

· 专家论坛 ·

双功能分子设计刍议

郭宗儒*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 药物的高选择性作用是扩大治疗窗避免不良反应的保障。从药物的分子结构视角考察当今的药物化学方法或技术, 重点反映在提高选择性的策略和理念上。以靶标为核心的药物创制, 为保障由体外对分子和细胞水平的活性化合物转化为对患者安全有效的药物, 需要在空间和时间上精准地清除或抑制致病的有害靶标。为实现这种优化, 在药物分子结构上要作多维度的考量和设计, 把药物分子精确地输送到靶组织处, 摧毁有害靶标。本文列举的双功能分子的药物研究, 试图从药物化学层面浅作剖析。例如抗体药物偶联物, 是利用抗体对抗原的特异性结合, 将与之共价键连接的细胞毒性分子, 带到肿瘤细胞作特异性杀伤。抗体的功能是导向性运载, 细胞毒性分子的功能是对靶标的强力杀伤。基于靶标结构设计不可逆抑制剂, 是在与靶标结合的基础上, 在活性分子的结构中精确地引入亲电性适度的基团, 形成第二个功能性基团, 与靶标作共价键结合, 经“二次打击”提高选择性。晚近发展的 HyT、PROTAC 和 dTAG 等平台技术, 是在结构上有双功能的化学特征, 在机制上经化学募集, 诱导蛋白-蛋白相互作用, 最终裂解清除错误有害的蛋白靶标。尽管这类分子尺寸加大, 宏观性质带来药代和物化性质的瓶颈, 但由于高度选择性和广泛蛋白靶标的适用性, 这些技术具有广阔的前景。

关键词: 双功能分子; 抗体药物偶联物; 疏水性标签; 蛋白裂解嵌合体; 裂解标签

中图分类号: R916

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 08-1242-08

A brief analysis of bifunctional molecules

GUO Zong-ru*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Selectivity of drug action is a determinant for wide therapeutic window and less adverse response. From the viewpoint of molecular structure the conception and strategy of drug design are mainly embodied in raising selectivity. For the target-based drug discovery it is crucial to precisely obliterate detrimental targets in dimension of time and space, so as to efficaciously translate the *in vitro* active compounds into *in vivo* therapeutic medicines. To realize this translation drug molecules must be accurately transported to and destroy the harmful targets. To this end, chemical structures of drugs must be manipulated in multiple dimensions. This article attempts to concisely describe several kinds of bifunctional molecules for raising selectivity from the standpoint of medicinal chemistry. The bifunctionality of antibody-drug conjugates (ADCs) involves in the guidance and carrier of the antibody to guide ADC and reach to target cells, and simultaneously injury quality of the toxin moiety of ADC interacts with and destroys targets. Based upon target 3D structures design of irreversible inhibitors consist in connecting an appropriate electrophilic moiety to a well-defined ligand to endow the molecule with an additional ability to covalently bond to a specific amino acid residue. Hydrophobic tag (HyT), proteolysis-targeting chimera (PROTAC), and degradation tag (dTAG) are new developed technologies, which are structurally characterized by bifunctionality, and mechanistically these compounds are capable of recruiting

收稿日期: 2018-04-09; 修回日期: 2018-04-16.

*通讯作者 Tel: 86-10-83155752, E-mail: zrguo@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0317

protein of interest (POI), inducing protein-protein interaction (PPI), and cleaving POI. In spite of large molecular size and the bottleneck of pharmacokinetic and physicochemical properties these technologies still have broad development prospect owing to high selectivity and wide adaptations.

Key words: bifunctional molecules; ADC; HyT; PROTAC; dTAG

1 引言

以靶标为核心的药物创制, 要旨是将安全性、活性、选择性和药代等全部性质融汇于分子结构之中, 为达到此目标, 分子既要精致地配置微观结构, 以保障活性强度、选择性和安全性, 以便有宽阔的治疗窗; 又要具备适宜的宏观性质, 确保药物在时空上有预期的吸收分布代谢排泄等性质。微观结构与宏观性质都体现于分子结构之中, 它们交织于结构中, 相互影响与制约。将活性化合物转化为药物, 其优化过程本质是协调二者的相关性, 这也是研发新药难度之所在。

小分子药物的作用机制, 大都是通过与靶标结合, 比如占据酶的催化中心或变构域, 占据受体和离子通道的活性部位, 结合核酸的转录区段等, 从而阻断大分子的生理生化功能 (抑制剂) 或提高其生物功能 (激动剂)。

为了避免对靶标众多亚型的脱靶性, 药物与靶标结合的特异性或选择性是必要的前提, 实质是限制药物杂泛性 (promiscuity) 于所希冀的效应。此外, 为呈现持续的药理作用, 依照药物与靶标可逆性结合的质量作用定律, 药物须在体内保持足够的水平, 例如超过 IC_{50} 或 IC_{90} 等, 体内这样持续存在一定浓度的药物, 增加了脱靶作用风险, 产生不良反应, 例如一些激酶抑制剂作为靶向药物因结合的共性 (例如 ATP 结合位点或变构域) 而误识脱靶。

人体数万种蛋白调控机体的生理生化功能, 蛋白失去平衡是疾病的成因之一。药物干预并恢复蛋白的网络正常调控与平衡, 当今主打的是小分子化合物, 但所干预的靶标却只占蛋白总数的 20%, 其余 80% 的蛋白尚无药物干预, 究其原因, 一是功能尚待解析, 另一是这些蛋白缺乏明确的结合位点, 例如催化中心、结合腔穴或裂隙, 被认为是非可药性靶标 (non-druggable targets), 因而研制作用于这类靶蛋白的药物具有挑战性。晚近发展的双功能分子是针对提高选择性和探索非可药性靶标的新药研究, 本文从药物化学视角拟对某些方法作简要的讨论。

2 提高选择性的双功能分子

2.1 双靶标药物与双功能分子

双靶标药物与双功能分子没有严格的界限, 若

硬作区分, 笔者认为双靶标药物是一个化合物可作用于两个 (或多个) 不同的靶标蛋白, 以各自独立的方式产生药理作用的加和或协同效应。在分子设计上, 是由于结构中存在适配于两个靶标的药效团, 或以不同的构象体结合所致。本文讨论的双功能分子是指一个分子先后与两个靶标或一个靶标的两个位点结合, 引发相继的级联效应, 发生了前面的结合, 再启动后继的作用, 由于级联性的协调作用, 使得选择性作用增强。

2.2 抗体药物偶联物

抗体与抗原分子的特异性识别与结合是生物医药的治疗基础, 本世纪以来抗体药物迅速发展, 尤其针对肿瘤细胞表面抗原的抗体药物成为肿瘤治疗的有效手段, 第一个获美国 FDA 批准上市 (1997) 的抗肿瘤抗体药物利妥昔单抗 (rituximab), 用于治疗 B 细胞性非霍奇金淋巴瘤。随后陆续有一系列的抗肿瘤抗体药物应用于临床。

为了增强抗体药物杀伤肿瘤细胞的活性, 也为了提高常规化疗药物的选择性毒性, 将单抗与小分子细胞毒药物偶联, 形成抗体药物偶联物 (antibody-drug conjugates, ADC), 这是目前抗肿瘤药物研究的活跃领域。

解析 ADC 的作用原理, 可认为是双功能性分子: 利用抗体对细胞表面抗原的特异性识别与结合, 把 ADC 引向拟杀伤的肿瘤部位, 履行了输送、定位和被吞噬摄入的功能; 细胞毒药物 (甚至是毒物) 作为弹头, 释放于癌细胞中, 对靶标起杀伤作用。

为保障 ADC 的化学稳定性, 抗体与细胞毒分子的连接, 是用连接域片段 (linker) 经共价键相连。这样, ADC 是由三部分构成: 抗体、连接域和细胞毒化合物。作用过程是, ADC 在随机转运中相遇并结合抗原受体, 经受体介导的胞吞作用进入细胞, 形成转运过程的核内体 (endosome), 后经溶酶体 (lysosome) 裂解释放出毒性“弹头”, 实施对肿瘤细胞的选择性杀伤。图 1 是 ADC 的作用机制示意图^[1]。

本文不拟对 ADC 的设计原理和细节展开讨论, 读者可参阅有关综述^[2, 3]。仅以治疗霍奇金淋巴瘤和间变性大细胞淋巴瘤的上市 ADC 药物 brentuximab vedotin (图 2) 为例, 分析结构特征。cAC10 是抗

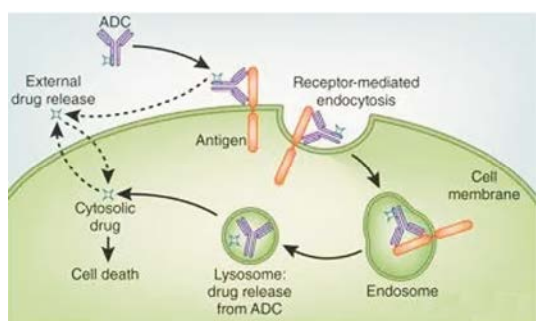


Figure 1 Diagram of ADC function

CD30 的单抗, 经连接域共价键合于抗微管蛋白的小分子化合物单甲基奥瑞他汀 E (MMAE), 连接域可细分为连接片段、裂解片段和间隔片段, 是为了保障 ADC 的稳定性和双功能的各自独立活性以及可释放性。在确定了单抗目标和毒性分子后, ADC 的成败与优劣在很大程度上取决于连接域的结构优化^[4]。

图 2 还列出另外两个上市的 ADC, gemtuzumab ozogamicin 和 trastuzumab emtansine, 前者是以 CD33 为靶标的单抗经连接域同烯二炔类的 DNA 交联剂卡奇霉素 (calicheamicin) 缀合而成, 临床用于治疗急性髓系白血病 (AML)。连接域中含有脲和二硫键的组成^[5]; trastuzumab emtansine 是第一个针对实体瘤的 ADC 药物, 治疗 HER2 阳性的转移性乳腺癌^[6], 其组成是结合于 HER2/neu 受体的曲妥珠单抗 (trastuzumab), 经含有硫代琥珀酰亚胺片段的连接域与美登素 (DM1) 共价键结合。

2.3 激酶的不可逆抑制剂

结构生物学提供的靶标结构信息可指导设计双作用位点的药物, 以呈现双功能作用, 在研制激酶不可逆抑制剂获得了诸多成功。阿法替尼 (afatinib) 是 EGFR 激酶第二代抑制剂, 其结构特征与药效团分布与第一代的可逆性抑制剂吉非替尼 (gefitinib) 相似, 都作用于 ATP 结合位点, 所不同的是阿法替尼在噻唑啉环的 6 位连接有 4-二甲胺基丁烯酰胺片段 (二甲胺基为助溶基团, 并协同迈克尔加成反应), 丁烯酰胺是亲电性适度的基团, 可与 EGFR 激酶开口处 Cys797 的巯基发生迈克尔加成, 而其亲电性不足以同氨基等亲核性基团发生反应, 由于只与特定的巯基形成共价结合, 使酶活性彻底失活。这个迈克尔片段, 赋予分子以第二个功能位点, 对发生 T790M 变异、耐受厄洛替尼的 EGFR 发生有效的不可逆抑制作用^[7] (图 3)。

EGFR 激酶第三代抑制剂奥西替尼 (osimertinib) 也是不可逆抑制剂, 只作用于发生 T790M 变异的 EGFR 激酶, 消除了对野生型 EGFR 和胰岛素生长因子受体 (IGFR) 激酶的脱靶效应。结构中的丙烯酰胺开辟了第二个功能位点, 提高了选择性活性^[8]。

Bruton 酪氨酸激酶 (BTK) 在 B 细胞抗原受体的信号通路中起重要作用, 其不可逆抑制剂依鲁替尼 (ibrutinib) 是治疗与 B 淋巴细胞相关的套细胞白血病的一线用药。为了提高对 BTK 的选择性抑制, 避免

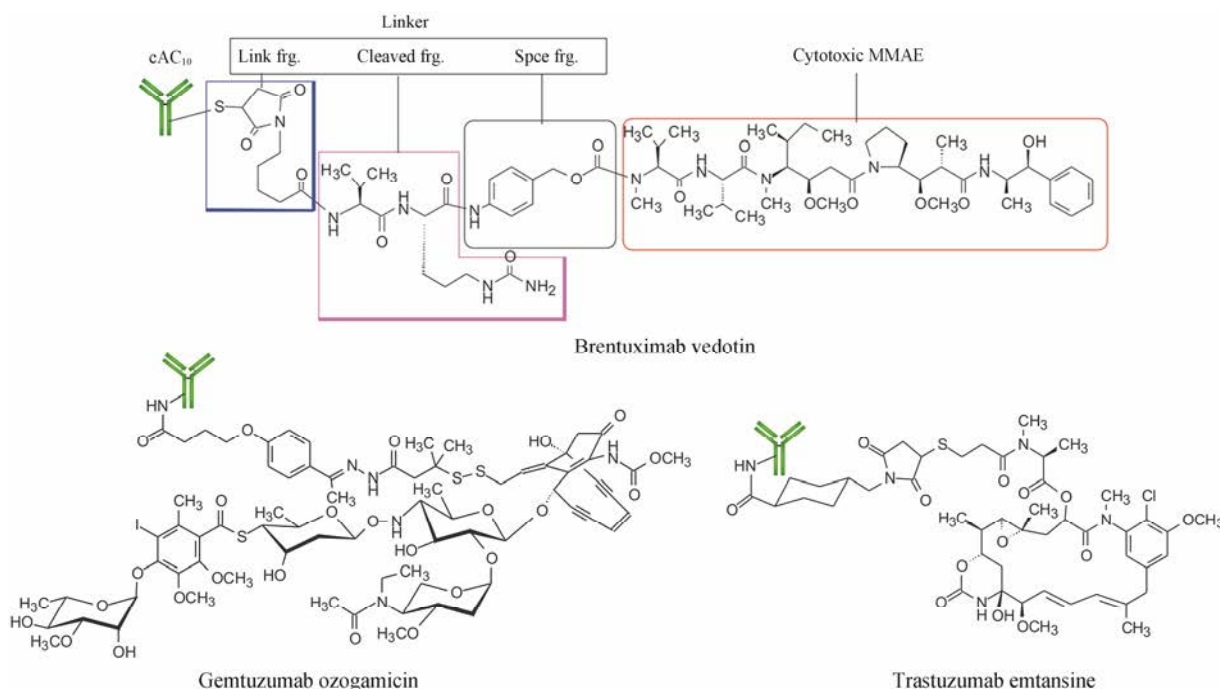


Figure 2 Structures of the marketed ADC

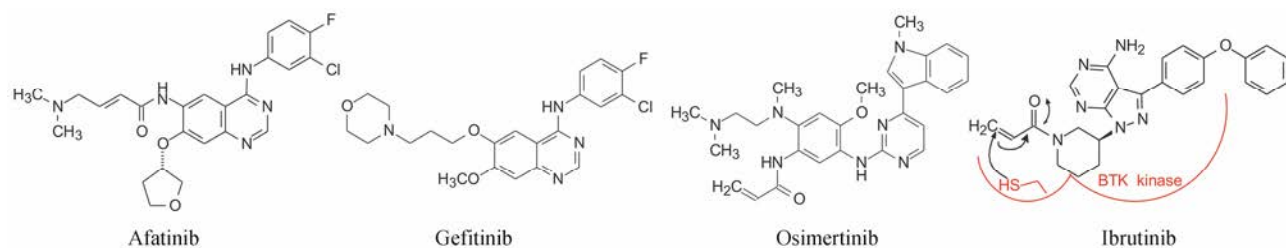


Figure 3 Structure comparison of gefitinib to afatinib and other irreversible tinibs

与强同源性的 LCK 激酶的脱靶作用, 利用了二者氨基酸残基 481 的不同, 设计了第二个功能位点的不可逆抑制剂, 氨基酸残基在 BTK 是 Cys⁴⁸¹, LCK 是 Ser⁴⁸¹, 半胱氨酸巯基的亲核性强于丝氨酸的羟基, 抑制剂结构中的嘧啶环连接了 *N*-丙烯酰基, 与 Cys⁴⁸¹ 发生迈克尔加成, 而低亲核性的丝氨酸不发生共价结合, 提高了对突变株的选择性^[9]。

2.4 疏水标签技术

蛋白表面若被疏水性片段结合, 可诱导构象发生改变, 此时具有两面性 (修复和降解) 的伴侣蛋白 (chaperones) 启动蛋白降解机制 (蛋白正确的折叠也需要伴侣蛋白协助), 促成蛋白酶体将构象错误的蛋白降解^[10]。

疏水标签技术 (hydrophobic tags, HyT) 是将疏水性片段或基团经连接域 (linker) 与对目标蛋白 (POI) 可结合的配体经共价键连接的化合物。其作用原理是, HyT 的配体片段 (例如受体的配体或酶底物或类似物) 识别和结合 POI, 并引导所连接的疏水性片段结合于蛋白的疏水部位, 后者因此使蛋白构象发生变化, 在伴侣蛋白的参与下, 被蛋白酶体降解。过程中 HyT 是募集伴侣蛋白和蛋白酶体的招募剂, HyT 此时犹如催化剂促进目标蛋白的解体, 因为在裂解中并未消耗, 理论上可循环使用。图 4 是疏水标签分子裂解目标蛋白的示意图。Crews 等^[11]对此有全面的论述。

选择性雌受体降解剂氟维司群 (fluvestrant) 可视为

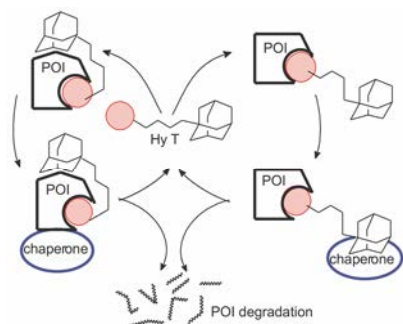


Figure 4 Protein degradation by hydrophobic tags

HyT 类型的药物。氟维司群实属幸运发现 (serendipity)。当初为研制选择性雌受体调节剂 (SERM), 设计了在雌二醇的 7 位连接较长疏水链的化合物 (末端氟代是为了提高代谢稳定性), 却意外地发现氟维司群可选择性地诱导雌受体降解, 因而是不可逆的拮抗剂。氟维司群于 2002 年上市治疗绝经妇女雌受体呈阳性的乳腺癌。氟维司群与他莫昔芬等 SERM 不同, 是雌受体降解剂 (SERD), 完全拮抗剂^[12]。虽然氟维司群诱导受体蛋白的降解机制未完全解析清楚, 但认为雌二醇的 7R-疏水链结合于受体的疏水域, 导致构象改变, 招募了蛋白酶体, 降解了高表达的雌受体蛋白。

氟维司群的成功联想到对雄受体的降解, 开始了雄受体降解剂 (SARD) 的研究领域。抑制雄激素受体是治疗前列腺癌的重要途径, 以期 SARD 治疗去势后出现的耐药性前列腺癌。阿斯利康照搬氟维司群的思路合成的化合物, 是在睾酮的 7 位连接同样的疏水侧链, 但作用很弱, 未能成功^[13]。

Crews 等^[14]研究 SARD 的母体分子是将非甾体类雄受体拮抗剂 RU59063 (恩杂鲁胺的类似物, 非药) 经聚乙二醇链连接金刚烷, 金刚烷是 HyT 常用的疏水片段。实验表明该 RU59063 衍生物是雄受体降解剂, 可抑制耐药前列腺癌细胞的增殖, 不过活性不高仍需优化。用 3 个叔丁氧羰基修饰的精氨酸 (Boc₃Arg) 也是常用的疏水标签, 例如利尿药依他尼酸 (etacrynic acid) 连接 Boc₃Arg 的 HyT 分子是谷胱甘肽 S 转移酶 $\alpha 1$ 的裂解剂, 三甲氧苄啶 (trimethoprim) 与 Boc₃Arg 形成的 HyT 是二氢叶酸还原酶 (DHFR) 蛋白裂解剂 (图 5)。

基于疏水标签技术设计的降解剂大都针对以小分子为配体或底物的受体或酶系, 这类靶标蛋白有明确的结合位点, 比如结合腔或裂隙, 因而疏水片段的连接有比较明确的小分子结构, 切入点清晰。

然而更多的靶标的“配体”是蛋白, 生物效应往往是蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 的结果, 由于 PPI 的结合面平坦, 范围广泛, 缺乏明显的活性中心

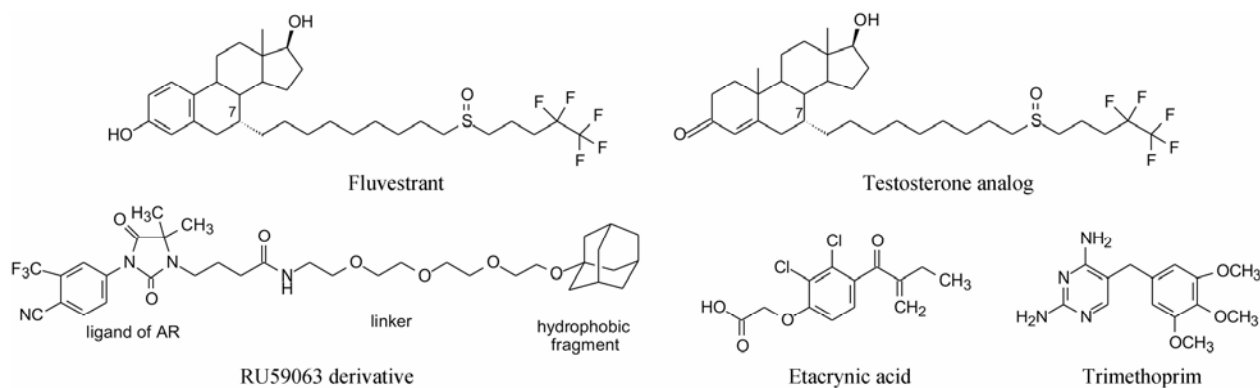


Figure 5 Some examples of HyT technique

作“抓手”，因而这类蛋白常被认为非药性靶标 (undruggable)。晚近发展的蛋白裂解靶向嵌合技术 (proteolysis targeting chimera, PROTAC)，其策略原理是用小分子化合物诱导和募集与蛋白酶体降解相关的蛋白到靶标蛋白处，将其降解失活。

2.5 蛋白裂解靶向嵌合体技术

2.5.1 原理

PROTAC 技术是构建双功能小分子化合物，通过化学诱导一系列酶促反应，实现裂解蛋白的方法。该过程的核心是将 E3 连接酶 (泛素化的催化剂) 募集到细胞内有害的拟降解的目标蛋白处，由蛋白酶体降解清除。本文不拟深入叙述该生物学过程，读者可参阅本刊最近的综述和有关文章^[15,16]。

被蛋白酶体裂解的目标蛋白 (POI) 需要预先连接泛素 (ubiquitin, Ub)，泛素是蛋白质，通过 E1 和 E2 酶促反应被活化，后经连接酶 E3 将泛素催化连接到 POI 上。E3 有数百种，特异性催化不同蛋白的泛素化，POI 与 E3 亚型须匹配。

PROTAC 技术是利用泛素-蛋白酶体系统，设计具有双功能作用的小分子，一端识别并结合目标蛋白，另一端识别并结合 E3 连接酶，PROTAC 分子的功能是将目标蛋白与 E3 连接酶募集成三元体，在时空上促进目标蛋白发生泛素化，连接了泛素的目标蛋白被蛋白酶体裂解，释放出泛素，PROTAC 分子复原，循环履行招募功能。图 6 是 PROTAC 分子 (●) 结合目标蛋白 (POI)、募集 E3 连接酶 (E3)、目标蛋白泛素化 (Ub-Ub-Ub...)、蛋白酶体裂解目标蛋白和 PROTAC 分子的复原的示意图。PROTAC 分子借助自身的双功能性，将目标蛋白与 E3 连接酶“拉郎配”，促使蛋白酶体消解目标蛋白。过程中 PROTAC 分子可循环作用，类似于催化功能，理论上没有消耗。

2.5.2 PROTAC 的构成与设计

E3 酶家族有数百个亚型，特异性地催化目标蛋白泛素化，所以，PROTAC 分子设计的双功能性，应使 POI 和 E3 匹配，才能有

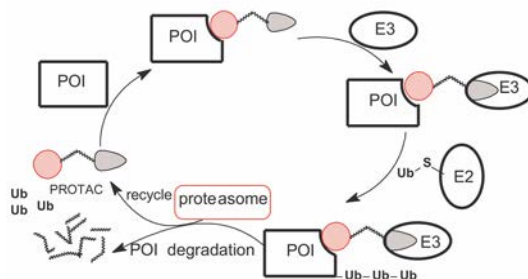


Figure 6 Schematic model of POI degradation by the action of bifunctional PROTAC

效地泛素化和裂解，因而结合 E3 的功能片段因目标蛋白而异。

就非肽类的小分子片段而言，例如已经报道的 nutlin 3a，由于与 E3 连接酶 MDM2 有高亲和力 (K_i 为 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平，因而可阻断 MDM2 与底物 p53 的结合)。MDM2 有 E3 酶的催化功能。Crews 等^[17]将 nutlin 3a 与雄受体拮抗剂 (比卡鲁胺类似物) 经聚乙二醇共价连接，生成的 PROTAC 分子 (图 7a) 用转染雄受体蛋白的 HeLa 细胞证明，在化合物 a 的诱导募集下，经上述过程被蛋白酶体裂解，降低了雄受体蛋白的水平，而加入蛋白酶体抑制剂则阻止雄受体的裂解。

溴域蛋白 4 (BRD4) 是 BET 蛋白家族成员，与 RNA 聚合酶 II 等蛋白参与癌基因 MYC、BCL2 等的转录过程，BRD4 在多种肿瘤高表达，因而是肿瘤治疗药物的靶标。一些噻吩三唑并二氮革化合物 (如 OTX015 和 JQ1) 是 BRD4 的结合剂 (也是抑制剂)；另一方面，E3 裂解酶 cereblon 的配体沙利度胺和泊马度胺等邻苯二甲酰亚胺类之间有高亲合力，将泊马度胺 (pomalidomide) 经聚乙二醇共价连接 OTX015，得到的 PROTAC 分子 (图 7b, ARV-825) 具有双重功能：可将各种 Burkitt 淋巴瘤细胞内的 BRD4 招募到 E3 连接酶 cereblon 处，结合成三元复合物，cereblon 催化

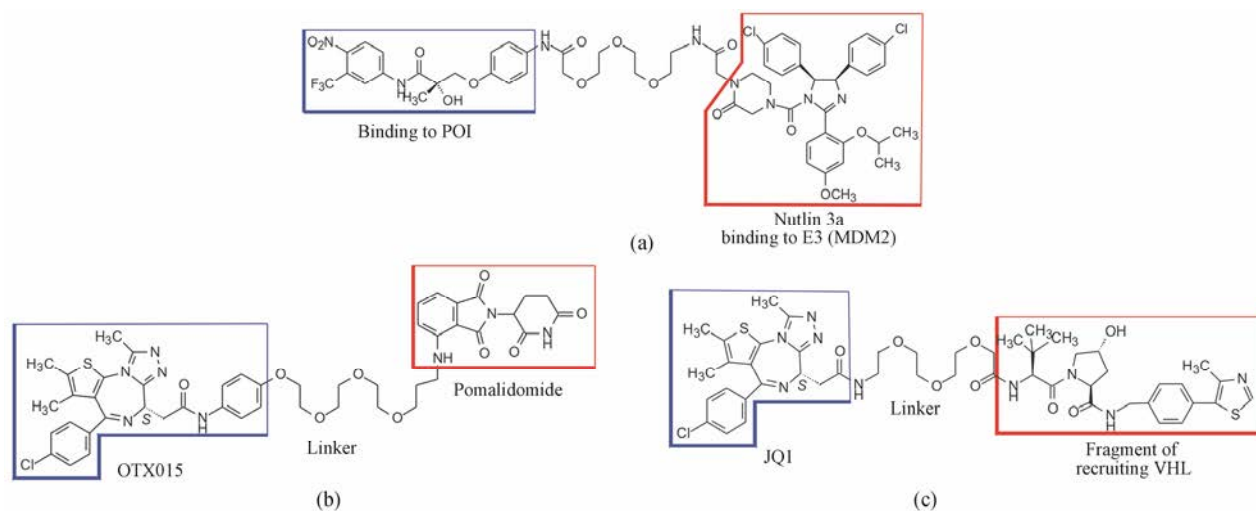


Figure 7 Examples of PROTAC technique

BRD4 泛素化后, 被蛋白酶体高效率地迅速裂解。化合物 b 对 BRD4 蛋白裂解的选择性显著强于 BRD3 和 BRD2, 说明 PROTAC 设计的化合物有高度选择性^[18]。

具有 E3 连接酶特性的 VHL (von Hippel-Lindau) 蛋白也可作为设计 PROTAC 的靶向模板, 将可募集 VHL 蛋白的分子如含有羟基脯氨酸片段作为结合基团, 与噻吩三唑并二氮草化合物 JQ1 经聚乙二醇连接成 PROTAC 分子 MZ1 (图 7c), 在 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下即诱导裂解 BRD4, 对 BRD2 和 BRD3 的作用需要 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平, 提示有较高的选择性。BRD4-MZ1-VHL 三元复合物的晶体结构表明, MZ1 采取折叠构象介于两个蛋白之间。图 8 是晶体结构的结合面, MZ1 形似弯弓样构象嵌合于两个蛋白形成的腔穴中^[19]。

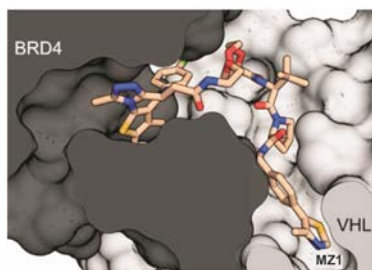


Figure 8 Binding interface of crystallographic structure of the triple complex BRD4-MZ1-VHL

2.6 用于发现和确证靶标的降解标签技术

发现和确证新的药物靶标是研发首创性药物的原动力和起步点, 化学生物学使用探针分子不仅可研究蛋白的功能, 同时也为新药研究提供苗头化合物。创新药物涵盖了化学生物学和药物化学学科内容和知识价值链。

降解标签 (degradation tag, dTAG) 是个平台技

术, 由哈佛大学 Gray 等^[20]在前述的 PROTAC 的基础上发展而成。它的特点是可以绕过寻找结合于目标蛋白的配体分子这一环节, 经“万能的”配体将与特定蛋白融合的目标蛋白招募到 E3 连接酶的“麾下”, 泛素化后被蛋白酶体裂解。为了实现识别目标蛋白的通用性, dTAG 技术应用了变异的 FKBP 蛋白 (一类参与含有脯氨酸残基的蛋白构象折叠的伴侣分子) FKBP12^{F26V}, 后者因具有特异空腔的构象, 可被小分子 AP-1867 选择性结合 ($K_d=94 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 而对野生型 FKBP12^{WT} $K_d=67 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 所以在很低的浓度下实现选择性结合, 不影响胞内野生型 FKBP12^{WT} 的功能^[21] (图 9)。

dTAG 是用 CRISPR-Cas9 技术将 FKBP12^{F26V} 基因敲入到目标蛋白 (例如 BRD4 蛋白) 的基因中, 产生的融合蛋白可被双功能分子例如 dTAG-7 或 dTAG-13 选择性裂解, dTAG-7 和 dTAG-13 分子的左侧 (AP1867) 是结合融合蛋白中 FKBP12^{F26V} 的片段, 右侧 (沙利度胺) 是 E3 连接酶 CRBN 的结合片段, 中间为连接域。图 10 是 dTAG 裂解过程的示意图。此外, 这系列 dTAG 还裂解了 KRAS^{G12V}、HDAC1、EZH2、MYC、PLK1 等与 FKBP12^{F26V} 融合蛋白, 并在细胞和小鼠体内降解了靶标蛋白的水平, 其功能得到了验证^[20]。

dTAG 是用“通用”分子 (不直接结合目标蛋白) 的双功能性利用化学诱导结合的性质, 将融合蛋白裂解, 对于发现和验证蛋白的功能 (化学生物学) 以及发现苗头化合物 (药物化学) 都是有价值的平台技术。

3 结语

药物的活性强度和选择性是药效的本质所在,

- irreversible inhibitors for Bruton's tyrosine kinase [J]. *ChemMedChem*, 2007, 2: 58–61.
- [10] Neklesa TK, Crews CM. Chemical biology: greasy tags for protein removal [J]. *Nature*, 2012, 487: 308–309.
- [11] Neklesa TK, Tae HS, Schneeklith AR, et al. Small-molecule hydrophobic tagging-induced dereadation of Halo Tag fusion proteins [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 538–543.
- [12] 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.
- [13] Bradbury RH, Hales NH, Rabow AA, et al. Small-molecule androgen receptor downregulators as an approach to treatment of advanced prostate cancer [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 5442–5445.
- [14] Gustafson JL, Neklesa TK, Cox CS, et al. Small-molecule-mediated degradation of the androgen receptor through hydrophobic tagging [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 9659–9662.
- [15] You QD, Lu MC, Jiang ZY. Protein degradation as an innovative strategy in drug discovery [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 1777–1782.
- [16] Lu MC, Liu T, Jiang Q, et al. Discovery of a keap1-dependent peptide PROTAC to knockdown Tau by ubiquitination proteasome degradation pathway [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 146: 251–259.
- [17] Schneekloth AR, Pucheault 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.
- [18] Lu J, Qian YM, Altieri M, et al. Hijacking the E3 ubiquitin ligase cereblon to efficiently target BRD4 [J]. *Chem Biol*, 2015, 22: 755–763.
- [19] 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.
- [20] Nabet B, Roberts JM, Buckley DL, et al. The dTAG system for immediate and target-specific protein degradation [J]. *Nat Chem Biol*, 2018, 14: 431–441.