

· 专家论坛 ·

靶向诱导蛋白降解作为药物开发新策略

尤启冬^{1,2*}, 陆朦辰^{1,2}, 姜正羽^{1,2}

(中国药科大学 1. 江苏省药物分子设计与成药性优化重点实验室, 2. 药学院药物化学系, 江苏 南京 210009)

摘要: 基于机制药物研发的核心问题是寻找和发现可靠的药物靶标。随着基因组学和蛋白质组学的理论及实验技术的快速发展, 有不少非酶蛋白被确定为药物靶标。这些非酶蛋白类药物靶标难以用传统的、通过占据活性位点的调控方式来设计和发现疾病治疗药物。近年来, 利用人体自身的泛素-蛋白酶体系统靶向诱导目的蛋白降解方法, 可实现对众多非酶蛋白的有效抑制, 成为创新药物研究的又一新的亮点。该方法通过设计靶向诱导蛋白降解的缀合物, 该缀合物含有双功能单元分别识别和结合目的蛋白和泛素 E3 连接酶, 诱导泛素化复合体组装, 实现对特定的目的蛋白泛素化, 最后诱导目的蛋白降解。这一创新的药物直接调控体内蛋白含量的策略极大拓展了潜在药物靶标的范围, 为创新药物研究提供了广阔的新思路。

关键词: 泛素 E3 连接酶; 蛋白降解; 靶向诱导蛋白降解缀合物

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 12-1777-06

Protein degradation as an innovative strategy in drug discovery

YOU Qi-dong^{1,2*}, LU Meng-chen^{1,2}, JIANG Zheng-yu^{1,2}

(1. Jiang Su Key Laboratory of Drug Design and Optimization, 2. Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: The success rate of mechanism-based drug discovery depends on the drug targets. With the rapid development of genomics and proteomics, a lot of nonenzymic proteins have been identified as potential drug targets. However, these nonenzymic proteins cannot be regulated by occupying the active site, which were recognized as undruggable targets. Direct regulation of the concentration of these proteins in cells by the innate ubiquitin-proteasome is a potential approach to target these proteins. The ubiquitination of target protein by E3 ligase is the key step for ubiquitin-proteasome mediated protein degradation. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) can facilitate the assembly of complex that consists of the target protein and E3 ligase. The target protein will be ubiquitinated, leading to the degradation by proteasome. This type of regulation mechanism can expand the scope of potential drug targets, and the development of PROTACs may be an innovative strategy in drug discovery.

Key words: ubiquitin E3 ligase; protein degradation; proteolysis targeting chimeras

基于机制的药物发现 (mechanism-based drug discovery) 是当今新药开发的主流方式。药物靶标的发现和鉴定是基于机制开发新药的前提条件和决定

性因素。长期以来, 制约基于机制的药物发现的主要困难是缺乏可靠的生物学靶标。随着人类基因组计划的完成, 以及与之伴生的基因组学和蛋白质组学的理论及实验技术的快速发展, 疾病相关靶标的发现与鉴定速度越来越快^[1,2]。这些新鉴定的生物学靶标与特定疾病的关联性更强, 极大拓展了创新药物研究的可能靶标范围。但与此同时, 与传统的基于生物

收稿日期: 2017-07-07; 修回日期: 2017-10-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81230078, 81602948).

*通讯作者 Tel: 86-25-83271351, E-mail: youqidong@gmail.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0659

学功能鉴定出的靶标不同, 基于组学分析鉴定出的靶标中有较多非酶蛋白 (nonenzymic proteins), 例如转录因子、骨架蛋白等^[3, 4]。这类靶标相较于传统的药物靶标, 例如酶、G 蛋白偶联受体和离子通道等有着较大不同^[5, 6], 通常不直接执行具体的功能, 且缺乏明显的活性位点 (active site)。

对于传统的靶标蛋白, 小分子药物可通过与蛋白的活性位点结合, 直接阻断其特定的功能发挥治疗作用。而这类非酶蛋白通常不具备直接的生物学功能, 难以通过结合和占据靶标的特定位点而直接调控其活性。因此, 传统意义上认为这类蛋白质为“不能成药靶标” (undruggable target), 从而极大限制了快速增加的此类靶标在创新药物研发中的运用。由于此类靶标不存在传统意义上的活性位点, 难以通过对其活性位点的占据而实现对其活性的抑制, 因此通过直接调控这类蛋白在细胞内的含量可能成为干预这类靶标最有效的方式^[7]。

1 药物调节细胞内蛋白质含量的主要途径

细胞内的特定蛋白质含量是由细胞内蛋白质合成和降解两个过程共同决定的。细胞内的蛋白质稳态由蛋白质的合成和降解过程协同调节。

1.1 基于蛋白质合成途径的蛋白质含量调控

蛋白质是特定基因的表达产物。蛋白质合成的主要过程是由 DNA 转录生成 mRNA, 再由核糖体将 mRNA 翻译成蛋白质。因此, 调控细胞内的蛋白含量的一个重要方式就是抑制基因的转录和翻译, 主要方法包括通过反义核酸 (antisense oligonucleotides, ASOs) 和 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 的方式, 抑制目的基因的 mRNA, 阻止细胞内的蛋白质翻译过程^[8]。这类基于核酸的技术和工具在抑制基因表达的研究工作中发挥了较大价值, 但是这种方法的成药开发仍然具有较大困难, 例如核酸在体内循环系统中存在稳定性问题、核酸药物的透膜吸收问题仍然没有解决, 同时核酸在体内还存在蓄积和免疫原性等问题。因此, 此类基于核酸的调控蛋白含量的药物的成功案例仍然较少, 目前 FDA 仅批准了两个核酸类药物 fomirisen 和 mipomersen。调控细胞内的蛋白含量的另一个重要方式是抑制 mRNA 向蛋白质的翻译过程。蛋白质的翻译过程是在核糖体内完成的, 以核糖体作为靶标抑制蛋白质合成在抗生素药物的研发中有成功应用。其主要依据的是人和细菌等病原微生物的核糖体有较大差异, 可选择性抑制病原微生物的核糖体, 抑制其蛋白质合成而不影响宿主。但是, 抑制人体细胞内的核糖体会造成普遍的蛋白质合成

障碍, 难以实现选择性。因此, 此种途径不适合于选择性调控体内特定蛋白质的浓度。最近快速发展的以 CRISPR-Cas9 为代表的基因打靶技术, 可直接编辑和删除目的基因。这也是一种潜在的调控细胞内蛋白含量的方法。基因编辑技术直接从 DNA 序列的层面改变了生物体的遗传信息, 从源头抑制了蛋白质合成的来源。但是其距离临床应用仍然具有较大距离。特别是由于基因编辑技术不可逆地改变了遗传信息, 其选择性问题尤其需要系统确证^[9]。

1.2 基于蛋白质降解途径的蛋白质含量调控

蛋白质降解的过程受体内复杂而精细的蛋白质质量控制系统调节。新合成的蛋白质需要有蛋白伴侣系统负责折叠成成熟蛋白, 进而发挥其特定的生物活性, 而未能正确折叠的蛋白则会被降解。因此, 通过抑制蛋白伴侣系统可以阻止蛋白质成熟, 促进未成熟蛋白降解, 实现下调体内蛋白浓度的目的。细胞内的成熟蛋白的选择性降解主要由泛素-蛋白酶体系统 (UPS) 负责。蛋白质的泛素化是真核生物的一种重要的蛋白质翻译后修饰方式^[10]。其最主要的生物学功能为蛋白质降解的标签。泛素化的蛋白可被 26S 蛋白酶体识别而降解。蛋白质的泛素化过程由一系列酶促反应 (E1→E2→E3) 精细调节, 其主要过程是将泛素通过异肽键连接到底物的赖氨酸残基上^[11, 12], 然后泛素 E1 活化酶借助 ATP 供能, 将泛素的 C 端活化^[13], 接着活化的泛素被转移至 E2 转移酶上, E3 连接酶负责将活化的泛素转移至目标蛋白^[10, 14], 使需要被降解的蛋白泛素化, 继而被蛋白酶体识别而降解。泛素分子结构中含有 7 个赖氨酸 (K6、K11、K27、K29、K33、K48 和 K63) 和 1 个位于 N 端的甲硫氨酸 (Met1)。现有研究表明, 这 7 个赖氨酸残基的侧链氨基和 N 末端的游离氨基都可以发生泛素化从而延伸泛素链。其中 K48 位多聚泛素化修饰与蛋白质降解紧密相关。在整个泛素化系统中, E1 酶的个数仅为 2 个, E2 酶的总数在 30~40 之间, 而 E3 酶则有数百个^[10]。E2 转移酶主要决定泛素连接的类型, E3 连接酶主要决定泛素系统的特异性^[15]。因此, 调节特定蛋白的泛素化即可实现对其细胞内含量的选择性干预。除了泛素-蛋白酶体系统外, 细胞内的自噬系统也是蛋白质降解的一种重要途径。特别是近年来分子伴侣介导的自噬 (又可称为选择性自噬) 的发现和深入研究为通过细胞自噬调控细胞内特定蛋白浓度提供了可能。分子伴侣介导的自噬是指胞质内的蛋白先被特定的分子伴侣识别和结合, 然后被转运到溶酶体中, 被溶酶体酶消化。此种自噬方式可通过分子伴侣

和自噬底物蛋白的特异性识别而实现一定的选择性, 从而为调控特定蛋白降解提供了可能。

调控蛋白降解是针对已表达的蛋白, 通过药物干扰体内蛋白质降解系统进而实现对体内蛋白含量的调节。其可以有效利用体内精细的蛋白质质控系统实现对特定蛋白的选择性调节, 避免调控蛋白合成途径所遇到的成药问题。通过诱导蛋白质降解可以直接下调细胞内蛋白的含量, 从而可以达到抑制众多新鉴定的非酶蛋白靶标的目的^[16, 17]。

2 诱导蛋白降解作为药物研发策略

2.1 抑制 Hsp90 蛋白伴侣系统诱导蛋白降解

由于通过降解目的蛋白可实现对众多非酶蛋白靶标的调控, 进而极大拓展现有药物靶标的范围, 发展诱导蛋白降解的策略已有较长的研究历史。针对 Hsp90 开发的抑制剂可被认为是对诱导蛋白降解的最初探索^[18]。Hsp90 是细胞内负责新合成蛋白正确折叠和组装的功能蛋白。通过抑制 Hsp90 可有效阻碍新生蛋白成熟, 而未成熟的蛋白则会被细胞内的蛋白质质控系统降解。因此通过抑制 Hsp90 可阻碍新生蛋白成熟, 从而达到诱导新生蛋白降解的目的。然而, 通过抑制 Hsp90 从而诱导蛋白降解有较明显的劣势。抑制 Hsp90 诱导蛋白降解具有非选择性, 会使众多由 Hsp90 负责折叠和组装的蛋白都被降解。同时, 抑制 Hsp90 所引起的蛋白降解仅能针对由其负责成熟的新生蛋白, 能覆盖的靶标蛋白也较为有限。以 Hsp90 为靶标的药物虽早已进入临床研究多年, 但是至今仍未有药物上市。

2.2 基于疏水标签的诱导蛋白降解策略

最近研究发现, 一些性激素受体的调节剂也是蛋白质降解诱导剂。例如雌激素受体的配体氟维司群 (fulvestrant) 可以有效诱导雌激素受体降解。其机制主要是通过和雌激素受体结合, 使其原生构象发生变化, 暴露出较多疏水位点, 进而诱导其降解^[19]。但是此种策略只能运用于雌激素受体和雄激素受体中, 适用靶标范围有限。受氟维司群的作用机制启发, 基于疏水标签的诱导蛋白质降解技术得以发现。其基本原理是设计包含双官能团的化合物, 一端是大疏水基团, 例如金刚烷或是 Boc 保护的精氨酸模拟氟维司群诱导出的疏水表面; 一端是靶标蛋白的小分子配体, 用于识别和结合待降解的蛋白。两个官能团通过合适的连接链连接, 进而达到模拟靶标蛋白暴露出疏水表面的目的, 诱导蛋白降解^[20] (图 1)。此种策略已在数个靶标蛋白上取得了一定进展。但是其劣势也较为明显, 最为突出的是其所连接的疏水基团具有较明显的非特异性

结合性质。由于疏水相互作用的非特异性, 此类化合物在体内会和诸多靶标结合, 带来选择性的问题。同时, 该类诱导蛋白降解复合物的具体作用机制仍不明晰, 限制了其进一步应用。

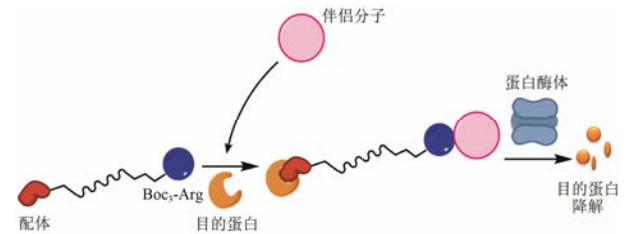


图 1 疏水性标签策略诱导蛋白降解示意图

2.3 基于泛素 E3 连接酶选择性介导底物泛素化的蛋白质降解策略

体内的蛋白质选择性降解主要是通过泛素-蛋白酶体系统实现的^[21]。该系统的关键步骤是泛素 E3 连接酶对目的蛋白的选择性泛素化, 泛素化的蛋白可被蛋白酶体识别和降解。因此, 利用泛素 E3 连接酶选择性地对靶标蛋白泛素化标记是实现特异性诱导靶标降解的最优路径。在此过程中, 泛素 E3 连接酶组成的复合物包含两个功能结构域: 目标蛋白识别和泛素转移。其通过复合物的组装, 将目标蛋白和活化的泛素在空间上靠近, 从而将泛素转移至目标蛋白上。泛素 E3 连接酶的关键作用是特异性地使目标蛋白和活化的泛素处于接近的合适空间位置。基于这一基本原理, 如果能够利用双功能的缀合物, 同时识别并结合泛素 E3 连接酶和目的蛋白, 即可通过泛素 E3 连接酶将活化的泛素转移至目的蛋白上, 实现对目的蛋白的选择性泛素化^[6]。被泛素化的目的蛋白可被蛋白酶体降解, 而双功能缀合物可继续降解新的目的蛋白 (图 2)。这种循环降解目的蛋白

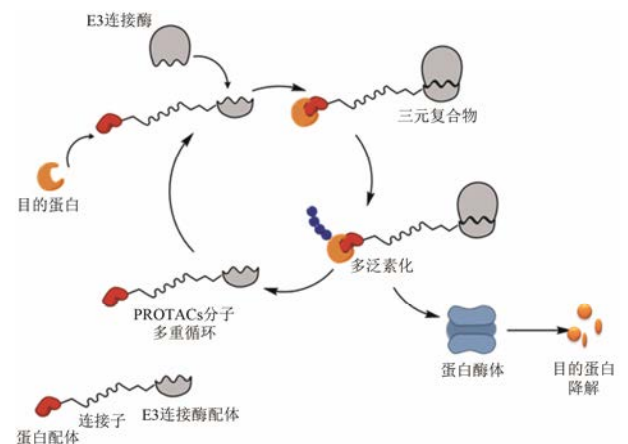


图 2 基于泛素 E3 连接酶开发诱导蛋白质降解缀合物的基本原理

的方式可达到非化学计量系数抑制靶标蛋白的目的, 实现依靠细胞内少量的靶向诱导蛋白质降解缀合物 (proteolysis targeting chimeras, PROTACs) 对细胞内特定蛋白的有效和持续抑制。由于具备上述优势, 基于泛素 E3 连接酶开发靶向诱导蛋白质降解缀合物可充分探索细胞内的非酶蛋白靶标, 极大拓展靶标范围, 特别有利于首创药物的研发^[22]。

3 基于泛素 E3 连接酶开发靶向诱导蛋白降解缀合物

3.1 基于泛素 E3 连接酶选择性泛素化的蛋白质降解策略的研究进展

Craig M. Crews 教授是这个领域的开拓者。Crews 教授所在的研究团队于 2001 年首次验证了基于泛素 E3 连接酶开发靶向诱导蛋白降解缀合物的可行性。Crews 教授成功使用多肽类 PROTACs, 招募 SCF ^{β TRCP} [F-box protein β -transducin repeat-containing protein, β TRCP; S-phase kinase-associated protein 1 (SKP1)-cullin 1-F-box E3 ligase complex, SCF] 泛素 E3 连接酶实现对甲硫氨酰氨肽酶 2 (methionine aminopeptidase 2, MetAP2) (图 3) 的泛素化降解^[23]。在使用多肽类 PROTACs 完成概念验证的工作后, Crews 小组开发了首个小分子靶向诱导蛋白降解缀合物, 该缀合物使用 nutlin-3a 作为 E3 连接酶结合基团, 招募 MDM2 (mouse double minute 2 homologue) 实现对 AR 的选择性泛素化降解^[24]。2010 年后, 泛素 E3 连接酶的小分子识别配体的快速发展促进了诱导蛋白降解缀合物的研究。其中包括发现沙利度胺是泛素 E3 连接酶 cereblon (CRBN) 的高活性配体; 针对 E3 连接酶 cIAP (cellular inhibitor of apoptosis) 成功开发了高亲和力的抑制剂; 针对 E3 连接酶 VHL (von Hippel-Lindau) 也实现了从肽向非肽类抑制剂的演进。这些小分子作为 E3 连接酶识别单元在靶向诱导蛋白降解缀合物设计中得到了较

为广泛的使用。目前, 已有多种不同类型的目的蛋白被证实可通过设计靶向诱导蛋白降解缀合物进行负调控, 其中包括雄激素受体和雌激素受体^[25]、激酶 (BCR-ABL^[26]、RIPK2^[27]) 和表观遗传相关的溴域蛋白^[28–30] (BRD2、BRD3 和 BRD4) 等生物学功能各异的蛋白质。这些多样的靶向诱导蛋白降解缀合物的发现进一步证实了靶向诱导蛋白降解缀合物策略具有相对广泛的适用范围。Craig M. Crews 教授对现有的各类缀合物做了多篇详细综述^[6, 18, 31, 32]。

同时, 生物实验研究发现使用靶向诱导蛋白降解缀合物可在相对较低的药物浓度情况下实现对目的蛋白的有效抑制。例如, 依据 VHL 设计的降解溴域蛋白的缀合物 ARV-771 (图 4) 在皮摩尔浓度的情况下即可有效降解目的蛋白, 相较于原有的溴域蛋白抑制剂有约 500 倍的活性优势^[29]。这一结果进一步证实了靶向诱导蛋白降解缀合物能够实现对目的蛋白的循环降解和高效抑制。

结构生物学的研究结果揭示了此类缀合物的作用机制。Ciulli 组^[33]报道了缀合物 MZ-1 和目的蛋白 BRD4 以及泛素 E3 连接酶 VHL 的复合物的晶体结构。该复合物的晶体结构从原子层面揭示了此类缀合物确实可通过结构中的双功能单元促进目的蛋白和泛素 E3 连接酶形成稳定的复合物, 进而完成目的蛋白的泛素化过程。这一研究为该领域的进一步发展奠定了结构基础。

3.2 基于泛素 E3 连接酶的诱导蛋白质降解缀合物研究现存的主要问题

从结构单元上而言, 诱导蛋白质降解缀合物包含 3 个主要模块: 负责结合特定 E3 连接酶的识别单元、负责结合目的蛋白的配体和合适的连接链。其发现的基本思路是将可用的 E3 连接酶的识别单元和目的蛋白的配体进行组合和连接。

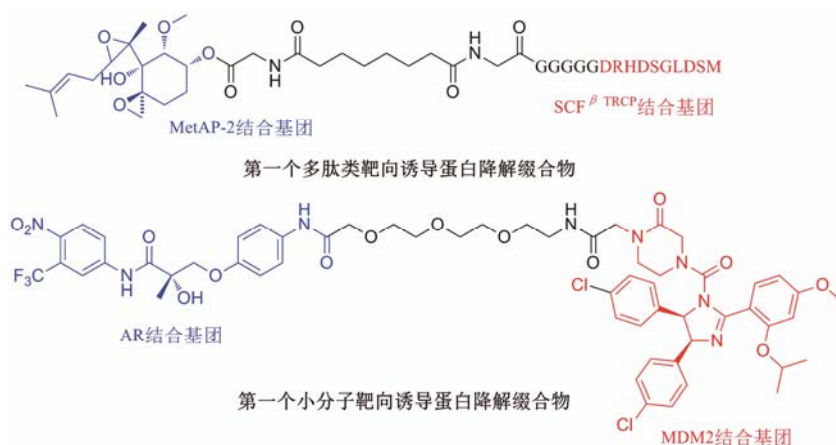


图 3 第一个多肽类和第一个小分子靶向诱导蛋白降解缀合物

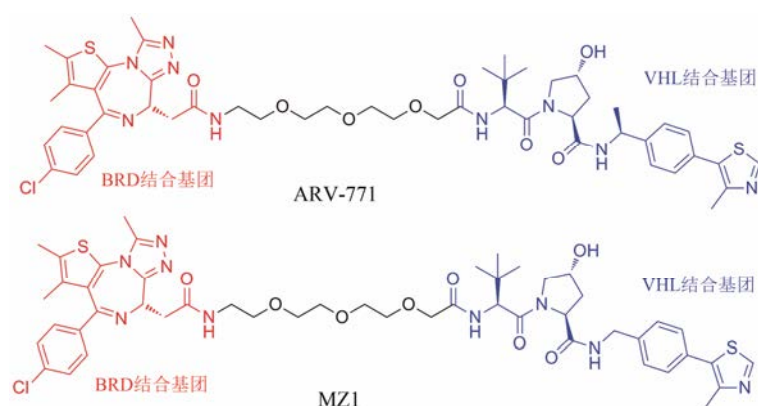


图4 基于 E3 连接酶 VHL 发现的高活性诱导 BRD4 蛋白降解缀合物

其中,合适的泛素 E3 连接酶识别单元是设计诱导蛋白质降解缀合物的关键。人体内包含 500 多种泛素 E3 连接酶,探索和鉴定可用于设计诱导蛋白质降解缀合物的泛素 E3 连接酶是进一步发展此种技术的基础。而目前已被证明可用于设计诱导蛋白质降解缀合物的泛素 E3 连接酶较为有限。目前仅有 IAP^[34]、CRBN^[28]和 VHL^[27]等几种非常有限的泛素 E3 连接酶被证实可用于设计此类缀合物。此类研究的主要技术难点在于泛素 E3 连接酶是通过蛋白-蛋白相互作用识别靶标蛋白。因此,泛素 E3 连接酶的认识单元的设计和发现必须有效针对蛋白-蛋白相互作用这类特殊的靶标。而蛋白-蛋白相互作用的高亲和力配体的设计和发现本身就是药物化学研究的难点。

诱导蛋白质降解缀合物研究的另一个问题是其底物蛋白的范围。现有的研究主要集中于使用诱导蛋白质降解缀合物降解癌蛋白,且多数靶标已经有小分子药物可以调控。而对于众多传统意义上的非靶标蛋白,如骨架蛋白、转录因子等探索较为有限,对肿瘤之外的疾病靶标也尚待进一步探索。在众多复杂疾病的进程中均包含特定非酶蛋白的异常活化。例如神经退行性疾病病程中的异常蛋白沉淀是重要的病理标志^[35]。如能开发出合适的诱导蛋白质降解缀合物降解这些异常沉淀蛋白,即可有效探索抑制异常蛋白沉淀是否可以有效治疗神经退行性疾病^[36,37]。

诱导蛋白质降解缀合物的成药性研究是另一个值得探索的领域。由于此类缀合物的作用机制要求由 3 个功能单元组成,识别并结合两个蛋白质。这极有可能导致最终获得的缀合物分子有相对较大的分子量、较多的可旋转键和较多的氢键受体和供体,很难满足传统意义上成药分子的需求。同时,此类缀合物的生物学效应也具有特殊性,由于其循环降解目的蛋白的机制,使其对目的蛋白的抑制具有非化学

计量的特性。因此相对较低的药物暴露就有可能满足靶标抑制的需要;过高的暴露量反而有可能造成靶标的过度抑制,增强不良反应。已有的研究结果也初步证实了这一理论。这一特点会对此类药物的药代动力学性质的研究提出新的挑战。

靶标的可靠性和可及性是其能否成为药物靶标的两个关键维度。靶向诱导蛋白降解策略极大拓展了药物有效干预靶标范围,在解决生物靶标的可及性问题上具有巨大探索价值,有可能为创新药物的发现做出巨大贡献。

References

- [1] Campbell J, Ryan CJ, Brough R, et al. Large-scale profiling of kinase dependencies in cancer cell lines [J]. *Cell Rep*, 2016, 14: 2490–2501.
- [2] Wang T, Birsoy K, Hughes NW, et al. Identification and characterization of essential genes in the human genome [J]. *Science*, 2015, 350: 1096–1101.
- [3] Russ AP, Lampel S. The druggable genome: an update [J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10: 1607–1610.
- [4] Hopkins AL, Groom CR. The druggable genome [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1: 727–730.
- [5] Buckley DL, Crews CM. Small-molecule control of intracellular protein levels through modulation of the ubiquitin proteasome system [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53: 2312–2330.
- [6] Toure M, Crews CM. Small-molecule PROTACS: new approaches to protein degradation [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55: 1966–1973.
- [7] Lazo JS, Sharlow ER. Drugging undruggable molecular cancer targets [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2016, 56: 23–40.
- [8] Holland AJ, Fachinetti D, Han JS, et al. Inducible, reversible system for the rapid and complete degradation of proteins in

- mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: E3350–E3357.
- [9] Schaefer KA, Wu WH, Colgan DF, et al. Unexpected mutations after CRISPR-Cas9 editing *in vivo* [J]. *Nat Method*, 2017, 14: 547–548.
- [10] Spasser L, Brik A. Chemistry and biology of the ubiquitin signal [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51: 6840–6862.
- [11] Pickart CM. Mechanisms underlying ubiquitination [J]. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 503–533.
- [12] Weissman AM. Themes and variations on ubiquitylation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2: 169–178.
- [13] Haas AL, Rose IA. The mechanism of ubiquitin activating enzyme. A kinetic and equilibrium analysis [J]. *J Biol Chem*, 1982, 257: 10329–10337.
- [14] Hochstrasser M. Lingering mysteries of ubiquitin-chain assembly [J]. *Cell*, 2006, 124: 27–34.
- [15] Ye Y, Rape M. Building ubiquitin chains: E2 enzymes at work [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 755–764.
- [16] Neklesa TK, Crews CM. Chemical biology: greasy tags for protein removal [J]. *Nature*, 2012, 487: 308–309.
- [17] Chu TT, Gao N, Li QQ, et al. Specific knockdown of endogenous tau protein by peptide-directed ubiquitin-proteasome degradation [J]. *Cell Chem Biol*, 2016, 23: 453–461.
- [18] Lai AC, Crews CM. Induced protein degradation: an emerging drug discovery paradigm [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 101–114.
- [19] Wu YL, Yang X, Ren Z, et al. Structural basis for an unexpected mode of SERM-mediated ER antagonism [J]. *Mol Cell*, 2005, 18: 413–424.
- [20] Neklesa TK, Tae H S, Schneekloth AR, et al. Small-molecule hydrophobic tagging-induced degradation of HaloTag fusion proteins [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 538–543.
- [21] Cohen P, Tcherpakov M. Will the ubiquitin system furnish as many drug targets as protein kinases? [J]. *Cell*, 2010, 143: 686–693.
- [22] Guo ZR. Concise analysis for innovation of pioneering and follow-on drugs [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 1179–1184.
- [23] Sakamoto KM, Kim KB, Kumagai A, et al. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98: 8554–8559.
- [24] Schneekloth AR, Puchault M, Tae HS, et al. Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18: 5904–5908.
- [25] Itoh Y, Kitaguchi R, Ishikawa M, et al. Design, synthesis and biological evaluation of nuclear receptor-degradation inducers [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 6768–6778.
- [26] Lai AC, Toure M, Hellerschmied D, et al. Modular PROTAC design for the degradation of oncogenic BCR-ABL [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55: 807–810.
- [27] Bondeson DP, Mares A, Smith IE, et al. Catalytic *in vivo* protein knockdown by small-molecule PROTACs [J]. *Nat Chem Biol*, 2015, 11: 611–617.
- [28] Lu J, Qian Y, Altieri M, et al. Hijacking the E3 ubiquitin ligase cereblon to efficiently target BRD4 [J]. *Chem Biol*, 2015, 22: 755–763.
- [29] Raina K, Lu J, Qian Y, et al. PROTAC-induced BET protein degradation as a therapy for castration-resistant prostate cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 7124–7129.
- [30] Zengerle M, Chan KH, Ciulli A. Selective small molecule induced degradation of the BET bromodomain protein BRD4 [J]. *ACS Chem Biol*, 2015, 10: 1770–1777.
- [31] Salami J, Crews CM. Waste disposal—an attractive strategy for cancer therapy [J]. *Science*, 2017, 355: 1163–1167.
- [32] Ottis P, Crews CM. Proteolysis-targeting chimeras: induced protein degradation as a therapeutic strategy [J]. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 892–898.
- [33] Gadd MS, Testa A, Lucas X, et al. Structural basis of PROTAC cooperative recognition for selective protein degradation [J]. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 514–521.
- [34] Itoh Y, Ishikawa M, Naito M, et al. Protein knockdown using methyl bestatin-ligand hybrid molecules: design and synthesis of inducers of ubiquitination-mediated degradation of cellular retinoic acid-binding proteins [J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 5820–5826.
- [35] Ballatore C, Lee VM, Trojanowski JQ. Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8: 663–672.
- [36] Akoury E, Pickhardt M, Gajda M, et al. Mechanistic basis of phenothiazine-driven inhibition of Tau aggregation [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, 52: 3511–3515.
- [37] Vossel KA, Zhang K, Brodbeck J, et al. Tau reduction prevents $A\beta$ -induced defects in axonal transport [J]. *Science*, 2010, 330: 198.