

## KRAS 抑制剂的进展

许伊钊, 文 辉, 崔华清\*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 活性物质发现与适药化研究北京市重点实验室, 北京 100050)

**摘要:** *RAS* (rat sarcoma) 基因是一种重要的致癌基因, 其突变存在于约 30% 的人类肿瘤中。 *KRAS* (kirsten rat sarcoma viral oncogene) 是 *RAS* 的三个亚型之一, 且相比于其他两种 *RAS* 亚型更易出现突变。近年来, 研究的不断深入为靶向 *KRAS* 治疗肿瘤提供了新的可能性, *KRAS* 抑制剂的研发也因此取得了显著的进展。本文根据各类抑制剂的作用模式, 将 *KRAS* 抑制剂分为直接靶向于 *KRAS* 的抑制剂和间接作用于 *KRAS* 的抑制剂两类, 并由此综述介绍了具有代表性的 *KRAS* 抑制剂。

**关键词:** *RAS*; *KRAS*; 作用模式; 小分子抑制剂; 抗肿瘤

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)06-1562-09

## Research progress of KRAS inhibitors

XU Yan-zhao, WEN Hui, CUI Hua-qing\*

(Beijing Key Laboratory of Active Substance Discovery and Druggability Evaluation, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

**Abstract:** The *RAS* (rat sarcoma) gene is one of the important oncogenes, and its mutation is present in about 30% human tumors. *KRAS* (kirsten rat sarcoma viral oncogene) is one of the three *RAS* subtypes, and *KRAS* mutations are more common than the mutations in other two *RAS* subtypes. In recent years, with the continuous research, new ideas have been provided for the treatment of cancers *via* targeting-*KRAS*. Efforts have been made to develop various *KRAS* inhibitors. Here, based on the mechanism of action, we classified *KRAS* inhibitors into two categories: inhibitors that directly target *KRAS* and inhibitors that indirectly act on *KRAS*. The representative *KRAS* inhibitors were summarized and introduced in this paper.

**Key words:** *RAS*; *KRAS*; mode of action; small molecule inhibitor; anti-tumor research

1982年, 研究者们<sup>[1-4]</sup>在人类膀胱癌细胞中发现了突变的 *RAS* (rat sarcoma) 基因, 这使 *RAS* 成为首个被发现的人类肿瘤基因<sup>[5,6]</sup>。研究发现 *RAS* 主要有 *HRAS*、*NRAS* 和 *KRAS* 三种亚型<sup>[7]</sup>。

*RAS* 在细胞信号转导过程中发挥核心作用<sup>[8]</sup>: 在分子水平上可以调控转录、翻译等过程, 在细胞水平上可以调节细胞增殖、分化、衰老、凋亡等等<sup>[9-11]</sup>。 *RAS* 的

突变致癌约占人类癌症的 30%<sup>[12]</sup>, 因此, *RAS* 一直被视为肿瘤治疗的重要靶点。

*RAS* 蛋白 (图 1) 是一种低分子质量 (21 kDa)、位于细胞膜上、拥有 GTPase 酶活性的鸟嘌呤核苷酸结合蛋白。 *RAS* 主要由一个 GTPase 催化结构域 (残基 1~166) 和紧随其后的高度可变区域 (highly variable region, HVR; 残基 167~188) 组成<sup>[13]</sup>。各个亚型中 GTPase 结构域的序列和结构几乎相同, 而 HVR 的序列存在显著差异<sup>[14,15]</sup>。

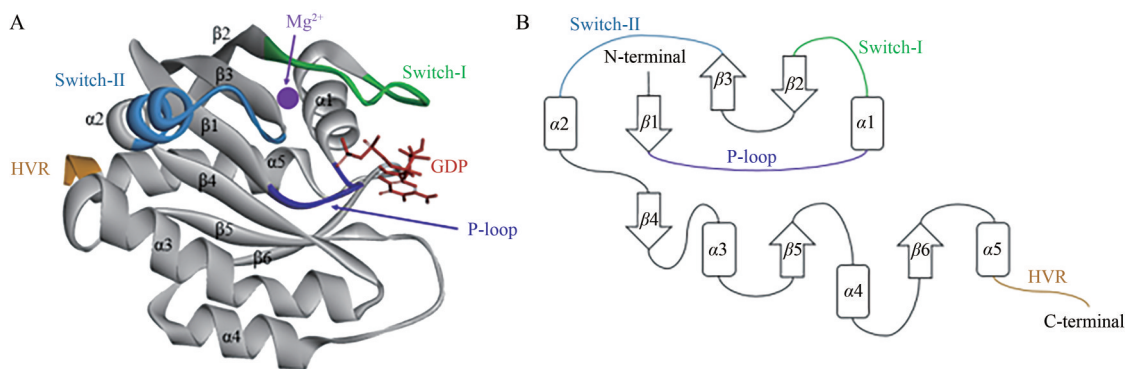
*RAS* 通过非活性状态 (与 GDP 结合) 和活性状态 (与 GTP 结合) 之间循环, 发挥着二元开关的作用<sup>[13,16]</sup>: 在没有信号刺激时, 这种循环十分缓慢。一旦

收稿日期: 2020-12-01; 修回日期: 2020-12-22。

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项: 天然产物来源创新药物新品种研发及其关键创新技术体系 (2018ZX09711001); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2017-I2M-1-010)。

\*通讯作者 E-mail: hcui@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1834



**Figure 1** Structure of RAS. (A) Protein structure of RAS with GDP-bound (PDB: 4obe). HVR is not fully displayed in the structure (Residues 1-169 were presented in this protein structure). (B) 2D depiction of the secondary structure of RAS

接收到信号, RAS 就会在细胞膜上与被募集过来的鸟嘌呤核苷酸交换因子 (guanine nucleotide-exchange factor; GEF) 结合, 释放 GDP, 并迅速与 GTP 结合<sup>[17]</sup>, 进入“开”的阶段; 随后在 GTP 酶激活蛋白 (GTPase-activating protein; GAP) 的作用下, GTPase 的活性被大幅度增强<sup>[18]</sup>, 与 RAS 结合的 GTP 被水解为 GDP, 重新进入“关”的状态。绝大多数的 RAS 突变会导致 GTP 的水解受到抑制, RAS 的活性无法被淬灭, 进而引起 RAS 的功能被异常激活。因此 GTP 的水解成为了二元开关过程中的关键步骤。

根据 RAS 的结构和调控机制, 研究者们发现, 在治疗 RAS 方面存在种种难题<sup>[19,20]</sup>: ① RAS 蛋白上的 GTPase 催化结构域高度保守, 各个亚型之间很难做到高度选择性; ② RAS 与 GDP/GTP 的亲力和力常数能达到皮摩尔级别, 而细胞中的 GTP 浓度是毫摩尔级别, 因此小分子药物很难与底物进行竞争性结合; ③ RAS 蛋白表面缺少有利于小分子结合的腔。

但是, 随着新技术的发展, 近年来针对 RAS 的抑制剂又重新回到了人们的视野中。研究者们首先将目标放在了 RAS 家族的亚型之一 KRAS 上面。KRAS 基因突变占 RAS 基因突变总数的 85% (NRAS 占 12%, HRAS 占 3%)<sup>[21]</sup>。在结肠癌、肺癌等多种人类癌症当中, 经常能观察到 KRAS 基因突变<sup>[22-24]</sup>, 而且在超过 90% 的胰腺癌患者体内 KRAS 基因都发生了突变<sup>[25]</sup>。因此, KRAS 成为了有效治疗 RAS 的重要突破点。

## 1 KRAS 抑制剂的研究进展

按抑制剂的作用模型将 KRAS 抑制剂分为直接靶向 KRAS 的抑制剂和间接作用于 KRAS 的抑制剂两类。前者是直接以 KRAS 为靶点的抑制剂, 后者主要是通过抑制 KRAS 信号通路的上下游部分, 间接地对 KRAS 起抑制作用。

### 1.1 直接靶向 KRAS 的抑制剂

绝大多数的 RAS 致癌突变集中在 Gly12、Gly13、

Gln61 这三个氨基酸残基上<sup>[12,13,26,27]</sup>。其中, KRAS<sup>G12C</sup> 突变占有所有非小细胞肺癌 (NSCLC) 的病例超过 59%, 占有所有 KRAS 突变驱动的癌症的 12%<sup>[12,19,28]</sup>。而基于半胱氨酸 (Cys) 共价结合抑制剂的成功研制, 让 KRAS<sup>G12C</sup> 成为了治疗 RAS 变异的理想靶点: 在 KRAS<sup>G12C</sup> 中, 12 号位的甘氨酸突变为半胱氨酸, 而 Cys 是一种易于形成共价键的氨基酸, 如果小分子药物能够与这种 Cys 结合, 这类抑制剂将减少对结合腔的依赖, 也可以获得相对较高的特异性。因此, 特异性针对 KRAS<sup>G12C</sup> 的共价抑制剂, 为靶向 KRAS 药物的开发提供了一个重要的参考方向。

**1.1.1 6H05 系列化合物** KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂的发现是通过一项名为“tethering”的技术<sup>[19,29]</sup>。“tethering”技术的基本原理是: 针对含有 Cys 的靶点, 利用含双硫键的小分子碎片库进行筛选——小分子片的双硫键与 KRAS<sup>G12C</sup> 蛋白上 Cys 的巯基发生交换后, 小分子碎片以 Cys 为“桥梁”与 KRAS 蛋白相连接, 小分子碎片在蛋白上找到合适的结合腔后便能附着下来, 随后通过还原反应将作为“桥梁”的 Cys 给清除掉。

通过“tethering”技术, 在 480 个化合物中筛选出了两个先导物, 显示出对突变 KRAS<sup>G12C</sup> 的修饰程度最大, 被命名为 6H05 和 2E07<sup>[29]</sup> (图 2)。随后通过对 6H05 的构效关系进行研究, 进一步优化确定了两个有效的化合物 (化合物 3 和化合物 4, 图 2), 这些化合物被称为 6H05 系列<sup>[30]</sup>。

6H05 系列的化合物与 KRAS<sup>G12C</sup> 结合, 发现了一个被称为 Switch-II pocket (S-IIP) 的新结合位点<sup>[31]</sup>。晶体结构显示, S-IIP 位于 KRAS 中央的  $\beta$  折叠和 Switch-II (SW2) 之间, 是通过抑制剂结合并诱导 SW2 重新排列而形成的<sup>[30]</sup>。结果证明 6H05 系列让 KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂的尝试获得了首次成功。而 S-IIP 的发现意味着 KRAS 蛋白中有了额外的结合位点, 成为了后来药物设计的一个关键点。

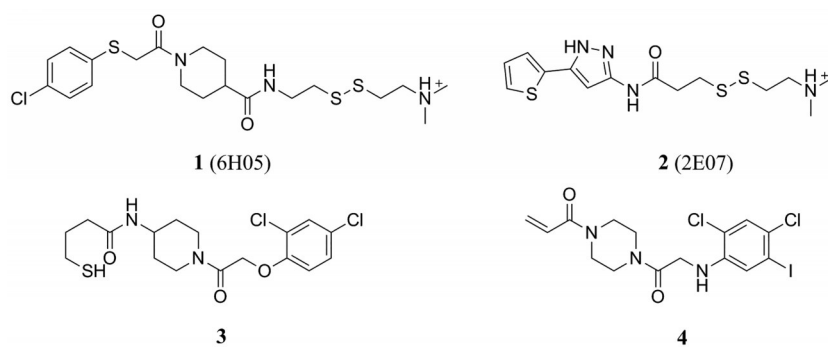


Figure 2 The structures of 6H05 series compounds

**1.1.2 喹唑啉系列化合物** KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂发展进程中的另一个突破是喹唑啉系列化合物的发现。研究者<sup>[32]</sup>设计了一组喹唑啉化合物能够结合在 S-IIP 空腔中,并在此基础上进一步的进行结构优化(图3)。结果表明,酰胺取代基的加入能够提高药物活性:除了增强抗增殖能力和诱导凋亡能力以外,酰胺基的修饰还增强了对 KRAS<sup>G12C</sup> 癌细胞的选择性。S-IIP 的发现以及喹唑啉结构的发现与优化,为后续 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂的发展奠定了坚实的基础。

**1.1.3 ARS 系列化合物** ARS 系列化合物是 Wellspring 公司研发的一系列 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂。其中比较有代表性的是 ARS-853<sup>[33]</sup>和 ARS-1620<sup>[34]</sup>(图4)。

研究发现, KRAS<sup>G12C</sup> 是 ARS-853 在 2 700 多种细胞蛋白质中最能有效进行共价结合的靶点<sup>[33]</sup>。ARS-853 与 KRAS<sup>G12C</sup> 的结合速率常数为 76 L·mol<sup>-1</sup>·s<sup>-1</sup>, 细胞结合 IC<sub>50</sub> 在 6 h 内为 1.6 μmol·L<sup>-1</sup>。细胞实验表明, ARS-853 对多种肿瘤细胞系均具有抑制活性,表现出对肿瘤细胞凋亡的促进以及对肿瘤细胞生长的抑制。ARS-853 仅与非活性状态的 KRAS<sup>G12C</sup> 结合,表明

KRAS<sup>G12C</sup> 不是停留在异常活跃的状态,而是在与 GDP/GTP 结合态之间快速循环<sup>[33]</sup>。

ARS-853 化合物虽然在低微摩尔范围内仍表现出较好的细胞活性,但存在致命的缺点:血浆代谢稳定性差 ( $t_{1/2} < 0.2$  h 人,  $t_{1/2} < 0.3$  h 小鼠),而且小鼠口服生物利用度低 ( $F < 2\%$ )<sup>[34]</sup>。这导致 ARS-853 无法用于进一步的体内研究。

Wellspring 公司基于喹唑啉的结构基础,对喹唑啉母核周围的取代基进行系统优化后,到得了几个活性较高的化合物,其中引人注目的是 ARS-1620<sup>[34]</sup>。ARS-1620 是一种对 KRAS<sup>G12C</sup> 具有高效价和高选择性的共价化合物,与 KRAS<sup>G12C</sup> 的结合速率相比于 ARS-853 提高了 10 倍。细胞实验表明,在 KRAS<sup>G12C</sup> 细胞系 (H358、MIA-PaCa2、LU65) 中,ARS-1620 的 IC<sub>50</sub> 能达到 150 nmol·L<sup>-1</sup>,在其他 KRAS 突变的细胞系 (H441、A549、HCT116) 中也表现出良好的效果。在动物模型的进一步研究中,ARS-1620 在小鼠体内表现出极好的口服生物利用度 ( $F > 60\%$ )和足够的血液稳定性,而且在人源肿瘤异种移植瘤 (patient-derived tumor xeno-

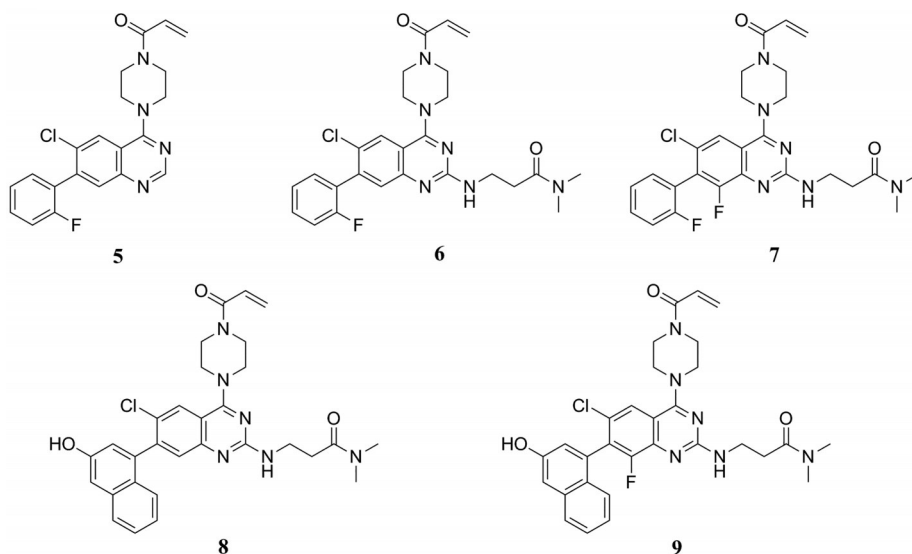


Figure 3 The structures of quinazoline series compounds

graft, PDX) 模型中也证明了 ARS-1620 对 KRAS<sup>G12C</sup> 具有高度选择性, 相比于 ARS-853 有了显著的提高。实验数据也说明 ARS-1620 可快速地实现体内靶标占据, 抑制 RAS 信号的传导, 以此消灭掉肿瘤。

ARS-3248 是在 ARS-1620 基础上研发的新一代 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂, 但其结构目前尚未被披露。目前, ARS-3248 正在开展临床 I 期试验, 选择 KRAS<sup>G12C</sup> 阳性晚期实体瘤患者入组。

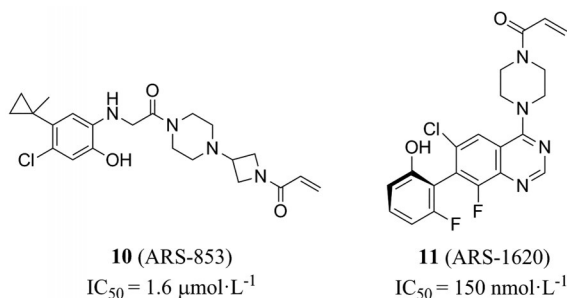


Figure 4 The structures of ARS-853 and ARS-1620

**1.1.4 MRTX849** MRTX849 (图 5) 是由 Mirati Therapeutics 公司开发的针对 KRAS<sup>G12C</sup> 的高度选择性的共价抑制剂, 能够稳定地与处于非活性状态的 KRAS<sup>G12C</sup> 结合<sup>[35]</sup>。在 100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 的最大有效剂量下, MRTX849 针对不同的肿瘤模型均显示出剂量依赖性的抗肿瘤作用。相比于野生型 KRAS 以及其他蛋白中的 Cys 来说, MRTX849 针对 KRAS<sup>G12C</sup> 的选择性高了 1 000 倍以上。MRTX849 口服生物利用度能达到 30%, 单次给药后半衰期长达 25 h<sup>[30]</sup>。

临床试验显示<sup>[36]</sup>, MRTX849 临床试验招募了 17 名患者, 其中包括 10 名 NSCLC 患者、4 名结肠直肠癌 (CRC) 患者和 3 名其他癌症类型患者。他们接受不同剂量的治疗, 分别为 150、300、600、1 200 mg 每天口服一次, 以及 600 mg 每天口服两次。在接受所有剂量治疗的患者中, 3/6 的 NSCLC 患者, 以及 1/4 的 CRC 患者能实现了部分缓解 (partial response, PR); 在接受最高剂量治疗的患者中, 3/5 例的 NSCLC 患者和 1/2 例的 CRC 患者达到部分缓解, 其他患者病情稳定 (stable disease, SD)。

**1.1.5 AMG 510** AMG 510 (图 6) 是 Amgen 公司开发的一种小分子抑制剂, 也是第一个进入临床阶段的 KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂<sup>[37]</sup>。AMG 510 通过将 KRAS 锁定在非活性的状态 (与 GDP 结合), 特异性地抑制 KRAS<sup>G12C</sup>。

在肿瘤模型中, AMG 510 能选择性地靶向 KRAS<sup>G12C</sup>, 并且单药治疗就可引起 KRAS<sup>G12C</sup> 肿瘤小鼠模型的肿瘤消退<sup>[38]</sup>。在临床试验中<sup>[39]</sup>, AMG 510 依然

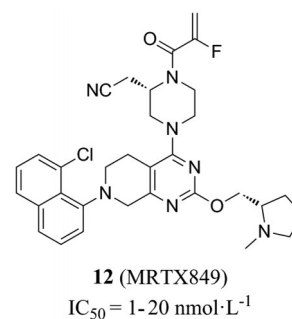


Figure 5 The structure of MRTX849

表现出良好的耐受性, 且没有剂量限制的毒性。在招募的 34 位 NSCLC 患者中, 有 23 位患者的疗效可被评估。其中有 13 名患者接受了每天一次 960 mg 目标剂量的治疗, 其中 7 名实现了部分缓解, 6 名患者的病情稳定, 控制率达到 100%。

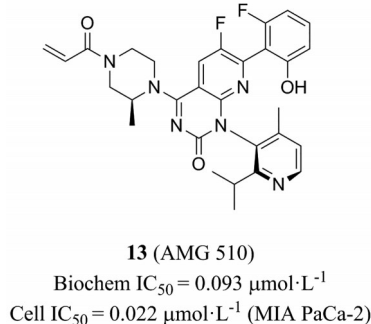


Figure 6 The structure of AMG 510

**1.1.6 SML 系列** 以 GDP/GTP 结合位点进行共价激酶抑制剂的研发<sup>[40-42]</sup>, 为 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂的研究提供了新的思路, 得到了一系列核苷酸类的 KRAS<sup>G12C</sup> 共价抑制剂。

基于 GDP 的结构首先设计了一系列针对催化位点的、底物竞争相关的共价抑制剂, SML-8-73-1 (图 7) 被确定为主要候选物<sup>[43]</sup>。模拟细胞条件, 在 1 mmol·L<sup>-1</sup> 的 GDP/GTP 存在的情况下, 对 SML-8-73-1 的结合效率进行测定, 结果表明, 在孵育 2 h 后, SML-8-73-1 进行底物竞争性结合的 KRAS<sup>G12C</sup> 超过 95%。

然而, SML-8-73-1 含有两个带负电荷的磷酸基团, 导致难以穿过细胞膜。“caging”技术, 也即合成各种修饰磷酸, 如磷酸酯, 是一种有效缓解甚至解决该问题的常见策略, 它能够通过化学修饰将带电离子部分所掩盖, 从而使细胞能被动吸收<sup>[44]</sup>。在此基础上, 对 SML-8-73-1 的磷酸基团进行修饰, 合成出了 SM-10-70-1 (图 7)。SM-10-70-1 表现为细胞通透性增强, 并通过共价结合竞争性地抑制 KRAS<sup>G12C</sup>。此外, KRAS 依赖的信号通路, 如 Akt 和 ERK 通路也被抑制。不仅如

此,在几个表达KRAS G12C突变的癌细胞株中,证实了SM-10-70-1具有抗增殖活性的能力。但其有效率和选择特异性仍有待进一步提高。因此,新的SARs研究得以继续,获得了有希望的化合物16<sup>[45]</sup>(图7)。通过亚甲基取代SML-8-73-1和SM-10-70-1磷酸酐键中的中心氧,化合物16的化学稳定性和酶稳定性有了很大的提高。尽管相比于SML-8-73-1降低了40倍的亲和力,化合物16仍然可能是一个有发展潜力的化合物。

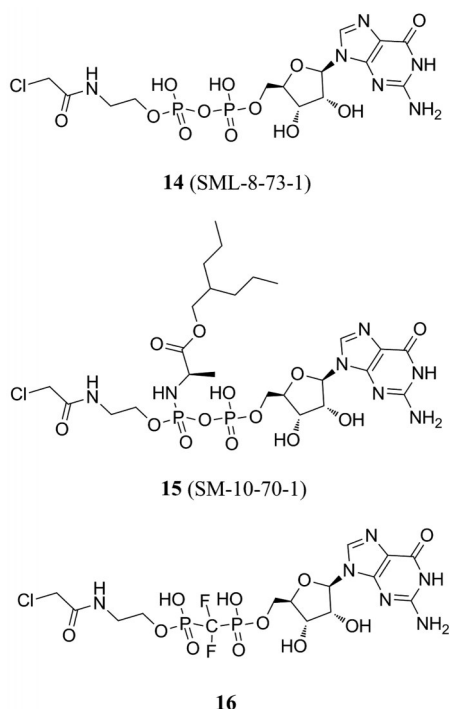


Figure 7 The structures of SML series compounds

## 1.2 间接作用于KRAS的抑制剂

### 1.2.1 靶向KRAS的mRNA肿瘤疫苗

mRNA肿瘤疫苗的治疗思路是:在肿瘤细胞发生基因突变后,会特异性表达新的抗原,通过对肿瘤细胞进行DNA或RNA测序,寻找出这类新抗原,随后以相对应的mRNA为基础完成疫苗的制备,输回体内激活免疫细胞,进而杀灭带有上述新抗原的肿瘤细胞<sup>[46]</sup>。其中,构建的疫苗被称为mRNA肿瘤疫苗。

有研究发现,从一种转基因小鼠体内分离并改造后的T细胞,对多种类型肿瘤患者体内的KRAS突变体均有识别作用<sup>[47]</sup>,在后续实验中,有研究者<sup>[48]</sup>成功地从一名KRAS突变的癌症患者身上移植培育出可被该T细胞识别的细胞系。在此基础上,Moderna Therapeutics公司与Merck & Co.合作开发了一种名为mRNA-5671的mRNA肿瘤疫苗,mRNA-5671能在体内产生大量的抗原,引导T细胞寻找并攻击表达4种

关键KRAS突变体(G12C、G12D、G12V和G13C)的细胞<sup>[49]</sup>。mRNA-5671可以直接在宿主细胞中表达KRAS抗原,比基于DNA的疫苗更容易降解,减少了不良反应,比基于肽的疫苗也能更有效地促进T细胞做出免疫反应<sup>[46,50]</sup>。目前,为了更加充分地利用免疫系统能力,mRNA-5671在与PD1抑制剂pembrolizumab联合使用<sup>[49]</sup>。

### 1.2.2 SOS1抑制剂

GEF承担着介导KRAS与GTP结合的重任,因此,抑制GEF可以减少KRAS与GTP结合的机会,可能是靶向RAS驱动肿瘤的一种可行方法<sup>[51]</sup>。而且,GEF抑制剂类化合物阻断的是GEF与KRAS的相互作用,与KRAS是何种突变无太大关联。

SOS (son of sevenless) 是常见的GEF之一,包括SOS1和SOS2两种常见的亚型<sup>[52]</sup>。作为一种核苷酸交换因子,SOS首先会与RAS结合。RAS-SOS复合物会改变RAS蛋白的构象,改变后的构象与缺失镁辅因子(magnesium cofactor)的RAS(非活性状态)构象十分相似,因此阻断了镁辅因子与GDP中的磷酸盐部分进行亲水性的相互作用<sup>[17]</sup>,进而降低了RAS与GDP的亲和力,有助于GDP的释放。然后GTP的鸟嘌呤核苷和核糖部分开始与RAS结合,随后GTP的 $\gamma$ -磷酸基团与RAS的镁辅因子相互作用,导致RAS的构象再次发生变化,SOS从络合物中脱离出来。

由此可见,抑制SOS的活性可降低RAS蛋白对GTP的结合能力,进而抑制RAS的异常激活。基于这个思路,Boehringer Ingelheim (BI)公司找出了一些能够结合SOS1并阻止SOS1与RAS相互作用的苗头化合物。随后BI公司报道了BI-3406 ( $IC_{50} = 6 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,图8)<sup>[53]</sup>。BI-3406通过与SOS1的催化位点结合,阻止KRAS-GDP的相互作用。在单药治疗的情况下,BI-3406能够有效地减少KRAS依赖性的肿瘤细胞中活性形式(与GTP结合)KRAS的形成,并抑制MAPK信号通路,引起肿瘤消退<sup>[53]</sup>。

随后BI 1701963进入了临床开发阶段<sup>[54]</sup>(目前未公布结构)。BI 1701963与BI-3406密切相关,均能广

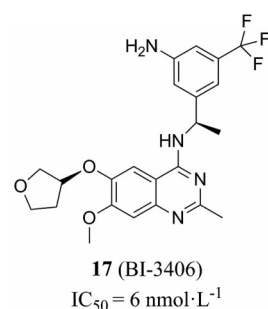
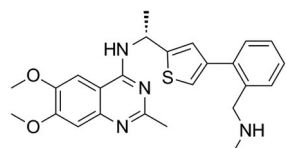


Figure 8 The structure of BI-3406

泛针对 KRAS 等位基因 (G12D、G12V、G12C 以及 G13D) 表现出活性, 同时保留了 KRAS 与 SOS2 的相互作用<sup>[55]</sup>。

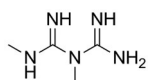
此外, Bayer 公司也发现了一款 SOS1 抑制剂<sup>[51]</sup>, 命名为 BAY-293 ( $IC_{50} = 21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 图 9), 可以选择性的抑制 SOS1 活性, 下调肿瘤细胞中 RAS 的活性水平。BAY-293 在野生型 KRAS 细胞中能够有效抑制 RAS-RAF-MEK-ERK 通路, 且 BAY-293 与 ARS-853 的联用对于 KRAS<sup>G12C</sup> 细胞系的抗增殖活性表现出协同作用<sup>[51]</sup>。



18 (BAY-293)  
 $IC_{50} = 21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$

Figure 9 The structure of BAY-293

**1.2.3 二甲双胍** 除了新药的研制, 在“老药新用”方面, 靶向 KRAS 的研究也有重大突破: 最近有研究团队发现, 降糖一线药物二甲双胍 (metformin, 图 10) 也可用于靶向 KRAS 的治疗, 且二甲双胍的抑癌机制可能不依赖于其降糖作用<sup>[56]</sup>。研究发现, 相比于其他降糖药, 服用二甲双胍以后, 携带 KRAS 突变的转移性结直肠癌 (metastatic colorectal cancer, mCRC) 患者总生存时间延长了 37.8 个月, 然而二甲双胍不能提高野生型 KRAS 患者的生存率。细胞实验发现, KRAS 的突变会导致膜通道蛋白 MATE1 的表达水平下降, 二甲双胍无法从肿瘤细胞中排出, 进而在细胞中富集。上调癌细胞中 MATE1 表达水平后二甲双胍的抑癌作用消失也证明了这一点。而高浓度的二甲双胍则通过抑制 RAS/ERK 和 AKT/mTOR 这两条通路, 抑制了 KRAS 突变癌细胞的增殖<sup>[56]</sup>。目前研究团队已经安排了前瞻性的临床研究。



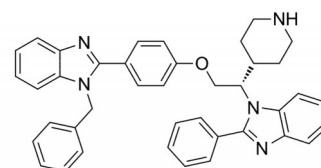
19 (Metformin)

Figure 10 The structure of metformin

**1.2.4 PDEdelta 抑制剂** KRAS 与 GTP 结合后将效应蛋白分泌到质膜 (plasma membrane, PM) 上, 随后激活细胞中的增殖和存活信号<sup>[57,58]</sup>。而 PDEdelta (phosphodiesterase 6 delta) 作为一种膜转运蛋白, 通过相互作用控制 KRAS 蛋白的转运<sup>[59,60]</sup>。因此, 干扰 PDEdelta

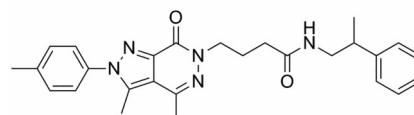
与 KRAS 的结合为靶向 KRAS 突变癌症提供了一种新方法。

Zimmermann 等<sup>[61]</sup>首先研发得到了一种小分子抑制剂 deltarasin (图 11), deltarasin 通过结合 PDEdelta 的异戊二烯结合腔, 抑制了 KRAS-PDEdelta 的相互作用, 干扰 KRAS 在 PM 上的定位, 进而抑制下游通路信号, 减少癌细胞的增殖。然而当浓度高于  $9 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, deltarasin 在所有实验用的细胞系中都表现出细胞毒性<sup>[61]</sup>, 并且在 NSCLC 中 deltarasin 会诱导自噬<sup>[62]</sup>。第二种 PDEdelta 抑制剂 deltazinone 1 (图 11) 有效避免了细胞毒性的问题, 且对 PDEdelta 有较高的亲和力, 但是在体内实验中 deltazinone 1 会被快速代谢掉<sup>[63]</sup>。目前, 仍有 NHTD (图 11) 等 PDEdelta 抑制剂处于临床前研究<sup>[64]</sup>, 并在考虑与联合治疗的策略。



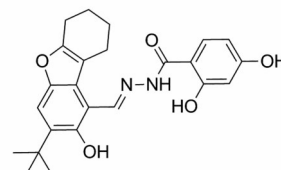
20 (Deltarasin)

$K_D = 38 \pm 16 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$



21 (Deltazinone 1)

$K_D = 8 \pm 4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$



22 (NHTD)

$IC_{50} = 40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

Figure 11 The structures of deltarasin, deltazinone 1 and NHTD

## 2 总结与展望

目前来看, 针对 G12C 突变的抑制剂仍是靶向 KRAS 治疗肿瘤的主流方向。而且, 针对 KRAS<sup>G12C</sup> 抑制剂临床表现不够完美的情况来看, 不少研究者也采用了联合用药的策略<sup>[35,38,49,65]</sup>。例如, 在小鼠体内使用 AMG 510 会引起促进发炎性的肿瘤微环境, 采用 AMG 510 和 PD1 阻断剂 pembrolizumab 能够有效缓解这个问题<sup>[38]</sup>, 并且对 KRAS<sup>G12D</sup> 肿瘤细胞也有一定的排斥作用。此外, 研究者将 AMG 510 与 MEK 抑制剂、MAPK 抑制剂以及 SHP2 抑制剂等多种抑制剂分别组合使用, 均表现出不错的疗效<sup>[49]</sup>; MRTX849 与 HER2

抑制剂、CDK4抑制剂以及SHP2抑制剂等小分子抑制剂的组合<sup>[49]</sup>,在增强MRTX849的反应活性以及减弱耐药性方面,也具有好的前景;BI 1701963也在寻求与MEK抑制剂的联合使用,以增强更好的疗效<sup>[54,55]</sup>。

此外,蛋白降解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimera, PROTAC) 技术凭借其独有的优势,在治疗KRAS方面也有着不错的应用<sup>[66,67]</sup>。但是PROTAC本身依然面临着一些难题,例如分子质量较大导致的药代动力学性质不佳以及口服生物利用度不高<sup>[68]</sup>,可用于PROTAC的泛素连接酶E3过少(不到10种)<sup>[68,69]</sup>等问题。

总之,这些新的在研药物(表1)<sup>[49]</sup>不仅开拓了KRAS治疗的新领域,为不同类型的KRAS突变患者带来了更多的治疗方法,也为研究RAS基因提供了有价值的方向,有助于将历史上“不可成药的”RAS的相关药物引入临床。

**Table 1** KRAS-related inhibitors under clinical trials currently

Compound	R&D company	Target	Progress
ARS-3248	Wellspring	G12C	Clinical phase I
MRTX849	Mirati therapeutics	G12C	Clinical phase I/II
AMG 510	Amgen	G12C	Clinical phase III
mRNA-5671	Moderna therapeutics	G12C, G12D, G12V and G13C	Clinical phase I
BI 1701963	Boehringer ingelheim	SOS1	Clinical phase I

无论是新技术的研发,还是新药物的发现,亦或是如二甲双胍在内的“老药新用”开辟的新天地,都表明研究者通过有策略地靶向RAS治疗肿瘤取得了越来越好的临床结果。如同KRAS抑制剂的研究正在如火如荼地展开一样,人们对于RAS机制的研究也没有停止脚步。随着技术的发展,RAS也会更加清晰地被展现在我们面前,我们也终将会攻克这个癌症领域里的难关。

**作者贡献:** 许俨钊撰写论文初稿;文辉、崔华清修改论文并定稿。

**利益冲突:** 本文无相关利益冲突。

## References

- Der CJ, Krontiris TG, Cooper GM. Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1982, 79: 3637-3640.
- Parada LF, Tabin CJ, Shih C, et al. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene [J]. Nature, 1982, 297: 474-478.
- Santos E, Tronick SR, Aaronson SA, et al. T24 human bladder carcinoma oncogene is an activated form of the normal human homologue of BALB-and Harvey-MSV transforming genes [J]. Nature, 1982, 298: 343-347.
- Taparowsky E, Suard Y, Fasano O, et al. Activation of the T24 bladder carcinoma transforming gene is linked to a single amino acid change [J]. Nature, 1982, 300: 762-765.
- Stephen AG, Esposito D, Bagni RK, et al. Dragging ras back in the ring [J]. Cancer Cell, 2014, 25: 272-281.
- Cox AD, Der CJ. Ras history: the saga continues [J]. Small GTPases, 2010, 1: 2-27.
- Barbacid M. Ras genes [J]. Annu Rev Biochem, 1987, 56: 779-827.
- Li S, Jang H, Zhang J, et al. Raf-1 cysteine-rich domain increases the affinity of K-Ras/Raf at the membrane, promoting MAPK signaling [J]. Structure, 2018, 26: 513-525.
- Rojas AM, Fuentes G, Rausell A, et al. The Ras protein superfamily: evolutionary tree and role of conserved amino acids [J]. J Cell Biol, 2012, 196: 189-201.
- Quinlan MP, Settleman J. Isoform-specific ras functions in development and cancer [J]. Future Oncol, 2009, 5: 105-116.
- Van Hattum H, Waldmann H. Chemical biology tools for regulating RAS signaling complexity in space and time [J]. Chem Biol, 2014, 21: 1185-1195.
- Forbes SA, Bindal N, Bamford S, et al. COSMIC: mining complete cancer genomes in the catalogue of somatic mutations in cancer [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39: D945-950.
- Lu S, Jang H, Gu S, et al. Drugging Ras GTPase: a comprehensive mechanistic and signaling structural view [J]. Chem Soc Rev, 2016, 45: 4929-4952.
- Prior IA, Hancock JF. Compartmentalization of Ras proteins [J]. J Cell Sci, 2001, 114: 1603-1608.
- Hancock JF. Ras proteins: different signals from different locations [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4: 373-385.
- Bos JL, Rehmann H, Wittinghofer A. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins [J]. Cell, 2007, 129: 865-877.
- Boriack-Sjodin PA, Margarit SM, Bar-Sagi D, et al. The structural basis of the activation of Ras by SOS [J]. Nature, 1998, 394: 337-343.
- Settleman J, Albright CF, Foster LC, et al. Association between GTPase activators for Rho and Ras families [J]. Nature, 1992, 359: 153-154.
- Cox AD, Fesik SW, Kimmelman AC, et al. Drugging the undruggable RAS: mission possible? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13: 828-851.
- Ledford H. The ras renaissance [J]. Nature, 2015, 520: 278-280.
- Hunter JC, Manandhar A, Carrasco MA, et al. Biochemical and structural analysis of common cancer-associated KRAS mutations [J]. Mol Cancer Res, 2015, 13: 1325-1335.
- Van Cutsem E, van de Velde H, Karasek P, et al. Phase III trial of

- gemcitabine plus tipifarnib compared with gemcitabine plus placebo in advanced pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 1430-1438.
- [23] Rao S, Cunningham D, De Gramont A, et al. Phase III double-blind placebo-controlled study of farnesyl transferase inhibitor R115777 in patients with refractory advanced colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 3950-3957.
- [24] Johnson BE, Heymach JV. Farnesyl transferase inhibitors for patients with lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 4254s-4257s.
- [25] Xu Q, Zhou Z, Xiang M. Progress in the study of signal pathways for chronic inflammation-associated pancreatic carcinogenesis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 174-181.
- [26] Lu S, Banerjee A, Jang H, et al. GTP binding and oncogenic mutations may attenuate hypervariable region (HVR)-catalytic domain interactions in small GTPase K-Ras4B, exposing the effector binding site [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290: 28887-28900.
- [27] Prior IA, Lewis PD, Mattos C. A comprehensive survey of Ras mutations in cancer [J]. *Cancer Res*, 2012, 72: 2457-2467.
- [28] Visscher M, Arkin MR, Dansen TB. Covalent targeting of acquired cysteines in cancer [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, 30: 61-67.
- [29] Erlanson DA, Braisted AC, Raphael DR, et al. Site-directed ligand discovery [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97: 9367-9372.
- [30] Ni D, Li X, He X, et al. Drugging K-RasG12C through covalent inhibitors: mission possible? [J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 202: 1-17.
- [31] Ostrem JM, Peters U, Sos ML, et al. K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions [J]. *Nature*, 2013, 503: 548-551.
- [32] Zeng M, Lu J, Li L, et al. Potent and selective covalent quinazoline inhibitors of KRAS G12C [J]. *Cell Chem Biol*, 2017, 24: 1005-1016e1003.
- [33] 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: 316-329.
- [34] Janes MR, Zhang J, Li LS, et al. Targeting KRAS mutant cancers with a covalent G12C-specific inhibitor [J]. *Cell*, 2018, 172: 578-589e517.
- [35] Hallin J, Engstrom LD, Hargis L, et al. The KRAS(G12C) inhibitor MRTX849 provides insight toward therapeutic susceptibility of KRAS-mutant cancers in mouse models and patients [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10: 54-71.
- [36] Papadopoulos KP, Ou SHI, Johnson ML, et al. A phase I/II multiple expansion cohort trial of MRTX849 in patients with advanced solid tumors with KRAS G12C mutation [C]. Chicago, IL: Annual Meeting of the American-Society-of-Clinical-Oncology, 2019.
- [37] Govindan R, Fakih MG, Price TJ, et al. Phase I study of AMG 510, a novel molecule targeting KRAS G12C mutant solid tumours [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30: 163-164.
- [38] Canon J, Rex K, Saiki AY, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity [J]. *Nature*, 2019, 575: 217-223.
- [39] Safety GP, Sheets SD. Amgen announces new clinical data evaluating novel investigational KRAS (G12C) inhibitor in larger patient group at WCLC 2019 [EB/OL]. 2019-09-08 [2020-08-13]. <https://investors.amgen.com/news-releases/news-release-details/amgen-announces-new-clinical-data-evaluating-novel>.
- [40] Zhang T, Inesta-Vaquera F, Niepel M, et al. Discovery of potent and selective covalent inhibitors of JNK [J]. *Chem Biol*, 2012, 19: 140-154.
- [41] Zhou W, Ercan D, Chen L, et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M [J]. *Nature*, 2009, 462: 1070-1074.
- [42] Zhou W, Hur W, McDermott U, et al. A structure-guided approach to creating covalent FGFR inhibitors [J]. *Chem Biol*, 2010, 17: 285-295.
- [43] Lim SM, Westover KD, Ficarro SB, et al. Therapeutic targeting of oncogenic K-Ras by a covalent catalytic site inhibitor [J]. *Angew Chem*, 2014, 126: 203-208.
- [44] Adams SR, Tsien RY. Controlling cell chemistry with caged compounds [J]. *Annu Rev Physiol*, 1993, 55: 755-784.
- [45] Xiong Y, Lu J, Hunter J, et al. Covalent guanosine mimetic inhibitors of G12C KRAS [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2017, 8: 61-66.
- [46] McNamara MA, Nair SK, Holl EK. RNA-based vaccines in cancer immunotherapy [J/OL]. *J Immunol Res*, 2015: Article ID 794528. [2020-08-24]. <https://www.hindawi.com/journals/jir/2015/794528>.
- [47] Wang QJ, Yu Z, Griffith K, et al. Identification of T-cell receptors targeting KRAS-mutated human tumors [J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4: 204-214.
- [48] Tran E, Robbins PF, Lu YC, et al. T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375: 2255-2262.
- [49] Mullard A. Cracking KRAS [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18: 887-891.
- [50] Fotin-Mleczek M, Duchardt KM, Lorenz C, et al. Messenger RNA-based vaccines with dual activity induce balanced TLR-7 dependent adaptive immune responses and provide antitumor activity [J]. *J Immunother*, 2011, 34: 1-15.
- [51] Hillig RC, Sautier B, Schroeder J, et al. Discovery of potent SOS1 inhibitors that block RAS activation *via* disruption of the RAS-SOS1 interaction [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116: 2551-2560.
- [52] Vigil D, Cherfils J, Rossman KL, et al. Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 842-857.
- [53] Hofmann MH, Gmachl M, Ramharter J, et al. Abstract C133:

- Effective targeting of KRAS-driven tumors by the first-in-class, orally bioavailable SOS1: KRAS inhibitor BI-3406 [C]. Boston, MA: International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics, 2019.
- [54] Gort E, Johnson ML, Hwang JJ, et al. A phase I, open-label, dose-escalation trial of BI 1701963 as monotherapy and in combination with trametinib in patients with KRAS mutated advanced or metastatic solid tumors [C]. Chicago, IL: American Society of Clinical Oncology Congress (ASCO) Annual Meeting, 2020.
- [55] Gerlach D, Gmachl M, Ramharter J, et al. BI-3406 and BI 1701963: potent and selective SOS1: KRAS inhibitors induce regressions in combination with MEK inhibitors or irinotecan [C]. Philadelphia, PA: AACR Annual Meeting 2020, 2020.
- [56] Xie J, Xia L, Xiang W, et al. Metformin selectively inhibits metastatic colorectal cancer with the KRAS mutation by intracellular accumulation through silencing MATE1 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117: 13012-13022.
- [57] Karnoub AE, Weinberg RA. Ras oncogenes: split personalities [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 517-531.
- [58] Pylayeva-Gupta Y, Grabocka E, Bar-Sagi D. RAS oncogenes: weaving a tumorigenic web [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11: 761-774.
- [59] Chandra A, Grecco HE, Pisupati V, et al. The GDI-like solubilizing factor PDE $\delta$  sustains the spatial organization and signalling of Ras family proteins [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14: 148-158.
- [60] Ismail SA, Chen YX, Rusinova A, et al. Arl2-GTP and Arl3-GTP regulate a GDI-like transport system for farnesylated cargo [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 942-949.
- [61] Zimmermann G, Papke B, Ismail S, et al. Small molecule inhibition of the KRAS - PDE $\delta$  interaction impairs oncogenic KRAS signalling [J]. *Nature*, 2013, 497: 638-642.
- [62] Leung ELH, Luo LX, Liu ZQ, et al. Inhibition of KRAS-dependent lung cancer cell growth by deltarasin: blockage of autophagy increases its cytotoxicity [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9: 1-15.
- [63] Papke B, Murarka S, Vogel HA, et al. Identification of pyrazolopyridazinones as PDE $\delta$  inhibitors [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11360.
- [64] Leung ELH, Luo LX, Li Y, et al. Identification of a new inhibitor of KRAS - PDE $\delta$  interaction targeting KRAS mutant nonsmall cell lung cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145: 1334-1345.
- [65] Ruess DA, Heynen GJ, Ciecieski KJ, et al. Mutant KRAS-driven cancers depend on PTPN11/SHP2 phosphatase [J]. *Nat Med*, 2018, 24: 954-960.
- [66] Zeng M, Xiong Y, Safaei N, et al. Exploring targeted degradation strategy for oncogenic KRASG12C [J]. *Cell Chem Biol*, 2020, 27: 19-31. e16 .
- [67] Minko T. Nanoformulation of BRD4-degrading PROTAC: improving druggability to target the 'undruggable' MYC in pancreatic cancer [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2020, 41: 684-686.
- [68] Duan YC, Zhai XY, Qin WP, et al. Advances in the treatment of cancer by PROTACs [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2017, 52: 1801-1810.
- [69] Guo ZR. Examples of biology-driven drug design [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1707-1725.