综述

蛋白降解靶向嵌合体的研究进展

马恒元[1,2]，柯志强[3]，苏正定[1*]

（1. 湖北工业大学工业发酵省部共建协同创新中心，湖北武汉 430068；2. 江苏恒瑞医药股份有限公司，江苏连云港 222000；3. 湖北科技学院咸宁医学院，糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室，湖北咸宁 437100）

摘要：传统的小分子激酶抑制剂药物面临着诸多挑战，如易产生耐药性和部分靶点不可成药的问题。蛋白降解靶向嵌合体（PROTAC）技术利用细胞内固有的泛素 - 蛋白酶体系统，实现对靶蛋白（POI）的降解以治疗疾病，可避免靶点不可成药和耐药性的限制，有望克服小分子抑制剂的局限。目前多款 PROTAC 已进入临床试验阶段，成为许多疾病潜在的治疗方式。文章综述了 PROTAC 的生物学机制、技术优势、分子设计及其临床应用前景，以期为其药物开发与临床应用提供参考。

关键词：不可成药靶点；泛素 - 蛋白酶体系统；蛋白降解靶向嵌合体；临床试验；研究进展

中图分类号：R915；R979.1^{+}9　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)11-1467-10

引用：马恒元 , 柯志强 , 苏正定 . 蛋白降解靶向嵌合体的研究进展 [J]. 中国医药工业杂志 , 2024, 55(11): 1467-1476.

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.11.002

Research Progress on Proteolysis Targeting Chimeras

MA Hengyuan[1,2], KE Zhiqiang[3], SU Zhengding[1*]

(*1. Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation (Ministry of Education & Hubei Province), Hubei University of Technology, Wuhan 430068; 2. Jiangsu Hengrui Pharmaceuticals Co., Ltd., Lianyungang 222000; 3. Hubei Key Lab. of Diabetes and Angiopathy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100*)

ABSTRACT: Traditional small molecule kinase inhibitor drugs face numerous challenges, such as the propensity for drug resistance and the problem that some targets are undruggable. The proteolysis targeting chimera (PROTAC) technology utilizes the inherent ubiquitin-proteasome system in cells to achieve the degradation of proteins of interest (POI) for treating diseases, which can avoid the limitations of undruggable targets and drug resistance. Therefore, the PROTAC technology is expected to overcome the limitations of small molecule inhibitors. At present, some PROTACs have entered the clinical trial stage and are expected to become potential treatment methods for many diseases. This review introduces the biological mechanism, technical advantages, molecular design and clinical application prospects of PROTAC, hoping to provide a reference for its drug development and clinical application.

Key Words: undruggable target; ubiquitin-proteasome system; proteolysis targeting chimera; clinical trial; research progress

蛋白质的错误折叠或聚集容易引发细胞功能紊乱，进而诱发多种疾病，如恶性肿瘤、自身免疫性疾病、神经退行性疾病等[1]。蛋白激酶可参与底物的磷酸化、转导和调控细胞信号，是主要的药物靶点之一。针对此靶点，科研人员已研发了多种小分子抑制剂，如 2001 年获批上市的伊马替尼

收稿日期：2024-04-03

作者简介：马恒元 (1987—)，男，硕士研究生，专业方向：生物与医药。

通信作者：苏正定 (1965—)，男，教授，博士生导师，从事细胞信号转导机制、抗癌靶向药物设计、抗 2 型糖尿病口服 GLP-1R 激动剂设计及甾体药物合成生物学的研究。

E-mail：zhengdingsu@hbut.edu.cn

(imatinib)。截至 2022 年底，FDA 已批准 72 种针对不同蛋白激酶的治疗药物。然而，由于小分子抑制剂通过“占位驱动”机制调节蛋白质功能，不仅需要维持较高的药物浓度，还面临选择性不足、易产生耐药突变、难以靶向蛋白的非酶活功能位点等挑战[2—4]。此外，一些蛋白质缺乏可结合位点或酶活性位点，使得药物开发面临瓶颈。致病蛋白中有 80% 为不可成药靶点，其中具有代表性的是转录因子、非酶蛋白质和磷酸酶[5—7]。转录因子结构紊乱，缺乏结合位点；非酶蛋白间通过蛋白质相互作用的方式发挥效用，二者发生相互作用的界面宽阔、平坦，同样缺乏结合位点；磷酸酶的活性位点高度保守，缺乏选择性抑制剂，且其配体多为极性分子，缺乏细胞膜通透性。因此，通过下调靶蛋白 (proteins of interest，POI) 的表达以“抑制”致病蛋白用于疾病治疗的策略已成为药物研发的热点。

下调 POI 可通过下调靶 DNA、靶 RNA 的表达和降解 POI 实现。靶向 DNA 的 CRISPR-Cas9 技术和靶向 RNA 的 RNA 干扰技术虽被广泛研究，但容易产生脱靶效应[8—9]，在临床使用中易产生遗传毒性。靶向蛋白降解 (targeted protein degradation，TPD) 技术能特异性地识别 POI，并利用细胞中固有的蛋白质降解途径进行 POI 降解，可避免产生遗传毒性。蛋白降解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimera，PROTAC) 是一种广泛应用的 TPD 技术，可通过“事件驱动”机制发挥作用，无需与 POI 长时间、高强度结合，即可降解 POI。同时，它还具有小分子药物的优点[10]。作为一种平台型技术，PROTAC 大幅拓宽了药物研发的靶点范围。迄今为止，已有多种 PROTAC 分子进入临床试验阶段，但尚未有产品上市[11]。本文对 PROTAC 的生物学机制、技术优势、分子设计及其临床应用前景进行了全面综述，以期为其药物开发与临床应用提供一定的参考。

1　PROTACs 的开发

1.1　泛素 - 蛋白酶体系统 (ubiquitin-proteasome system，UPS)

研究人员最初认为细胞内的蛋白质主要通过溶酶体途径降解，后来发现了具有高度特异性和选择性的 UPS 途径[12]。在真核细胞中，80%～90% 的胞内蛋白通过该途径降解，包括细胞内异常折叠的蛋白质、半衰期短的蛋白质和已完成其功能的蛋白质[13]。如图 1 所示，泛素化是 E1 泛素激活酶、E2 泛素偶联酶和 E3 泛素连接酶参与的多步骤过程，导致 POI 上的泛素 (ubiquitin，Ub) 标记增加，最终被

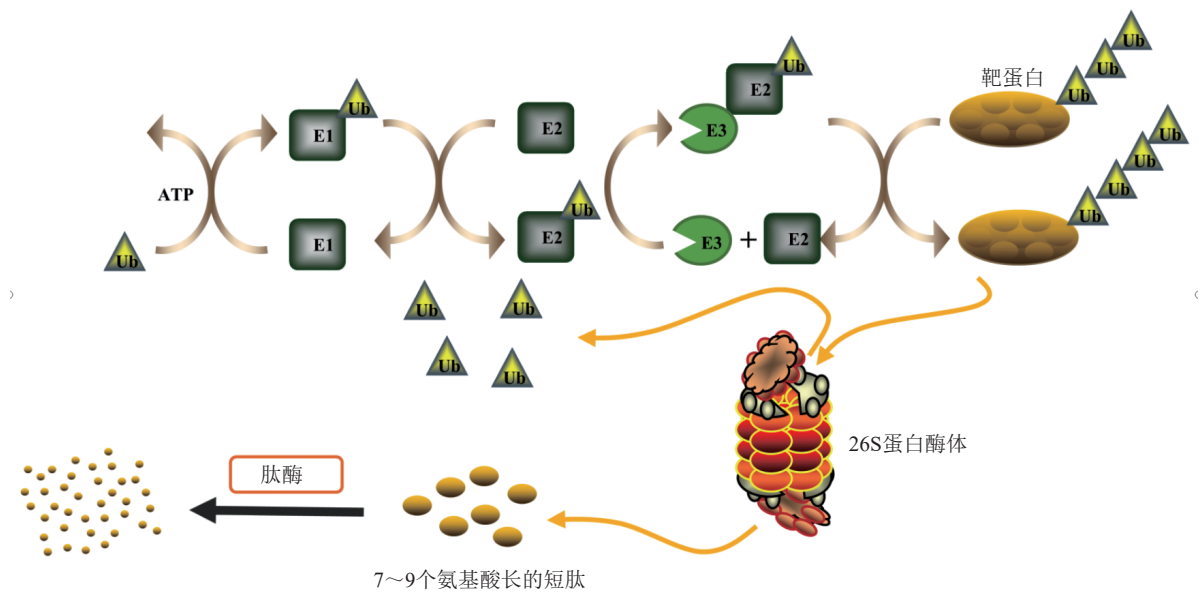


图 1　泛素介导的蛋白质降解示意图

Fig.1　Schematic Diagram of Ubiquitin-mediated Protein Degradation

26S 蛋白酶体识别并降解为短肽。PROTAC 的特异性由 E3 泛素连接酶决定。

1.2 PROTAC 的分子结构

PROTAC 是一种基于 UPS 的异双功能分子，由 E3 泛素连接酶配体、POI 配体和连接子组成。其中，E3 泛素连接酶配体负责特异性招募 E3 泛素连接酶；POI 配体能捕获 POI；而连接子则充当桥梁，将二者相连。PROTAC 通过使 POI 和 E3 泛素连接酶相互靠近，形成三元复合物，诱导 POI 泛素化，进而被 26S 蛋白酶体识别、降解。PROTAC 降解机制如图 2 所示。

1.3 PROTAC 的技术优势

分子抑制剂通过“占位驱动”机制发挥作用，单克隆抗体药物通过阻断细胞外的蛋白质 - 蛋白质或蛋白质 - 配体间的相互作用来调节细胞反应，RNA 干扰技术通过降解多个 mRNA 转录本来诱导基因沉默。然而，这些策略都面临着各自的难题，包括易产生耐药性、组织渗透性差、口服利用度低和递送困难等。相较于其他治疗策略，PROTAC 具有明显的优势[14—15]（表 1）。

表 1 PROTAC 相较于其他治疗策略的优势

Tab.1 Advantages of PROTAC Compared with Other Treatment Strategies

比较项目	治疗策略			
	小分子药物	单抗药物	siRNA	PROTAC
能否作用于细胞内靶点	是	否	是	是
是否存在难成药靶点	是	否	否	否
是否易产生耐药性	是	是	弱	否
肿瘤选择性	低	高	高	高
组织穿透性强弱	强	弱	弱	强
能否阻断非酶活功能	否	是	是	是
能否诱导靶蛋白降解	否	否	是	是
是否有催化机制	否	否	是	是
口服生物利用度	高	低	低	较高
给药途径	口服 / 注射	注射	注射	口服 / 注射

1.4 PROTAC 的分子设计

PROTAC 在作用机制、动力学以及三元复合物的形成方式上，都与传统药物分子有所不同，且其代谢和排泄过程也更复杂。此外，PROTAC 的相对分子质量一般超过类药五原则所规定的相对分子质量上限（700）。因此在分子设计时需要考虑更多因素，面临的挑战也更大[16]。一般而言，PROTAC 的分子设计主要涉及 3 个关键方面的优化：POI 配体、连接子和 E3 泛素连接酶配体的选择合优化，下面分别进行介绍。

1.4.1 POI 配体的选择

通常要求 POI 配体具备良好的配位能力和高选择性。对于已有相关抑制剂的 POI，通常会优先将小分子抑制剂作为候选配体，综合考虑其结合力、理化性质及合成难度等因素进行优化。对于尚未发现相关抑制剂的 POI，可通过对其作用底物的结构进行修饰和改造，来寻找适合的候选配体。在优化过程中，并不需要过分强调配体与 POI 的结合力，但需要二者具备较高的专一性，以降低不良反应的风险、保证药效。

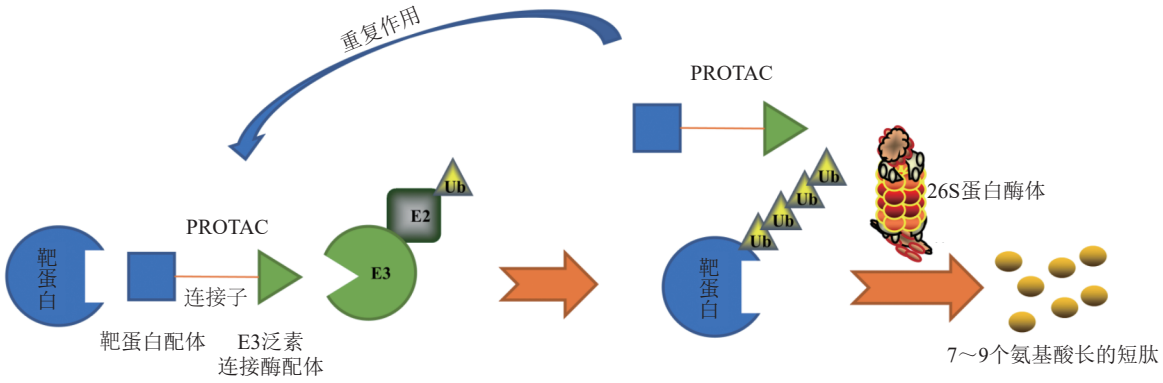


图 2 PROTAC 介导靶蛋白降解的机制示意图

Fig.2 Mechanism Schematic Diagram of PROTAC-mediated Targeted Protein Degradation

1.4.2 连接子的设计

PROTAC中常用的连接子是不同长度的PEG链、（不）饱和烷烃链和芳烃链。拉帕替尼（lapatinib）是表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）和人表皮生长因子受体-2（human epidermal growth factor receptor-2，HER2）的小分子抑制剂。有研究[17]将拉帕替尼作为POI配体，制备治疗冯·希佩尔-林道病［von Hippel-Lindau（VHL）disease］的PROTAC，并探究不同连接子对所得PROTAC选择性的影响。结果显示，使用1个二甘醇作为连接子可以降解EGFR和HER2，而延长连接子的长度（再增加1个乙二醇单位）可使所得产物只能降解EGFR而不能降解HER2。这表明连接子的微小变化有能力影响PROTAC的选择性降解。另一项研究[18]使用不同长度的连接子构建了1个PROTAC分子库，发现连接子过短时不能将POI和E3泛素连接酶联系在一起，导致无法实现POI降解；而当连接子达到“门槛长度”就可以实现POI的强降解。另有研究[19]表明，具有醇类或芳香环结构的连接子，即使长度相同，制得的PROTAC在降解能力上也存在差异，证明连接子的刚性也会影响PROTAC的降解能力。因此，通过优化连接子的长度和刚性，可得到能高效且选择性降解POI的PROTAC，为PROTAC的设计提供更多的可能性和灵活性。

1.4.3 E3泛素连接酶配体的设计

能与福瑞替尼（foretinib）结合的激酶超过130种。有研究[20]以福瑞替尼为POI配体，采用同一连接子将其与不同的E3泛素连接酶连接，制成不同的PROTAC；蛋白降解试验结果表明，只有部分激酶能被基于VHL或cereblon（CRBN）的PROTAC降解。这表明E3泛素连接酶会影响PROTAC的选择性。不同细胞中E3连接酶的表达水平存在差异，因此E3泛素连接酶配体可能会导致PROTAC具有不同的降解效率。目前，在已知的600多种E3泛素连接酶中，仅有不到10种被开发用于POI降解[21]。其中，针对CRBN或VHL的配体应用较为广泛，而其他E3泛素连接酶的研究信息相对较少。

1.4.4 其他优化因素

PROTAC需要与POI形成三元复合物才能发挥作用。但当PROTAC浓度过高时，会发生挂钩效应，导致其与POI形成无效的二元复合物，降低对POI的降解效率。此外，PROTAC的构型也会影响其降解POI的能力[22]。因此，在设计PROTAC分子时，除了考虑配体对POI的亲和力外，还需要考虑蛋白质相互作用的影响。例如，福瑞替尼与p38激酶的结合力较弱，但将其制备为PROTAC则可实现较强的降解效果，说明蛋白质相互作用可以弥补二元复合物亲和力弱的不足[20]。

综上所述，在PROTAC的设计中，需要全面考虑配体与POI的亲和力、蛋白质相互作用、分子构型及挂钩效应等多重因素。近年来，人工智能（artificial intelligence，AI）在药物设计的多个关键环节（如虚拟筛选、计算机辅助合成规划及从头分子生成）中均扮演着至关重要的角色[23]。专用AI已展现出巨大潜力，如谷歌的AlphaFold3不仅能够预测蛋白质数据库中几乎涵盖所有分子类型的复合物结构，还能精确模拟蛋白质与其他生物分子间的相互作用模式，为药物研发提供了坚实的数据支撑[24]。基于神经网络算法及深度机器学习的AI，能加速PROTAC的理性设计，加快药物创新速度[25—26]。

2 PROTAC的临床应用前景

传统药物研发面临着多种挑战，如长期使用小分子抑制剂会引发细胞补偿机制，导致药物失效。活性位点的突变也会使抑制剂无法与之结合，导致耐药性问题，使抗肿瘤药丧失临床疗效。此外，一些致病蛋白具有非激酶活性，目前没有合适的治疗药物。这些问题导致巨大的临床需求尚未被满足。PROTAC作为一种新型治疗途径，有望在这些方面发挥重要作用。产业界积极布局PROTAC药物的开发[27]。表2汇总了已进入临床试验阶段的PROTAC药物。

2.1 靶向AR

AR是前列腺癌发展的关键核受体[28]。前列腺癌的目前治疗方案主要有2种：雄激素去除疗法（androgen deprivation therapy，ADT）和使用AR

表 2 已进入临床试验阶段的 PROTAC 汇总 [1)]

Tab.2 The Summary of PROTAC Entered the Clinical Trail Stage

研究机构名称	管线	靶点	适应证	研发阶段
Pfizer，Arvinas	ARV-471	ER	乳腺癌（$ER^+/HER2^-$）	Ⅲ期临床
Arvinas	ARV-110	AR	mCRPC	Ⅱ期临床
Arvinas	ARV-766	AR	mCRPC	Ⅰ/Ⅱ期临床
Kymera Therapeutics	KT-333	STAT3	血液系统恶性肿瘤和实体瘤	Ⅰ期临床
Kymera Therapeutics	KT-413	IRAK4	B 细胞恶性肿瘤	Ⅰ期临床
Kymera Therapeutics，Sanofi	KT-474	IRAK4	过敏性皮炎、化脓性汗腺炎、类风湿性关节炎	Ⅰ期临床
Nurix Therapeutics	NX-2127	IKZF1/3，BTK	B 细胞恶性肿瘤	Ⅰ期临床
Nurix Therapeutics	NX-5948	BTK	B 细胞恶性肿瘤和自身免疫性疾病	Ⅰ期临床
C4 Therapeutics	CFT8634	BRD9	滑膜肉瘤和 SMARCB1 缺陷型实体瘤	Ⅰ/Ⅱ期临床
Astellas Pharma	ASP3082	KRAS	实体瘤（G12D）	Ⅰ期临床
Celgene	CC-94676	AR	mCRPC	Ⅰ期临床
Dialectic Therapeutics，University of Florida	DT2216（静脉）	BCL-XL	复发性和难治性恶性肿瘤	Ⅰ期临床
Foghorn Therapeutics	FHD-609（静脉）	BRD9	滑膜肉瘤	Ⅰ期临床
恒瑞医药	HRS-1358	ER	乳腺癌	Ⅰ期临床
恒瑞医药	HRS-5041	AR	mCRPC	Ⅰ期临床
齐鲁制药	QLH12016	AR	mCRPC	Ⅰ期临床
海思科（Haisco）	HSK29116	BTK	B 细胞恶性肿瘤	Ⅰ期临床
海思科（Haisco）	HSK40118	EGFR	非小细胞肺癌	Ⅰ期临床
百济神州（BeiGene）	BGB-16673	BTK	B 细胞恶性肿瘤	Ⅰ期临床
开拓药业（Kintor）	GT20029	AR	雄秃	Ⅱ期临床
海创药业（Hinova）	HP-518	AR	mCRPC	Ⅰ期临床
珃诺生物（Ranok Therapeutics）	RNK05047	BRD4	晚期实体瘤和淋巴瘤	Ⅰ/Ⅱ期临床
睿跃生物（Cullgen）	CG001419	NTRK	实体瘤	Ⅰ期临床

注：[1)] 数据来源于美国临床试验数据库（https://clinicaltrials.gov）和中国药物临床试验登记与信息公示平台（http://www.chinadrugtrials.org.cn/）；ER 为雌激素受体（estrogen receptor）；AR 为雄激素受体（androgen receptor）；STAT3 为信号转导及转录激活因子 3（signal transducer and activator of transcription 3）；IRAK-4 为白介素 -1 受体相关激酶 -4（interleukin-1 receptor-associated kinase 4）；IKZF1/3 为 Ikaros 家族锌指蛋白 1/3（Ikaros family zinc finger 1/3）；BTK 为布鲁顿酪氨酸激酶（Bruton's tyrosine kinase）；BRD4 为溴结构域蛋白 4（bromodomain-containing protein 4）；KRAS 为 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因同源物靶点（Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog）；Bcl-XL 为 B 细胞淋巴瘤 -XL（B-cell lymphoma-extra large）；NTRK 为神经营养因子受体酪氨酸激酶（neurotrophin receptor kinase）；mCRPC 为转移性去势抵抗性前列腺癌（metastatic castration-resistant prostate cancer）。

抑制剂。然而，由于细胞存在补偿机制，患者易对 ADT 不再敏感，发展成去势抵抗性前列腺癌（castration-resistant prostate cancer，CRPC）[29]；而 AR 抑制剂易产生耐药性 [30]。PROTAC 有望通过降解 POI 来克服 POI 表达增加而产生耐药性的问题。

Arvinas 公司的 ARV-110 是一种基于 CRBN 开发的 PROTAC 药物，可降解野生型和除 AR L702H 突变以外的其他突变型 AR。在Ⅰ/Ⅱ期临床试验中，研究者评估了 ARV-110 在既往接受过 1～2 种新型激素治疗（包含阿比特龙和 / 或恩扎鲁胺）的 mCRPC 患者中的安全性和有效性。结果显示，ARV-110 剂量为每日 1 次、每次 420 mg 时，前列腺特异性抗原下降≥ 50%（PSA50）的患者比例为 46%。在 7 名可评估患者中，有 2 名患者确认实现了部分缓解（partial response，PR）。此外，未观察到任何严重不良事件（≥ 4 级）[31]。ARV-766 是 ARV-110 的改良药物，将 POI 配体中的六元环替换为取代四元环，芳香环上的氯原子替换成甲氧基，并将 E3 泛素连接酶配体氟取代沙利度胺替换为氟取代苯甲酰胺 [32]，分子结构如图 3 所示。ARV-766 可降解包括 AR L702H 突变在内的 AR。在Ⅰ/Ⅱ期临床试验中，103 例患者接受了 ARV-766 治疗，未出现剂量限制性毒性，且未达到最大耐受剂量，没有观察到严重不良事件（≥ 4 级），表明 ARV-766 具有良好的安全性和耐受性。在携带 AR LBD 突变的患者亚组（n=28）中，ARV-766 治疗后的 PSA50 为 50.0% [33—34]。基于这些初步结果，ARV-766 对携带 AR LBD 突变的 mCRPC 患者具有潜在的临床价值，为已产生耐

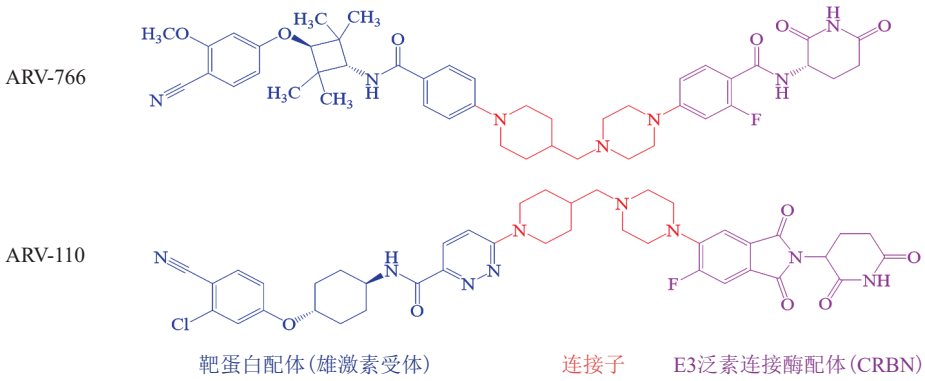


图 3　ARV-776 和 ARV-110 的化学结构

Fig.3　Chemical Structures of ARV-766 and ARV-110

药性的肿瘤患者提供了一种新的治疗选择。

2.2　靶向 ER

雌激素结合 ER，激发基因转录，会促进肿瘤细胞增殖。Arvinas 公司的 ARV-471 是基于 CRBN 开发的一种口服 PROTAC 药物，结构如图 4 所示[32]。体外试验结果显示，ARV-471 在多种乳腺癌细胞系中可诱导 90%以上的野生型和突变型 ER 降解。在 MCF7 原位异种移植模型中，ARV-471 实现了 87%～123 % 的肿瘤生长抑制（tumor growth inhibition value，TGI），优于氟维司群（fulvestrant，TGI 为 31%～80%）。在激素非依赖性的 ER Y537S 患者来源的异种移植乳腺癌模型 ST941/HI 中，ARV-471 实现了肿瘤消退，并且在 ST941/HI/PBR 帕博西尼（palbociclib）耐药模型中同样有效（TGI 为 102%）[35—36]。这些结果表明，ARV-471 在 $ER^+/HER2^-$ 乳腺癌治疗

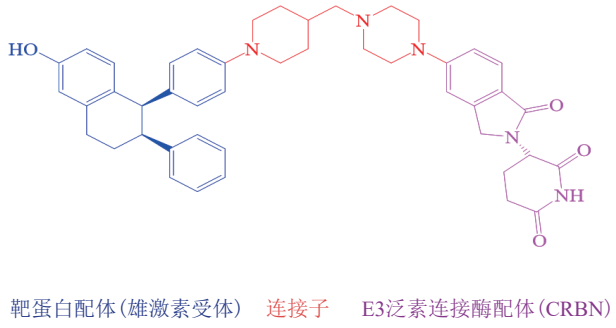


图 4　ARV-471 的化学结构

Fig.4　Chemical Structure of ARV-471

中具有显著的抗肿瘤活性和良好的安全性，具有广阔的临床应用前景。

2.3　靶向 BRD4

BRD4 是一种溴结构域和超末端结构域（bromodomain and extraterminal domain，BET）蛋白，位于癌基因上游，与肿瘤的发生、发展以及肿瘤细胞的浸润和转移等密切相关，长期以来被视为一个难以成药的靶点。尽管针对 BRD4 的小分子抑制剂在临床试验中接连遭遇失败，至今尚未有任何相关产品获批上市，但 PROTAC 针对 BRD4 靶点有巨大的潜力，为 BRD4 靶点的药物研发领域带来了新策略。WINTER 等[37]合成了基于 BRD4 的小分子抑制剂 JQ1 和 CRBN 的 PROTAC，能够选择性地降解 BRD4。LU 等[38]将以 OTX015 为 POI 配体，合成了基于 CRBN 的 PROTAC，在伯基特淋巴瘤细胞系中对细胞增殖抑制和凋亡诱导的效果比 JQ1 和 OTX015 更显著。A1874 是靶向 BRD4 的 PROTAC。在严重联合免疫缺陷小鼠中，口服给予 A1874 可显著抑制结肠癌异种移植瘤的生长，使肿瘤组织中的 BRD4 蛋白水平下降，p53 蛋白水平升高，并伴有凋亡诱导和氧化应激标志物的增加[39]。珅诺生物医药科技（杭州）有限公司的 RNK05047 正在进行Ⅰ/Ⅱ期临床试验，初步结果预计 2024 年底公开[40]。

2.4　靶向 BTK

BTK 是 B 细胞恶性肿瘤治疗中的重要靶点。伊布替尼（ibrutinib）是一种 BTK 抑制剂，可与 BTK

的半胱氨酸残基（Cys-481）结合，阻断信号转导。但随着治疗时间的增加，Cys-481 会发生突变，使伊布替尼难以与 BTK 结合，从而产生耐药性[41—42]。SUN 等[43—44]采用 PROTACs 策略开发了一种针对 BTK 的靶向降解剂，解决了 B 细胞淋巴瘤对伊布替尼耐药性的难题。Nurix Therapeutics 的 NX-2127 能降解野生型 BTK 和 BTK 的 Cys-481 变体，半数降解浓度（half-maximal degradation concentration，DC_{50}）为 1 ～ 13 nmol/L，在体内外试验中均表现出对多种 B 细胞恶性肿瘤的强效抗肿瘤活性[45—46]。NX-5948 是另一款 BTK 降解剂，对野生型 BTK 及多种耐药性突变体具有较强的降解能力。在Ⅰa 期剂量递增试验中，NX-5948 表现出良好的安全性、耐受性和药动学特性，半衰期约为 24 h，支持每日 1 次给药，降解效果持续、稳定[47—48]。最新公布的Ⅰa/b 期临床试验数据展示了 NX-5948 在所有患者（*n*=79）中的安全性结果和对复发性或难治性慢性淋巴细胞白血病（chronic lymphocytic leukemia，CLL）患者（*n*=31）的疗效结果。NX-5948 在每天口服 1 次、剂量为 50 ～ 600 mg 的情况下，所有评估剂量均显示耐受性良好。在 26 名可评估疗效的 CLL 患者中，客观缓解率（objective response rate，ORR）达 69.2%。预计 2025 年将启动 NX-5948 的关键临床试验[49]。百济神州（北京）生物科技有限公司研发的 BGB-16673 的全球Ⅰ期临床试验数据[50]表明，对于 CLL/ 小淋巴细胞淋巴瘤患者，ORR 达到 72%。其中，200 mg 剂量治疗组 ORR 为 88%，包括 2 例完全缓解（complete response，CR）。

2.5 靶向 KRAS

RAS 基因家族的相应蛋白缺乏合适的小分子结合口袋，长期以来被认为是不可成药的靶点，其中 *KRAS* 基因突变最为普遍，约占 *RAS* 突变的 85%。KRAS G12C 是一种特定的 KRAS 亚型突变，可使用小分子抑制剂 MRTX849 进行治疗，但长期使用会引发细胞补偿机制，产生耐药性。BOND 等[51]使用 MRTX849 构建了基于 VHL 的 PROTAC，可诱导快速且持续的 KRAS G12C 降解，从而抑制促分裂原活化的蛋白激酶（mitogenactivated protein kinase，MAPK）信号，为靶向 KRAS 突变的恶性肿瘤治疗开辟了新方向。日本 Astellas Pharma 公司的 ASP3082 在多种 KRAS G12D 突变的恶性肿瘤异种移植模型（包括胰腺癌、结直肠癌和非小细胞肺癌）中显示强效抗肿瘤活性。静脉注射 ASP3082 后，可观察到剂量依赖性的肿瘤生长抑制现象，并显示出显著抑制 KRAS G12D 蛋白水平的作用，可阻断胞外信号调节激酶的信号通路，诱导凋亡[52]。

2.6 靶向 IRAK4

IRAK4 是 IRAK 激酶家族的一员，可通过核因子 -κB（nuclear factor kappa-B，NF-κB）和 c-Jun 氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase，JNK）信号通路，产生促炎症因子。IRAK4 缺陷可能导致炎症反应消失并造成严重的细菌感染，而功能过强则可能导致自身免疫疾病。IRAK4 结构中包含 1 个与 ATP 结合的“口袋”，是小分子抑制剂（如 PF-06650833）的作用靶点。然而，IRAK4 激活 NF-κB 和 JNK 通路的作用机制不同：NF-κB 通路依赖于其支架结构，而 JNK 通路则更多依赖于其磷酸化能力。这一差异使得小分子抑制剂难以全面抑制 IRAK4 的功能。法国 Sanofi 公司和美国 Kymera 公司合作研发的 KT-474，是针对 IRAK4 的 PROTAC，能消除 IRAK4 蛋白的酶活功能，同时也能阻断其非酶活功能，在针对特应性皮炎（atopic dermatitis，AD）和化脓性汗腺炎（hidradenitis suppurativa，HS）患者的临床试验中展现出显著的疗效[53—54]。在 AD 患者中，湿疹面积及严重程度指数（eczema area and severity index，EASI）评分平均减少 37.1%，峰值瘙痒评分显著下降，超过 70%患者的瘙痒症状有所缓解。在 HS 患者中，KT-474 治疗可使脓肿和结节数减少约 50%，疼痛数字评分量表的评分结果显著降低，部分患者的 HS 医生整体评估评分有所改善。自身免疫性疾病的细胞主体是血液里的免疫细胞。相对于实体瘤，PROTAC 更易到达免疫细胞内，是一种有前景的自身免疫性疾病治疗的新策略。

2.7 靶向 Tau 蛋白

阿尔茨海默病是一种神经退行性疾病，主要症状是记忆和认知功能的退化；其发病原因之一是

Tau 蛋白的过度磷酸化，导致 Tau 蛋白和微管蛋白之间的亲和性降低，最终形成神经原纤维缠结 [55]。目前，针对阿尔茨海默病的主要治疗药物为反义寡核苷酸和单克隆抗体，但反义寡核苷酸无法区分野生的 Tau 蛋白和病变的 Tau 蛋白，而单克隆抗体等生物大分子难以跨越细胞膜，只能对抗 Tau 蛋白的细胞外病变。PROTAC 可以靶向降解包括 Tau 蛋白在内的不可成药蛋白，因此在神经退行性疾病的研究中具有巨大潜力和发展空间 [56]。基于 PROTAC 技术，HU 等 [57] 开发了一项新的磷酸化靶向嵌合体技术，通过诱导 Tau 蛋白的去磷酸化来降低其成为病理性聚合物的可能性，有望成为阿尔茨海默病等神经退行性疾病的治疗方案。

3　总结与展望

PROTAC 技术以新的生物学机制，通过降低蛋白水平而非抑制其功能来发挥治疗作用，在攻克耐药性和不可成药靶点方面具有显著优势，有望变革药物研发方式，满足临床用药的差异化需求。因此，PROTAC 技术备受学术界和产业界的青睐，目前已有多个药物进入临床研究。然而，该技术也面临着许多挑战。

PROTAC 的异双功能分子结构不同于小分子药物，具有一定的柔性，评价小分子类药性的参数通常不适用于 PROTAC 产品，需要持续累积数据库，充分验证回顾分析形成的类药性经验。在此基础上，配合 AI 技术将训练出的更多模型用于指导 PROTAC 设计。值得注意的是，药物开发时不仅要考虑溶解性、渗透性、降解选择性、稳定性，还需考虑合成的难易度与成本，给产业化留足空间。此外，为了增强疗效，可采取多价或多靶点策略，即在单个 PROTAC 分子中引入多个 E3 配体或 POI 配体，但需留意高相对分子质量可能带来的问题。为减少不良反应，可考虑设计光响应性 PROTAC[58]，通过添加光笼基团阻止三元复合物的形成，在特定光照下恢复其降解活性。针对病灶的特异性，如丰富的还原因子、缺氧或酶异常表达，可设计还原响应性 [59]、缺氧响应性 [60] 及酶响应性 [61] 的 PROTAC，以降低脱靶毒性。

在临床应用中，PROTAC 的异双功能分子形式可能引起复杂的脱靶效应和不良反应。降解 POI 对人体的负面影响也有待进一步评估。对于 PROTAC 临床效果的评估体系，应有别于以往的小分子抑制剂。为了更精准地评估成药的疗效，应该建立高效的临床评估体系，并建立完善的实验数据库，以确保其有效性。

PROTACs 作为一个新兴技术平台，目前竞争尚不激烈。对于医药企业，针对暂无小分子抑制剂获批的靶点进行探索，或者从后线用药切入，会有较大的市场空间。在可预见的未来，将会有更多的 PROTAC 研发管线出现，但在开发过程中需注意规避专利风险。例如，美国 Arvinas 公司的 VHL 专利已在美国获得授权，CRBN 由于缺乏创造性未在主要国家获得实质授权。因此，在构建 PROTAC 时可优先选用 CRBN 作为 E3 泛素连接酶配体。

尽管截至 2024 年初，尚无 PROTAC 产品获批上市，但差异化的药物设计理念已展现出无限潜能，有望在不久的将来产生更多的重磅药物，满足更多临床上尚未满足的需求。

参考文献：

[1] CHITI F, DOBSON C M. Protein misfolding, amyloid formation, and human disease: a summary of progress over the last decade [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, **86**: 27-68.

[2] ATTWOOD M M, FABBRO D, SOKOLOV A V, *et al*. Trends in kinase drug discovery: targets, indications and inhibitor design [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(11): 839-861.

[3] COHEN P, CROSS D, JÄNNE P A. Kinase drug discovery 20 years after imatinib: progress and future directions [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(7): 551-569.

[4] ROSKOSKI R Jr. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: a 2023 update [J]. *Pharmacol Res*, 2023, **187**: 106552.

[5] HENLEY M J, KOEHLER A N. Advances in targeting 'undruggable' transcription factors with small molecules [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(9): 669-688.

[6] MAKLEY L N, GESTWICKI J E. Expanding the number of 'druggable' targets: non-enzymes and protein-protein

interactions[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2013, **81**(1): 22-32.

[7] ZHANG Z Y. Drugging the undruggable: therapeutic potential of targeting protein tyrosine phosphatases[J]. *Acc Chem Res*, 2017, **50**(1): 122-129.

[8] FEDOROV Y, ANDERSON E M, BIRMINGHAM A, *et al*. Off-target effects by siRNA can induce toxic phenotype[J]. *RNA*, 2006, **12**: 1188-1196.

[9] HUSSAIN W, MAHMOOD T, HUSSAIN J, *et al*. CRISPR/Cas system: a game changing genome editing technology, to treat human genetic diseases[J]. *Gene*, 2019, **685**: 70-75.

[10] ZHAO L, ZHAO J, ZHONG K, *et al*. Targeted protein degradation: mechanisms, strategies and application[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 113.

[11] CHIRNOMAS D, HORNBERGER K R, CREWS C M. Protein degraders enter the clinic - a new approach to cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, **20**(4): 265-278.

[12] CIECHANOVER A. Proteolysis: from the lysosome to ubiquitin and the proteasome[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, **6**(1): 79-87.

[13] SHEN M, SCHMITT S, BUAC D, *et al*. Targeting the ubiquitin-proteasome system for cancer therapy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, **17**(9): 1091-1108.

[14] NEKLESA T K, WINKLER J D, CREWS C M. Targeted protein degradation by PROTACs[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, **174**: 138-144.

[15] LIU Z, HU M X, YANG Y, *et al*. An overview of PROTACs: a promising drug discovery paradigm[J]. *Mol Biomed*, 2022, **3**(1): 46.

[16] MAPLE H J, CLAYDEN N, BARON A, *et al*. Developing degraders: principles and perspectives on design and chemical space[J]. *Medchemcomm*, 2019, **10**(10): 1755-1764.

[17] BURSLEM G M, SMITH B E, LAI A C, *et al*. The advantages of targeted protein degradation over inhibition: an RTK case study[J]. *Cell Chem Biol*, 2018, **25**(1): 67-77.

[18] CREW A P, RAINA K, DONG H Q, *et al*. Identification and characterization of von Hippel-Lindau-recruiting proteolysis targeting chimeras(PROTACs) of tank-binding kinase 1[J]. *J Med Chem*, 2018, **61**(2): 583-598.

[19] CAO C G, HE M, WANG L G, *et al*. Chemistries of bifunctional PROTAC degraders[J]. *Chem Soc Rev*, 2022, **51**(16): 7066-7114.

[20] BONDESON D P, SMITH B E, BURSLEM G M, *et al*. Lessons in PROTAC design from selective degradation with a promiscuous warhead[J]. *Cell Chem Biol*, 2018, **25**: 78-87.

[21] SCHAPIRA M, CALABRESE M F, BULLOCK A N, *et al*. Targeted protein degradation: expanding the toolbox[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, **18**(22): 949-963.

[22] SMITH B E, WANG S L, JAIME-FIGUEROA S, *et al*. Differential PROTAC substrate specificity dictated by orientation of recruited E3 ligase[J]. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 131.

[23] 刘润哲, 宋俊科, 刘艾林, 等. 人工智能在基于配体和受体结构的药物筛选中的应用进展[J]. 药学学报, 2021, **56**(8): 2136-2145.

[24] ABRAMSON J, ADLER J, DUNGER J, *et al*. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3[J]. *Nature*, 2024, **630**(8016): 493-500.

[25] ZHENG S J, TAN Y H, WANG Z Y, *et al*. Accelerated rational PROTAC design via deep learning and molecular simulations[J]. *Nat Mach Intell*, 2022, **4**: 739-748.

[26] 张 立. 基于深度学习的计算药物发现研究[D]. 徐州: 中国矿业大学博士学位论文, 2023.

[27] WANG C, ZHANG Y J, YANG S B, *et al*. Recent advances of PROTACs technology in neurodegenerative diseases[J]. *Arabian J Chem*, 2023, **16**(9): 105015.

[28] HE Y D, XU W D, XIAO Y T, *et al*. Targeting signaling pathways in prostate cancer: mechanisms and clinical trials[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 198.

[29] WEN S M, QUAN C Y, JIANG N, *et al*. What is the next generation therapeutic strategy for castration-resistant prostate cancer[J]. *Asian J Androl*, 2015, **17**(2): 223-224.

[30] ANTONARAKIS E S, LU C X, WANG H, *et al*. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer[J]. *N Engl J Med*, 2014, **371**(11): 1028-1038.

[31] GAO X, BURRIS III H A, VUKY J, *et al*. Phase 1/2 study of ARV-110, an androgen receptor(AR) PROTAC degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer(mCRPC)[J]. *J Clin Oncol*, 2022, **40**(6_Suppl): 17.

[32] 钱 浩, 周伟澄, 蔡正艳. 蛋白降解靶向嵌合体药物的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2024, **55**(6): 750-760

[33] PETRYLAK D P, STEWART T F, GAO X, *et al*. A phase 2 expansion study of ARV-766, a PROTAC androgen receptor (AR) degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer(mCRPC)[J]. *J Clin Oncol*, 2023, **41**(6_Suppl): TPS290.

[34] PETRYLAK D P, MCKEAN M, LANG J M, *et al*. ARV-766, a proteolysis targeting chimera(PROTAC) androgen

receptor(AR) degrader, in metastatic castration-resistant prostate cancer(mCRPC): initial results of a phase 1/2 study[J]. *J Clin Oncol*, 2024, **42**(6_Suppl): 5011.

[35] SCHOTT A F, HURVITZ S, MA C, *et al*. Abstract GS3-03: GS3-03 ARV-471, a PROTAC® estrogen receptor(ER) degrader in advanced ER-positive/human epidermal growth factor receptor 2(HER2)-negative breast cancer: phase 2 expansion(VERITAC) of a phase 1/2 study[J]. *Cancer Res*, 2023, **83**(5_Suppl): GS3-03.

[36] GOUGH S M, FLANAGAN J J, TEH J, *et al*. Oral estrogen receptor PROTAC® vepdegestrant(ARV-471) is highly efficacious as monotherapy and in combination with CDK4/6 or PI3K/mTOR pathway inhibitors in preclinical ER^+ breast cancer models[J]. *Clin Cancer Res*, 2024, **30**(16): 3549-3563.

[37] WINTER G E, BUCKLEY D L, PAULK J, *et al*. DRUG DEVELOPMENT. Phthalimide conjugation as a strategy for *in vivo* target protein degradation[J]. *Science*, 2015, **348**: 1376-1381.

[38] LU J, QIAN Y M, ALTIERI M, *et al*. Hijacking the E3 ubiquitin ligase cereblon to efficiently target BRD4[J]. *Chem Biol*, 2015, **22**(6): 755-763.

[39] QIN A C, JIN H, SONG Y, *et al*. The therapeutic effect of the BRD4-degrading PROTAC A1874 in human colon cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2020, **11**(9): 805.

[40] PENG X P, HU Z H, ZENG L M, *et al*. Overview of epigenetic degraders based on PROTAC, molecular glue, and hydrophobic tagging technologies[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, **14**(2): 533-578.

[41] WEN T Y, WANG J S, SHI Y K, *et al*. Inhibitors targeting Bruton's tyrosine kinase in cancers: drug development advances[J]. *Leukemia*, 2021, **35**(2): 312-332.

[42] 魏　超, 冉莹瑛, 秦鹏霞, 等. 应对 BTK 突变所致耐药的分子设计策略[J]. 中国医药工业杂志, 2021, **52**(8): 987-998.

[43] SUN Y H, ZHAO X W, DING N, *et al*. PROTAC-induced BTK degradation as a novel therapy for mutated BTK C481S induced ibrutinib-resistant B-cell malignancies[J]. *Cell Res*, 2018, **28**(7): 779-781.

[44] SUN Y H, DING N, SONG Y Q, *et al*. Degradation of Bruton's tyrosine kinase mutants by PROTACs for potential treatment of ibrutinib-resistant non-Hodgkin lymphomas[J]. *Leukemia*, 2019, **33**(8): 2105-2110.

[45] MIHALIC J T, BRATHABAN N, BRAVO B, *et al*. Abstract 3423: NX-2127: a first-in-class clinical stage degrader of BTK and IKZF1/3 for the treatment of patients with B cell malignancies[J]. *Cancer Res*, 2023, **83**(7_Suppl): 3423.

[46] ROBBINS D W, NOVISKI M A, TAN Y S, *et al*. Discovery and preclinical pharmacology of NX-2127, an orally bioavailable degrader of Bruton's tyrosine kinase with immunomodulatory activity for the treatment of patients with B cell malignancies[J]. *J Med Chem*, 2024, **67**(4): 2321-2336.

[47] NOVISKI M A, BRATHABAN N, MUKERJI R, *et al*. Abstract 2850: NX-5948 promotes selective, sub-nanomolar degradation of inhibitor-resistant BTK mutants[J]. *Cancer Res*, 2023, **83**(7_Suppl): 2850.

[48] SEARLE E, FORCONI F, LINTON K, *et al*. Initial findings from a first-in-human phase 1a/b trial of NX-5948, a selective Bruton's tyrosine kinase(BTK) degrader, in patients with relapsed/refractory B cell malignancies[J]. *Blood*, 2023, **142**(Suppl 1): 4473.

[49] Nurix. Nurix therapeutics presents positive results from ongoing clinical trial of NX-5948 in patients with relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL) at the European Hematology Association Congress(EHA2024)[EB/OL]. (2024-06-16)[2024-06-17]. https: //ir. nurixtx. com/node/10196/pdf.

[50] Beigen. Preliminary efficacy and safety of the bruton tyrosine kinase degrader BGB-16673 in patients with relapsed or refractory CLL/SLL: results from the phase 1 BGB-16673-101 study[EB/OL]. (2024-06-15)[2024-06-15]. https: //www. beigenemedical. com/CongressDocuments/Parrondo_BGB-16673-101_EHA_Presentation_2024. pdf.

[51] BOND M J, CHU L, NALAWANSHA D A, *et al*. Targeted degradation of oncogenic $KRAS^{G12C}$ by VHL-recruiting PROTACs[J]. *ACS Cent Sci*, 2020, **6**(8): 1367-1375.

[52] NAGASHIMA T, YOSHINARI T, NISHIZONO Y, *et al*. Abstract 5735: novel KRAS G12D degrader ASP3082 demonstrates *in vivo*, dose-dependent KRAS degradation, KRAS pathway inhibition, and antitumor efficacy in multiple KRAS G12D-mutated cancer models[J]. *Cancer Res*, 2023, **83**(7_Suppl): 5735.

[53] MULLARD A. IRAK4 degrader to take on innate immunity[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, **38**(11): 1221-1223.

[54] ACKERMAN L, ACLOQUE G, BACCHELLI S, *et al*. IRAK4 degrader in hidradenitis suppurativa and atopic

(下转第 1504 页)

[2] 叶家林, 李宏名, 曹胜华, 等. 盐酸替罗非班的合成 [J]. 化学研究与应用, 2012, **24**(5): 821-824.

[3] 刘　超, 陆旭芳, 耿元硕, 等. 盐酸替罗非班的合成研究 [J]. 精细化工中间体, 2013, **43**(2): 42-45.

[4] EGBERTSON M S, CHANG C T, DUGGAN M E, *et al*. Non-peptide fibrinogen receptor antagonists. 2. optimization of a tyrosine tem-plate as a mimic for Arg-Gly-Asp [J]. *J Med Chem*, 1994, **37**(16): 2537-2551.

[5] HARTMAN G D, EGBERTSON M S, HALCZENKO W, *et al*. Novel sulfonamide fibrinogen receptor antagonists: WO, 9319046A1 [P]. 1993-09-30.

[6] 赵志全, 彭立增. 盐酸替罗非班的制备方法: 中国, 100537536C [P]. 2009-09-09.

[7] GIRARD Y, HUGHES D L, ZHAO D L. Process for preparing fibrinogen receptor antagonists: US, 5312923A [P]. 1994-05-17.

[8] CHUNG J Y L, HUGHES D L, ZHAO D L. Process for preparing of *O*-[4-(4-piperidinyl)butyl]-tyrosine derivatives as fibrinogen receptor antagonists: WO: 9316994A1 [P]. 1993-09-02.

[9] CHUNG J Y L, ZHAO D L, HUGHES D L, *et al*. A practical synthesis of fibrinogen receptor antagonist MK-383. selective functionalization of (*S*)-tyrosine [J]. *Tetrahedron*, 1993, **49**(26): 5767-5776.

[10] 熊传辉, 杨　勇, 杨文斌. 一种制备 *O*- 磺酰酪氨酸类化合物的方法: 中国, 100422147C [P]. 2008-10-01.

[11] 郑永勇, 张子学, 黄　雷, 等. 盐酸替罗非班的合成 [J]. 中国医药工业杂志, 2012, **43**(6): 408-410.

（上接第 1476 页）

dermatitis: a phase 1 trial [J]. *Nat Med*, **29**(12): 3127-3136.

[55] CONGDON E E, SIGURDSSON E M. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurol*, 2018, **14**(7): 399-415.

[56] 刘　鹏, 曹端源, 罗金重, 等. 针对神经退行性疾病的蛋白水解靶向嵌合体研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2023, **58**(19): 1721-1730.

[57] HU Z Y, CHEN P H, LI W X, *et al*. Targeted dephosphorylation of Tau by phosphorylation targeting chimeras (PhosTACs) as a therapeutic modality [J]. *J Am Chem Soc*, 2023, **145**(7): 4045-4055.

[58] LIU J, CHEN H, MA L N, *et al*. Light-induced control of protein destruction by opto-PROTAC [J]. *Sci Adv*, 2020, **6**(8): eaay5154.

[59] CHEN H, LIU J, KANISKAN H Ü *et al*. Folate-guided protein degradation by immunomodulatory imide drug-based molecular glues and proteolysis targeting chimeras [J]. *J Med Chem*, 2021, **64**(16): 12273-12285.

[60] CHENG W Y, LI S S, WEN X Q, *et al*. Development of hypoxia-activated PROTAC exerting a more potent effect in tumor hypoxia than in normoxia [J]. *Chem Commun* (Camb), 2021, **57**(95): 12852-12855.

[61] ZHANG C, HE S S, ZENG Z L, *et al*. Smart nano-PROTACs reprogram tumor microenvironment for activatable photo-metabolic cancer immunotherapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, **61**(8): e202114957.