

蛋白降解靶向嵌合体临床前及临床研究进展

刘昭祥^{1,3}, 刘森^{1,2*}

1 湖北工业大学 工业发酵省部共建协同创新中心, 湖北 武汉 430068

2 湖北工业大学 发酵工程教育部重点实验室, 湖北 武汉 430068

3 湖北微生元生物科技有限公司, 湖北 鄂州 436006

刘昭祥, 刘森. 蛋白降解靶向嵌合体临床前及临床研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3615-3627.

LIU Zhaoxiang, LIU Sen. Advances in the preclinical and clinical research of proteolysis targeting chimera[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3615-3627.

摘要: 蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimera, PROTAC)是一种可以同时结合 E3 连接酶和靶蛋白的异双功能小分子,能够借助泛素-蛋白酶体系统特异性降解靶蛋白。目前 PROTAC 药物大多处于临床试验阶段,配体主要为非共价化合物,具有克服耐药性、降解“不可用药”靶蛋白的优势,但非共价配体会使 PROTAC 产生钩效应(hook effect),影响药效发挥。而共价配体凭借自身优势,可以避免该现象的发生,对于 PROTAC 的发展具有极大的帮助。本文总结了临床前及临床研究阶段,PROTAC 分子在核内蛋白、跨膜蛋白和胞浆蛋白 3 种蛋白靶点中的应用,并以此为基础进行了讨论与展望,以期今后 PROTAC 的发展提供一定的研究思路和参考。

关键词: 蛋白降解靶向嵌合体; 临床研究; 靶蛋白; 耐药性

Advances in the preclinical and clinical research of proteolysis targeting chimera

LIU Zhaoxiang^{1,3}, LIU Sen^{1,2*}

1 Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China

2 Key Laboratory of Fermentation Engineering (Ministry of Education), Hubei University of Technology, Wuhan 430068, Hubei, China

3 Hubei WEL-SAFE Biotechnology Co., Ltd., Ezhou 436006, Hubei, China

Abstract: Proteolysis targeting chimera (PROTAC) refers to heterobifunctional small

资助项目: 国家自然科学基金(31971150); 湖北省杰出青年基金项目(2019CFA069)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31971150) and the Project of Hubei Province Fund for Distinguished Young Scholars (2019CFA069).

*Corresponding author. E-mail: senliu.ctgu@gmail.com

Received: 2022-12-28; Accepted: 2023-03-29; Published online: 2023-03-30

molecules that can simultaneously bind an E3 ubiquitin ligase and a target protein, enabling specific degradation of the target protein with the aid of the ubiquitin proteasome system. At present, most PROTAC drugs are in the clinical trial stage, and the ligands are mainly non-covalent compounds. PROTAC drugs have the advantage of overcoming drug resistance and degrading “undruggable” target proteins, but non-covalent ligands could lead to the hook effect that undermines drug efficacy. With its own advantages, covalent ligands can avoid the occurrence of this phenomenon, which is of great help to the development of PROTAC. This review summarizes the progress in preclinical and clinical research and application of PROTAC molecules targeting three different classes of protein targets, including intranuclear, transmembrane, and cytosolic proteins. We also offer perspective discussions to provide research ideas and references for the future development of PROTAC.

Keywords: proteolysis targeting chimera (PROTAC); clinical research; target protein; drug resistance

蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimera, PROTAC)是由 3 部分组成的异双功能小分子, 一端是结合靶蛋白(protein of interest, POI)的配体, 另一端是结合 E3 连接酶的配体, 中间通过连接子(linker)连接^[1]。PROTAC 分子的作用方式不同于以往的小分子抑制剂, 它可以同时结合 E3 连接酶和 POI, 导致 POI 被 E3 连接酶泛素化, 从而被泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)介导, 实现蛋白特异性降解^[2]。在此过程中, PROTAC 可以进行重复利用, 促进 POI 的泛素化和降解, 从而显著降低给药浓度, 减轻耐药性^[3]。PROTAC 的事件驱动药理学作用机制, 理论上只要 POI 能够提供短暂“着力点”, 便可促进 POI 降解, 而不需要两者紧密结合, 这也为“不可用药” POI 的降解提供了可行性^[4-6]。此外, 传统的小分子抑制剂仅阻断了蛋白质的部分功能, 而 PROTAC 通过靶向降解可以使蛋白质的酶功能和非酶功能丧失, 从而消除蛋白质的所有功能, 这是传统小分子抑制剂无法实现的^[7-9]。PROTAC 的概念最早是由 Crews 等^[10]在 2001 年提出, 并且设计合成了第一批用于降解甲硫氨酰氨肽

酶 2 (methionylaminopeptidase 2, MetAP-2)的 PROTAC 分子。目前, PROTAC 已广泛地用于降解与各种疾病相关 POI 的药物研发, 包括癌症、病毒感染、免疫疾病和神经退行性疾病等^[11]。本文基于当前 PROTAC 临床前及临床研发情况的报道, 根据 POI 在细胞内的分布情况进行分类, 对当前各靶点的 PROTAC 临床前及临床研发情况进行了整理(表 1)。

1 PROTAC 构成及原理

UPS 是细胞内蛋白质降解和氨基酸回收再利用的主要场所, 该降解过程依赖于 E1、E2 和 E3 三种酶依次发挥作用^[12]。首先, E1 活化酶通过 ATP 依赖机制活化泛素, 并生成 E1 泛素偶联物。然后, E1 泛素偶联物与 E2 结合酶进行转硫醇反应, 生成 E2 泛素偶联物。最后, E2 泛素偶联物在 E3 连接酶的介导下向 POI 转移泛素, 将 POI 泛素化, 从而导致 POI 被蛋白酶体降解^[13]。PROTAC 技术是在该生物学过程的启发下产生的一种化学敲除策略, 其核心机制是利用 PROTAC 分子与 POI 和 E3 连接酶形成三元复合物(POI·PROTAC·E3), 从而使 POI

表 1 PROTAC 的临床前及临床研究情况

Table 1 Preclinical and clinical research and development of PROTAC

Drug	Company	Target	E3 ligase	Indications	ROA	Status
ARV-110	Arvinas	AR	CRBN	Prostatic cancer	Oral	Phase II
ARV-766	Arvinas	AR	VHL	Prostatic cancer	Oral	Phase I
CC-94676	Bristol Myers Squibb	AR	CRBN	Prostatic cancer	Oral	Phase I
HP-518	Hinova Pharmaceutical	AR	CRBN	Prostatic cancer	Oral	Phase I
AR-LDD	Bristol Myers Squibb	AR	CRBN	Prostatic cancer	Undisclosed	Phase I
GT-20029	Kintor Pharmaceutical	AR	Undisclosed	Androgenic alopecia and acne	External	Phase I
AC0176	Accutar Biotechnology	AR	Undisclosed	Prostatic cancer	Oral	Phase I
ARV-471	Arvinas & Pfizer	ER	CRBN	Breast cancer	Oral	Phase II
AC682	Accutar Biotechnology	ER	CRBN	Breast cancer	Oral	Phase I
FHD-609	Foghorn	BRD9	Undisclosed	Synoviosarcoma	Injection	Phase I
CFT8634	C4 Therapeutics	BRD9	CRBN	Synoviosarcoma	Oral	Phase I/II
CFT7455	C4 Therapeutics	IKZF1/3	CRBN	Multiple myeloma and lymphoma	Oral	Phase I/II
CFT8919	C4 Therapeutics	EGFR	CRBN	Non small cell lung cancer	Oral	IND
CG001419	Cullgen	TRK	CRBN	Tumour	Oral	Phase I
BGB-16673	Beigene	BTK		B cell malignancies	Oral	Phase I
NX-2127	Nurix Therapeutics	BTK	CRBN	B cell malignancies	Oral	Phase I
NX-5948	Nurix Therapeutics	BTK	CRBN	B cell malignancies and autoimmune diseases	Oral	Phase I
HSK29116	Haisco	BTK	Undisclosed	B cell malignancies	Oral	Phase I
AC0676	Accutar Biotechnology	BTK	Undisclosed	Haematological tumours and autoimmune diseases	Undisclosed	IND
KT-333	Kymera	STAT3	Undisclosed	Hematologic and solid tumors	Undisclosed	Phase I
KT-474	Kymera & Sanofi	IRAK4	Undisclosed	Autoimmune diseases	Oral	Phase I
KT-413	Kymera	IRAK4	CRBN	MyD88 mutant lymphomas	Injection	Phase I
DT2216	Dialectic Therapeutics	BCL-XL	VHL	Hematologic and solid tumors	Injection	Phase I

ROA: Route of administration; CRBN: Cereblon; VHL: Von Hippel-Lindau; IND: Investigational new drug.

被泛素化并进而被 UPS 降解(图 1)。PROTAC 分子在该过程中一般不会发生降解,因此可以被重复利用,实现 POI 的持续泛素化和降解。

在 PROTAC 技术中,合适的 PROTAC 分子至关重要。为同时与 POI 和 E3 连接酶结合,PROTAC 分子需要 3 个功能单元,分别是 POI 结合配体、E3 连接酶结合配体、连接子。在合适的条件下,这 3 个功能单元相对独立,因此可以分别设计和优化。结构不同但具有同一功能的元件,也可以相互进行替换。因此,PROTAC

分子具有“即插即用”的特点,使用十分方便。

目前,PROTAC 分子以化学小分子为主,POI 和 E3 连接酶的结合配体包括共价小分子和非共价小分子 2 类。POI 和 E3 连接酶结合配体可以分开选择,有时可借助虚拟筛选手段获得。在选择 POI 结合配体时,要求分子具有较高的 POI 专一性,但不一定要求两者具有很高的亲和力^[14]。在选择 E3 连接酶结合配体时,分子应具有较好的理化性质,通常应具有高亲和力、选择性和细胞活性,从而能够高效专一地招募

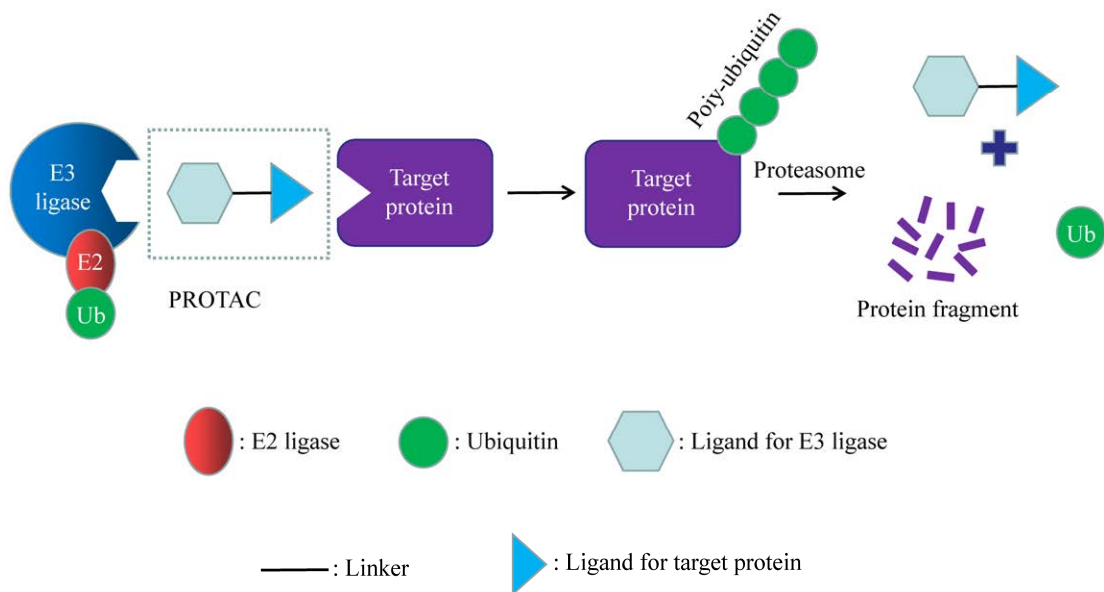


图 1 PROTAC 作用机制

Figure 1 Mechanism of PROTAC.

E3 连接酶，提高 PROTAC 的作用效力^[15]。在获得 POI 和 E3 连接酶结合配体后，还需在不影响这两部分结合功能的位置引入修饰基团和添加连接子，组装形成完整的 PROTAC 分子。作为 POI 结合配体与 E3 连接酶结合配体的连接结构，连接子对 PROTAC 及 POI·PROTAC·E3 三元复合物的稳定性和后续功能有重要影响^[16]。为了保持 PROTAC 亲和力和空间效应之间的微妙平衡，连接子应具有适当的立体化学结构^[17]。研究表明，连接子类型和长度的不同会直接影响 PROTAC 的活性、选择性和理化性质^[18]。目前，常用的连接子主要有烷基、醚、氨基酸和聚乙二醇 4 类。

2 核内蛋白

核内蛋白在生物遗传和蛋白表达中起着决定性作用，多数疾病的发生都与核内蛋白的表达和调控密切相关。核内蛋白主要包括雄激素受体 (androgen receptor, AR)、雌激素受体

(estrogen receptor, ER)、溴结构域和额外末端 (bromodomain and extraterminal, BET) 蛋白家族和 IKAROS 家族锌指蛋白 (IKAROS family zinc finger, IKZF) 等。

AR 蛋白是一种核激素受体，由 N 端结构域 (N-terminal domain, NTD)、DNA 结合区 (DNA binding domain, DBD)、铰链区 (hinge region, HR) 和配体结合区 (ligand binding, LBD) 4 个主要结构域组成^[19]。AR 蛋白被雄激素激活后，会易位到细胞核并与特定调节区域结合，对前列腺的正常发育和前列腺癌的发病机制起关键作用，特别是去势抗性前列腺癌 (castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[20]。当前通过作用于 AR 治疗前列腺癌的药物主要有氟他胺、恩杂鲁胺、比卡鲁安和阿帕他胺等，但是这些药物的药效逐渐受到耐药突变的影响，而基于降解机制发挥作用的 PROTAC 分子有可能缓解这一影响^[21]。Arvinas 公司于 2019 年合成了一种可通过口服作用于 AR 蛋白，从而治疗前列腺癌的 PROTAC

药物 ARV-110,其在多种前列腺癌模型及生物实验中显示了效力,当前已处于II期临床试验^[22]。随后该公司又合成了同样治疗前列腺癌的 PROTAC 药物 ARV-766,现已处于 I 期临床试验。开拓药业(Kintor Pharmaceutical)的 GT-20029 是一款治疗雄激素性脱发和痤疮的 PROTAC 药物, I 期临床试验结果表明, GT-20029 能有效阻断 AR 信号通路激活导致的毛囊萎缩微型化作用,抑制毛发变细、变软和脱落,并且还能有效抑制皮脂腺发育和皮脂分泌。海创药业(Hinova Pharmaceutical)的 HP-518 在动物模型上具有良好的口服暴露量和生物利用度,对野生型 AR 及恩扎卢胺耐药的变异 AR 也有很高的降解活性。此外,还有百事美施贵宝(Bristol Myers Squibb)的 CC-94676 和 AR-LDD,冰洲石生物(Accutar Biotechnology)的 AC0176 都是通过作用于 AR 治疗前列腺癌的 PROTAC 药物,现均已处于 I 期临床试验阶段。

ER 蛋白是转录调控核激素受体超家族的成员,其介导的雌激素信号会刺激细胞增殖和造成 ER 阳性乳腺癌,因此 ER 是当前治疗乳腺癌的重要靶点^[23]。当前治疗乳腺癌的药物主要分为选择性雌激素受体调节剂(selective estrogen receptor modulators, SERM)和选择性雌激素受体下调剂(selective estrogen receptor downregulator, SERD)两类^[24]。以他莫昔芬为代表的 SERM 通过与雌激素竞争结合 ER 发挥作用,以氟维司群为代表的 SERD 则通过与 ER 结合而诱导其降解发挥作用,但这两类药物均不能有效克服由蛋白突变引起的耐药性,且氟维司群的口服生物利用度极低。与此相比,PROTAC 在体内可重复利用,在较低给药浓度下便可取得良好效果。Arvinas 和辉瑞(Pfizer)在 2018 年联合研发合成了可通过口服作用于 ER 的 PROTAC 药物 ARV-471。在 I 期临床试验中,无论肿瘤细胞表

达野生型 ER 还是突变型 ER, ARV-471 均表现了良好的效果,最高可将 ER 表达水平降低 90%,目前已进入 ER 阳性/人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2,HER2)阴性乳腺癌的II期临床试验^[25]。冰洲石生物基于 AI 药物发现平台开发的 AC682,也是一款可作用于 ER 的 PROTAC 药物,它在高效、选择性降解 ER 野生型和突变型的同时,还具有良好的药理性和血脑通透性^[26]。此外,AC682 在 ER 阳性动物肿瘤模型中也展现出优异的抗肿瘤活性,现已进入 ER 阳性/HER2 阴性乳腺癌的 I 期临床试验。

BET 蛋白家族是一个能够介导蛋白-蛋白相互作用的模块家族,由溴结构域 2 (bromodomain 2, BRD2)、BRD3、BRD4 和溴结构域特异蛋白激酶(bromodomain testis-specific protein, BRDT) 4 种蛋白组成^[27]。它们是唯一可以识别并结合组蛋白乙酰化赖氨酸进行翻译后修饰,并作为转录控制的调节因子发挥作用的蛋白结构域^[28]。BET 蛋白的表达及功能异常与肿瘤的发展密切相关,也是当前肿瘤治疗的热门靶点之一^[29]。其中, BRD9 与染色质结合,可以调控致癌基因的表达,并且 BRD9 的过表达会促进癌细胞的增殖、迁移和侵袭,而传统的 BRD9 抑制剂无法完全抑制 BRD9 蛋白的活性^[30]。与此相比,PROTAC 则有望通过降解 BRD9 蛋白,使其完全失去活性。Foghorn 公司研发了一款可通过作用于 BRD9,治疗血液癌症和实体瘤的 PROTAC 药物 FHD-609^[31]。FHD-609 可通过静脉注射实现给药,具有一定的选择性,可避免由脱靶效应产生的毒副作用^[32]。临床前研究表明其对于滑膜肉瘤的生长具有抑制作用,目前正处于滑膜肉瘤的 I 期临床研究,并预计于 2022 年底进入II期临床试验阶段。C4 Therapeutics 公司也推出了一种针对 BRD9 的

PROTAC 药物 CFT8634。CFT8634 通过口服实现给药,可用于治疗由 SMARCB1 干扰引起的癌症,包括滑膜肉瘤和上皮样肉瘤等^[33]。该药在滑膜肉瘤的临床前实验中显示出来良好效果,其 DC_{50} 为 2 nmol/L,现已进入 I/II 期临床试验^[34]。

IKZF 蛋白家族是一组在造血过程中具有重要作用的造血转录因子,蛋白结构中间含有能与 DNA 结合的锌指(zinc fingers, ZFs)结构域,并且 C 末端含有 2 个 ZFs,可以与其他 IKZF 分子形成二聚体^[35]。IKZF1/3 是 B 细胞和 T 细胞末端分化的重要转录因子,能够促进多发性骨髓瘤细胞和淋巴瘤细胞生长^[36]。因此,靶向降解 IKZF1/3 蛋白是治疗多发性骨髓瘤和淋巴瘤的策略之一^[37]。CFT7455 是 C4 Therapeutics 公司研发的一种具有高效、高选择性和口服生物可利用的 IKZF1/3 蛋白降解剂,可通过招募 CRBN 发挥作用^[38]。CFT7455 在临床前实验中表明,其在 1.5 h 内可以诱导 IKZF1 降解 75% 以上,具有比其他同类药物更强的疗效。

3 跨膜蛋白

跨膜蛋白 PROTAC 的应用主要是以受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)为靶点,RTK 是细胞内最大的一类酶联受体,包括间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALC)、上皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)、HER2、原肌凝蛋白受体激酶(tropomyosin receptor kinase, TRK)等^[39]。当 RTK 被抑制时,癌细胞可以继续利用其他的 RTK 信号通路恢复下游致癌信号,所以利用 PROTAC 进行降解 RTK 是非常有前景的研究策略。

EGFR 蛋白是与肿瘤细胞增殖、侵袭、转移及凋亡有关的受体蛋白,是当前治疗非小细胞肺癌的主要靶点之一^[40]。传统 EGFR 抑制剂,

如吉非替尼、阿法替尼和奥希替尼等,在治疗表达野生型 EGFR 的非小细胞肺癌时可以取得显著治疗效果,但无法克服 EGFR 突变造成的耐药性^[41]。基于此,C4 Therapeutics 公司研发了靶向 EGFR L858R 的 PROTAC 药物 CFT8919。临床前实验表明,通过口服给药后,CFT8919 能够选择性靶向并降解 EGFR-L858R^[42]。

TRK 蛋白是一类神经生长因子受体,包括 TRKA、TRKB 和 TRKC 三个亚型。TRK 蛋白对细胞的增殖、分化、代谢和凋亡具有调节作用,当其高表达或活性增高时会诱导癌症的发生^[43]。目前针对 TRK 蛋白的抑制剂,在作用于中枢神经系统时会造成脱靶效应和耐药性^[44]。基于此,上海睿跃生物科技有限公司(Cullgen)研发了一款具有高选择性的口服 PROTAC 药物 CG001419,该药通过招募 CRBN 发挥作用,现已获批临床,即将进入 I 期临床试验。

4 胞浆蛋白

胞浆中存在着多种激酶参与细胞和生命活动的调控,在生命活动中发挥着重要作用,其功能异常会造成信号通路紊乱,引发疾病。在当前 PROTAC 临床研究阶段,布鲁顿酪氨酸激酶(Bruton's tyrosine kinase, BTK)、信号转导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)、白介素-1 受体相关激酶 4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4, IRAK4)和 B 细胞淋巴瘤-XL (B-cell lymphoma XL, BCL-XL)作为癌症治疗的药物靶点,已经取得了一定的进展。

BTK 蛋白是一种非受体胞质酪氨酸激酶,参与 B 细胞受体信号通路的调节,在多种 B 细胞恶性肿瘤的形成、发展中起着重要作用,是治疗血液肿瘤的关键靶点,但 BTK 突变所产生的耐药性,是当前治疗的难点^[45]。BGB-16673

是百济神州(Beigene)研发的一种口服 PROTAC 药物, 临床前实验已证明其对野生型和突变型 BTK 均具有降解活性^[46]。NX-2127 和 NX-5948 是 Nurix Therapeutics 公司研发的两款 PROTAC 药物, NX-2127 在表达野生型或 C481S BTK 突变蛋白的小鼠异种移植瘤模型中展现出有效的肿瘤生长抑制作用^[47]。NX-5948 不仅可以诱导细胞中 C481S BTK 突变蛋白的降解, 抑制弥漫大 B 淋巴瘤细胞增殖, 还可穿透中枢神经系统, 在恶性脑肿瘤模型中发挥作用^[48]。此外, 海思科(Haisco)的 HSK29116 和冰洲石生物的 AC0676 也都是通过作用于 BTK 进行治疗肿瘤的 PROTAC 药物。

STAT 蛋白和靶基因调控区的 DNA 结合, 调节靶基因的转录进程, 参与细胞生长、分化与凋亡的调控^[49]。STAT 主要包括 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6 等。其中 STAT3 可以调控细胞周期进程和细胞凋亡过程, 当其过度活化时会促进癌细胞的增殖和生长^[50]。STAT3 长期以来被认为是“不可用药”的靶点, 而 PROTAC 技术的出现为解决这一靶点的“不可成药性”提供了一个新的策略^[51]。Kymera 公司研发的 KT-333 是一款有效且具有高选择性的 STAT3 降解剂, 临床前体外实验表明, KT-333 可以使 STAT3 在 48 h 内降解约 90%, 能够导致间变性 T 细胞淋巴瘤产生不可逆的细胞生长抑制和死亡^[52]。

IRAK4 蛋白是 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)和白细胞介素-1 受体(interleukin-1, IL-1)介导的炎症发生通路中的关键性蛋白激酶, 和信号通路中的其他激酶不同, 它既作为下游信号分子的激酶发挥作用, 同时又是形成 myddosome 复合物所必需的支架蛋白^[53]。IRAK4 的小分子抑制剂虽然可以抑制其本身活性, 但无法通过

破坏 myddosome 复合物的形成来彻底阻断炎症反应信号的产生, PROTAC 则可提供一种可以同时阻断 IRAK4 活性和破坏其支架能力的解决方案。Kymera & Sanofi 两个公司联合研发的 KT-474, 其 I 期临床试验中期结果显示, 它能够将外周血单核细胞中的 IRAK4 水平降低约 95%, 并且在给药 24–48 h 后, 还能将由 TLRs 受体激动剂激发的多种促炎症细胞因子的水平降低到 97%。此外, Kymera 公司还研发了一款通过作用于 IRAK4 治疗 MYD88 突变淋巴瘤的 PROTAC 药物 KT-413^[54]。TLRs 和 IL-1 能够参与由 MYD88 突变导致的核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路的激活过程, 而该通路能够阻断癌基因诱导细胞死亡的功能表达, 使肿瘤细胞的活性增强。因此, 通过靶向降解 IRAK4 阻断 NF- κ B 通路的激活, 可以达到治疗 MYD88 突变淋巴瘤的目的^[55]。KT-413 现已进入 I 期临床试验, 评估其安全性、耐受性和进行药代动力学评价。

BCL-XL 蛋白是 B 淋巴细胞瘤-2 (B lymphocytoma-2, BCL-2)蛋白家族中的一员, 主要通过线粒体途径发挥抗细胞凋亡作用^[56]。研究发现, BCL-XL 的过表达会促使肿瘤细胞产生耐药性, 降低肿瘤的治疗效果。基于此, Dialectic Therapeutics 公司研发了一个可以靶向 BCL-XL 的 PROTAC 药物 DT2216, 它可以通过招募 VHL, 使 BCL-XL 泛素化降解^[57]。临床前实验表明, DT2216 可以选择性地杀死 BCL-XL 依赖的 T 细胞淋巴瘤细胞, 而不会引起显著的血小板毒性^[58]。当其作为单一药物或与其他化疗药物联合使用时, 还可有效抑制包括 MDA-MB231 乳腺癌在内的几种异种移植瘤的生长, 这些均表明 DT2216 有能够成为一种安全抗肿瘤药物的潜力。

5 总结与展望

综上所述, 细胞内各个分布区域的靶点蛋白均有相应的 PROTAC 分子进入临床试验阶段, 表明 PROTAC 在药物研发领域具备一定的发展潜力和研发可行性。随着计算机模拟和高通量筛选技术的发展, PROTAC 的作用靶点逐渐增多, 但近几年进入临床试验阶段的 PROTAC 药物主要集中于核内蛋白, 尤其是 AR 蛋白。在研发阶段方面, PROTACs 还未有上市药物出现, ARV-110 和 ARV-471 是目前研发进展最快的两款药物, 现处于 II 期临床试验。当前进入临床试验阶段的 PROTAC 药物在 E3 连接酶的利用上主要集中在 CRBN, 其他的 E3 连接酶则涉及较少。在配体类型方面, 目前进入临床试验阶段 PROTAC 药物的 POI 和 E3 连接酶的配体主要为非共价化合物, 共价化合物较少涉及。目前 PROTAC 已进入快速发展阶段, 越来越多的药物研发公司参与到 PROTAC 药物开发, 涉及到的靶点也逐渐增多, 但总体上各靶点的侧重点和研究深度不同, 分子设计上还没有形成成熟的体系。此外, PROTAC 需借助 UPS 实现靶蛋白降解, 当前主要用于靶向胞内蛋白相关药物的研发, 对于胞外蛋白的降解和临床研究, 还需进一步探索和发展^[59]。

本课题组长期从事共价药物研究, 共价抑制剂具有延长药物-靶点停留时间、高效、低剂量、高选择性和药效学优越等特点, 在 PROTACs 药物研发领域具备良好的发展潜力^[60-62]。通过筛选获得共价抑制剂作为 POI 的结合配体用于构建共价 PROTAC, 能够实现共价抑制剂和 PROTAC 优势的双重结合^[63]。非共价 PROTAC 的 POI 和配体通过非共价键发挥作用, 两者之间的结合需要较高药物暴露量, 而过高浓度的 PROTAC 不利于三元复合物的形成, 反而促进

二元复合物(POI·PROTAC 或 PROTAC·E3)的产生, 造成钩效应(hook effect)^[64]。共价结合配体则通过形成共价键发挥作用, 能够使 PROTAC 靶向降解“不可成药”蛋白, 提高靶标亲和力, 有助于三元复合物的形成^[65]。根据 POI 和共价配体的结合方式不同, 共价 PROTAC 可分为不可逆共价 PROTAC 和可逆共价 PROTAC。通过合理选择 POI 的配体类型, 共价 PROTAC 能够在低剂量浓度下取得比非共价 PROTAC 更好的药效, 也能缓解由脱靶效应带来的毒副作用^[66]。Tinworth 等^[67]在 2019 年合成了基于伊布替尼靶向 BTK 的共价 PROTAC, 实验结果显示 BTK 没有被降解。研究人员推测, POI 的不可逆共价结合配体可能会使 PROTAC 分子只能实现一个催化循环, 使药物效力降低, 随后将目光转向了可逆共价结合 POI 的 PROTAC^[68]。理论上, 可逆共价结合 POI 的 PROTAC 在 POI 被降解后能够解离和再生, 不仅可以受益于伴随共价结合带来的高效、高选择性和作用时间长等优点, 还不影响 PROTAC 的亚化学计量活性。Guo 等^[69]在 2020 年合成了一款通过可逆共价结合 BTK 发挥作用的 PROTAC 分子 RC-1。结果显示, RC-1 能有效诱导 MOLM-14 细胞中的 BTK 降解, DC_{50} 为 6.6 nmol/L。同年, Gabizon 等^[66]也合成了一款通过可逆共价结合 BTK 的 PROTAC 分子 RC-3, 其作用于 Mino 细胞的 DC_{50} 值低于 10 nmol/L, D_{max} 接近 90%。此外, 通过不可逆共价修饰 E3 连接酶, 还可以将三元复合物变成相对更稳定的二元复合物(POI·PROTAC-modified E3·POI), 显著提高降解动力学^[70-72]。这些研究均表明共价 PROTAC 具备良好的发展前景, 能够为今后 PROTAC 药物的研发提供新思路和方向。本课题组提出的 SCARdock 共价抑制剂虚拟筛选方法将有助于 POI 共价抑制剂的高通量筛选, 也有望为共价 PROTAC 的发现提供新的

途径^[73-77]。

在未来 PROTAC 的发展中, 如何扩大 POI 和 E3 连接酶的应用范围, 以及进一步评估和确定哪些 E3 连接酶可以更好地用于诱导 POI 的降解将会格外重要。利用计算机模拟和高通量筛选技术获得 POI 的可逆共价抑制剂和 E3 连接酶的不可逆共价抑制剂, 开发一种可以“即插即用”的共价 PROTAC 合成方法, 都将极大地推动 PROTAC 的发展。

REFERENCES

- [1] HINES J, GOUGH JD, CORSON TW, CREWS CM. Posttranslational protein knockdown coupled to receptor tyrosine kinase activation with phospho PROTACs[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(22): 8942-8947.
- [2] WANG Y, JIANG XY, FENG F, LIU WY, SUN HP. Degradation of proteins by PROTACs and other strategies[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(2): 207-238.
- [3] 张晓元, 张艳艳, 孙晓康, 张林军, 陈勉, 刘飞. 靶向蛋白质降解技术研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(1): 171-182.
ZHANG XY, ZHANG YY, SUN XK, ZHANG LJ, CHEN M, LIU F. Research progress of targeted protein degradation technology[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2022, 49(1): 171-182 (in Chinese).
- [4] LU T, LU WC, LUO C. A patent review of BRD4 inhibitors (2013-2019)[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2020, 30(1): 57-81.
- [5] 余赛红, 王孝举, 郑晓亮, 于洁. 蛋白质降解靶向嵌合体的研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2021, 56(11): 861-867.
YU SH, WANG XJ, ZHENG XL, YU J. Advances in proteolysis targeting chimeras[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2021, 56(11): 861-867 (in Chinese).
- [6] 占莹, 王涛, 柳长柏. 蛋白水解靶向嵌合体应用于恶性肿瘤治疗的实验研究进展[J]. *中国新药与临床杂志*, 2022, 41(7): 393-398.
ZHAN Y, WANG T, LIU CB. Experimental research progress of proteolysis targeting chimeras in treatment of malignant tumors[J]. *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies*, 2022, 41(7): 393-398 (in Chinese).
- [7] BONDESON DP, SMITH BE, BURSLEM GM, BUHIMSCHI AD, HINES J, JAIME-FIGUEROA S, WANG J, HAMMAN BD, ISHCENKO A, CREWS CM. Lessons in PROTAC design from selective degradation with a promiscuous warhead[J]. *Cell Chemical Biology*, 2018, 25(1): 78-87.e5.
- [8] 李金秀, 董何伟, 侯卫. 基于 PROTAC 技术的靶向 CDK9 小分子降解剂的研究进展[J]. *药学学报*, 2022, 57(9): 2696-2708.
LI JX, DONG HW, HOU W. Recent progress of targeted small molecular CDK9 degraders based on PROTAC technology[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2022, 57(9): 2696-2708 (in Chinese).
- [9] 王瑞峰, 杨博文, 赵冬梅, 程卯生. 蛋白降解靶向嵌合体(ProTAC)的研究进展[J]. *中国药物化学杂志*, 2019, 29(3): 234-240.
WANG RF, YANG BW, ZHAO DM, CHENG MS. Research progress on PROTAC inducing protein degradation[J]. *Chinese Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 29(3): 234-240 (in Chinese).
- [10] SAKAMOTO KM, KIM KB, KUMAGAI A, MERCURIO F, CREWS CM, DESHAIES RJ. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(15): 8554-8559.
- [11] GAO HY, SUN XY, RAO Y. PROTAC technology: opportunities and challenges[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 11(3): 237-240.
- [12] BURSLEM GM, CREWS CM. Proteolysis-targeting chimeras as therapeutics and tools for biological discovery[J]. *Cell*, 2020, 181(1): 102-114.
- [13] RAVID T, HOCHSTRASSER M. Diversity of degradation signals in the ubiquitin-proteasome system[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2008, 9(9): 679-689.
- [14] PAIVA SL, CREWS CM. Targeted protein degradation: elements of PROTAC design[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2019, 50: 111-119.
- [15] BRICELJ A, STEINEBACH C, KUČHTA R, GÜTSCHOW M, SOSIČ I. E3 ligase ligands in successful PROTACs: an overview of syntheses and linker attachment points[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2021, 9: 707317.
- [16] DONOVAN KA, FERGUSON FM, BUSHMAN JW, ELEUTERI NA, BHUNIA D, RYU S, TAN L, SHI K,

- YUE H, LIU XX, DOBROVOLSKY D, JIANG BS, WANG JH, HAO MF, YOU I, TENG MX, LIANG YK, HATCHER J, LI ZN, MANZ TD, et al. Mapping the degradable kinome provides a resource for expedited degrader development[J]. *Cell*, 2020, 183(6): 1714-1731.e10.
- [17] JIN JM, WU Y, CHEN JJ, SHEN YW, ZHANG LJ, ZHANG H, CHEN LL, YUAN HB, CHEN HZ, ZHANG WD, LUAN X. The peptide PROTAC modality: a novel strategy for targeted protein ubiquitination[J]. *Theranostics*, 2020, 10(22): 10141-10153.
- [18] CROMM PM, SAMARASINGHE KTG, HINES J, CREWS CM. Addressing kinase-independent functions of fak via PROTAC-mediated degradation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2018, 140(49): 17019-17026.
- [19] MESSNER EA, STEELE TM, TSAMOURI MM, HEJAZI N, GAO AC, MUDRYJ M, GHOSH PM. The androgen receptor in prostate cancer: effect of structure, ligands and spliced variants on therapy[J]. *Biomedicines*, 2020, 8(10): 422.
- [20] CONTEDEUCA V, GURIOLI G, BRIGHI N, LOLLI C, SCHEPISI G, CASADEI C, BURGIO SL, GARGIULO S, RAVAGLIA G, ROSSI L, ALTAVILLA A, FAROLFI A, MENNA C, COLANGIONE SP, PULVIRENTI M, ROMEO A, de GIORGI U. Plasma androgen receptor in prostate cancer[J]. *Cancers*, 2019, 11(11): 1719.
- [21] 端木彦涛, 胥骞, 夏宇, 曹建中, 卢茂芳, 王福东, 彭东明. PROTAC 蛋白靶向嵌合体在抗肿瘤药物开发中研究进展[J]. *中国药师*, 2022, 25(8): 1424-1430. DUANMU YT, XU Q, XIA Y, CAO JZ, LU MF, WANG FD, PENG DM. Research progress in PROTAC in the development of anti-tumor drugs[J]. *China Pharmacist*, 2022, 25(8): 1424-1430 (in Chinese).
- [22] 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[J]. *Molecules*, 2022, 27(6): 1977.
- [23] FUENTES N, SILVEYRA P. Estrogen receptor signaling mechanisms[J]. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 2019, 116: 135-170.
- [24] ELSHAL M, EID N, EL-SAYED I, EL-SAYED W, ALI AL-KARMALAWY A. Concanavalin-a shows synergistic cytotoxicity with tamoxifen via inducing apoptosis in estrogen receptor-positive breast cancer: *in vitro* and molecular docking studies[J]. *Pharmaceutical Sciences*, 2021, 28(1): 76-85.
- [25] FLANAGAN JJ, QIAN Y, GOUGH SM, ANDREOLI M, BOOKBINDER M, CADELINA G, BRADLEY J, ROUSSEAU E, WILLARD R, PIZZANO J, CREWS CM, CREW AP, TAYLOR I, HOUSTON J. Abstract P5-04-18: ARV-471, an oral estrogen receptor PROTAC degrader for breast cancer[J]. *Cancer Research*, 2019, 79(4_supplement): P5-4.
- [26] HE W, ZHANG H, PERKINS L, BOUZA L, LIU K, QIAN YM, FAN J. Abstract PS18-09: novel chimeric small molecule AC682 potently degrades estrogen receptor with oral anti-tumor efficacy superior to fulvestrant[J]. *Cancer Research*, 2021, 81(4_supplement): PS18-9.
- [27] WELLAWAY CR, BAMBOROUGH P, BERNARD SG, CHUNG CW, CRAGGS PD, CUTLER L, DEMONT EH, EVANS JP, GORDON L, KARAMSHI B, LEWIS AJ, LINDON MJ, MITCHELL DJ, RIOJA I, SODEN PE, TAYLOR S, WATSON RJ, WILLIS R, WOOLVEN JM, WYSPIAŃSKA BS, et al. Structure-based design of a bromodomain and extraterminal domain (BET) inhibitor selective for the N-terminal bromodomains that retains an anti-inflammatory and antiproliferative phenotype[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 63(17): 9020-9044.
- [28] KULIKOWSKI E, RAKAI BD, WONG NCW. Inhibitors of bromodomain and extra-terminal proteins for treating multiple human diseases[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2021, 41(1): 223-245.
- [29] 谢妙红, 高明明, 凌佳楠, 杜文婷. 小分子蛋白降解靶向嵌合体的研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(22): 2891-2899. XIE MH, GAO MM, LING JN, DU WT. Research progress on small-molecule proteolytic targeting chimera[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2021, 38(22): 2891-2899 (in Chinese).
- [30] HOHMANN AF, MARTIN LJ, MINDER JL, ROE JS, SHI JW, STEURER S, BADER G, MCCONNELL D, PEARSON M, GERSTBERGER T, GOTTSCHAMEL T, THOMPSON D, SUZUKI Y, KOEGL M, VAKOC CR. Sensitivity and engineered resistance of myeloid leukemia cells to BRD9 inhibition[J]. *Nature Chemical Biology*, 2016, 12(9): 672-679.
- [31] ROSENMAYR-TEMPLETON L. An industry update: what's new in the field of therapeutic delivery?[J]. *Therapeutic Delivery*, 2022, 13(4): 211-220.
- [32] KNUTSEN A. New cancer treatments lead to new strategic options[J]. *Genetic Engineering &*

- Biotechnology News, 2022, 42(1): 42-45.
- [33] FISCHER F, ALVES AVELAR LA, MURRAY L, KURZ T. Designing HDAC-PROTACs: lessons learned so far[J]. *Future Medicinal Chemistry*, 2022, 14(3): 143-166.
- [34] JACKSON KL, AGAFONOV RV, CARLSON MW, CHATURVEDI P, COCOZZIELLO D, COLE K, DEIBLER R, ERON SJ, GOOD A, HART AA, HE MS, HENDERSON CS, HUANG HW, ISASA M, KIRBY RJ, LEE LD, MAHLER M, MOUSTAKIM M, NASVESCHUK CG, PALMER M, et al. Abstract ND09: the discovery and characterization of CFT8634: a potent and selective degrader of BRD9 for the treatment of SMARCB1-perturbed cancers[J]. *Cancer Research*, 2022, 82(12_supplement): ND09.
- [35] NUNES-SANTOS CJ, KUEHN HS, ROSENZWEIG SD. IKAROS family zinc finger 1-associated diseases in primary immunodeficiency patients[J]. *Immunology and Allergy Clinics*, 2020, 40(3): 461-470.
- [36] CYTLAK U, RESTEU A, BOGAERT D, KUEHN HS, ALTMANN T, GENNERY A, JACKSON G, KUMANOVICS A, VOELKERDING KV, PRADER S, DULLAERS M, REICHENBACH J, HILL H, HAERYNCK F, ROSENZWEIG SD, COLLIN M, BIGLEY V. Ikaros family zinc finger 1 regulates dendritic cell development and function in humans[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 1239.
- [37] BERDEJA J, AILAWADHI S, HORWITZ SM, MATOUS JV, MEHTA-SHAH N, MARTIN T, MUCHTAR E, RICHARDSON PG, RICHARD S, BHUTANI M, YEE AJ, PALMER MR, GORMAN C, SCHOENBORN-KELLENBERGER O, BILIC S, CRYSTAL A, MAHLER M, LONIAL S. A phase 1 study of CFT7455, a novel degrader of IKZF1/3, in multiple myeloma and non-Hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2021, 138(supplement 1): 1675.
- [38] HENDERSON JA, KIRBY RJ, PERINO S, AGAFONOV RV, CHATURVEDI P, CLASS B, COCOZZIELLO D, ERON SJ, GOOD A, HART AA, HENDERSON C, ISASA M, LADD B, SCHNADERBECK M, MAHLER M, POLLOCK RM, CRYSTAL AS, NASVESCHUK CG, PHILLIPS AJ, FISHER SL, et al. Abstract LB007: CFT7455: a novel, IKZF1/3 degrader that demonstrates potent tumor regression in IMiD-resistant multiple myeloma (MM) xenograft models[J]. *Cancer Research*, 2021, 81(13_supplement): LB007.
- [39] 王媛, 龙菁, 唱祺, 胡维稳, 胡高云, 李乾斌. 小分子 PROTAC 在不同靶点研究中的应用[J]. *药学学报*, 2020, 55(3): 446-452.
- WANG Y, LONG J, CHANG Q, HU WW, HU GY, LI QB. The application of small molecule PROTAC in researches of different targets[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2020, 55(3): 446-452 (in Chinese).
- [40] NAGANO T, TACHIHARA M, NISHIMURA Y. Mechanism of resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors and a potential treatment strategy[J]. *Cells*, 2018, 7(11): 212.
- [41] STADLMANN S, GUETH U, REISER U, DIENER PA, ZEIMET AG, WIGHT E, MIRLACHER M, SAUTER G, MIHATSCH MJ, SINGER G. Epithelial growth factor receptor status in primary and recurrent ovarian cancer[J]. *Modern Pathology*, 2006, 19(4): 607-610.
- [42] 姜琳, 张敬博, 胡嘉淇, 齐海翔, 许恒. 蛋白降解靶向嵌合体在非小细胞肺癌治疗中的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2022, 25(7): 477-481.
- JIANG L, ZHANG JB, HU JQ, QI HX, XU H. Research progress of proteolysis targeting chimera in NSCLC therapy[J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2022, 25(7): 477-481 (in Chinese).
- [43] KARGBO RB. PROTAC compounds targeting TRK for use in cancer therapeutics[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 11(6): 1090-1091.
- [44] 杨竣喆, 许子超, 李淳朴, 程远征, 柳红. 原肌球蛋白受体激酶(TRK)抑制剂的研究进展[J]. *有机化学*, 2022, 42(7): 2055-2069.
- YANG JZ, XU ZC, LI CP, CHENG YZ, LIU H. Research progress of tropomyosin receptor kinase (TRK) inhibitors[J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2022, 42(7): 2055-2069 (in Chinese).
- [45] WEN TY, WANG JS, SHI YK, QIAN HL, LIU P. Inhibitors targeting Bruton's tyrosine kinase in cancers: drug development advances[J]. *Leukemia*, 2021, 35(2): 312-332.
- [46] TAM CS, CHEAH C, STEVENS DA, BY K, CHEN X, TARIQ B, VOSGANIAN GS, HUANG J, ALWAN M. P 686: a phase 1 first in-human study of BGB-16673, a Bruton tyrosine kinase protein degrader, in patients (PTS) with B-cell malignancies (trial in progress)[J]. *HemaSphere*, 2022, 6: 582-583.
- [47] MATO AR, WIERDA WG, AI WZ, FLINN IW, TEES M, PATEL MR, PATEL K, O'BRIEN S, BOND DA, ROEKER LE, SIDDIQI T, WANG ML, SUN C, ABDEL-WAHAB O, SCHWAB A, TAN M, MEREDITH E, GESSNER MA, KIM SY, WIESTNER A, et al. NX-2127-001, a first-in-human trial of

- NX-2127, a Bruton's tyrosine kinase-targeted protein degrader, in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia and B-cell malignancies[J]. *Blood*, 2022, 140(supplement 1): 2329-2332.
- [48] ROBBINS DW, NOVISKI M, ROUNTREE R, TAN M, BRATHABAN N, INGALLINERA T, KARR DE, KELLY A, KONST Z, MA J, TENN-MCCLELLAN A, MCKINNELL J, PEREZ L, GUIDUCCI C, HANSEN G, SANDS A. Nx-5948, a selective degrader of BTK with activity in preclinical models of hematologic and brain malignancies[J]. *Blood*, 2021, 138(supplement 1): 2251.
- [49] LOH CY, ARYA A, NAEMA AF, WONG WF, SETHI G, LOOI CY. Signal transducer and activator of transcription (STATs) proteins in cancer and inflammation: functions and therapeutic implication[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 48.
- [50] LEVY DE, LEE CK. What does Stat3 do?[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 109(9): 1143-1148.
- [51] SILVA MC, FERGUSON FM, CAI Q, DONOVAN KA, NANDI G, PATNAIK D, ZHANG TH, HUANG HT, LUCENTE DE, DICKERSON BC, MITCHISON TJ, FISCHER ES, GRAY NS, HAGGARTY SJ. Targeted degradation of aberrant tau in frontotemporal dementia patient-derived neuronal cell models[J]. *eLife*, 2019, 8: 45457.
- [52] LIU PC, DIXIT V, MAYO M, DEY J, YUAN KR, KARNIK R, WALTHER D, SHI YT, SHARMA K, RONG HJ, YANG B, GOLLERKERI A, GOLLOB J, DESAVI C. A first-in-class STAT3 degrader KT-333 in development for treatment of hematologic cancers[J]. *Blood*, 2021, 138(supplement 1): 1865.
- [53] de S, KARIM F, KIESSU E, CUSHING L, LIN LL, GHANDIL P, HOARAU C, CASANOVA JL, PUEL A, RAO VR. Mechanism of dysfunction of human variants of the IRAK4 kinase and a role for its kinase activity in interleukin-1 receptor signaling[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2018, 293(39): 15208-15220.
- [54] KLAUS CR, RUSIN SF, SHARMA K, BHADURI S, WEISS MM, MCDONALD AA, MAYO MF, WALKER D, KARNIK R. Abstract LB118: mechanisms underlying synergistic activity in MYD88MTDLBCL of KT-413, a targeted degrader of IRAK4 and IMiD substrate[J]. *Cancer Research*, 2021, 81(13_supplement): LB118.
- [55] LUE JK, STEVENS DA, WILLIAMS ME, WESTIN J, EWESUEDO R, MCDONALD A, AGARWAL S, HENRICK P, PEREA R, GOLLOB J. Phase 1 study of KT-413, a targeted protein degrader of IRAK4 and IMiD substrates, in adult patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2022, 140(supplement 1): 12143-12144.
- [56] LUCIANÒ AM, PÉREZ-OLIVA AB, MULERO V, del BUFALO D. Bcl-xL: a focus on melanoma pathobiology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(5): 2777.
- [57] KHAN S, ZHANG X, LV DW, ZHANG Q, HE YH, ZHANG PY, LIU XG, THUMMURI D, YUAN YX, WIEGAND JS, PEI J, ZHANG WZ, SHARMA A, MCCURDY CR, KURUVILLA VM, BARAN N, FERRANDO AA, KIM YM, ROGOJINA A, HOUGHTON PJ, et al. A selective BCL-XL PROTAC degrader achieves safe and potent antitumor activity[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(12): 1938-1947.
- [58] HE YH, KOCH R, BUDAMAGUNTA V, ZHANG PY, ZHANG X, KHAN S, THUMMURI D, ORTIZ YT, ZHANG X, LV DW, WIEGAND JS, LI W, PALMER AC, ZHENG GR, WEINSTOCK DM, ZHOU DH. DT2216—a Bcl-xL-specific degrader is highly active against Bcl-xL-dependent T cell lymphomas[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2020, 13(1): 1-13.
- [59] CAIANIELLO DF, ZHANG MW, RAY JD, HOWELL RA, SWARTZEL JC, BRANHAM EMJ, CHIRKIN E, SABBASANI VR, GONG AZ, MCDONALD DM, MUTHUSAMY V, SPIEGEL DA. Bifunctional small molecules that mediate the degradation of extracellular proteins[J]. *Nature Chemical Biology*, 2021, 17(9): 947-953.
- [60] SUTANTO F, KONSTANTINIDOU M, DÖMLING A. Covalent inhibitors: a rational approach to drug discovery[J]. *RSC Medicinal Chemistry*, 2020, 11(8): 876-884.
- [61] de CESCO S, KURIAN J, DUFRESNE C, MITTERMAIER AK, MOITESSIER N. Covalent inhibitors design and discovery[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 138: 96-114.
- [62] ZHAO HY, WANG HP, MAO YZ, ZHANG H, XIN M, XI XX, LEI H, MAO S, LI DH, ZHANG SQ. Discovery of potent PROTACs targeting EGFR mutants through the optimization of covalent EGFR ligands[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 65(6): 4709-4726.
- [63] LU D, YU X, LIN HF, CHENG R, MONROY EY, QI XL, WANG MC, WANG J. Applications of covalent chemistry in targeted protein degradation[J]. *Chemical*

- Society Reviews, 2022, 51(22): 9243-9261.
- [64] MOREAU K, COEN M, ZHANG AX, PACHL F, CASTALDI MP, DAHL G, BOYD H, SCOTT C, NEWHAM P. Proteolysis-targeting chimeras in drug development: a safety perspective[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2020, 177(8): 1709-1718.
- [65] KIELY-COLLINS H, WINTER GE, BERNARDES GJ. The role of reversible and irreversible covalent chemistry in targeted protein degradation[J]. *Cell Chemical Biology*, 2021, 28(7): 952-968.
- [66] GABIZON R, SHRAGA A, GEHRTZ P, LIVNAH E, SHORER Y, GURWICZ N, AVRAM L, UNGER T, AHARONI H, ALBECK S, BRANDIS A, SHULMAN Z, KATZ BZ, HERISHANU Y, LONDON N. Efficient targeted degradation *via* reversible and irreversible covalent PROTACs[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(27): 11734-11742.
- [67] TINWORTH CP, LITHGOW H, DITTUS L, BASSI ZI, HUGHES SE, MUELBAIER M, DAI H, SMITH IED, KERR WJ, BURLEY GA, BANTSCHIEFF M, HARLING JD. PROTAC-mediated degradation of Bruton's tyrosine kinase is inhibited by covalent binding[J]. *ACS Chemical Biology*, 2019, 14(3): 342-347.
- [68] GABIZON R, LONDON N. The rise of covalent proteolysis targeting chimeras[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2021, 62: 24-33.
- [69] GUO WH, QI XL, YU X, LIU Y, CHUNG CI, BAI F, LIN XC, LU D, WANG LF, CHEN JW, SU LH, NOMIE KJ, LI F, WANG MC, SHU XK, ONUCHIC JN, WOYACH JA, WANG ML, WANG J. Enhancing intracellular accumulation and target engagement of PROTACs with reversible covalent chemistry[J]. *Nature Communications*, 2020, 11: 4268.
- [70] ZHOU YQ, XIAO YL. Chemoproteomic-driven discovery of covalent PROTACs[J]. *Biochemistry*, 2020, 59(2): 128-129.
- [71] ZHENG SJ, CREWS CM. Electrophilic screening platforms for identifying novel covalent ligands for E3 ligases[J]. *Biochemistry*, 2021, 60(31): 2367-2370.
- [72] NALAWANSHA DA, CREWS CM. PROTACs: an emerging therapeutic modality in precision medicine[J]. *Cell Chemical Biology*, 2020, 27(8): 998-1014.
- [73] SONG Q, WANG ZY, LIU S. Discovery of covalent drugs targeting the key enzymes of SARS-CoV-2 using SCARdock[J]. In *Silico Modeling of Drugs Against Coronaviruses: Computational Tools and Protocols*, 2021: 291-306.
- [74] LI QZ, WANG ZY, ZHENG Q, LIU S. Potential clinical drugs as covalent inhibitors of the priming proteases of the spike protein of SARS-CoV-2[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2020, 18: 2200-2208.
- [75] ZHANG Y, ZHENG Q, ZHOU Y, LIU S. Repurposing clinical drugs as AdoMetDC inhibitors using the SCAR strategy[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 248.
- [76] AI YB, YU LL, TAN X, CHAI XY, LIU S. Discovery of covalent ligands *via* noncovalent docking by dissecting covalent docking based on a "steric-clashes alleviating receptor (SCAR)" strategy[J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2016, 56(8): 1563-1575.
- [77] LIU S, ZHENG Q, WANG ZY. Potential covalent drugs targeting the main protease of the SARS-CoV-2 coronavirus[J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(11): 3295-3298.

(本文责编 郝丽芳)