

POLQ 抑制剂的 研 究 进 展

袁智晨¹,周飞洋²,靳文仙^{3*},刘旭圆^{3*},袁静^{1*}

(1. 天津中医药大学 研究生院,天津 301617; 2. 中国石油大学(北京)石油工程学院,北京 102249;
3. 天津药物研究院有限公司 天津市新药设计与发现重点实验室,天津 300301)

摘 要: DNA 损伤修复通路对维持基因组稳定具有至关重要的作用。随着聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)抑制剂的 成 功 上 市 及 临 床 应 用,合 成 致 死 策 略 在 癌 症 治 疗 中 显 示 出 巨 大 的 潜 力。DNA 聚 合 酶 θ (POLQ)作 为 DNA 损伤修复通路中的一个关键靶点,近年来受到广泛关注,有望解决 PARP 抑制剂的耐药问题。本文作者综述了具有抗肿瘤活性的 POLQ 抑制剂的研究进展,对 POLQ 聚合酶结构域抑制剂和解旋酶结构域抑制剂的结构分类、生物活性、机制研究和临床研究进展等分别进行介绍,并对该领域的专利状况和竞争格局进行了总结,希望为 POLQ 抑制剂的研究提供思路。

关键词: 合成致死;DNA 损伤修复通路;POLQ 抑制剂;抗肿瘤

中图分类号: R914 **文献标志码:** A

DNA 聚合酶 θ (DNA polymerase theta, POLQ)属于 DNA 聚合酶 A 家族成员之一,是由 2 592 个氨基酸组成的多肽,包括一个 N 末端超家族 2 (SF2) Hel308 型 DNA 解旋酶、一个非结构

化的中心区域以及一个 C 末端 A 家族 DNA 聚合酶三个结构域(图 1)。DNA 聚合酶结构域、解旋酶结构域和中央结构域协同作用参与 DNA 双链断裂损伤修复^[1-2]。

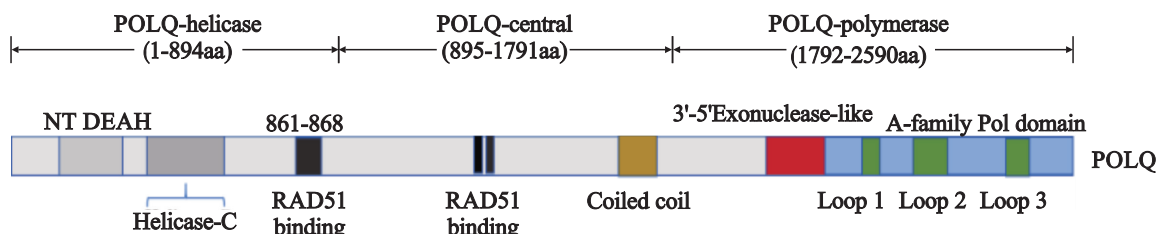


Figure 1 The structure of POLQ

POLQ 介导的末端连接 (POLQ-mediated end joining, TMEJ) 是一种具有错误倾向的 DNA 双链修复途径,它在非同源末端连接和同源重组失效时,作为关键的备份机制发挥作用^[3-4]。在 DNA 双链断裂发生后, TMEJ 首先对断裂的 DNA 端进行初步的末端切除,以形成具有 3' 单链 DNA (ss-DNA) 悬垂的末端,此步骤与同源重组类似^[5]。随后 TMEJ 利用悬垂端中较短的微同源序列 (一般为 2 ~ 20 个碱基) 实现末端对接,而不需要大规模序列重组。POLQ 可特异性识别这些微同源序列,并通过其特殊的结构和活性,介导两个断裂

末端的局部退火,完成初步对接^[6]。对接后, POLQ 以微同源序列为引物进行 DNA 聚合延伸,填补缺失区域。这一过程通常伴有插入或缺失的产生,因此 TMEJ 被认为是一种错误易发的修复机制,但它在某些情况下可以快速修复 DNA 损伤并维持细胞存活。DNA 延伸后,剩余的部分可能需要进一步加工 (如去除多余的单链区域或填补短缺口),最终由 DNA 连接酶将两端完全连接起来,完成修复过程。

在肿瘤治疗中,可以利用肿瘤细胞对 DNA 损伤修复途径的依赖性,靶向修复通路中的关键

收稿日期:2025-05-05

作者简介:袁智晨(1999-),男,山西河津人,硕士研究生,E-mail: yuanzc990712@163.com; *通信作者:靳文仙(1982-),女,天津人,硕士,主要从事药物新制剂开发及制剂成药学研究,E-mail: jinwx@tjpr.com;刘旭圆(1986-),男,天津人,硕士,主要从事药物分析及药物代谢研究,E-mail: liuxy6@tipr.com.cn;袁静(1984-),女,河北景县人,本科,主要从事心血管、肿瘤小分子创新药研究,E-mail: yuanj@tipr.com.cn。

靶点,实现对肿瘤的抑制作用。POLQ 是唯一具有解旋酶结构域的真核聚合酶,这一特点使其在 DNA 损伤修复中发挥独特作用。POLQ 解旋酶结构域通过 ATP 依赖性机制移除 DNA 上的复制蛋白 A (RPA),从而抑制同源重组修复,促进 TMEJ 通路。复制蛋白 A 通常会保护单链 DNA,但在 TMEJ 修复中,需要通过解旋酶将复制蛋白 A 移除,DNA 断裂末端才能够利用微同源区域进行退火^[7-10],这种移位过程在一定程度上抑制了

同源重组修复的发生,从而促使细胞选择通过 TMEJ 途径来修复 DNA 断裂。这一步骤为 POLQ 聚合酶结构域提供了模板,使其能够延长退火后的悬垂,完成 DNA 修复的合成步骤。POLQ 解旋酶结构域不仅可以修复传统的 DNA 断裂,还能以 ATP 依赖性和非依赖性的方式修复多种 DNA 底物,如复制叉、钝端 DNA、带有 3' 或 5' 悬垂的 DNA 以及 RNA/DNA 杂交体(图 2)^[11]。

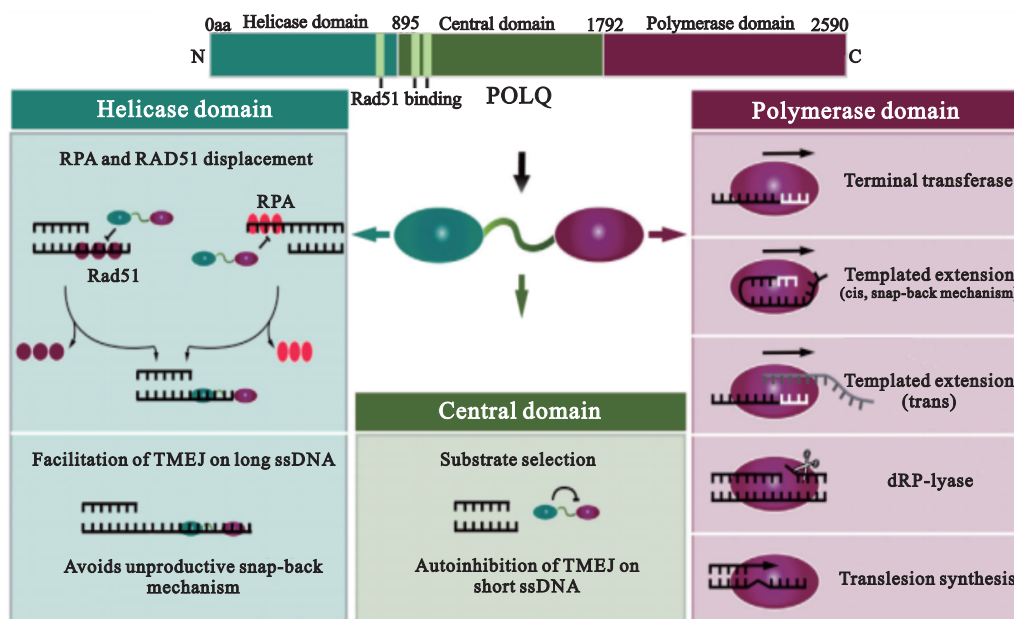


Figure 2 The mechanism of POLQ

值得注意的是, POLQ 在多种人类癌症(如乳腺癌、卵巢癌、肺癌、胃癌和结肠直肠癌)细胞中呈现高表达,而在大多数正常细胞中通常低表达或完全不表达^[12],这使得这种酶成为理想的选择性抗肿瘤靶点^[13-16]。通过 siRNA 和 shRNA 消除 POLQ 证明, POLQ 不表达在多种治疗方案中具有显著作用: 1) 在 BRCA1 缺陷细胞中,联合 PARP 抑制剂可以产生协同抗肿瘤作用,同时可能延迟或克服 PARP 抑制剂耐药性的产生^[17]; 2) 针对 BRCA2 突变引起的 TMEJ 依赖性功能逆转, POLQ 抑制可防止 PARP 抑制剂和顺铂耐药性的发生^[18-19]; 3) 提高同源重组功能完整型细胞(或伴有 p53 突变的肿瘤细胞)的放射敏感性,可提高放疗效果^[20-23]; 4) 降低 POLQ 表达可增加肿瘤细胞对拓扑异构酶 I/II 抑制剂等其他化疗药物的敏感性^[24]。

POLQ 抑制剂根据结合位点的不同可分为 POLQ 聚合酶结构域抑制剂和 POLQ 解旋酶结构

域抑制剂,以下将分别分析两类抑制剂的结构特征、与靶标的结合模式以及临床进展等,期望为 POLQ 抑制剂的未来研究提供参考。

1 POLQ 聚合酶结构域抑制剂的研究进展

1.1 临床研究中的 POLQ 聚合酶结构域抑制剂

目前,仅有 Artios Pharma 研究的 2 款 POLQ 聚合酶结构域抑制剂进入临床研究。其中, ART-4215 作为全球首个进入临床的 POLQ 抑制剂,结构尚未公开,于 2021 年进入 I/II 期临床试验(NCT04991480),旨在评估 POLQ 抑制剂作为单一疗法口服和联合给药对晚期或转移性实体瘤患者的安全性、耐受性、药物代谢动力学特征和初步疗效。第一阶段的研究数据表明, ART-4215 耐受性良好,并在 2022 年启动与 PARP 抑制剂他拉唑帕利联合治疗 BRCA 缺陷的乳腺癌的 II 期临床研究。但目前推测 ART-4215 为氘代化合物,可

能因为稳定性差已经停止研发^[25]。

ART-6043 是 Artios Pharma 研发的新一代 POLQ 抑制剂,其化学结构尚未公开,已于 2023 年进入 I/II 期临床试验(NCT05898399)。这项研究旨在评估 ART-6043 作为单一疗法,或与奥拉帕利、尼拉帕利联合治疗的安全性、耐受性、药物代谢动力学性质和初步疗效。根据 Artios Pharma 官网信息,ART-6043 是目前该公司针对 POLQ 靶点的唯一在研药物^[26]。

1.2 临床前研究中的 POLQ 聚合酶结构域抑制剂

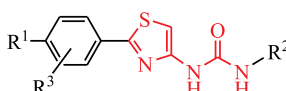
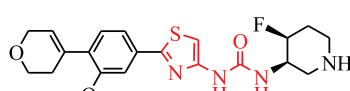
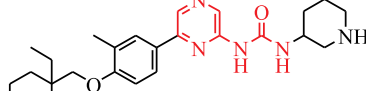
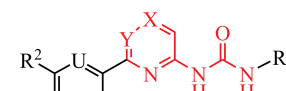
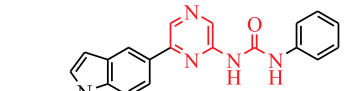
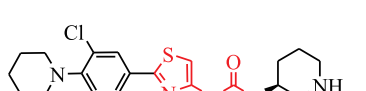
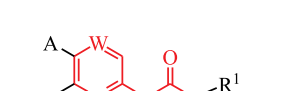
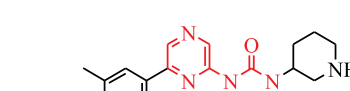
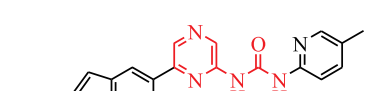
根据已公开的文献报道,最初研究 POLQ 抑制剂的公司就是 Artios Pharma,该公司在 2019 年 8 月公开了 POLQ 抑制剂研究领域的第一篇专利,此后有多家公司参与到 POLQ 聚合酶结构域

抑制剂的研究中,本文作者总结了目前已经公开的所有聚合酶结构域抑制剂的化合物专利,除了国外的 Artios Pharma、Ideaya 等公司,国内的上海翊石、武汉人福等公司也纷纷跟进,展现了医药行业对 POLQ 靶点的高度关注。

1.2.1 杂环脲类化合物

Artios Pharma 公司在 2019 年 8 月申请的两项专利 WO 2020030924A1^[27] 和 WO 2020030925A1^[28] 中公开了一类杂环脲类化合物。相关酶活性抑制实验结果显示,化合物 1~4(表 1)的 IC₅₀ 值分别为 0.055、0.033、0.023、0.014 μmol·L⁻¹,均表现出良好的抑制活性。随后,上海翊石医药科技有限公司于 2022 年 7 月在专利 CN 115353512A^[27] 中对该类结构进行了跟进研究,其所报道的化合物 5 和 6(表 1)的 IC₅₀ 值均小于 100 nmol·L⁻¹。

Table 1 Structures of heterocyclic urea compounds

Patent number	General formula	Compd.	
WO 2020030924A1			
WO 2020030925A1			
CN 115353512A			

1.2.2 乙酰胺类衍生物

Ideaya Biosciences, Inc. 公司于 2020 年 1 月 29 日和 30 日先后公开了两项专利 WO 2020160134A1^[29] 与 WO 2020160213A1^[30], 报道了一系列乙酰胺类衍生物。相较于 WO 2020160134A1, 后申请的专利 WO 2020160213A1 缩短了连接链的距离, 在杂原子乙酰胺类化合物中去除了连接链中的羰基结构, 以探索连接链对其活性的影响。对系列化合物进行的聚合酶活性抑制实验结果显示, 化合物 7、8 和 10 的 IC₅₀ 值小于 200 μmol·L⁻¹, 化合物 9 的 IC₅₀ 值为 1~

10 μmol·L⁻¹。2021 年 7 月, Ideaya Biosciences, Inc. 公司在前期基础上又申请了一项专利(WO 2022026548A1^[31]), 将原结构通式中的 X¹ 由 NH 和 O 调整为 NR³ 和 O, 其中化合物 11 的 IC₅₀ 值为 1~20 μmol·L⁻¹, 化合物 12 的 IC₅₀ 值小于 200 μmol·L⁻¹。2023 年 5 月, 杭州圣域生物医药科技有限公司对乙酰胺类衍生物进行了跟进研究(WO 2023217095A1^[32]), 显著提升了该类化合物的聚合酶抑制活性, 其中化合物 13 和 14 的 IC₅₀ 值均小于 100 nmol·L⁻¹。化合物 7~14 的结构见表 2。

Table 2 Structures of acetamide and heteroaryl methylene compounds

Patent number	General formula	Compd.
WO 2020160134A1		 7 8
WO 2020160213A1		 9 10
WO 2022026548A1		 11 12
WO 2023217095A1		 13 14

1.2.3 杂环酰胺类衍生物

Artios Pharma 公司于 2019 年 8 月在专利 WO 2021028643A1^[33] 和 WO 2021028670A1^[25] 中公开了一系列杂环酰胺衍生物(表 3),且专利 WO 2021028670A1 在其通式基础上还公布了一系列氘代衍生物。化合物 **15** 和 **16** 对 POLQ 酶活性的 IC_{50} 值为 $7 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 化合物 **17** 的酶活性 IC_{50} 值为 $12.2 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同年 12 月 1 日, Artios Pharma 公司在 WO 2021123785A1^[34] 中进一步披露了化合物 **18** 和 **19**(表 3), 在原专利基础上优化了连接链上的基团, 增加两个五元杂环, 所得化合物对 POLQ 酶活性 IC_{50} 值均达到 $3 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 表现出更优的抑制活性。此类杂环酰胺类结构随后受到多家公司关注(表 3), 包括 Ideaya Bios-

ciences, Inc. (WO 2022026565A1^[35]: 化合物 **20** 和 **21**, $IC_{50} < 200 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、上海湃隆生物科技有限公司(WO 2023125918A1^[36]: 化合物 **22** 和 **23**, $IC_{50} < 50 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、武汉人福创新药物研发中心有限公司(WO 2023169573A1^[37]: 化合物 **24**, 对 POLQ 酶活性的 IC_{50} 值为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对肿瘤细胞的 IC_{50} 值为 $3.31 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 小鼠药物代谢动力学实验结果显示口服暴露量高, 药物代谢动力学性质佳, 成药性好。见表 4)、成都百裕制药股份有限公司(WO 2024109688A1^[38]: 化合物 **25** 和 **26**, $IC_{50} < 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及 Cyteir Therapeutics, Inc. (WO 2024182382A1^[39], WO 2024182384A1^[40]: 化合物 **27** 和 **28**, $IC_{50} < 0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)等。

Table 3 Structures of heterocyclic amide compounds

Patent number	General formula	Compd.
WO 2021028643A1		 15 16

(to be continued)

Continued Table 3

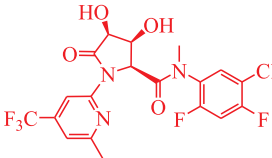
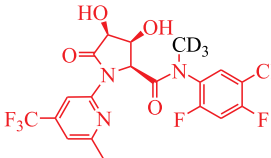
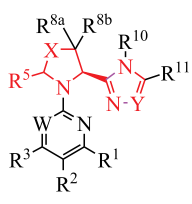
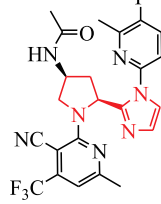
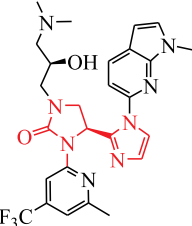
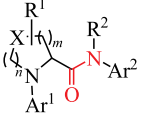
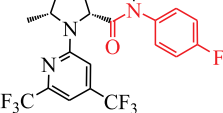
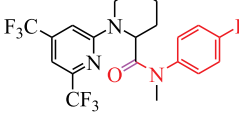
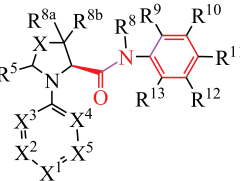
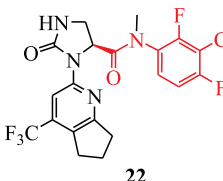
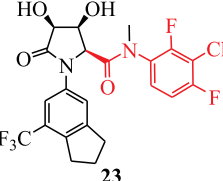
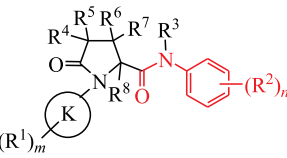
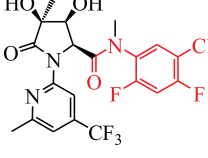
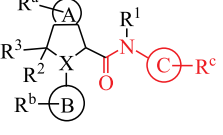
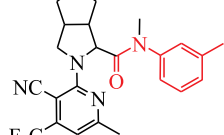
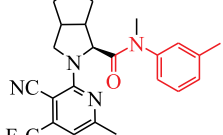
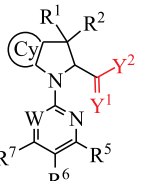
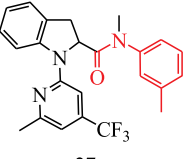
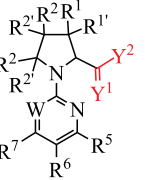
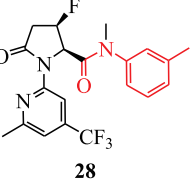
Patent number	General formula	Compd.	
WO 2021028670A1		 17	
WO 2021123785A1		 18	 19
WO 2022026565A1		 20	 21
WO 2023125918A1		 22	 23
WO 2023169573A1		 24	
WO 2024109688A1		 25	 26
WO 2024182382A1		 27	
WO 2024182384A1		 28	

Table 4 Pharmacokinetic study results of compound 24 in mice

Route of administration	CL/ (L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹)	V _z / (L·kg ⁻¹)	C _{max} / (ng·mL ⁻¹)	T _{max} /h	AUC _{0-t} / (h·ng·mL ⁻¹)	t _{1/2} /h
Intravenous injection	0.15	0.29	–	–	21 576	1.53
Oral gavage	–	–	15 967	0.58	60 343	2.69

Note: “–” indicates that the experiment was not performed.

1.2.4 八元含氮杂环类化合物

2022年10月21日, Artios Pharma 公司报道了一系列新的八元含氮杂环化合物, 在专利 WO 2023067355A1^[41] 及 WO 2023067356A1^[42] 中公开了八元含氮杂环的非共价抑制剂(表5), 并测定了化合物对 POLQ 聚合酶结构域的抑制活性, 其中化合物 **29** 与 **30** 的 K_i 值分别为 0.186 nmol·L⁻¹ 和 0.349 nmol·L⁻¹, 化合物 **31** 的 K_i 值为 1.27 nmol·L⁻¹;

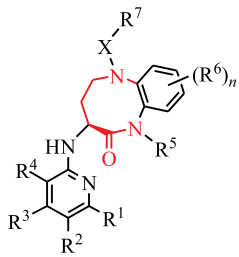
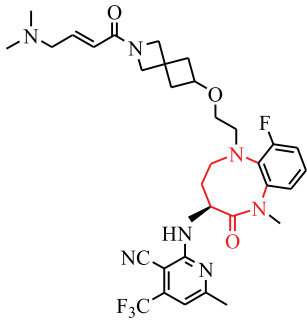
在专利 WO 2023067353A1^[43]、WO 2023067354A1^[44] 中, Artios Pharma 公司在上述化合物的基础上引入了共价弹头(表5), 以期通过形成共价键增强酶抑制效率, 并对此类共价抑制剂进行了酶促动力学参数 K_{inact}/K_i 测定。其中化合物 **32**、**33** 的 K_{inact}/K_i 值分别为 5.56 μmol·L⁻¹·s⁻¹ 和 5.83 μmol·L⁻¹·s⁻¹, 化合物 **34** 的 K_{inact}/K_i 值为 5.7 μmol·L⁻¹·s⁻¹。

Table 5 Eight-membered nitrogen-containing heterocyclic compounds

Patent number	General formula	Compd.	
WO 2023067355A1		 29	 30
WO 2023067356A1		 31	
WO 2023067353A1		 32	 33

(to be continued)

Continued Table 5

Patent number	General formula	Compd.
WO 2023067354A1		
		34

1.3 POLQ 聚合酶结构域抑制剂的结合模式

POLQ 聚合酶结构域的整体构造与 Taq DNA 聚合酶相似,其中外切酶、拇指和手指亚结构围绕着一个右手掌型亚结构排列。此外,在 POLQ 聚合酶结构中,还存在五个独特的特异性插入环^[45]。这些特异性插入环代表了与其他解旋酶或聚合酶结构不同的蛋白质序列,可视为 POLQ 的独特特征^[7]。掌型亚结构中包含了严格保守的催化天冬氨酸和谷氨酸残基(Asp2330、Asp2540 和 Glu2541),这些残基负责协调一个 Ca^{2+} ,该离子对于蛋白质的酶活性至关重要^[7]。

POLQ 聚合酶结构域包含两个特征明确的配体结合位点,称为活性位点和变构位点(图 3)。大多数已获批的靶向聚合酶的药物通过与相应靶蛋白的活性位点结合来阻断酶活性,因此该活性口袋在 POLQ 聚合酶结构域中也是有潜力的成药位点。事实上,美国天普大学早在 2017 年就首次

公开了 POLQ 抑制剂专利(WO 2018035410A1^[46]),研究人员合成了一系列 xDNA 核苷酸及其类似物,这些化合物可以特异性的靶向 POLQ 聚合酶结构域的活性位点,从而抑制 POLQ 合成 DNA。这个活性口袋可以容纳一条新生 DNA 链、一条 RNA-DNA 模板链和一个进入的核苷酸。有趣的是,根据所使用的模板链(即 DNA 或 RNA)不同,活性位点残基的结构可能发生变化,从而导致进入的核苷酸和 POLQ 聚合酶残基之间形成的分子间相互作用发生改变。

最近一项基于高通量筛选及 POLQ 聚合酶结构域和靶向化合物的共结晶研究表明,POLQ 聚合酶结构域上的变构位点由 Tyr2412 和 Phe2416 的构象移动形成,主要由疏水性残基组成,并呈现由 Arg2419 和 Glu2365 侧链分开的两条出口路径。此外,变构位点由六个 α 螺旋围绕,位于手指亚结构中,与即将进入的 ddGTP 相对^[47-48]。

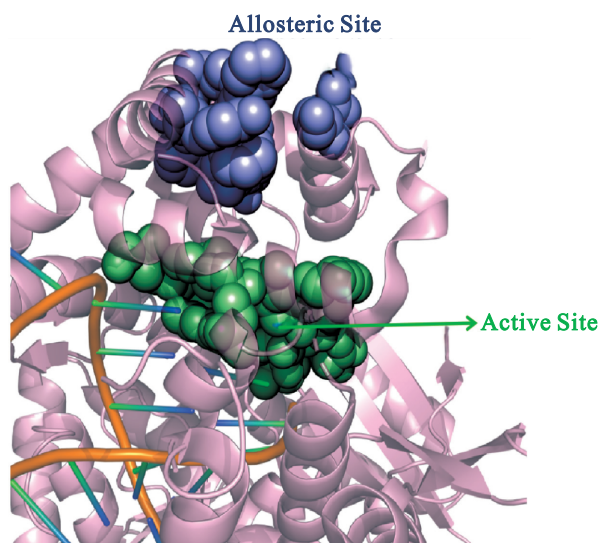


Figure 3 Relative positions of the active site and allosteric site in the polymerase domain of POLQ (PDB:8E24)

化合物 A(图 4)是在高通量筛选命中化合物的基础上经早期构效关系优化获得的稠合吡唑类 POLQ 抑制剂,其对 POLQ 显示出高效抑制活性 ($IC_{50} = 0.017 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。X 射线晶体学研究揭示了化合物 A 与 POLQ 聚合酶结构域的结合模式。尽管 Monica Bubenik 团队最初获得的化合物 A 与 POLQ、双链 DNA(dsDNA)及双脱氧核苷酸(ddNTP)的共晶体衍射质量较差(约 4 Å),但通过对蛋白表达构建体进行工程改造,删除了五个在原结构中未解析的柔性环结构后,获得了分辨率为 2.59 Å 的高质量晶体结构(PDB: 8E23,图 5A)。该结构清晰地显示出化合物 A 结合于一个远离去除区的变构位点,证明其适用于基于结构的药物设计。改造后的 POLQ 聚合酶

结构保留了典型的 POLQ I 家族聚合酶构型,包括掌部(palm)、指部(finger)和拇指部(thumb)亚结构域,同时具有一个失活的外切酶样折叠结构,其催化位点可与一个 5'突出端的 dsDNA 底物及一个即将被掺入的 ddGTP 相结合。化合物 A 与聚合酶的指部结构域中一个变构位点结合,该位点位于 ddNTP 结合位点的对面^[45]。该结合诱导了指部结构的局部扰动,但整体构型与此前报道的 POLQ 结构高度一致。从结构上看,化合物 A 嵌入到一个几乎完全封闭的疏水性口袋中,该口袋由指部结构域的 α 螺旋组成,周围由大量脂溶性氨基酸侧链包围(图 5B)。结合过程主要依靠疏水作用和空间互补作用,并未观察到显著的极性相互作用。

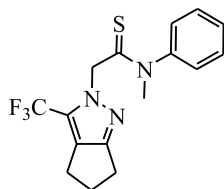


Figure 4 Structure of compound A

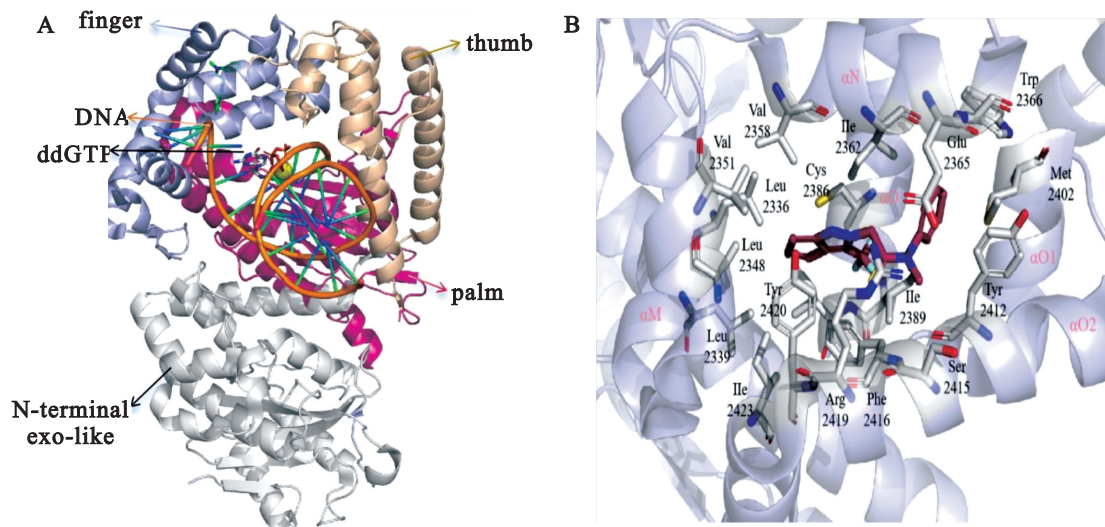


Figure 5 A: Ribbon representation of the polymerase domain of POLQ in complex with DNA, ddGTP, and compound A (PDB: 8E23); B: Detailed cross-eyed stereo view of compound A bound to the finger subdomain of POLQ

DNA 聚合酶的指部结构域在催化过程中会经历剧烈的构象变化。在“闭合构象”中(如 PDB: 4X0P),指部结构夹住 DNA 底物和 ddNTP, αO 螺旋与 ddNTP 直接相互作用,催化 DNA 延伸反应;随后,指部结构张开(如 PDB: 6XBU),释放焦磷酸并使 DNA 转位,伴随 αO 、 O1 和 N 螺旋的大幅度移动。结构比对分析显示,化合物 A 更倾向于结合 POLQ 的闭合构象(图 6A),可能通过锁定聚合酶的三元复合物状态而抑制其进入张开

状态,从而冻结其催化循环。在闭合状态下,化合物 A 的结合位点几乎已成型,并可通过 Tyr2412 和 Phe2416 的构象调整进一步诱导形成完整的结合口袋(图 6B)。而在开放状态下,该位点被完全阻挡,尤其是被 αO 螺旋所覆盖(图 6C)。这也解释了化合物 A 与 POLQ 的结合依赖于 DNA 存在的现象——因为 DNA 结合能够稳定 POLQ 的闭合构象,从而促进化合物 A 的结合^[49]。

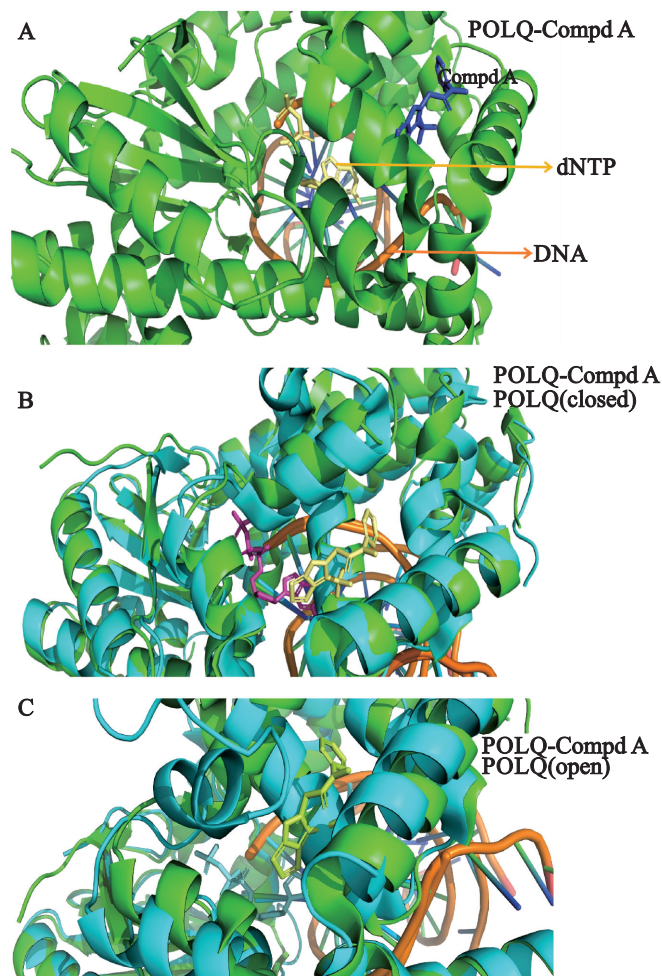


Figure 6 A:POLQ in complex with DNA, ddGTP, and compound A (PDB:8E23) ;

B:Superposition of the compound A-POLQ co-crystal structure with the closed fingers conformation of POLQ;

C:Superposition of compound A-POLQ co-crystal structure with the open fingers conformation of POLQ(PDB:6XBU)

Monica Bubenik 团队发现了新结构的化合物 B(图 7),其对靶标的抑制活性较化合物 A 有较大提升(化合物 A 的 IC_{50} 值为 $0.017 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 而化合物 B 的 IC_{50} 值为 $0.0014 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。化合物 B 与 POLQ 的共晶结构 (PDB:8E24) 由 Monica Bubenik 团队在 2.34 \AA 分辨率下精修完成,如图 8 所示,化合物 B 的咪唑环延伸至溶剂通道一端,与 Tyr2412 侧链形成有利的 π - π 堆积相互作用,该作用与 Tyr2412 和苯基之间原有的 π - π T 形堆积作用协同,共同增强了化合物在结合口袋中的稳定性。此外,咪唑环上的一个碳原子与 Glu2365 的羧酸基之间存在有利的静电作用,而酰胺基的羰基则与 Arg2419 的胍基之间也存在有利的静电相互作用。这些相互作用共同稳定了 Glu-Arg 盐桥中两个侧链的位置,该盐桥位于溶剂通道的两个出口之间,并将化合物 B 紧紧

“夹持”在结合口袋中。化合物 B 所含的 2,4-双三氟甲基苯基疏水核心在空间上能更好地填充疏水性腔体。此外,化合物 B 间位 CF_3 中的一个氟原子还可与 Cys2386 中的硫原子形成有利的静电作用,而炔基基团因具有较强的吸电子能力,导致其邻位的亚甲基带有更强的正电性,进一步增强了亚甲基基团与 Tyr2412 主链羰基之间的静电相互作用。

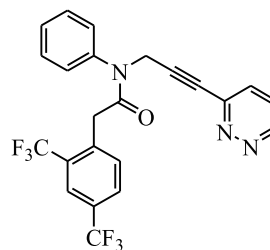


Figure 7 Structure of compound B

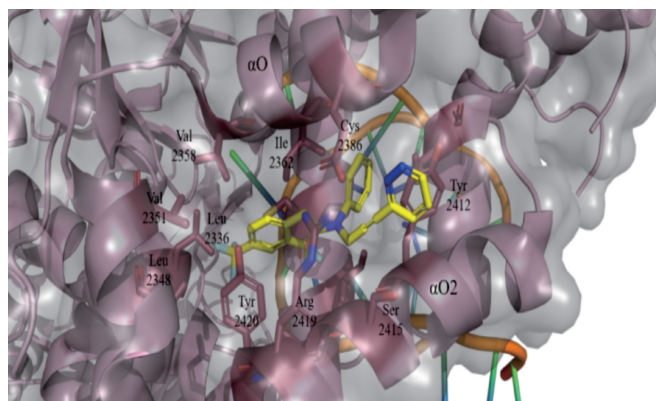


Figure 8 The crystal structure of compound B bound to POLQ

Artios Pharma 公司在 WO 2021028643A1 专利中公布了化合物 C 的结构(图 9),并获得了 POLQ 聚合酶结构域(POLQ-PD^{Δinsert2})突变体与 DNA 及 ddGTP 复合物的晶体结构(PDB: 7ZUS)。化合物 C 与 POLQ 结合在一个新的变构位点^[49](图 9),该位点位于靠近核苷酸结合位点的指状结构域内,由六个 α -螺旋包围,周围 5 Å 范围内由 18 个疏水性氨基酸残基组成。化合物 C 的氰基可以与靶蛋白活性口袋中的氨基酸残基 Tyr2420 形成氢键,从而稳定地锚定在结合位点。

与三元复合物的结构(PDB: 7ZUS)相比,化合物 C 与 POLQ 晶体复合物的蛋白质主链未发生显著构象变化,但 Tyr2412 和 Phe2416 的侧链为适应化合物 C 的结合发生了旋转。对比指状结构域的开放构象(PDB: 6XBU)与闭合构象(PDB: 4X0P)可以发现,该变构结合口袋仅在指状结构域处于闭合构象时才存在,此时 O-O1 螺旋向内旋转。在机制层面,抑制剂结合至该变构位点会锁定酶的闭合构象,从而阻止新核苷酸加入正在延伸的 DNA 引物链。

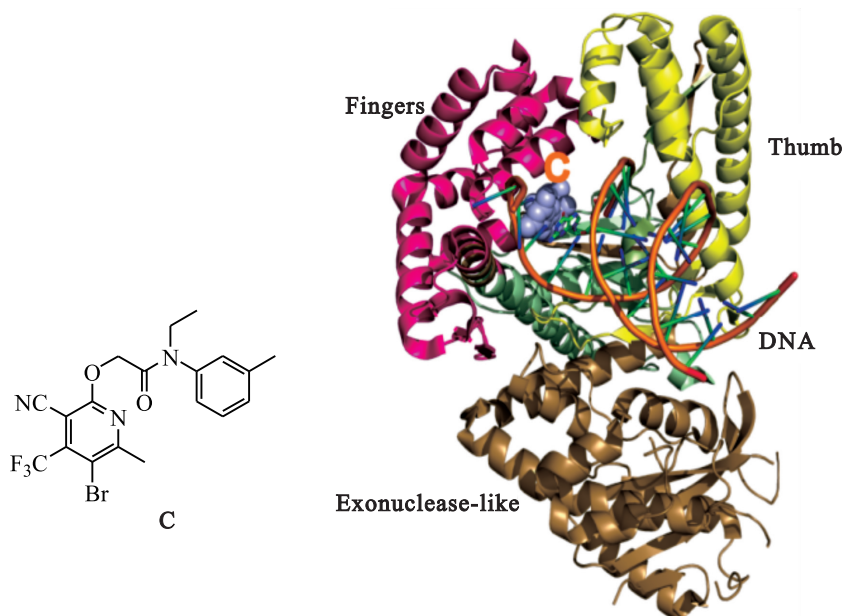


Figure 9 The structure of compound C and the crystal structure of POLQ bound to compound C

2 POLQ 解旋酶结构域抑制剂的研究进展

2.1 临床研究中的 POLQ 解旋酶结构域抑制剂与聚合酶结构域抑制剂相比,有更多的

POLQ 解旋酶结构域抑制剂进入临床阶段,包括新生霉素、RP-3467、GSK4524101、SIM0508、SYN818 等。

新生霉素(novobiocin,图 10)是一种传统抗生素,2021 年 Helleday 团队在《Nature Cancer》中

报道了新生霉素的 POLQ 抑制作用^[50]。该药于 2023 年 7 月进入 I 期临床研究 (NCT05687110), 受试者为携带同源重组缺陷或 DNA 损伤修复改变的 PARP 抑制剂耐药的实体肿瘤患者, 旨在研

究新生霉素钠持续使用的最大耐受剂量和推荐 II 期剂量。RP-3467、GSK4524101、SIM0508、SYN818 的结构尚未公开, 其临床试验情况见表 6。

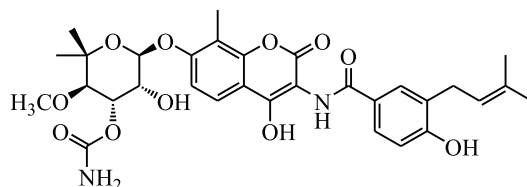


Figure 10 Structure of novobiocin

Table 6 The clinical development status of RP-3467, GSK4524101, SIM0508 and SYN818

Compd.	Research and development company	Phase	Initiation date	Clinical trial registry number
RP-3467	Repare Therapeutics	I	2024-09	NCT06560632
GSK4524101	Glaxo Smith Kline	I	2023-10	NCT06077877
SIM0508	Simcere Zaiming Pharma	I	2024-12	CTR20244105
SYN818	Shengyu Biosciences	I	2024-11	CTR20244063

2.2 临床前研究中的 POLQ 解旋酶结构域抑制剂

最早的 POLQ 解旋酶结构域抑制剂由 Ideaya Biosciences, Inc. 研发, 后与葛兰素史克公司达成合作, 共同开发 POLQ 抑制剂。此外, 北京丹擎医药科技有限公司、南京再明医药有限公司、西藏海思科制药有限公司和 Repare Therapeutics 等公司相继报道了 POLQ 解旋酶结构域抑制剂。值得注意的是, 也有高校参与相关研究, 如中国药科大学不仅发表了相关专利, 也与南京再明医药有限公司合作发表了一篇专利。

2.2.1 噻二唑类衍生物

在 POLQ 解旋酶抑制剂的结构研究方面, Ideaya Biosciences, Inc. 于 2020 年 5 月首次在专利 WO 2020243459A1^[51] 中公开了一类噻二唑类衍生物, 其中化合物 **35** 和 **36** 对 POLQ 解旋酶的 IC₅₀ 值均小于 200 nmol·L⁻¹, 展现出良好的抑制活性。随后, Ideaya Biosciences, Inc. 与葛兰素史克公司合作, 于 2021 年 12 月在专利 WO 2022118210A1^[52] 中进一步优化了相关结构, 得到了化合物 **37** 和 **38**, 其酶活性 IC₅₀ 值均低于 200 nmol·L⁻¹。此后, 2022 年和 2023 年两家公司又陆续公开了四项专利: WO 2022259204A1^[53]、WO 2023067515A1^[54]、WO 2023233295A1^[55] 及 WO 2024121290A1^[56], 披露的化合物结构差异较小, 在专利 WO

2023233295A1 中公开了化合物 **39** 和前药 **40**, 细胞增殖抑制活性实验显示, 化合物 **39** 的 pIC₅₀ 值为 8.23, 前药 **40** 的 pIC₅₀ 值为 8.27, 化合物 **40** 在禁食状态模拟肠液中的溶解度较化合物 **39** 提高约 58 倍, 与仅给药化合物 **39** 时相比, 前药 **40** 的剂量标准化 AUC 改善约 15 倍。此外, 研究发现化合物 **39** 与 PARP (聚腺苷二磷酸核糖聚合酶) 抑制剂尼拉帕利 (niraparib) 联合给药在 MDA-MB-436 细胞系布利斯协同作用实验中显示出协同作用, 该协同作用可有效降低 MDA-MB-436 乳腺癌细胞和 PEO1 卵巢癌细胞的活力。

除上述公司外, 北京丹擎医药科技有限公司与 Cyteir Therapeutics, Inc. 分别在 2021 年 10 月和 2024 年 2 月在各自的专利 WO 2023060573A1^[57] 和 WO 2024182380A2^[58] 中公开了相似结构的化合物并做了酶活性测试 (化合物 **41**: IC₅₀ = 36 nmol·L⁻¹, 化合物 **42**: IC₅₀ = 193 nmol·L⁻¹, 化合物 **43** 和化合物 **44** 的 IC₅₀ 值均小于 0.1 μmol·L⁻¹)。此外, 2023 年 9 月 Repare Therapeutics, Inc. 在专利 WO 2024069592A1^[59] 和 WO 2023050007A1^[60] 中披露的相关化合物亦具有相似骨架, 其中化合物 **45** 对 POLQ 酶活性的 IC₅₀ 值为 1.1 nmol·L⁻¹, 表现出较好的抑制活性。2023 年 11 月北京丹擎医药科技有限公司于专利 WO 2024099336A1^[61] 中公开的化合物 **46** 和 **47** 亦显示出优异的抑制活性, IC₅₀ 值均小于 10 nmol·L⁻¹。

2024年1月,西藏海思科制药有限公司在专利 WO 2024149349A1^[62] 中公开了基于噻二唑结构的 POLQ 解旋酶降解剂,其中化合物 **48** 对 BRCA2 基因缺失的结肠腺癌细胞 DLD-1 BRCA2^{-/-} 的增殖抑制活性 IC₅₀ 值为 2.21 nmol·L⁻¹,对 POLQ 酶抑制活性的 IC₅₀ 值为 0.62 nmol·L⁻¹。进一步对化合物 **48** 进行大鼠和

小鼠药物代谢动力学测试,发现其在大鼠中的生物利用度 > 98%,并且在小鼠中也有良好的药物代谢动力学特征。CYP450 酶抑制活性测试结果表明,化合物 **48** 对人肝微粒体细胞色素 P450 的五种同工酶 (CYP1A2、CYP2C9、CYP219、CYP2D6、CYP3A4) 没有明显的抑制作用,IC₅₀ 值均大于 30 μmol·L⁻¹。化合物 **35** ~ **48** 的结构见表 7。

Table 7 Structures of thiaziazole derivatives

Patent	General formula	Compd.	
[51]			
[52]			
[55]			
[57]			
[58]			
[60]			
[61]			

(to be continued)

Continued Table 7

Patent	General formula	Compd.
[62]		

2.2.2 噻唑并杂环类化合物

2023 年 1 月,百济神州有限公司和南京再明医药有限公司公开的专利 WO 2023134708A1^[63]和 WO 2023134739A1^[64]中公开了一系列噻唑并杂环类化合物(表 8),其中化合物 **49** 和 **50** 对 POLQ 酶的 IC₅₀ 值分别为 4.1 nmol·L⁻¹ 和 3.1 nmol·L⁻¹;化合物 **51** 和 **52** 对 POLQ 酶的

IC₅₀ 值均 < 100 nmol·L⁻¹,对 DLD-1 BRCA2^{-/-} 的增殖抑制 IC₅₀ 值 < 200 nmol·L⁻¹。2023 年 10 月,杭州圣域生物医药科技有限公司申请的专利 WO 2024088407A1^[65]也公开了类似结构的相关研究,其中,化合物 **53**(表 8)对 POLQ 酶的 IC₅₀ 值为 3.31 nmol·L⁻¹,对 DLD-1 BRCA2^{-/-} 细胞的增殖抑制 IC₅₀ 值 < 1.52 nmol·L⁻¹。

Table 8 Structures of thiazolofused heterocyclic compounds

Patent	General formula	Compd.
[63]		
[64]		
[65]		

2.2.3 噻二唑类化合物

中国药科大学申请的 CN 117229260A^[66]专利公开了一系列 POLQ/PARP 双靶点抑制剂(表 9),其结构具有独特性,对 POLQ 和 PARP1 均表

现出较好的抑制活性。酶活性测定结果显示,化合物 **54** 对 POLQ 酶的 IC₅₀ 值为 45.57 nmol·L⁻¹,在给药浓度为 10 nmol·L⁻¹ 时,对 PARP1 的抑制率为 71.12%。

Table 9 Structures of thiadiazole-based dual-target inhibitors

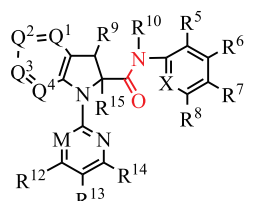
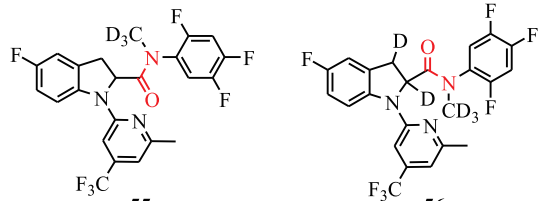
Patent	General formula	Compd.
CN 117229260A		

2.2.4 含氮并环类化合物

中国药科大学和南京再明医药有限公司合作

的专利 WO 2024153143A1^[67] 公开了一系列含氮并环类化合物(表 10)。

Table 10 Structures of nitrogen-containing bicyclic compounds

Patent	General formula	Compd.
WO 2024153143A1		

该类化合物结构与 POLQ 聚合酶结构域抑制剂相似,其中化合物 **55** 和 **56** 对 POLQ 酶的 IC_{50} 值分别为 $77.42 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $45.91 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 DLD-1 BRCA2^{-/-} 细胞的 IC_{50} 值分别为 $3.3 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.8 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 对 DLD-1 亲本细胞无明显活性。

2.3 POLQ 解旋酶结构域抑制剂的结合模式

POLQ 解旋酶结构域是超家族 2 (SF2) 解旋酶的成员,该结构域由五个子结构域 (D1 ~ D5) 组成,其中两个是核心解旋酶结构域,三个是密切相关的球状结构域。RecA 样结构域 D1 和 D2 (分别为残基 1 ~ 289 和 290 ~ 513) 共享一个类似于大肠杆菌 RecA 的原型折叠,并包含解旋酶活性所需的核心机制,包括 ssDNA 结合基序、核苷酸结合位点以及在 SF2 家族解旋酶中保守的所有核心解旋酶基序^[7]。

最近的一项研究解析了 POLQ 解旋酶结构域与抑制剂新生霉素复合物的冷冻电镜结构^[68]。首先,通过生化测定确定新生霉素的作用机制。竞争性实验结果表明,新生霉素对 ATP 表现为非竞争性抑制,而对 ssDNA 表现为竞争性抑制。随后研究人员解析了 POLQ 解旋酶结构域在游离态以及与新生霉素结合状态下的冷冻电镜结构,结果显示高度相似性(均方根偏差为 0.94 \AA)。值得注意的是,冷冻电镜结构中 POLQ 解旋酶结构域以同型二聚体形式存在,并不是前期报道的晶体结构中观察到的四聚体^[7]。

新生霉素-POLQ 解旋酶复合物的结构 (PDB 未披露) 研究显示,新生霉素结合位点与金黄色葡萄球菌 DNA 旋转酶 GyrB 亚基中的经典新生霉素结合位点不同,后者位于 ATP 结合位点旁^[69],而在 POLQ 解旋酶结构域中,新生霉素结合口袋是位于 POLQ 解旋酶结构域中心通道中的裂缝,新生霉素与结合口袋中的 D1、D2 和 D4 亚

结构域紧密接触。新生霉素在该位点的结合不会影响 POLQ 解旋酶的整体结构组织,但以剂量依赖的方式增加了其稳定性。蛋白质-配体相互作用分析表明,香豆素结构与 POLQ 解旋酶 Phe422 (D2 亚结构域, π - π 相互作用)、Val147 和 Ser148 (D1 亚结构域, 氢键作用) 以及 Val147 和 Gln753 (分别为 D1 和 D4 亚结构域, 疏水作用) 形成了复杂的相互作用网络。D1 结构域残基 Pro145、Phe146、Met220 和 Asp223 通过疏水相互作用稳定非极性苯甲酸羟基异戊基部分。此外,新生霉素的糖基部分与 D1 残基 Leu151 和 Thr175、D2 残基 Glu423 以及 D4 残基 Gln749 和 Ser750 之间形成了以氢键为主的极性相互作用。

3 结语与展望

POLQ 抑制剂通过阻断 MMEJ 通路,在同源重组修复缺陷的肿瘤细胞中诱导合成致死,在肿瘤精准治疗中发挥重要作用。POLQ 的 C 端和 N 端分别具有聚合酶活性和 ATPase 活性,作用于其中任意一个结构域,均可以较好的抑制 POLQ 活性。并且在信号通路中, POLQ 处于 PARP 的下游,抑制 POLQ 活性,可以有效解决 PARP 抑制剂的耐药问题,可为日渐增多的 PARP 抑制剂耐药患者提供新的治疗方案。

与此同时, POLQ 抑制剂的研发也面临严峻考验:1) POLQ 结构域与其他 A 家族聚合酶或解旋酶具有同源性,早期化合物存在脱靶风险,聚合酶结构域内部结构尚未完全解析,限制了基于结构的药物设计;2) POLQ 抑制 TMEJ 虽具有选择性,但部分药物在正常组织中仍可能影响 DNA 修复,引发毒性,如 ART4215 推测可能为氘代化合物,因稳定性差而停止研发;3) 与 PARP 抑制剂联合用药虽有协同作用,但剂量优化与联合毒性控制困难,仍需大量临床验证与个体化策略调整。

针对这些问题,未来加强双靶点抑制剂的研发,有望提高抑制效率,利用 AI 与结构辅助设计发展“口袋诱导型”变构抑制剂,提高选择性并降低毒性。基于 TMEJ 依赖特征(如 POLQ 高表达、BRCA 突变、RPA 残留等)建立患者筛选机制;利用合成致死图谱挖掘适应症亚群,提高疗效预测性。值得关注的是除卵巢癌、乳腺癌外,POLQ 抑制剂也可能适用于肺癌、前列腺癌、胰腺癌^[70]等 HRD 或 DNA 修复缺陷相关实体瘤,与免疫治疗结合的潜力(如增强免疫原性)也值得探索。双靶点抑制剂既可以解决 PARP 抑制剂耐药的问题,也可以提高对肿瘤的特异性选择性,改善患者的依从性,减少患者的用药量,更有利于形成多通路合成致死组合策略^[71]。

参考文献:

- [1] SEKI M, MARINI F, WOOD R D. POLQ (pol θ), a DNA polymerase and DNA-dependent ATPase in human cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31 (21): 6117 – 6126.
- [2] BLACK S J, OZDEMIR A Y, KASHKINA E, et al. Molecular basis of microhomology-mediated end-joining by purified full-length pol θ [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 4423.
- [3] SFEIR A, SYMINGTON L S. Microhomology-mediated end joining: a back-up survival mechanism or dedicated pathway? [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40 (11): 701 – 714.
- [4] BRAMBATI A, BARRY R M, SFEIR A. DNA polymerase theta (pol θ): an error-prone polymerase necessary for genome stability [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2020, 60: 119 – 126.
- [5] TRUONG L N, LI Y, SHI L, et al. Microhomology-mediated end joining and homologous recombination share the initial end resection step to repair DNA double-strand breaks in mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110 (19): 7720 – 7725.
- [6] SEOL J H, SHIM E Y, LEE S E, et al. Microhomology-mediated end joining: good, bad and ugly [J]. *Mutat Res*, 2018, 809: 81 – 87.
- [7] NEWMAN J A, COOPER C D O, AITKENHEAD H, et al. Structure of the helicase domain of DNA polymerase theta reveals a possible role in the microhomology-mediated end-joining pathway [J]. *Structure*, 2015, 23 (12): 2319 – 2330.
- [8] MATEOS-GOMEZ P A, KENT T, DENG S K, et al. The helicase domain of pol θ counteracts RPA to promote alt-NHEJ [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24 (12): 1116 – 1123.
- [9] VANSON S, LI Y, WOOD R D, et al. Probing the structure and function of polymerase θ helicase-like domain [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2022, 116: 103358.
- [10] SCHAUB J M, SONIAT M M, FINKELSTEIN I J. Polymerase theta-helicase promotes end joining by stripping single-stranded DNA-binding proteins and bridging DNA ends [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50 (7): 3911 – 3921.
- [11] OZDEMIR A Y, RUSANOV T, KENT T, et al. Polymerase θ -helicase efficiently unwinds DNA and RNA-DNA hybrids [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293 (14): 5259 – 5269.
- [12] RODRIGUEZ-BERRIGUETE G, RANZANI M, PREVO R, et al. Small-molecule pol θ inhibitors provide safe and effective tumor radiosensitization in preclinical models [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29 (8): 1631 – 1642.
- [13] KAWAMURA K, BAHAR R, SEIMIYA M, et al. DNA polymerase θ is preferentially expressed in lymphoid tissues and upregulated in human cancers [J]. *Int J Cancer*, 2004, 109 (1): 9 – 16.
- [14] LEMÉE F, BERGOGLIO V, FERNANDEZ-VIDAL A, et al. DNA polymerase θ up-regulation is associated with poor survival in breast cancer, perturbs DNA replication, and promotes genetic instability [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107 (30): 13390 – 13395.
- [15] ALLERA-MOREAU C, ROUQUETTE I, LEPAGE B, et al. DNA replication stress response involving PLK1, CDC6, POLQ, RAD51 and CLASPIN upregulation prognoses the outcome of early/mid-stage non-small cell lung cancer patients [J]. *Oncogenesis*, 2012, 1 (10): e30.
- [16] PILLAIRE M J, SELVES J, GORDIEN K, et al. A ‘DNA replication’ signature of progression and negative outcome in colorectal cancer [J]. *Oncogene*, 2010, 29 (6): 876 – 887.
- [17] CECCALDI R, LIU J C, AMUNUGAMA R, et al. Homologous recombination-deficient tumors are dependent on POLQ-mediated repair [J]. *Nature*, 2015, 518 (7538): 258 – 262.
- [18] BAXTER J S, ZATREANU D, PETTITT S J, et al. Resistance to DNA repair inhibitors in cancer [J]. *Mol Oncol*, 2022, 16 (21): 3811 – 3827.
- [19] DAI C H, CHEN P, LI K, et al. Co-inhibition of pol θ and HR genes efficiently synergize with cisplatin to

- suppress cisplatin-resistant lung cancer cells survival [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(40): 65157 – 65170.
- [20] HIGGINS G S, PREVO R, LEE Y F, et al. A siRNA screen of genes involved in DNA repair identifies tumour-specific radiosensitisation by POLQ knock-down [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(7): 2984.
- [21] HIGGINS G S, HARRIS A L, PREVO L J, et al. Overexpression of POLQ confers a poor prognosis in early breast cancer patients [J]. *Oncotarget*, 2010, 1(3): 175 – 184.
- [22] FENG W, SMITH C M, SIMPSON D A, et al. Targeting non-homologous and alternative end joining repair to enhance cancer radiosensitivity [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2022, 32(1): 29 – 41.
- [23] KUMAR R J, CHAO H X, SIMPSON D A, et al. Dual inhibition of DNA-PK and DNA polymerase theta overcomes radiation resistance induced by p53 deficiency [J]. *NAR Cancer*, 2020, 2(4): zcaa038.
- [24] WANG Z, SONG Y, LI Y, et al. DNA polymerase (POLQ) is important for repair of DNA double-strand breaks caused by fork collapse [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(11): 3909 – 3919.
- [25] Artios Pharma Limited. Deuterated compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2021028670A1 [P]. 2021 – 02 – 18.
- [26] RANZANI M, CICONI A, BARLOW J, et al. DNA polymerase theta inhibitor, ART6043, potentiates the efficacy of ¹⁷⁷Lu- and ²²⁵Ac-based radioligand therapies *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer Res*, 2025, 85(8 Suppl 1): 2916.
- [26] Artios Pharma Limited. Thiazoleureas as anticancer agents; WO, 2020030924A1 [P]. 2020 – 02 – 13.
- [27] Artios Pharma Limited. Heterocyclic substituted ureas, for use against cancer; WO, 2020030925A1 [P]. 2020 – 02 – 13.
- [28] Shanghai Yishi Pharmaceutical Technology Co., Ltd.. Heterocyclic urea compounds, preparation methods and uses thereof; CN, 115353512A [P]. 2022 – 11 – 18.
- [29] Ideaya Biosciences, Inc.. Acetamido derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2020160134A1 [P]. 2020 – 08 – 06.
- [30] Ideaya Biosciences, Inc.. Heteroarylmethylene derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2020160213A1 [P]. 2020 – 08 – 06.
- [31] Ideaya Biosciences, Inc.. Acetamido-amino and acetamido-sulfur derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2022026548A1 [P]. 2022 – 03 – 02.
- [32] Synrx Therapeutics (Hangzhou) Co., Ltd.. Heterocyclic compound, pharmaceutical composition and use thereof; WO, 2023217095A1 [P]. 2023 – 11 – 16.
- [33] Artios Pharma Limited. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2021028643A1 [P]. 2021 – 02 – 18.
- [34] Artios Pharma Limited. DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2021123785A1 [P]. 2021 – 06 – 24.
- [35] Ideaya Biosciences, Inc.. Cyclized acetamido derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2022026565A1 [P]. 2022 – 02 – 03.
- [36] Shanghai Pailong Biotechnology Co., Ltd.. DNA polymerase theta inhibitor and application thereof; WO, 2023125918A1 [P]. 2023 – 07 – 06.
- [37] Wuhan Humanwell Innovative Drug R & D Center Co., Ltd. A pol θ inhibitor; WO, 2023169573A1 [P]. 2023 – 09 – 14.
- [38] Chengdu Baiyu Pharmaceutical Co., Ltd.. Pyrrolo-fused ring derivatives and their pharmaceutical applications; WO, 2024109688A1 [P]. 2024 – 05 – 30.
- [39] Cyteir Therapeutics, Inc.. 4, 5-Fused bicyclic pyrrolidine and 4, 5-fused bicyclic pyrrolidinone compounds; WO, 2024182382A1 [P]. 2024 – 09 – 06.
- [40] Cyteir Therapeutics, Inc.. Substituted pyrrolidine and pyrrolidinone compounds; WO, 2024182384A1 [P]. 2024 – 09 – 06.
- [41] Artios Pharma Limited. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2023067355A1 [P]. 2023 – 04 – 27.
- [42] Artios Pharma Limited. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2023067356A1 [P]. 2023 – 04 – 27.
- [43] Artios Pharma Limited. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2023067353A1 [P]. 2023 – 04 – 27.
- [44] Artios Pharma Limited. Heterocyclic compounds for use in the treatment of cancer; WO, 2023067354A1 [P]. 2023 – 04 – 27.
- [45] ZAHN K E, AVERILL A M, ALLER P, et al. Human DNA polymerase θ grasps the primer terminus to mediate DNA repair [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(4): 304 – 311.
- [46] POMERANTZ R T, KOOL E T. Compositions and methods of treatment using expanded-size DNA analogs; WO, 2018035410 [P]. 2018 – 02 – 22.
- [47] BUBENIK M, MADER P, MOCHIRIAN M, et al. Identification of RP-6685, an orally bioavailable compound that inhibits the DNA polymerase activity

- of pol θ [J]. Med Chem, 2022, 65 (19): 13198 – 13215.
- [48] JOYCE C M, POTAPOVA O, DELUCIA M, et al. Fingers-closing and other rapid conformational changes in DNA polymerase I (klenow fragment) and their role in nucleotide selectivity [J]. Biochemistry, 2008, 47: 6103 – 6116.
- [49] STOCKLEY M L, FERDINAND A, BENEDETTI R A, et al. Discovery, characterization, and structure-based optimization of small-molecule *in vitro* and *in vivo* probes for human DNA polymerase theta [J]. Med Chem, 2022, 65 (20): 13879 – 13891.
- [50] HELLEDAY T. Pol θ inhibitors unchained [J]. Nat Cancer, 2021, 2: 581 – 583.
- [51] Ideaya Biosciences, Inc.. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2020243459A1 [P]. 2020 – 12 – 03.
- [52] Ideaya Biosciences, Inc., Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 4) Limited. Substituted thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2022118210A1 [P]. 2022 – 06 – 09.
- [53] Ideaya Biosciences, Inc., Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 4) Limited. *O*-linked thiadiazolyl compounds as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2022259204A1 [P]. 2022 – 12 – 15.
- [54] Ideaya Biosciences, Inc., Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 4) Limited. Thiadiazolyl compounds as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2023067515A1 [P]. 2023 – 04 – 27.
- [55] Ideaya Biosciences, Inc., Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 4) Limited. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors and uses thereof; WO, 2023233295A1 [P]. 2023 – 12 – 07.
- [56] Glaxosmithkline Intellectual Property (No. 4) Limited, Ideaya Biosciences, Inc.. Thiadiazolyl derivatives as DNA polymerase theta inhibitors and uses thereof; WO, 2024121290A1 [P]. 2024 – 06 – 13.
- [57] Beijing Danatlas Pharmaceutical Co., Ltd.. Novel thiadiazolyl derivatives of DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2023060573A1 [P]. 2023 – 04 – 20.
- [58] Cyteir Therapeutics, Inc.. Substituted thiadiazolyl compounds; WO, 2024182380A2 [P]. 2024 – 09 – 06.
- [59] Repare Therapeutics, Inc.. *N*-(5-substituted-(1,3,4-thiadiazolyl) or (1,3-thiazolyl) carboxamide compounds, pharmaceutical compositions, and methods of preparing the amide compounds and of their use; WO, 2024069592A1 [P]. 2024 – 04 – 04.
- [60] Repare Therapeutics, Inc.. *N*-(5-substituted-(1,3,4-thiadiazolyl) or (thiazolyl) carboxamide compounds and use thereof for inhibiting human polymerase theta; WO, 2023050007A1 [P]. 2024 – 04 – 06.
- [61] Danatlas Pharmaceuticals Co., Ltd.. Thiadiazolyl derivatives, compositions and uses thereof; WO, 2024099336A1 [P]. 2024 – 05 – 16.
- [62] Xizanghaisco Pharmaceutical Co., Ltd.. Compound targeting pol θ and use thereof; WO, 2024149349A1 [P]. 2024 – 07 – 18.
- [63] BeiGene Ltd.. Thiazolopyridyl amide derivatives as DNA polymerase theta inhibitors; WO, 2023134708A1 [P]. 2023 – 07 – 20.
- [64] Nanjing Zaiming Pharmaceutical Co., Ltd.. Six-membered cyclothiazole compound and use thereof; WO, 2023134739A1 [P]. 2023 – 07 – 20.
- [65] Hangzhou Synrx Therapeutics Biomedical Technology Co., Ltd.. Nitrogen-containing fused ring compound, intermediate thereof, preparation method therefor and use thereof; WO, 2024088407A1 [P]. 2024 – 05 – 02.
- [66] China Pharmaceutical University. Dual-target inhibitors of DNA polymerase θ and poly (ADP-ribose) polymerase 1, their preparation methods and pharmaceutical uses; CN, 117229260A [P]. 2023 – 12 – 15.
- [67] China Pharmaceutical University, Nanjing Zaiming Pharmaceutical Co., Ltd.. Nitrogen-containing fused ring compound and use thereof; WO, 2024153143A1 [P]. 2024 – 07 – 25.
- [68] GUO H B, WANG Y X, MAO J, et al. Cryo-em structure of DNA polymerase θ helicase domain in complex with inhibitor novobiocin [EB/OL]. Biorxiv, <https://doi.org/10.1101/2023.01.20.524915>.
- [69] LEWIS R J, SINGH O M, SMITH C V, et al. The nature of inhibition of DNA gyrase by the coumarins and the cyclothialidines revealed by X-ray crystallography [J]. EMBO J, 1996, 15 (6): 1412 – 1420.
- [70] OH G, WANG A, WANG L, et al. POLQ inhibition elicits an immune response in homologous recombination-deficient pancreatic adenocarcinoma *via* cGAS/STING signaling [J]. J Clin Invest, 2023, 133 (11): e165934.
- [71] NING W T, HU Z H, DONG C E, et al. Recent advances of dual-targeted anti-breast cancer drugs [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2020, 30 (12): 778 – 788.

Research progress of POLQ inhibitors

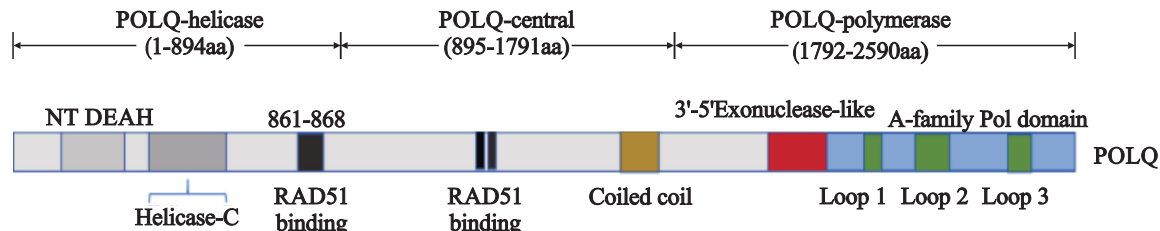
YUAN Zhichen¹, ZHOU Feiyang², JIN Wenxian^{3*}, LIU Xuyuan^{3*}, YUAN Jing^{1*}

(1. Graduate School, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

2. College of Petroleum Engineering, China University of Petroleum Beijing, Beijing 102249, China;

3. Tianjin Key Laboratory of Drug Design and Discovery, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Co., Ltd., Tianjin 300301, China)

Abstract: DNA damage repair pathways are crucial for maintaining genomic stability. With the successful launch and clinical application of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors, the synthetic lethality strategy has demonstrated significant potential in cancer therapy. As a key target in the DNA damage repair pathway, DNA polymerase θ (POLQ) has attracted considerable attention in recent years and is regarded as a promising approach to overcoming PARP inhibitor resistance. In this review, the authors summarize recent advances in the development of antitumor POLQ inhibitors, discussing separately the structural classification, biological activity, mechanistic studies, and clinical progress of inhibitors targeting the polymerase domain and the helicase domain of POLQ. Furthermore, the patent status and competitive landscape in this field are outlined, aiming to provide insights for the research and development of POLQ inhibitors.



Key words: synthetic lethality; DNA damage repair pathways; POLQ inhibitor; antitumor