables de grade 3 ou plus signalés. (9,73)

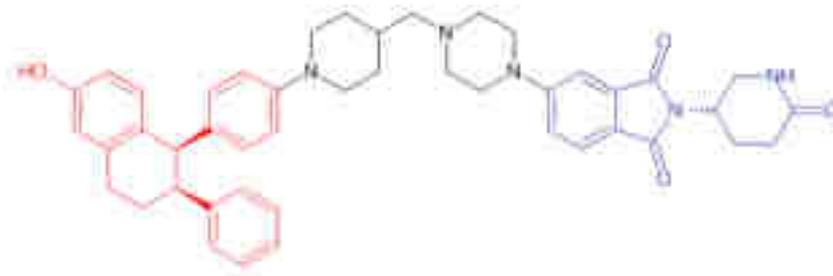


Figure 26 : Structure chimique de l'ARV-471 : PROTAC ciblant les récepteurs des œstrogènes

Après avoir étudié l'application des PROTACs dans les cancers hormonodépendants, il est également intéressant de noter leur potentiel dans le traitement des cancers hématologiques, où ils ont montré une capacité à cibler des protéines cruciales telles que la BTK et la ALK.

### 3) Autres cibles

#### a) BTK

La BTK est une enzyme composée de 659 acides aminés principalement exprimée dans les cellules dérivées de la moelle osseuse notamment les cellules B. Elle joue un rôle central dans les malignités hématologiques en soutenant la croissance et la survie des cellules B. Bien que BTK soit initialement sous une forme cytosolique, son activation est déclenchée par l'enrichissement en phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3) lors de l'activation du récepteur des cellules B (BCR). Une fois recrutée à la membrane, BTK s'active par homodimérisation et autophosphorylation. (74)

En aval, BTK active des voies oncogènes essentielles notamment PLC $\gamma$ 2, MAPK, NF- $\kappa$ B et l'axe AKT/mTOR, établissant un lien crucial entre le BCR et ces mécanismes de signalisation. Actuellement, des inhibiteurs tels que l'ibrutinib, l'acalabrutinib et le zanubrutinib sont approuvés pour le traitement des lymphomes à cellules B. Cependant, l'apparition de résistances en particulier la mutation C481S de BTK, réduit considérablement l'efficacité de ces inhibiteurs. (75)

En 2018, Sun *et al.* ont introduit P13I, un PROTAC ciblant BTK (Figure 27). Cette molécule combine l'ibrutinib comme ligand de ciblage et un ligand pomalidomide de CRBN reliés par un linker PEG. P13I a montré une dégradation efficace de BTK, avec une DC50 de 9,2 nM dans des lignées cellulaires de lymphome à cellules B atteignant 89 % de dégradation à 100 nM après 24 heures, y compris le mutant cliniquement pertinent C481S avec une dégradation de 73 % à 10 nM. Aucune dégradation hors cible ni inhibition significative d'autres kinases telles que ITK, EGFR n'a été observée même à des concentrations supérieures à 1000 nM. (9,76)

Après 2018, des efforts significatifs d'optimisation ont permis des avancées notables dans le développement des PROTACs ciblant BTK. Par exemple, le PROTAC *L18I* mis au point par *Sun et al* (77) en 2019 constitue une version optimisée du PROTAC P13I, en supprimant le groupement amine et carbonyle sur le ligand E3 pomalidomide offrant une meilleure solubilité, et une efficacité accrue *in vivo*, avec une DC50 dans la gamme du nanomolaire. (77)

De son côté, le PROTAC *MT-802* conçu par *Buhimschi et al.* (78) en 2019 intègre une liaison optimisée avec CRBN via la fixation du linker au phtalimide du ligand recruteur en position C5 au lieu de C4 par rapport eu P13I. Celle-ci améliore la sélectivité favorisant la formation d'un complexe ternaire plus stable avec BTK. Cette optimisation structurelle permet une dégradation ciblée plus efficace de BTK tout en limitant l'inhibition d'autres kinases comme ITK et JAK3, même à des concentrations supérieures à 1  $\mu\text{M}$ . (78)

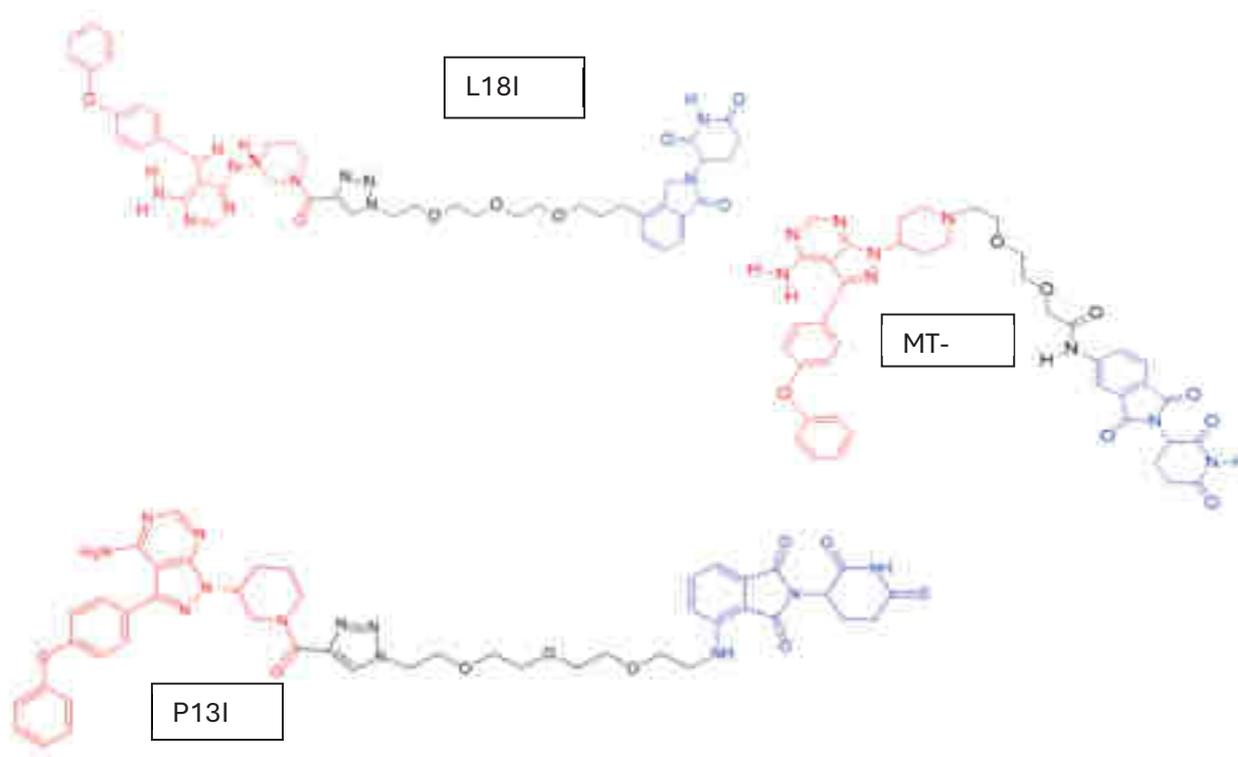


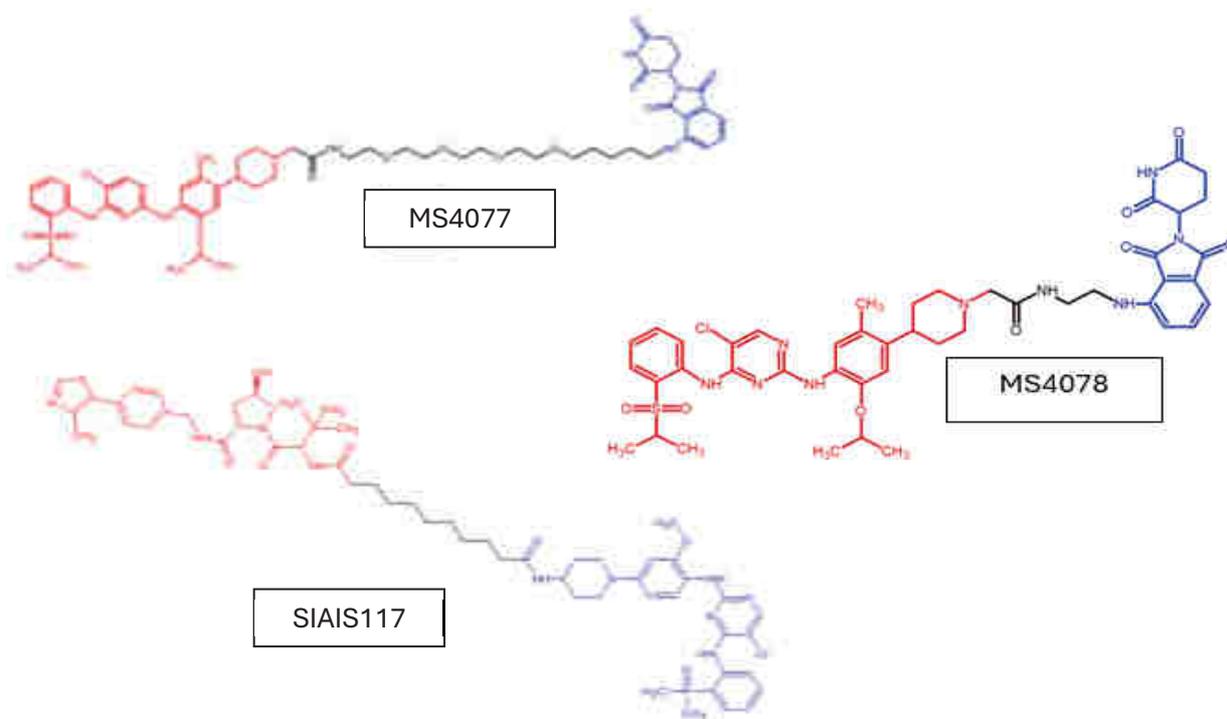
Figure 27 : Structure chimique de P13I : PROTAC ciblant BTK

### b) ALK

L'ALK est un récepteur tyrosine kinase impliqué dans plusieurs cancers tels que le lymphome anaplasique à grandes cellules, le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) et le neuroblastome. Ce récepteur est activé par des ligands comme la pléiotrophine et la midkine, qui induisent une homodimérisation suivie d'une signalisation via des voies oncogéniques telles que PI3K-Akt-mTOR, JAK-STAT et MAPK. Pour traiter les tumeurs ALK-positives, des inhibiteurs de kinase tels que

l'alectinib, le brigatinib et le lorlatinib sont couramment utilisés. Toutefois, leur efficacité est limitée par des résistances adaptatives notamment des mutations ponctuelles dans le domaine kinase d'ALK comme G1202R, qui diminuent leur activité inhibitrice. (3)

En 2018, *Zhang et al.* ont développé MS4077 et MS4078 (*Figure 28*) deux PROTACs basés sur le cériatinib comme ligand pour ALK et pomalidomide comme ligand de CRBN ligase E3. Ces composés intégrant des linkers à base de PEG et d'acetamide ont montré des DC50 de 3 nM et 11 nM dans des lignées cellulaires porteuses de fusion ALK, telles que NPM-ALK et EML4-ALK. Lorsqu'ils sont administrés à 100 nM, ils induisent une dégradation de plus de 90 % de la protéine ALK après 16 heures de traitement. (9,79)



*Figure 28 : Structures de PROTACs ciblant ALK : MS4077, MS4078 et SIAIS117*

Depuis, plusieurs PROTACs ciblant ALK ont été développés illustrant des progrès notables dans ce domaine. Un PROTAC (TD-004) conçu *par Kang et al.* (80) en 2018 à partir du cériatinib comme MS4077 et MS4078, à la différence qu'il est composé d'un ligand E3 pour VHL, qui pourrait apporter une meilleure stabilité. Il possède également un linker alkyle avec une fixation amide du linker sur l'azote pipéridinyle du cériatinib pouvant octroyant plus de stabilité. Par suite, il a montré une activité prometteuse *in vivo* (DC50 nanomolaire) a inhibé la croissance tumorale de 96 % sur une période de 30 jours dans un modèle murin xénotransplanté, à une dose intrapéritonéale quotidienne de 58 mg/kg/jour. (9,80)

En 2020, *Sun et al.* (81) ont introduit *SLAIS117* (*Figure 28*) un PROTAC qui utilise du brigatinib modifié par le retrait de l'anneau pipérazine terminal et l'ajout d'une chaîne alkyle diamidique de neuf carbones, qui est efficace (DC50 de 7,0 nM) contre des mutants résistants tels qu'EML4-ALK G1202R. (9,81)

### c) KRAS

KRAS est une GTPase clé impliquée dans la transmission des signaux des récepteurs membranaires via les voies RAS/MAPK et joue un rôle crucial dans la prolifération et la survie des cellules. Les mutations de KRAS sont présentes dans environ 30 % des adénocarcinomes pulmonaires et la mutation G12C représente près de la moitié de ces mutations. KRAS reste difficile à cibler en raison de l'absence de sites de liaison définis de sa forte affinité pour le GTP et de sa concentration élevée dans les cellules. (9)

Cependant des progrès récents ont permis le développement d'inhibiteurs sélectifs pour la mutation KRAS G12C comme le sotorasib qui a été approuvé par la FDA en 2021 pour traiter les cancers pulmonaires non à petites cellules avec cette mutation (82). L'adagrasib (MRTX849), un inhibiteur prometteur administré par voie orale, a montré une efficacité clinique en phase 1 avec un profil de sécurité acceptable. Cependant, la phase 3 (KRYSTAL-12) n'a pas abouti à une approbation précoce par la HAS, et des résistances persistent, notamment via des mutations KRAS G12D/R/V/W ou l'amplification de KRAS G12C. (9,83,84)

En 2020 *Zeng et al* (85) ont développé XY-4-88 (*Figure 29*), un PROTAC dépendant de CRBN conçu pour cibler KRAS G12C avec un dérivé d'un inhibiteur covalent à base de quinazoline. Bien que les chercheurs ont démontré l'efficacité de XY-4-88 dans la lignée modèle GFP-KRAS G12C, ce PROTAC n'a pas parvenu ni à ubiquityler ni à dégrader KRAS G12C endogène. Les chercheurs expliquent cet échec par la différence de localisation cellulaire de KRAS G12C endogène et sa fusion à la GFP : tandis que le GFP-KRAS G12C est principalement cytosolique, la forme endogène de KRAS G12C est majoritairement ancrée à la membrane plasmique et aux mitochondries, limitant ainsi son accessibilité à la ligase E3 recrutée par le PROTAC. Cette limitation met en évidence l'importance de la localisation subcellulaire dans l'efficacité des PROTACs ciblant KRAS. (9,85)

*Bond et al* (86) ont élaboré LC-2 un PROTAC dépendant de VHL utilisant l'adagrasib comme ligand pour KRAS G12C (*Figure 29*). Une version initiale avec un linker PEG-amide de 12 atomes a échoué à cause de l'instabilité chimique due à l'hydrolyse rapide, probablement catalysée par des enzymes intracellulaires, non précisé dans l'article. Une version optimisée avec un linker alkoxy de 6 atomes a permis une dégradation efficace de KRAS atteignant un Dmax de 80 % et une DC50 de 590 nM dans des cellules NCI-H2030 exprimant KRAS G12C. La liaison covalente entre l'adagrasib et KRAS G12C

limite l'effet catalytique du PROTAC, empêchant la dégradation répétée de la protéine cible. Cette contrainte restreint l'efficacité globale de LC-2, nécessitant des optimisations pour améliorer son potentiel thérapeutique (9) (86)

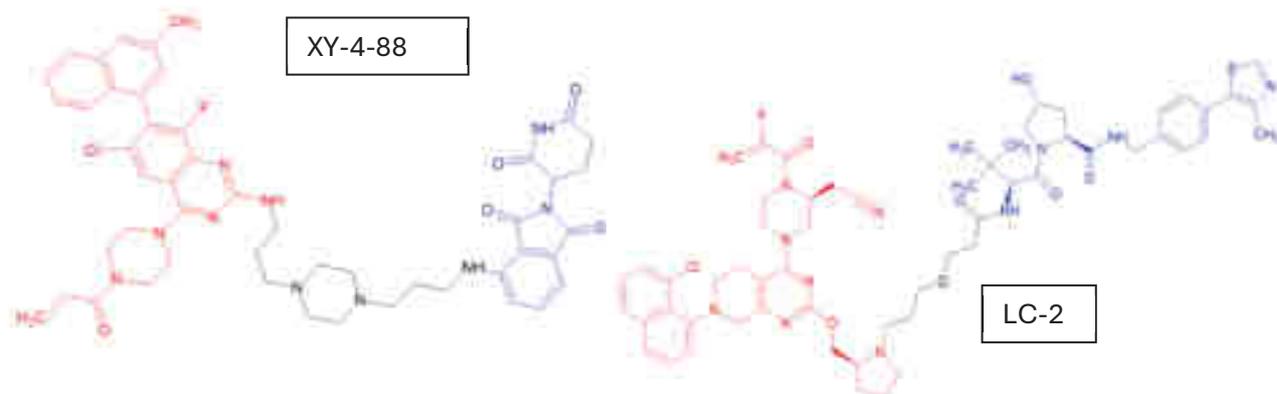


Figure 29 : Structures des PROTACs XY-4-88 et LC-2 pour la dégradation ciblée de KRAS G12C

#### d) CDK9

Le CDK9, une kinase sérine/thréonine impliquée dans la régulation de la transcription, joue un rôle clé dans la reprise de l'élongation par l'ARN polymérase II via la phosphorylation de facteurs spécifiques. Une activité accrue de CDK9 est liée à l'expression continue des oncogènes MCL-1 et c-myc, contribuant au développement de divers cancers hématologiques et solides.

Bien qu'aucun inhibiteur spécifique de CDK9 ne soit encore approuvé, plusieurs PROTACs dépendants de CRBN ont été développés pour cibler sélectivement cette kinase. En 2021, *King et al.* (88) ont rapporté le PROTAC 2 (*Figure 30*), un dégradateur dépendant de CRBN, intégrant un ligand aminopyrazole pour la protéine cible. L'optimisation a impliqué l'allongement du linker, l'ajout d'un carboxyamide, ainsi que le remplacement de l'isoindoline liée à l'éther par le pomalidomide améliorant ainsi son efficacité. Ceci permet d'atteindre une DC50 de 158 nM et montrant une synergie avec le venetoclax pour surmonter les résistances liées à MCL-1. En viabilité cellulaire, l'association du PROTAC 2 et du venetoclax a réduit la croissance tumorale de plus de 80 % dans des modèles cellulaires MIA PaCa-2 dépendants de CDK9. (9,88)

La même année, BO3 (89) (*Figure 30*), conçu avec une chaîne alkyle amidique reliant le pomalidomide à son ligand cible a démontré une dégradation complète de CDK9 en 6 heures à une concentration de 500 nM et une réduction de 50 % des niveaux tumoraux de CDK9 une seule administration intraveineuse de 5 mg/kg dans un modèle murin de xéno greffe. Ces avancées illustrent le potentiel des PROTACs

pour cibler spécifiquement CDK9, offrant des perspectives prometteuses pour traiter des cancers dépendants de cette kinase. (9,89)

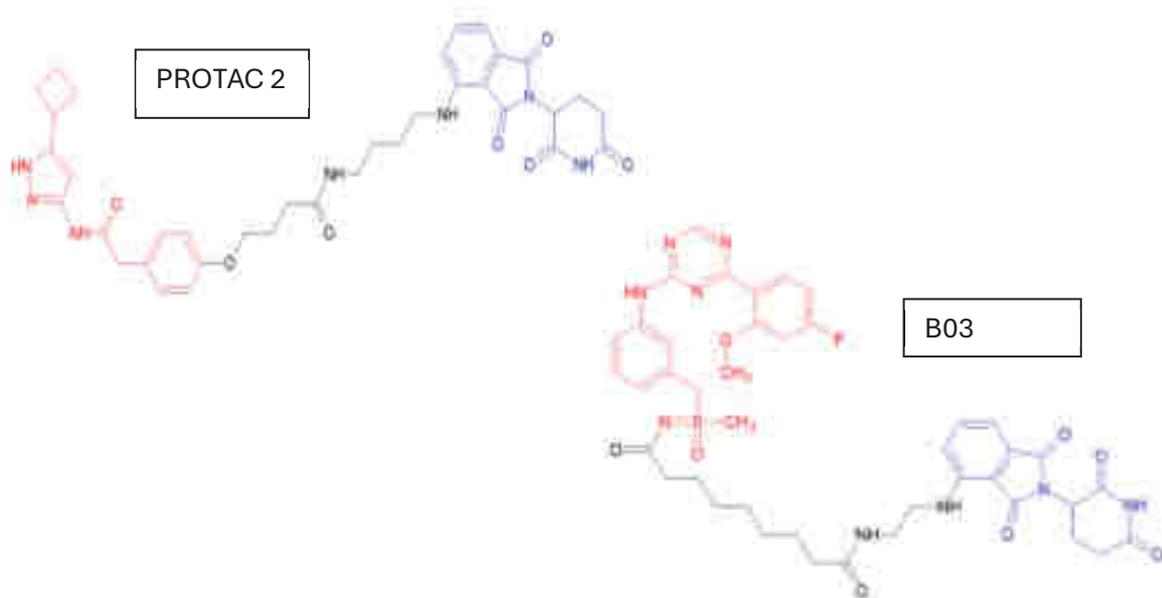


Figure 30 : Structures des PROTACs ciblant CDK9 : PROTAC 2 et B03

#### e) BCR-ABL

La protéine de fusion BCR-ABL issue de la translocation chromosomique entre les chromosomes 9 et 22 (chromosome de Philadelphie) est une cible thérapeutique cruciale dans la leucémie myéloïde chronique (LMC). Cette translocation génère une activation permanente de la kinase BCR-ABL stimulant des voies oncogéniques majeures telles que MAPK, PI3K-AKT. Bien que divers inhibiteurs de BCR-ABL comme l'imatinib, le dasatinib, le nilotinib, le ponatinib et l'asciminib, aient été approuvés pour traiter cette maladie, leur efficacité peut être compromise par l'émergence de résistances. Parmi les mutations associées, la mutation T315I est particulièrement problématique en raison de sa capacité à réduire l'activité de ces inhibiteurs. Pour pallier ces limitations, des PROTACs ciblant directement BCR-ABL ont été développés. (9)

En 2020, *Yang et al.* (90) ont conçu un PROTAC (P22D1) (*Figure 31*) basés sur ponatinib CRBN intégrant un linker triazole et des modifications visant la mutation T315I. Parmi ces deux composés, P22D1 s'est révélé efficace contre BCR-ABL T315I dans des cellules recombinantes (DC50 de 1  $\mu$ M). (90)

Enfin, *Liu et al.* (91) ont présenté SIAIS056 (*Figure 31*), un PROTAC basé sur le dasatinib et doté d'un linker éthyle court pour recruter CRBN. Ce composé a montré une efficacité supérieure au dasatinib (DC50 en nanomolaire) entraînant une régression tumorale complète à une dose de 10 mg/kg/jour

administrée par voie intrapéritonéale chez des souris xéno greffes. Cependant, SIAIS056 n'a pas démontré d'efficacité contre la mutation T315I. (9,91)

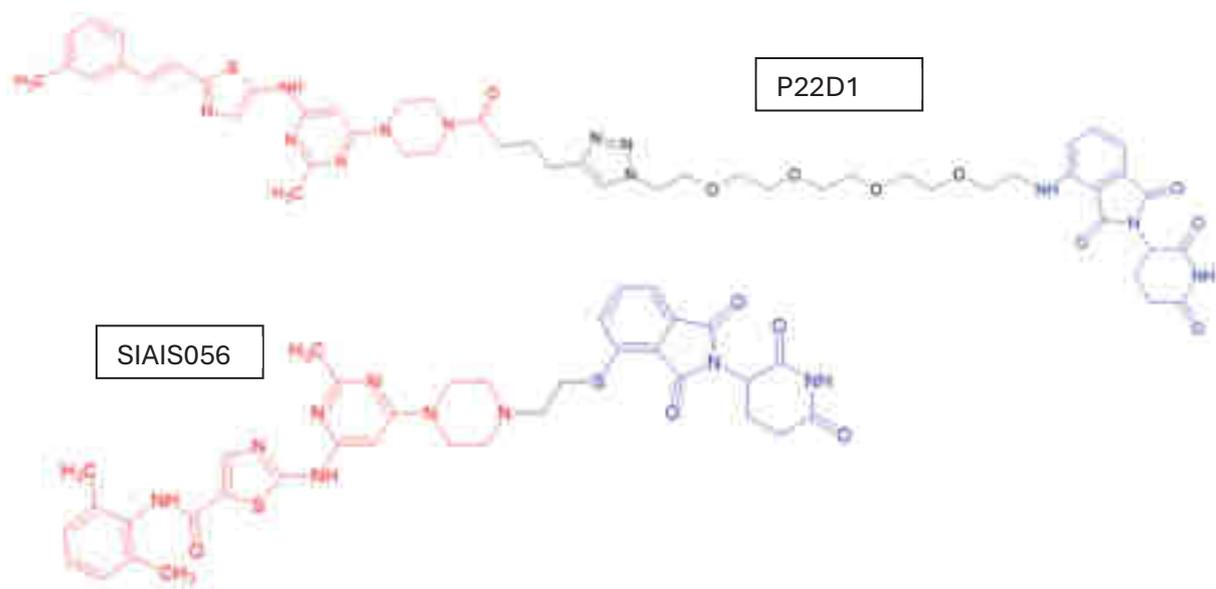


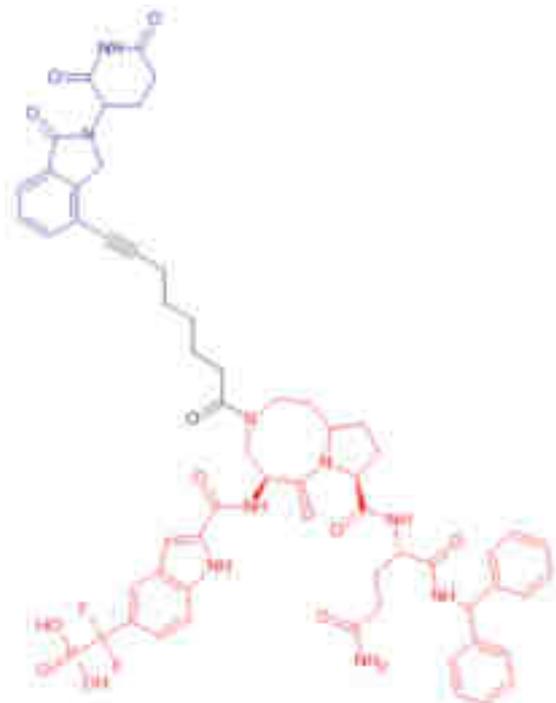
Figure 31 : Structures de PROTACs ciblant BCR-ABL : P22D1 et SIAIS056

#### f) STAT3

STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) est un facteur de transcription dans de nombreux processus oncogéniques notamment la prolifération cellulaire, la résistance à l'apoptose, l'angiogenèse. Son activation repose sur la phosphorylation du résidu Y705 médié par des récepteurs tyrosine kinases tels que EGFR, PDGFR, JAK. Cette phosphorylation permet la dimérisation de STAT3 via des interactions entre son domaine SH2 et son domaine de transactivation (TAD) conduisant à son importation nucléaire où il agit sur les promoteurs et amplificateurs de gènes. (9)

Les thérapies traditionnelles visant STAT3 ciblent principalement le domaine SH2 pour inhiber sa dimérisation. En 2019, Bai *et al.* (92) ont développé SD-36 (Figure 32), un PROTAC dépendant de CRBN conçu pour dégrader STAT3. Structuré autour d'un linker carboné à huit atomes, ce dégradateur présente une sélectivité remarquable avec une affinité 20 fois supérieure pour STAT3 par rapport à STAT1 ou STAT5, et aucun effet détectable sur d'autres protéines. Dans des lignées cellulaires de leucémie myéloïde aiguë et de lymphome anaplasique à grandes cellules, SD-36 a dégradé 50 à 90 % de STAT3 à une concentration de 250 nM restant efficace contre les mutations D661Y, K658R et Y705F.

De manière notable, il n'a pas montré de "hook effect" à des concentrations inférieures à 10 nM. *In vivo*, une administration intermittente à une dose de 50–100 mg/kg par injection intraveineuse a conduit à une régression tumorale complète dans des modèles murins de xéno greffes. (9) (92)



*Figure 32 : Structure chimique de SD-36 : PROTAC ciblant STAT3*

Nous avons présenté un aperçu des cibles potentielles pour les PROTACs. Cependant, il existe un nombre bien plus vaste de cibles qui ne peuvent être toutes abordées dans cette thèse. Parmi celles-ci, citons FLT3 (Fms-like tyrosine kinase 3), impliquée dans la leucémie aiguë myéloïde, BRD4, un régulateur épigénétique clé, FAK, essentielle à la migration et à l'adhésion cellulaires, et PARP (Poly (ADP-ribose) polymerase), cruciale dans la réparation de l'ADN dans les cancers.

Au-delà des pathologies cancéreuses, les PROTACs offrent également des perspectives prometteuses dans d'autres domaines thérapeutiques, comme nous le verrons dans la section suivante.

## **IV. APPLICATION EN DEHORS DE L'ONCOLOGIE**

### **1) Maladies neurodégénératives**

Les maladies neurodégénératives (MND) telles que la maladie d'Alzheimer, de Parkinson et de Huntington figure parmi les principales causes de mortalité mondiale aggravées par le vieillissement de la population. Ces pathologies complexes liées à l'accumulation de protéines aberrantes comme les protéines tau, l' $\alpha$ -synucléine ou la huntingtine mutée, restent difficiles à traiter efficacement avec les approches traditionnelles basées sur des inhibiteurs à petites molécules souvent limitées par des résistances et des effets secondaires.

#### **a) Maladie d'Alzheimer**

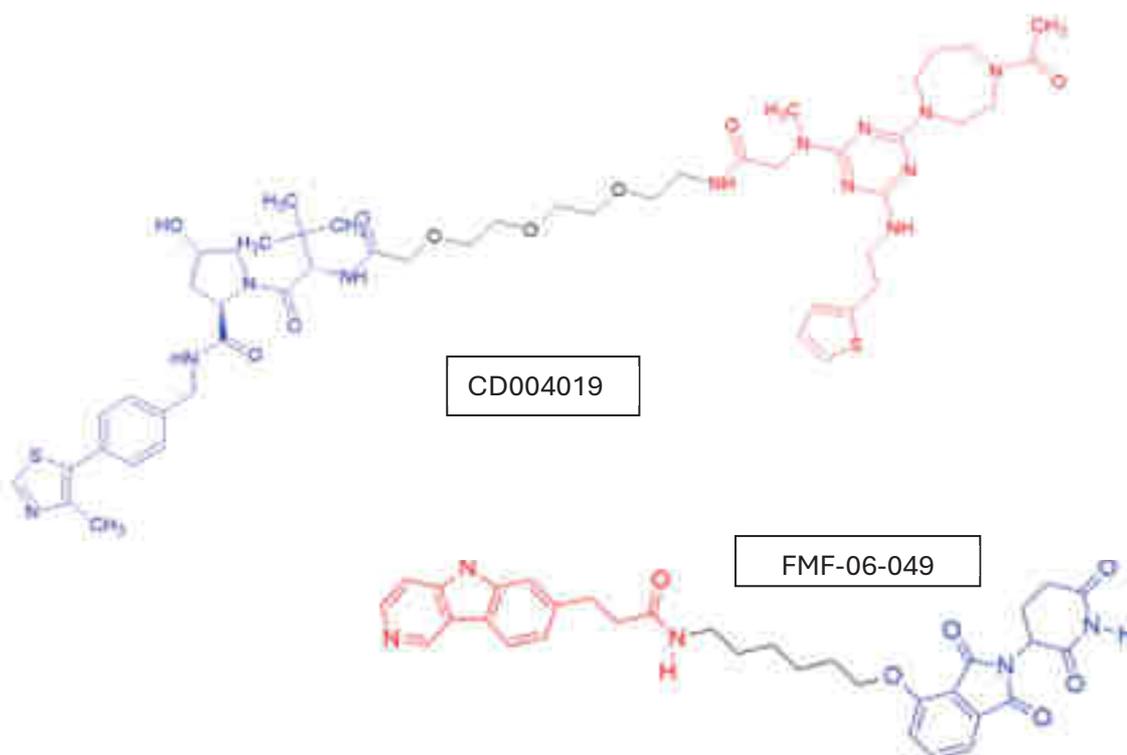
La maladie d'Alzheimer, principale forme de démence touche plus de 50 millions de personnes dans le monde, un chiffre en constante augmentation avec le vieillissement de la population posant un défi majeur pour les systèmes de santé. Elle se manifeste par une détérioration progressive de la mémoire et des fonctions cognitives créant un lourd fardeau pour les patients et leurs proches. (94)

Des recherches récentes ont mis en lumière plusieurs mécanismes clés de la maladie notamment l'accumulation de plaques amyloïdes ( $A\beta$ ), la phosphorylation anormale de la protéine tau, et la dégénérescence des neurones cholinergiques. Actuellement, les traitements comme les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase n'offrent qu'un soulagement temporaire des symptômes sans ralentir la progression de la maladie. (94) La protéine tau, qui joue un rôle essentiel dans la stabilité des microtubules neuronaux devient toxique lorsqu'elle est anormalement phosphorylée ce qui conduit à la formation d'agrégats. Les PROTACs, capables de cibler et de dégrader sélectivement ces protéines pathologiques, représentent une approche innovante pour ralentir la progression de la maladie en éliminant ces agrégats neurotoxiques. (94)

*Wang et al.* (95) ont développé le PROTAC C004019 (*Figure 33*) basé sur une triazine qui combine un ligand spécifique de tau et un autre contre la ligase VHL. Avec un poids moléculaire de 1035 Da, ce composé a été testé à des concentrations allant jusqu'à 100  $\mu$ M sur des lignées cellulaires HEK293 sans provoquer de cytotoxicité notable. Une efficacité a été observée avec une valeur de DC50 d'environ 5 nM. À des concentrations aussi faibles que 0,01  $\mu$ M une réduction significative des niveaux de tau totale et phosphorylée a été constatée. Ce PROTAC cible spécifiquement les protéines tau pathologiques, tout en n'affectant ni l'ARNm ni d'autres protéines associées comme la Microtubule-Associated Protein (MAP). De plus, la dégradation a été inhibée en présence de MG132, un inhibiteur du protéasome, ce qui confirme que le processus dépend du protéasome. (91) (95)

Le PROTAC C004019 a prouvé sa flexibilité dans les différentes méthodes d'administration, entraînant une réduction marquée des niveaux de tau pathologique. Chez la souris, une perfusion intracérébroventriculaire unique de 5  $\mu$ L à 200  $\mu$ M a permis de diminuer rapidement les niveaux de tau dans l'hippocampe et le cortex avec des effets notables observés entre 24 et 48 heures. Par injection sous-cutanée (3 mg/kg administré toutes les six journées) il a réduit les niveaux de tau soluble et insoluble dans le cerveau tout en améliorant les fonctions synaptiques et cognitives des souris. (91) (95)

FMF-06-049 (97), (*Figure 33*) est un PROTAC exploitant le recrutement de la ligase CRBN. Il est composé d'un dérivé de flortaucipir pour cibler spécifiquement les protéines tau pathologiques et d'un ligand CRBN thalidomide liés par un linker de six carbones. Les études ont révélé que FMF-06-049 est capable de dégrader complètement les formes insolubles de tau à des concentrations in cellulo allant de 10 à 100 nM. De plus, il a été testé dans des modèles neuronaux spécifiques (lignées cellulaire A152T et P301L) où il a réduit efficacement les formes pathologiques de tau tout en offrant un effet neuroprotecteur notable. Le composé a montré un impact minimal sur la viabilité neuronale jusqu'à des concentrations de 100  $\mu$ M, confirmant ainsi sa faible toxicité dans ces modèles neuronaux. (94,97)



*Figure 33 : Structures des PROTACs C004019 et FMF-06-049 pour le ciblage et la dégradation des protéines tau pathologiques dans la maladie d'Alzheimer*

### **b) Maladie de Parkinson**

La maladie de Parkinson (MP) est caractérisée par des symptômes moteurs (tremblements, la rigidité musculaire et la bradykinésie). Cette pathologie touche des personnes de plus de 65 ans avec une

incidence accrue et aggraver avec l'âge. Des facteurs génétiques notamment des mutations du gène de la leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) sont souvent associé. La perte de neurones dopaminergiques dans la substantia nigra et l'accumulation anormale d' $\alpha$ -synucléine dans des structures appelées corps de Lewy sont des caractéristiques clés. L' $\alpha$ -synucléine joue un rôle dans la stabilisation des neurones mais sa surexpression sous forme mutée peut réduire la sécrétion de dopamine dans le striatum contribuant aux troubles moteurs caractéristiques de la MP. Par ailleurs, la mutation G2019S de LRRK2 intensifie l'activité de phosphorylation déclenchant des voies de signalisation responsables de la mort neuronale. Actuellement, les traitements disponibles ne font qu'atténuer les symptômes sans stopper la progression de la maladie. (94)

*Pang et al.* (98) ont conçu un PROTAC visant les agrégats d' $\alpha$ -synucléine en utilisant un ligand dérivé du diphénylpyrazole. Ils ont utilisé trois unités de PEG comme linker et ont sélectionné la pomalidomide comme ligand pour CRBN E3. Le composé 17 a permis une dégradation de 89 % du niveau d' $\alpha$ -synucléine in cellulo, avec une DC50 à 7,51  $\mu$ M. Unique, ce PROTAC exploite simultanément les voies protéasomale et lysosomales pour éliminer efficacement les agrégats, un phénomène attribué à son ligand diphénylpyrazole ciblant l' $\alpha$ -synucléine, son linker PEG, et sa localisation subcellulaire, comme le confirment les inhibitions observées avec MG132 (inhibiteur du protéasome) et bafilomycine A1 (inhibiteur du lysosome). (99) Dans des modèles animaux tels que *Caenorhabditis elegans*, il améliore la survie neuronale en diminuant les dépôts toxiques. (91) (98) (97)

Le composé XL01126 (101) est un PROTAC qui cible une protéine clé dans la MP, la protéine LRRK2. En effet, la surexpression de LRRK2 améliore l'agrégation de l' $\alpha$ -synucléine dans les corps de Lewy ce qui peut être nocif pour les neurones. Optimisé à partir d'un inhibiteur de LRRK2, passant la barrière hémato encéphalique, en modifiant la morpholine terminale en pipérazine qui le rend compatible avec l'attachement d'un linker. Ils ont utilisé un ligand VHL optimisé pour recruter efficacement l'E3 ligase. XL01126 affiche un DC50 de 14 nM et atteint un taux de dégradation de 90 % dans des fibroblastes embryonnaires de souris LRRK2 muté. Il se distingue également par sa biodisponibilité orale de 15 % et sa capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique permettant une distribution efficace dans les régions profondes du cerveau. (94,101)

Plus récemment, Arvinas ont développé un PROTAC ARV-102 ciblant LRRK2 qui a montré une capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique et à dégrader jusqu'à 90 % de LRRK2 dans des modèles de primates. (102) Actuellement en phase I d'essais cliniques, ARV-102 fait l'objet d'études pour évaluer sa sécurité, sa tolérance, sa pharmacocinétique et sa pharmacodynamique, ainsi que des biomarqueurs exploratoires liés à LRRK2. (94,102)

## 2) PROTACs ciblant les virus

Les PROTACs antiviraux ciblent une protéine virale essentielle à la réplication, l'étiquettent pour la dégradation par le protéasome de la cellule hôte empêchant ainsi le virus de se multiplier. Le télaprévir, un inhibiteur covalent réversible, a été utilisé pour concevoir des dégradeurs PROTAC visant la protéase NS3/4A du virus de l'hépatite C (VHC). (103) Parmi les composés développés le DGY-08-097 (Figure 34) a montré une DC50 de 50 nM et a induit une dégradation de 50 % de la protéase NS3 après seulement 4 heures de traitement dans des cellules infectées. Concernant la réduction des titres viraux DGY-08-097 a présenté une IC50 de 247 nM dans un modèle d'infection cellulaire. Ces résultats soulignent l'efficacité et la spécificité du DGY-08-097 dans des environnements viraux. (103)

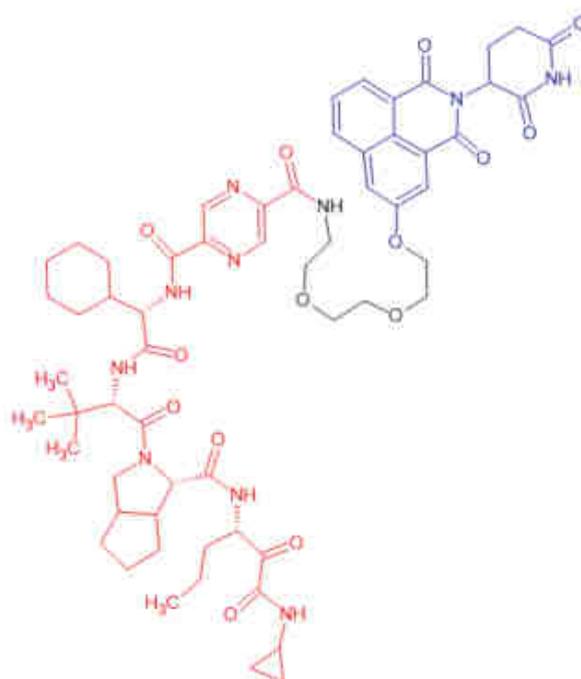


Figure 34 : Structure du PROTAC DGY-08-097 montrant le télaprévir (rouge) ciblant la protéine NS3/4A, le ligand de CRBN (bleu)

## 3) PROTACs ciblant les bactéries

Les BacPROTACs exploitent le système bactérien ClpC/ClpP (composants clés d'un système de protéase bactérien utilisé pour la dégradation des protéines mal repliées ou inutiles, essentiel pour la survie et la régulation de nombreuses bactéries), particulièrement présent dans les bactéries comme *Bacillus subtilis* et *Mycobacterium tuberculosis*. (104)

Le BacPROTAC-3 est une molécule combinant JQ1, un inhibiteur du bromodomaine agissant comme ligand pour la POI. Cette approche permet de cibler spécifiquement les protéines contenant des

bromodomains dans les bactéries ou mycobactéries. BacPROTAC-3 utilise également un ligand sCyM-1 visant ClpC1, une protéine clé du système de dégradation ClpC:ClpP chez *Mycobacterium tuberculosis*. Ainsi, sCyM-1 recrute le système de dégradation bactérien ClpC:ClpP imitant l'action d'un ubiquitine ligase chez les eucaryotes. (104)

Le BacPROTAC-3 présente une Dmax supérieure à 95 % et une DC50 inférieure à 0,5 µM atteignant des niveaux maximaux de dégradation en moins de 6 heures et affichant une grande stabilité (KD d'environ 2 µM). Grâce à ces caractéristiques, BacPROTAC-3 réduit la viabilité bactérienne de plus de 90 % à des concentrations inférieures à 1 µM. BacPROTAC-3 a aussi réduit la viabilité bactérienne de plus de 90 % à des concentrations inférieures à 1 mM, faisant de lui un outil prometteur dans la lutte contre les infections bactériennes multi-résistantes et ouvrant la voie à des applications cliniques novatrices. (104)

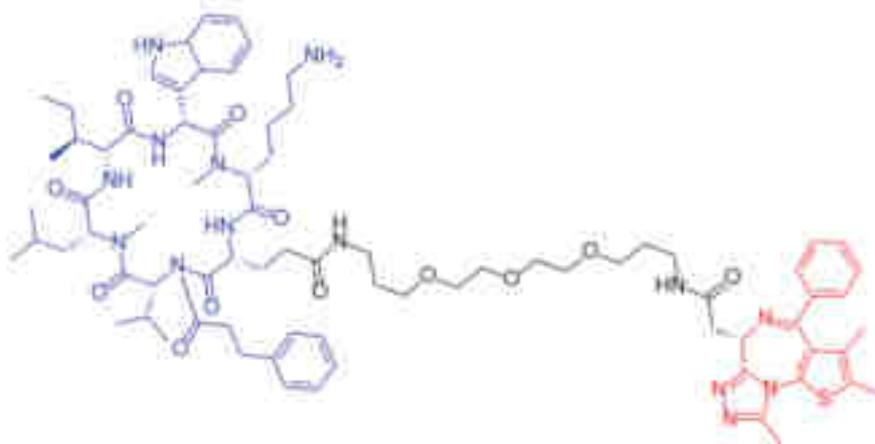


Figure 35 : Structure du BacPROTAC3 (sCyM1 en bleu, JQ1 en rouge)

#### 4) PROTACs anti-inflammatoire

Dans une étude récente, *Chen et al.* (105) ont extrait plusieurs nouveaux diterpénoïdes lathyranes de *Euphorbia lathyris* et ont démontré leur activité anti-inflammatoire. Pour mieux comprendre les cibles et le mécanisme de cette activité, ils ont conçu et synthétisé une molécule PROTAC appelée ZCY-PROTAC en utilisant le diterpénoïde le plus actif ZCY-001 comme ligand. Ce PROTAC a montré une IC50 de 8,34 µmol/L illustrant son efficacité biologique. En combinant la technologie PROTAC avec la protéomique quantitative les chercheurs ont identifié Musculoaponeurotic Fibrosarcoma F gene (MAFF) comme cible potentielle des diterpénoïdes lathyranes. Il a ensuite été confirmé que le composé agit sur la voie MAFF-Nrf2 un mécanisme crucial dans la régulation des processus inflammatoires. En ciblant MAFF, ZCY001 influence la voie Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), connue pour son

rôle dans la régulation des gènes antioxydants et anti-inflammatoires, renforçant ainsi son potentiel thérapeutique contre les maladies inflammatoires.(23,105)



Figure 36 : Structure du ZCY-PROTAC basé sur le diterpénoïde ZCY-001 (rouge) ciblant MAFF via la technologie PROTAC pour réguler la voie MAFF-Nrf2

## V. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Le domaine des PROTACs a progressé rapidement notamment pour cibler des protéines autrefois considérées comme "indruggables" telles que les facteurs de transcription, les protéines oncogéniques. Grâce à leur nature bifonctionnelle, les PROTACs exploitent un ligand pour la protéine cible et un autre pour une ligase E3 introduisant ainsi un nouveau paradigme dans la découverte de médicaments. Cette approche basée sur l'événement permet de dégrader entièrement la protéine cible sans nécessiter une liaison à haute affinité aux sites actifs ce qui surmonte une limitation majeure des inhibiteurs traditionnels de petites molécules.

Toutefois, malgré un fort potentiel thérapeutique, la transition clinique des PROTACs rencontre encore plusieurs défis majeurs. Leur poids moléculaire élevé et leur complexité chimique entravent leur solubilité, leur biodisponibilité orale et leur pénétration tissulaire. De plus, la dépendance actuelle aux ligases E3 les plus étudiées, comme CRBN et VHL, limite leur spectre thérapeutique et les expose à des risques de résistance liés à des mutations de ces ligases. Pour élargir les cibles dégradables et contourner ces limitations, des efforts considérables sont menés pour découvrir et valider de nouvelles ligases E3, telles que FEM1B, DCAF16 et KEAP1. L'utilisation du criblage de ligands covalents et la conception guidée par la structure offrent des perspectives prometteuses pour identifier des ligases adaptées à diverses indications pathologiques.

Des avancées récentes cherchent à surmonter ces obstacles. L'intégration de la nanotechnologie a amélioré la solubilité, la stabilité et la spécificité tumorale des PROTACs. Les nano-PROTACs qui utilisent des nanotransporteurs permettent une libération contrôlée du médicament et une meilleure distribution vers les sites tumoraux réduisant ainsi les effets hors cible. De même, les Ab-PROTACs ont montré un potentiel prometteur pour cibler plusieurs protéines simultanément ce qui est particulièrement utile pour traiter des mécanismes pathologiques complexes comme ceux observés dans le cancer. Une autre approche prometteuse repose sur les dual-PROTACs, capables de cibler simultanément deux protéines d'intérêt. Cette stratégie synergique est particulièrement utile dans les cancers où des voies de signalisation parallèles ou des mécanismes de compensation limitent l'efficacité des traitements conventionnels.

Bien que plusieurs PROTACs aient atteint les essais cliniques, leur validation comme agents thérapeutiques repose sur des améliorations pharmacocinétiques et pharmacodynamiques essentielles :

- Optimisation des propriétés pharmacocinétiques : En raison de leur grande taille et de leur structure chimique complexe, les PROTACs ont souvent une faible perméabilité membranaire et une absorption limitée. Des modifications chimiques et l'utilisation de formulations avancées, comme les nanoparticules lipidiques, pourraient améliorer leur biodisponibilité et leur stabilité

- Élargissement du spectre des ligases E3 : L'actuelle dépendance à CRBN et VHL rend les PROTACs vulnérables à la résistance tumorale. Identifier et exploiter de nouvelles ligases E3 permettra de diversifier les applications thérapeutiques et d'améliorer la sélectivité des traitements
- Gestion des résistances : À l'instar des inhibiteurs ciblés, les PROTACs pourraient induire des mécanismes d'échappement tumoral. L'approche multi-cible des dual-PROTACs, ou le développement de PROTACs capables de s'adapter à des mutations, est une piste à explorer pour renforcer leur efficacité à long terme

Si les PROTACs sont actuellement développés en priorité pour l'oncologie, leur potentiel s'étend bien au-delà. Des recherches en cours explorent leur utilisation dans le traitement des maladies neurodégénératives, des troubles auto-immuns et même des infections virales chroniques. En ciblant et en éliminant spécifiquement des protéines impliquées dans ces pathologies, les PROTACs pourraient offrir des solutions thérapeutiques innovantes là où les inhibiteurs traditionnels ont échoué.

L'intégration des technologies génomiques et protéomiques, combinée aux avancées en intelligence artificielle, joue également un rôle clé dans l'optimisation des PROTACs. Le criblage à haut débit et la modélisation computationnelle permettent d'identifier plus rapidement de nouvelles cibles et d'améliorer la conception des PROTACs en optimisant leur sélectivité et leur biodisponibilité

Malgré les défis encore présents, les avancées en nanomédecine, en modélisation moléculaire et dans l'exploration de nouvelles ligases E3 laissent entrevoir un avenir prometteur pour les PROTACs. Avec une collaboration interdisciplinaire accrue et un engagement soutenu envers l'innovation, ces molécules sont bien positionnées pour révolutionner le paysage thérapeutique, non seulement en oncologie, mais aussi dans de nombreuses autres indications. Les prochaines années seront décisives pour confirmer leur efficacité clinique et établir leur place dans l'arsenal thérapeutique moderne.

## Bibliographie

1. Cancer [Internet]. [cité 30 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. La Ligue contre le cancer | Ligue contre le cancer [Internet]. [cité 30 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.ligue-cancer.net/>
3. Min HY, Lee HY. Molecular targeted therapy for anticancer treatment. *Experimental & Molecular Medicine*. oct 2022;54(10):1670-94.
4. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature*. nov 2019;575(7782):299-309.
5. Thibaudeau TA, Smith DM. A Practical Review of Proteasome Pharmacology. *Pharmacol Rev*. avr 2019;71(2):170-97.
6. Sakamoto KM. Proteasome Inhibitors for Treatment of Cancer. *Pediatric Research*. mai 2010;67(5):505-8.
7. Varshavsky A. The Ubiquitin System, Autophagy, and Regulated Protein Degradation. *Annu Rev Biochem*. 20 juin 2017;86(1):123-8.
9. Kelm JM, Pandey DS, Malin E, Kansou H, Arora S, Kumar R, et al. PROTAC'ing oncoproteins: targeted protein degradation for cancer therapy. *Molecular Cancer*. 30 mars 2023;22(1):62.
10. Swatek KN, Komander D. Ubiquitin modifications. *Cell Res*. avr 2016;26(4):399-422.
11. Yang Q, Zhao J, Chen D, Wang Y. E3 ubiquitin ligases: styles, structures and functions. *Molecular Biomedicine*. 30 juill 2021;2(1):1-17.
12. Understanding Undruggable Targets: Challenges And Progress [Internet]. [cité 19 mars 2025]. Disponible sur: <https://www.drugdiscoveryonline.com/doc/understanding-undruggable-targets-challenges-and-progress-0001>
14. Guedeney N, Cornu M, Schwalen F, Kieffer C, Voisin-Chiret AS. PROTAC technology: A new drug design for chemical biology with many challenges in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 1 janv 2023;28(1):103395.
16. Vicente ATS, Salvador JAR. MDM2-Based Proteolysis-Targeting Chimeras (PROTACs): An Innovative Drug Strategy for Cancer Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*. 21 sept 2022;23(19):11068.
17. He S, Ma J, Fang Y, Liu Y, Wu S, Dong G, et al. Homo-PROTAC mediated suicide of MDM2 to treat non-small cell lung cancer. *Acta Pharm Sin B*. juin 2021;11(6):1617-28.
18. Wang C, Zhang Y, Shi L, Yang S, Chang J, Zhong Y, et al. Recent advances in IAP-based PROTACs (SNIPERs) as potential therapeutic agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 31 déc 2022;37(1):1437-53.
19. Liu L, Sun R, Liu H, Ren C, Zhou Y, Qiu X, et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel quinazolinone derivatives as CRBN E3 ligase modulators. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 5 févr 2023;247:115016.
20. Krasavin M, Adamchik M, Bubyrev A, Heim C, Maiwald S, Zhukovsky D, et al. Synthesis of novel glutarimide ligands for the E3 ligase substrate receptor Cereblon (CRBN): Investigation of their binding mode and antiproliferative effects against myeloma cell lines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 15 janv 2023;246:114990.

21. Kroupova A, Spiteri VA, Rutter ZJ, Furihata H, Darren D, Ramachandran S, et al. Design of a Cereblon construct for crystallographic and biophysical studies of protein degraders. *Nat Commun.* 15 oct 2024;15:8885.
22. Setia N, Almuqdad HTA, Abid M. Journey of Von Hippel-Lindau (VHL) E3 ligase in PROTACs design: From VHL ligands to VHL-based degraders. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 5 févr 2024;265:116041.
23. Yan S, Zhang G, Luo W, Xu M, Peng R, Du Z, et al. PROTAC technology: From drug development to probe technology for target deconvolution. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 5 oct 2024;276:116725.
24. Dong Y, Ma T, Xu T, Feng Z, Li Y, Song L, et al. Characteristic roadmap of linker governs the rational design of PROTACs. *Acta Pharmaceutica Sinica B.* 1 oct 2024;14(10):4266-95.
25. Li Y, Qu J, Jiang L, Peng X, Wu K, Chen M, et al. Application and challenges of nitrogen heterocycles in PROTAC linker. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 5 juill 2024;273:116520.
26. Chou CL, Lin CT, Kao CT, Lin CC. A Novel Rational PROTACs Design and Validation via AI-Driven Drug Design Approach. *ACS Omega.* 17 sept 2024;9(37):38371-84.
27. Kenten J, Roberts S, Lebowitz M. Controlling Protein Levels in Eucaryotic Organisms [Internet]. 2000 [cité 15 mars 2025]. Disponible sur: <https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2000047220>
28. Zhou P, Bogacki R, McReynolds L, Howley PM. Harnessing the Ubiquitination Machinery to Target the Degradation of Specific Cellular Proteins. *Molecular Cell.* sept 2000;6(3):751-6.
29. Schneekloth JSJr, Fonseca FN, Koldobskiy M, Mandal A, Deshaies R, Sakamoto K, et al. Chemical Genetic Control of Protein Levels: Selective in Vivo Targeted Degradation. *J Am Chem Soc.* 1 mars 2004;126(12):3748-54.
30. Smith AR, Pucheault M, Tae HS, Crews CM. Targeted Intracellular Protein Degradation Induced by a Small Molecule: En Route to Chemical Proteomics. *Bioorg Med Chem Lett.* 15 nov 2008;18(22):5904-8.
31. Békés M, Langley DR, Crews CM. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue. *Nat Rev Drug Discov.* mars 2022;21(3):181-200.
33. Pan T, Zhang Y, Zhou N, He X, Chen C, Liang L, et al. A recombinant chimeric protein specifically induces mutant KRAS degradation and potently inhibits pancreatic tumor growth. *Oncotarget.* 14 juin 2016;7(28):44299-309.
34. Ghidini A, Cléry A, Halloy F, Allain FHT, Hall J. RNA-PROTACs: Degraders of RNA-Binding Proteins. *Angew Chem Int Ed Engl.* 8 févr 2021;60(6):3163-9.
35. Song Y, Dong QQ, Ni YK, Xu XL, Chen CX, Chen W. Nano-Proteolysis Targeting Chimeras (Nano-PROTACs) in Cancer Therapy. *Int J Nanomedicine.* 12 juin 2024;19:5739-61.
36. Liu H, Chen W, Wu G, Zhou J, Liu C, Tang Z, et al. Glutathione-Scavenging Nanoparticle-Mediated PROTACs Delivery for Targeted Protein Degradation and Amplified Antitumor Effects. *Advanced Science.* juin 2023;10(16):2207439.
38. Lebraud H, Wright DJ, Johnson CN, Heightman TD. Protein Degradation by In-Cell Self-Assembly of Proteolysis Targeting Chimeras. *ACS Cent Sci.* 28 déc 2016;2(12):927-34.
39. Wang C, Zhang Y, Chen W, Wu Y, Xing D. New-generation advanced PROTACs as potential therapeutic agents in cancer therapy. *Molecular Cancer.* 21 mai 2024;23(1):1-41.
41. Liang C, Zheng Q, Luo T, Cai W, Mao L, Wang M. Enzyme-Catalyzed Activation of Pro-PROTAC for Cell-Selective Protein Degradation. *CCS Chemistry.* 16 févr 2022;4(12):3809-19.

42. Cheng W, Li S, Wen X, Han S, Wang S, Wei H, et al. Development of hypoxia-activated PROTAC exerting a more potent effect in tumor hypoxia than in normoxia. *Chem Commun.* 2021;57(95):12852-5.
43. Wang W, Zhu C, Zhang B, Feng Y, Zhang Y, Li J. Self-Assembled Nano-PROTAC Enables Near-Infrared Photodynamic Proteolysis for Cancer Therapy. *J Am Chem Soc.* 2 août 2023;145(30):16642-9.
44. Ouyang M, Feng Y, Chen H, Liu Y, Tan C, Tan Y. Recent Advances in Optically Controlled PROTAC. *Bioengineering.* 28 nov 2023;10(12):1368.
45. Maneiro M, Forte N, Shchepinova MM, Kounde CS, Chudasama V, Baker JR, et al. Antibody-PROTAC Conjugates Enable HER2-Dependent Targeted Protein Degradation of BRD4. *ACS Chem Biol.* 19 juin 2020;15(6):1306-12.
46. Banik SM, Pedram K, Wisnovsky S, Ahn G, Riley NM, Bertozzi CR. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. *Nature.* 13 août 2020;584(7820):291-7.
49. Takahashi D, Moriyama J, Nakamura T, Miki E, Takahashi E, Sato A, et al. AUTACs: Cargo-Specific Degradation Using Selective Autophagy. *Molecular Cell.* déc 2019;76(5):797-810.e10.
51. Zhong J, Zhao R, Wang Y, Su Y xiong, Lan X. Nano-PROTACs: state of the art and perspectives. *Nanoscale.* 2024;16(9):4378-91.
52. Khan S, Zhang X, Lv D, Zhang Q, He Y, Zhang P, et al. A selective BCL-XL PROTAC degrader achieves safe and potent antitumor activity. *Nat Med.* déc 2019;25(12):1938-47.
53. Gao H, Sun X, Rao Y. PROTAC Technology: Opportunities and Challenges. *ACS Med Chem Lett.* 12 mars 2020;11(3):237-40.
55. Zeng S, Huang W, Zheng X, Liyan cheng, Zhang Z, Wang J, et al. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) in drug discovery paradigm: Recent progress and future challenges. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 15 janv 2021;210:112981.
56. Sun X, Gao H, Yang Y, He M, Wu Y, Song Y, et al. PROTACs: great opportunities for academia and industry. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 24 déc 2019;4(1):1-33.
57. Li X, Song Y. Proteolysis-targeting chimera (PROTAC) for targeted protein degradation and cancer therapy. *J Hematol Oncol.* 13 mai 2020;13(1):50.
58. Sakamoto KM, Kim KB, Verma R, Ransick A, Stein B, Crews CM, et al. Development of Protacs to Target Cancer-promoting Proteins for Ubiquitination and Degradation. *Molecular & Cellular Proteomics.* déc 2003;2(12):1350-8.
59. Schneekloth AR, Pucheault M, Tae HS, Crews CM. Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* nov 2008;18(22):5904-8.
60. Salami J, Alabi S, Willard RR, Vitale NJ, Wang J, Dong H, et al. Androgen receptor degradation by the proteolysis-targeting chimera ARCC-4 outperforms enzalutamide in cellular models of prostate cancer drug resistance. *Commun Biol.* 2 août 2018;1:100.
61. Han X, Wang C, Qin C, Xiang W, Fernandez-Salas E, Yang CY, et al. Discovery of ARD-69 as a Highly Potent Proteolysis Targeting Chimera (PROTAC) Degradation of Androgen Receptor (AR) for the Treatment of Prostate Cancer. *J Med Chem.* 24 janv 2019;62(2):941-64.
62. Han X, Zhao L, Xiang W, Qin C, Miao B, Xu T, et al. Discovery of Highly Potent and Efficient PROTAC Degradation of Androgen Receptor (AR) by Employing Weak Binding Affinity VHL E3 Ligase Ligands. *J Med Chem.* 26 déc 2019;62(24):11218-31.

63. Xiang W, Zhao L, Han X, Qin C, Miao B, McEachern D, et al. Discovery of ARD-2585 as an Exceptionally Potent and Orally Active PROTAC Degradator of Androgen Receptor for the Treatment of Advanced Prostate Cancer. *J Med Chem.* 23 sept 2021;64(18):13487-509.
64. Nguyen TTL, Kim JW, Choi HI, Maeng HJ, Koo TS. Development of an LC-MS/MS Method for ARV-110, a PROTAC Molecule, and Applications to Pharmacokinetic Studies. *Molecules.* 18 mars 2022;27(6):1977.
65. Qi SM, Dong J, Xu ZY, Cheng XD, Zhang WD, Qin JJ. PROTAC: An Effective Targeted Protein Degradation Strategy for Cancer Therapy. *Front Pharmacol.* 7 mai 2021;12:692574.
66. Johnston SJ, Cheung KL. Endocrine Therapy for Breast Cancer: A Model of Hormonal Manipulation. *Oncol Ther.* 10 juill 2018;6(2):141-56.
67. Itoh Y, Kitaguchi R, Ishikawa M, Naito M, Hashimoto Y. Design, synthesis and biological evaluation of nuclear receptor-degradation inducers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 15 nov 2011;19(22):6768-78.
70. Hu J, Hu B, Wang M, Xu F, Miao B, Yang CY, et al. Discovery of ERD-308 as a Highly Potent Proteolysis Targeting Chimera (PROTAC) Degradator of Estrogen Receptor (ER). *J Med Chem.* 14 févr 2019;62(3):1420-42.
71. Peng L, Zhang Z, Lei C, Li S, Zhang Z, Ren X, et al. Identification of New Small-Molecule Inducers of Estrogen-related Receptor  $\alpha$  (ERR $\alpha$ ) Degradation. *ACS Med Chem Lett.* 12 avr 2019;10(5):767-72.
72. Busch BB, Stevens William C, Martin R, Ordentlich P, Zhou S, Sapp DW, et al. Identification of a Selective Inverse Agonist for the Orphan Nuclear Receptor Estrogen-Related Receptor  $\alpha$ . *J Med Chem.* 1 nov 2004;47(23):5593-6.
73. Flanagan J, Qian Y, Gough S, Andreoli M, Bookbinder M, Cadelina G, et al. Abstract P5-04-18: ARV-471, an oral estrogen receptor PROTAC degrader for breast cancer. *Cancer Research.* 15 févr 2019;79(4\_Supplement):P5-04-18.
74. Pal Singh S, Dammeijer F, Hendriks RW. Role of Bruton's tyrosine kinase in B cells and malignancies. *Mol Cancer.* 19 févr 2018;17:57.
75. Furman RR, Cheng S, Lu P, Setty M, Perez AR, Guo A, et al. Ibrutinib Resistance in Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 12 juin 2014;370(24):2352-4.
76. Sun Y, Zhao X, Ding N, Gao H, Wu Y, Yang Y, et al. PROTAC-induced BTK degradation as a novel therapy for mutated BTK C481S induced ibrutinib-resistant B-cell malignancies. *Cell Res.* juill 2018;28(7):779-81.
77. Sun Y, Ding N, Song Y, Yang Z, Liu W, Zhu J, et al. Degradation of Bruton's tyrosine kinase mutants by PROTACs for potential treatment of ibrutinib-resistant non-Hodgkin lymphomas. *Leukemia.* août 2019;33(8):2105-10.
78. Buhimschi AD, Armstrong HA, Toure M, Jaime-Figueroa S, Chen TL, Lehman AM, et al. Targeting the C481S Ibrutinib-Resistance Mutation in Bruton's Tyrosine Kinase Using PROTAC-Mediated Degradation. *Biochemistry.* 3 juill 2018;57(26):3564-75.
79. Zhang C, Han XR, Yang X, Jiang B, Liu J, Xiong Y, et al. Proteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK). *Eur J Med Chem.* 10 mai 2018;151:304-14.
80. Kang CH, Lee DH, Lee CO, Du Ha J, Park CH, Hwang JY. Induced protein degradation of anaplastic lymphoma kinase (ALK) by proteolysis targeting chimera (PROTAC). *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 28 oct 2018;505(2):542-7.

81. Ren C, Sun N, Kong Y, Qu X, Liu H, Zhong H, et al. Structure-based discovery of SIAIS001 as an oral bioavailability ALK degrader constructed from Alectinib. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 5 mai 2021;217:113335.
82. Nakajima EC, Drezner N, Li X, Mishra-Kalyani PS, Liu Y, Zhao H, et al. FDA Approval Summary: Sotorasib for KRAS G12C Mutated Metastatic NSCLC. *Clin Cancer Res*. 14 avr 2022;28(8):1482-6.
83. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 11 mars 2025]. Décision n°2025.0025/DC/SEM du 23 janvier 2025 du collège de la Haute Autorité de santé portant refus d'accès précoce de la spécialité KRAZATI (adagrasib). Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3587080/en/decision-n2025-0025/dc/sem-du-23-janvier-2025-du-college-de-la-haute-autorite-de-sante-portant-refus-d-acces-precoce-de-la-specialite-krazati-adagrasib](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3587080/en/decision-n2025-0025/dc/sem-du-23-janvier-2025-du-college-de-la-haute-autorite-de-sante-portant-refus-d-acces-precoce-de-la-specialite-krazati-adagrasib)
84. Mirati Therapeutics Inc. A Randomized Phase 3 Study of MRTX849 Versus Docetaxel in Patients With Previously Treated Non-Small Cell Lung Cancer With KRAS G12C Mutation [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2025 janv [cité 11 mars 2025]. Report No.: NCT04685135. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04685135>
86. Bond MJ, Chu L, Nalawansa DA, Li K, Crews CM. Targeted Degradation of Oncogenic KRAS<sup>G12C</sup> by VHL-Recruiting PROTACs. *ACS Cent Sci*. 26 août 2020;6(8):1367-75.
88. King HM, Rana S, Kubica SP, Mallareddy JR, Kizhake S, Ezell EL, et al. Aminopyrazole based CDK9 PROTAC sensitizes pancreatic cancer cells to venetoclax. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 1 juill 2021;43:128061.
89. Qiu X, Li Y, Yu B, Ren J, Huang H, Wang M, et al. Discovery of selective CDK9 degraders with enhancing antiproliferative activity through PROTAC conversion. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 5 févr 2021;211:113091.
90. Yang Y, Gao H, Sun X, Sun Y, Qiu Y, Weng Q, et al. Global PROTAC Toolbox for Degrading BCR–ABL Overcomes Drug-Resistant Mutants and Adverse Effects. *J Med Chem*. 13 août 2020;63(15):8567-83.
91. Liu H, Ding X, Liu L, Mi Q, Zhao Q, Shao Y, et al. Discovery of novel BCR-ABL PROTACs based on the cereblon E3 ligase design, synthesis, and biological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 5 nov 2021;223:113645.
92. Bai L, Zhou H, Xu R, Zhao Y, Chinnaswamy K, McEachern D, et al. A Potent and Selective Small-Molecule Degradator of STAT3 Achieves Complete Tumor Regression In Vivo. *Cancer Cell*. nov 2019;36(5):498-511.e17.
94. Cai Z, Yang Z, Li H, Fang Y. Research progress of PROTACs for neurodegenerative diseases therapy. *Bioorganic Chemistry*. 1 juin 2024;147:107386.
95. Wang W, Zhou Q, Jiang T, Li S, Ye J, Zheng J, et al. A novel small-molecule PROTAC selectively promotes tau clearance to improve cognitive functions in Alzheimer-like models. *Theranostics*. 2021;11(11):5279-95.
97. Liang M, Gu L, Zhang H, Min J, Wang Z, Ma Z, et al. Design, Synthesis, and Bioactivity of Novel Bifunctional Small Molecules for Alzheimer's disease. *ACS Omega*. 2 août 2022;7(30):26308-15.
98. Tong Y, Zhu W, Chen J, Wen T, Xu F, Pang J. Discovery of Small-Molecule Degradators for Alpha-Synuclein Aggregates. *J Med Chem*. 22 juin 2023;66(12):7926-42.
99. Wen T, Chen J, Zhang W, Pang J. Design, Synthesis and Biological Evaluation of  $\alpha$ -Synuclein Proteolysis-Targeting Chimeras. *Molecules*. 31 mai 2023;28(11):4458.
101. Liu X, Kalogeropoulou AF, Domingos S, Makukhin N, Nirujogi RS, Singh F, et al. Discovery of XL01126: A Potent, Fast, Cooperative, Selective, Orally Bioavailable, and Blood–Brain Barrier Penetrant PROTAC Degradator of Leucine-Rich Repeat Kinase 2. *J Am Chem Soc*. 21 sept 2022;144(37):16930-52.

102. Arvinas annonce le premier dosage chez l'homme de l'ARV-102, un dégradateur de protéines PROTAC® expérimental pour les maladies neurodégénératives | Arvinas [Internet]. [cité 22 janv 2025]. Disponible sur: <https://ir.arvinas.com/news-releases/news-release-details/arvinas-announces-first-human-dosing-arv-102-investigational>
103. de Wispelaere M, Du G, Donovan KA, Zhang T, Eleuteri NA, Yuan JC, et al. Small molecule degraders of the hepatitis C virus protease reduce susceptibility to resistance mutations. *Nat Commun.* 1 août 2019;10:3468.
104. Morreale FE, Kleine S, Leodolter J, Junker S, Hoi DM, Ovchinnikov S, et al. BacPROTACs mediate targeted protein degradation in bacteria. *Cell.* juin 2022;185(13):2338-2353.e18.
105. Zhang C, Tang F, Zhang J, Cao J, Li H, Liu C. Uncovering the detailed mode of cleavage of heparinase I toward structurally defined heparin oligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules.* 1 déc 2019;141:756-64.

## **Titre : PROTACs : une innovation en oncologie**

### **Résumé en français :**

Le cancer représente un enjeu de santé publique majeur, avec près de 10 millions de décès en 2022. Malgré les avancées des thérapies ciblées, les résistances et effets secondaires limitent leur efficacité. Les PROTACs (Proteolysis Targeting Chimeras) émergent comme une solution innovante. Ces molécules bifonctionnelles exploitent le système ubiquitine-protéasome pour dégrader sélectivement des protéines pathologiques, y compris celles dites "indruggables" comme KRAS ou MYC. Contrairement aux inhibiteurs classiques, les PROTACs détruisent entièrement la cible, ce qui permet d'éviter certaines résistances. En oncologie, des composés prometteurs comme ARV-110 et ARV-471 ciblent les récepteurs aux androgènes ou aux œstrogènes dans les cancers de la prostate et du sein. D'autres cibles, telles que BTK, BCR-ABL ou CDK, ont également été explorées. Si des défis demeurent (biodisponibilité, spécificité), les progrès récents, y compris en formulation nanotechnologique, laissent entrevoir une révolution thérapeutique. Les PROTACs s'inscrivent ainsi dans la médecine de précision, en élargissant le champ des cibles exploitables pour traiter des cancers résistants ou agressifs.

### **Mots-clés :**

**PROTACs, dégradation protéique ciblée, système ubiquitine-protéasome, cibles thérapeutiquesindruggables, oncologie**