·生命科学与新药探索·

DNA 聚合酶 θ 抑制剂的研究进展

张静雪，张昳彬，余子恒，冯捷，陆涛 *

（中国药科大学理学院，江苏 南京 210009）

[摘要] DNA 聚合酶 θ（DNA polymerase θ, Pol θ）作为目前已知的唯一同时具备解旋酶活性和聚合酶活性的真核生物 DNA 聚合酶，在修复 DNA 双链断裂（double strand break，DSB）的微同源性介导的末端连接（microhomology-mediated end joining，MMEJ）途径中发挥重要作用。近年来，Pol θ 在同源重组缺陷（homologous recombination deficiency，HRD）肿瘤中的合成致死效应引起了广泛关注，成为国内外多家制药公司重点研发的抗癌靶点之一。通过对 Pol θ 蛋白的结构、功能以及小分子抑制剂的最新研究进展进行综述，有利于进一步开发更高效、更具特异性的 Pol θ 靶向抑制剂，用于 HRD 肿瘤的精准治疗。

[关键词] 合成致死；同源重组缺陷；微同源性介导的末端连接；DNA 聚合酶 θ 小分子抑制剂

[中图分类号] R914 [文献标志码] A [文章编号] 1001-5094（2025）05-0360-13

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.20250057

Research Progress of DNA Polymerase θ Inhibitors

ZHANG Jingxue, ZHANG Yibin, YU Ziheng, FENG Jie, LU Tao

(School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] DNA polymerase θ (Pol θ), the only eukaryotic DNA polymerase currently known to possess both helicase and polymerase activities, plays a crucial role in DNA double-strand break (DSB) repair pathway–microhomology-mediated end joining (MMEJ). The synthetic lethality of Pol θ in homologous recombination deficiency (HRD) tumors has garnered significant attention in recent years. And Pol θ has become one of the pivotal anticancer targets in the research and development of numerous domestic and foreign pharmaceutical companies. This paper systematically reviews the structure and function of Pol θ protein and the latest research progress of small-molecule inhibitors, which is beneficial for further development of more efficient and specific Pol θ-targeted inhibitors for precision treatment of HRD tumors.

[Key words] synthetic lethality; homologous recombination deficiency; microhomology-mediated end joining; DNA polymerase θ small-molecule inhibitor

在内源性和外源性因素的影响下，细胞会经历单链断裂、双链断裂（double strand break，DSB）和碱基损伤等多种形式的 DNA 损伤。为了维持基因组稳定性，细胞会激活 DNA 损伤应答（DNA-damage response，DDR）机制，以启动相应的 DNA 修复过程[1]。其中，DSB 是较为严重的 DNA 损伤类型，主要依赖同源重组（homologous recombination，HR）和非同源末端连接（non-homologous end joining，NHEJ）两种修复途径来恢复 DNA 完整性。然而，细胞进入有丝分裂（M 期）后，主要依赖微同源介导的末端连接（microhomology-mediated end joining，MMEJ）来修复 DSB[2]。其中，DNA 聚合酶 θ（DNA polymerase θ，Pol θ）是 MMEJ 修复途径的关键酶，近年来，其在同源重组缺陷（homologous recombination deficiency，HRD）肿瘤细胞的合成致死作用引起了广泛关注。

接受日期：2025-04-16

基金项目：国家自然科学基金资助项目（No. 82473895）

* 通信作者：陆涛，教授

研究方向：新药分子设计与合成研究

E-mail：lutao@cpu.edu.cn

1 Pol θ 与同源重组缺陷的合成致死关系

合成致死效应是癌症研究与治疗中的一项前沿策略，指当两个非致死基因突变单独存在时不会影响细胞存活，但同时发生时却会导致细胞死亡[3]。相比传统的放疗和化疗对细胞的无差别杀伤，合成致死策略能够精准地靶向癌细胞，具有更强的特异性，有效降低不良反应。这种策略在 DDR 领域的应用日益广泛，为癌症精准治疗提供了新的方向和潜在突破。

HRD 在肿瘤细胞中具有普遍性，研究表明，在 HRD 肿瘤细胞中，Pol θ 的抑制可诱导合成致死效应。当乳腺癌易感基因 1（breast cancer susceptibility

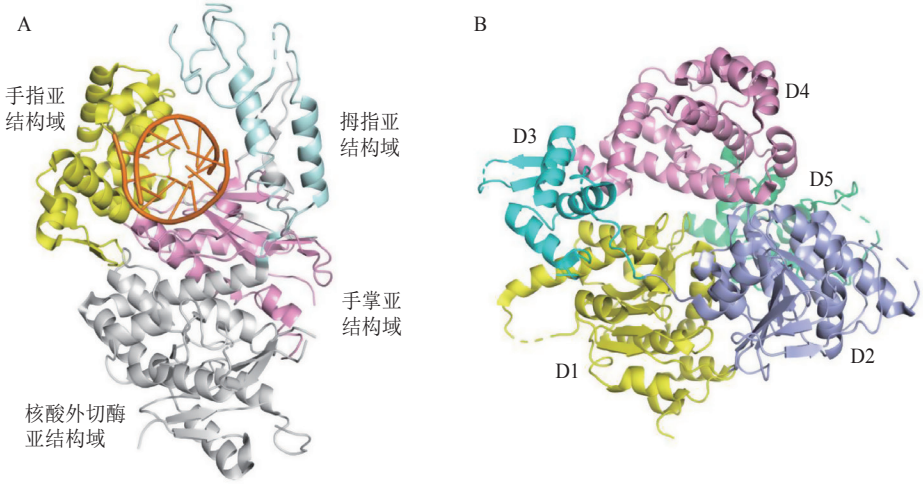
gene 1，*BRAC1*）或 *BRAC2* 发生突变时，Pol θ 会高度表达并引导 DSB 修复途径偏向 MMEJ[4]。另外，研究发现，聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly(ADP-ribose) polymerase，PARP] 抑制剂的耐药性常由 53BP1/Shieldin 功能丧失引起，但在 BRCA1 和 53BP1 均低表达的肿瘤细胞中，Pol θ 抑制剂依然能够诱导细胞死亡，展现出显著的合成致死效应 [5]。进一步研究证明，Pol θ 抑制剂与 PARP 抑制剂或 DNA 修复蛋白 RAD52 抑制剂联合作用于 HR 缺陷型白血病细胞时，可触发非常强的双重合成致死效应，表现出良好的临床应用潜力 [6]。

此外，Pol θ 抑制剂还可以增强肿瘤细胞对放疗的敏感性。研究表明，Pol θ 敲低可使多种肿瘤细胞系对放疗增敏，而对正常细胞几乎没有影响 [7]。同时，PARP 抑制剂 talazoparib 和 Pol θ 抑制剂联用可进一步增强放射增敏作用 [8]。除此之外，Pol θ 在大多数正常细胞中低表达，而在几种人类癌症（如乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌和结直肠癌）中过度表达，并与不良预后有关 [9]。以上结果均表明，Pol θ 抑制剂在安全性方面具有显著优势，并为 HRD 型肿瘤提供了一种新的靶向治疗策略。

2 Pol θ 的结构与功能

Pol θ 是由 *POLQ* 基因编码的一种多功能蛋白质，属于 DNA 聚合酶 A 家族。其结构主要由 3 个部分组成：C-末端 DNA 聚合酶结构域（Pol θ-pol），N-末端解旋酶样结构域（Pol θ-hel），以及二者中间由一个长中心结构域隔开。这一独特的结构赋予了 Pol θ 同时具备解旋酶和聚合酶的能力，使其在 DNA 损伤修复，尤其是 MMEJ 途径中起到关键作用。

Pol θ-pol 和 Pol θ-hel 结构域对 MMEJ 的活性至关重要。Pol θ-pol 由 4 个亚结构域组成：拇指亚结构域、手掌亚结构域、手指亚结构域和一个催化失活的核酸外切酶样亚结构域。Pol θ-hel 结构域由 5 个亚结构域（D1～D5）组成，D1～D4 亚结构域之间排列成扭曲的环状结构，形成一个狭窄的中心通道，用于单链 DNA（single-stranded DNA，ssDNA）的结合和转运。D5 亚结构域在环形结构的外围形成一个较小的螺旋结构，与 D2 和 D4 相互作用。D1 和 D2 亚结构域具有典型的 RecA 螺旋酶折叠结构，负责结合和水解三磷酸腺苷（adenosine triphosphate，ATP）。ATP 水解引发螺旋酶的构象变化，从而推动 ssDNA 的转运。D3 亚结构域向后折叠并与 D1 相互作用，形成一个螺旋束，延伸到 D4 亚结构域。D4 亚结构域包含一个关键的“棘轮螺旋”结构，负责 ssDNA 的结合和转运，同时在 Pol θ-hel 的二聚化和四聚化中发挥关键作用 [10]（见图 1）。



橙色：DNA/RNA
A：Pol θ-pol 结构域（PDB ID：6XBU）；B：Pol θ-hel 结构域（PDB ID：5AGA）

图 1 Pol θ 的结构

Figure 1 Structure of Pol θ

Pol θ 是 MMEJ 途径的关键酶，通过利用断裂位点两侧的短微同源序列进行修复。研究发现，RHINO 蛋白在 M 期特异性积累，经 Polo 样激酶 1（polo-like kinase 1，PLK1）磷酸化后，促进 Pol θ 招募至 DSB 位点，从而促进末端连接[11]。同时，PLK1 可以磷酸化 Pol θ 上 4 个保守的丝氨酸位点，促使 DNA 拓扑异构酶 Ⅱ 结合蛋白 1（DNA topoisomerase Ⅱ binding protein 1，TOPBP1）的 BRCT 结构域与磷酸化的 Pol θ 结合，特异性招募 Pol θ 定位到 DSB 位点，从而启动 M 期的 DSB 修复过程[12]。另外，研究表明，PARP1 通过聚 ADP- 核糖化（PARylation）修饰 Pol θ，将其招募到 DSB 位点。然而，PARylation 修饰的 Pol θ（PAR-Pol θ）无法结合 DNA，处于失活状态。随后，聚（ADP- 核糖）水解酶 [poly(ADP-ribose) glycohydrolase，PARG] 通过去除 Pol θ 上的 PARylation 标记，使其恢复 DNA 结合能力，并重新激活 MMEJ 通路[13]。这表明“PARP1-PARG”通过“先失活后激活”的级联机制协调 MMEJ，而非直接促进其活性。值得注意的是，该机制同样能够作用于 PLK1，从而间接影响 Pol θ 的磷酸化实现对 MMEJ 通路的调控。

因此，深入研究 Pol θ 的功能与机制，能够为理解 DNA 修复的精细调控提供崭新视角，同时也能为开发针对 MMEJ 通路的联合治疗策略提供全新思路。

3 Pol θ 小分子抑制剂

作为 DSB 修复的关键靶标，Pol θ 抑制剂的开发策略已形成明确的结构生物学导向范式。基于其双功能结构特征，当前抑制剂主要分为：靶向聚合酶结构域的抑制剂与靶向解旋酶结构域的抑制剂两类。目前，国内外多家制药企业正积极投入 Pol θ 小分子抑制剂的研发。随着研究的不断深入，已有多个候选药物进入 Ⅰ 期或 Ⅰ/Ⅱ 期临床研究阶段，具体情况见表 1。

表 1 Pol θ 靶向药物的临床试验情况

Table 1 Clinical trials of Pol θ targeted drugs

分子名称	临床试验编号	临床研究阶段	适应证	作用结构域	原研公司
ART-6043	NCT05898399	Ⅰ/Ⅱ 期	转移性实体瘤，晚期恶性实体瘤	Pol θ-pol	Artios Pharma
ART-4215	NCT04991480	Ⅰ/Ⅱ 期	转移性实体瘤，乳腺癌，HER2 阴性乳腺癌	Pol θ-pol	Artios Pharma
GSK4524101	NCT06077877	Ⅰ/Ⅱ 期	实体瘤	Pol θ-hel	GSK/IDEAYA Biosciences
SIM-0508	NCT06686745	Ⅰ 期	晚期恶性实体瘤	Pol θ-hel	南京再明医药
RP-3467	NCT06560632	Ⅰ 期	晚期恶性实体瘤	Pol θ-hel	Repare Therapeutics
MOMA-313	NCT06545942	Ⅰ 期	卵巢癌，转移性实体瘤，晚期恶性实体瘤	Pol θ-hel	MOMA Therapeutics
SYN-818	NCT06666270	Ⅰ 期	局部晚期恶性实体瘤，卵巢癌、转移性实体瘤	Pol θ-hel	杭州圣域生物医药
新生霉素钠	NCT05687110	Ⅰ 期	转移性实体瘤，MMRD 实体瘤，不可切除的实体瘤	Pol θ-hel	National Cancer Institute

HER2：人表皮生长因子受体 2；MMRD：错配修复缺陷

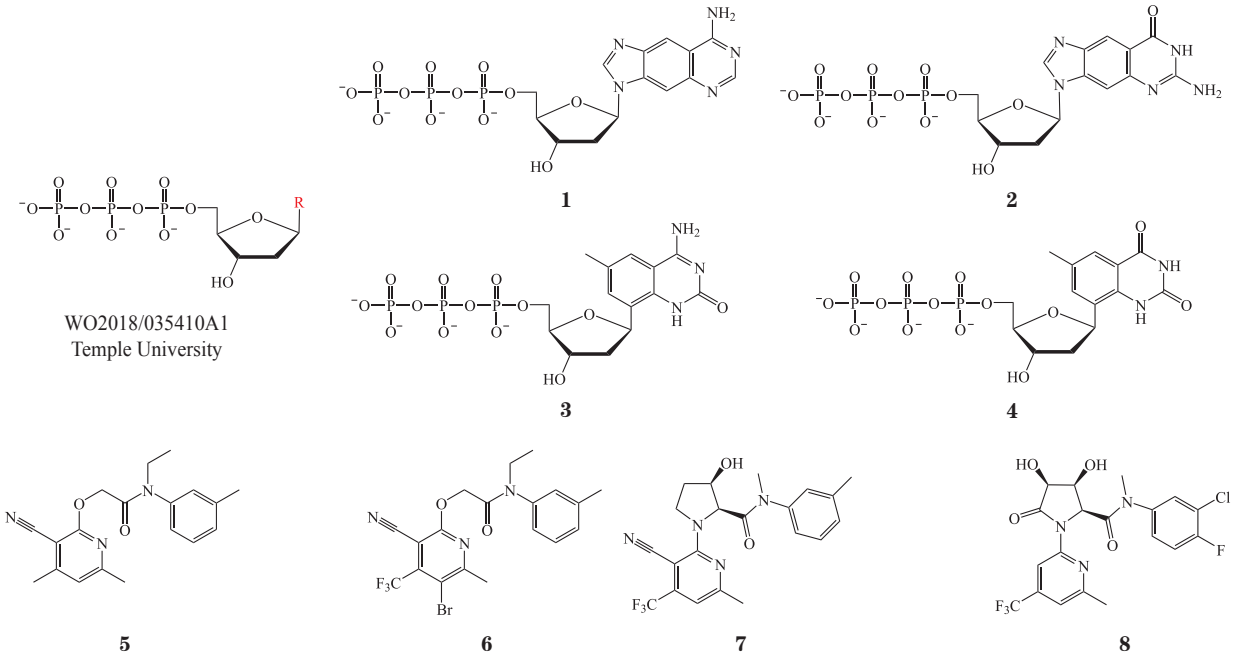
基于已公开的专利和文献分析，2023 年和 2024 年相关专利申请数量显著增长，其中以 Artios 和 IDEAYA 公司最为突出。目前的研究主要集中于临床前药物的开发，尚未有上市药物获批。为系统梳理 Pol θ 小分子抑制剂的研究进展，并为后续药物开发提供借鉴，下文将按照抑制剂的结构类型，对近年来国内外报道的 Pol θ 小分子抑制剂进行总结与分析。

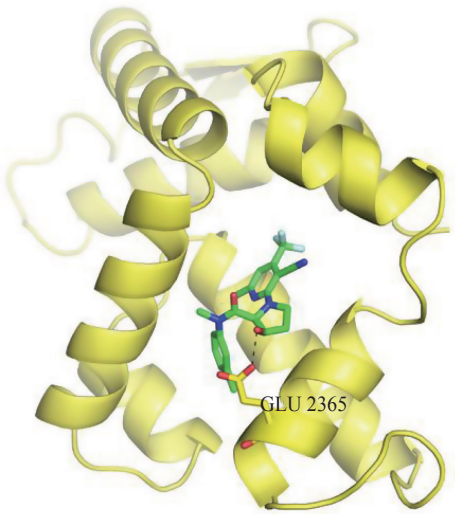
3.1 靶向聚合酶结构域的抑制剂

3.1.1 拓展 DNA 核苷酸类似物 2018 年，Temple University 报道了一系列拓展 DNA 核苷酸及其类似物[14]，这是最早公开的 Pol θ 聚合酶抑制剂，也是目前唯一一类 Pol θ 聚合酶的正构抑制剂。以化合物 **1**～**4** 为代表，该类结构是在原有核苷酸结构的基础上，对苯环进行并环，并进行不同的取代基进行修饰。

3.1.2 含氮五元单杂环类 2022 年，Artios 公司报道了一类以四氢吡咯杂环为母核、具有一定的 Pol θ 抑制活性的变构抑制剂[15]。该公司通过高通量筛选得到苗头化合物 **5**（IC_{50}=4.4 μmol·L^{-1}），进一步在吡啶环的 3 位和 4 位分别引入溴原子、三氟甲基等亲酯性取代基得到化合物 **6**（IC_{50}=400 nmol·L^{-1}），

活性显著提升。由于化合物 **6** 中两个芳环的构象对维持活性至关重要，而柔性的 O—CH_2—C(O) 连接体无法有效稳定芳环的合适构象。Artios 公司尝试使用不同的氨基酸作为连接体，以降低这部分的柔性，并引入羟基，最终得到了化合物 ART-558（**7**）（IC_{50}=7.9 nmol·L^{-1}，内在清除率 CL_{int} ＞ 1 500 μL·min^{-1}·mg^{-1}）。共晶结构分析表明，该化合物能够与位于核苷酸结合位点附近的手指亚结构域内的变构位点结合，两个芳环作为主要药效团分别嵌入 Pol θ 聚合酶结构域的疏水空腔，同时脯氨酸上的羟基与 Glu2365 侧链形成氢键（见图 2）。在此基础上，通过在四氢吡咯环 2 位引入羰基封闭其代谢位点，改变苯胺取代基以提高代谢稳定性，并在四氢吡咯环 3 位引入羟基以降低亲脂性、提高溶解度，最终得到了化合物 ART-812（**8**）（IC_{50}=7.6 nmol·L^{-1}，CL_{int}=30 μL·min^{-1}·mg^{-1}）。





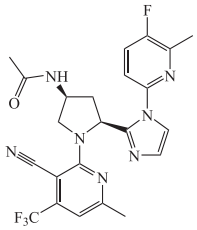
注：黑色线表示氢键

图 2 化合物 ART-558 与 Pol θ-pol 的共晶结构（PDB ID：7ZX1）

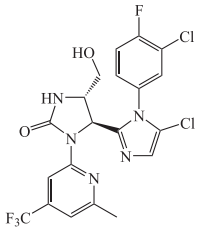
Figure 2 Cocrystal structure of compound ART-558 in complex with Pol θ-pol (PDB ID: 7ZX1)

基于 ART-812，Artios 公司进一步优化得到了化合物 ART-4215（结构尚未披露）。ART-4215 是首个进入临床试验的高选择性、可口服的小分子 Pol θ 聚合酶抑制剂。目前，一项全球开放性 Ⅰ/Ⅱ 期临床研究（NCT04991480）正在进行中，旨在评估其在晚期或转移性实体瘤患者中的安全性、耐受性、药代动力学和初步疗效，该研究预计于 2025 年 8 月完成。第一阶段剂量爬坡的初步数据显示，ART-4215 耐受性良好。

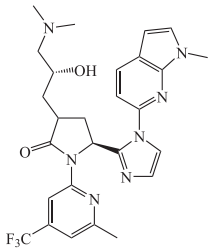
此外，Artios 公司利用生物电子等排原理，将酰胺键替换为三唑或二唑的结构[16]。公开专利表明，该类化合物对 Pol θ 聚合酶均显示出一定的抑制作用，尤其化合物 **9**～**12**，其 IC_{50} 均达到 3 nmol·L^{-1}。



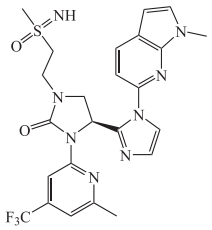
9



10

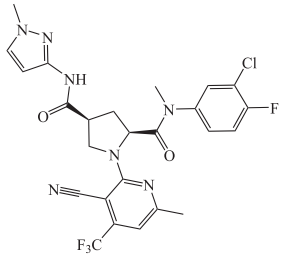


11

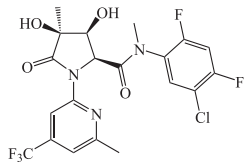


12

2023—2024 年，多家公司在 Artios 公司的公开结构上进行修饰。上海翊石医药科技有限公司在四氢吡咯环的 3 位引入各类长侧链[17]。其中，化合物 **13** 具有较好的 Pol θ 聚合酶活性（IC_{50} < 10 nmol·L^{-1}）和 MDA-MB-436 细胞增殖抑制活性（IC_{50}=0.5 μmol·L^{-1}）。另外，武汉人福创新药物研发中心有限公司主要在四氢吡咯环的两个羟基碳上引入甲基、三氟甲基、二氟甲基等取代基[18]。相较于 ART-812，化合物 **14** 的酶抑制活性（IC_{50}=5 nmol·L^{-1}）和 DLD-1 BRCA2$^{-/-}$ 细胞增殖抑制活性较好（IC_{50}=3.3 μmol·L^{-1}）。

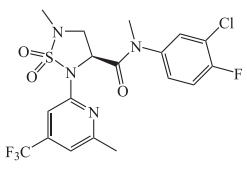


13

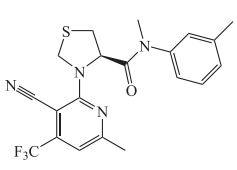


14

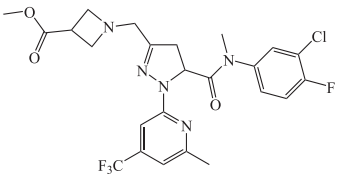
除了取代基的细微改动，北京丹擎医药科技有限公司保留了吡啶环和苯环部分的结构，在四氢吡咯环上引入砜基和氮原子[19]，其中，化合物 **15** 的 Pol θ 酶抑制活性 IC_{50} ≤ 0.1 μmol·L^{-1}。1cBio 公司在四氢吡咯环上引入硫原子、硅原子、硒原子等[20]，实验表明，化合物 **16** 的酶抑制活性 IC_{50} < 100 nmol·L^{-1}，对 DLD-1BRCA2$^{-/-}$ 细胞具有抗增殖活性及选择性。中国药科大学/南京再明医药有限公司也设计了一类二氢吡唑类化合物[21]，其中，化合物 **17** 的酶活性较好，其 IC_{50} 为 24 nmol·L^{-1}。



15



16



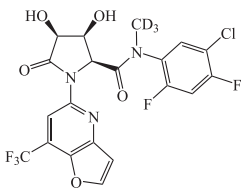
17

此外，四川海思科制药有限公司保留苯环结构，在吡啶环的 2，3 位引入吡唑、呋喃、吡咯等基团，最终得到一系列活性较好的化合物[22]。其中，化合物 **18** 具有较好的酶抑制活性（IC_{50} < 15 nmol·L^{-1}）和 DLD-1 BRCA2$^{-/-}$ 细胞增殖抑制活性（IC_{50}=1.9 μmol·L^{-1}）。正大天晴药业集团股份有限公司保留

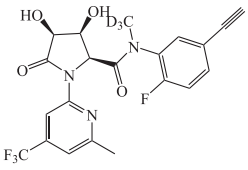
了 ART-812 的结构，在酰胺氮上引入氘代甲基，并在苯环上不同位置引入乙炔基[23]，以期改善代谢，此类化合物对 Pol θ 酶展现出显著的抑制活性（IC_{50} ＜ 0.5 μmol·L^{-1}），其中化合物 **19** 具有较好的肝微粒体稳定性和体内代谢动力学性质。

3.1.3 氮杂环丁烷类 英矽智能科技（上海）有限公司发明了一类以氮杂环丁烷为母核的化合物[24]，Pol θ 酶活实验表明，化合物 **20** 具有较好的酶抑制活性（IC_{50}=23.5 nmol·L^{-1}）和 DLD-1 BRCA2$^{-/-}$ 细胞抗增殖活性（IC_{50}=8.1 μmol·L^{-1}）。2024 年，正大天晴药业集团股份有限公司也公开了一类含四元氧代氮杂环丁烷结构的化合物[25]，其中化合物 **21** 的酶抑制活性 IC_{50} ＜ 0.5 μmol·L^{-1}。

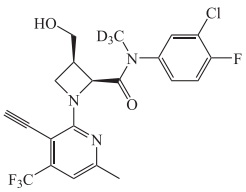
3.1.4 含氮并环类 多家机构或公司在四氢吡咯结构基础上采取了并环改造的策略。中国药科大学/南京再明医药有限公司将苯环、吡啶或嘧啶与四氢吡咯环并环，并引入亲水侧链[26]，其中化合物 **22** 具有较好的 DLD-1 BRCA2$^{-/-}$ 细胞增殖抑制活性及选择性。另外，成都百裕制药股份有限公司将环丙基、环戊烷或含氧环戊烷与四氢吡咯环并环，其中化合物 **23** 具有明显的酶抑制活性（IC_{50} ≤ 1 μmol·L^{-1}）[27]。此外，Cyteir Therapeutics 也采用了相同策略设计了一系列化合物，其中化合物 **24** 和 **25** 的酶活性较好（IC_{50} ≤ 0.1 μmol·L^{-1}）[28]。



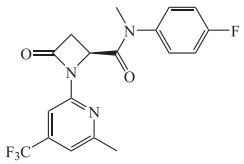
18



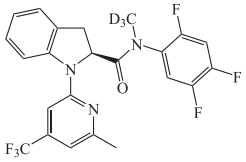
19



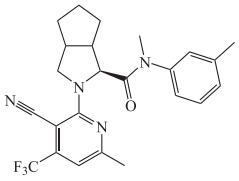
20



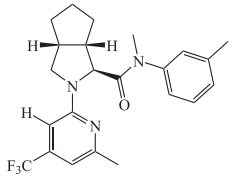
21



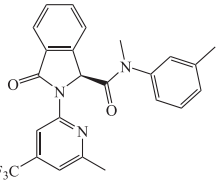
22



23



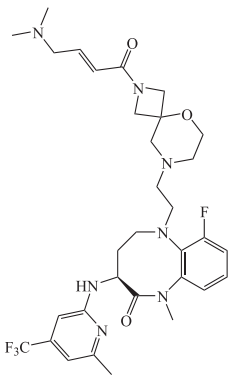
24



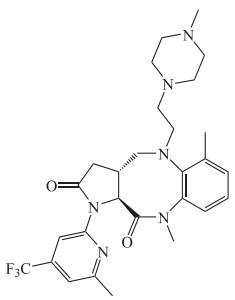
25

3.1.5 苯并二氮杂环辛酮类 2023—2024 年，Artios 公司设计并合成了一类以苯并二氮杂环辛酮为母核的化合物，其创新之处在于将连接链上的酰胺键及其相邻的 sp^3 碳与苯环部分连接成八元环并进行衍生化[29-31]。其中化合物 **26** 舍弃了原有的 2-吡咯烷酮结构，将二氮杂环辛酮直接与裸氮原子连接；化合物 ART-6043（**27**）目前已进入Ⅰ/Ⅱ期临床试验（NCT05898399）；化合物 **28** 具有共价结合能力。

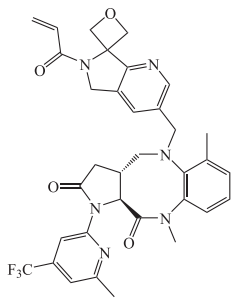
3.1.6 直链类 杭州圣域生物医药科技有限公司采用长直链连接吡啶环与苯环，并在吡啶环相连的氮原子上引入了五元芳杂环，例如二氮唑、三氮唑、四氮唑、噁二唑等[32]。其中化合物 **29** 的 IC_{50} ＜ 100 nmol·L^{-1}。



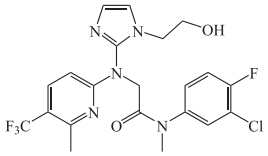
26



27



28



29

Artios 公司公布的 Pol θ 抑制剂进行结构修饰的小分子化合物均表现出相似的结构特征，主要包括：吡啶环（A 环）、苯环（C 环）结构以及以 N—C—C(O)—N 为支架的连接体或其类似结构，其构效关系如图 3 所示。

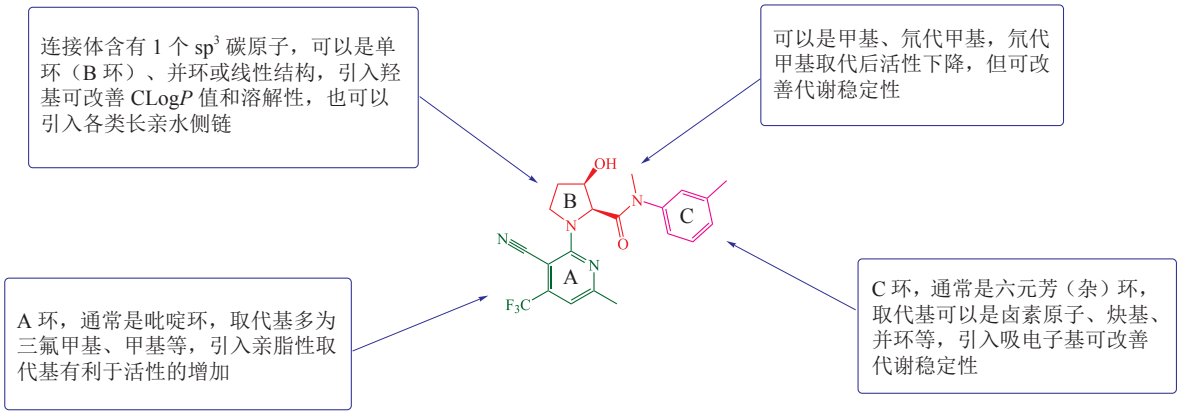
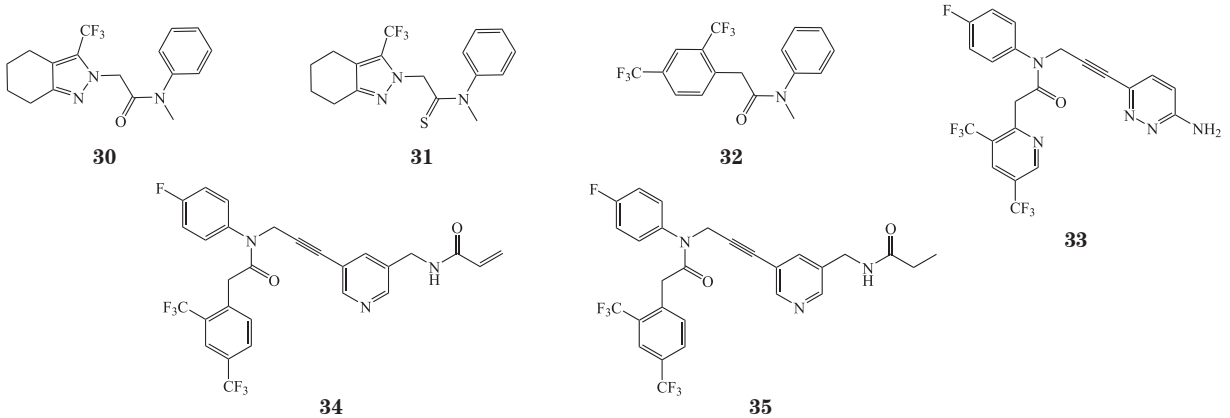


图 3 基于 Artios 公司公布的 Pol θ 抑制剂的构效关系

Figure 3 Structure-activity relationship of Pol θ inhibitors published by Artios

3.1.7 RP6685 RP6685 是由 Repare 公司开发的 Pol θ 聚合酶结构域抑制剂。2022 年，该公司通过高通量筛选初步获得了苗头化合物 **30**（IC_{50}=0.2 μmol·L^{-1}），但其在小鼠肝微粒体中的清除率较高（CL_{int} > 555 μL·min^{-1}·mg^{-1}）。将稠合的环己基缩环为环戊基，并对吡唑部分的取代基进行优化，得到了化合物 **31**（IC_{50}=17 nmol·L^{-1}），酶活性得到提高，但代谢稳定性和化合物 **30** 相似。研究发现，稠合吡唑部分的亲脂性对活性至关重要，将其替换为取代的苯基或杂芳基得到化合物 **32**（IC_{50}=14 nmol·L^{-1}），其酶活性和化合物 **31** 相似。通过在苯胺环引入氟原子消除羟基化，并用炔丙基酰胺、炔丙基等基团取代酰胺上的甲基，进一步在炔基上连接含碱性氮原子的极性官能团，最终优化得到化合物 RP6685（**33**）（IC_{50}=5.8 nmol·L^{-1}，CL_{int}=36.8 μL·min^{-1}·mg^{-1}）[33]。共晶结构分析表明，化合物 **33** 能够与位于核苷酸结合位点附近的手指亚结构域内的变构位点结合，酰胺的羰基与 Arg2419 侧链形成氢键，同时酰胺上延伸出的侧链延伸至溶剂暴露区（见图 4）。

2023 年，浙江大学联合杭州百新生物医药科技有限公司以 RP6685 的结构为基础，在炔基延伸出去的芳杂环上引入了多种共价弹头 [34]。其中，化合物 **34** 在低纳物质的量浓度下能够有效抑制 Pol θ 的酶活性，IC_{50} ≤ 5 nmol·L^{-1}。为验证共价键的形成对化合物分子活性的关键作用，研究人员将丙烯酰胺基团替换为丙酰胺得到化合物 **35**，观察分子生物活性的变化。MDA-MB-436 细胞株和 DLD-1 $BRCA2^{-/-}$ 细胞株的克隆形成抑制实验表明，相比化合物 **34**，化合物 **35** 的活性显著降低，这充分说明了化合物 **34** 通过共价结合发挥关键的抑制作用。



30 **31** **32** **33** **34** **35**

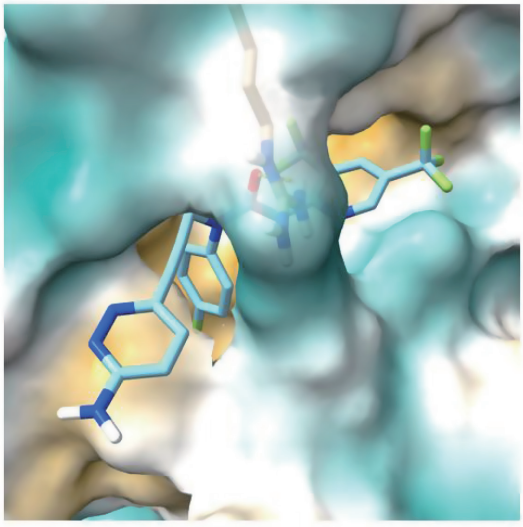
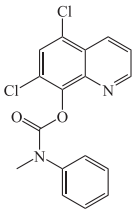


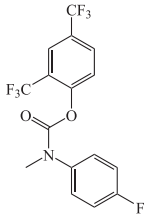
图 4 化合物 RP6685 与 Pol θ-pol 的共晶结构（PDB ID：8E24）

Figure 4 Cocrystal structure of compound RP6685 in complex with Pol θ-pol (PDB ID: 8E24)

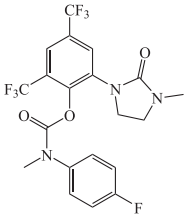
3.1.8 氨基甲酸酯类 2024 年，托马斯杰斐逊大学开发了一类氨基甲酸酯类衍生物。该团队通过高通量筛选得到具有一定酶活性的苗头化合物 MC28003（**36**）（IC_{50}=160 nmol·L^{-1}），随后，研究人员简化了喹啉结构，仅保留与酯基相连的苯环结构，并对两个苯环上的取代基进行修饰，得到了活性提高约 18 倍的化合物 MC160385（**37**）（IC_{50}=9 nmol·L^{-1}），并显示出对 MMEJ 通路的抑制作用。然而，MC160385 具有低膜通透性。为解决该问题，研究人员在 MC160385 的 2，4-二（三氟甲基）苯基上引入了 *N*-甲基咪唑烷酮结构，得到了化合物 RTx-152（**38**）。化合物 RTx-161（**39**）是在 RTx-152 的基础上将甲基替换为羟乙基，显著提高了其亲水性及酶抑制活性，使其与 ART-558（IC_{50}=11.4 nmol·L^{-1}）和 RP6685（IC_{50}=6.9 nmol·L^{-1}）相比具有更为优异的活性[35]。



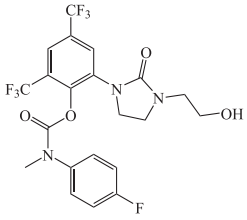
36



37

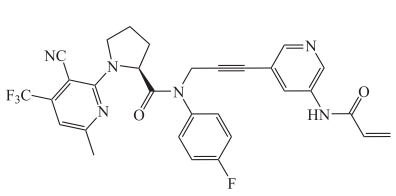


38

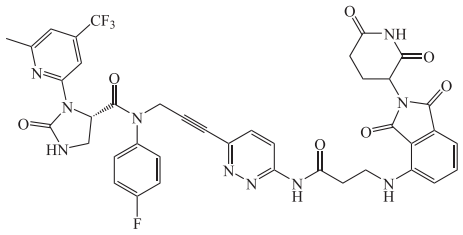


39

3.1.9 其他类 2024 年，朱启华课题组在 ART-558 的结构基础上，在其酰胺上引入 RP6685 的炔基侧链，并引入共价弹头[36]，该类化合物对 Pol θ 酶表现出良好的抑制活性，其中，化合物 **40** 的 IC_{50} < 10 nmol·L^{-1}。随后，进一步对侧链衍生得到了一系列 Pol θ 聚合酶降解剂，其中，化合物 **41** 对 Pol θ 酶及 MDA-MB-436 细胞株表现出良好的抑制活性[37]。



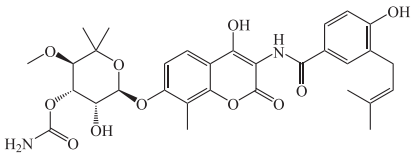
40



41

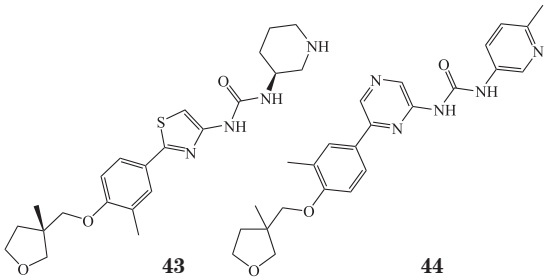
3.2 靶向解旋酶结构域的抑制剂

3.2.1 Novobiocin（NVB） 2021 年，Zhou 等[38]通过高通量筛选发现化合物 NVB（**42**）是一种高选择性的 Pol θ-hel 抑制剂，其对 Pol θ 的 IC_{50} 为 24 μmol·L^{-1}，且对其他 ATP 酶的抑制作用不显著。此外，NVB 能够选择性地杀死 HRD（*BRCA1* 和 *BRCA2* 缺陷型）细胞，而对野生型细胞的毒性较低。

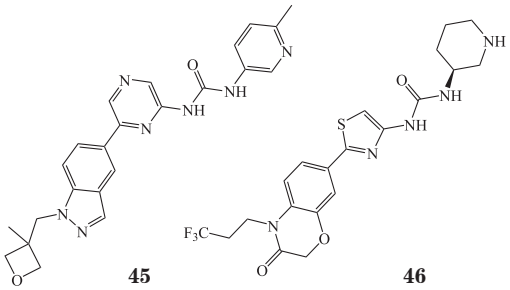


42

3.2.2 取代脲类 2020 年，Artios 公司发现了两类脲类衍生物[39-40]：噻唑脲类（化合物 **43**，IC_{50}=7 nmol·L^{-1}）和吡嗪脲类（化合物 **44**，IC_{50}=2 nmol·L^{-1}）。2022 年，上海翊石医药科技有限公司在化合物 **44** 的基础上，主要对与吡嗪环相连的取代基进行了改造[41]，所得化合物对 Pol θ 酶表现出一定的抑制作用（IC_{50} < 100 nmol·L^{-1}），且化合物 **45** 在测试浓度范围内对 hERG（human ether-a go-go-related gene）通道没有表现出抑制作用（IC_{50} > 30 μmol·L^{-1}），这在一定程度上对药物安全性评估具有积极意义。2024 年，杭州百新生物医药科技有限公司以化合物 **43** 为基础进行改造得到化合物 **46**[42]，实验结果表明，化合物 **46** 表现出优异的 Pol θ 抑制活性。



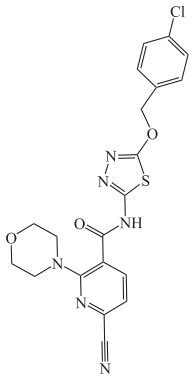
43 **44**



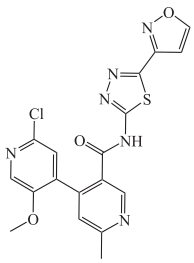
45 **46**

3.2.3 噻二唑类 2020 年，IDEAYA 公司开发了一系列以化合物 **47** 为代表的噻二唑类 Pol θ 解旋酶变构抑制剂[43]。同期，葛兰素史克（GSK）与 IDEAYA 合作，共同开展 GSK4524101 的临床前研究，评估该分子与 Niraparib 联合治疗携带 BRCA 突变或其他 HRD 肿瘤患者的疗效。临床前研究表明，GSK4524101 与 Niraparib 联合用药可引起更深入、更持久的肿瘤消退或有效应答。2023 年，美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）批准了 GSK4524101 的临床研究（NCT06077877）。

2023 年，IDEAYA 在原专利基础上主要对与噻二唑相连的部分进行了修饰[44]，得到的化合物 **48**，其表现出一定的 Pol θ 抑制活性（IC_{50} ≤ 200 nmol·L^{-1}）。



47



48

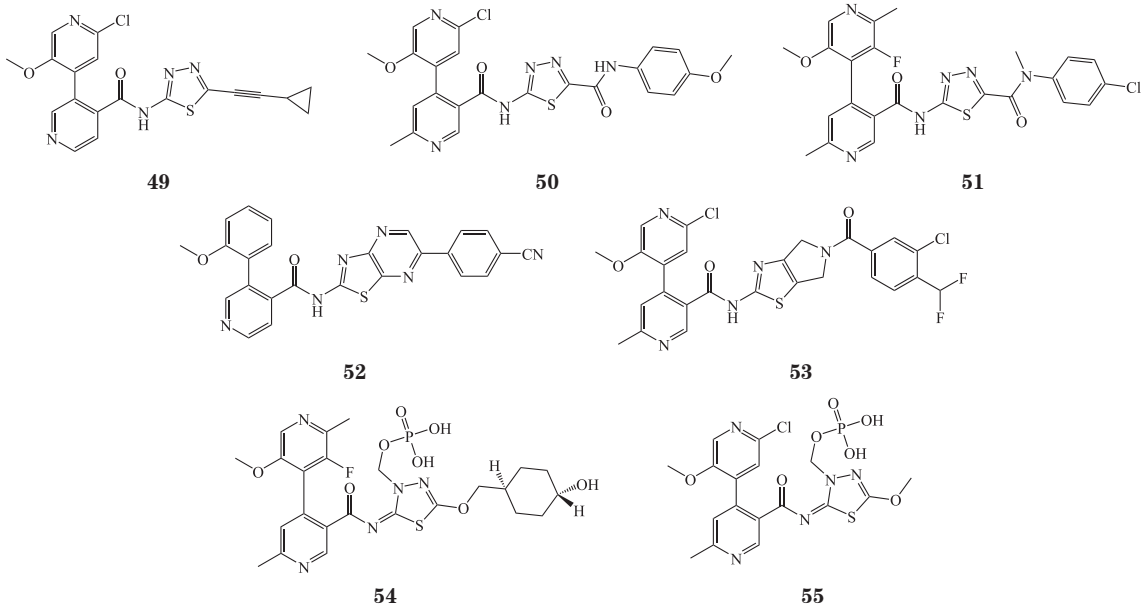
2023—2024 年，多家公司基于 IDEAYA 公司开发的解旋酶抑制剂的结构开发了噻二唑类似物，主要采用 3 种修饰策略。

1）保持噻二唑单环结构不变，修饰与之相连的取代基。Repare Therapeutics 将炔基或环丙基直接与噻二唑相连，并引入不同的取代基[45]，其中化合物 **49** 具有较好的 Pol θ ATP 酶抑制活性，可改善代谢稳定性。宁波新湾医药科技有限公司在噻二唑母核右侧引入酰胺键并连接不同的取代基修饰[46]，实验表明，化合物 **50** 和 **51** 的酶活性较好，其 IC_{50} 均为 0.5 nmol·L^{-1}。

2）噻二唑与其他杂环并环。南京再明医药有限公司设计并合成了一类六元环并噻二唑的结构[47]，其中，化合物 **52** 的酶抑制活性 IC_{50} < 100 nmol·L^{-1}、对 BRAC2 突变细胞 IC_{50} < 200 nmol·L^{-1}，在由 Pol θ

介导的 MMEJ 通路测试中表现出较强的抑制作用，且在各个种属肝细胞中体现出代谢稳定性。MOMA Therapeutics 引入饱和脂肪环与噻二唑并环[48]，其中，化合物 **53** 的 IC_{50} ＜ 15 nmol·L^{-1}，对 DLD1 BRAC2 突变细胞增殖抑制活性 IC_{50} ＜ 100 nmol·L^{-1}。

3）前药改造策略。IDEAYA 公司在噻二唑的碱性氮上连接磷酸、丁二酸等基团[49-50]。实验结果表明，化合物 **54** 的 DLD1 BRCA2$^{-/-}$ 细胞抑制活性 pIC_{50} 为 8.3，与单独给药的母体化合物具有同等的效果。化合物 **55** 相比母体化合物具有良好的药代动力学性质。



49　**50**　**51**

52　**53**

54　**55**

以噻二唑为母核而衍生的化合物均由中心部分 *N*-（1,3,4-噻二唑-2-基）乙酰胺左侧连接 1 个（杂环）芳香族部分 Ar1，有杂环取代基（Cyc1）连接到该环上；右侧连接不同的侧链，其构效关系见图 5。

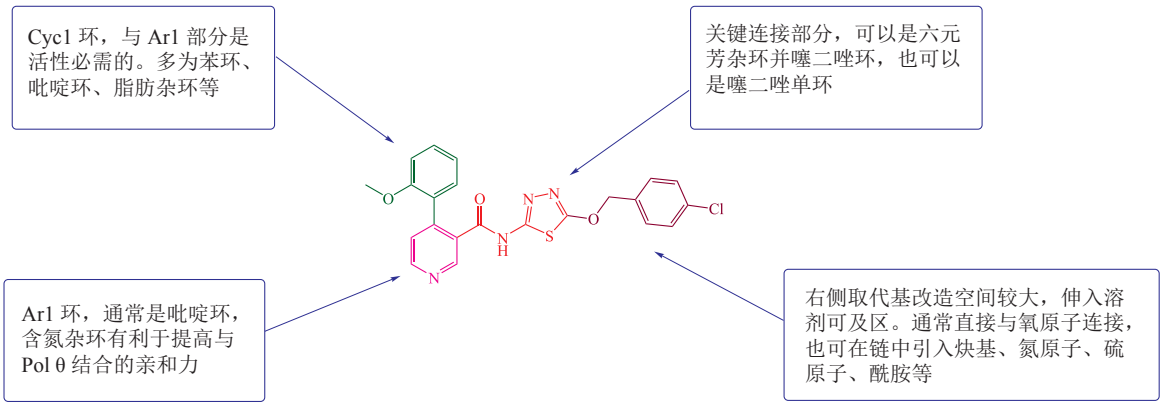


图 5　噻二唑类化合物的构效关系

Figure 5　Structure-activity relationship of thiadiazole compounds

3.2.4　双靶点抑制剂　2024 年，向华课题组研发了一类新型 Pol θ/PARP 双靶点抑制剂[51]。基于化合物 IDE95（**56**，Pol θ-hel 抑制剂）与化合物 olaparib（**57**，PARP1/2 抑制剂）联用的协同效应，研究者选择 olaparib 的药效团——酞菁部分和 IDE95 的联苯部分进行融合，并通过对连接链和联苯基部分的优化，最终得到先导化合物 **58**（见图 6）。生物活性研究表明，该化合物对 Pol θ 解旋酶和 PARP1 均表现出低纳摩尔级的抑制活性，且能促进 MDA-MB-436 细胞中 DNA 损伤的积累，从而表现出更优的抗增殖活性。

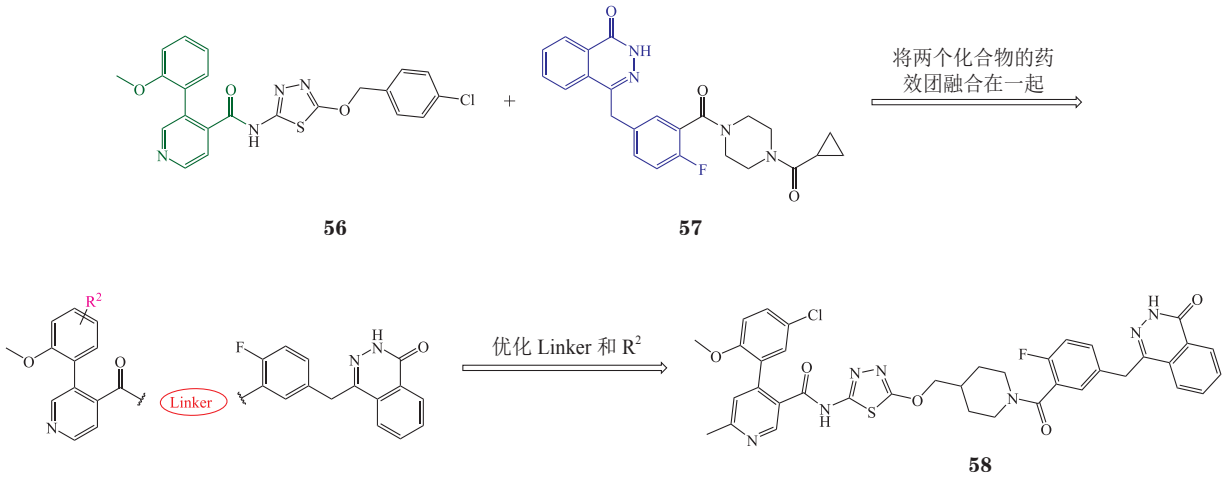


图 6 化合物 58 的优化策略

Figure 6 Optimization strategy of compound 58

4 结语与展望

Pol θ 小分子抑制剂在癌症治疗的临床前研究中已经取得了显著进展，特别是在靶向 HRD 型肿瘤方面。目前，尽管已有多种小分子抑制剂进入临床研究，但单药治疗的效果仍然有限，因此，大多数研究仍集中在与 PARP 抑制剂的联合应用。随着候选药物的种类不断丰富，未来将有更多 Pol θ 抑制剂进入临床试验阶段，从而更系统地评估其安全性和有效性。此外，除了小分子抑制剂，前药、蛋白水解靶向嵌合体、双靶点抑制剂等新型设计也相继出现，并在分子水平上表现出显著活性，为进一步开发 Pol θ 靶向药物提供了新的研究思路。

尽管 Pol θ 抑制剂在 HRD 型肿瘤的治疗中展现出巨大潜力，其临床应用仍面临着诸多挑战和风险。虽然 Pol θ 在正常组织中表达水平较低，但其长期暴露对正常细胞可能带来的风险，仍需谨慎评估。此外，Pol θ 抑制剂的疗效高度依赖于肿瘤细胞 HR 或 NHEJ 修复通路的缺陷，然而，即使在高表达 Pol θ 的肿瘤中，HRD 的发生率仅约为 20%~30%。因此，未来研究需进一步优化 Pol θ 抑制剂的设计，并探索其在不同肿瘤类型中的适用性，同时，结合放疗、免疫疗法或靶向治疗等，优化 Pol θ 抑制剂的联合应用方案，以期提高疗效，为癌症患者提供更多治疗选择。

[参考文献]

[1] Huang R X, Zhou P K. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy[J/OL]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2021, 6(1): 254[2025-04-01]. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8266832/. DOI: 10.1038/s41392-021-00648-7.

[2] Sfeir A, Tijsterman M, McVey M. Microhomology-mediated end-joining chronicles: tracing the evolutionary footprints of genome protection[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2024, 40(1): 195–218.

[3] 袁江林 , 闫思达 , 高沫涵 , 等 . 膜相关酪氨酸 / 苏氨酸 1 激酶抑制剂研究进展 [J] . 药学进展 , 2025, 49(2): 126–136.

[4] Ceccaldi R, Liu J C, Amunugama R, *et al*. Homologous-recombination-deficient tumours are dependent on Polθ-mediated repair[J]. *Nature*, 2015, 518(7538): 258–262.

[5] Zatreanu D, Robinson H M R, Alkhatib O, *et al*. Polθ inhibitors elicit BRCA-gene synthetic lethality and target PARP inhibitor resistance[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3636–3650.

[6] Sullivan-Reed K, Toma M M, Drzewiecka M, *et al*. Simultaneous targeting of DNA polymerase theta and PARP1 or RAD52 triggers dual synthetic lethality in homologous recombination-deficient leukemia cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2023, 21(10): 1017–1022.

[7] Higgins G S, Prevo R, Lee Y F, *et al*. A small interfering RNA screen of genes involved in DNA repair identifies tumor-specific

radiosensitization by POLQ knockdown[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(7): 2984–2993.

[8] Lin X X, Soni A, Hessenow R, *et al*. Talazoparib enhances resection at DSBs and renders HR-proficient cancer cells susceptible to Polθ inhibition[J/OL]. *Radiother Oncol*, 2024, 200: 110475[2025-04-01]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39147034/. DOI: 10.1016/j.radonc.2024.110475.

[9] Russo T D B, Mujacic C, Di Giovanni E, *et al*. Polθ: emerging synthetic lethal partner in homologous recombination-deficient tumors[J]. *Cancer Gene Ther*, 2024, 31(11): 1619–1631.

[10] Pismataro M C, Astolfi A, Barreca M L, *et al*. Small molecules targeting DNA polymerase theta (Pol θ) as promising synthetic lethal agents for precision cancer therapy[J]. *J Med Chem*, 2023, 66(10): 6498–6522.

[11] Brambati A, Sacco O, Porcella S, *et al*. RHINO directs MMEJ to repair DNA breaks in mitosis[J]. *Science*, 2023, 381(6658): 653–660.

[12] Gelot C, Kovacs M T, Miron S, *et al*. Polθ is phosphorylated by PLK1 to repair double-strand breaks in mitosis[J]. *Nature*, 2023, 621(7978): 415–422.

[13] Vekariya U, Minakhin L, Chandramouly G, *et al*. PARG is essential for Polθ-mediated DNA end-joining by removing repressive poly-ADP-ribose marks[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 5822–5839.

[14] Pomerantz R T, Kool E T. Compositions and methods of treatment using expanded-size DNA analogs: WO2018/035410A1[P]. 2018-02-22.

[15] Stockley M L, Ferdinand A, Benedetti G, *et al*. Discovery, characterization, and structure-based optimization of small-molecule *in vitro* and *in vivo* probes for human DNA polymerase theta[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(20): 13879–13891.

[16] Artios Pharma, Ltd. DNA polymerase theta inhibitors: WO2021/123785A1[P]. 2021-06-24.

[17] 上海翊石医药科技有限公司 . (*S*)-*N*-苯基-1-(吡啶-2-基) 吡咯烷-2-甲酰胺衍生物 : CN116332905A[P]. 2023-06-27.

[18] Wuhan Humanwell Innovative Drug Research and Development center Co., Ltd. Polθ inhibitor: WO2023/169573A1[P]. 2023-09-14.

[19] Danatlas Pharmaceuticals Co., Ltd. Heterocyclic derivatives, compositions and uses thereof: WO2023/226964A1[P]. 2023-11-30.

[20] 1cbio Inc. Heterocyclic compounds as inhibitors of polymerase theta and methods of use thereof: WO2024/215870A2[P]. 2024-10-17.

[21] 中国药科大学，南京再明医药有限公司 . 二氢吡唑类化合物及其应用 : CN118359584A[P]. 2024-07-19.

[22] Sichuan Haisco Pharmaceutical Co., Ltd. DNA Polymerase θ inhibitor and use thereof: WO2023/169547A1[P]. 2023-09-14.

[23] 正大天晴药业集团股份有限公司 . 含吡咯烷酮结构的化合物 : CN118619921A[P]. 2024-09-10.

[24] 英矽智能科技 (上海) 有限公司 . 氮杂环丁烷衍生物，其制法与医药上的用途 : CN115960079A[P]. 2023-04-14.

[25] 正大天晴药业集团股份有限公司 . 含四元氧代氮杂环丁基结构的化合物 : CN117510464A[P]. 2024-02-06.

[26] China Pharmaceutical University, Nanjing Zaiming Pharmaceutical Co., Ltd. Nitrogen-containing fused ring compound and use thereof: WO2024/153143A1[P]. 2024-07-25.

[27] Chengdu Baiyu Pharmaceutical Co., Ltd. Pyrrole fused ring derivative and pharmaceutical use thereof: WO2024/109688A1[P]. 2024-05-30.

[28] Cyteir Therapeutics Inc. 3,4-Fused bicyclic pyrrolidine and 3,4-fused bicyclic pyrrolidinone compounds: WO2024/191988A1[P]. 2024-09-19.

[29] Artios Pharma Ltd. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer: WO2023/067354A1[P]. 2023-04-27.

[30] Artios Pharma Ltd. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer: WO2023/067356A1[P]. 2023-04-27.

[31] Artios Pharma Ltd. Heterocyclic inhibitors of DNA polymerase theta for the treatment of cancer: WO2024/218499A1[P]. 2024-10-24.

[32] Synrx Therapeutics (Hangzhou) Co., Ltd. Heterocyclic compound, pharmaceutical composition and use thereof: WO2023/217095A1[P]. 2023-11-16.

[33] Bubenik M, Mader P, Mochirian P, *et al*. Identification of RP-6685, an orally bioavailable compound that inhibits the DNA polymerase activity of Polθ[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(19): 13198-13215.

[34] 浙江大学，杭州百新生物医药科技有限公司 . 一种 *N*-芳基-*N*-芳炔丙基-芳乙酰胺类化合物及制药用途 : CN117304095A[P]. 2023-12-29.

[35] Fried W, Tyagi M, Minakhin L, *et al*. Discovery of a small-molecule inhibitor that traps Polθ on DNA and synergizes with PARP inhibitors[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 2862-2876.

[36] 朱启华 , 张谨阳 , 周起臣 , 等 . Polθ 抑制剂及其制备方法、药物组合物和应用 : CN117510462A[P]. 2024-02-06.

[37] 朱启华，张谨阳，谢泼德 · 伍福伊尔沃思，等 . 炔类化合物及其制备方法、药物组合物与应用 : CN118146197A[P]. 2024-06-07.

[38] Zhou J, Gelot C, Pantelidou C, *et al*. A first-in-class polymerase theta inhibitor selectively targets homologous-recombination-deficient tumors[J]. *Nat Cancer*, 2021, 2(6): 598–610.

[39] Artios Pharma Ltd. Thiazoleureas as anticancer agents: WO2020/030924A1[P]. 2020-02-13.

[40] Artios Pharma Ltd. Heterocyclic substituted ureas,for use against cancer: WO2020/030925A1[P]. 2020-02-13.

[41] 上海翊石医药科技有限公司 . 一种杂环脲类化合物及其制备方法和用途 : CN115353512A[P]. 2022-11-18.

[42] 杭州百新生物医药科技有限公司 . 一种噻唑脲类衍生物及其用途 : CN119060045A[P]. 2024-12-03.

[43] Ideaya Biosciences Inc. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors: WO2020/243459A1[P]. 2020-12-03.

[44] Ideaya Biosciences Inc, Glaxosmithkline Intellectual Property (No 4) Ltd. Thiadiazolyl compounda as DNA polymerase theta inhibitors: WO2023/067515A1[P]. 2023-04-27.

[45] Repare Therapeutics Inc. *N*-(5-substituted-[(1,3,4-thiadiazolyl) or (thiazolyl)])(substituted) carboxamide compounds and use thereof for inhibiting human polymerase theta: WO2023/050007A1[P]. 2023-04-06.

[46] Ningbo Newbay Technology Development Co., Ltd. Thiazolyl or thiadiazolyl amides derivatives and use thereof: WO2024/245310A1[P]. 2024-12-05.

[47] Nanjing Zaiming Pharmaceutical Co., Ltd. Six-membered cyclothiazole compound and use thereof: WO2023/134739A1[P]. 2023-07-20.

[48] Moma Therapeutics Inc. Semi-saturated bicyclic derivatives and related uses: WO2024/211836A2[P]. 2024-10-10.

[49] Ideaya Biosciences Inc, Glaxosmithkline Intellectual Property (No 4) Ltd. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors and uses thereof: WO2023/233295A1[P]. 2023-12-07.

[50] Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 14) Ltd, Ideaya Biosciences Inc. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors and uses thereof: WO2024/121290A1[P]. 2024-06-13.

[51] Ma L Y, Chen W, Yang M, *et al*. Discovery and proof of concept of potent dual Polθ/PARP inhibitors for efficient treatment of homologous recombination-deficient tumors[J]. *J Med Chem*, 2024, 67(5): 3606–3625.



[专家介绍] 陆涛：中国药科大学教授，药物化学专业博士研究生导师，江苏省教学名师。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学。主持完成多项国家、省部级课题，并与多家药企进行新药联合开发，2015 年自主研发的抗肿瘤化合物以 1.5 亿元合同价格转让上海复兴医药产业有限公司。在 *J Med Chem* 等国际学术期刊发表 SCI 科研论文 100 余篇。