

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES

细胞周期蛋白依赖性激酶 12 抑制剂研究进展

刘萧悦, 余子恒, 王信人, 唐伟方*, 陆涛**

(中国药科大学理学院, 江苏 南京 211198)

【摘要】细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 在调节细胞周期和基因转录方面具有重要作用。其中 CDK12 主要负责调控基因转录过程, 参与调节基因转录延伸、RNA 剪接、转录终止以及 DNA 损伤修复等多个阶段。研究发现, CDK12 的失调与多种肿瘤的发生发展有关。介绍 CDK12 的结构和生物学功能, 以及其与肿瘤的关系, 并对 CDK12 抑制剂的研究进展进行综述, 旨在为 CDK12 调控机制的深入研究以及 CDK12 抑制剂的开发提供参考。

【关键词】细胞周期蛋白依赖性激酶 12; DNA 损伤修复; 肿瘤; CDK12 抑制剂

【中图分类号】 R979.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1001-5094 (2022) 03-0208-10

Research Progress in Cyclin-dependent
Kinase 12 Inhibitors

LIU Xiaoyue, YU Ziheng, WANG Xinren, TANG Weifang, LU Tao

(School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

【Abstract】 Cyclin-dependent kinase (CDK) plays an important role in cell cycle regulation and gene transcription. CDK12 can participate in gene transcription regulation by regulating gene transcription extension, RNA splicing, transcription termination and DNA damage repair (DDR). It is found that the dysregulation of CDK12 is related to the tumorigenesis and tumor metastasis. This article introduces the structure and biological functions of CDK12 as well as its relationship with tumors, and reviews the research progress in CDK12 inhibitors, aiming to provide reference for further research on the mechanism of CDK12 and the development in CDK12 inhibitors.

【Key words】 cyclin-dependent kinase 12; DNA damage repair; tumor; CDK12 inhibitor

细胞周期蛋白依赖性激酶 (cyclin-dependent kinase, CDK) 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可通过磷酸化作用调节细胞周期进程以及基因转录。CDK 在与调节亚基即周期蛋白 (cyclin) 结合形成异二聚体后才具有催化活性。目前, 细胞周期蛋白依赖性激酶主要分为两类: 一类是细胞周期相关激酶, 主要调控细胞周期的各个阶段, 包括 CDK1、CDK2、CDK3、CDK4 和 CDK6; 另一类是转录

相关激酶, 主要调控基因转录进程, 包括 CDK7、CDK8、CDK9、CDK11、CDK12 和 CDK13^[1]。

CDK12 属于转录相关激酶, 通过磷酸化 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, RNAP II) 的 C 端结构域 (C-terminal domain, CTD) 来调节基因转录^[2]。CDK12 在 DNA 损伤修复 (DNA damage repair, DDR)、细胞生长和分化、前体 mRNA 剪接、内含子聚腺苷酸化、维持基因组稳定等多种细胞生命活动中发挥重要作用^[2-3]。在多种肿瘤细胞中均存在 CDK12 基因的突变、扩增、缺失以及融合, 其中基因扩增是最为常见的^[4]。因此, 作为治疗肿瘤的新兴靶点, CDK12 已引起广大研究者的兴趣。本文对 CDK12 的结构功能和 CDK12 抑制剂的研究进展进行综述, 以期对 CDK12 抑制剂的开发和应用提供思路。

接受日期: 2021-12-15

*** 通信作者:** 唐伟方, 教授;

研究方向: 小分子化学药物的设计与合成;

Tel: 025-86185216; **E-mail:** tangwf126@126.com

**** 通信作者:** 陆涛, 教授;

研究方向: 新药分子设计与合成;

Tel: 025-86185186; **E-mail:** lutao@cpu.edu.cn

1 细胞周期蛋白依赖性激酶 12 的结构

CDK12 是从 HeLa 细胞的 cDNA 中发现的, 最初被命名为 Cdc2-related kinase (CrkRS)。编码 CDK12 的基因位于人 17 号常染色体长臂 1 区 2 带。CDK12 由 1 490 个氨基酸组成, 相对分子质量为 164 000^[5]。CDK12 包含 2 个富含脯氨酸的基序 (proline-rich motif, PRM), 1 个 C 端激酶结构域 (carboxy-terminal kinase domain, KD) 和 1 个精氨酸/丝氨酸结构域 (arginine/serine domain, RS) (见图 1)。PRM 基序对蛋白质间的相互作用至关重要, RS 结构域在前体 mRNA 的剪接中发挥重要作用。KD 结构域含有双叶折叠, 包括一个高度疏水的 N 端叶 (β 1- β 5)

和包含 α 螺旋束的 C 端叶^[6] (见图 2)。CDK12 主要与 cyclin K 结合形成二聚体发挥激酶活性。

CDK 中, CDK13 与 CDK12 高度同源, 二者 KD 结构域相似程度达 92%, 但它们的 C 端和 N 端存在差异。CDK13 的 C 端还包含 1 个富丝氨酸结构域 (Ser-rich domain, SR); N 端包含 2 个富丙氨酸结构域 (Ala-rich domains, AR)^[2] (见图 1)。CDK13 基因可编码 1 512 个氨基酸。Cyclin K 也是 CDK13 主要结合的细胞周期蛋白, CDK12 与 CDK13 协同调控 RNAP II CTD 磷酸化。目前, 对 CDK13 的研究尚浅, 其参与磷酸化 RNAP II 的机制尚未明确, 具体的生物学功能还有待进一步研究。

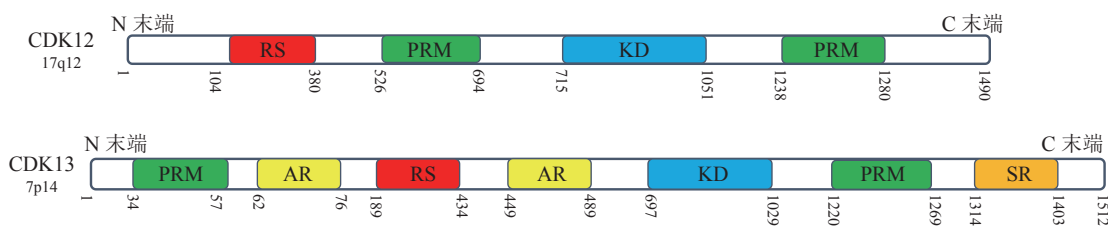


图 1 CDK12 和 CDK13 的结构

Figure 1 Structure of CDK12 and CDK13

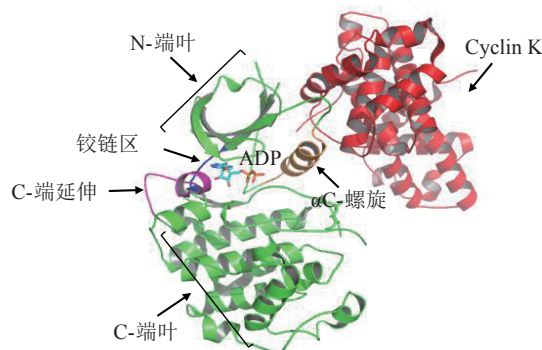


图 2 CDK12-cyclin K-ADP 共晶结构 (PDB ID: 4NST)

Figure 2 X-ray co-crystal structure of CDK12-cyclin K-ADP (PDB ID: 4NST)

2 细胞周期蛋白依赖性激酶 12 的生物学功能

2.1 对基因转录的调控

RNAP II 是由 RPB1、RPB4 等 12 个亚基组成的蛋白质复合物。CTD 结构位于 RPB1 羧基末端。在哺乳动物细胞中, CTD 由 7 肽 (Tyr1-Ser2-Pro3-Thr4-Ser5-Pro6-Ser7) 重复序列组成^[7]。CDK12 通过磷酸化 CTD 的 Ser2 启动基因转录延伸。CDK12 缺失主要影响维持基因组稳定性基因的表达。在

果蝇细胞中, CDK12 缺失影响氧化还原/抗氧化基因和控制代谢活性基因的表达^[8]。在人体细胞中, CDK12 缺失导致参与 DDR 过程的基因如 *BRCA*、*ATR*、*FANCI* 和 *FANCD2* 转录水平降低。此外, CDK12 通过磷酸化 RNAP II CTD 的 Ser2 招募裂解刺激因子 77 (cleavage stimulation factor 77, CsF77), 使 mRNA 3' 末端多聚腺苷酸化, 进而终止转录进程^[5,9] (见图 3)。

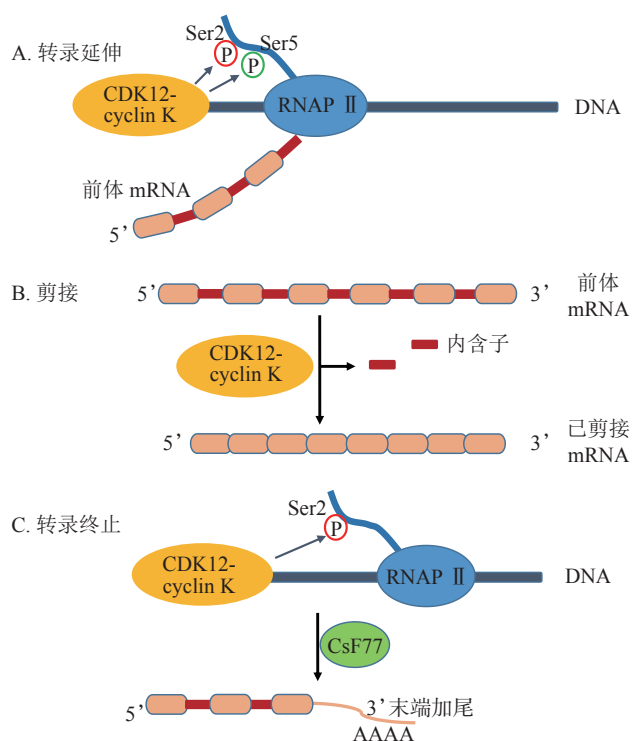


图3 CDK12对RNA转录延伸、剪接及转录终止的调控作用

Figure 3 Regulation of CDK12 on RNA transcription extension, splicing and transcription termination

2.2 参与RNA剪接

CDK12通过调控内含子的剪接,促进前体mRNA转变为成熟mRNA(见图2)。Rodrigues等^[10]研究发现,在果蝇细胞中CDK12可通过调节CTD磷酸化调控*Neurexin IV*基因的剪接。在HEK293T细胞和HeLa细胞中的免疫共沉淀分析结果显示,CDK12可与部分剪接调控因子产生相互作用,如RNA结合基序蛋白(RNA-binding motif protein, RBM)和核内不均一核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP)^[11]。据报道,CDK12的缺失会影响人类结直肠癌细胞中富含丝氨酸和精氨酸的剪接因子1(serine and arginine rich splicing factor 1, SRSF1)的功能。目前,CDK12在前体mRNA剪接过程中的具体作用以及调控机制并未明确,有待进一步研究。

2.3 对细胞周期的调控

研究发现,CDK2-cyclin E1复合物参与维持G1后期视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, pRb)磷酸化,保证细胞由G1期进入S期。而CDK12-cyclin K复合物可诱导cyclin E1的Ser366

磷酸化,阻止cyclin E1与CDK2形成复合物,进而导致G₁/S期阻滞^[12]。Chirackal Manavalan等^[9]研究发现,抑制CDK12的表达将导致拓扑异构酶II β 结合蛋白1(topoisomerase II β binding protein 1, TOPBP1)和细胞分裂周期蛋白6(cell division cycle protein 6, CDC6)的表达水平降低,引起细胞周期阻滞。Chen等^[13]发现CDK12的缺失导致小鼠神经祖细胞在G₂期和M期积累且有丝分裂细胞较正常细胞增加了1.3~4.6倍。近期一项研究表明,CDK12的缺失,可抑制有丝分裂调控激酶Aurora B的表达^[14]。这些研究均表明CDK12在细胞周期进程中具有重要作用,但其具体调控机制还未明确。

2.4 对细胞生长分化的调控

在小鼠神经祖细胞中,CDK12的缺失导致幼鼠发育畸形并死亡^[15]。CDK12和cyclin K对于胚胎干细胞的更新具有重要作用,它们的敲除将导致胚胎干细胞分化。研究发现,分化程度较低的细胞如小鼠胚胎干细胞,CDK12表达水平较高;而在分化程度较高的细胞中,CDK12表达水平明显下降,表明CDK12对细胞的分化具有重要作用。

2.5 对 DNA 损伤修复的调控

CDK12/cyclin K 复合物通过调控 RNAP II CTD 磷酸化来调节相关 DDR 基因的表达。CDK12/cyclin K 的缺失主要抑制 *BRCA*、*ATR*、*FANCI* 和 *FANCD2* 等具有大量外显子的长基因的转录^[5]。同时, 抑制 *BRCA1* 基因表达将提高细胞对 DNA 损伤剂的敏感性。CDK12 激酶结构域突变将导致同源重组 (homologous recombination, HR) 障碍, 引起 DNA 双链断裂损伤, 抑制 DNA 损伤修复^[16]。

3 CDK12 与肿瘤发生发展的关系

3.1 乳腺癌

人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 阳性乳腺癌患者在乳腺癌患者中约占 20%。在 *HER2* 基因扩增型乳腺癌患者中, 常存在 *CDK12* 与 *HER2* 基因共扩增现象^[17]。毛细血管扩张性共济失调蛋白 (ataxia-telangiectasia mutated proteins, ATM) 参与调控 DNA 损伤修复和 mRNA 剪接过程。CDK12 可调节 ATM 以及 DNAJB6-L 的最后外显子 (alternative last exon, ALE) 的剪接, 促进肿瘤细胞的迁移和侵袭^[18]。Choi 等^[19]指出, *CDK12* 通过磷酸化 RNAP II 激活 WNT 和 IRS1-ErbB-PI3K 等致癌通路, 维持乳腺癌肿瘤干细胞的自我更新, 驱动乳腺癌的发生发展。研究发现, 抑制 *CDK12* 有助于提高曲妥珠单抗对 *HER2* 阳性肿瘤的抗癌效果。三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 中存在 DNA 损伤修复相关基因的突变, 包括 *p53*、*BRCA1*、*BRCA2* 基因等, 使用 *CDK12* 抑制剂可以抑制 TNBC 细胞增殖以及增强肿瘤细胞对聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (poly ADP-ribose polymerase, PARP) 抑制剂的敏感性^[20]。

3.2 前列腺癌

对原发性前列腺癌 (PCa) 和转移性去势抵抗性前列腺癌 (mCRPC) 的基因组分析发现, *CDK12* 突变在 PCa 中约占 2%~4%, 在 mCRPC 中约占 4%~11%^[21]。与其他肿瘤细胞中 *CDK12* 突变表现出的同源重组修复缺陷不同, mCRPC 患者中 *CDK12* 突变表现为串联重复表型, 其特点为基因融合增加、新抗原开放阅读框和高免疫浸润等^[22-23]。Wu 等^[24]

鉴定出了一种以 *CDK12* 双等位基因失活突变为特征的新型前列腺癌亚型, 临床表现出高侵袭性特征, 具有较高的高格里森评分。研究表明, *CDK12* 的突变与前列腺癌的恶性程度相关, 对 *CDK12* 的深入研究有望为前列腺癌的治疗提供新的方向。

3.3 胃癌

MAPK 信号通路是癌变过程中典型的信号转导途径。*CDK12* 通过磷酸化 P21 蛋白激活激酶 2 (p21 protein activated kinase 2, PAK2) 中的 Thr134 和 Thr169, 激活 MAPK 信号通路, 促进胃癌的发生发展^[25]。研究发现, 在 *HER2* 阳性胃癌中存在 *CDK12* 扩增现象^[26-27]。Ji 等^[28]在胃肿瘤细胞中检测到 *CDK12* 表达水平较高, 此外 *CDK12* 高表达患者的总生存率低于 *CDK12* 低表达患者。这些研究表明 *CDK12* 在胃癌的发生发展中具有重要作用。

3.4 尤文肉瘤

EWS/FL1 是尤文肉瘤 (Ewing's sarcoma, ES) 中最常见的染色体重排基因, EWS/FLI 融合蛋白可调控致癌基因的表达, 已成为尤文肉瘤的分子诊断标志物。*CDK12* 在尤文肉瘤中通常不发生突变, 但抑制 *CDK12* 的表达在 EWS/FLI 阳性的尤文肉瘤中具有合成致死性。用 THZ531 处理 ES 细胞会抑制 DDR 基因的表达, 提升细胞对 PARP 抑制剂的敏感性^[29]。*CDK12* 和 PARP 抑制剂的联合使用在 ES 细胞的异种移植小鼠模型中表现出强烈的协同作用^[29]。*CDK12* 抑制剂为尤文肉瘤的治疗提供了一种新的策略。

4 细胞周期蛋白依赖性激酶 12 抑制剂研究现状

由于 *CDK12* 在肿瘤发生发展中具有重要作用, 抑制 *CDK12* 的表达将为多种肿瘤的治疗提供新的方法。尽管 *CDK12* 的作用机制未完全明确, 但由于其在肿瘤治疗中具有极大潜力, *CDK12* 抑制剂的开发已成为当下研究的热点, 目前文献已报道了多种 *CDK12* 抑制剂, 以下综述了目前具有代表性的 *CDK12* 抑制剂的研究进展。

4.1 THZ531

2014 年, Kwiatkowski 等^[30]从激酶抑制剂库中筛选出 *CDK7* 抑制剂 THZ1 (1)。THZ1 中的丙酰胺亲电弹头可与 *CDK7* 的 C 端延伸中的 Cys312

形成不可逆共价键。Zhang 等^[31]根据 CDK12-cyclin K 的共晶结构发现, CDK12 的 Cys1039 和 CDK7 的 Cys312 具有相似的空间位置。Zhang 等用苯基(1-哌啶基)甲酮取代 THZ1 中的 *N*-苯基苯甲酰胺, 得到了化合物 THZ531 (**2**)。共晶结构表明, THZ531 中 2-氨基嘧啶可与 CDK12 激酶铰链区的 Met816 形成 2 个氢键^[31](见图 4)。THZ531 几乎消除了对 CDK7 的激酶抑制活性, IC_{50} 值是 $8.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 而对 CDK12 与 CDK13 的选择性大大提高, IC_{50} 值分别为 0.158 和 $0.069 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在尤文肉瘤细胞中, THZ531 抑制 DNA 修复相关基因的表达, 并增强细胞对奥拉帕尼的敏感性。最新研究表明, THZ531 作为 ABC 蛋白转运体的底物介导细胞耐药性的产生, 还需进一步探索适合临床应用的小分子抑制剂。

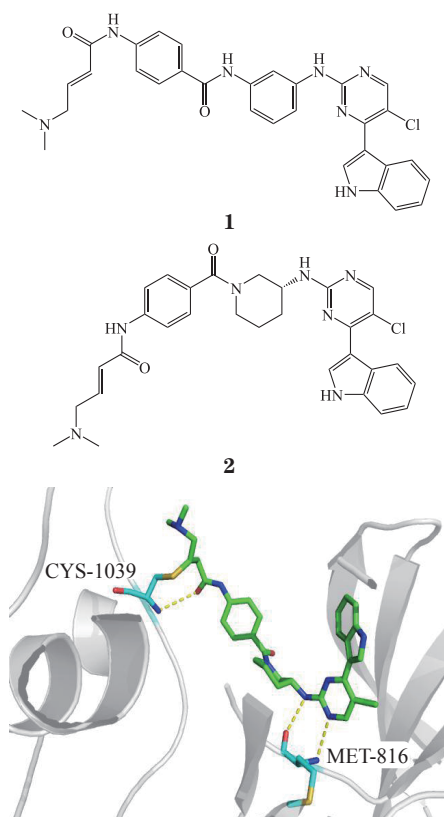


图 4 THZ531 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 5ACB)
Figure 4 Molecular docking model of THZ531 with CDK12 (PDB ID: 5ACB)

4.2 SR-4835

基于 THZ531 较好的激酶选择抑制活性, Quereda 等^[32]从 THZ531 类似物激酶抑制剂库中筛

选得到了化合物 SR-4835 (**3**)。SR-4835 和 CDK12 的共晶结构表明, SR-4835 通过 C6-N7、嘌呤环 N7 和苯并咪唑环与 CDK12 激酶结构域的 Tyr815、Met816 和 Asp819 形成氢键^[32](见图 5)。该化合物对 CDK12 与 CDK13 具有高选择性, 对 CDK12 的 IC_{50} 值为 $99 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, K_d 值为 $98 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。SR-4835 对 TNBC 细胞具有较强的抑制作用, EC_{50} 值为 $20 \sim 40 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[32]。在患者来源的 TNBC 异种移植小鼠中进行的研究发现, SR-4835 可显著抑制肿瘤生长, 联合 PARP 抑制剂治疗可使肿瘤快速消退。单独使用 SR-4835 未引起小鼠体质量下降, 对小鼠无明显毒性。SR-4835 作为一个具有良好活性的抑制剂, 有望成为治疗 TNBC 的候选药物。

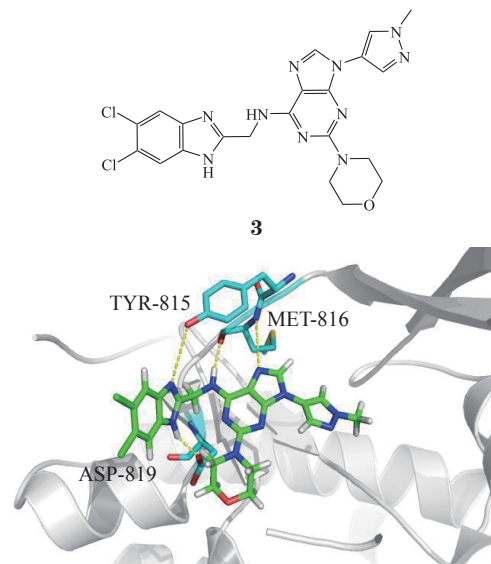


图 5 SR-4835 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 6B3E)
Figure 5 Molecular docking model of SR-4835 with CDK12 (PDB ID: 6B3E)

4.3 MFH290

2004 年, Misra 等^[33]报道了 CDK2 抑制剂 SNS032 (**4**), 研究发现 SNS032 的哌啶环可与 CDK12 的 Cys1039 共价结合。Liu 等^[34]结合 THZ531 的结构特征, 对 SNS032 进行结构改造, 得到了带有丙烯酰胺基团的化合物 **5**, 其对 CDK7 的抑制作用降低 ($IC_{50} = 0.457 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 进一步引入 3-氨基哌啶结构得到化合物 MFH290 (**6**)。MFH290 可与 CDK12 的 Cys1039 进行共价结合^[34](见图 6)。MFH290 对 CDK12 具有较高的选择性

($IC_{50}=0.025 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。MFH290 在小鼠体内药代动力学测定结果显示, 静脉注射给药时其半衰期较短, 清除率较高 ($T_{1/2}=0.17 \text{ h}$, $CL=102.03 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), 还需要进一步结构优化以提高体内代谢稳定性。

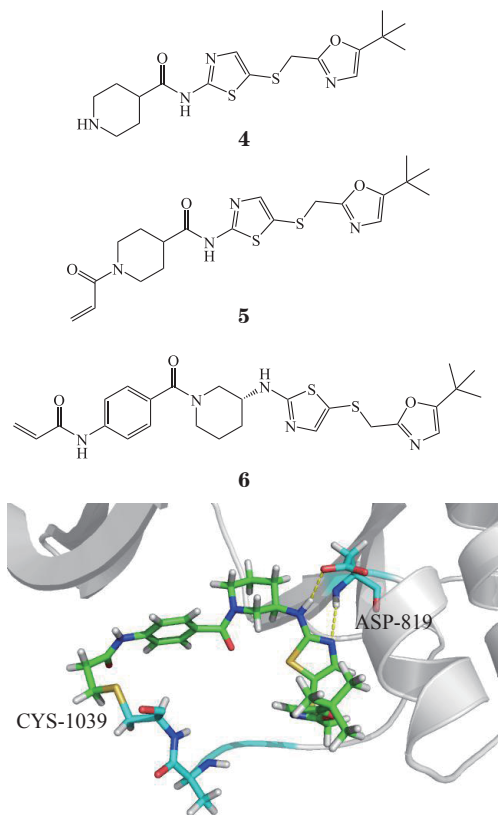


图 6 MFH290 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 5ACB)
Figure 6 Molecular docking model of MFH290 with CDK12 (PDB ID: 5ACB)

4.4 BSJ-4-116

Jiang 等^[35]以 THZ531 中的结构片段作为优势配体, 选择 cereblon (CRBN) 作为 E3 泛素连接酶, 设计合成了一系列降解分子, 其中 BSJ-4-23 (7) 对 CDK12 具有显著降解作用。研究发现, BSJ-4-23 可与 CRBN/CDK12 形成稳定的三元复合物, 而无法与 CDK13 形成稳定的复合物, 从而实现了 CDK12 的选择性。(R)-3-氨基哌啶是诱导 CDK12 发生降解的特殊位置, 进一步优化得到降解剂 BSJ-4-116 (8)。共晶结构表明, BSJ-4-116 中氨基嘧啶部分可与 CDK12 激酶铰链区的 Met816 形成 2 个氢键^[35] (见图 7), 其对 CDK12 的抑制活性有所提

高 (IC_{50} 为 $6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)。在 Jurkat 细胞中, BSJ-4-116 可诱导 CDK12 降解, CDK13 水平未有明显变化。此外, BSJ-4-116 可克服 CDK12 的 C1039F 突变产生的获得性耐药性。BSJ-4-116 作为第一个选择性 CDK12 降解剂, 为 CDK12 作用机制的研究以及后续抑制剂的开发提供了方向, 但是长期暴露于该药可导致 CDK12 突变产生获得性降解抗性。因此, CDK12 降解剂的开发有待进一步的研究。

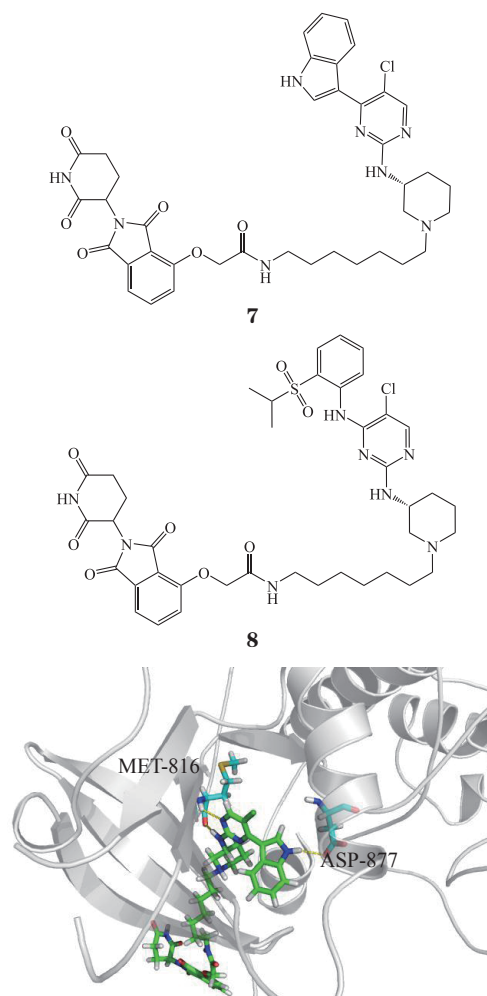


图 7 BSJ-4-116 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 5ACB)
Figure 7 Molecular docking model of BSJ-4-116 with CDK12 (PDB ID: 5ACB)

4.5 Dinaciclib

Dinaciclib (MK-7965, SCH727965, 9) 是由德国默克 (Merck) 公司研发的多靶点的 CDK1/2/5/9 抑制剂。Paruch 等^[36]以吡唑并嘧啶为结构基础, 对化合物 10 进行优化得到了化合物 11, 该化合物对

CDK2 具有较好的抑制活性。对吡唑并嘧啶环进行一系列结构改造最终得到化合物 dinaciclib, 该化合物可与 CDK12 的 Met816 形成关键性氢键^[37] (见图 8)。Dinaciclib 对 CDK1、CDK2、CDK5 和 CDK9 的 IC₅₀ 分别为 3、1、1 和 4 nmol·L⁻¹^[38]。Dinaciclib 联合帕比司他用药可诱导 MLL-AF9 肿瘤细胞凋亡, 使小鼠中位生存期从 33 d 增加到 52 d。研究发现, dinaciclib 对 CDK12 也具有一定抑制活性, IC₅₀ 为 50 nmol·L⁻¹。在 BRCA 突变且对 PARP 抑制剂耐药的 TNBC 患者中, dinaciclib 可抑制肿瘤 DNA 修复, 同时增强肿瘤对 PARP 抑制剂的敏感性。尽管 dinaciclib 抑制活性较高, 但缺乏 CDK12 选择性, 进一步开发具有选择性的 CDK12 抑制剂具有重要意义。

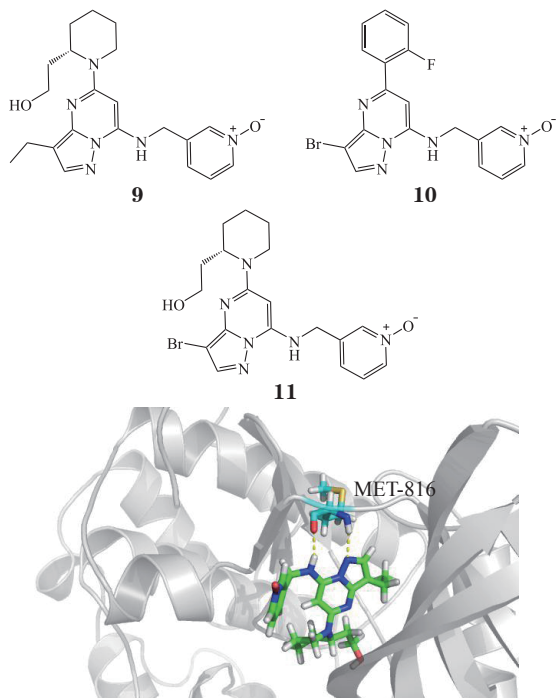


图 8 Dinaciclib 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 4NST)
Figure 8 Molecular docking model of dinaciclib with CDK12 (PDB ID: 4NST)

4.6 CDK12-IN-3

CDK12-IN-3 (12) 是由阿斯利康团队研发的一种选择性的 CDK12 抑制剂。CDK12-IN-3 是基于 dinaciclib 和 SR-3029 (13) 的结构设计的。Dinaciclib 是一种高效非特异性的 CDK1/2/5/9/12 抑制剂。SR-3029 在低 ATP 水平下对 CDK12 具有中度抑制活性, 对 CDK1/2/7/9 的抑制活性较差^[39]。

研究发现, SR-3029 中嘌呤核心和二氟联苯咪唑结构对 CDK12 的选择性具有重要作用; dinaciclib 中 (S)-3-(哌啶-2-烷基) 取代邻苯丙醇结构是活性提升的关键。基于此, 阿斯利康团队采用优势片段相拼合的设计策略, 首先设计得到化合物 14, 该化合物对 CDK12 具有较好的选择性, 但是其抑制活性大大降低。对嘌呤核心进一步结构优化得到化合物 15, 该化合物对 CDK12 和 CDK2 同时具有较高的抑制活性。采用异丙基替代化合物 15 中嘌呤结构 N-9 上的乙基, 得到化合物 CDK12-IN-3。共晶结构显示, 该化合物可与 CDK12 中 Tyr815、Met816 和 Asp819 形成氢键^[40] (见图 9)。CDK12-IN-3 在高 ATP 水平下对 CDK12 表现出了较高的选择抑制活性, IC₅₀ 值为 491 nmol·L⁻¹^[40]。研究发现, CDK12-IN-3 可抑制 RNAP II CTD 的 Ser2 磷酸化, 对卵巢癌 OV90 细胞株的生长有抑制作用。

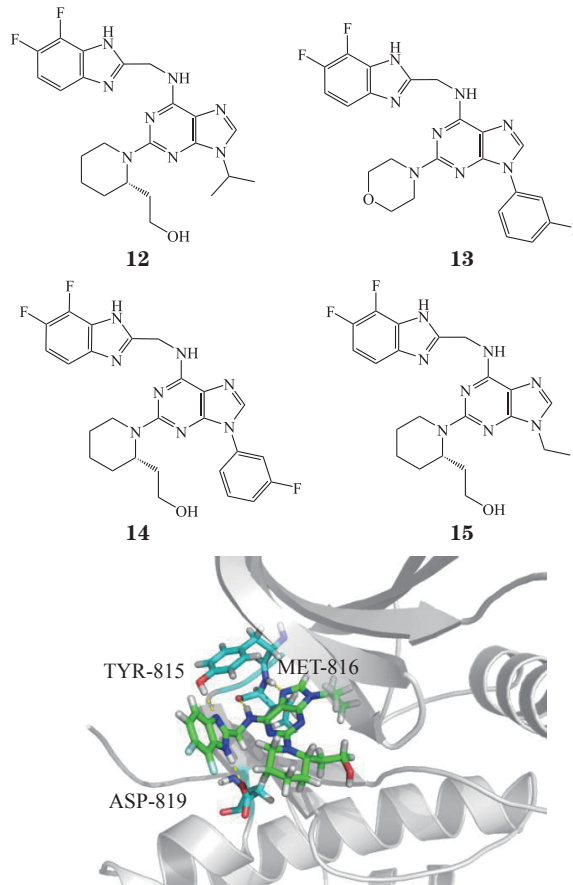


图 9 CDK12-IN-3 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 6B3E)
Figure 9 Molecular docking model of CDK12-IN-3 with CDK12 (PDB ID: 6B3E)

4.7 E9

Nathanael 等^[41]以 dinaciclib 和 THZ531 为基础, 设计得到了专利化合物 **16**, 相比于 dinaciclib, 该化合物对 CDK9 的选择性有所提高, 进一步优化得到专利化合物 E9 (**17**), 其与 THZ 系列和 dinaciclib 相比, 选择性均有一定的提高。共晶结构表明, E9 中丙烯酰胺结构可与 CDK12 的 Cys1039 共价结合^[42] (见图 10)。研究发现, E9 克服了 THZ 系列化合物作为 ABC 转运体底物易产生耐药性的缺陷^[42]。E9 在低浓度范围内与生物素化的 THZ1 强烈竞争与 CDK12 的结合。在 THZ1 耐药的人 NB 细胞 (THZ1^R NB) 和肺癌模型中, E9 表现出较强的抗增殖活性, IC₅₀ 为 8~40 nmol·L⁻¹。E9 避免了 ABC 蛋白转运体介导的药物外排, 有望成为靶向 CDK12 的候选药物。

5 结语

CDK12 调控转录延伸, 参与 DDR、DNA 复制和 RNA 剪接等过程, 在肿瘤的发生发展中具有重要作用。目前 CDK12 抑制剂尚处于临床前研究阶段。由于 CDK12 和 CDK13 结构高度相似, 现有的 CDK12 抑制剂多为 CDK12/13 双重抑制剂, 缺乏 CDK12 特异性。随着对 CDK12 和 CDK13 结构的深

入研究, 计算机模拟等手段将会为 CDK12 抑制剂的筛选开发提供新的方向。部分 CDK12 抑制剂由于较差的药代动力学性质而限制了临床应用。因此, 开发具有良好成药性的选择性 CDK12 抑制剂不仅有助于深入研究 CDK12 的生物调控机制, 还可为肿瘤的治疗提供新策略。

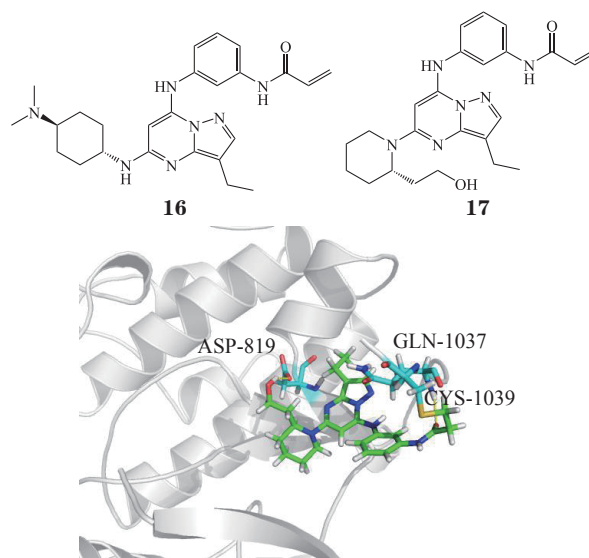


图 10 E9 与 CDK12 的对接图 (PDB ID: 6B3E)
Figure 10 Molecular docking model of E9 with CDK12 (PDB ID: 6B3E)

[参考文献]

- [1] Chou J, Quigley D A, Robinson T M, *et al.* Transcription-associated cyclin-dependent kinases as targets and biomarkers for cancer therapy[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(3): 351-370.
- [2] Greenleaf A L. Human CDK12 and CDK13, multi-tasking CTD kinases for the new millenium[J]. *Transcription*, 2019, 10(2): 91-110.
- [3] Bai N, Xia F, Wang W, *et al.* CDK12 promotes papillary thyroid cancer progression through regulating the c-myc/beta-catenin pathway[J]. *J Cancer*, 2020, 11(15): 4308-4315.
- [4] Yang B, Chen J, Teng Y. CDK12 promotes cervical cancer progression through enhancing macrophage infiltration[J/OL]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 6645885[2021-01-29]. <https://www.hindawi.com/journals/jir/2021/6645885>. DOI: 10.1155/2021/6645885.
- [5] Liu H, Liu K, Dong Z. Targeting CDK12 for cancer therapy: function, mechanism, and drug discovery[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(1): 18-26.
- [6] Solomon T, Derek R D, Andrii M. The promise and current status of CDK12/13 inhibition for the treatment of cancer[J]. *Fut Med Chem*, 2020, 13(2): 117-141.
- [7] Chen F X, Smith E R, Shilatifard A. Born to run: control of transcription elongation by RNA polymerase II[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(7): 464-478.
- [8] Pilarova K, Herudek J, Blazek D. CDK12: cellular functions and therapeutic potential of versatile player in cancer[J/OL]. *NAR Cancer*, 2020, 2(1): zcaa003[2020-2-20]. <https://academic.oup.com/narcancer/article/2/1/zcaa003/5775299>. DOI: 10.1093/narcanc/zcaa003.
- [9] Chirackal Manavalan A P, Pilarova K, Kluge M, *et al.* CDK12 controls G₁/S progression by regulating RNAPII processivity at core DNA replication genes[J/OL]. *EMBO Rep*, 2019, 20(9): e47592[2019-06-24]. <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embr.201847592>. DOI: 10.15252/embr.201847592.
- [10] Rodrigues F, Thuma L, Klambt C. The regulation of glial-specific

- splicing of Neurexin IV requires HOW and CDK12 activity[J]. *Development*, 2012, 139(10): 1765–1776.
- [11] Choi S H, Kim S, Jones K A. Gene expression regulation by CDK12: a versatile kinase in cancer with functions beyond CTD phosphorylation[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(5): 762–771.
- [12] Lei T, Zhang P, Zhang X, *et al.* Cyclin K regulates prereplicative complex assembly to promotemammalian cell proliferation[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1876[2018-04-16]. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04258-w>. DOI:10.1038/s41467-018-04258-w.
- [13] Chen H R, Juan H C, Wong Y H, *et al.* CDK12 regulates neurogenesis and late-arising neuronal migration in the developing cerebral cortex[J]. *Cereb Cortex*, 2017, 27(3): 2289–2302.
- [14] Schecher S, Walter B, Falkenstein M, *et al.* Cyclin K dependent regulation of Aurora B affects apoptosis and proliferation by induction of mitotic catastrophe in prostate cancer[J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(8): 1643–1653.
- [15] Dai Q, Lei T, Zhao C, *et al.* Cyclin K-containing kinase complexes maintain self-renewal in murine embryonic stem cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(30): 25344–25352.
- [16] Liang S, Hu L, Wu Z, *et al.* CDK12: a potent target and biomarker for human cancer therapy[J/OL]. *Cells*, 2020, 9(6)[2020-06-10]. <https://www.mdpi.com/2073-4409/9/6/1483>. DOI:10.3390/cells9061483.
- [17] Liang Y, Qian C, Xie Y, *et al.* JWA suppresses proliferation in trastuzumab-resistant breast cancer by downregulating CDK12[J/OL]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 306[2021-09-20]. <https://www.nature.com/articles/s41420-021-00693-9>. DOI:10.1038/s41420-021-00693-9.
- [18] Tien J F, Mazloomian A, Cheng S G, *et al.* CDK12 regulates alternative last exon mRNA splicing and promotes breast cancer cell invasion[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(11): 6698–6716.
- [19] Choi H J, Jin S, Cho H, *et al.* CDK12 drives breast tumor initiation and trastuzumab resistance via WNT and IRS1-ErbB-PI3K signaling[J/OL]. *EMBO Rep*, 2019, 20(10): e48058[2019-08-09]. <https://www.embopress.org/doi/epdf/10.15252/embr.201948058>. DOI: 10.15252/embr.201948058.
- [20] Emadi F, Teo T, Rahaman M H, *et al.* CDK12: a potential therapeutic target in cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25(12): 2257–2267.
- [21] Sokol E S, Pavlick D, Frampton G M, *et al.* Pan-cancer analysis of CDK12 loss-of-function alterations and their association with the focal tandem-duplicator phenotype[J]. *Oncologist*, 2019, 24(12): 1526–1533.
- [22] Lotan T L, Antonarakis E S. CDK12 deficiency and the immune microenvironment in prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(2): 380–382.
- [23] Dong B, Fan L, Yang B, *et al.* Use of circulating tumor DNA for the clinical management of metastatic castration-resistant prostate cancer: a multicenter, real-world study[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2021, 19(8): 905–914.
- [24] Wu Y M, Cieslik M, Lonigro R J, *et al.* Inactivation of CDK12 delineates a distinct immunogenic class of advanced prostate cancer[J]. *Cell*, 2018, 173(7): 1770–1782 e14.
- [25] Liu H, Shin S H, Chen H, *et al.* CDK12 and PAK2 as novel therapeutic targets for human gastric cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(14): 6201–6215.
- [26] Zhou C, Feng X, Yuan F, *et al.* Difference of molecular alterations in HER2-positive and HER2-negative gastric cancers by whole-genome sequencing analysis[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 3945–3954.
- [27] Liu M, Fan H, Li T, *et al.* Low expression of CDK12 in gastric cancer is correlated with advanced stage and poor outcome[J/OL]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(7): 152962[2020-04-11]. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0344033820300340>. DOI:10.1016/j.prp.2020.152962.
- [28] Ji J, Zhou C, Wu J, *et al.* Expression pattern of CDK12 protein in gastric cancer and its positive correlation with CD8(+) cell density and CCL12 expression[J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(8): 1142–1148.
- [29] Iniguez A B, Stolte B, Wang E J, *et al.* EWS/FLI confers tumor cell synthetic lethality to CDK12 inhibition in Ewing sarcoma[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(2): 202–216.
- [30] Kwiatkowski N, Zhang T, Rahl P B, *et al.* Targeting transcription regulation in cancer with a covalent CDK7 inhibitor[J]. *Nature*, 2014, 511(7511): 616–620.
- [31] Zhang T, Kwiatkowski N, Olson C M, *et al.* Covalent targeting of remote cysteine residues to develop CDK12 and CDK13 inhibitors[J]. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(10): 876–884.
- [32] Quereda V, Bayle S, Vena F, *et al.* Therapeutic targeting of CDK12/CDK13 in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(5): 545–558.

- [33] Misra R N, Xiao H Y, Kim K S, *et al.* *N*-(Cycloalkylamino) acyl-2-aminothiazole inhibitors of Cyclin-dependent kinase 2. *N*-[5-[[[5-(1,1-dimethylethyl)-2-oxazolyl] methyl] thio]-2-thiazolyl]-4-piperidinecarboxamide (BMS-387032), a highly efficacious and selective antitumor agent[J]. *J Med Chem*, 2004, 47: 1719-1728.
- [34] Liu Y, Hao M, Leggett A L, *et al.* Discovery of MFH290: a potent and highly selective covalent inhibitor for cyclin-dependent kinase 12/13[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(13): 6708-6726.
- [35] Jiang B, Gao Y, Che J, *et al.* Discovery and resistance mechanism of a selective CDK12 degrader[J]. *Nat Chem Biol*, 2021, 17(6): 675-683.
- [36] Paruch K, Dwyer M P, Alvarez C, *et al.* Discovery of dinaciclib (SCH 727965): a potent and selective inhibitor of cyclin-dependent kinases[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2010, 1(5): 204-208.
- [37] Johnson S F, Cruz C, Greifenberg A K, *et al.* CDK12 inhibition reverses De Novo and acquired PARP inhibitor resistance in BRCA wild-type and mutated models of triple-negative breast cancer[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(9): 2367-2381.
- [38] Novotna E, Bukum N, Hofman J, *et al.* Aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3): a missing piece of the puzzle in the dinaciclib interaction profile[J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(9): 2845-2857.
- [39] Bibian M, Rahaim R, Choi J, *et al.* Development of highly selective casein kinase 1delta/1epsilon (CK1delta/epsilon) inhibitors with potent antiproliferative properties[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(15): 4374-4380.
- [40] Johannes J W, Denz C R, Su N, *et al.* Structure-based design of selective non-covalent CDK12 inhibitors[J]. *ChemMedChem*, 2018, 13(3): 231-235.
- [41] Nathanael G, Zhang T, Nicholas P, *et al.* Inhibitor of cyclin-dependent kinases: WO, 2016/160617A2[P]. 2015-03-27.
- [42] Gao Y, Zhang T, Terai H, *et al.* Overcoming resistance to the THZ series of covalent transcriptional CDK inhibitors[J]. *Cell Chem Biol*, 2018, 25(2): 135-142.



【专家介绍】唐伟方：教授，药物化学专业博士生导师，现任中国药科大学教务处处长。主要研究方向：1) 小分子化学药物的设计与合成，研究侧重于通过合理药物设计，发现具有临床前研究价值的创新药物；2) 不对称合成及药物合成工艺研究。目前主持和参与国家自然科学基金、江苏省自然科学基金、校企合作项目、中央高校基本科研业务费专项基金重点基础研究等多项科研项目。2015年作为主要参与人发现了1.1类抗肿瘤新药并转让给上海复星医药。主编和参编学术著作和教材8本，申请中国发明专利5项，其中2项已获授权。在 *Eur J Med Chem*、*J Org Chem*、*Adv Synth Catal* 等国际学术期刊发表 SCI 论文 20 多篇。



【专家介绍】陆涛：教授，药物化学专业博士生导师，中国药科大学副校长。现担任全国药类专业学位研究生教育指导委员会副主任委员、国家基金委生命科学部通讯评议专家、教育部本科教学审核评估专家、《药学进展》执行主编等学术职务。主要研究方向：新药分子设计与合成研究、计算机辅助药物设计、有机合成化学、药物生物统计与计算药理学。主持完成多项国家、省部级课题，目前课题组在研国家自然科学基金 10 项，自主研发的抗肿瘤化合物 FN-1501 转让给上海复星医药产业有限公司，后续获得美国 FDA “突破性药物” (Breakthrough) 资格、临床试验许可和孤儿药资格认证。目前，FN-1501 作为治疗急性髓系白血病 (AML) 的药物已在美国、澳大利亚和我国获批准进入 I 期临床研究，有望弥补国内 AML 治疗的药物空白。