

· 特邀专稿 ·

## 靶向 KRAS 蛋白抑制剂的研究进展

李学燕, 陈娜, 江程\*

(中国药科大学药学院, 南京 211198)

**摘要** KRAS 蛋白是由克里斯汀鼠肉瘤病毒基因 (Kirsten rat sarcoma viral oncogene, *KRAS*) 编码的一种小 GTP 酶, 参与细胞的增殖、分化、迁移和凋亡等活动, 被认为是调控细胞生命周期的信号开关。然而 *KRAS* 基因容易发生突变导致下游信号通路的过度激活, 是肿瘤疾病发生发展的重要因素。KRAS 蛋白常见突变位点包括 G12、G13 和 Q61, 不同的突变体对蛋白生理功能的影响和主要肿瘤疾病类型具有差异性。KRAS 蛋白由于其光滑的表面和对核苷酸的高亲和力一度被认为是“不可成药”的靶点。直到靶向 KRAS G12C 共价抑制剂索托雷塞 (sotorasib) 和阿达格拉西布 (adagrasib) 的上市才打破了 KRAS 不可成药的现状。文章就 KRAS 蛋白的结构和功能以及直接靶向 KRAS G12C、KRAS G12D、KRAS G12R、KRAS G12S 和泛 KRAS 抑制剂的研究现状、面临的挑战进行综述, 旨在为 KRAS 抑制剂的发展提供有益参考。

**关键词** RAS; KRAS; KRAS 抑制剂; 抗肿瘤

中图分类号 R914 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2024)02-0257-13

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2024010801

引用本文 李学燕, 陈娜, 江程. 靶向 KRAS 蛋白抑制剂的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(2): 257–269.

Cite this article as: LI Xueyan, CHEN Na, JIANG Cheng. Research progress of KRAS inhibitors[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(2): 257–269.

### Research progress of KRAS inhibitors

LI Xueyan, CHEN Na, JIANG Cheng\*

School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

**Abstract** KRAS protein, a small GTPase encoded by the Kirsten rat sarcoma viral oncogene homologue (*KRAS*) gene, is involved in cell proliferation, differentiation, migration and cell survival, and is known as a regulatory switch for the cell life cycle. However, *KRAS* gene is prone to mutation, leading to hyperactivation of its downstream signaling pathways, and has a vital role in driving tumorigenesis. KRAS mutations predominantly take place at residue G12, G13 or Q61, and different mutants have varying effects on protein physiological functions and tumor types. Due to its smooth surface and high affinity for nucleotides, KRAS had been considered to be “undruggable” until the launch of selective KRAS G12C inhibitors sotorasib and adagrasib, which broke the dogma. This review introduces the structure and functions of KRAS, as well as the status and progress of inhibitors directly targeting KRAS mutants (G12C, G12D, G12R, G12S) and pan-KRAS inhibitors, aiming to provide some insightful reference for the development of KRAS inhibitors.

**Key words** RAS; KRAS; KRAS inhibitors; antitumor

大鼠肉瘤病毒癌基因 (rat sarcoma viral oncogene homolog, *RAS*) 是人体的原癌基因, 也是第 1 个被发现的致癌基因, 包括神经母细胞瘤大鼠肉瘤病毒致癌基因 (neuroblastoma rat sarcoma viral oncogene,

*NRAS*)、哈维鼠肉瘤病毒致癌基因 (Harvey rat sarcoma viral oncogene, *HRAS*) 和克里斯汀鼠肉瘤病毒癌基因 (Kirsten rat sarcoma viral oncogene, *KRAS*) 3 种亚型。*RAS* 基因突变是导致癌症发生与发展的

重要因素<sup>[1]</sup>。据统计,全球约 30% 的癌症病例与 *RAS* 基因突变有关,其中 *KRAS* 突变导致的癌症占所有 *RAS* 突变的 85%,在胰腺癌(90%)、结直肠癌(30%~50%)、非小细胞肺癌(15%~20%)等致命癌症中普遍存在<sup>[2-3]</sup>。*KRAS* 蛋白包括 *KRAS*-4A 和 *KRAS*-4B 两种亚型,分别由 189 和 188 个氨基酸残基构成。这两种亚型由同一个基因编码,但由于选择性剪切产生不同的 C 端膜靶向序列。*KRAS*-4B 亚型是人类基因转录组的主要产物,是目前临床研究和探索的热门靶点<sup>[1-3]</sup>。常见的 *KRAS* 突变位点包括 G12(83%)、G13(14%)、Q61(2%),主要突变类型有 G12D(33%)、G12V(23%)、G12C(11%) 和 G13D(12%)<sup>[4-5]</sup>。目前处于临床阶段的 *KRAS* 抑制剂主要是 G12 突变抑制剂与泛 *KRAS* 抑制剂。

## 1 *KRAS* 蛋白的结构特征

*KRAS* 蛋白由 188 个氨基酸组成,包含 5 条  $\alpha$

螺旋链和 6 条  $\beta$  折叠链(图 1),其结构功能域可划分为 N 端的 G 结构域(G domain, 1-166 氨基酸残基)和 C 端的高变区域(hypervariable region, HVR, 167~188 个氨基酸残基)<sup>[6]</sup>。G 结构域包括效应区和变构区,包含核苷酸结合位点以及效应蛋白和调节蛋白的结合位点。效应区包括 P 环(P-loop, 10~17 个氨基酸残基)、开关区域 I (Switch I, SWI, 30~38 个氨基酸残基)、开关区域 II (Switch II, SWII, 60~76 个氨基酸残基),其中 SWI 区和 SWII 区在 *RAS* 亚型中具有保守性,是介导蛋白-蛋白相互作用的重要区域。变构区由 87~172 个氨基酸残基组成,在各种 *RAS* 亚型中具有 86% 的相似性,与蛋白构象分布状态和膜相互作用有关<sup>[1]</sup>。C 端的高变区域(167~188 个氨基酸残基)包含 CAAX(C, 半胱氨酸; A, 脂肪族; X, 任何氨基酸)序列,依赖多聚赖氨酸区域的静电相互作用实现膜定位<sup>[6-7]</sup>,还与 *KRAS* 蛋白二聚体的形成和信号转导有关<sup>[8]</sup>。

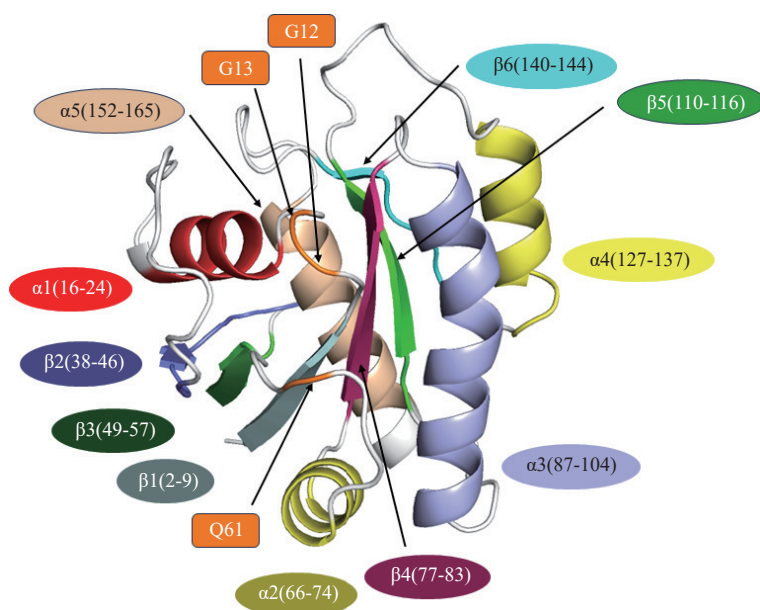


图 1 *KRAS* 蛋白的二级结构和常见突变位点

*KRAS* 蛋白与三磷酸鸟苷 (guanine triphosphate, GTP) / 二磷酸鸟苷 (guanosine 5'-diphosphate, GDP) 结合时会导致 SWI 和 SWII 发生构象变换<sup>[9]</sup>,当蛋白处于和 GTP 结合的活化状态时, T35 和 G60 与  $\gamma$ -磷酸形成氢键,此时 SWI 和 SWII 处于活性构象,若 GTP 被水解生成 GDP 则氢键断开, SWI 和 SWII 转变为非活性构象<sup>[7]</sup>。活化的 *KRAS* 蛋白则形成二聚体或者高价多聚体介导

下游信号通路, *KRAS* 突变蛋白会导致蛋白二聚体构象发生变化,错误的二聚体构象是驱动致癌信号传导的重要诱因<sup>[8]</sup>。

作为细胞信号通路中的关键分子开关, *KRAS* 蛋白与细胞生长、增殖和凋亡息息相关<sup>[10]</sup>。当受到生长因子、趋化因子、 $\text{Ca}^{2+}$  等刺激时<sup>[11]</sup>,法尼基化的 *KRAS* 蛋白由细胞膜被转运到内质网,由与 GDP 结合的非活性状态(*KRAS*-GDP)转化成与 GTP 结合

的活性状态(KRAS-GTP), 这种核苷酸转换过程受鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEF)和 GTP 酶活化蛋白(GTPase-activating proteins, GAP)的调节。当正常 KRAS 蛋白被激活时, GEF 促进 GDP 的释放以及 GTP 进入蛋白形成 KRAS-GTP; 而 GAP 则是催化 GTP 水解、加强蛋白内在 GTP 酶活性, 从而使蛋白转化为 KRAS-GDP<sup>[5]</sup>。蛋白被活化后, 会导致二聚体或者高价多聚体的形成, 从而与下游信号因子结合, 将细胞外生长因子和细胞内级联信号联系起来, 发挥对细胞周期的调控作用<sup>[12-13]</sup>。

## 2 KRAS 蛋白的信号通路及临床意义

KRAS 蛋白主要有 4 条下游通路: (1)RAS/RAF/MAPK 通路——这是 KRAS 信号通路中最经典的下游通路, 通过招募并激活 RAF 蛋白激酶(RAF protein kinase, RAF), 促进丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)磷酸化, 从而参与细胞的增殖、分化和迁移<sup>[6,14]</sup>。(2)PI3K/AKT/mTOR 信号通路——KRAS 蛋白通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)从而促进蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)的活化, 活化的 AKT 进一步调控细胞增殖、分化、代谢以及蛋白合成和转录, 抑制细胞凋亡。此外, 该通路还与肿瘤抗性产生息息相关<sup>[6]</sup>。(3)RAS/RASSF 通路——RAS 关联域家族蛋白(RAS association domain family, RASSF)能够诱导细胞凋亡和抑制 AKT 信号通路, 然而在人类肿瘤细胞中, RASSF 蛋白表达大量减少<sup>[15]</sup>。(4)RAL 鸟嘌呤核苷酸解离刺激剂(RAL guanine nucleotide dissociation stimulator, RAL-GDS)信号通路——主要调节细胞骨架形成、内吞作用和细胞膜形成等细胞行为。此外, KRAS 蛋白对细胞分泌、肌肉收缩、人造血功能和胚胎发育等生理活动也有一定的调节作用。总而言之, KRAS 蛋白对多种信号通路均有一定的调节作用, 与多种生命活动密切相关<sup>[6,16]</sup>。

KRAS 蛋白在多种器官中均存在表达<sup>[2]</sup>, 其在人体细胞中发挥生理作用主要依赖于 GTP/GDP 结合<sup>[17]</sup>。KRAS 蛋白具有内在 GTP 酶活性, 在正常生理状态下处于和 GDP 结合的非活性状态, 当被激活时则转变为和 GTP 结合的活性状态。但是在肿瘤疾病中, KRAS 蛋白由于发生突变, 核苷酸转换过

程难以正常进行<sup>[18-19]</sup>。KRAS 蛋白有多种致癌突变体, 突变位点主要集中在 G12、G13 和 Q61<sup>[19]</sup>, 不同的突变体会导致特异性局部变化和生物学功能机制。如 G12 突变通过调控下游通路增强肿瘤细胞侵袭性, G13 突变则导致蛋白转化能力降低, Q61 突变则影响 KRAS 蛋白的激活机制<sup>[11]</sup>。

KRAS 突变体在多种癌症疾病中均被检测到, 其中 G12 突变存在于 89% 的癌症病例中, 包括肺癌、结直肠癌和胰腺癌等常见癌症<sup>[20-21]</sup>。KRAS G12 突变包括 G12D、G12V、G12C、G12A、G12S 和 G12R 6 种常见突变类型<sup>[5]</sup>, 而不同的突变体所导致的主要肿瘤类型具有差异性, 如 KRAS G12D 和 KRAS G12V 是结直肠癌和胰腺癌的主要突变类型, KRAS G12C 和 KRAS G12V 是肺癌中的主要突变类型<sup>[20]</sup>。因此靶向 KRAS G12 突变体是治疗多种癌症疾病的有效策略, 对癌症疾病的治疗具有重要意义。

## 3 靶向 KRAS 蛋白小分子抑制剂

KRAS 蛋白由于其结构功能特征一度被认为是“不可成药”靶点。一方面, KRAS 蛋白与 GTP/GDP 具有较高亲和力(皮摩尔级), 且 GTP(>300 μmol/L)和 GDP(>30 μmol/L)在血液中具有较高的浓度; 另一方面, KRAS 蛋白具有结构复杂, 缺乏适宜药物结合口袋的特征<sup>[22]</sup>。曾经有大量研究聚焦靶向 KRAS 蛋白的下游信号因子或调节蛋白而希望阻断下游信号传导, 但目前仍无关于此类抑制剂应用于临床的报道<sup>[23]</sup>。直到特异性靶向 KRAS G12C 的共价抑制剂索托雷塞(sotorasib)和阿达格拉西布(adagrasib)的批准上市才打破 KRAS 蛋白“不可成药”的这一历史<sup>[23-24]</sup>。

目前关于靶向 KRAS 突变体的小分子抑制剂主要集中在 KRAS G12C、KRAS G12D 和泛 KRAS 抑制剂, 关于 KRAS G12R 和 KRAS G12S 的小分子抑制剂也有部分报道, 但能直接作用并特异性抑制 KRAS G12V 突变体活性较好的小分子药物却鲜有报道。研究发现, 有 4 个变构口袋可以用于设计靶向 KRAS 蛋白抑制剂: β-折叠链附近的口袋 P1, SWII 区域的口袋 P2(S-II), C 端的口袋 P3 和 SWI 区域附近的口袋 P4(S-I)(图 2)<sup>[9, 25-26]</sup>。靶向不同 KRAS 突变体的小分子抑制剂大多都是和 S-II 口袋结合, 结合于 S-I/S-II 口袋(P1 口袋)的多为泛 KRAS 抑制剂。



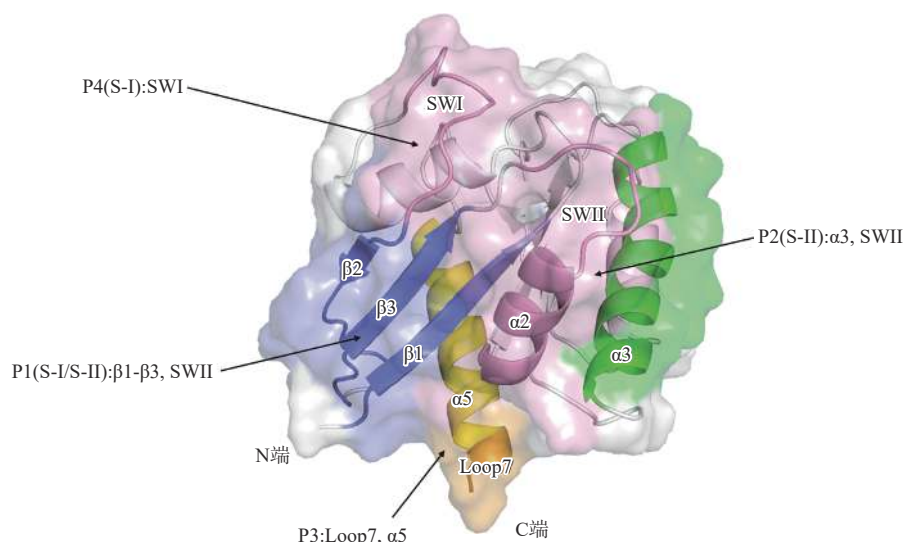


图2 KRAS 蛋白结构功能域

### 3.1 靶向 KRAS G12C 的小分子抑制剂

KRAS G12C 是 12 位甘氨酸(Gly)突变成半胱氨酸(Cys),在非小细胞肺癌中普遍存在。Cys 的巯基(-SH)具有强亲核性,因此靶向 KRAS G12C 的抑制剂主要通过引入亲电“弹头”与 Cys 的巯基发生迈克尔加成而形成共价结合,从而产生不可逆抑制作用<sup>[14]</sup>。

**3.1.1 苯胺类** 2013 年,研究者在通过二硫化物片段筛选获得的苯基硫醚衍生物的基础上,对这一系列化合物进行片段优化得到化合物 **1**(图 3)。该化合物是第 1 个被发现的可以和突变 C12 发生共价结合的不可逆小分子 KRAS G12C 抑制剂,其与 KRAS G12C 的药物结合口袋被定义为“S-II”口袋<sup>[27]</sup>。该药物结合口袋位于中心  $\beta$  折叠、 $\alpha 2$ -螺旋(SWII 区域)和  $\alpha 3$ -螺旋之间,且只有在和 GDP 结合的状态下,该变构口袋才能被监测到<sup>[28-29]</sup>。化合物 **1** 的共价结合依赖于丙烯酰胺结构和 Cys 的巯基(-SH)形成共价键,将 KRAS 蛋白锁定在非活性状态,从而阻断下游信号的传递<sup>[27]</sup>。基于和突变 C12 的巯基发生不可逆共价结合、S-II 口袋的发现,一系列 KRAS G12C 不可逆共价抑制剂被发现并进入临床研究阶段。

通过对化合物 **1** 进行结构改造,调整丙烯酰胺基团和 C12 巯基形成共价键的距离,获得了 ARS-853(**2**)。与化合物 **1** 相比,ARS-853 在细胞水平上(H-358, A549 等)选择性作用于 KRAS G12C,并抑制 MAPK 和 PI3K 信号通路,IC<sub>50</sub> 为 2  $\mu$ mol/L。此外,ARS-853 对其他类型突变体无抑制作用,具有

较高的选择性<sup>[28]</sup>。然而该化合物缺乏令人信服的体内效应实验和体内直接靶向 KRAS G12C 突变体的有力数据和作用机制。

**3.1.2 [6+6] 稠合双环类** ARS-1620(**3**)是基于 ARS-853 进行结构改造和优化获得的共价抑制剂,是第 1 个被证明在体内直接靶向 KRAS G12C 发挥抗肿瘤增殖活性的小分子抑制剂,弥补了 ARS-853 药代动力学性质的不足和体内实验数据的缺乏。该化合物特异性作用于 KRAS G12C 的 S-II 口袋,与野生型 KRAS 蛋白不发生相互作用<sup>[29]</sup>。而这种选择性主要取决于氟苯酚结构的取向,喹唑啉母核和氟苯酚结构的取向位置确定了化合物的活性构型(S-构型)。该种状态下酚羟基与溶剂化区域的水分子形成氢键,而氟原子占据一个疏水区域,与 D69 和 H95 产生相互作用(图 4)<sup>[29]</sup>。其体内抗肿瘤活性则通过使用携带 KRAS G12C 的皮下异种移植模型验证,结果表明,ARS-1620 能够直接特异性靶向 KRAS G12C 突变体(200 mg/kg),减少其活性形式,抑制下游信号通路<sup>[29]</sup>。基于 ARS-1620 结构改造与优化得到 ARS-3248(**4**, NCT04006301)和 LY3499446(**5**, NCT04165031),前者由于骨骼肌毒性和疗效不明确被终止,LY3499446 由于毒性作用(未见明确指出)终止了 I 期临床<sup>[30-31]</sup>。这一发现证明了体内直接靶向 KRAS G12C 的可行性,对于靶向 KRAS 共价抑制剂的开发具有里程碑意义。

在此基础上,将喹唑啉母核替换为吡啶并嘧啶酮结构,并对侧链进行进一步优化,2019 年索托雷塞(**6**, AMG510, sotorasib)被报道能够选择性靶向

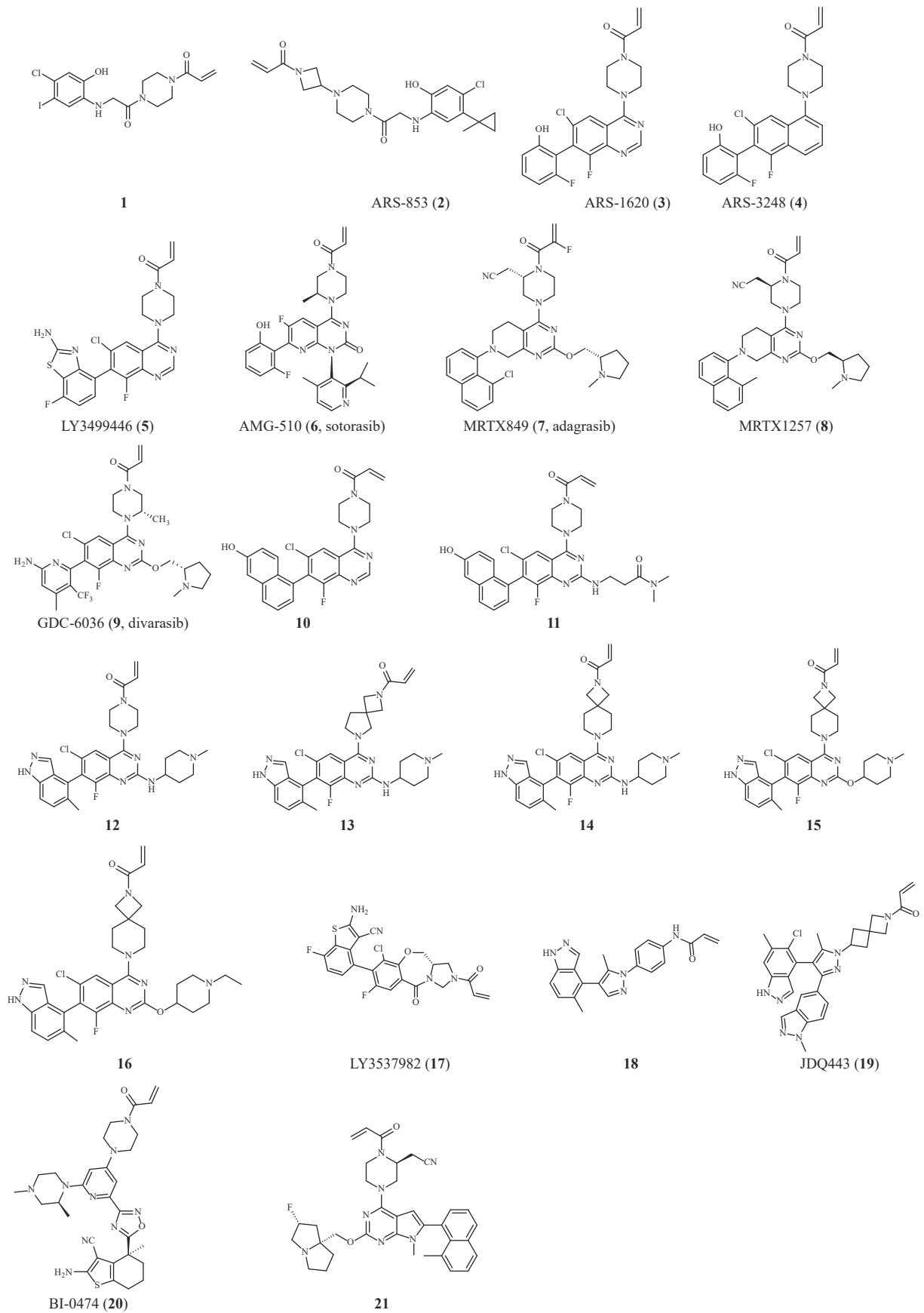


图 3 部分 KRAS G12C 抑制剂的化学结构

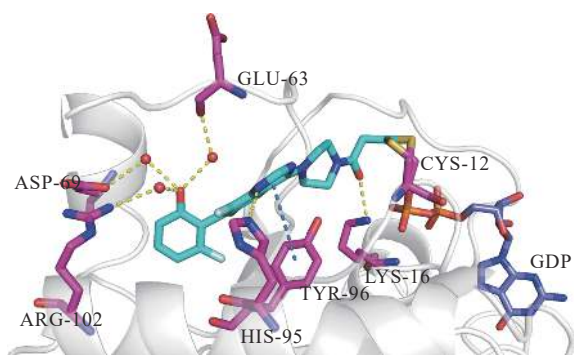


图 4 ARS-1620 与 KRAS G12C 的结合模式图

KRAS G12C 肿瘤细胞, 通过作用于 KRAS G12C-GDP ( $IC_{50}=0.09 \mu\text{mol/L}$ ), 提高化疗和抗肿瘤药物的疗效, 于 2021 年被 FDA 批准为首个口服 KRAS G12C 抑制剂, 用于治疗非小细胞肺癌<sup>[6]</sup>。通过分析其结合模式图(图 5)发现, H95 的空间取向导致了凹型表面的形成, 索托雷塞的侧链吡啶结构与该凹型表面形成空间构象上的匹配, 丙烯酰胺结构与 C12 的巯基发生共价结合, 喹啉酮母核结构占据 S-II 口袋, 进而增强了和 S-II 口袋的结合程度<sup>[32]</sup>。将喹啉母核结构中的苯环替换为二氢吡啶环, 得到一系列四氢吡啶并嘧啶类结构的化合物, 并进行药代动力学性质的优化得到的另一种口服 KRAS G12C 共价抑制剂阿达格拉西布(7, MRTX849, adagrasib), 阿达格拉西布与索托雷塞具有相同的作用机制, 同样被 FDA 批准用于治疗非小细胞肺癌<sup>[33-34]</sup>。

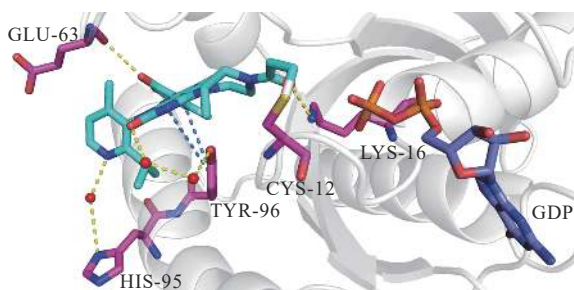


图 5 索托雷塞与 KRAS G12C 的结合模式图

MRTX1257(8)是阿达格拉西布的类似物, 也是一种有效的 KRAS G12C 小分子抑制剂<sup>[33]</sup>。在最近的研究中显示, 口服 MRTX1257 对携带 KRAS G12C 突变体的 CT26 细胞系表现为放射增敏, 在 BALB/c 小鼠的体内观察到放疗的肿瘤治愈率为 20%<sup>[35]</sup>。另一小分子抑制剂 divarasib(9, GDC-6036, NCT04449874)以喹啉为母核, 保留阿达格拉西布的 C2 位结构, 并引入吡啶环, 是一种高活性、高

选择性 KRAS G12C 共价抑制剂<sup>[36]</sup>。根据美国癌症研究协会公布的研究数据, divarasib 抑制 KRAS G12C 突变体与 SOS1 结合的  $IC_{50}$  为  $0.0029 \text{ nmol/L}$ , 对 KRAS G12C 突变细胞的选择性超过 16000 倍。I 期临床试验报告显示, 在 137 例肿瘤患者中(60 例非小细胞肺癌患者, 55 例结直肠癌患者, 22 例其他实体瘤患者), 口服 GDC-6036 无剂量限制毒性效应或相关死亡报告, 对 KRAS G12C 肿瘤产生持久临床反应<sup>[37]</sup>。

除了基于 ARS-1620 进行改造的策略, 通过在喹啉母核的 2,4,7 位引入取代基获得的一系列化合物同样对 KRAS G12C 具有高效力和高选择性。如在喹啉类结构中的 C7 位引入萘酚基团获得化合物 10, 进而在化合物 10 的 C2 位引入不同的胺类取代基得到化合物 11, 引入的胺类取代基和萘酚结构分别提高了化合物和靶标蛋白 H95 与 D69 的相互作用力, 实现在微摩尔级下抑制细胞增殖<sup>[38]</sup>。另一方面, 亲电弹头丙烯酰胺结构和突变 C12 之间的距离也是影响化合物选择性和活性的重要因素。为了进一步提高对 KRAS G12C 的抑制活性, 以 12 ( $IC_{50}=0.47 \mu\text{mol/L}$ ) 为先导化合物将哌嗪基团替换为不同的螺环结构获得 13 ( $IC_{50}=0.16 \mu\text{mol/L}$ ) 和 14 ( $IC_{50}=0.35 \mu\text{mol/L}$ ), 显著提高了对 KRAS G12C 的抑制活性。接着对 C2 位取代基进行优化, 以 O 原子作为连接以及不同的烷氧基取代基得到最优化合物 15 ( $IC_{50}=0.07 \mu\text{mol/L}$ ) 和 16 ( $IC_{50}=0.077 \mu\text{mol/L}$ ) 并表现出良好的代谢稳定性<sup>[39]</sup>。

3.1.3 稠合多环类 LY3537982(17)是具有稠合多环结构的新型强效 KRAS G12C 共价抑制剂, 对 KRAS G12C 的抑制能力较索托雷塞和阿达格拉西布分别提高了约 14 和 26 倍 ( $IC_{50}=3.35 \text{ nmol/L}$ ), 对细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 磷酸化的抑制能力较索托雷塞和阿达格拉西布提高了约 20 倍 ( $IC_{50}=0.65 \text{ nmol/L}$ )。LY3537982 于 2021 年进入 I 期临床试验 (NCT04956640)<sup>[40]</sup>。

3.1.4 五元芳环类 虽然目前已经有 KRAS G12C 共价抑制剂批准上市, 但是公开的研究数据表明患者表现为获得性耐药性, 因此仍需要探索结构新颖强效抗肿瘤药。采用药物拼合原理, 研究者以吡啶片段为骨架结构、苯基丙烯酰胺为亲电弹头, 二甲基吡啶为连接基团, 得到化合物 18。基于降低亲电

弹头活性从而避免与其他 Cys 发生相互作用, 以螺环氮杂环丁烷部分代替苯胺结构, 并进行进一步结构优化获得 JDQ443 (**19**, NCT05445843), 目前处于 III 期临床试验阶段<sup>[41-42]</sup>。

通过分析 JDQ443 与 KRAS G12C 突变体的结合模式图发现, 氯甲基吡唑片段与 D69 和 S65 形成氢键同时占据 V103, I100, M72 和 Q99 形成的疏水区域, 刚性螺环片段保证亲电弹头朝向 C12; 酰胺羰基与 K16 形成氢键并通过水桥与 Mg<sup>2+</sup> 和 GDP 磷酸基团发生相互作用; 引入的甲基吡唑与 E63-Y64 形成堆叠相互作用, 并与 Q99 相接触, 这种独特的相互作用进一步保证了 JDQ443 结合于 S-II 口袋<sup>[43]</sup>。抗肿瘤活性测试结果显示, JDQ443 不仅抑制 KRAS G12C 肿瘤细胞增殖, 还对携带双突变 (KRAS G12C/H95R/Q/D) 的 Ba/F3 的细胞表现出抗增殖活性, 展示出了不同于阿达格拉西布的抗肿瘤活性<sup>[41-42]</sup>。

采用基于片段的筛选手段, 发现了与 S-II 区域发生相互作用而不与 S-I 区域产生相互作用的优势片段四氢苯并噻吩结构, 接着引入经过优化的丙烯酰胺弹头得到 BI-0474 (**20**)<sup>[44]</sup>, 其抑制 KRAS G12C 的 IC<sub>50</sub> 为 26 nmol/L。不同于前述 KRAS G12C 共价抑制剂由萘酚或苯酚类结构占据疏水口袋, BI-0474 的四氢苯并噻吩的环己烷结构占据了由 V9, M72, F78, V103 和 I100 构成的亲脂性口袋。此外, 该结构的氨基与 D69 和 E63 形成氢键, 氰基与 E63 以及结合水发生相互作用, 目前已经进入 I 期临床试验(NCT04973163)<sup>[44]</sup>。

**3.1.5 吡咯并嘧啶类** 基于索托雷塞和阿达格拉西布与 KRAS G12C 的结合模式, 一系列以吡咯并 [2,3-d] 嘧啶为母核的化合物被报道, 并证明合适的空间构象约束是与靶标蛋白正确结合的重要因素。在这一系列化合物中, 化合物 **21** 具有最优抑制活性, 对携带 KRAS G12C (IC<sub>50</sub>=0.16 μmol/L) 和 KRAS G12C/Y96D 双突变的 H358 细胞均表现出抗增殖活性<sup>[45]</sup>。该母核结构与 K16, H95, E62 和 M72 形成氢键, 8-甲基萘与 K88 形成阳离子-π 相互作用, 8 位甲基的引入限制了母核与萘结构的相对空间位置从而使得化合物处于合适的空间构象<sup>[45]</sup>。

### 3.2 靶向 KRAS G12D 的小分子抑制剂

KRAS G12D 是蛋白中的 12 位甘氨酸 (Gly) 突变为天冬氨酸 (Asp)。与 Gly 相比, Asp 具有酸性基团羧基 (-COOH)。KRAS G12C 抑制剂的批准上市为靶向其他 KRAS 突变体提供了新的思路和方法——依赖反应活性弹头与突变的 12 位氨基酸发生结合<sup>[46]</sup>。但是 KRAS G12D 突变体的 Asp (pK<sub>a</sub>=3.71) 在生理状态下表现为弱亲核性, 且 KRAS G12D 突变体的 GTP 水解速率仅为 KRAS G12C 突变体水解速率的 33%~50%<sup>[47]</sup>。经过一系列的研究发现, 通过在小分子抑制剂中引入碱性基团, 与 Asp 的羧基形成盐桥是选择性靶向 KRAS G12D 突变体的有效策略, 盐桥的形成既保证了牢固的结合作用也使这种相互作用具有可逆性。

**3.2.1 吡啶并嘧啶类** 以索托雷塞的结构为基础, 将原先结构中的丙烯酰胺结构替换为含桥环的哌嗪基团, 获得了 MRTX1133 (**22**, 图 6)。MRTX1133

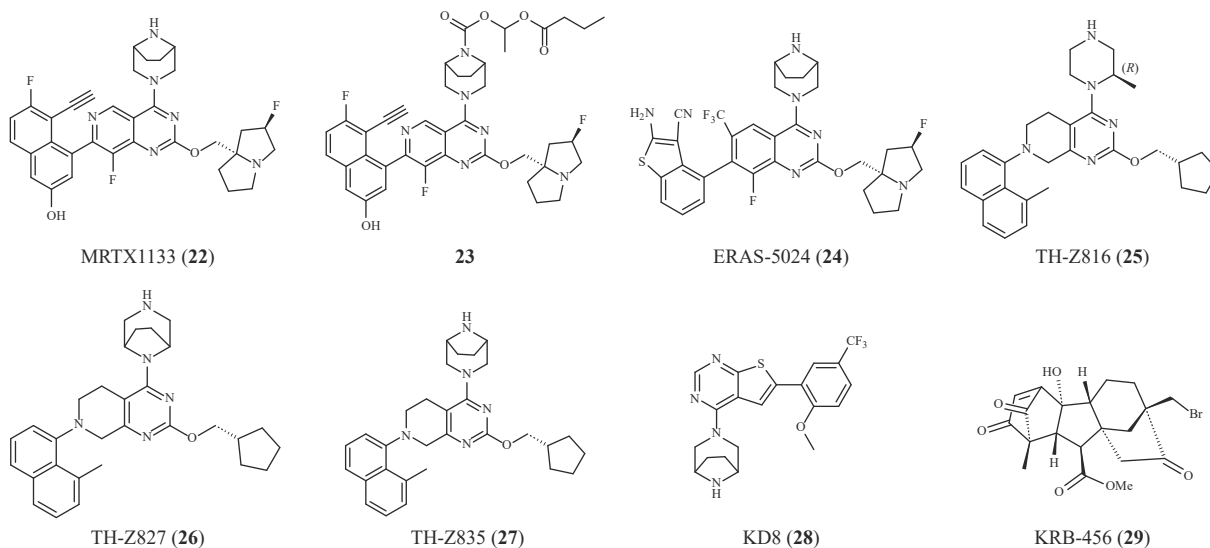


图 6 部分 KRAS G12D 抑制剂的化学结构



对 KRAS G12D 突变蛋白的亲合力为 0.2 pmol/L, 对野生型 KRAS 蛋白没有抑制作用<sup>[48]</sup>。不同于靶向 KRAS G12C 的作用机制, MRTX1133 的碱性环与 D12 形成盐桥, 萘环上的氟原子占据了由 V9、T58、F78、M72、Y96 和 I100 形成的疏水口袋, 萘环上的炔基质子通过保守水分子与 T58 和 G10 形成氢键网络, 从而桥接 S-II 口袋的亲脂性区域和极性区域<sup>[48]</sup>。

化合物中过多的氢键供体存在常被认为不利于药物的胃肠道吸收, 而 MRTX1133 存在炔基和仲胺两个氢键供体区域, 小鼠经口服给药表现胃肠吸收差和口服生物利用度低(0.5%)。将 MRTX1133 制备成前药, 获得的化合物 **23** 显著提高了口服生物利用度, 并对携带 KRAS G12D 突变体的异种移植小鼠肿瘤模型表现抗肿瘤活性<sup>[49]</sup>。

与此同时, 基于优化喹唑啉母核 C7 位取代基得到 ERAS-5024(**24**)同样被发现作用于 KRAS G12D 的 S-II 口袋。与 MRTX1133 相比, ERAS-5024 的氰基结构与 E63 形成了新的氢键相互作用。细胞生化活性试验表明, ERAS-5024 对 AsPC-1 细胞系 ERK 磷酸化有较强的抑制作用( $IC_{50}=2.1$  nmol/L), 体外 3D CTG(AsPC-1 细胞系)测试证明 ERAS-5024 的效力是 MRTX1133 的 3 倍,  $IC_{50}$  分别为 3.5 和 11.0 nmol/L, 在体内也表现出优于 MRTX1133 的抑制活性, 并且在小鼠模型中未出现耐药性<sup>[50]</sup>。

**3.2.2 四氢吡啶并嘧啶类** 参考阿达格拉西布的四氢吡啶并嘧啶母核结构, 化合物 TH-Z816(**25**)被报道出来, 其结构与 12 位 Asp 结合的基团为取代哌嗪, 这与 MRTX1133 高度相似。细胞生化实验表明 TH-Z816 表现出一定的抗肿瘤增殖活性( $IC_{50}=14$   $\mu$ mol/L), 与 KRAS G12D-GDP 的亲合力为 25.8  $\mu$ mol/L<sup>[51]</sup>。通过对 TH-Z816 进行优化, 利用环化策略得到化合物 TH-Z827(**26**)( $IC_{50}=3.1$   $\mu$ mol/L)和 TH-Z835(**27**)( $IC_{50}=1.6$   $\mu$ mol/L)。研究发现, 化合物中引入双环结构比哌嗪结构表现出更高的亲合力和抑制效力。通过评价这两个化合物对 KRAS G12D 突变体的选择性和 KRAS-CARF 的抑制能力, TH-Z835 和 TH-Z827 均表现出较高的选择性和较强的抑制能力, 其中 TH-Z835 比 TH-Z827 更有效。然而这一系列化合物也会抑制一些非 KRAS 小 GTP 酶活性蛋白从而产生脱靶效应<sup>[51]</sup>。

**3.2.3 噻吩并嘧啶类** 通过对自构建的哌嗪文库进行虚拟筛选, 并基于 KRAS G12C 抑制剂的喹唑啉母核进行生物等取代获得一系列新型噻吩并[2,3-d]嘧啶类似物, 其中 KD8(**28**)对携带 KRAS G12D 细胞具有较高的选择性和低微摩尔抑制活性。抗肿瘤活性研究显示, KD8 对携带 KRAS G12D 肿瘤细胞(Panc1、SW1990 和 CT26)的  $IC_{50}$  为 2.1  $\mu$ mol/L, 对 KRAS G12D 突变体表现出较强的亲合力( $K_D=33$  nmol/L)。与前述抑制剂类似, KD8 同样是基于哌嗪结构和 D12 形成盐桥, 作用于 S-II 变构口袋<sup>[52]</sup>。

**3.2.4 其他 KRAS G12D 抑制剂** KRB-456(**29**)是一种基于天然产物库开发的新型靶向 KRAS G12D 的小分子抑制剂, 不仅对携带 KRAS G12D 的肿瘤细胞具有抑制作用, 对携带 KRAS G12V 的肿瘤细胞也表现出显著抑制作用<sup>[53]</sup>。不同于前述 KRAS G12D 小分子抑制剂结合于 S-II 口袋, KRB-456 结合于 KRAS G12D-GDP 的 S-I/S-II 区域内的一个动态变构口袋形成范德华力和氢键相互作用, 从而阻断其与 RAF1 的相互作用。体内实验显示, 低剂量的 KRB-456 对携带 KRAS G12D 和 KRAS G12V 突变的胰腺癌病人源肿瘤模型表现出显著抑制作用<sup>[53]</sup>。KRB-456 的发现为克服抗癌药物化疗和放疗耐药性问题提供了新线索, 同时也为靶向 KRAS G12V 小分子抑制剂的研究提供了新思路和方法<sup>[53]</sup>。

### 3.3 靶向 KRAS G12R 的小分子抑制剂

KRAS G12R 是 KRAS 蛋白中的 12 位甘氨酸(Gly)突变为精氨酸(Arg), 该突变占所有 KRAS 突变类型的 4%, 多发于胰腺导管腺癌中(17%)和睾丸胶质瘤(80%)中<sup>[54-56]</sup>。虽然关于靶向 KRAS G12C 的共价抑制剂已经取得突破性的进展, 但是由于 R12 的亲核性远远低于 C12, 因此目前关于靶向 KRAS G12R 共价抑制剂的开发仍然处于探索阶段。

研究发现, 将  $\alpha$ 、 $\beta$ -二乙酰氨基配体作为 R12 特异性共价亲电弹头, 设计合成的化合物 **30**(图 7)和化合物 **31** 作用于 KRAS G12R 的 S-II 口袋, 且和 R12 的  $\epsilon$ -和  $\eta$ -N 形成咪唑缩合产物<sup>[57]</sup>。由于该反应具有 pH 依赖性、 $\eta$ -N 亲核加成的立体选择性以及  $\alpha$ 、 $\beta$ -二乙酰氨基配体和精氨酸作用的独特反应性, 化合物 **30** 和化合物 **31** 对 KRAS G12R 具有高度选择性, 与野生型 KRAS 蛋白以及其他 KRAS 突变体不形成咪唑缩合产物。然而, 在细胞水平的



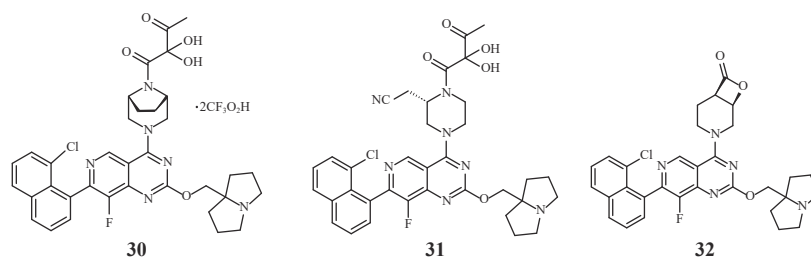


图 7 部分 KRAS G12R 和 KRAS G12S 抑制剂的化学结构

活性测试中, 化合物 **30** 与 **31** 未显示出明显抑制活性<sup>[57]</sup>。原因是化合物 **30** 与 **31** 是和 KRAS G12R-GDP 形成共价加和物, 不能和 KRAS G12R-GTP 形成共价加和物, 而 KRAS G12R 突变体主要以 KRAS G12R-GTP 的形式存在<sup>[20]</sup>。

### 3.4 靶向 G12S 的小分子抑制剂

KRAS G12S 是 KRAS 蛋白中的 12 位甘氨酸 (Gly) 突变为丝氨酸 (Ser), 该突变占有 KRAS 突变的 4.4%, 存在于 1.84% 的结直肠癌患者中, 0.5% 的肺癌患者中<sup>[56, 58]</sup>。由于丝氨酸具有弱亲核性, 研究者受靶向苏氨酸天然产物家族含有的四元  $\beta$ -内酯结构的启发, 在阿达格拉西布的母核结构中引入四元  $\beta$ -内酯结构, 设计合成了一系列化合物并进行优化得到化合物 **32**。通过作用于 KRAS G12S 突变体的 S-II 口袋, 化合物 **32** 与 KRAS G12S-GDP 形成共价加和物, 发挥抗肿瘤细胞增殖的作用, 其  $IC_{50}$  为  $2.4 \mu\text{mol/L}$ <sup>[59]</sup>。利用  $\beta$ -内酯结构靶向弱亲核性氨基酸 (如 Ser) 为靶向其他 KRAS 突变体提供了新的思路和方法<sup>[56]</sup>。

### 3.5 泛 KRAS 抑制剂

#### 3.5.1 咪唑类 S-I/S-II (P1 口袋) 区域在所有 RAS 亚型的活性状态和非活性状态中都具有高度的保守性, 是和 GEF、GAP 以及下游效应蛋白结合的重要区域, 通过抑制蛋白-蛋白相互作用能够阻断 RAS 蛋白下游信号通路的传导和激活<sup>[60]</sup>。

采用基于片段的筛选方法发现 2-氨基咪唑片段对 KRAS 蛋白具有较高的亲和力, 在咪唑 3 位引入二氢异咪唑啉酮 (S-构型) 以及在 2-氨基部分引入大体积芳香取代基得到化合物 **33** ( $IC_{50} = 870 \text{ nmol/L}$ , 图 8)。然而大体积芳香取代基的引入使得化合物 **33** 具有较高的亲脂性。为了提高水溶性, 将化合物 **33** 的苯基片段替换为 *N*-甲基咪唑片段得到 BI-2852 (**34**)。与化合物 **33** 相比, BI-2852 的水溶性和抑制活性均得到改善 ( $IC_{50} = 490 \text{ nmol/L}$ )。BI-2852 通过作用于 S-I/S-II 口袋的 RAS 小分子抑制剂, 对 KRAS-GTP 和 KRAS-GDP 均有抑制作用。此外, 对于 NRAS-GDP 也表现出了弱亲和力。BI-2852 的发现证明了 S-I/S-II 的可药性以及

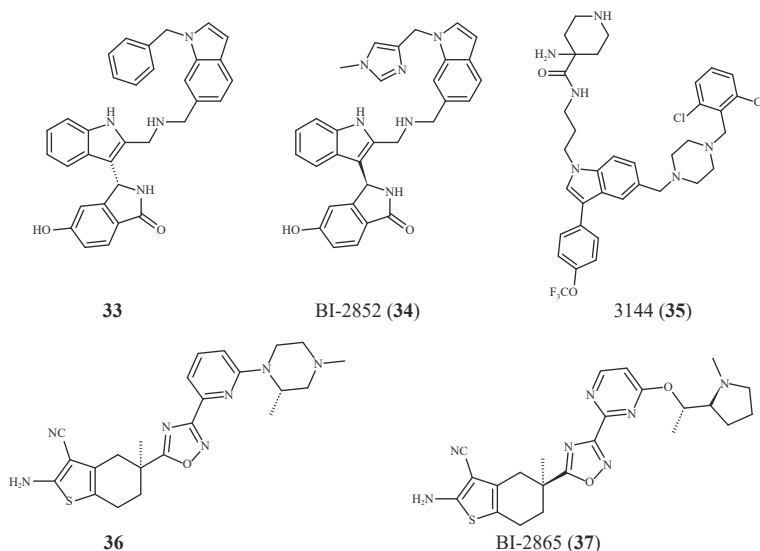


图 8 部分泛 KRAS 抑制剂的化学结构

获得选择性靶向不同 RAS 亚型的小分子抑制剂的可行性<sup>[60]</sup>。

通过分析 KRAS G12D 的结构特征,发现 D38、A59 和 Y32 附近是潜在作用位点,基于这几个潜在作用位点,筛选构建的小分子文库获得候选化合物。接着对候选化合物进行理化性质的预测和结构优化获得了泛 KRAS 抑制剂 3 144(35)<sup>[61]</sup>。化合物 35 通过和 RAS 蛋白 S-I /S-II 区域的 A59 产生相互作用,在微摩尔范围内具有较强的亲和力。在体内动物癌症模型中表现为抑制所有类型的 RAS 突变导致的肿瘤细胞信号传导和生长增殖( $IC_{50}=3.8 \mu\text{mol/L}$ ),并且在肝微粒体中有良好的代谢稳定性<sup>[61]</sup>。作为一种泛 KRAS 抑制剂,选择性差是其最明显的缺点,化合物 35 在体内和体外实验中均表现出了毒性和脱靶效应<sup>[61]</sup>。因此基于 S-I /S-II 区域的高度保守性,泛 KRAS 抑制剂需要进一步优化从而提高效力和特异性,降低毒性和脱靶问题。

**3.5.2 四氢苯并噻吩类** 为了获得有效的泛 KRAS 非共价抑制剂,将 BI-0474 的“共价弹头”部分去除,得到化合物 36。在化合物 36 结构基础上,将吡啶替换为噻吩结构并进行极性区修饰获得 BI-2865(37)。研究表明,BI-2865 能够结合于 S-II 区域并形成更加丰富的氢键网络,对 KRAS-GDP 有更高的亲和作用力( $K_D=6.9 \text{ nmol/L}$ )。BI-2865 不仅抑制野生型 KRAS 蛋白的激活,同时对 G12A/C/D/F/V/S、G13C/D、V14I、L19F、Q22K、D33E、Q61H、K117N 和 A146V/T 等多种 KRAS 突变体也表现出较强抑制活性和亲和力,对 HRAS 和 NRAS 则无明显抑制活性<sup>[62]</sup>。但是在野生型 KRAS 蛋白的细胞模型中,BI-2865 由于会导致 HRAS 和 NRAS 蛋白诱导的下游信号通路的激活,因此对野生型 KRAS 蛋白下游信号通路无明显抑制作用<sup>[62]</sup>。

BI-2865 对 KRAS 亚型的变构抑制主要依赖于 G 结构域的 K117-N85-P121/S122 相互作用网络,该区域的构象状态与核苷酸循环的动力学调节有关。如 HRAS 蛋白引入 KRAS 模拟取代物(Q95H/A121P/A122S),则该化合物表现出与抑制 KRAS 蛋白相同的活性,在这个 HRAS 蛋白中引入 N85A,则对该 HRAS 蛋白的抑制作用大幅度降低。因此基于不同亚型 RAS 蛋白 G 结构域氨基酸残基的差异性,有望实现选择性靶向不同的 RAS 蛋白亚型<sup>[62]</sup>。

## 4 总结与展望

大约 30% 的人类肿瘤疾病由 RAS 基因突变引起,在这所有病例中,约 85% 是由 KRAS 突变引起,因此靶向 KRAS 突变蛋白是肿瘤治疗的一种重要手段。但目前对于 KRAS G12D、KRAS G12V 等常见突变体的小分子抑制剂研究仍然面临重大挑战,且已获批药物随之而来的耐药性和脱靶毒性等问题也为小分子 KRAS 抑制剂的研究带来了新的困难。如靶向 KRAS G12C 小分子抑制剂由于丙烯酰胺对 KRAS G12C 具有较高的选择性,因此在临床应用过程中对其他二次突变类型无效从而产生耐药性。

最近的研究表明受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)和 SOS1/2 的代偿性激活是 KRAS G12C 产生抗性的重要原因,联合使用表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)抑制剂或 SHP2 抑制剂则能更有效的发挥抗肿瘤增殖作用,因此开发 KRAS 上下游信号因子的抑制剂能够从整体上提高抗肿瘤效果、避免耐药性问题<sup>[63]</sup>。另一方面,开发具有更新颖结构的小分子抑制剂和泛 KRAS 抑制剂同样为克服耐药性提供了方向和思路。而对于泛 KRAS 抑制剂需要提高其作用效力和选择性,避免 HRAS 和 NRAS 蛋白的激活对抑制剂的效力产生抵消作用<sup>[62]</sup>。

除了聚焦于靶向 KRAS 小分子抑制剂的研究,肽类 KRAS 抑制剂被发现通过干扰 KRAS 蛋白与下游效应蛋白的相互作用发挥抑制作用。如利用肽类抑制剂能够抑制 KRAS G12V 突变体和效应蛋白 RAF 的相互作用从而阻断下游信号通路的传导<sup>[64-65]</sup>;通过筛选作用于 KRAS G12D 突变体的 T7 噬菌体随机肽库得到的 KRpep-2 选择性作用于 KRAS G12D 突变体并抑制核苷酸转换过程( $IC_{50}=8.9 \text{ nmol/L}$ )<sup>[66]</sup>,随后基于对 KRpep-2 进行结构改造获得的 KS-58 是第 1 个在体内具有抗肿瘤活性的选择性 KRAS G12D 抑制剂<sup>[67]</sup>。然而对于肽类抑制剂的研究仍然处于临床前阶段,且大多数肽类抑制剂具有细胞穿透性差、易被降解和结合力弱等问题,因此对于肽类 KRAS 抑制剂仍然需要加强研究与探索<sup>[26]</sup>。总之,随着对 KRAS 蛋白不断的探索和研究,相信在未来能够获得更好疗效的 KRAS 抑制剂与最优药物组合应用于临床。

## References

- [1] Rhett JM, Khan I, O'Bryan JP. Biology, pathology, and therapeutic targeting of RAS[J]. *Adv Cancer Res*, 2020, **148**: 69-146.
- [2] Yoo BH, Khan IA, Koomson A, et al. Oncogenic ras-induced downregulation of atg12 is required for survival of malignant intestinal epithelial cells[J]. *Autophagy*, 2017, **14**(1): 134-151.
- [3] Cazzanelli G, Pereira F, Alves S, et al. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a model for understanding ras proteins and their role in human tumorigenesis[J]. *Cells*, 2018, **7**(2): 14.
- [4] Kulkarni AM, Kumar V, Parate S, et al. Identification of new KRAS G12D inhibitors through computer-aided drug discovery methods[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(3): 1309.
- [5] O'Bryan JP. Pharmacological targeting of RAS: recent success with direct inhibitors[J]. *Pharmacol Res*, 2019, **139**: 503-511.
- [6] Huang L, Guo Z, Wang F, et al. KRAS mutation: from undruggable to druggable in cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, **6**(1): 386.
- [7] Ostrem JML, Shokat KM. Direct small-molecule inhibitors of KRAS: from structural insights to mechanism-based design[J]. *Nat Rev Drug Discovery*, 2016, **15**(11): 771-785.
- [8] Nan X, Tamgüney TM, Collisson EA, et al. RAS-GTP dimers activate the mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(26): 7996-8001.
- [9] Haider K, Sharma A, Yar MS, et al. Novel approaches for the development of direct KRAS inhibitors: structural insights and drug design[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2022, **17**(3): 247-257.
- [10] Gao L, Shen W. Light at the end of the tunnel: clinical features and therapeutic prospects of KRAS mutant subtypes in non-small-cell lung cancer[J]. *Front Genet*, 2022, **13**: 890247.
- [11] Ferreira A, Pereira F, Reis C, et al. Crucial role of oncogenic KRAS mutations in apoptosis and autophagy regulation: therapeutic implications[J]. *Cells*, 2022, **11**(14): 2183.
- [12] Lu H, Martí J. Predicting the conformational variability of oncogenic GTP-bound G12D mutated KRAS-4B proteins at zwitterionic model cell membranes[J]. *Nanoscale*, 2022, **14**(8): 3148-3158.
- [13] Lee KY, Enomoto M, Gebregiworgis T, et al. Oncogenic KRAS G12D mutation promotes dimerization through a second, phosphatidylserine-dependent interface: a model for KRAS oligomerization[J]. *Chem Sci*, 2021, **12**(38): 12827-12837.
- [14] Zhu C, Guan X, Zhang X, et al. Targeting KRAS mutant cancers: from druggable therapy to drug resistance[J]. *Mol Cancer*, 2022, **21**(1): 159.
- [15] Zinatizadeh MR, Momeni SA, Zarandi PK, et al. The role and function of RAS-association domain family in cancer: a review[J]. *Genes Dis*, 2019, **6**(4): 378-384.
- [16] Damnemsawad A, Kong G, Wen Z, et al. KRAS is required for adult hematopoiesis[J]. *Stem Cells*, 2016, **34**(7): 1859-1871.
- [17] Abdelkarim H, Leschinsky N, Jang H, et al. The dynamic nature of the K-RAS/calmodulin complex can be altered by oncogenic mutations[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2021, **71**: 164-170.
- [18] Zdanov S, Mandapathil M, Abu Eid R, et al. Mutant KRAS conversion of conventional T cells into regulatory T cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, **4**(4): 354-365.
- [19] Prior IA, Hood FE, Hartley JL. The frequency of RAS mutations in cancer[J]. *Cancer Res*, 2020, **80**(14): 2969-2974.
- [20] Hunter JC, Manandhar A, CarRASco MA, et al. Biochemical and structural analysis of common cancer-associated KRAS mutations[J]. *Mol Cancer Res*, 2015, **13**(9): 1325-1335.
- [21] Vatanserver S, Erman B, Gümüş ZH. Oncogenic G12D mutation alters local conformations and dynamics of K-RAS[J]. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 11730.
- [22] Gray JL, von Delft F, Brennan PE. Targeting the small GTPase superfamily through their regulatory proteins[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2020, **59**(16): 6342-6366.
- [23] Désage A-L, Léonce C, Swalduz A, et al. Targeting KRAS mutant in non-small cell lung cancer: Novel insights into therapeutic strategies[J]. *Front Oncol*, 2022, **12**: 796832.
- [24] Lam KK, Wong SH, Cheah PY. Targeting the 'undruggable' driver protein, KRAS, in epithelial cancers: Current perspective[J]. *Cells*, 2023, **12**(4): 631.
- [25] Prakash P, Hancock JF, Gorfe AA. Binding hotspots on K-RAS: Consensus ligand binding sites and other reactive regions from probe-based molecular dynamics analysis[J]. *Proteins*, 2015, **83**(5): 898-909.
- [26] McCarthy M, Prakash P, Gorfe AA. Computational allosteric ligand binding site identification on RAS proteins[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2016, **48**(1): 3-10.
- [27] Ostrem JM, Peters U, Sos ML, et al. K-RAS(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions[J]. *Nature*, 2013, **503**(7477): 548-551.
- [28] Patricelli MP, Janes MR, Li LS, et al. Selective inhibition of oncogenic KRAS output with small molecules targeting the inactive state[J]. *Cancer Discov*, 2016, **6**(3): 316-329.
- [29] Janes MR, Zhang J, Li LS, et al. Targeting KRAS mutant cancers with a covalent G12C-specific inhibitor[J]. *Cell*, 2018, **172**(3): 578-589. e517.
- [30] Wang J, Martin-Romano P, Cassier P, et al. Phase I study of JNJ-74699157 in patients with advanced solid tumors harboring the KRAS G12C mutation[J]. *The Oncologist*, 2022, **27**(7): 536-e553.
- [31] Erlanson DA, Webster KR. Targeting mutant KRAS[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2021, **62**: 101-108.
- [32] Canon J, Rex K, Saiki AY, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2019, **575**(7781): 217-223.



- [33] Fell JB, Fischer JP, Baer BR, *et al.* Identification of the clinical development candidate MRTX849, a covalent KRASG12C inhibitor for the treatment of cancer[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(13): 6679-6693.
- [34] Wang H, Chi L, Yu F, *et al.* Annual review of KRAS inhibitors in 2022[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **249**: 115124.
- [35] Laurent P-A, Milic M, Quevrin C, *et al.* KRASG12C inhibition using MRTX1257: a novel radio-sensitizing partner[J]. *J Transl Med*, 2023, **21**(1): 773.
- [36] Xu J, Lim N-K, Timmerman JC, *et al.* Second-generation atroposelective synthesis of KRAS G12C covalent inhibitor GDC-6036[J]. *Org Lett*, 2023, **25**(19): 3417-3422.
- [37] Sacher A, LoRusso P, Patel MR, *et al.* Single-agent divarasilb (GDC-6036) in solid tumors with a KRAS G12C mutation[J]. *N Engl J Med*, 2023, **389**(8): 710-721.
- [38] Zeng M, Lu J, Li L, *et al.* Potent and selective covalent quinazoline inhibitors of KRAS G12C[J]. *Cell Chem Biol*, 2017, **24**(8): 1005-1016. e1003.
- [39] Imaizumi T, Akaiwa M, Abe T, *et al.* Discovery and biological evaluation of 1-{2, 7-diazaspiro[3.5]nonan-2-yl}prop-2-en-1-one derivatives as covalent inhibitors of KRAS G12C with favorable metabolic stability and anti-tumor activity[J]. *Bioorg Med Chem*, 2022, **71**: 116949.
- [40] Peng SB, Si C, Zhang Y, *et al.* Abstract 1259: preclinical characterization of LY3537982, a novel, highly selective and potent KRAS-G12C inhibitor[J]. *Cancer Res*, 2021, **81**(13\_Supplement): 1259.
- [41] Weiss A, Lorthiois E, Barys L, *et al.* Discovery, preclinical characterization, and early clinical activity of JDQ443, a structurally novel, potent, and selective covalent oral inhibitor of KRASG12C[J]. *Cancer Discov*, 2022, **12**(6): 1500-1517.
- [42] Cappuzzo F, Castro G, Kang JH, *et al.* KontRASt-02: a phase III trial investigating the efficacy and safety of the KRASG12C inhibitor JDQ443 vs. Docetaxel in patients with previously treated, locally advanced or metastatic, KRAS G12C-mutated nscl[J]. *Int J Radiat Oncol*, 2024, **118**(1): e14.
- [43] Lorthiois E, Gerspacher M, Beyer KS, *et al.* JDQ443, a structurally novel, pyrazole-based, covalent inhibitor of KRASG12C for the treatment of solid tumors[J]. *J Med Chem*, 2022, **65**(24): 16173-16203.
- [44] Bröker J, Waterson AG, Smethurst C, *et al.* Fragment optimization of reversible binding to the switch II pocket on KRAS leads to a potent, *in vivo* active KRASG12C inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2022, **65**(21): 14614-14629.
- [45] Song Z, Lou L, Fan G, *et al.* Identification of novel pyrrolo[2, 3-d]pyrimidine-based KRAS G12C inhibitors with anticancer effects[J]. *Eur J Med Chem*, 2023, **245**(Pt 1): 114907.
- [46] Hallin J, Bowcut V, Calinisan A, *et al.* Anti-tumor efficacy of a potent and selective non-covalent KRASG12D inhibitor[J]. *Nat Med*, 2022, **28**(10): 2171-2182.
- [47] Yu Z, He X, Wang R, *et al.* Simultaneous covalent modification of K-RAS(G12D) and K-RAS(G12C) with tunable oxirane electrophiles[J]. *J Am Chem Soc*, 2023, **145**(37): 20403-20411.
- [48] Wang X, Allen S, Blake JF, *et al.* Identification of MRTX1133, a noncovalent, potent, and selective KRASG12D inhibitor[J]. *J Med Chem*, 2021, **65**(4): 3123-3133.
- [49] Ji X, Li Y, Kong X, *et al.* Discovery of prodrug of MRTX1133 as an oral therapy for cancers with KRASG12D mutation[J]. *ACS Omega*, 2023, **8**(7): 7211-7221.
- [50] Cheng H, Li P, Chen P, *et al.* Structure-based design and synthesis of potent and selective KRAS G12D inhibitors[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2023, **14**(10): 1351-1357.
- [51] Mao Z, Xiao H, Shen P, *et al.* KRAS(G12D) can be targeted by potent inhibitors via formation of salt bridge[J]. *Cell Discov*, 2022, **8**(1): 5.
- [52] Li L, Liu J, Yang Z, *et al.* Discovery of thieno[2, 3-d]pyrimidine-based KRAS G12D inhibitors as potential anticancer agents via combinatorial virtual screening[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, **233**: 114243.
- [53] Kazi A, Ranjan A, Kumar MVV, *et al.* Discovery of KRB-456, a KRAS G12D switch-I/II allosteric pocket binder that inhibits the growth of pancreatic cancer patient-derived tumors[J]. *Cancer Commun*, 2023, **3**(12): 2623-2639.
- [54] Chiang J, Li X, Liu APY, *et al.* Tectal glioma harbors high rates of KRAS G12R and concomitant KRAS and braf alterations[J]. *Acta Neuropathol*, 2019, **139**(3): 601-602.
- [55] Bannoura SF, Khan HY, Azmi AS. KRAS G12D targeted therapies for pancreatic cancer: has the fortress been conquered[J]? *Front Oncol*, 2022, **12**: 1013902.
- [56] Chen H, Smaill JB, Liu T, *et al.* Small-molecule inhibitors directly targeting KRAS as anticancer therapeutics[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(23): 14404-14424.
- [57] Zhang Z, Morstein J, Ecker AK, *et al.* Chemoselective covalent modification of K-RAS(G12R) with a small molecule electrophile[J]. *J Am Chem Soc*, 2022, **144**(35): 15916-15921.
- [58] Gao Q, Ouyang W, Kang B, *et al.* Selective targeting of the oncogenic KRAS G12S mutant allele by crispr/cas9 induces efficient tumor regression[J]. *Theranostics*, 2020, **10**(11): 5137-5153.
- [59] Zhang Z, Guiley KZ, Shokat KM. Chemical acylation of an acquired serine suppresses oncogenic signaling of K-RAS (G12S)[J]. *Nat Chem Biol*, 2022, **18**(11): 1177-1183.
- [60] Kessler D, Gmachl M, Mantoulidis A, *et al.* Drugging an undruggable pocket on KRAS[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, **116**(32): 15823-15829.
- [61] Welsch ME, Kaplan A, Chambers JM, *et al.* Multivalent small-molecule pan-RAS inhibitors[J]. *Cell*, 2017, **168**(5): 878-889. e829.
- [62] Kim D, Herdeis L, Rudolph D, *et al.* Pan-KRAS inhibitor dis-

- ables oncogenic signalling and tumour growth[J]. *Nature*, 2023, **619**(7968): 160-166.
- [63] Matsubara H, Miyoshi H, Kakizaki F, *et al.* Efficacious combination drug treatment for colorectal cancer that overcomes resistance to KRAS G12C inhibitors[J]. *Mol Cancer Ther*, 2023, **22**(4): 529-538.
- [64] Wu X, Upadhyaya P, Villalona-Calero MA, *et al.* Inhibition of RAS-effector interactions by cyclic peptides[J]. *Med Chem Comm*, 2013, **4**(2): 378-382.
- [65] Upadhyaya P, Qian Z, Habir NAA, *et al.* Direct RAS inhibitors identified from a structurally rigidified bicyclic peptide library[J]. *Tetrahedron*, 2014, **70**(42): 7714-7720.
- [66] Sakamoto K, Kamada Y, Sameshima T, *et al.* K-RAS(G12D)-selective inhibitory peptides generated by random peptide T7 phage display technology[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **484**(3): 605-611.
- [67] Sakamoto K, Lin B, Nunomura K, *et al.* The K-RAS(G12D)-inhibitory peptide KS-58 suppresses growth of murine CT26 colorectal cancer cell-derived tumors[J]. *Sci Rep*, 2022, **12**(1):8121.



**[专家介绍]** 江程, 中国药科大学教授, 博士生导师。中国药科大学教务处副处长, 江苏省高等学校医药教育研究会理事, 江苏省药物研究与开发协会会员, 江苏省药品注册现场核查专家。2013-2014 年在美国密歇根大学癌症研究中心访学。担任中国医药科技出版社《药学综合实验与指导》主编, 高等教育出版社高校“十四五”医学规划新形态教材《药物化学》副主编, 人民卫生出版社《药物化学》(第 9 版)编委, 高等教育出版社《药物设计学》(第 4 版)编委, 国家重点出版工程多媒体《中华医学百科全书》药物化学卷编委。从事药学教育近 20 年, 担任“药物化学”“创新药物研发实践”等课程的主讲教师, 研究工作主要为创新药物的研究与开发, 主持多项国家级和省部级研究课题, 发表论文 50 余篇, 授权国家发明专利 5 项。

## · 征订启事 ·

### 欢迎订阅 2024 年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》是由国家教育部主管, 中国药科大学主办的药学中文核心期刊, 主要刊登合成药物化学、天然药物化学、生药学、中药学、药剂学、药物分析、药代动力学、药物生物技术、药理学、药事管理等学科的原创新研究论著。

《中国药科大学学报》在药学界享有较高的学术声誉, 目前已被国际上多家著名权威数据库 (CA, IPA, SCOPUS, IST, IC, EMBASE, Excerpta Medica, CAs) 等所收录, 被国内权威数据库《中文核心期刊要目总览》(2023 年版), 中国科学引文数据库 (CSCD 核心库)、中国科技论文统计源数据库等列为药学类核心期刊, 屡获原国家新闻出版总署、教育部、科技部等各种优秀期刊奖。

2022 年, 《中国药科大学学报》被评为中国高校百佳科技期刊, 2021 年被评为华东地区优秀期刊。根据中国知网《中国学术期刊影响因子年报》的数据显示: 《中国药科大学学报》2023 年最新复合影响因子为 1.427, 在药学期刊界的学术声誉和影响力持续不断攀升, 在高等院校、科研机构、制药企业、医院等单位拥有众多读者。

本刊为双月刊, 128 页。国际标准开本, 国内外公开发行。欢迎到当地邮局订阅, 漏订者可直接与编辑部联系。

国内刊号: CN 32-1157/R

国内邮发代号: 28-115

地址: 南京市童家巷 24 号

电话: 025-83271566

E-mail: xuebao@cpu.edu.cn

ISSN: 1000-5048

定价: 40 元/期, 全年 240 元

邮政编码: 210009

<https://jcpcu.cpu.edu.cn>