

基于 PROTAC 技术靶向降解 FAK 蛋白的研究进展

徐颖若, 张沁松, 吴菁艺, 鲍润菲, 曾申昕*

(杭州医学院药学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: 局部黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 是一种非受体细胞内酪氨酸激酶, 其同时具有激酶依赖和非激酶依赖的支架功能, 在肿瘤的发生发展及转移侵袭中均起到重要作用, 被认为是抗肿瘤药物研发的重要靶点。然而, 传统的小分子抑制剂只能抑制其激酶活性, 难以靶向非激酶依赖的支架功能。因此, 迫切需要新颖的策略来研究 FAK 靶点, 为 FAK 靶点的成药性及其相关药物的研发奠定基础。蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimera, PROTAC) 技术是一种新兴的药物研发策略, 其能招募 E3 泛素连接酶, 特异性泛素化靶蛋白并通过蛋白酶体系统靶向降解目的蛋白。PROTAC 的独特作用机制能靶向降解 FAK 蛋白, 从而消除 FAK 的支架功能, 极大吸引了科研人员的兴趣。本文简述了 FAK 蛋白、信号通路及小分子抑制剂, 系统综述了基于 PROTAC 技术靶向降解 FAK 蛋白的最新研究进展, 最后总结并展望了基于 PROTAC 技术靶向 FAK 蛋白的发展前景。

关键词: 局部黏着斑激酶; 靶向蛋白水解的嵌合体; 小分子抑制剂; E3 泛素连接酶; 药物研发

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)06-1571-09

Recent progress in targeting degradation of FAK based on PROTAC

XU Ying-ruo, ZHANG Qin-song, WU Jing-yi, BAO Run-fei, ZENG Shen-xin*

(College of Pharmacy, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China)

Abstract: Local focal adhesion kinase (FAK) is a non-receptor intracellular tyrosine kinase that plays an important role in tumor initiation, development, metastasis and invasion, and is considered to be an important target for the development of antineoplastic drugs. It has both kinase-dependent and non-kinase-dependent scaffolding functions. However, traditional small molecular inhibitors can only inhibit its kinase-dependent activity, so it is difficult to target the kinase-independent scaffolding function. Therefore, there is an urgent need for novel strategies to enhance FAK targeting to lay the foundation for determining the druggability and discovery of FAK inhibitors. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) is a new drug development strategy that can recruit E3 ligase to specifically ubiquitinate target proteins for degradation through the proteasome system. The unique mechanism of action of the PROTAC system could be used to target and degrade the FAK protein, thus eliminating the scaffolding function of FAK. In this review, FAK protein, the signaling pathway, and small molecule inhibitors are briefly described, and the latest research progress in targeting the degradation of FAK using PROTAC technology is summarized.

Key words: local focal adhesion kinase; proteolysis targeting chimera; small molecule inhibitor; E3 ligase; drug development

局部黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK), 也

称之为蛋白酪氨酸激酶 2 (protein tyrosine kinase 2, PTK2), 是一种非受体细胞内酪氨酸激酶, 通过其激酶活性和支架功能在癌细胞的黏附、存活、代谢、增殖、迁移和肿瘤微环境中发挥着重要作用^[1]。FAK 的过表达及激活主要在原发性癌及转移性癌中被发现, 如原发

收稿日期: 2020-12-30; 修回日期: 2021-01-21.

基金项目: 浙江省教育厅一般科研项目 (Y202045350).

*通讯作者 Tel: 86-571-88215626, E-mail: zengsz@hmc.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1990

性肝癌、结肠癌、卵巢癌、乳腺癌等多种不同人源癌细胞中均有 FAK 蛋白的过表达,并表现出较差的临床治疗结果。FAK 的作用机制及信号通路已得到广泛研究,最近研究表明 FAK 是某些癌症中免疫应答的关键媒介,抑制 FAK 的活性可能会触发免疫介导的肿瘤消失,证明 FAK 是治疗癌症的有效潜在靶点^[2]。鉴于在癌细胞中 FAK 的过表达,当前已有许多直接作用于 FAK 的小分子抑制剂,且有少部分已进入临床研究^[3]。尽管靶向 FAK 的小分子抑制剂在临床前实验中取得令人兴奋的成绩,临床试验也取得阶段性的成功,但还远远未满足临床需要^[4]。由于传统药物化学策略如小分子抑制剂只能抑制 FAK 的激酶依赖性的生理活性而忽略了 FAK 非激酶依赖的支架角色功能,其作用机制大大限制了靶向 FAK 的临床应用^[5]。为了克服 FAK 激酶抑制剂的作用机制缺陷,深入靶点 FAK 的认识,验证靶点 FAK 的临床应用,探讨支架功能在肿瘤发生发展中的作用,迫切需要全新的策略来选择性靶向。

蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimera, PROTAC) 技术是一种新兴的药物研发策略^[6,7]。特别是在 2019 年 2 个新型可口服小分子 PROTAC ARV-110 (NCT03888612) 和 ARV-471 (NCT04072952) 进入临床 I 期试验并取得令人满意的疗效以及安全性,极大地鼓舞了来自学术界及制药工业界的科研人员研发热情^[8]。PROTAC 是由三部分组成的异源双功能化合物,分别是用于特异性结合靶蛋白的“弹头”(warhead)、招募 E3 泛素连接酶的 E3 泛素连接酶配体 (E3 ligand) 和连接两者的连接链 (linker)^[9]。PROTAC 靶向降解靶蛋白的作用机制是通过嵌合体分子将靶蛋白与 E3 泛素连接酶“拉近”到适当距离,使得本不被特异性泛素化的蛋白得到泛素化标记,最终通过蛋白酶体系统降解蛋白

使其丧失生物学活性。与传统抑制剂只能抑制某些多功能蛋白的单一信号通路相比,PROTAC 分子可以诱导靶蛋白降解从而影响该蛋白的所有功能,从而减少反馈机制,在某种程度上可以克服耐药以及减小耐药的发生几率^[10]。从 PROTAC 的作用机制上看,比起高亲和力的传统小分子抑制剂,嵌合体分子对靶蛋白的亲合力要求并不苛刻,只需微小的结合力便能诱导靶蛋白泛素化并被随后的泛素蛋白酶系统降解^[11]。另一方面,PROTAC 小分子可以发挥亚化学剂量的催化作用,解离后的 PROTAC 分子可以进入下一个循环,从而可以大大减少给药剂量以及降低因高剂量带来的毒副作用 (图 1)。综合 PROTAC 的诸多优势,PROTAC 不仅促进了小分子药物的研发,更预示着第四次制药革命的到来^[12]。

PROTAC 的独特作用机制能靶向降解 FAK 蛋白,从而消除 FAK 的支架功能,极大吸引了科研人员的兴趣^[13]。当前已有多个基于 PROTAC 技术研发的靶向 FAK 小分子降解剂被报道^[14]。本文简述了 FAK 蛋白、信号通路及小分子抑制剂,系统综述了基于 PROTAC 技术靶向降解 FAK 蛋白的最新研究进展,最后总结并展望了基于 PROTAC 技术靶向降解 FAK 蛋白的发展前景。

1 FAK 的结构及信号通路

FAK 结构最早于 1992 年被 Schaller 等^[15]从鸡胚成纤维细胞中分离并克隆出来。FAK 隶属于酪氨酸激酶-2 基因编码的非受体型酪氨酸激酶,不含常见的 SH2 与 SH3 结构域,是较为纯粹的胞质酪氨酸激酶,主要依赖其细胞整合素发挥作用。FAK 本身虽非原癌基因,但易受到原癌基因、整合素、内皮素、升压素等的影响发生催化底物蛋白酪氨酸残基的磷酸化作用,进而调控细胞的增殖、分化与生长^[16]。编码 FAK 的 cDNA

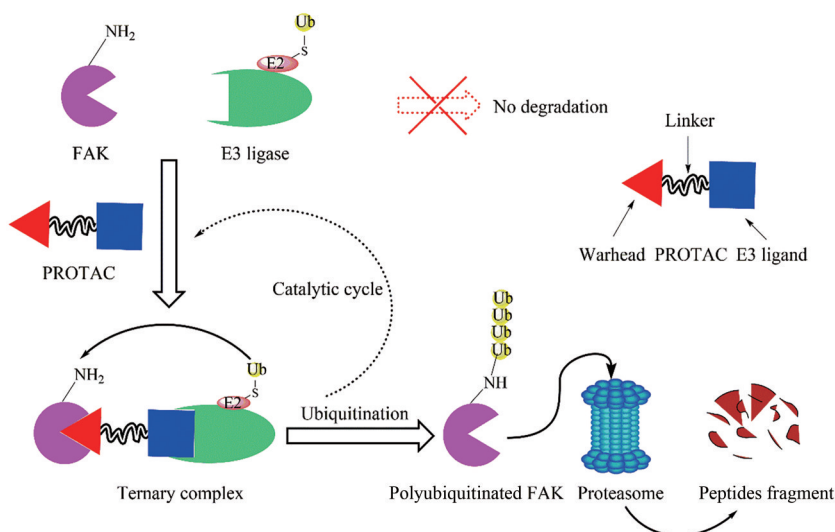


Figure 1 The mechanism of degradation of PROTAC

长度为 3 791 bp, 位于第 8 号染色体的 8q24 处, 可以编码 1 052 个氨基酸, 相对分子质量为 125。FAK 是一种具有多功能结构域的信号蛋白质, 主要有三部分组成: ① 约有 370 个氨基酸组成的三叶草型的 FERM 和 Y397 磷酸化位点的 N 端; ② 由 150 个氨基酸组成的 FAT, 含大量脯氨酸聚集的和 Y925 的磷酸化位点的 C 端; ③ 包含 Tyr576 和 Tyr577 两个磷酸化位点的中心激酶结构域三部分^[17] (图 2)。三者的共同作用介导着 FAK 的非激酶依赖的信号通路^[18]。FAK 通过其支架功能结构域参与在质膜上形成大型信息复合物, 其很容易被生长因子和整合素磷酸化激活, 介导胞外信号传至胞内, 连接细胞外基质与细胞的相互作用^[19,20], 并介导多条信号转导通路, 如 P13K-AKT 通路、Ras-MAPK 通路、GTP/STAT1 通路等, 参与调控肿瘤细胞的生长、增殖、转移和侵袭等过程^[21]。

2 FAK 与肿瘤的发生与发展

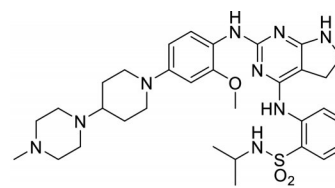
生物学研究表明, 编码 FAK 蛋白的基因本身并不属于原癌基因, 但 FAK 在肿瘤源中的核酸及蛋白的过度表达和其自身活性的升高, 都会很大程度上影响肿瘤的发生与发展。FAK 能调控癌细胞的增殖、凋亡和迁移等过程^[22]。

2.1 调控癌细胞的增殖与凋亡 肿瘤的发生, 究其原因是癌细胞增殖与凋亡的平衡失常, 从而减缓癌细胞的凋亡, 加快癌细胞的增殖, 抑或是凋亡敏感性不足等^[23]。在肿瘤细胞中, FAK 的过表达能够抑制细胞的“失巢

凋亡”, 从而阻断细胞与其外基质脱离接触而诱发的细胞正常性死亡。此外, FAK 可以通过结合胞质内的 P53 功能蛋白, 促进 P53 的降解, 抑制了 P53 的转录活性与其介导的凋亡作用, 从而促进癌细胞的生长和发育^[24]。

2.2 调控癌细胞的转移与侵袭 癌细胞的转移是体内癌细胞迁移的结果^[25]。研究表明, FAK 是多条重要信号通路的交汇站, 其信号通路和刺激因子的受体都可激活 FAK 磷酸化, 调节肿瘤细胞黏附与迁移。在其转移、侵袭等过程中, FAK 能够促进癌细胞 Src、Ras、Apex1、Rgnef 的 mRNA 及蛋白质表达, 调控癌细胞生长转移等。最近研究表明, 抑制 FAK 表达能有效抑制胃癌、肝癌等细胞中的 Src、Ras、Apex1、Rgnef 表达^[26]。

2.3 调控癌细胞通路 1 在大多肿瘤细胞中, FAK 能激活 P13K-AKT 通路, 使其处于异常活化状态, AKT 与 mTOR 皆处在高度磷酸化状态, 抑制 FAK 对该通路的活化, 会抑制癌细胞的增殖及恶化^[27]。最新研究表明, 新型多靶点激酶抑制剂 CT-707 (1) 正是通过靶向 FAK 以激活 AKT 相关通路, 从而克服对克唑替尼耐药的非小细胞肺癌的治疗^[28]。



CT-707 (1)

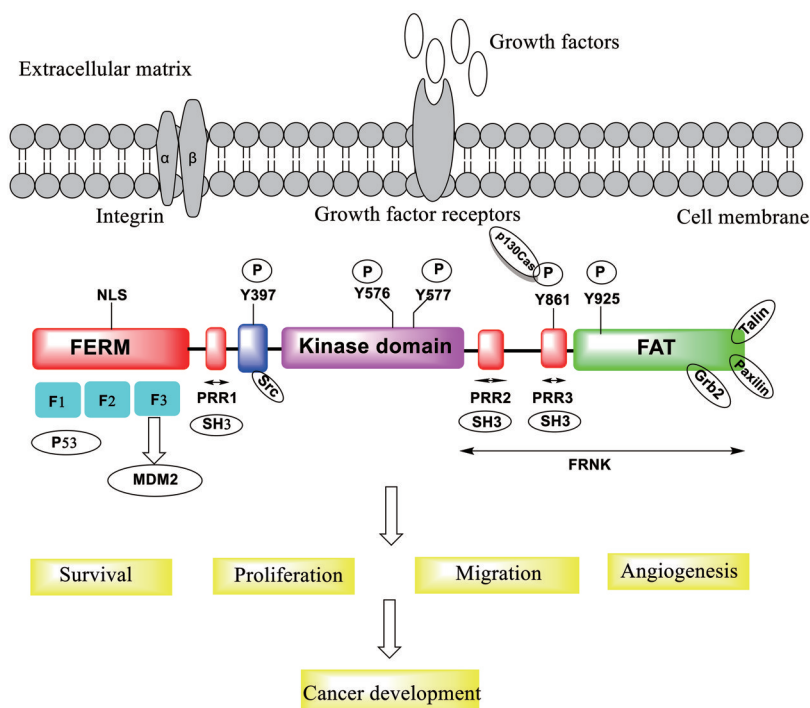


Figure 2 Schema of the structure of FAK and FAK-related signaling pathways

2.4 调控癌细胞通路2 FAK-Ras-MAPK通路是FAK介导的主要转导信号通路之一^[29]。Ras蛋白有两种状态,当结合GTP时为活化状态,反之当结合GDP为失活状态。MAPK作为胞内的一种蛋白激酶,它的表达调节着细胞的分化生长等。激活的FAK通过激活Ras,进而激活MAPK,达到调节癌细胞的增殖,分化与生长等作用,进而密切联系了FAK与癌细胞之间的分化与生长的关系。

3 FAK小分子抑制剂

当前已有较多FAK小分子抑制剂被报道,尽管还未有直接作用于FAK的小分子抑制剂上市,但其体外、体内、临床前和临床试验研究数据均表现出令人满意的结果。目前已经大量报道了通过不同作用机制,靶向FAK不同结构域的小分子抑制剂,主要可以分为:别构位点抑制和ATP竞争性抑制的激酶抑制剂、FERM结构域抑制剂、FAT结构域抑制剂。

FAK的ATP竞争性抑制剂是所有FAK抑制剂中研究最多的类别,当前进入临床研究的均属于该类抑制剂。现已有6个直接作用于FAK的ATP竞争性抑制剂处于临床I/II期研究(表1、图3)。

此外,还有较多活性较好FAK的ATP竞争性抑制剂被报道,结构如图4。

近日,中国药科大学孙海鹰教授^[30]系统综述了FAK小分子抑制剂最新研究进展,本文由于篇幅有限,直接作

用于FAK其他结构域的小分子抑制剂本文不再赘述。

4 FAK降解剂的最新研究进展

由于FAK同时具有激酶依赖性和独特的非激酶依赖性的支架功能,而传统的小分子抑制剂只能抑制其特定的激酶活性,不能有效靶向其非激酶的支架功能,加之当前鲜有文献报道关于FAK的支架功能在肿瘤发生发展中的作用,因此迫切需要寻找一个新的策略来更为深入的探讨FAK靶点的可成药性及对该靶点的系统研究。PROTAC技术的出现可以弥补传统小分子抑制剂不可靶向支架功能的缺陷。因此,基于PROTAC技术研发靶向降解FAK成为研究FAK支架功能的热点,更为研发靶向FAK的小分子药物带来新策略。

4.1 基于CRBN靶向FAK的小分子PROTACs Cereblon (CRBN)是一种与肿瘤密切相关的蛋白,是E3泛素连接酶中的一种连接酶复合物的底物识别构件,这个底物识别构件名为:CUL4-RBX1-DDB1-CRBN。此识别构件可以促使泛素特异性结合到底物蛋白上,因此需要降解的蛋白就可以被标记出来^[31]。CRBN配体由于分子量小、成药性好、便于合成等优势以广泛用于PROTACs小分子的设计与合成^[32]。

2018年Gray教授领衔的研究团队^[33]首次报道了降解FAK的小分子PROTACs。降解剂TL13-12 (**21**)和TL13-112 (**22**)分别是基于间变性淋巴瘤激酶(ALK)小分子抑制剂TAE684 (**23**)和LDK378 (**24**)所设计的。值

Table 1 FAK inhibitors that have been reported in clinical trials

Inhibitor	Company	Disease	Clinical trial	Clinical batch number	Finished condition	Structure
GSK-2256098	GlaxoSmith Kline	Meningioma	I	NCT01938443	Completion	(2)
VS-6063	Verastem	Ovarian cancer	II	NCT03287271	Ongoing	(3)
PF00562271	Pfizer	Prostate cancer	I	NCT00666926	Completion	(4)
VS-4718	Verastem	Pancreatic cancer	I	NCT02215629	Withdrawal	(5)
CEP-37440	Teva Branded	Solid tumor	I	NCT01922752	Completion	(6)
BI-853520	Boehringer Ingelheim	Solid tumor	I	NCT01335269	Completion	Unrevealed

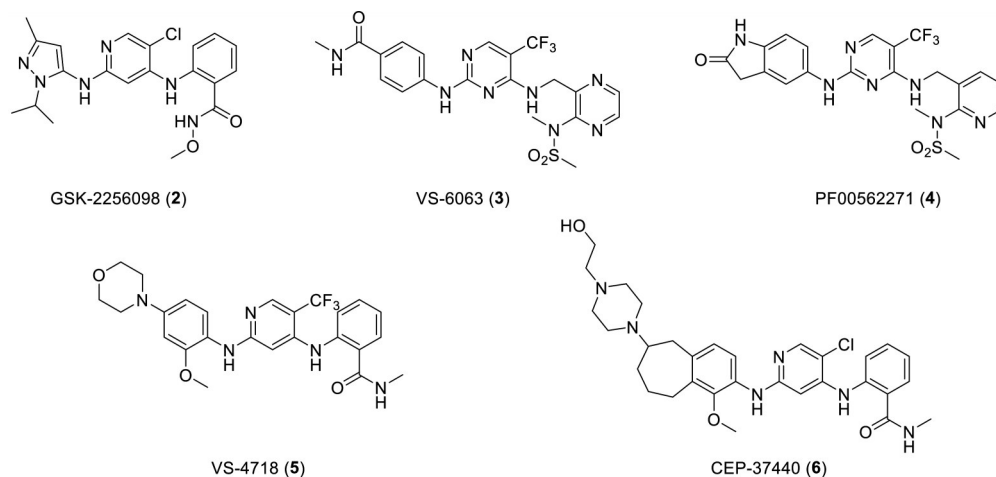


Figure 3 Inhibitors of FAK advanced in clinical trials

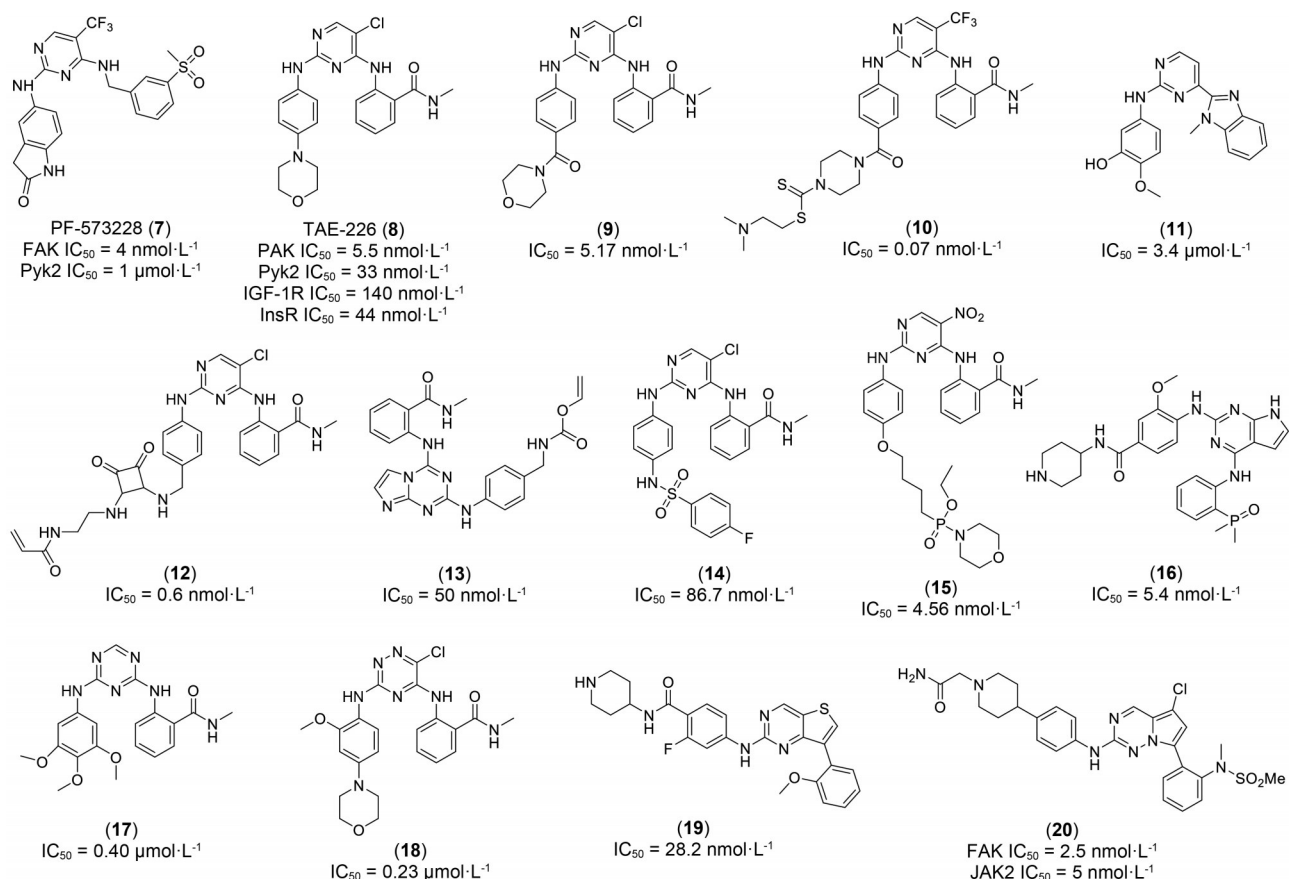
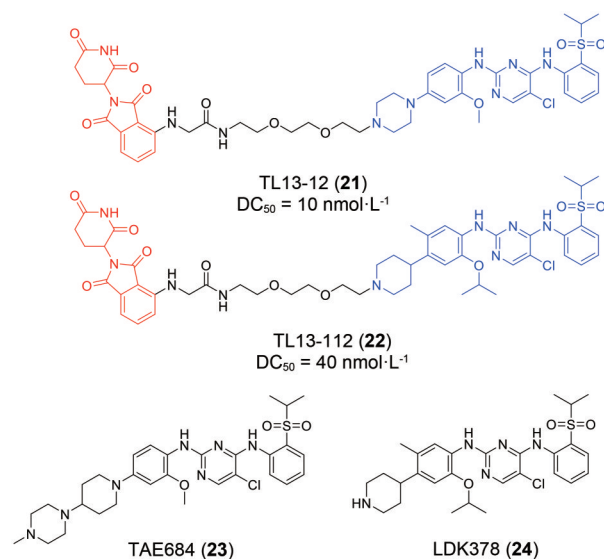


Figure 4 Representative inhibitors of FAK

得注意的是, 较 ALK 小分子抑制剂, 基于 PROTAC 研发的 ALK 降解剂药理活性得到明显提升。有趣的是, 作者研究之初旨在靶向降解 ALK, 但所设计的 PROTAC 分子不仅可以降解 ALK 还可以降解 FAK、Aurora A、FER 和 RPS6KA1, 表现出多靶点特性。推测其主要原因是 PROTAC“弹头”本身具有激酶泛选择性。尽管当前已有相关文献报道通过 PROTAC 策略可以增加对靶蛋白的选择性, 但是对其增加选择性的作用机制仍不清楚, 受到“弹头”、连接链和 E3 泛素连接酶三部分的共同影响, 未来还需要在 PROTAC 提高选择性方面做更深入的研究。虽然降解 FAK 不是该研究的主要目的, 但是该研究证明了运用 PROTAC 降解 FAK 蛋白的可行性, 为后续降解 FAK 奠定了理论基础。

同年, Gray 团队以 ALK 小分子抑制剂 TAE684 (23) 为先导化合物通过结构修饰, 去掉了在选择性中起关键作用的 2-苯胺上的 2-甲氧基以降低其选择性, 合成了具有多激酶抑制活性功能的化合物 TL13-87 (25)^[34]。为了实现泛激酶降解活性, 研究人员引入了 PROTAC 策略, 用聚乙二醇连接链连接 TL13-87 (25) 和 CRBN 配体来那度胺得到了具有同时降解包括 FAK 在内的 28 种激酶活性的小分子 TL12-186 (26) 降解剂。



鉴于先前报道的诸多关于 FAK 的 PROTAC 选择性均较低, 为实现高选择性以降低毒副作用, 2019 年 Popow 等^[35]发现了具有高选择性 PROTAC 分子 BI-3663 (27)。BI-3663 (27) 是由该团队自行研发具有高选择性的 FAK 抑制剂 BI-4464 (28) 与 CRBN 配体泊马度胺通过含有 3 个单元的 PEG 连接链连接而成。降解实验表

明, 11 HCC 细胞系给予 BI-3663 (27) 孵育 18 h, $DC_{50} = 30 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 且大于 80% 的 FAK 蛋白被有效降解, 表现出较好的降解活性。尽管 BI-3663 (27) 对 FAK 蛋白的降解具有较好活性, 但是其抗增殖活性较 FAK 小分子抑制并没有得到显著增强。因此, 本研究质疑了 FAK 的支架功能在癌细胞增殖过程中的必要性, 但还需要更加深入的研究。总之, 本研究为研究 FAK 支架功能提供了有效的探针分子, 为后续研究奠定基础。

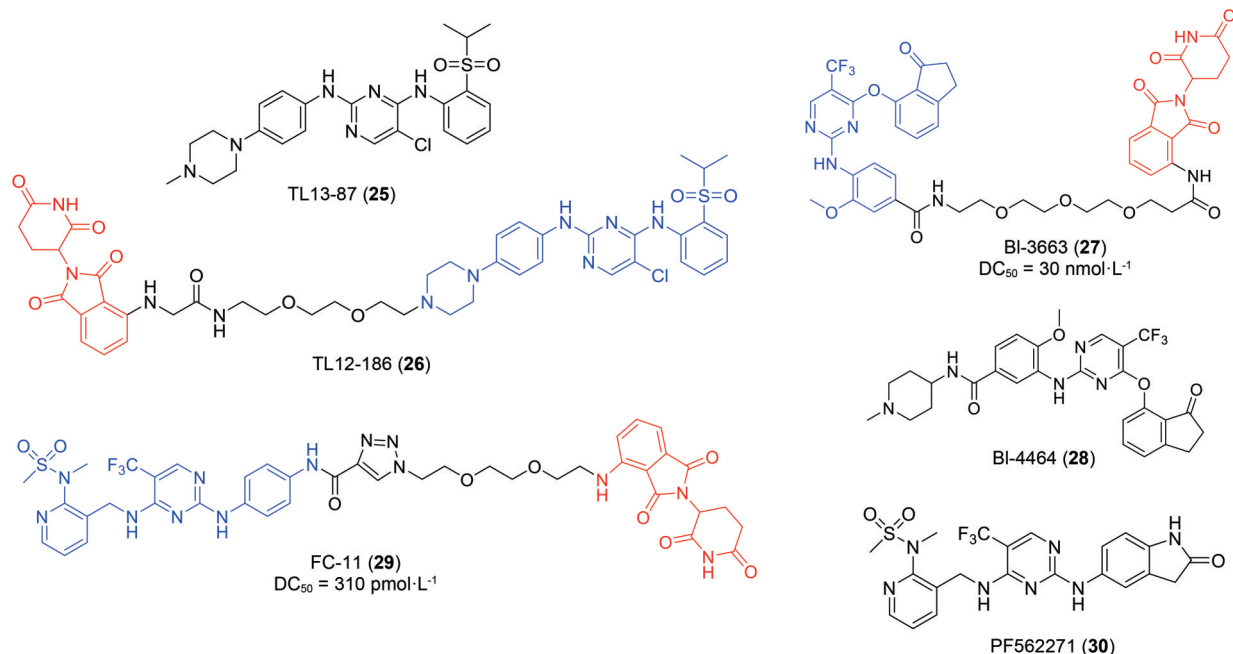
为实现高效、快速及选择性高的 FAK 降解剂, 2019 年清华大学饶燊教授团队^[36]基于 CRBN 配体建立了 FAK 小分子 PROTACs 化合物库。为了提高合成效率, 该团队通过“点击化学”引入三氮唑, 高效合成 34 个目标 PROTACs 分子, 其中 FC-11 (29) 表现出较好的降解活性 ($DC_{50} = 310 \text{ pmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。FC-11 (29) 的降解活性能够达到皮摩尔级别, 结合先前的文献报道, 推测可能是三氮唑的引入大大增强了 FAK 和 E3 泛素连接酶配体的蛋白-蛋白相互作用, 从而增强降解活性。此外, 该研究还系统讨论了连接链的长度, PROTAC 与两配体的结合模式和两配体的空间趋向对降解 FAK 活性的影响。但是该影响可能存在较多偶然因素, 当前对 PROTAC 的理性药物设计还没有规律的认识, 未来还需要更广泛的研究, 形成统一的认识。

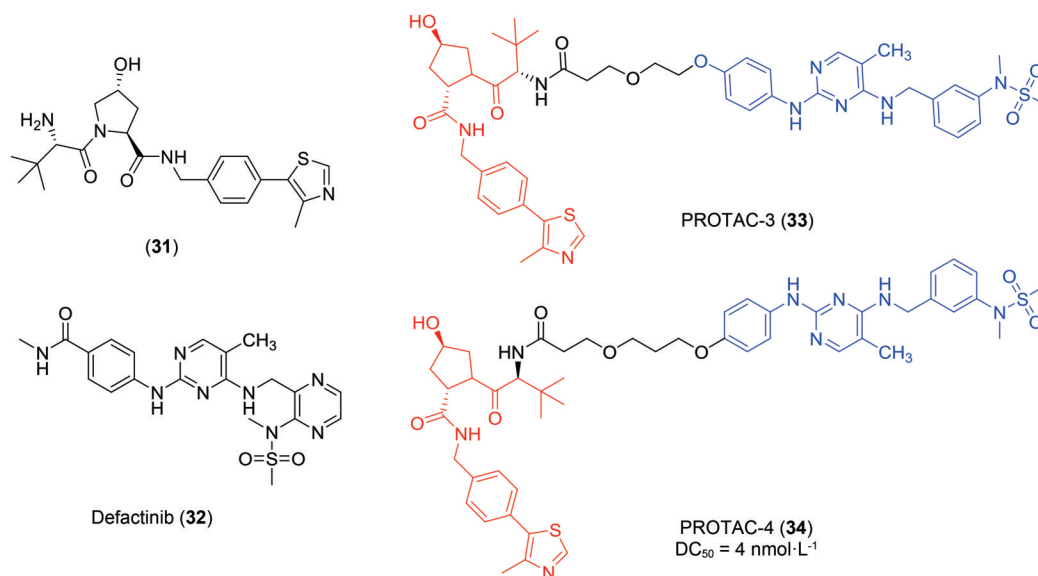
2020 年, 饶燊教授团队^[37]为了研究 FAK 的激酶依赖与其非激酶依赖的支架功能对雄性小鼠生殖系统的影响, 实施了连续给药 13 天的 PROTAC 小分子 FC-11 (29) ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, BID)、抑制剂 PF562271 (30) ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, BID) 和空白组的动物实验。实验结果表明, 13 天给药后, 给药 FC-11 (29) 的雄性小鼠在睾丸、附睾、精囊和

包皮腺等器官中表现出显著的质量及体积的变小。此外, FC-11 (29) 处理的小鼠尾部附睾的活精子数量及活力显著下降。然而给药 PF562271 (30) 的小鼠对生育系统却没有显著影响。该研究表明, FAK 的激酶依赖活性及支架功能分别具有独立的功能, 且支架功能在雄性动物的生殖系统中起到重要作用。未来是否可以基于 PROTAC 技术开发起效快, 生育能力可逆的高效男性避孕药还有待进一步研究。

4.2 基于 VHL 靶向 FAK 的小分子 PROTACs Von Hippel-Lindau (VHL) 是一种肿瘤抑制基因, 主要编码 E3 泛素连接酶 pVHL, 该蛋白与 Elongin B&C 形成 Cullin 环 E3 泛素连接酶复合体, 再通过招募 E2 泛素结合酶, 识别蛋白质底物, 并使泛素转移到蛋白质底物上, 最终通过蛋白酶体系统被降解。VHL 是首个广泛应用于研发小分子 PROTAC 的 E3 泛素连接酶配体^[38]。常用的配体有化合物 (31)。

2018 年耶鲁大学 Crews 团队^[39]为了研究 FAK 非激酶依赖的支架功能, 设计并合成了首个基于 VHL 配体结构新颖的 FAK 小分子 PROTAC。该团队以 defactinib (32) 为先导化合物, 通过构效关系研究 (SAR) 发现, defactinib (32) 结构上的 *N*-甲基苯甲酰胺暴露于蛋白口袋的亲水侧; 为了减少设计分子中的酰胺键, 增加细胞通透性, 作者用 4-氨基苯酚来取代 *N*-甲基苯甲酰胺; 为了降低合成难度, 作者用 1,3-二取代苯基来替代 2,3-二取代吡嗪基。因此, 研究人员在亲水侧引入不同长度的聚乙二醇 (PEG) 连接链将“弹头”—defactinib 衍生物与 VHL 配体连接, 最终合成出 6 个连接链长度各不相同的小分子 FAK 降解剂。正如预期的一样, 连接





链和 VHL 配体的引入并不影响所设计的 PROTAC 对 FAK 激酶抑制活性的影响, 半数抑制活性 (IC_{50}) 均介于 $4.7 \sim 14.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。有趣的是抑制活性和降解活性没有相关性, 例如相比其他降解剂, PROTAC-4 (34) 的激酶抑制活性较差 ($IC_{50} = 14.5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 但降解活性却较好, 半数降解活性 (DC_{50}) 为 $4.0 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。对比其活性最强的 PROTAC 3 (33) 与 FAK 抑制剂发现, PROTAC 3 (33) 的选择性要远大于 defactinib (32)。在细胞迁移和入侵实验中表明, PROTAC 3 (33) 对 MDA-MB-231 细胞愈合抑制作用和抑制细胞迁移能力要强于 defactinib (32)。该研究证明了 PROTAC 在扩大成药空间、增加选择性和控制蛋白质功能方面具有强大的潜力, 而这些功能是传统的小分子抑制剂难以具备的。

当前基于 PROTAC 技术用于靶向 FAK 的降解是一个全新的领域, 在 2018 年首次有可降解 FAK 的 PROTAC 的合成, 总的来说靶向降解 FAK 的报道并不是很多, 且作用机制的研究也不够深入。尽管人类基因组预测有 600 多种 E3 泛素连接酶^[40], 但目前仅有几种被用于 PROTAC 的构建, 用于降解 FAK 的 PROTAC 的 E3 连接酶配体, 目前相关文献仅报道了 VHL 和 CRBN, 但 PROTAC 技术正在快速发展, 相信不久会有更多的 E3 泛素连接酶配体被开发。

5 总结和展望

FAK 在癌症的发生、发展中起着关键作用, 被认为是抗癌药研发的重要靶点。尽管基于不同结构域的小分子抑制剂被大量研发, 且在临床上取得不错的治疗效果, 但是小分子抑制剂难以靶向 FAK 的支架功能只能抑制其激酶依赖活性, 这可能是限制 FAK 小分子抑制剂进一步临床使用的重要因素之一。为验证 FAK

靶点的成药性、研究其支架功能在生物体能的作用及更加深入地了解 FAK 靶点, 迫切需要一种新技术来快速、可逆的选择性降解 FAK 蛋白。PROTAC 技术是近年来化学敲除致病蛋白的新型策略, 能同时阻断 FAK 的激酶依赖性功能和非激酶依赖的支架功能, 能解决小分子抑制剂只作用于蛋白激酶结构域带来的耐药性问题, 且和小分子抑制剂相比具有给药剂量低、毒副作用小的特点。PROTAC 的独特作用机制及显著优势大大吸引了来自制药工业界及学术界的兴趣。特别是近年来具有口服活性的 PROTAC 进入临床研究且取得令人兴奋的试验结果, 为 PROTAC 的研究打开了新纪元。

尽管当前已有多个基于 CRBN 和 VHL 的靶向降解小分子 PROTAC 的报道, 且能选择性地降解 FAK, 但目前的研究尚未表明 PROTAC 的抗癌活性优于 FAK 抑制剂, 且 PROTAC 在给药时遇到一系列问题, 比如脱靶、低细胞渗透性、不稳定性、不易吸收、不易合成和超大的分子量的诸多挑战^[13,41]。此外, E3 泛素连接酶的选择对于 FAK 的降解至关重要, 当前仅有 CRBN 和 VHL 的配体成功应用于降解 FAK PROTAC 的设计, 未来还需要开发更多的 E3 泛素连接酶配体来实现 PROTAC 的理性药物设计。相信随着 PROTAC 的研究不断深入, 会研发出越来越多降解活性和抗肿瘤活性更好的 FAK 降解剂, 为深入研究 FAK 靶点提供有效的探针分子, 为靶向 FAK 的药物研发奠定理论基础。

作者贡献: 徐颖若负责综述的资料收集和文章撰写; 张沁松、鲍润菲和吴菁艺参与了部分内容的撰写、文献整理、图片制作及文章修改; 曾申昕负责文章的选题、思路和框架的提出以及文章修改和检查。

利益冲突: 本文无利益冲突。

References

- [1] Sulzmaier FJ, Jean C, Schlaepfer DD. FAK in cancer: mechanistic findings and clinical applications [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14: 598-610.
- [2] Demircioglu F, Wang J, Candido J, et al. Cancer associated fibroblast FAK regulates malignant cell metabolism [J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 1290.
- [3] Lv PC, Jiang AQ, Zhang WM, et al. FAK inhibitors in cancer, a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2018, 28: 139-145.
- [4] Chauhan A, Khan T. Focal adhesion kinase-an emerging viable target in cancer and development of focal adhesion kinase inhibitors [J]. *Chem Biol Drug Design*, 2020, 97: 774-794.
- [5] Cance WG, Kurenova E, Marlowe T, et al. Disrupting the scaffold to improve focal adhesion kinase-targeted cancer therapeutics [J]. *Sci Signal*, 2013, 6: pe10.
- [6] Ding Y, Fei Y, Lu B. Emerging new concepts of degrader technologies [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41: 464-474.
- [7] Wang Y, Jiang X, Feng F, et al. Degradation of proteins by PROTACs and other strategies [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 207-238.
- [8] Sun X, Gao H, Yang Y, et al. PROTACs: great opportunities for academia and industry [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2019, 4: 64.
- [9] Luh LM, Scheib U, Juenemann K, et al. Prey for the proteasome: targeted protein degradation-a medicinal chemist's perspective [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59: 15448-15466.
- [10] Ward RA, Fawell S, Floch N, et al. Challenges and opportunities in cancer drug resistance [J]. *Chem Rev*, 2021, 121: 3297-3351.
- [11] Donovan KA, Ferguson FM, Bushman JW, et al. Mapping the degradable kinome provides a resource for expedited degrader development [J]. *Cell*, 2020, 183: 1714-1731.e10.
- [12] Deshaies RJ. Multispecific drugs herald a new era of biopharmaceutical innovation [J]. *Nature*, 2020, 580: 329-338.
- [13] Zeng S, Huang W, Zheng X, et al. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) in drug discovery paradigm: recent progress and future challenges [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 210: 112981.
- [14] Wang Y, Long J, Chang Q, et al. The application of small molecule PROTAC in researches of different targets [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 446-452.
- [15] Schaller MD, Otey CA, Hildebrand JD, et al. Focal adhesion kinase and paxillin bind to peptides mimicking beta integrin cytoplasmic domains [J]. *J Cell Biol*, 1995, 130: 1181-1187.
- [16] Zhou J, Yi Q, Tang L. The roles of nuclear focal adhesion kinase (FAK) on cancer: a focused review [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38: 250.
- [17] Antoine M, Emilie S, Philippe C, et al. Targeting focal adhesion kinase using inhibitors of protein-protein interactions [J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10: 278.
- [18] Martínez T, Navajas L, Lietha D. FAK structure and regulation by membrane interactions and force in focal adhesions [J]. *Biomolecules*, 2020, 10: 179.
- [19] Mitra SK, Hanson DA, Schlaepfer DD. Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 56-68.
- [20] Frame MC, Patel H, Serrels B, et al. The FERM domain: organizing the structure and function of FAK [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 802-814.
- [21] Yoon H, Dehart JP, Murphy JM, et al. Understanding the roles of FAK in cancer: inhibitors, genetic models, and new insights [J]. *J Histochem Cytochem*, 2015, 63: 114-128.
- [22] Lee BY, Timpson P, Horvath LG, et al. FAK signaling in human cancer as a target for therapeutics [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 146: 132-149.
- [23] Takahashi R, Sonoda Y, Ichikawa D, et al. Focal adhesion kinase determines the fate of death or survival of cells in response to TNFalpha in the presence of actinomycin D [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770: 518-526.
- [24] Cance WG, Golubovskaya VM. Focal adhesion kinase versus p53: apoptosis or survival? [J]. *Sci Signal*, 2008, 1: pe22.
- [25] Cox BD, Natarajan M, Stettner MR, et al. New concepts regarding focal adhesion kinase promotion of cell migration and proliferation [J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99: 35-52.
- [26] Golubovskaya VM, Ho B, Zheng M, et al. Mitoxantrone targets the ATP-binding site of FAK, binds the FAK kinase domain and decreases FAK, Pyk-2, c-Src, and IGF-1R *in vitro* kinase activities [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2013, 13: 546-554.
- [27] Thamilselvan V, Craig DH, Basson MD. FAK association with multiple signal proteins mediates pressure-induced colon cancer cell adhesion via a Src-dependent PI3K/Akt pathway [J]. *FASEB J*, 2007, 21: 1730-1741.
- [28] Liang C, Zhang N, Tan Q, et al. CT-707 overcomes resistance of crizotinib through activating PDPK1-AKT1 pathway by targeting FAK [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2019, 19: 655-665.
- [29] Hood JD, Frausto R, Kiesses WB, et al. Differential alpha v integrin-mediated Ras-ERK signaling during two pathways of angiogenesis [J]. *J Cell Biol*, 2003, 162: 933-943.
- [30] Lu Y, Sun H. Progress in the development of small molecular inhibitors of focal adhesion kinase (FAK) [J]. *J Med Chem*, 2020, 63: 14382-14403.
- [31] Moon S, Lee BH. Chemically induced cellular proteolysis: an emerging therapeutic strategy for undruggable targets [J]. *Mol Cells*, 2018, 41: 933-942.
- [32] Edmondson SD, Yang B, Fallan C. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) in 'beyond rule-of-five' chemical space: recent progress and future challenges [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29: 1555-1564.
- [33] Powell CE, Gao Y, Tan L, et al. Chemically induced degradation of anaplastic lymphoma kinase (ALK) [J]. *J Med Chem*, 2018, 61: 4249-4255.

- [34] Huang HT, Dobrovolsky D, Paulk J, et al. A chemoproteomic approach to query the degradable kinome using a multi-kinase degrader [J]. *Cell Chem Biol*, 2018, 25: 88-99e86.
- [35] Popow J, Arnhof H, Bader G, et al. Highly selective PTK2 proteolysis targeting chimeras to probe focal adhesion kinase scaffolding functions [J]. *J Med Chem*, 2019, 62: 2508-2520.
- [36] Gao H, Wu Y, Sun Y, et al. Design, synthesis, and evaluation of highly potent FAK-targeting PROTACs [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, 11: 1855-1862.
- [37] Gao H, Zheng C, Du J, et al. FAK-targeting PROTAC as a chemical tool for the investigation of non-enzymatic FAK function in mice [J]. *Protein Cell*, 2020, 11: 534-539.
- [38] Pettersson M, Crews CM. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) - past, present and future [J]. *Drug Discov Today*, 2019, 31: 15-27.
- [39] Cromm PM, Samarasinghe KTG, Hines J, et al. Addressing kinase-independent functions of FAK *via* PROTAC-mediated degradation [J]. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 17019-17026.
- [40] Konstantinidou M, Li J, Zhang B, et al. PROTACs- a game-changing technology [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2019, 14: 1255-1268.
- [41] Zeng SX, Huang WH, Shen ZR. Opportunities and challenges of PROTAC in R&D of small-molecule drugs [J]. *Prog Pharm Sci (药学进展)*, 2020, 44: 801-816.