

· 综 述 ·

# 靶向递送蛋白水解靶向嵌合体在癌症治疗中的研究进展

吴小波<sup>1,2</sup>, 赵婕<sup>1,2</sup>, 高远<sup>2</sup>, 姚庆鑫<sup>2,3\*</sup>, 谢建军<sup>1\*</sup>

1 中南林业科技大学材料科学与工程学院, 湖南 长沙 410004

2 国家纳米科学中心 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 北京 100190

3 北京化工大学材料科学与工程学院, 北京 100029

吴小波, 赵婕, 高远, 姚庆鑫, 谢建军. 靶向递送蛋白水解靶向嵌合体在癌症治疗中的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3628-3643.

WU Xiaobo, ZHAO Jie, GAO Yuan, YAO Qingxin, XIE Jianjun. Advances in targeted delivery of proteolysis targeting chimeras in cancer therapy[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3628-3643.

**摘 要:** 小分子抗癌药物通过靶向特定蛋白来抑制肿瘤生长, 但大部分致病蛋白被认为是“不可成药”的。蛋白水解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimeras, PROTAC)通过靶向降解目标蛋白来抑制肿瘤细胞生长, 是一项非常有潜力的新技术。本文在介绍传统多肽型 PROTAC 和小分子型 PROTAC 基础上, 详细总结了靶向递送型 PROTAC 的最新研究进展, 主要包括识别分子介导靶向 PROTAC、纳米材料介导靶向 PROTAC 和可控激活小分子 PROTAC 前药。研究表明, 靶向递送型 PROTAC 在提高肿瘤细胞特异性、减少脱靶效应和降低生物毒性等方面具有潜在应用价值。最后, 本文对 PROTAC 的成药性进行了展望。

**关键词:** 蛋白水解靶向嵌合体; 蛋白降解; 靶向递送; 癌症; 抗癌药物

资助项目: 国家自然科学基金(51873046, 51903064)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (51873046, 51903064).

\*Corresponding authors. E-mail: XIE Jianjun, xiejianjun12@sina.com; YAO Qingxin, yaoqx@nanoctr.cn

Received: 2023-01-04; Accepted: 2023-03-21; Published online: 2023-03-23

# Advances in targeted delivery of proteolysis targeting chimeras in cancer therapy

WU Xiaobo<sup>1,2</sup>, ZHAO Jie<sup>1,2</sup>, GAO Yuan<sup>2</sup>, YAO Qingxin<sup>2,3\*</sup>, XIE Jianjun<sup>1\*</sup>

1 School of Materials Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hunan, China

2 CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials & Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China

3 School of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** Small-molecule anticancer drugs inhibited tumor growth based on targeted inhibition of specific proteins, while most of oncogenic proteins are “undruggable”. Proteolysis targeting chimeras (PROTAC) is an attractive and general strategy for treating cancer based on targeted degradation of oncogenic proteins. This review briefly describes the peptide-based PROTAC and small molecule-based PROTAC. Subsequently, we summarize the development of targeted delivery of PROTAC, such as targeting molecule-mediated targeted delivery of PROTAC, nanomaterial-mediated targeted delivery of PROTAC and controllable activation of small-molecular PROTAC prodrug. Such strategies show potential application in improving tumor selectivity, overcoming off-target effect and reducing biotoxicity. At the end, the druggability of PROTAC is prospected.

**Keywords:** proteolysis targeting chimeras; protein degrades; targeted delivery; cancer; anticancer drugs

2022 年癌症统计数据显示, 癌症是威胁人类的主要问题之一<sup>[1]</sup>。在抗癌药物开发中, 小分子药物大多通过非共价结合来抑制致病蛋白活性, 所需药物浓度较高, 且癌细胞可能通过靶蛋白过表达或突变而产生耐药性<sup>[2]</sup>。蛋白水解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimeras, PROTAC)通过选择性降解目标蛋白来实现抗肿瘤功效<sup>[3-5]</sup>。PROTAC 由目标蛋白(protein of interest, POI)配体、连接链(linker)和 E3 连接酶(E3 ligase)配体 3 部分组成, 是一种能特异性识别目标蛋白并招募 E3 连接酶的双功能分子。通过形成“目标蛋白-PROTAC-E3 连接酶”(POI-PROTAC-E3)三元复合物, 使目标蛋白被泛素分子标记, 并通过泛素-蛋白酶体系统(ubiquitin-proteasome system, UPS)完成降解。在完成目标蛋白的泛素化后,

PROTAC 分子从三元复合物中解离, 用于靶向降解下一个目标蛋白, 由此进入迭代循环<sup>[6]</sup>(图 1)。与小分子抑制剂相比, PROTAC 在较低药物浓度下即可实现目标蛋白降解, 降低了脱靶效应对正常组织毒副作用<sup>[7-8]</sup>。Arvinas 公司研发的针对雌激素受体和雄激素受体的 PROTAC 分子 ARV-110 和 ARV-471, 在临床 II 期中表现出理想安全性和临床活性<sup>[9-10]</sup>。PROTAC 技术的出现为新药开发带来了新机遇, 引发了学术界和工业界积极探索<sup>[11-14]</sup>。

## 1 多肽型 PROTAC

作为概念验证, 2001 年 Crews 和 Deshaies 团队<sup>[15]</sup>首次将募集 E3 连接酶 Skp1-Cullin-F box <sup>$\beta$ -TRCP</sup> (SCF <sup>$\beta$ -TRCP</sup>)的 Ikb $\alpha$  磷酸肽和血管生成

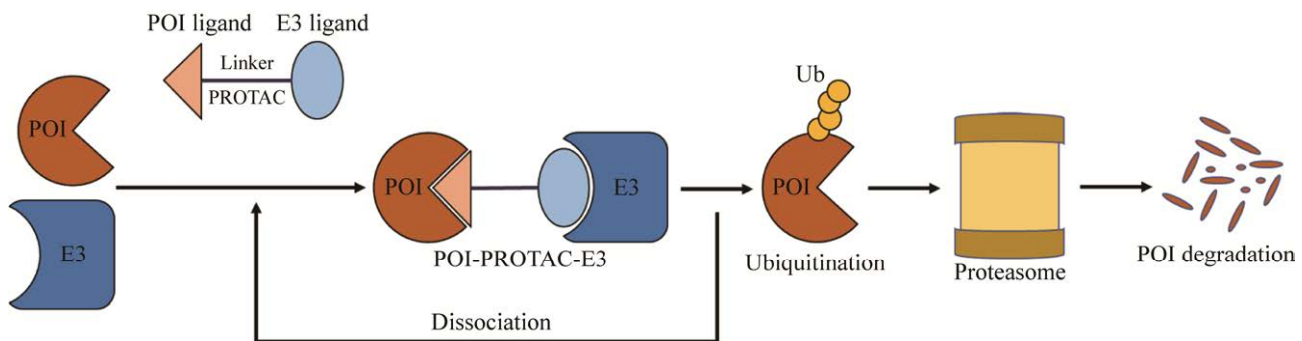


图1 PROTAC的作用机理<sup>[6]</sup>

Figure 1 The mechanism of PROTAC<sup>[6]</sup>.

抑制剂卵假散囊菌素结合用于甲硫氨酰氨肽酶-2 (methionine aminopeptidase-2, MetAP-2)降解。由于设计的 PROTAC-1 分子共价结合靶蛋白 MetAP-2, 限制了其循环使用特性, 此外, 分子量较大的 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸肽导致 PROTAC-1 无法穿透细胞膜, 限制了该分子的应用。随后, 他们设计了非共价天然底物的 PROTAC-2 和 PROTAC-3 分子<sup>[16]</sup>, 分别将雌二醇(estradiol, E2)和二氢睾酮(dihydroxytestosterone, DHT)与 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸肽相连, 通过显微注射, 在 10  $\mu$ mol/L 浓度下诱导胞内雌激素受体和雄激素受体降解, 但该类分子极易被细胞内磷酸酶水解, 导致稳定性降低。2004 年, Crews 团队<sup>[17]</sup>基于 E3 连接酶冯·希佩尔-林道(von Hippel-Lindau, VHL)最小识别域, 以及缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ , HIF1 $\alpha$ ) 衍生肽 ALAPYIP, 将多聚 D-精氨酸标签偶联在 ALAPYIP 羧基末端, 设计了首个穿膜 PROTAC 分子, 在稳定表达雄激素受体绿色荧光融合蛋白的人胚肾细胞中检测到了雄激素受体降解。细胞穿透性 PROTAC 的开发, 为实现体内致病蛋白降解提供了可能。多肽型 PROTAC 采用多肽序列作为 E3 连接酶配体, 导致该类 PROTAC 分子具有较大分子量, 因而细胞渗透性较差, 且肽键在体内极易水解, 使 PROTAC 分子稳定

性降低。

## 2 小分子型 PROTAC

2008 年, Crews 团队<sup>[18]</sup>报道了第一个基于小分子的 PROTAC, 以可溶性聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)为连接链, 将选择性雄激素受体调节剂(selective androgen receptor modular, SARM)和 E3 连接酶小鼠双微体 2 (murine double minute 2, MDM2)的抑制剂 Nutlin-3 组合到一起, 制备得到较低分子量的 PROTAC 分子, 在 10  $\mu$ mol/L 浓度下与人宫颈癌细胞共孵育 7 h, 可明显观察到雄激素受体降解。同期, Naito 团队<sup>[19]</sup>发现细胞凋亡抑制蛋白 1 (cellular inhibitor of apoptosis protein 1, cIAP1)的配体贝他定(bestatin)衍生物可促进 cIAP1 自泛素化和降解。基于此, Hashimoto 团队<sup>[20]</sup>报道了第一个利用 E3 连接酶 cIAP1 介导细胞视黄醇结合蛋白 (cellular retinoic acid binding proteins-II, CRABP-II)降解的例子, 在 1  $\mu$ mol/L 浓度下与人纤维肉瘤细胞孵育 3 h, 即可观察到 CRABP-II 降解, 表现出足够细胞渗透性和降解活性, 用其处理人神经母细胞瘤细胞时, 发现细胞迁移明显受到抑制。但 cIAP1 配体脱靶会导致 cIAP1 自降解, 因此亟需开发高亲和力的配体或新的 E3 连接酶。自基于 E3 连接酶 VHL 多肽配体的 PROTAC 报道

以来<sup>[17,21]</sup>, 研究者一直在寻找替代 HIF1 $\alpha$  衍生物的小分子配体。Ciulli 团队<sup>[22-24]</sup>保留了羟脯氨酸部分结构域, 通过不断优化构效关系, 得到一系列高亲和力和特异性的 VHL 小分子配体。通过将 VHL 的配体 VHL-1 与溴结构域蛋白 4 (bromodomain containing protein 4, BRD4) 的抑制剂 JQ1 连接生成 MZ1 分子, 在 HeLa 细胞中以 0.1  $\mu\text{mol/L}$  浓度诱导 BRD4 降解, 显著提高了降解效率<sup>[24-25]</sup>。而后, 免疫调节药物 (immunomodulatory drugs, IMiDs) 沙利度胺及其衍生物来那度胺、泊马度胺被确认可作用于 E3 连接酶羟脑苷脂 (cereblon, CRBN)<sup>[26-28]</sup>, Bradner 团队<sup>[29]</sup>将 CRBN 的配体泊马度胺和 JQ1 相连合成了 dBET1 分子, 同样在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  浓度下成功诱导 BRD4 降解, 并建立了白血病小鼠模型来研究其体内治疗效果, 显示出良好药代动力学特性, 有效抑制了肿瘤生长。小分子型 PROTAC 由全小分子配体合成, 具有较低分子量, 有效提高了细胞渗透性, 但该类 PROTAC 选择性较差, 无法特异性累积在肿瘤部位, 脱靶效应可能给生物体带来潜在毒副作用。

### 3 靶向递送 PROTAC

虽然 PROTAC 提供了一种通用且高特异性靶向降解目标蛋白的方法, 给药物发现领域带来极大改变, 但 PROTAC 仍然面临较大挑战, 限制了 PROTAC 的临床效用。第一, PROTAC 分子量较大, 通常超过 800 Da, 导致其在水中溶解度较差, 生物利用度较低; 第二, PROTAC 的高极性表面限制了其组织通透性, 阻碍了其跨越生理屏障和细胞膜的能力; 第三, 由于疾病部位和正常组织中 E3 连接酶的非选择性表达, 导致 PROTAC 的脱靶效应, 往往会产生严重的副作用<sup>[30]</sup>。虽然分子结构优化有助于改善

PROTAC 某些物理化学性质, 但很难同时满足其在活体应用的所有需要。靶向药物递送系统可以成为一种有效替代策略, 通过将 PROTAC 分子负载到输送载体上, 靶向递送到病变部位, 并在病变部位时空可控释放 PROTAC 分子, 可最大限度提高 PROTAC 成药性<sup>[31]</sup>。药物递送系统在过去几十年的快速增长, 得益于载体材料在药物负载能力、长循环特性、病灶靶向能力以及刺激响应释放等特性上的不断改善, 以及治疗药物在疏水性、病灶选择性累积, 高生物利用度、低毒副作用等性能上的不断提高<sup>[32]</sup>。类似于传统小分子药物性能的改善, 近年, 研究人员不断整合 PROTAC 和药物递送系统的概念<sup>[33]</sup>, 开发了一系列靶向递送及刺激响应释放的 PROTAC 递送系统。

#### 3.1 识别分子介导靶向递送 PROTAC

配体-受体相互作用是指配体选择性识别受体并实现信号传递, 以此执行特定生理功能的过程<sup>[34]</sup>。在抗肿瘤领域, 利用配体和受体之间的相互作用能提高药物分子肿瘤靶向性<sup>[35]</sup>。例如, 利用癌细胞过表达的叶酸受体、抗原等<sup>[36-37]</sup>, 将相应的配体与 PROTAC 偶联, 可实现 PROTAC 主动靶向肿瘤组织, 减少正常细胞毒性。此外, 对于细胞内一些难以用小分子配体靶向的蛋白, 如 RNA 结合蛋白、转录因子等<sup>[38-39]</sup>, 通过适配体结合其特定位点, 亦可实现 PROTAC 递送并降解。

叶酸受体  $\alpha$  (folate receptor  $\alpha$ , FR $\alpha$ ) 在正常组织中表达有限, 但在乳腺癌、卵巢癌、肺癌等肿瘤组织中过表达<sup>[36]</sup>。Wei 团队<sup>[40]</sup>在 ARV-771 分子的基础上, 将叶酸分子与其相连, 合成了 Folate-ARV-771 分子。叶酸受体介导 Folate-ARV-771 进入癌细胞, 通过内源性水解酶去除叶酸基团释放 ARV-771, 实现胞内溴结构域蛋

白(bromodomains, BRDs)降解。正常细胞由于叶酸受体含量较低, Folate-ARV-771 不能结合到其表面, 因此不会干扰其生理活性(图 2A)。在人宫颈癌细胞、卵巢癌细胞和乳腺癌细胞中, Folate-ARV-771 对 BRDs 的降解效率与 ARV-771 几乎一致,  $IC_{50}$  无明显变化。正常细胞中, BRDs 的降解效率降低了 10 倍以上,  $IC_{50}$  由  $1.1 \mu\text{mol/L}$  变至  $10 \mu\text{mol/L}$  以上, 细胞毒性明显减弱。而后对丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MEK)和间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)融合蛋白进行验证, 发现叶酸偶联的 PROTAC 均能实现蛋白选择性降解。Jin 团队<sup>[43]</sup>也通过叶酸介导策略在间变性大细胞淋巴瘤细胞系和非小细胞肺癌细胞系中观察 ALK 融合蛋白降解。但添加叶酸基团后, ALK 融合蛋白降解效率降低,  $IC_{50}$  由  $16 \text{ nmol/L}$  变为  $465 \text{ nmol/L}$ , 需更高浓度来抑制

癌细胞增殖。叶酸偶联 PROTAC, 能显著提高 PROTAC 分子细胞选择性, 降低正常细胞毒副作用, 但叶酸基团引入增加了 PROTAC 分子量, 不利于口服给药, 且细胞内部环境对 PROTAC 分子释放速率影响较大, 目前还没有体内实验证明其药代动力学特性及抗肿瘤效率。

适配体是具有独特三级结构的短链核苷酸序列, 能形成稳定三维构象, 特异性识别靶标分子<sup>[44]</sup>。Sheng 团队<sup>[41]</sup>通过将 E3 连接酶 VHL 的配体和 JQ1 相连, 合成了靶向降解 BRD4 的 PROTAC 分子, 而后在二硫键作用下将 PROTAC 连接到核酸适配体上, 合成了第一个适配体介导靶向的 PROTAC。适配体特异性识别并结合过表达核仁蛋白, 进而介导 PROTAC 分子内吞, 在谷胱甘肽作用下破坏二硫键, 释放 PROTAC 分子, 进而介导 BRD4 降解(图 2B)。相比于未改性的 PROTAC 分子, 适配体介导靶向的 PROTAC 选

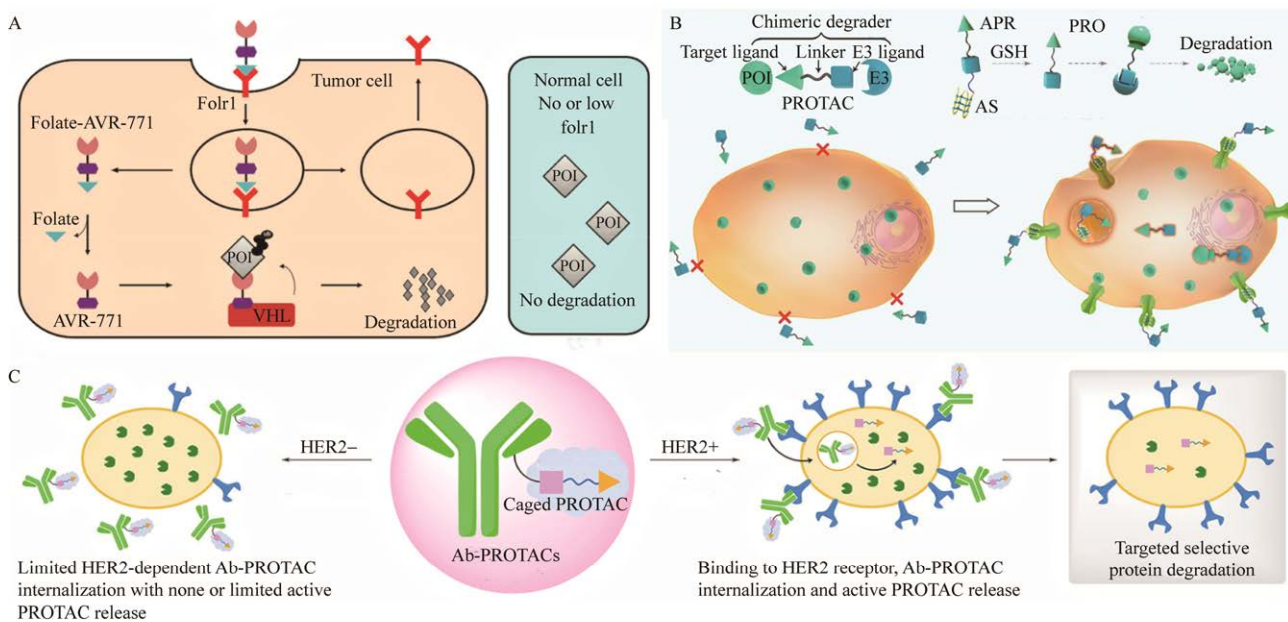


图 2 识别分子介导靶向递送 PROTAC A: 叶酸介导<sup>[40]</sup>. B: 适配体介导<sup>[41]</sup>. C: 抗体介导<sup>[42]</sup>

Figure 2 Targeting molecule-mediated targeted delivery of PROTAC. Folate (A)<sup>[40]</sup>, aptamer (B)<sup>[41]</sup>, and antibody (C)<sup>[42]</sup>.

择性降解乳腺癌细胞中 BRD4,  $DC_{50}$  为 22 nmol/L, 且有效抑制癌细胞生长,  $IC_{50}$  为 56.9 nmol/L。而在正常乳腺细胞中, 适配体介导靶向 PROTAC 的  $IC_{50}$  为 3.13  $\mu$ mol/L, 而未改性 PROTAC 的  $IC_{50}$  为 0.67  $\mu$ mol/L, 显著降低了正常细胞毒性。小鼠肿瘤模型中, 适配体介导靶向的 PROTAC 特异性靶向肿瘤组织, 增强抗肿瘤活性, 对正常组织器官不产生影响。Hall 团队<sup>[45]</sup>借助 sRNA 模拟物对 RNA 结合蛋白(RNA binding protein, RBP)的识别, 并通过 E3 连接酶 VHL 的配体 HIF-1 $\alpha$  衍生肽引导其通过蛋白酶体降解。在癌细胞和正常细胞中对 2 种 RBPs 蛋白, 即 LIN28 和 RBFOX1 进行降解, 发现不同 RNA-PROTAC 对 LIN28 和 RBFOX1 蛋白的降解活性差异显著。Wei 团队<sup>[46]</sup>通过 DNA 与 E3 连接酶 VHL 配体结合生成 TF-PROTAC, 通过 DNA 选择性结合, 使其特异性降解目标转录因子(transcription factor, TF)。相比于 RNA、DNA 寡聚体更稳定, 且 TF 与 DNA 结合特异性比 RBP 与 RNA 强。在 HeLa 细胞中验证发现 TF-PROTAC 使 P65 蛋白几乎完全降解, 而后对 E2F 转录因子 1 (E2F transcription factor 1, E2F1)进行验证, 发现 E2F1 水平显著降低, 同时抑制了癌细胞增殖。适配体偶联 PROTAC, 增加了 PROTAC 水溶性和肿瘤靶向能力, 但适配体偶联物在体内代谢不稳定, 易被核酸酶水解和肾脏过滤排出。

抗体能特异性识别抗原和病原体, 对靶标具有高亲和力和特异性<sup>[37]</sup>。Dragovich 团队<sup>[47]</sup>在研究 BRDs 降解剂时发现一个有效的 BRD4 抑制剂, 将其与 E3 连接酶 VHL 配体结合生成 GNE-987 分子, 在人急性髓系白血病细胞中表现出显著降解活性,  $DC_{50}$  为 0.03 nmol/L, 对细胞活性进行评估, 发现该分子能有效抑制细胞增殖,  $IC_{50}$  为 0.02 nmol/L, 但在体内实验中, 口服生物利用度和药代动力学特性均较差,

GNE-987 水溶性小于 1  $\mu$ mol/L。为改善 GNE-987 性质, 作者将其偶联到抗 CLL1 抗体上, 静脉注射到小鼠体内, 发现 GNE-987 半衰期显著延长, 表现出良好体内稳定性和药代动力学特性, 一周后仍有超过 70% 的 GNE-987 与抗体偶联。后期该课题组系统研究了抗体-PROTAC 偶联物中衍生位点、Linker 组分和响应特性等对降解效率的影响, 发现抗体偶联 PROTAC 抗肿瘤效果表现出强大抗原依赖性<sup>[48-50]</sup>。Tate 团队<sup>[42]</sup>设计并合成了曲妥珠单抗-PROTAC (trastuzumab-PROTAC, Ab-PROTAC), 由人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2)介导内吞, 通过溶酶体作用释放活性 PROTAC, 而不表达 HER2 受体的细胞中则不会引起蛋白降解(图 2C)。HER2 阳性乳腺癌细胞系中, 仅需 4 h 即可实现 BRD4 完全降解,  $DC_{max}$  为 100 nmol/L, HER2 阴性细胞系中观察不到 BRD4 降解, 由此实现癌细胞选择性抑制。Melo 团队<sup>[51]</sup>基于抗体直接将细胞表面 E3 连接酶环指蛋白 RNF43 (ring finger protein 43, RNF43) 与跨膜蛋白联系起来, 介导体内体外目标蛋白降解。抗体偶联 PROTAC, 通过抗原依赖选择性递送 PROTAC, 将 PROTAC 的催化性与抗体偶联药物的组织特异性结合, 有效发挥了两者的优势, 但当抗原抗体数量关系不匹配时, 可能造成脱靶, 促发机体免疫, 增加给药风险<sup>[52]</sup>。

### 3.2 纳米材料介导靶向递送 PROTAC

纳米材料因其具有小尺寸效应、体积效应和表面效应等特点而被广泛用于药物递送, 具有增强运载药物稳定性和溶解性、促进跨膜运输和延长循环时间等优势<sup>[31,53]</sup>。常用纳米材料有: 脂质体、高分子纳米材料和无机纳米材料等<sup>[54-55]</sup>。将 PROTAC 分子与纳米材料结合, 利用实体瘤的高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR)使 PROTAC

分子被动累积到肿瘤部位, 实现肿瘤靶向性。

脂质体是由亲水基团和亲脂基团组成的球形囊泡, 具有生物相容性好、负载能力强和便于设计等特点<sup>[56]</sup>。Wang 团队<sup>[57]</sup>为克服 dGPX4 分子水溶性差和体内稳定性低等问题, 将其封装在脂质体纳米颗粒中递送至肿瘤组织处, 在活性氧响应下释放, 有效降低内源性谷胱甘肽过氧化酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 含量, 抑制肿瘤生长(图 3A)。相对于 PBS 对照组而言, 脂质体递送 dGPX4 使肿瘤体积减少了 80%, 且小鼠体重无明显变化, 表现出有效抗肿瘤活性和较高生物安全性。游离 dGPX4 对肿瘤抑制作用为 60%, 但小鼠肝肾功能明显损伤, 体重下降。Xu 团队<sup>[61]</sup>利用脂质体将预先与 E3 连接酶 VHL 结合的 ARV-771 分子封装, 通过内吞作用进入细胞后, 在溶酶体作用下释放出 ARV-771, 实现蛋白降解。由于脂质体的作用, 细胞渗透性增强, 游离 ARV-771 的  $DC_{50}$  约为 100 nmol/L, 而与 VHL 融合并由脂质体递送, 在 25 nmol/L 浓度下即可实现 BRD4 完全降解。E3 连接酶和 ARV-771 的预融合及脂质体递送协同提高了目标蛋白降解效率。此外, Patel 团队<sup>[62]</sup>开发了携带 ARV-825 的纳米脂质体(loaded PEGylated nanoliposomes, LARPC), 相比于游离 ARV-825, LARPC 对血管长度抑制提高近 5 倍, 细胞迁移抑制提高近 2 倍, 显著增强了 ARV-825 的肿瘤靶向性。脂质体介导递送 PROTAC, 可有效提高 PROTAC 分子细胞渗透性, 但由于 PROTAC 分子水溶性较差, 通常只能装载到磷脂层, 限制了其装载率, 当治疗剂量较高时, 阳离子脂质体可能会对正常细胞造成毒副作用<sup>[63]</sup>。

高分子纳米颗粒由天然或合成的单体或聚合物组成, 可形成不同结构和特性的载体<sup>[64]</sup>。Pu 团队<sup>[58]</sup>报道了一种两亲性半导体聚合物纳米 PROTAC (semiconducting polymer nano-PROTAC,

SPNpro), 通过全身给药后, SPNpro 在小鼠肿瘤组织中选择性积累。在小鼠乳腺癌细胞中, 用 SPNpro 与细胞共孵育后, 发现细胞内 Anti-IDO 抗体含量降低了 89.3%, 相比于直接靶向吲哚胺 2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase1, IDO)的 IPP 分子, SPNpro 的效率约提高了 10%。此外, 协同光照治疗, 诱导肿瘤相关抗原释放和免疫原性细胞死亡, 抗肿瘤效率提高了 50% (图 3B)。随后, 该团队<sup>[65]</sup>进一步开发了智能聚合物纳米 PROTAC (smart nano-PROTAC targeting COX-1/2, SPN<sub>COX</sub>)。通过在肿瘤部位累积并与肿瘤过表达组织蛋白酶 B (cathepsin B, CatB) 作用释放 PROTAC, 靶向降解环加氧酶 1/2, 减少下游产物前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2), 抑制免疫抑制细胞激活, 进而提高抗肿瘤免疫力。此外, Zhang 团队<sup>[66]</sup>构建了用工程肺癌细胞膜进行伪装的聚合物纳米颗粒 (CRV-engineered Lewis lung carcinoma cell membranes/DS-PLGA/dBET6, CREATE), 发现该分子能同时靶向肺癌细胞和肿瘤相关巨噬细胞, 刺激诱导 dBET6 分子释放, 促进细胞凋亡并抑制肿瘤生长。在小鼠肿瘤模型中, 尽管小鼠体重均未观察到明显变化, 但相对于对照组而言, CREATE 对肿瘤的抑制效果达到 95% 以上, 而游离 dBET6 仅为 50%, 且 CREATE 诱导细胞凋亡程度显著高于 dBET6 和其他对照组。最近, Gao 团队<sup>[59]</sup>设计合成了靶向降解 BRD4 的肽修饰纳米颗粒[cyclo(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys)-poly-(ethylene glycol)-poly( $\epsilon$ -caprolactone), cRGD-PEG-PCL], 通过主动靶向性环肽 cRGD 的修饰和抗癌药物阿霉素的偶联, 使其主动靶向肿瘤组织, 提高结直肠癌的抗肿瘤活性(图 3C)。相比于游离的 ARV-825, cRGD-PEG-PCL 显著促进细胞凋亡, 抗肿瘤活性提高 10 倍以上。聚合物介导递送 PROTAC, 方便构建不同响应类

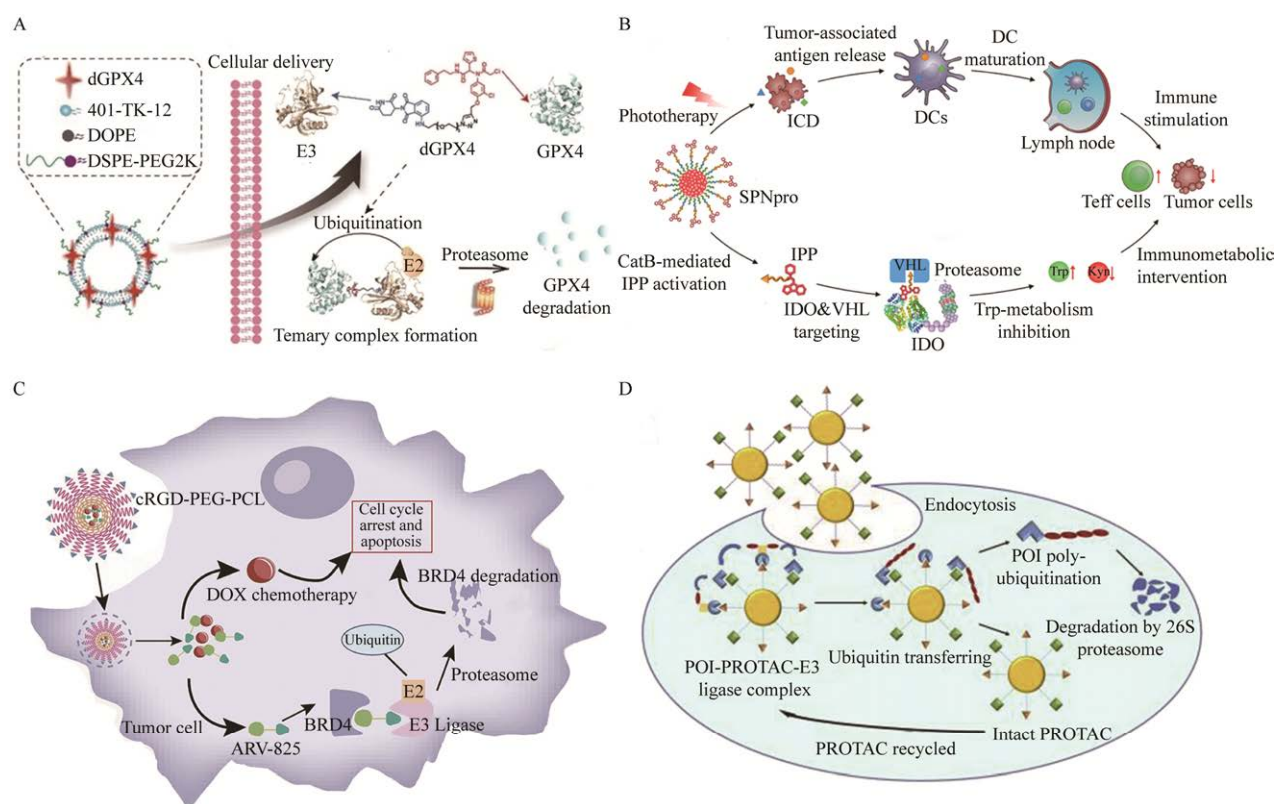


图3 纳米材料介导靶向递送 PROTAC A: 脂质体纳米颗粒介导<sup>[57]</sup>. B: 聚合物纳米颗粒介导<sup>[58]</sup>. C: 肽修饰纳米颗粒介导<sup>[59]</sup>. D: 金纳米颗粒介导<sup>[60]</sup>

Figure 3 Nanomaterial-mediated targeted delivery of PROTAC. A: Liposome<sup>[57]</sup>. B: Polymer<sup>[58]</sup>. C: Peptide-modified<sup>[59]</sup>. D: Gold nanoparticle<sup>[60]</sup>.

型纳米颗粒, 协同促进抗肿瘤效果, 但可能存在颗粒聚集等问题<sup>[67]</sup>, 且目前只有少量聚合物纳米颗粒药物被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准用于临床。

无机纳米材料因其制备简单、贮存稳定, 在生物成像和药物递送领域有较大应用前景<sup>[68]</sup>。He 团队<sup>[69]</sup>为克服 PROTAC 药理屏障, 合成了聚丙烯酰基巯基咪唑金纳米颗粒-肽聚集体 (supramolecular gold(I)-thiol-peptide complex@polyacryl sulfydryl imidazole, Nano-MP@PSI)。在谷胱甘肽作用下发生断键, 被分解成更小纳米颗粒, 同时释放 PROTAC 分子。相比于对照组而言, 在视网膜母细胞瘤和胰腺癌小鼠模型

经过 Nano-MP@PSI 给药治疗后, 显著抑制肿瘤生长, 肿瘤体积和重量均减少了 90% 左右, 小鼠重量和组织切片等均无显著变化。Liu 团队<sup>[60]</sup>也利用金-硫醇之间的相互作用, 以 PEG 为连接链将 ALK 配体塞利替尼和 E3 连接酶 CRBN 配体泊马度胺分别连接到金纳米颗粒上, 开发了首个多头 PROTAC (pegylated GNPs loaded with both ceritinib and pomalidomide molecules, Cer/Pom-PEG@GNPs), Au-S 键间的强相互作用增强了金纳米颗粒与配体之间的整体稳定性。进入细胞后, 具有柔性连接链的 Cer/Pom-PEG@GNPs 可灵活招募 ALK 和 E3 连接酶 CRBN, 促进两者之间相互作用, 实现 ALK 降解(图 3D)。在人非小细胞肺癌细胞中, Cer/Pom-



PEG@GNPs 以剂量依赖有效降低 ALK 融合蛋白水平, 在 4  $\mu\text{mol/L}$  浓度下超过 80% 的 ALK 融合蛋白被降解。Wang 团队<sup>[70]</sup>基于碳点的生物相容性和便于修饰等特征, 合成了靶向降解细胞程序性死亡-配体 1 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 的碳点 PROTAC (carbon-dot (CD)-based PROTACs, CDTACs)。通过 CDTACs 的 EPR 效应和 PD-L1 主动靶向, CDTACs 与肿瘤细胞膜上 PD-L1 结合, 内吞进入细胞, 实现 PD-L1 降解。在小鼠黑色素瘤细胞和小鼠结肠癌细胞中对 PD-L1 的降解效率分别达到 90% 和 99%。无机纳米材料递送 PROTAC, 得益于无机材料独特的物理化学特性, 但由于溶解度较低和毒性问题, 尤其是重金属使用, 使无机纳米载体的临床应用受到限制<sup>[66]</sup>。

### 3.3 可控激活小分子 PROTAC 前药

由于 PROTAC 自身分子结构复杂, 因此, 在 PROTAC 前药策略中通常采用结构简单且能够有效脱除的小分子基团修饰 PROTAC, 以改善 PROTAC 成药性。例如, 采用亲脂性基团修饰 PROTAC 分子结构中的关键单元, 可以提高 PROTAC 的口服利用度<sup>[71]</sup>、细胞穿透性<sup>[72]</sup>等。PROTAC 前药通过刺激响应在目标区域激活释放, 进而特异性靶向降解目标蛋白。常见的刺激响应条件可分为外源性条件(如光、热、超声等)和内源性条件(如酶、活性氧、谷胱甘肽、pH 等)。

光化学治疗是一种非侵入性治疗手段, 新型高效光敏剂一直是人们追求的目标<sup>[73]</sup>。Pan 团队<sup>[74]</sup>在 dBET1 基础上建立了光敏笼状 PROTAC (photo-caged PROTACs, pc-PROTAC)。在 dBET1 分子上引入“光笼”基团后, pc-PROTAC 与 BRD4 几乎没有结合亲和力,  $IC_{50}$  为 7.6  $\mu\text{mol/L}$ , 而 dBET1 的  $IC_{50}$  仅 22 nmol/L。在人 B 淋巴细胞瘤细胞中, dBET1 在 0.1  $\mu\text{mol/L}$  浓度下即可有效降解 BRD4, 而黑暗环境中, pc-PROTAC 在

3  $\mu\text{mol/L}$  浓度下仍不能降解 BRD4。紫外照射后, pc-PROTAC 快速转变为具有活性的 dBET1, 在 0.3  $\mu\text{mol/L}$  浓度下显著降低了 BRD4 水平, 显示出强大的光控降解特性。在斑马鱼模型中, 紫外光照后, pc-PROTAC 与 dBET1 具有一样的效果, 均显著降低 BRD4 浓度, 干扰胚胎早期发育。Wei 团队<sup>[75]</sup>利用 E3 连接酶 CRBN 的配体设计合成了一系列光控 PROTAC (light-inducible switch on PROTACs, opto-PROTAC), 通过光控介导 IKZF1/3、BRDs 和 ALK 降解。此外, 通过紫外光还可实现分子构型的改变, 可控特异性激活 PROTAC。Jiang 团队<sup>[76]</sup>基于邻四氟偶氮苯单元构型的变化, 设计了光诱导可逆 PROTAC (photoswitchable azobenzene-proteolysis targeting chimeras, Azo-PROTAC)。在可见光下, Azo-PROTAC 分子为反式构型, 能特异性识别并降解 BCR-ABL 融合蛋白 (breakpoint cluster region-abelson leukemia virus, BCR-ABL), 紫外光照射后, 分子变为顺式构型, 降解活力显著降低或消失(图 4A)。在人慢性髓原白血病细胞中, Azo-PROTAC 反式构型的  $IC_{50}$  为 68 nmol/L。为评估 Azo-PROTAC 可逆性, 将反式构型的 Azo-PROTAC 与细胞共孵育 24 h 后, 将细胞转移到新鲜培养基中并分为 2 组, 一组每隔 4 h 进行紫外照射, 而另一组则不处理。结果发现, 紫外照射的实验组 BCR-ABL 水平升高, 而另一组则一直保持在较低水平。Trauner 团队<sup>[78]</sup>也通过靶向 BET 家族蛋白证明了光照对 PROTAC 分子活性的影响。光控 PROTAC 对时间和空间的可逆调控, 提高了蛋白降解的精准性, 但光的组织穿透性仍是一个问题。此外, 正常组织与肿瘤组织间缺乏明显界限, 很难找到仅在肿瘤部位激活的光控 PROTAC 分子。

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是肿瘤细胞赖以生存的复杂环境, 通常表现为

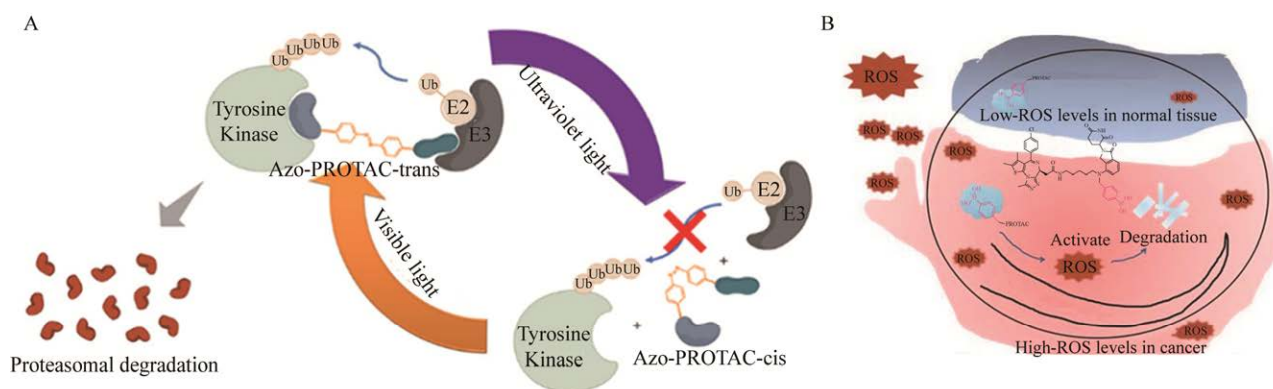


图4 可控激活小分子 PROTAC 前药 A: 光诱导可逆 PROTAC<sup>[76]</sup>. B: 活性氧诱导 PROTAC 释放<sup>[77]</sup>  
Figure 4 Controllable activation of small-molecular PROTAC prodrug. A: Light-induced reversible on/off PROTAC<sup>[76]</sup>. B: ROS-induced release of PROTAC<sup>[77]</sup>.

缺氧、弱酸性、高浓度谷胱甘肽和高水平活性氧等<sup>[79]</sup>。基于此, Chen 团队<sup>[77]</sup>利用活性氧响应激活 PROTAC 分子降解 BET 家族蛋白, 在人乳腺导管癌细胞中以 10 nmol/L 的浓度显著降低溴结构域蛋白 3 (bromodomain containing protein 3, BRD3)的水平,  $IC_{50}$  为 48 nmol/L, 在人胚肾细胞中未发现 BRD3 降解,  $IC_{50}$  为 4 073 nmol/L, 表现出显著特异性(图 4B)。Zhu 团队<sup>[80]</sup>利用肿瘤细胞在缺氧条件下, 硝基还原酶(nitroreductase, NTR)水平高的特点, 开发了用于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)降解的 PROTAC 17-1 分子。未添加 NTR 时, PROTAC 17-1 分子对人非小细胞肺癌细胞的  $IC_{50}$  为 201 nmol/L, 添加 NTR 后, PROTAC 17-1 被激活,  $IC_{50}$  为 18 nmol/L, 抗增殖活性提高了 10 倍以上。在小鼠模型中, PROTAC 17-1 表现出良好血浆稳定性, 给药 0.08 h 后达到最大血浆浓度, 且药物半衰期达到 11 h。治疗 21 d 后, 小鼠肿瘤抑制率为 86%, 未观察到明显体重下降和组织毒性, 生物安全性显著提高。Xing 团队<sup>[81]</sup>在 E3 连接酶 CRBN 的配体泊马度胺上修饰半胱氨酸和硝基还原酶响应基团, 其在肿瘤缺氧条件下暴露半胱氨酸基团, 随后与 2-氨基

苯并噻唑(2-cyanobenzothiazole, CBT)修饰的 JQ1 (JQ1-CBT)发生生物正交反应, 原位生成具有降解能力的 PROTAC 分子 J252。局部生成的 J252 特异性降低 BRD4 的水平, 进而改变遗传靶标表达, 精准调控细胞活性。在小鼠肿瘤模型中, NTR 激活的 JW4+JQ1-CBT 分子, 显著降低了 BRD4 水平, 并伴随 HIF-1 $\alpha$  和 c-Myc 癌基因的下调, 显著抑制肿瘤生长和减少肿瘤血管面积。利用肿瘤微环境差异, 特异性激活 PROTAC 分子, 能最大限度减少对正常细胞的毒性, 提高 PROTAC 分子靶向性。

## 4 总结与展望

PROTAC 技术经过 20 多年的不断完善和发展, 目前已发展出 VHL 和 CRBN 两种最主要的 E3 泛素连接酶配体, 同时结合新型小分子抑制剂的开发, 越来越多致病蛋白可以通过 PROTAC 技术成功降解。近年来, 利用靶向药物递送系统可进一步改善 PROTAC 成药性, 具有一定优势的同时也存在如下不足:(1) 识别分子介导靶向递送 PROTAC 充分利用了抗体等的靶向性和药代动力学特性, 选择性将药物直接输送到病变部位并响应性释放 PROTAC 分子,

实现目标蛋白降解,减少正常组织毒副作用。然而,目前难以找到在靶细胞上显著高表达但在正常组织中低表达的理想抗原,且抗体与相关抗原结合后存在有效内化问题,以及内化后有效释放 PROTAC 问题。(2) 纳米材料介导靶向递送 PROTAC 可提高 PROTAC 稳定性和溶解性,促进药物透过生理屏障,延长血液循环时间,使药物获得更好的有效性和安全性。但目前进入临床试验的例子很少,主要原因为纳米载体的组成复杂,质量难以把控。此外,纳米材料的 EPR 效应对临床肿瘤的适用性有待进一步考察。(3) 可控激活小分子 PROTAC 前药在细胞层面可提高细胞穿透性、降低细胞毒性,但目前大多研究缺乏体内实验数据。PROTAC 本身结构庞大,在平衡前药释放特异性和稳定性时需大量化学合成工作,额外修饰基团的引入可能进一步恶化其物理化学特性。

综上所述,分子量是 PROTAC 成药性差的主要原因,需进一步平衡 PROTAC 分子的三段式结构。通过 PROTAC 降解目标蛋白需在空间上拉近 E3 连接酶与目标蛋白距离,生成稳定三元复合物。在选择合适 E3 连接酶配体、目标蛋白配体的同时,优化 PROTAC 分子结构中连接链的长短和类型,可确保目标蛋白降解效率的同时降低 PROTAC 的整体分子量。此外,Heightman 团队<sup>[82]</sup>利用点击化学在胞内原位生成 PROTAC (in-cell click-formed proteolysis targeting chimeras, CLIPTAC)为降低 PROTAC 分子量提供了较好的研究思路。利用生物正交基团和反式基团分别修饰 E3 连接酶配体和目标蛋白配体,得到 2 种 PROTAC 前体。当第一种 PROTAC 前体分子在细胞中累积后,在加入第二种 PROTAC 前体分子,使两者在胞内原位发生生物正交反应,生成具有活性的完整 PROTAC 分子。尽管减少了 PROTAC 的分子量,但 PROTAC

前体分子可能在细胞外发生正交反应,使 PROTAC 的整体治疗效率降低。因此,明确 2 种 PROTAC 前体的药代动力学特性,进而确定最优的给药方案,在未来值得进一步探索。此外,由于 2 种 PROTAC 前体缺乏细胞靶向能力,易造成脱靶毒性,需进一步提高 2 种 PROTAC 前体的靶向性。

## REFERENCES

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, JEMAL A. Cancer statistics, 2022[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] ZHONG L, LI YS, XIONG L, WANG WJ, WU M, YUAN T, YANG W, TIAN CY, MIAO Z, WANG TQ, YANG SY. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2021, 6(1): 201.
- [3] LAI AC, CREWS CM. Induced protein degradation: an emerging drug discovery paradigm[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2017, 16(2): 101-114.
- [4] PETERSSON M, CREWS CM. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs)—past, present and future[J]. Drug Discovery Today: Technologies, 2019, 31: 15-27.
- [5] BÉKÉS M, LANGLEY DR, CREWS CM. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2022, 21(3): 181-200.
- [6] 吕文兴, 贺明, 饶燊. 小分子靶向诱导蛋白降解技术的机遇及挑战[J]. 中国药物化学杂志, 2020, 30(12): 745-764.  
LÜ WX, HE M, RAO Y. Opportunities and challenges for PROTACs[J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 30(12): 745-764 (in Chinese).
- [7] SALAMI J, CREWS CM. Waste disposal—an attractive strategy for cancer therapy[J]. Science, 2017, 355(6330): 1163-1167.
- [8] BONDESON DP, MARES A, SMITH IED, KO E, CAMPOS S, MIAH AH, MULHOLLAND KE, ROUTLY N, BUCKLEY DL, GUSTAFSON JL, ZINN N, GRANDI P, SHIMAMURA S, BERGAMINI G, FAELTH-SAVITSKI M, BANTSCHIEFF M, COX C, GORDON DA, WILLARD RR, FLANAGAN JJ, et al. Catalytic *in vivo* protein knockdown by small-molecule PROTACs[J]. Nature Chemical Biology, 2015, 11(8): 611-617.

- [9] GAO X, BURRIS HA, VUKY J, DREICER R, SARTOR AO, STERNBERG CN, PERCENT IJ, HUSSAIN MHA, REZAZADEH KALEBASTY A, SHEN J, HEATH EI, ABESADA-TERK G, GANDHI SG, McKEAN M, LU HL, BERGHORN E, GEDRICH R, DEBBIE CHIRNOMAS S, VOGELZANG NJ, PETRYLAK DP. Phase 1/2 study of ARV-110, an androgen receptor (AR) PROTAC degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC)[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2022, 40(6\_suppl): 17.
- [10] HAMILTON EP, SCHOTT AF, NANDA RT, LU HL, KEUNG CF, GEDRICH R, PARAMESWARAN J, HAN HS, HURVITZ SA. ARV-471, an estrogen receptor (ER) PROTAC degrader, combined with palbociclib in advanced ER+/human epidermal growth factor receptor 2-negative (HER2-) breast cancer: phase 1b cohort (part C) of a phase 1/2 study[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2022, 40(16\_suppl): TPS1120.
- [11] 沈心远, 吴诗慧, 李保林, 李徐诺, 吴昊姝, 曹戟. 蛋白水解靶向嵌合体(PROTAC)连接链优化的研究进展[J]. *药学报*, 2021, 56(2): 445-455. SHEN XY, WU SH, LI BL, LI XN, WU HS, CAO J. Advances in the optimization of the linker in proteolysis-targeting chimeras (PROTAC)[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2021, 56(2): 445-455 (in Chinese).
- [12] 陈淑萍, 杨晗, 蒋金露, 于思远, 李廷栋, 葛胜祥. 靶向蛋白降解技术及其在疾病治疗中的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2021, 37(11): 3915-3932. CHEN SP, YANG H, JIANG JL, YU SY, LI TD, GE SX. Research progress on targeted protein degradation technology and its applications in diseases therapy[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(11): 3915-3932 (in Chinese).
- [13] 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).
- [14] LI K, CREWS C. PROTACs: past, present and future[J]. *Chemical Society Reviews*, 2022, 51(12): 5214-5236.
- [15] SAKAMOTO K, KIM K, KUMAGAI A, MERCURIO F, CREWS C, DESHAIES R. 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.
- [16] SAKAMOTO KM, KIM KB, VERMA R, RANSICK A, STEIN B, CREWS CM, DESHAIES RJ. Development of protacs to target cancer-promoting proteins for ubiquitination and degradation[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2003, 2(12): 1350-1358.
- [17] SCHNEEKLOTH JS Jr, FONSECA FN, KOLDOBSKIY M, MANDAL A, DESHAIES R, SAKAMOTO K, CREWS CM. Chemical genetic control of protein levels: selective *in vivo* targeted degradation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2004, 126(12): 3748-3754.
- [18] SCHNEEKLOTH AR, PUCHEAULT M, TAE HS, CREWS CM. Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: en route to chemical proteomics[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, 18(22): 5904-5908.
- [19] SEKINE K, TAKUBO K, KIKUCHI R, NISHIMOTO M, KITAGAWA M, ABE F, NISHIKAWA K, TSURUO T, NAITO M. Small molecules destabilize cIAP1 by activating auto-ubiquitylation[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(14): 8961-8968.
- [20] ITOH Y, ISHIKAWA M, NAITO M, HASHIMOTO Y. Protein knockdown using methyl bestatin-ligand hybrid molecules: design and synthesis of inducers of ubiquitination-mediated degradation of cellular retinoic acid-binding proteins[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(16): 5820-5826.
- [21] HINES J, GOUGH J, CORSON T, CREWS C. Posttranslational protein knockdown coupled to receptor tyrosine kinase activation with phosphoPROTACs[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013, 110: 8942-8947.
- [22] BUCKLEY DL, GUSTAFSON JL, Van MOLLE I, ROTH AG, TAE HS, GAREISS PC, JORGENSEN WL, CIULLI A, CREWS CM. Small-molecule inhibitors of the interaction between the E3 ligase VHL and HIF1 $\alpha$ [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2012, 51(46): 11463-11467.
- [23] BUCKLEY DL, van MOLLE I, GAREISS PC, TAE HS, MICHEL J, NOBLIN DJ, JORGENSEN WL, CIULLI A, CREWS CM. Targeting the von hippel-lindau E3 ubiquitin ligase using small molecules to disrupt the

- VHL/HIF-1 $\alpha$  interaction[J]. Journal of the American Chemical Society, 2012, 134(10): 4465-4468.
- [24] GALDEANO C, GADD MS, SOARES P, SCAFFIDI S, van MOLLE I, BIRCED I, HEWITT S, DIAS DM, CIULLI A. Structure-guided design and optimization of small molecules targeting the protein-protein interaction between the von hippel-lindau (VHL) E3 ubiquitin ligase and the hypoxia inducible factor (HIF) alpha subunit with *in vitro* nanomolar affinities[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 57(20): 8657-8663.
- [25] ZENGERLE M, CHAN KH, CIULLI A. Selective small molecule induced degradation of the BET bromodomain protein BRD4[J]. ACS Chemical Biology, 2015, 10(8): 1770-1777.
- [26] FISCHER ES, BÖHM K, LYDEARD JR, YANG HD, STADLER MB, CAVADINI S, NAGEL J, SERLUCA F, ACKER V, LINGARAJU GM, TICHKULE RB, SCHEBESTA M, FORRESTER WC, SCHIRLE M, HASSIEPEN U, OTTL J, HILD M, BECKWITH REJ, HARPER JW, JENKINS JL, et al. Structure of the DDB1-CRBN E3 ubiquitin ligase in complex with thalidomide[J]. Nature, 2014, 512(7512): 49-53.
- [27] GANDHI AK, KANG J, HAVENS CG, CONKLIN T, NING YH, WU L, ITO T, ANDO H, WALDMAN MF, THAKURTA A, KLIPPEL A, HANDA H, DANIEL TO, SCHAFER PH, CHOPRA R. Immunomodulatory agents lenalidomide and pomalidomide co-stimulate T cells by inducing degradation of T cell repressors Ikaros and Aiolos *via* modulation of the E3 ubiquitin ligase complex CRL4(CRBN.)[J]. British Journal of Haematology, 2014, 164(6): 811-821.
- [28] KRÖNKE J, UDESHI ND, NARLA A, GRAUMAN P, HURST SN, McCONKEY M, SVINKINA T, HECKL D, COMER E, LI XY, CIARLO C, HARTMAN E, MUNSHI N, SCHENONE M, SCHREIBER SL, CARR SA, EBERT BL. Lenalidomide causes selective degradation of IKZF<sub>1</sub> and IKZF<sub>3</sub> in multiple myeloma cells[J]. Science, 2014, 343(6168): 301-305.
- [29] WINTER GE, BUCKLEY DL, PAULK J, ROBERTS JM, SOUZA A, DHE-PAGANON S, BRADNER JE. Phthalimide conjugation as a strategy for *in vivo* target protein degradation[J]. Science, 2015, 348(6241): 1376-1381.
- [30] GARBER K. The PROTAC gold rush[J]. Nature Biotechnology, 2022, 40(1): 12-16.
- [31] ZHANG C, PU KY. Molecular and nanoengineering approaches towards activatable cancer immunotherapy[J]. Chemical Society Reviews, 2020, 49(13): 4234-4253.
- [32] KARIMI M, GHASEMI A, SAHANDI ZANGABAD P, RAHIGHI R, MOOSAVI BASRI SM, MIRSHAKARI H, AMIRI M, SHAFAEI PISHABAD Z, ASLANI A, BOZORGOMID M, GHOSH D, BEYZAVI A, VASEGHI A, AREF AR, HAGHANI L, BAHRAMI S, HAMBLIN MR. Smart micro/nanoparticles in stimulus-responsive drug/gene delivery systems[J]. Chemical Society Reviews, 2016, 45(5): 1457-1501.
- [33] CHEN Y, TANDON I, HEELAN W, WANG YX, TANG WP, HU QY. Proteolysis-targeting chimera (PROTAC) delivery system: advancing protein degraders towards clinical translation[J]. Chemical Society Reviews, 2022, 51(13): 5330-5350.
- [34] MA F, ZHANG SW, SONG LH, WANG BZ, WEI LL, ZHANG FM. Applications and analytical tools of cell communication based on ligand-receptor interactions at single cell level[J]. Cell & Bioscience, 2021, 11(1): 121.
- [35] WANG XW, QIU YH, WANG MY, ZHANG CH, ZHANG TS, ZHOU HM, ZHAO WX, ZHAO WL, XIA GM, SHAO RG. Endocytosis and organelle targeting of nanomedicines in cancer therapy[J]. International Journal of Nanomedicine, 2020, 15: 9447-9467.
- [36] SCARANTI M, COJOCARU E, BANERJEE S, BANERJI U. Exploiting the folate receptor  $\alpha$  in oncology[J]. Nature Reviews Clinical Oncology, 2020, 17(6): 349-359.
- [37] BIRRER MJ, MOORE KN, BETELLA I, BATES RC. Antibody-drug conjugate-based therapeutics: state of the science[J]. JNCI: Journal of the National Cancer Institute, 2019, 111(6): 538-549.
- [38] HENTZE MW, CASTELLO A, SCHWARZL T, PREISS T. A brave new world of RNA-binding proteins[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2018, 19(5): 327-341.
- [39] BUSHWELLER JH. Targeting transcription factors in cancer—from undruggable to reality[J]. Nature Reviews Cancer, 2019, 19(11): 611-624.
- [40] LIU J, CHEN H, LIU Y, SHEN YD, MENG FY, KANISKAN HÜ, JIN J, WEI WY. Cancer selective target degradation by folate-caged PROTACs[J]. Journal of the American Chemical Society, 2021, 143(19): 7380-7387.
- [41] HE SP, GAO F, MA JH, MA HQ, DONG GQ, SHENG

- CQ. Aptamer-PROTAC conjugates (APCs) for tumor-specific targeting in breast cancer[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(43): 23299-23305.
- [42] MANEIRO MA, FORTE N, SHCHEPINOVA MM, KOUNDE CS, CHUDASAMA V, BAKER JR, TATE EW. Antibody-PROTAC conjugates enable HER2-dependent targeted protein degradation of BRD4[J]. *ACS Chemical Biology*, 2020, 15(6): 1306-1312.
- [43] CHEN H, LIU J, KANISKAN HÜ, WEI WY, JIN J. Folate-guided protein degradation by immunomodulatory imide drug-based molecular glues and proteolysis targeting chimeras[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(16): 12273-12285.
- [44] YUHAN JY, ZHU LY, ZHU LJ, HUANG KL, HE XY, XU WT. Cell-specific aptamers as potential drugs in therapeutic applications: a review of current progress[J]. *Journal of Controlled Release*, 2022, 346: 405-420.
- [45] GHIDINI A, CLÉRY A, HALLOY F, ALLAIN FHT, HALL J. RNA-PROTACs: degraders of RNA-binding proteins[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(6): 3163-3169.
- [46] LIU J, CHEN H, KANISKAN HÜ, XIE L, CHEN X, JIN J, WEI WY. TF-PROTACs enable targeted degradation of transcription factors[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2021, 143(23): 8902-8910.
- [47] PILLOW TH, ADHIKARI P, BLAKE RA, CHEN JH, del ROSARIO G, DESHMUKH G, FIGUEROA I, GASCOIGNE KE, KAMATH AV, KAUFMAN S, KLEINHEINZ T, KOZAK KR, LATIFI B, LEIPOLD DD, SING LI C, LI RN, MULVIHILL MM, O'DONOHUE A, ROWNTREE RK, SADOWSKY JD, et al. Antibody conjugation of a chimeric BET degrader enables *in vivo* activity[J]. *ChemMedChem*, 2020, 15(1): 17-25.
- [48] DRAGOVICH PS, PILLOW TH, BLAKE RA, SADOWSKY JD, ADALIGIL E, ADHIKARI P, BHAKTA S, BLAQUIERE N, CHEN JH, DELA CRUZ-CHUH J, GASCOIGNE KE, HARTMAN SJ, HE MT, KAUFMAN S, KLEINHEINZ T, KOZAK KR, LIU L, LIU LL, LIU Q, LU Y, et al. Antibody-mediated delivery of chimeric BRD4 degraders. Part 1: exploration of antibody linker, payload loading, and payload molecular properties[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(5): 2534-2575.
- [49] DRAGOVICH PS, PILLOW TH, BLAKE RA, SADOWSKY JD, ADALIGIL E, ADHIKARI P, CHEN JH, CORR N, DELA CRUZ-CHUH J, del ROSARIO G, FULLERTON A, HARTMAN SJ, JIANG F, KAUFMAN S, KLEINHEINZ T, KOZAK KR, LIU LL, LU Y, MULVIHILL MM, MURRAY JM, et al. Antibody-mediated delivery of chimeric BRD4 degraders. Part 2: improvement of *in vitro* antiproliferation activity and *in vivo* antitumor efficacy[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(5): 2576-2607.
- [50] DRAGOVICH PS, ADHIKARI P, BLAKE RA, BLAQUIERE N, CHEN JH, CHENG YX, den BESTEN W, HAN JP, HARTMAN SJ, HE JT, HE MT, REI INGALLA E, KAMATH AV, KLEINHEINZ T, LAI T, LEIPOLD DD, LI CS, LIU Q, LU JW, LU Y, et al. Antibody-mediated delivery of chimeric protein degraders which target estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ )[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 30(4): 126907.
- [51] MAREI H, TSAI WT K, KEE YS, RUIZ K, HE JY, COX C, SUN T, PENIKALAPATI S, DWIVEDI P, CHOI M, KAN D, SAENZ-LOPEZ P, DORIGHI K, ZHANG P, KSCHONSAK YT, KLJAVIN N, AMIN D, KIM I, MANCINI AG, NGUYEN T, et al. Antibody targeting of E3 ubiquitin ligases for receptor degradation[J]. *Nature*, 2022, 610(7930): 182-189.
- [52] BECK A, GOETSCH L, DUMONTET C, CORVAÑA N. Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2017, 16(5): 315-337.
- [53] HASSAN S, PRAKASH G, BAL OZTURK A, SAGHAZADEH S, FARHAN SOHAIL M, SEO J, REMZI DOKMECI M, ZHANG YS, KHADEMHOSEINI A. Evolution and clinical translation of drug delivery nanomaterials[J]. *Nano Today*, 2017, 15: 91-106.
- [54] TANG L, HE S, YIN Y, LIU HN, HU JY, CHENG J, WANG W. Combination of nanomaterials in cell-based drug delivery systems for cancer treatment[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(11): 1888.
- [55] HUBBELL JA, CHILKOTI A. Nanomaterials for drug delivery[J]. *Science*, 2012, 337(6092): 303-305.
- [56] YONEZAWA S, KOIDE H, ASAI T. Recent advances in siRNA delivery mediated by lipid-based nanoparticles[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*,

- 2020, 154/155: 64-78.
- [57] LUO TL, ZHENG QZ, SHAO LH, MA TY, MAO LQ, WANG M. Intracellular delivery of glutathione peroxidase degrader induces ferroptosis *in vivo*[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(39): e202206277.
- [58] ZHANG C, ZENG ZL, CUI D, HE SS, JIANG YY, LI JC, HUANG JG, PU KY. Semiconducting polymer nano-PROTACs for activatable photo-immunometabolic cancer therapy[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 2934.
- [59] HE YH, JU Y, HU YZ, WANG BL, CHE SY, JIAN Y, ZHUO WL, FU XH, CHENG YZ, ZHENG SP, HUANG N, QIAN ZY, LIU JG, ZHOU PZ, GAO X. Brd4 proteolysis-targeting chimera nanoparticles sensitized colorectal cancer chemotherapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2023, 354: 155-166.
- [60] WANG YM, HAN LF, LIU FL, YANG FB, JIANG XY, SUN HP, FENG F, XUE JW, LIU WY. Targeted degradation of anaplastic lymphoma kinase by gold nanoparticle-based multi-headed proteolysis targeting chimeras[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2020, 188: 110795.
- [61] CHEN JJ, QIU M, MA FH, YANG L, GLASS Z, XU QB. Enhanced protein degradation by intracellular delivery of pre-fused PROTACs using lipid-like nanoparticles[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 330: 1244-1249.
- [62] FU YG, RATHOD D, PATEL K. Protein kinase C inhibitor anchored BRD4 PROTAC PEGylated nanoliposomes for the treatment of vemurafenib-resistant melanoma[J]. *Experimental Cell Research*, 2020, 396(1): 112275.
- [63] FENTON OS, OLAFSON KN, PILLAI PS, MITCHELL MJ, LANGER R. Advances in biomaterials for drug delivery[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(29): 1705328.
- [64] ZENG ZL, ZHANG C, LI JC, CUI D, JIANG YY, PU KY. Activatable polymer nanoenzymes for photodynamic immunometabolic cancer therapy[J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(4): 2007247.
- [65] ZHANG C, HE SS, ZENG ZL, CHENG PH, PU KY. Smart nano-PROTACs reprogram tumor microenvironment for activatable photo-metabolic cancer immunotherapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2022, 61(8): e202114957.
- [66] ZHANG HT, PENG R, CHEN S, SHEN A, ZHAO L, TANG W, WANG XH, LI ZY, ZHA ZG, YI MM, ZHANG LM. Versatile nano-PROTAC-induced epigenetic reader degradation for efficient lung cancer therapy[J]. *Advanced Science*, 2022 9(29): e2202039.
- [67] MITCHELL MJ, BILLINGSLEY MM, HALEY RM, WECHSLER ME, PEPPAS NA, LANGER R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2021, 20(2): 101-124.
- [68] HUANG HC, BARUA S, SHARMA G, DEY SK, REGE K. Inorganic nanoparticles for cancer imaging and therapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2011, 155(3): 344-357.
- [69] YAN SQ, YAN J, LIU D, LI X, KANG QY, YOU WM, ZHANG JH, WANG L, TIAN ZQ, LU WY, LIU WJ, HE WX. A nano-predator of pathological MDMX construct by clearable supramolecular gold(I)-thiol-peptide complexes achieves safe and potent anti-tumor activity[J]. *Theranostics*, 2021, 11(14): 6833-6846.
- [70] SU W, TAN MX, WANG ZH, ZHANG J, HUANG WP, SONG HH, WANG XY, RAN HT, GAO YF, NIE GJ, WANG H. Targeted degradation of PD-L1 and activation of the STING pathway by carbon-dot-based PROTACs for cancer immunotherapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2023, 62(11): e202218128.
- [71] WEI MM, ZHAO R, CAO YT, WEI YJ, LI M, DONG ZQ, LIU YL, RUAN H, LI Y, CAO S, TANG ZW, ZHOU YY, SONG W, WANG YB, WANG JF, YANG G, YANG C. First orally bioavailable prodrug of proteolysis targeting chimera (PROTAC) degrades cyclin-dependent kinases 2/4/6 *in vivo*[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 209: 112903.
- [72] FISCHER PD, PAPADOPOULOS E, DEMPERSMIER JM, WANG ZF, NOWAK RP, DONOVAN KA, KALABATHULA J, GORGULLA C, JUNGHANNS PPM, KABHA E, DIMITRAKAKIS N, PETROV OI, MITSIADES C, DUCHO C, GELEV V, FISCHER ES, WAGNER G, ARTHANARI H. A biphenyl inhibitor of eIF4E targeting an internal binding site enables the design of cell-permeable PROTAC-degraders[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 219: 113435.
- [73] XIONG H, XU YJ, KIM B, RHA H, ZHANG B, LI ML, YANG GF, KIM JS. Photo-controllable biochemistry: exploiting the photocages in phototherapeutic window[J]. *Chem*, 2023, 9(1): 29-64.
- [74] XUE G, WANG K, ZHOU DL, ZHONG HB, PAN ZY.

- Light-induced protein degradation with photocaged PROTACs[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(46): 18370-18374.
- [75] LIU J, CHEN H, MA LN, HE ZX, WANG D, LIU Y, LIN Q, ZHANG TH, GRAY N, KANISKAN HÜ, JIN J, WEI WY. Light-induced control of protein destruction by opto-PROTAC[J]. *Science Advances*, 2020, 6(8): eaay5154.
- [76] JIN YH, LU MC, WANG Y, SHAN WX, WANG XY, YOU QD, JIANG ZY. Azo-PROTAC: novel light-controlled small-molecule tool for protein knockdown[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 63(9): 4644-4654.
- [77] LIU HX, REN CW, SUN RH, WANG HH, ZHAN YX, YANG XB, JIANG B, CHEN HL. Reactive oxygen species-responsive pre-PROTAC for tumor-specific protein degradation[J]. *Chemical Communications*, 2022, 58(72): 10072-10075.
- [78] REYNDERS M, MATSUURA BS, BÉROUTI M, SIMONESCHI D, MARZIO A, PAGANO M, TRAUNER D. PHOTACs enable optical control of protein degradation[J]. *Science Advances*, 2020, 6(8): eaay5064.
- [79] ZHONG XY, WANG XW, LI JX, HU J, CHENG L, YANG XL. ROS-based dynamic therapy synergy with modulating tumor cell-microenvironment mediated by inorganic nanomedicine[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2021, 437: 213828.
- [80] SHI S, DU Y, ZOU Y, NIU J, CAI Z, WANG X, QIU F, DING Y, YANG G, WU Y, XU Y, ZHU Q. Rational design for nitroreductase (NTR)-responsive proteolysis targeting chimeras (PROTACs) selectively targeting tumor tissues[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2022, 65(6): 5057-5071.
- [81] DO TC, LAU JW, SUN CX, LIU SH, KHA KT, LIM ST, OON YY, KWAN YP, MA JJ, MU YG, LIU XG, CARNEY TJ, WANG XM, XING BG. Hypoxia deactivates epigenetic feedbacks *via* enzyme-derived clicking proteolysis-targeting chimeras[J]. *Science Advances*, 2022, 8(50): eabq2216.
- [82] LEBRAUD H, WRIGHT DJ, JOHNSON CN, HEIGHTMAN TD. Protein degradation by in-cell self-assembly of proteolysis targeting chimeras[J]. *ACS Central Science*, 2016, 2(12): 927-934.

(本文责编 郝丽芳)