分子胶的开发: 从偶然发现到合理设计

孙 杰[1#], 顾明希[2#], 臧兰兰[1], 刘文启[1*], 袁佩妍[2*]

(1. 临沂市人民医院药学部, 山东 临沂 276005; 2. 中山大学药学院 (深圳), 广东 深圳 518107)

摘要: 分子胶可通过特异性诱导靶蛋白和E3泛素连接酶间的相互作用来调控生物学功能, 在疾病治疗领域展现出显著优势。然而, 目前大多数分子胶的发现仍具有偶然性, 缺乏系统的发现手段和合理的设计策略。近年来, 随着化学生物学的快速发展以及对分子胶−蛋白质相互作用机制的深入研究, 分子胶的系统性开发正逐渐成为可能。因此, 本文旨在从偶然发现、系统筛选和合理设计3个方面梳理分子胶的发现策略及代表性分子, 以期为分子胶的发现与设计提供思路与参考。

关键词: 分子胶; 蛋白降解; 蛋白质间相互作用; 系统筛选; 合理设计

中图分类号: R914 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2025)11-3345-10

Development of molecular glue: from serendipitous discovery to rational design

SUN Jie[1#], GU Ming-xi[2#], ZANG Lan-lan[1], LIU Wen-qi[1*], YUAN Pei-yan[2*]

(*1. Department of Pharmacy, Linyi People's Hospital, Linyi 276005, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences Shenzhen, Shenzhen Campus of Sun Yat-Sen University, Shenzhen 518107, China*)

Abstract: Molecular glues can modulate biological functions by specifically inducing interactions between target proteins and E3 ubiquitin ligases, demonstrating significant advantages for disease treatment. However, the discovery of most molecular glues still relies on serendipity, lacking systematic methods and rational design strategies. In recent years, rapid advances in chemical biology and in-depth research on molecular glue-protein interaction mechanisms have gradually enabled systematic development of molecular glues. Therefore, this review aims to organize discovery strategies and representative molecules from three perspectives: serendipitous discovery, screening methods, and rational design, providing critical insights and references for future molecular glue development.

Key words: molecular glue; protein degradation; protein-protein interaction; pystematic screening; pational design

蛋白质间相互作用 (protein-protein interactions, PPIs) 通过动态调控信号转导, 严格调控机体的生理病理状态, 是生命活动的分子基石[1,2]。生理状态下, PPIs通过形成激酶级联反应、转录因子复合体及细胞骨架等, 精准执行细胞功能。而在病理状态下, 异常PPIs则成为癌症、神经退行性疾病及病毒感染的关键诱因。这种双重特性使PPIs既是疾病发生的核心点, 也是药物干预的理想靶点[3]。

化学诱导邻近 (chemically induced proximity, CIP) 技术通过人为拉近目标蛋白与功能模块 (如酶、配体或降解复合物), 为精准调控PPIs提供了革命性手段[4]。其中, 蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimeras, PROTAC) 作为典型代表, 通过连接E3泛素连接酶与

收稿日期: 2025-08-09; 修回日期: 2025-09-24.

基金项目: 山东省自然科学基金青年面上专项 (ZR2025QC1383); 中国医药教育协会《医院高质量发展与药学创新研究》专项课题 (2024-PJZXKT-16); 徐州医科大学附属医院发展基金资助项目 (XYFY202428).

#共同第一作者.

*通讯作者 E-mail: yuanpy3@mail.sysu.edu.cn; wenqi1025@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0932

靶蛋白实现蛋白酶体依赖性降解, 推动了靶向蛋白降解 (targeted protein degradation, TPD) 领域的发展[5]。然而, 传统双功能分子 (如PROTAC) 在成药性上仍面临一些固有挑战, 如相对分子质量较大、溶解度和细胞渗透性较差, 以及口服生物利用度低等。相比之下, 新型CIP工具分子胶 (molecular glues, MGs) 在成药性方面则具有更为显著的优势[6,7]。

分子胶的本质是通过特异性诱导或稳定两种蛋白质的相互作用界面, 从而调节生物学功能[8]。其核心优势在于分子质量小、结构简洁、空间干扰低, 更符合药物开发对成药性的要求[9,10]。根据作用机制, 分子胶主要可分为两大类: 第一类为非降解型分子胶, 它通过稳定靶蛋白与伴侣蛋白的相互作用, 调控其活性或下游通路, 如环孢菌素A (CsA) 结合FKBP12诱导calcineurin复合物形成, 从而进行免疫调控; 另一类为降解型分子胶, 它主要通过介导E3泛素连接酶与靶蛋白的三元复合物形成, 触发靶蛋白泛素化降解 (图1)[10]。当前, 分子胶最成熟的应用是诱导靶向蛋白质降解, 但其与PROTAC在结构及作用原理上却存在显著差异。异双功能分子PROTAC核心结构由配体、连接子 (linker) 和E3招募单元3个部分组成, 依赖空间距离控制降解效率。而降解型分子胶为单价小分子, 通过直接增强E3泛素连接酶与目标蛋白的相互作用实现降解, 无需连接子结构, 分子质量更小、空间干扰更低、成药性更优。

尽管分子胶在多种疾病治疗中展现出巨大的潜力, 但当前分子胶的发现主要依赖于各种筛选策略[11,12], 仍处于研究和开发初期。本文将以降解型分子胶为主体, 从分子胶的偶然发现、系统筛选及合理设计3个方面进行综述, 旨在通过概述相关代表性分子胶与前沿进展, 为分子胶的开发提供合理的参考和见解。

1 分子胶的偶然发现

分子胶领域中许多里程碑式发现多源于偶然。如沙利度胺和indisulam等化合物最初并非作为分子胶开发, 但因其显著的疗效而获批临床应用。值得注意的是, 这些分子在早期研发阶段的作用机制大多未被明确阐释, 直至经过长期深入的基础研究, 其核心作用模式才得以系统揭示。本部分将介绍几类具有代表性的分子胶, 它们的发现始于偶然, 后续机制研究发现, 其主要通过诱导或稳定E3泛素连接酶与特定靶蛋白之间的相互作用, 进而发挥蛋白降解作用 (图2)。

1.1 沙利度胺类免疫调节药物 早在1954年, 沙利度胺 (thalidomide) 被用作镇静剂以减轻孕妇妊娠期呕吐的症状。然而, 随之而来的是其严重的致畸不良反应, 导致许多新生儿出现肢体缺陷, 最终药品被迫退市[13]。然而, 在1965年, 沙利度胺因其新发现的多重药理活性再次引起科研界的重视。进一步研究揭示, 沙利度胺及其衍生物, 如来那度胺 (lenalidomide) 和泊马度胺 (pomalidomide), 不仅具有显著的免疫调节作用, 还表现出强大的抗炎和抗肿瘤特性[14]。

免疫调节药物 (immunomodulatory drugs, IMiDs) 通过与E3泛素连接酶复合物CUL4 (Cullin 4)-RBX1-DDB1的底物受体cereblon (CRBN) 相结合来发挥作用。当IMiDs与CRBN结合后, 能引导E3连接酶识别并结合至原本不受调控的“新底物”蛋白质上, 诱导这些蛋白质进行泛素化修饰, 随后通过蛋白酶体途径将其降解。重要的是, 此类药物会优先选择性地招募并降解含有锌指结构域的转录因子 (图2A)。例如, 泊马度胺作为新一代IMiD, 通过“分子黏合剂”般的机制, 精确调控特定蛋白质的泛素化和降解过程, 从而实现其免疫调节、抗炎及抗肿瘤疗效[15]。

1.2 芳基磺酰胺类药物 芳基磺酰胺类药物indisulam是通过表型筛选鉴定出来的一种抗肿瘤药物[16]。研究表明, 它在E3泛素连接酶CUL4-DCAF15和剪接因子RNA结合基序蛋白39 (RBM39) 之间发挥了“分子黏合剂”的作用, 通过引起RBM39的泛素化而被蛋白酶体降解 (图2B)[17]。此外, tasisulam等磺酰胺

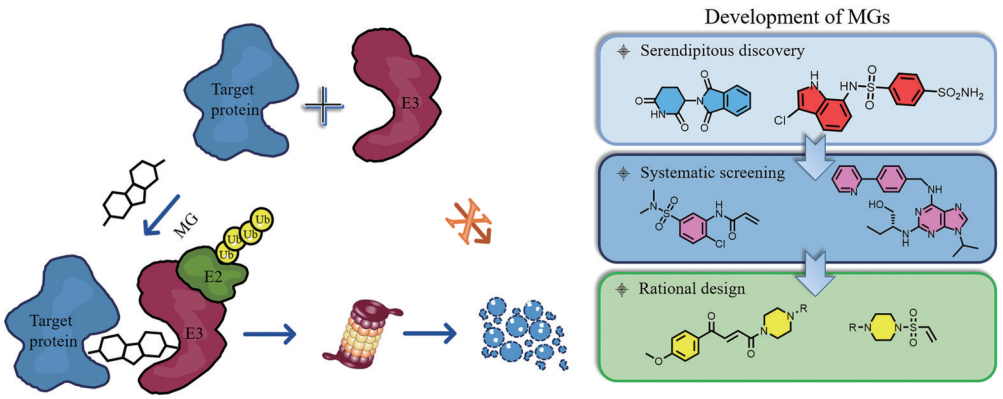


Figure 1 Mechanism of action and development strategies of MGs. MGs: Molecular glues

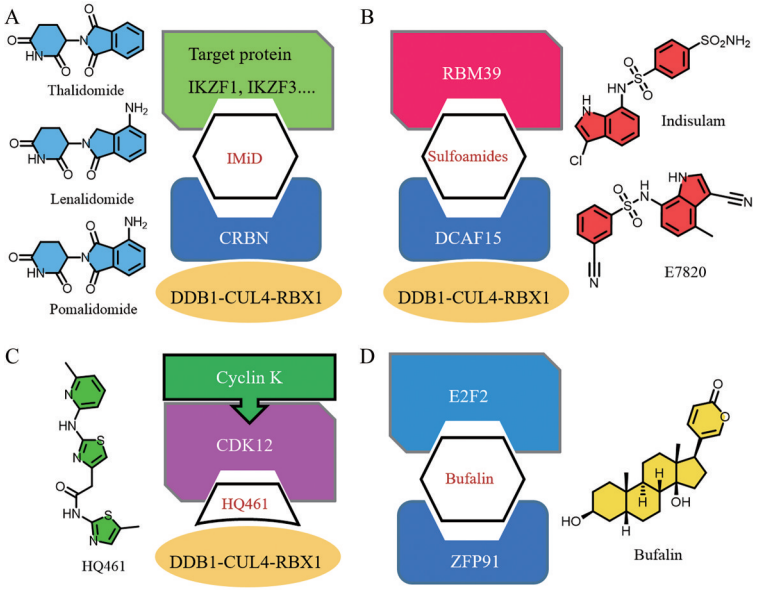


Figure 2　Serendipitously discovered representative MG structures and their mechanisms of action. A: Immunomodulatory imide drugs (IMiDs); B: Aryl sulfonamide drugs; C: HQ461; D: Bufalin

类药物也展现出了与 indisulam 相似的作用机制[18]。与 IMiDs 相比, 磺酰胺类药物对 DCAF15 的亲和力较弱, 且 RBM39 对 DCAF15 的结合亲和性也不高。然而, 磺酰胺类药物却能够诱导 DCAF15 表面形成浅口袋, 并加强 DCAF15 和 RBM39 两者之间的相互作用, 从而增强蛋白质复合体的稳定性[19]。比如, indisulam 衍生物 E7820 通过结合 DCAF15 的界面浅口袋, 诱导雌激素受体相关蛋白 CAPERα/RBM39 与 DCAF15 形成三元复合物, 触发 CAPERα 泛素化降解, 进而下调整合素 α2 表达, 发挥抗血管生成作用。临床前研究显示, E7820 对胰腺癌、乳腺癌等实体瘤具有潜在活性, 目前正推进至临床试验阶段[18,20]。

1.3　HQ461 及衍生物　Lv 等[21]在筛选 NRF2 抑制剂时, 偶然发现候选化合物 HQ461 能够有效杀伤癌细胞, 但却并不完全依赖于对 NRF2 的抑制。后续全基因组 CRISPR 筛选揭示, HQ461 的抗肿瘤活性依赖 E3 泛素连接酶 CUL4-DDB1-RBX1, 其通过促进 CDK12 和 DDB1 的相互作用, 导致 Cyclin K 的泛素化和降解。DDB1 是 CUL4-DDB1-RBX1 E3 泛素连接酶的接头蛋白, 通过结合不同的底物受体蛋白来识别和降解特异的底物。在 HQ461 诱导 Cyclin K 降解过程中, CDK12 充当了底物受体的角色 (图 2C)。此外, 对 HQ461 进行构效关系分析发现了 5-甲基噻唑-2-胺药效基团的重要性, 并优化得到了具有更强诱导 Cyclin K 降解活性的 HQ461 衍生物。CDK12 在 DNA 损伤修复、基因转录调控中发挥关键作用, 其异常表达与多种肿瘤相关, HQ461 的发现为此类靶点提供了新型分子胶开发策略。

1.4　BI3802 及衍生物　沙利度胺及 indisulam 等药物均通过形成“靶蛋白–药物–连接酶”三元复合物降解靶蛋白。而 BCL6 降解剂 BI3802 则通过诱导靶蛋白聚合, 随后进行泛素化和降解, 展现出一种独特的新机制。BI3802 是在筛选 BCL6 抑制剂的过程中偶然发现具有降解能力的分子胶。机制研究表明, BI3802 与 BCL6 的 BTB 结构域结合, 其溶剂暴露部分有助于配体–蛋白质界面的形成, 并触发 BCL6 同源二聚体有序组装成超分子结构。药物诱导的特异性聚集促进了 E3 连接酶 SIAH1 对 BCL6 的泛素化和蛋白酶体降解[22]。晶体结构分析显示, BI3802 的二甲基哌啶基团与相邻 BTB 同源二聚体的远端氨基酸互作, 促进了超分子细丝的组装[23]。

此外, BI3802 的甲基哌啶环位于溶剂暴露区, 可与另一蛋白结合, 这为分子胶的设计提供了思路。随后, Bellenie 等[24,25]通过优化暴露于溶剂区的不同取代基团, 将一系列结构与 BI3802 相似的 BCL6 抑制剂, 开发为相应的分子胶, 如 CCT369260、CCT373566, 它们均能诱导 BCL6 聚集, 进而被 SIAH1 识别和降解。这一偶然发现为后续设计 BCL6 降解剂提供了参考 (图 3)。

1.5　天然产物　从传统中药蟾酥提取的蟾毒灵 (bufalin) 具有良好的抗肿瘤活性[26]。Liu 等[27]设计了一种蟾毒灵分子探针, 并结合蛋白质组学分析鉴定出转录因子 E2F2 为其直接作用靶点。机制研究表明, 蟾毒灵可作为分子胶, 促进 E2F2 与非典型泛素连接酶 ZFP91 形成三元复合物, 进而诱导 E2F2 的泛素化和降解 (图 2D)。类似地, Li 等[28]研究发现天然产物醋酸棉酚能够抑制

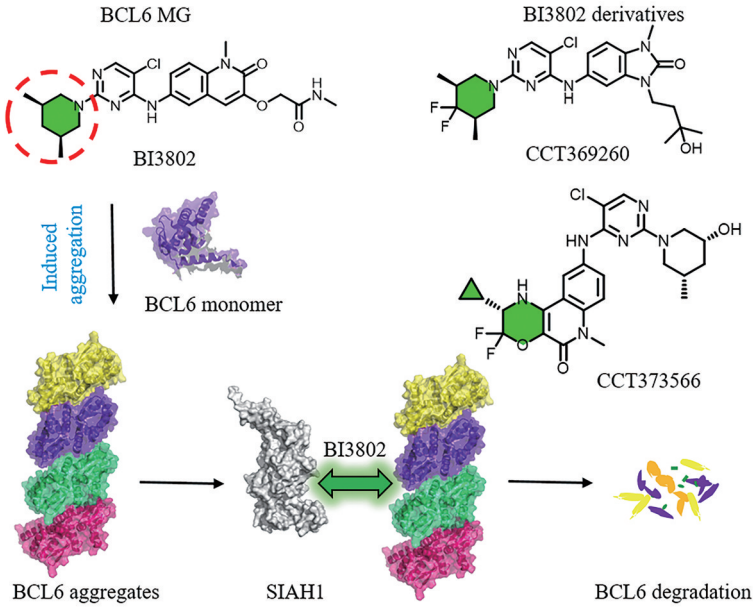


Figure 3 Structure and degradation mechanism of BCL6 molecular glue BI3802 and its derivatives (PDB: 6XMX)

VCP 蛋白的活性, 并诱导“VCP-微管相关蛋白轻链 3 (LC3)-亨廷顿突变蛋白 (mHTT)”三元复合物的形成, 从而介导自噬途径降解 mHTT, 减轻亨廷顿病的神经元毒性。这些发现表明, 天然产物类分子胶不仅为复杂疾病机制研究提供了新思路, 也为融合传统医药与现代靶向治疗技术开辟了创新药物开发途径。

2 分子胶的系统筛选

随着对分子胶作用机制的深入解析, 仅靠“偶然发现”的传统模式挖掘分子胶已经不能满足临床转化需要。为突破这一瓶颈, 系统化筛选方法逐渐成熟, 通过构建多样性化学文库, 并整合高通量筛选、蛋白质组学分析及多种检测技术, 系统性挖掘能诱导或稳定特定 E3 泛素连接酶−靶蛋白复合物的分子胶, 成为开发分子胶的重要方法。这些方法不仅极大提升了分子胶的发现效率, 更推动了分子胶的主动发掘与理性设计。本部分将概述具有代表性的系统筛选方法及分子胶分子。

2.1 变性蛋白质印迹筛选 Bellail 等[29]对 1 596 种化合物进行变性蛋白质印迹筛选, 发现 SUMO1 选择性降解剂 CPD1, 并通过构效关系进一步优化得到先导化合物 HB007。随后, 通过基因组 CRISPR 筛选与 Pull-down 实验证明, HB007 通过诱导 CAPRIN1-CUL1-FBXO42 复合物形成, 导致 SUMO1 泛素化降解。该方法通过免疫印迹直接检测靶蛋白水平, 结果可靠但通量较低, 适合验证阶段使用。

2.2 共价配体文库筛选 King 等[30]利用共价配体文库进行了表型筛选, 并结合化学蛋白质组学分析发现了一种依赖于 E2 泛素结合酶的共价分子胶。他们首先通过筛选 750 个半胱氨酸反应性共价配体, 发现 EN450 对白血病细胞具有明显的杀伤作用。进一步利用蛋白质组学, 鉴定出 E2 泛素结合酶 UBE2D 的 C111 残基为 EN450 的共价结合位点, 并结合 TMT 标记技术确认 NF-κB1 为降解靶蛋白。随后 Pull-down 实验证实 EN450 介导 UBE2D-NF-κB1 三元复合物形成, 并通过泛素蛋白酶体途径降解 NF-κB1。该方法通过共价配体库筛选并结合蛋白质组学分析, 为分子胶的发现提供了新途径。

2.3 数据库挖掘与 CRISPR 验证 Słabicki 等[31]利用生物信息学, 系统分析了 578 个癌细胞系对 4 518 种药物的敏感性数据与 499 种 E3 连接酶 mRNA 表达水平的相关性, 并结合 CRISPR 基因编辑技术进行功能验证, 最终成功鉴定出 CDK 抑制剂 CR8 具有分子胶降解剂特性。机制研究表明, CR8 通过促进 CDK12-Cyclin K 与 DDB1 形成三元复合物, 触发 Cyclin K 泛素化降解。构效关系研究发现, CR8 位于溶剂暴露区的吡啶基团是发挥分子胶蛋白降解的关键基团, 这为溶剂暴露区基团的修饰策略提供了方向 (图 4)。CR8 的发现进一步凸显了基于大数据分析和筛选策略在发现新型分子胶方面的强大潜力。

2.4 小分子芯片筛选 目前, 大多数分子胶都是依赖于泛素蛋白酶体途径发挥蛋白降解功能。而近年来, Li 等[32]筛选出一种基于溶酶体的分子胶降解剂, 其可以作为分子胶诱导 LC3 和 mHTT 三元复合物的形成。研究首先基于小分子芯片 (small molecule microarrays, SMMs) 和免标记斜入射光反射差 (OI-RD) 技术的新型高通量药物筛选平台, 从含有上千种小分子的化合物库中筛选出可以同时与 mHTT 和 LC3 发生相互作用

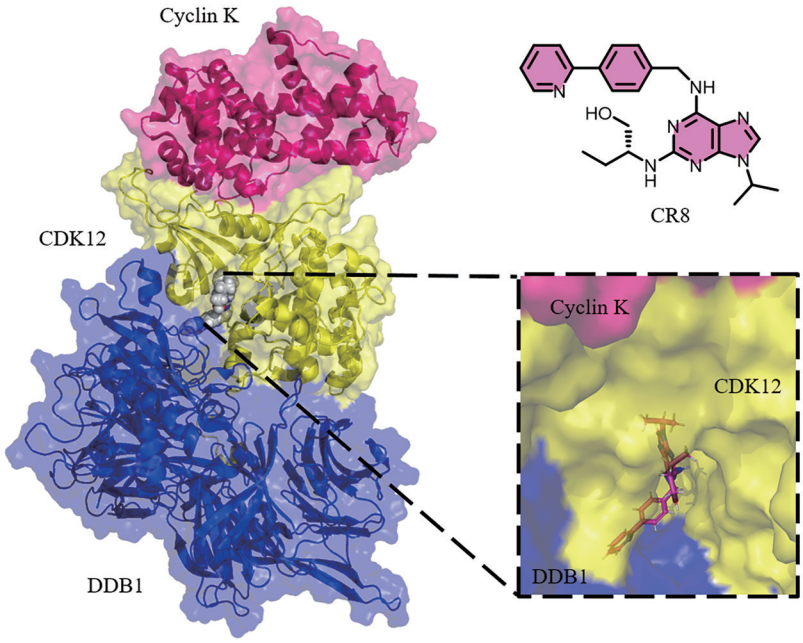


Figure 4　The interaction mode of CR8 with DDB1 and CDK12 (PDB: 6TD3)

的化合物。它们在体外和体内均能通过双重靶向LC3和mHTT, 进而促进自噬途径对mHTT的降解, 在治疗亨廷顿病方面展示出优异的效果。该方法突破传统UPS系统限制, 为溶酶体靶向分子胶开发提供新策略, 但该方式同样存在一定缺点, 比如芯片库更新困难且不适用于药物结合口袋位于蛋白内部的靶点。

2.5　荧光偏振高通量筛选　荧光偏振 (fluorescence polarisation, FP) 测定法通过追踪荧光标记药物与靶蛋白结合时的荧光信号变化, 可定量分析药物与蛋白的结合能力, 为研究分子相互作用和筛选靶向药物提供了灵敏的实验手段[33]。Simonetta等[34]采用荧光偏振技术, 对包含35万种化合物的文库进行了高通量筛选, 成功发现了β-catenin分子胶降解剂NRX-1532/NRX-1933。这类分子通过增强β-catenin与SCFβ-TrCP连接酶的亲和力, 促进突变型β-catenin泛素化降解。晶体结构解析显示, 该类化合物的三氟甲基吡啶酮基团可以与β-catenin-β-TrCP界面形成疏水相互作用。荧光偏振高通量筛选为转录因子等“不可成药”靶点的药物开发提供了新方法。

2.6　DNA编码化合物库筛选　DNA编码化合物库 (DNA-encoded compound library, DEL) 筛选技术是一种结合了组合化学和分子生物学的技术, 可用于快速合成和筛选大量化合物。其工作流程主要是先通过连接子将DNA片段与小分子化合物结合, 构建多样性化合物文库, 然后通过筛选与靶蛋白具有高亲和力的配体, 并对其进行测序鉴定、解析结合物结构[35]。Liu等[36]设计了一种“DNA标签-VHL配体–靶蛋白结合物”模式的DNA编码VHL邻近诱导化合物库, VHL CIP-DEL。通过筛选大约100万个DNA条形码化合物的文库, 筛选出系列可同时靶向VHL和BRD9的化合物。随后, 通过AlphaScreen、表面等离子体共振 (surface plasmon resonance, SPR)、非变性质谱 (mass spectrometry, MS) 和NanoBiT等技术验证发现, 化合物13-7在细胞中能呈剂量依赖性地诱导BRD9-VCE三元复合物形成, 有效降解BRD9蛋白, 且降解过程依赖于VHL。通过该方式筛选出的化合物诱导三元复合物形成的能力强, 且降解无钩效应, 为分子胶的合成与筛选提供新途径。

2.7　亲和质谱分析筛选　亲和质谱分析 (affinity selection mass spectrometry, ASMS) 结合了尺寸排阻色谱 (size exclusion chromatography, SEC) 和液相色谱–质谱 (LC-MS) 技术, 利用蛋白质与配体解离速率的差异来区分分子胶和常规配体。Hu等[37]提出了一种基于亲和质谱分析的分子胶直接筛选策略, 突破了传统表型筛选的局限。该策略结合化学文库、高通量质谱鉴定及ASMS技术, 无需分子纯化即可实现目标蛋白的分子胶筛选。通过SEC分离游离配体与三元复合物, 再经LC-MS检测蛋白–配体复合物, 利用信号富集程度量化复合物稳定性。该项研究在CRBN-GSPT1模型中验证发现, 分子胶SJ6986在加入靶蛋白后信号富集达2倍, 且信号呈剂量依赖性增强, 而普通分子CC-220则无响应。亲和质谱分析筛选方式的出现极大地提高分子胶的开发效率。

2.8　基于基因编码光交联非天然氨基酸与质谱蛋白质组学联用的筛选　Xu等[38]基于基因密码子扩展技

术、光交联非天然氨基酸 (unnatural amino acid, UAA) 和蛋白质组学分析, 开发了一种活细胞内直接捕捉“分子胶诱导的E3连接酶−底物”相互作用的新方法。该方法通过将光交联活性的非天然氨基酸定点引入E3连接酶CRBN的底物结合界面, 在光激活条件下实现活细胞内分子胶诱导的CRBN-底物复合物的共价捕获, 突破了传统技术在灵敏度和准确性上的局限。

研究成功鉴定了分子胶CC-885诱导的内源性降解底物 (如GSPT1、GSPT2、ETF1), 并揭示了临床分子DKY709的新靶标FIZ1, 拓展了其潜在靶标空间。此外, 研究基于分子胶与CRBN的结合特性, 设计了两种新型分子胶降解剂CM-2和CM-3, 其在多发性骨髓瘤MM.1S细胞系中表现出显著抗增殖活性。该研究不仅为分子胶降解剂及可调控靶标的发现提供了化学生物学新工具, 还揭示了底物与CRBN结合的新模式, 揭示了对“E3连接酶−分子胶−诱导底物”的识别机制, 为“不可成药”靶标的降解研究和靶标空间扩展提供了新视角。

3 分子胶的合理设计

如前所述, 分子胶降解剂主要依赖偶然发现或系统筛选, 缺乏系统的设计方法。当前主流策略仍以IMiDs的结构优化为主, 比如泊马度胺衍生物DKY709的开发, 研究通过在泊马度胺母核中引入哌啶环并植入苄基,不仅使其获得了对IKZF2蛋白的降解能力, 还实现了对IKZF1降解活性的选择性逆转。目前DKY709已进入临床研究阶段。基于这一思路, 在保留CRBN结合关键药效团——戊二酰亚胺环的基础上, 研究人员通过结构优化开发了系列新型分子胶, 如CC-122、CC-220、CC-885、CC-90009、CC-92480 和 CC-99282等, 它们均展现出优异的蛋白降解性能[39]。

值得注意的是, 除对已知分子胶的优化改造外, 近年来一种基于配体化学修饰的创新策略逐渐受到关注。研究发现, 通过对非降解性靶蛋白配体进行化学修饰, 引入“共价手柄”, 可将其转化为共价分子胶降解剂。其作用机制是: 配体部分结合靶蛋白, 而共价手柄则与邻近的特定E3连接酶 (如DCAF16) 残基形成共价键, 从而拉近并稳定靶蛋白-E3复合物, 导致蛋白降解 (图5, 表1)[40-48]。本部分将重点总结成功应用此策略, 并将抑制剂转化为降解剂的“分子胶手柄”及其对应的分子胶实例。

3.1 富马酸哌嗪分子胶手柄 Toriki等[40]提出一种模块化化学手柄策略, 成功实现了从蛋白靶向配体到分子胶降解剂的合理转化。研究以CDK4/6抑制剂ribociclib为例, 通过引入“富马酸哌嗪”共价手柄, 诱导CDK4与E3连接酶RNF126形成共价键, 从而触发CDK4降解。经结构优化后, 该共价模块被证实可作为通用化学手柄, 通过简单连接即可将多种蛋白配体转化为分子胶降解剂, 分别实现对CDK4, BCR-ABL/

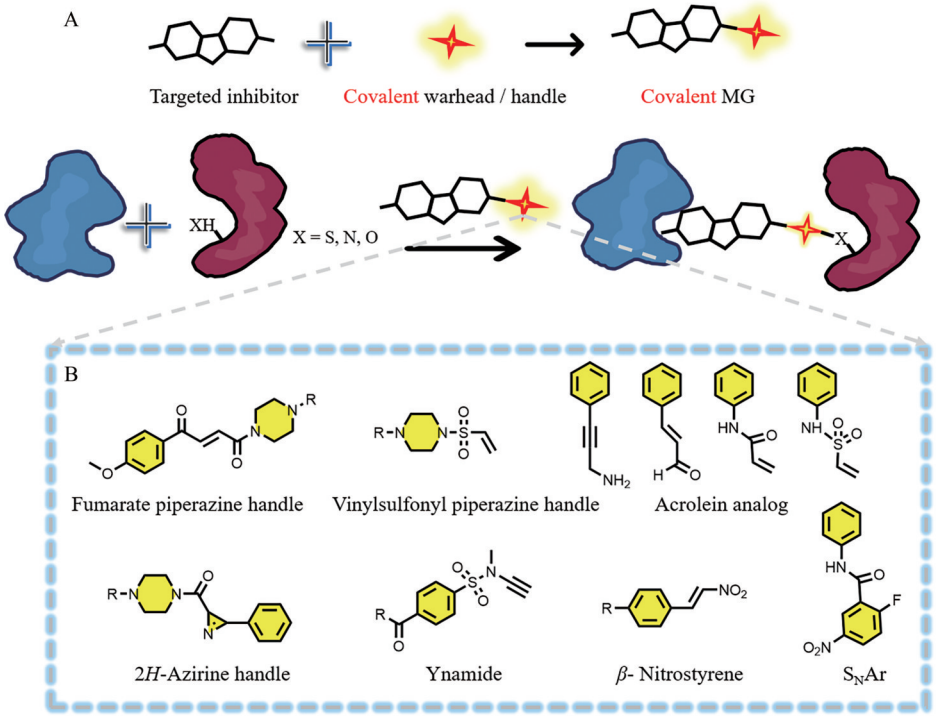


Figure 5 The mechanism of action of molecular glue based on covalent warheads/handles and the molecular structures of representative warheads/handles

Table 1　Reported covalent warheads/handles and their recruited E3 ligases. SNAr: Nucleophilic aromatic substitution reactions

Covalent warhead/handle	E3 ligase	Applicable target	Ref.
Fumarate piperazine handle	RNF126	CDK4, BCR-ABL/c-ABL, PDE5, BRD4, AR/AR-V7, BTK, SMARCA2/4, HDAC1/3, LRRK2, TBK1, FGFR	[40-42]
Vinylsulfonyl piperazine handle	DCAF16	BRD4, AR, BCR-ABL/c-ABL, SMARCA2/4, BTK, CDK4	[43]
Acrolein analog	DCAF16	BRD4	[44]
2*H*-Azirine handle	NEDD4	$EGFR^{L858R/T790M/C797S}$, CDK4, PDE5, BTK, BRD4, BCR-ABL, SMARCA	[45]
Ynamide	RBBP7	BTK, CDK4, PDE5, PI3K, AKT, BCR-ABL, BRD4, $EGFR^{L858R/T790M/C797S}$	[46]
β-Nitrostyrene	TRIM28	BRD4, BTK, PDE5, BCR-ABL, LRRK2, $EGFR^{L858R/T790M/C797S}$	[47]
S_NAr	DCAF16 DCAF11	BRD4, CDK4/6	[48]

c-ABL, PDE5, BRD4, AR/AR-V7, BTK, SMARCA2/4, HDAC1/3, LRRK2等多种蛋白质的有效降解。该策略突破了传统分子胶依赖偶然发现的局限, 通过模块化的方式实现了对靶蛋白配体的合理设计, 对分子胶的合理设计具有重要的指导意义。

随后, Guo等[41]将富马酸分子胶手柄应用于TBK1降解剂开发, 用于治疗常染色体显性多囊肾病。研究显示, 该分子胶通过E3泛素连接酶RNF126介导的泛素−蛋白酶体系统诱导TBK1降解, 有效抑制囊肿生长并减轻了炎症反应。Sun等[42]同样将该手柄分别植入TBK1、FGFR及BCR-ABL抑制剂中, 成功开发了相应分子胶降解剂, 进一步拓宽了该类分子胶手柄的应用。但研究发现, 此类分子胶存在非特异性细胞毒性, 对正常细胞同样具有较强的杀伤作用, 而这无差异的细胞毒性可能源于手柄中的双键。为解决这一问题, 他们采用氧化还原响应性连接子, 将疏水性分子胶与亲水性mPEG偶联, 构建了肿瘤微环境响应性纳米递送系统。该策略通过自组装形成纳米粒, 实现分子胶在肿瘤部位的特异性释放, 既增强了药物的肿瘤抑制能力, 又显著提升了生物安全性, 为分子胶的临床转化提供了创新性解决方案。

3.2　乙烯基磺酰基哌嗪分子胶手柄　Lim等[43]在另一项工作中, 为筛选可将抑制剂转化为分子胶的共价化学柄, 以BET家族抑制剂JQ1为起点, 合成了一系列带有不同亲电手柄的共价JQ1衍生物。这些衍生物能与E3连接酶上的半胱氨酸或其他亲核氨基酸反应, 进而降解BRD4。筛选结果显示, 含乙烯基磺酰基哌嗪手柄的分子可高效且选择性地降解BRD4蛋白。蛋白质组学等机制研究进一步证实, 这类分子能与E3连接酶DCAF16结合, 从而诱导BRD4降解。此外, 研究表明乙烯基磺酰基哌嗪分子胶手柄具有通用性, 与富马酸分子胶手柄类似, 可应用于多种蛋白质靶向配体, 促进AR、BCR-ABL/c-ABL、SMARCA2/4、BTK及CDK4等不同类别蛋白质的降解。不过值得注意的是, 蛋白质组学研究发现乙烯基磺酰基哌嗪类分子胶也存在不同程度的脱靶降解现象。

3.3　氨基丙炔及衍生物分子胶手柄　Li等[44]提出了一种基于“模板辅助共价修饰”的新型分子胶降解剂设计策略, 以BET抑制剂JQ1为基础, 成功开发出靶向BRD4的高效降解体系。研究巧妙地将JQ1苯环末端的氯原子替换为氨基丙炔, 获得衍生物GNE-0011, 并筛选出丙烯醛类似物TMX1。它们均能够发挥分子胶作用, 诱导DDB1-DCAF16与BRD4第二溴结构域(BD2)相互作用, 特异性诱导BRD4 BD2的泛素化降解。机制研究表明, TMX1的丙烯醛基团可与DCAF16的Cys58残基形成共价键, 而BRD4 BD2的存在能够显著增强该共价修饰效率, 形成“模板辅助共价修饰”新模式。此外, 本研究还进一步筛选了其他共价反应基团, 并获得了具有更强效的分子胶MMH1和MMH2。通过冷冻电镜技术, 解析了DDB1-DCAF16-BRD4 BD2-MMH2复合物的结构, 证实了模板辅助共价修饰的存在。总的来说, 这项工作将“模板辅助共价修饰”确立为共价分子胶的机制, 这为共价分子胶的设计提供了新的视角和策略。

3.4　2*H*-氮杂环丙烯分子胶手柄　He等[45]提出了一种基于共价招募E3泛素连接酶NEDD4的新型靶向蛋白降解策略, 成功将抑制剂转化为分子胶降解剂。研究以brigatinib衍生物LS-106为骨架, 保留其对$EGFR^{L858R/T790M/C797S}$的高亲和力, 通过在其溶剂暴露的哌嗪环上分别引入多种亲电弹头(2H-氮杂环丙烯、环氧乙烷、氰胺等), 筛选出2*H*-氮杂环丙烯作为首个可诱导EGFR三突变体降解的共价化学手柄。随后, 蛋白质组学等机制研究发现, 该弹头通过与NEDD4 E3连接酶的C1286残基形成共价键, 从而通过泛素−蛋白酶体通路介导EGFR的降解, 为克服EGFR耐药突变提供了新思路。此外, 研究还将前期报道的富马酸分子胶手柄、乙烯基磺酰基哌嗪分子胶分别植入EGFR抑制剂中, 开发了3种招募不同E3连接酶的EGFR分子胶。研究显示, 3种分子胶均表现出了靶标蛋白的降解活性, 而2H-氮杂环丙烯类分子胶的降解活性最强。

此外, 研究进一步将2*H*-氮杂环丙烯模块植入至不同类别蛋白的靶向配体中, 成功开发出能够靶向降解CDK4、PDE5、BTK、BRD4、SMARCA等的分子胶, 证明2*H*-氮杂环丙烯分子胶手柄策略具有普适性。值得注意的是, 目前基于第二代BCR-ABL抑制剂达沙替尼开发的VHL、CRBN类PROTAC对Bcr-Abl^{T315I}突变体无降解效力。而基于达沙替尼开发的2*H*-氮杂环丙烯类分子胶, 不仅能够降解野生型BCR-ABL, 对BCR-ABL^{T315I}突变体也具备降解能力。这为克服肿瘤耐药性提供了新思路。

3.5 炔酰胺分子胶手柄 Wang等[49]将炔酰胺(ynamide)作为共价弹头引入多种小分子抑制剂中, 开发了一系列共价抑制剂。这些抑制剂能够诱导多种激酶发生分子内交联, 从而实现激酶活性的不可逆抑制。而Liu等[46]则创新性地利用炔酰胺共价弹头开发了依赖全新E3连接酶RBBP7的蛋白降解策略。该研究以共价BTK抑制剂伊布替尼为基础, 在其溶剂暴露的哌啶环上系统引入包括炔酰胺、丙烯酰胺在内的多种亲电弹头。其中, 含炔酰胺弹头的化合物YT-57展现出良好的BTK降解活性, 进一步优化后获得的YT-58具有最优的降解活性, 且其抗增殖能力比伊布替尼强约20倍。免疫共沉淀/质谱联用(Co-IP/MS)和基于活性的蛋白质组学分析(activity-based protein profiling, ABPP)表明, YT-58的炔酰胺弹头可共价修饰了E3连接酶RBBP7第97位的半胱氨酸(C97), 进而成功招募RBBP7并诱导BTK降解。此外, 这种“靶蛋白−炔酰胺−RBBP7”策略同样展现出显著的普适性。研究人员将该模块应用于靶向CDK4、PDE5、PI3K、AKT、BCR-ABL、BRD4以及不同EGFR突变体(如L858R、L858R/T790M/C797S)的配体分子上, 这些配体均能有效转化为对应的降解剂。这项工作确立了一种利用炔酰胺弹头共价招募RBBP7实现广泛靶蛋白降解的全新机制, 为炔酰胺类分子胶的开发提供了理论基础。但值得注意的是, 通过优化炔酰胺弹头与蛋白配体之间的“微小连接链”或许能够增强其蛋白降解能力。

3.6 *β*-硝基苯乙烯分子胶手柄 除了2*H*-氮杂环丙烯和炔酰胺分子胶手柄之外, Ouyang等[47]还基于*β*-硝基苯乙烯可逆共价弹头, 开发了一种新型靶向蛋白降解策略。该研究首先通过表型筛选结合化学蛋白质组学平台, 发现*β*-硝基苯乙烯能够作为靶向半胱氨酸的可逆共价弹头。基于此构建的片段库在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞中展现出显著的抗增殖活性, 其中片段NO-6和NO-26被鉴定为分别共价修饰蛋白SND1和PTGES2, 有效抑制AML细胞增殖, 为相关药物研发提供了潜在的新靶点。随后, 研究进一步将该弹头应用于降解剂的设计, 通过将*β*-硝基苯乙烯植入BRD4抑制剂JQ1, 成功开发出化合物4090。该降解剂可招募新型E3连接酶TRIM28, 并依赖弹头共价修饰TRIM28的C232位点, 诱导BRD4通过泛素−蛋白酶体途径进行降解。随后, 将*β*-硝基苯乙烯弹头分别植入到BTK、PDE5、BCR-ABL、LRRK2以及EGFR$^{L858R/T790M/C797S}$等不同靶点的配体上时, 它们均能成功诱导相应靶蛋白的降解, 且在高浓度下不出现“钩效应”, 证明该策略同样具有普适性。

3.7 亲核芳香取代反应类分子胶手柄 芳香族亲核取代反应(nucleophilic aromatic substitution, S_NAr)是一种常见的化学反应, 在药物合成中使用频率非常高。基于S_NAr的共价弹头具备可调节的亲电性, 有望应用于开发共价抑制剂或者降解剂[50]。Zhuang等[48]提出并验证了一种利用S_NAr共价弹头开发新型降解剂的通用策略。研究首先在BRD4抑制剂JQ1的溶剂暴露区域引入S_NAr弹头, 获得降解剂ZZ7-16-073。该分子展现出皮摩尔级的肿瘤生长抑制, 且降解效力远超分子胶MMH2和PROTAC dBET6。机制研究表明, ZZ7-16-073通过S_NAr弹头结合E3连接酶DCAF16, 诱导BRD4泛素化降解。值得注意的是, 研究仅仅改变S_NAr弹头在JQ1分子骨架上的连接位置, 就能引导BRD4产生不同的降解途径。比如, BRD4 BD1和BD2分别通过DCAF16、DCAF11两条不同的E3连接酶通路进行降解, 这为调控降解选择性提供了新的化学手段。此外, 该策略具有普适性, 将S_NAr弹头分别植入广谱激酶抑制剂TL13-87或CDK4/6抑制剂Palbociclib中, 则能够合成相应的降解剂。本研究不仅证明S_NAr共价弹头策略能够实现靶蛋白的高效降解, 更揭示了通过化学修饰位置的调整可控E3连接酶选择性的新机制。

4 展望与挑战

与传统小分子抑制剂相比, 分子胶作为新型蛋白降解策略, 通过扮演“分子粘合剂”的角色, 促进靶蛋白与E3泛素连接酶的结合并诱导靶蛋白降解, 为传统“不可成药”的靶点提供了新途径。然而截至目前, 已发现分子胶数量仍有限, 其发现途径多依赖于对已知药物或化合物的分子机制解析, 或通过随机筛选方法, 本质上仍带有较大的偶然性。究其原因, 主要在于现有单一筛选技术存在诸多局限。例如, 传统的变性蛋白质印迹法通量较低, 难以满足大规模筛选需求; 而高通量筛选虽提升了通量, 却伴随较高的假阳性率, 且难以区分真正的分子胶与仅抑制靶蛋白活性的普通化合物。此外, 像SMMs等筛选平台还面临芯片库或化合物库更新困难、对结合口袋较深的靶蛋白适用性差等问题, 进一步限制了筛选效率和覆盖范围。基于活性

的蛋白质组学分析虽可用于识别降解靶点, 但其探针设计复杂、蛋白质组覆盖度有限, 容易遗漏弱结合或瞬时相互作用, 也无法实时监测PPI的动态过程。

尽管面临上述挑战, 但多种高通量筛选与组学技术的迅速发展为分子胶的系统性发现带来了新机遇。通过联合多种筛选技术, 系统解析药物的作用机制, 并基于此开发合理的设计策略, 将系统筛选与合理设计相结合, 构建“筛选–验证–优化”的体系, 有望成为开发分子胶的有效途径。比如, 通过DEL等高通量筛选策略, 快速筛选出具有潜在效力的化合物, 再利用ABPP结合定量蛋白质组学技术明确降解靶点与作用通路, 最后通过SPR、蛋白质谱、冷冻电镜或X射线晶体学等方法验证结合模式并解析三元复合物结构, 为后续分子优化提供结构基础。这种多技术联用策略已在BRD9分子胶13-7、IKZF1/3分子胶CC-92480等候选药物的开发中成功验证, 显著提高了筛选效率与机制解析深度。

总的来说, 本文梳理了分子胶从偶然发现、系统筛选到基于手柄的理性设计的发展脉络, 概述了代表性的分子胶类型, 总结了相关的发现策略与面临的挑战, 旨在为促进分子胶的开发提供思路与参考。相信随着筛选策略与合理设计方法的不断进步, 分子胶研究有望突破传统偶然发现的局限, 推动靶向蛋白降解技术的临床转化, 最终为疾病治疗提供更高效的先导药物。

作者贡献: 孙杰、顾明希负责文献收集、文章作图与撰写; 臧兰兰参与文章的修改; 刘文启、袁佩妍对论文进行整体的指导、修改、校对和审核。全体作者均已阅读并同意最终的文本。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Zhang R, Zheng Y, Xiang F, et al. Inducing or enhancing protein-protein interaction to develop drugs: molecular glues with various biological activity [J]. Eur J Med Chem, 2024, 277: 116756.

[2] Luck K, Kim DK, Lambourne L, et al. A reference map of the human binary protein interactome [J]. Nature, 2020, 580: 402-408.

[3] Greenblatt JF, Alberts BM, Krogan NJ. Discovery and significance of protein-protein interactions in health and disease [J]. Cell, 2024, 187: 6501-6517.

[4] Stanton BZ, Chory EJ, Crabtree GR. Chemically induced proximity in biology and medicine [J]. Science, 2018, 359: 6380.

[5] Hinterndorfer M, Spiteri VA, Ciulli A, et al. Targeted protein degradation for cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2025, 25: 493-516.

[6] Schreiber SL. Molecular glues and bifunctional compounds: therapeutic modalities based on induced proximity [J]. Cell Chem Biol, 2024, 31: 1050-1063.

[7] Robinson SA, Co JA, Banik SM. Molecular glues and induced proximity: an evolution of tools and discovery [J]. Cell Chem Biol, 2024, 31: 1089-1100.

[8] Schreiber SL. The rise of molecular glues [J]. Cell, 2021, 184: 3-9.

[9] Dewey JA, Delalande C, Azizi SA, et al. Molecular glue discovery: current and future approaches [J]. J Med Chem, 2023, 66: 9278-9296.

[10] Konstantinidou M, Arkin MR. Molecular glues for protein-protein interactions: progressing toward a new dream [J]. Cell Chem Biol, 2024, 31: 1064-1088.

[11] Hemant Kumar S, Venkatachalapathy M, Sistla R, et al. Advances in molecular glues: exploring chemical space and design principles for targeted protein degradation [J]. Drug Discov Today, 2024, 29: 104205.

[12] Jiang WQ, Jiang YH, Luo YF, et al. Facilitating the development of molecular glues: opportunities from serendipity and rational design [J]. Eur J Med Chem, 2024, 263: 115950.

[13] Bartlett JB, Dredge K, Dalgleish AG. The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4: 314-322.

[14] Shortt J, Hsu AK, Johnstone RW. molecular and epigenetic targets in cancer therapy [J]. Oncogene, 2013, 32: 4191-4202.

[15] Lu G, Middleton RE, Sun HH, et al. The myeloma drug lenalidomide promotes the cereblon-dependent destruction of ikaros proteins [J]. Science, 2014, 343: 305-309.

[16] Owa T, Yoshino H, Okauchi T, et al. Discovery of novel antitumor sulfonamides targeting G1 phase of the cell cycle [J]. J Med Chem, 1999, 42: 3789-3799.

[17] Nijhuis A, Sikka A, Yogev O, et al. Indisulam targets RNA splicing and metabolism to serve as a therapeutic strategy for high-risk neuroblastoma [J]. Nat Commun, 2022, 13: 1380.

[18] Faust TB, Yoon H, Nowak RP, et al. Structural complementarity facilitates E7820-mediated degradation of RBM39 by DCAF15 [J]. Nat Chem Biol, 2020, 16: 7-14.

[19] Bussiere DE, Xie LL, Srinivas H, et al. Structural basis of indisulam-mediated RBM39 recruitment to DCAF15 E3 ligase complex [J]. Nat Chem Biol, 2020, 16: 15-23.

[20] Hülskamp MD, Kronenberg D, Stange R. The small-molecule protein ligand interface stabiliser E7820 induces differential cell line specific responses of integrin alpha2 expression [J]. BMC Cancer, 2021, 21: 571.

[21] Lv L, Chen PH, Cao LZ, et al. Discovery of a molecular glue promoting CDK12-DDB1 interaction to trigger cyclin K degradation [J]. Elife, 2020, 9: e59994.

[22] Kerres N, Steurer S, Schlager S, et al. Chemically induced degradation of the oncogenic transcription factor BCL6 [J]. Cell Rep, 2017, 20: 2860-2875.

[23] Słabicki M, Yoon H, Koeppel J, et al. Small-molecule-induced polymerization triggers degradation of BCL6 [J]. Nature, 2020, 588: 164-168.

[24] Bellenie BR, Cheung KJ, Varela A, et al. Achieving *in vivo* target depletion through the discovery and optimization of benzimidazolone BCL6 degraders [J]. J Med Chem, 2020, 63: 4047-4068.

[25] Huckvale R, Harnden AC, Cheung KJ, et al. Improved binding affinity and pharmacokinetics enable sustained degradation of BCL6 *in vivo* [J]. J Med Chem, 2022, 65: 8191-8207.

[26] Yu Z, Li YY, Li Y, et al. Bufalin stimulates antitumor immune response by driving tumor-infiltrating macrophage toward M1 phenotype in hepatocellular carcinoma [J]. J Immunother Cancer, 2022, 10: e004297.

[27] Liu TT, Yang H, Zhuo FF, et al. Atypical E3 ligase ZFP91 promotes small-molecule-induced E2F2 transcription factor degradation for cancer therapy [J]. EBioMedicine, 2022, 86: 104353.

[28] Li XJ, Zhang YY, Fu YH, et al. Gossypol, a novel modulator of VCP, induces autophagic degradation of mutant huntingtin by promoting the formation of VCP/p97-LC3-mHTT complex [J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42: 1556-1566.

[29] Bellail AC, Jin HR, Lo HY, et al. Ubiquitination and degradation of SUMO1 by small-molecule degraders extends survival of mice with patient-derived tumors [J]. Sci Transl Med, 2021, 13: eabh1486.

[30] King EA, Cho Y, Hsu NS, et al. Chemoproteomics-enabled discovery of a covalent molecular glue degrader targeting NF-*κ*B [J]. Cell Chem Biol, 2023, 30: 394-402.e 9.

[31] Słabicki M, Kozicka Z, Petzold G, et al. The CDK inhibitor CR8 acts as a molecular glue degrader that depletes cyclin K [J]. Nature, 2020, 585: 293-297.

[32] Li ZY, Wang C, Wang ZY, et al. Allele-selective lowering of mutant HTT protein by HTT-LC3 linker compounds [J]. Nature, 2019, 575: 203-209.

[33] Hua LW, Wang DN, Wang KR, et al. Design of tracers in fluorescence polarization assay for extensive application in small molecule drug discovery [J]. J Med Chem, 2023, 66: 10934-10958.

[34] Simonetta KR, Taygerly J, Boyle K, et al. Prospective discovery of small molecule enhancers of an E3 ligase-substrate interaction [J]. Nat Commun, 2019, 10: 1402.

[35] Mason JW, Chow YT, Hudson L, et al. DNA-encoded library-enabled discovery of proximity-inducing small molecules [J]. Nat Chem Biol, 2024, 20: 170-179.

[36] Liu S, Tong BQ, Mason JW, et al. Rational screening for cooperativity in small-molecule inducers of protein-protein associations [J]. J Am Chem Soc, 2023, 145: 23281-23291.

[37] Hu MW, Ochoada J, Actis M, et al. Direct-to-biology enabled molecular glue discovery [J]. ChemRxiv, 2025. DOI: 10.26434/chemrxiv-2025-4d7nq.

[38] Xu YL, Zhao WS, Nie HJ, et al. Cross-linking profiling of molecular glue degrader-induced E3 ligase interactome to expand target space [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2025, 64: e202505053.

[39] Bonazzi S, d'Hennezel E, Beckwith REJ, et al. Discovery and characterization of a selective IKZF2 glue degrader for cancer immunotherapy [J]. Cell Chem Biol, 2023, 30: 235-247.e12.

[40] Toriki ES, Papatzimas JW, Nishikawa K, et al. Rational chemical design of molecular glue degraders [J]. ACS Cent Sci, 2023, 9: 915-926.

[41] Guo J, Tang HT, Zhao WC, et al. Discovery of TBK1 molecular glue degraders as a potential strategy for the treatment of autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD) [J]. J Med Chem, 2025, 68: 12862-12880.

[42] Sun J, Gu MX, Peng LY, et al. A self-assembled nano-molecular glue (Nano-mGlu) enables GSH/H_2O_2-triggered targeted protein degradation in cancer therapy [J]. J Am Chem Soc, 2025, 147: 372-383.

[43] Lim M, Cong TD, Orr LM, et al. DCAF16-based covalent handle for the rational design of monovalent degraders [J]. ACS Cent Sci, 2024, 10: 1318-1331.

[44] Li YD, Ma MW, Hassan MM, et al. Template-assisted covalent modification underlies activity of covalent molecular glues [J]. Nat Chem Biol, 2024, 20: 1640-1649.

[45] He XQ, Zeng SH, Wen YL, et al. Covalent recruitment of NEDD4 for targeted protein degradation: rational design of small molecular degraders [J]. J Am Chem Soc, 2025, 147: 21512-21525.

[46] Liu Y, Yang T, Huang L, et al. Chemical proteomics identifies RBBP7 as a new E3 ligase supporting targeted protein degradation [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2025, 64: e202508538.

[47] Ouyang X, Chai XM, Huang L, et al. Proteome-wide ligand and target discovery by using *β*-nitrostyrene electrophiles: supporting targeted protein degradation [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2025, 64: e202504813.

[48] Zhuang Z, Byun WS, Kozicka Z, et al. Discovery of electrophilic degraders that exploit SNAr chemistry [J]. bioRxiv, 2024. DOI: 10.1101/2024.09.25.615094.

[49] Wang X, Sun J, Huang HS, et al. Kinase inhibition *via* small molecule-induced intramolecular protein cross-linking [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2024, 63: e202404195.

[50] Lister TM, Roberts GW, Hossack EJ, et al. Engineered enzymes for enantioselective nucleophilic aromatic substitutions [J]. Nature, 2025, 639: 375-381.