

· 研究论文 ·

新型 PARP1/2 抑制剂 YHP-743 的抗肿瘤作用

季 鸣, 姚海平, 周 洁, 金 晶, 王丽媛, 来芳芳, 薛妮娜, 徐柏玲, 陈晓光*

(中国医学科学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室/创新药物非临床药物代谢及 PK/PD 研究北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要: 多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 [poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]-1 和 PARP2 是参与 DNA 损伤修复的重要蛋白修饰酶, 在多种肿瘤中处于高表达, 目前已经成为肿瘤治疗的一个新靶点。本文从体外酶学、细胞及其体内动物水平评价了新型 PARP1/2 抑制剂 YHP-743 的抗肿瘤活性。结果表明, YHP-743 可显著抑制 PARP1 和 PARP2 酶学活性, 降低细胞内反映 PARP1/2 酶活性的 PAR 水平。在细胞水平, YHP-743 可有效抑制存在同源重组基因缺陷的乳腺癌细胞的增殖, 也可以与替莫唑胺、拓扑替康、顺铂、多柔比星等化疗药物联用增强其杀伤肿瘤细胞的作用。在人三阴乳腺癌细胞 MX-1 裸鼠异体移植瘤模型中, YHP-743 与替莫唑胺联用可显著抑制肿瘤的生长。

关键词: 多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 1; 多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 2; DNA 损伤修复; 抗肿瘤作用; 抑制剂
中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870 (2018) 06-0938-06

Antitumor activity of a novel PARP1/2 inhibitor YHP-743

JI Ming, YAO Hai-ping, ZHOU Jie, JIN Jing, WANG Li-yuan, LAI Fang-fang,
XUE Ni-na, XU Bai-ling, CHEN Xiao-guang*

(State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines/Beijing Key Laboratory of Non-Clinical Drug Metabolism and PK/PD Study, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

Abstract: Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)-1 and PARP2 function as ADP-ribosylases involved in DNA repair. PARP1/2 is highly expressed in cancers and emerged as an attractive target for antitumor drug. In this study, we investigated the antitumor activity of a novel PARP1/2 inhibitor YHP-743 *in vitro* and *in vivo*. The results showed that YHP-743 had potent enzymatic inhibitory activity against PARP1 and PARP2 to down-regulate the PAR level. YHP-743 not only inhibited breast cancer cells with genes deficiency of homologous recombination repair, but also potentiated chemotherapy agent's cytotoxicity, such as temozolomide, topotecan, cisplatin and doxorubicin. YHP-743 elicited good antitumor activity in combination with temozolomide *in vivo*.

Key words: poly(ADP-ribose) polymerase-1; poly(ADP-ribose) polymerase-2; DNA repair; antitumor activity; inhibitor

多聚 (ADP-核糖) 聚合酶 (PARP) 是一种蛋白修饰酶家族, 其催化 NAD⁺ 分子中的 ADP-核糖转移到

蛋白分子氨基酸残基上, 从而对蛋白进行修饰, 调节蛋白的功能^[1]。PARP 已发现有 17 个成员, 目前研究较为深入的是 PARP1/2, 它们催化蛋白的多聚 ADP-核糖化修饰, 主要参与调节 DNA 损伤修复、细胞死亡和转录, 进而在肿瘤疾病和多种非肿瘤急慢性病变病程中发挥重要作用。PARP1/2 通过 DNA 损伤修复机制在维持基因的稳定性中起着关键的作用^[2]。在

收稿日期: 2018-03-21; 修回日期: 2018-04-08.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目 (2016-I2M-3-008).

*通讯作者 Tel: 86-10-63165207, E-mail: chxg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0247

肿瘤细胞中, PARP1/2 一般处于高表达状态, 导致肿瘤对于治疗产生耐受或耐药。因此, 抑制 PARP 能够减少肿瘤产生耐受, PARP1/2 已成为肿瘤治疗的一个新靶点。一方面, PARP1/2 抑制剂可以通过合成致死的原理, 单独用药治疗存在同源重组 (homologous recombination, HR) 修复基因缺陷 (如 BRCA1/2 突变、PTEN 缺陷) 的肿瘤细胞; 另一方面 PARP1/2 抑制剂又可以与化疗药物、分子靶向药物联合使用, 增强这些药物的杀伤肿瘤作用, 克服其耐药^[1,3,4]。目前国际上各大制药公司均在竞相开发该靶点药物, 从 2014 年以来, 已有 3 个 PARP1/2 抑制剂 olaparib、rucaparib 和 niraparib 获批上市用于卵巢癌的治疗^[5-7], 而在国内尚无 PARP1/2 抑制剂上市, 因此研发新型的 PARP1/2 抑制剂对于提高我国药物的可及性具有重要的意义。

本研究利用已经建立的 PARP 抑制剂筛选方法^[8-10], 获得了高活性的 PARP1/2 抑制剂 YHP-743, 并针对该化合物进行了体内外抗肿瘤作用评价。

材料与方法

细胞 MCF-7、MDA-MB-231、MDA-MB-468、MDA-MB-453 购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心, MX-1 由实验室保存。

试剂与药物 Veliparib、多柔比星 (doxorubicin, Dox)、拓扑替康 (topotecan, TPT) 购自 Selleck 公司; 替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 购自百灵威公司; 顺铂 (cisplatin, CisPt) 购自齐鲁制药; 紫杉醇 (taxol) 由北京协和药厂提供; 抗 PAR 抗体购自美国 Trevigen 公司; 抗 γ H2AX 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 抗 β -actin 抗体购自美国圣克鲁斯生物技术; 组蛋白、DNA 和 MTT 购自 Sigma-Aldrich 公司。

仪器与设备 Biotek 全波长酶标仪 (美国), GE ImageQuant LAS 4000 mini 凝胶成像仪 (美国)。

细胞培养 MX-1、MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞培养于含 10% FBS 和抗生素的 DMEM 培养基中, MDA-MB-468 和 MDA-MB-453 细胞培养于含 10% FBS 和抗生素的 RPMI 1640 培养基中。

PARP1/2 抑制剂酶学抑制活性检测 利用实验室建立的 PARP1/2 抑制剂筛选方法进行检测^[8]。用 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 组蛋白于 4°C 包被 96 孔板过夜, 用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 和 PBS 各洗板 2 次。设置空白对照孔、加酶对照孔、化合物 YHP-743 测定孔, 空白对照孔加入测定缓冲液 ($50 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris、 $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

MgCl_2 , pH 8.0) 配制的 NAD^+ (5pmol) $30 \mu\text{L}$, 纯化缓冲液 ($0.1 \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl、 $50 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris、 $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MgCl_2 , pH 8.0) $10 \mu\text{L}$ 、DNA ($1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $5 \mu\text{L}$; 加酶对照孔加 NAD^+ (5pmol) $30 \mu\text{L}$ 、PARP1 或 PARP2 (0.005U) $10 \mu\text{L}$ 、DNA ($1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $5 \mu\text{L}$; 化合物对照孔加入 NAD^+ (5pmol) $30 \mu\text{L}$ 、veliparib 或 YHP-743 稀释液 $5 \mu\text{L}$ 、PARP1 或 PARP2 (0.005U) $10 \mu\text{L}$ 、DNA ($1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $5 \mu\text{L}$, 然后各孔补齐 $50 \mu\text{L}$ 体积, 室温反应 1 h。利用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 和 PBS 各洗板 2 次。再加入用 PBS 1 : 500 稀释的抗 PAR 抗体 $50 \mu\text{L}$, 室温孵育 1 h, 含 0.1% Triton X-100 的 PBS 和 PBS 各洗板 2 次。加入 PBS 1 : 4 000 稀释的山羊抗鼠二抗 $50 \mu\text{L}$, 室温孵育 30 min, 用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 和 PBS 各洗板 2 次。再加入 TMB 反应液 $50 \mu\text{L}$, 室温避光反应 15 min, 用 $1 \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸 $50 \mu\text{L}$ 终止反应。450 nm 测定吸收值。计算化合物 YHP-743 对 PARP1 或 PARP2 的抑制率。

MTT 检测 将对数生长期的肿瘤细胞用胰酶消化后配制成浓度为每毫升 2×10^4 个细胞的细胞液, 每孔 $100 \mu\text{L}$ (2 000 个细胞) 接种于 96 孔板。次日每孔加入不同浓度 YHP-743 或 veliparib 及相应溶剂对照的新鲜培养基 $100 \mu\text{L}$ (DMSO 终浓度 $< 0.5\%$), 每组设 3 个平行孔, 于 37°C 继续培养 72 h 后, 弃上清, 每孔加 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ MTT, 37°C 孵育 4 h 后弃上清, 加入 DMSO 后, 振荡混匀后, 用酶标仪在 570 nm 波长下测定光吸收值 (A)。

增敏作用检测 参照上述方法, 每孔加入不同浓度的化疗药物和固定浓度的 YHP-743 或 veliparib 及相应溶剂对照的新鲜培养基 $100 \mu\text{L}$ (DMSO 终浓度 $< 0.5\%$), 于 37°C 继续培养 72 h 后, 按照“MTT 检测”方法测定吸收值 (A)。

蛋白免疫印迹 收集 YHP-743 处理的细胞, 蛋白定量后, 电泳转膜, 用含 5% 脱脂奶粉的 TBS-T 缓冲液室温封闭非特异性结合位点 1 h 后, 用 TBS-T 缓冲液洗膜 3 次, 每次 10 min, 加入 1 : 1 000 稀释比例的一抗, 4°C 孵育过夜。次日, TBS-T 缓冲液洗膜 3 次后, 加 1 : 3 000 稀释的 HRP 标记的二抗, 室温孵育 1 h 后加入 TBS-T 缓冲液洗膜 3 次, 加入 ECL 化学发光底物反应液后进行凝胶成像检测。

体内动物实验 无菌条件下收集人乳腺癌 MX-1 细胞, 用灭菌生理盐水调整至每毫升 1×10^7 个细胞, 取 0.2 mL 接种于雌性 BALB/c 裸鼠腋背部皮下, 待肿瘤生长至直径 1 cm 大小, 无菌条件下取出, 匀浆后均匀接种于裸鼠腋背部皮下 (2×10^6 个细胞)。7 日

后待肿瘤生长至 100~300 mm³ 后, 将动物随机分组, 开始给药 (记为第 0 天)。口服给药, 替莫唑胺连续口服给药 5 天; 单药 YHP-743 组连续给药 13 天; 联合给药组替莫唑胺和待测化合物均连续口服给药 5 天 (两种药物给药间隔时间为 1 h)。所有化合物均混悬于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液中。每周 3 次称量体重并用游标卡尺测量肿瘤的长度和宽度, 给药第 13 天后将裸鼠脱臼处死, 剥离肿瘤组织, 称重并拍照。最后计算肿瘤抑制率, 以肿瘤抑制率评价 YHP-743 抗肿瘤作用强度。

数据处理 体外实验重复 3 次, 数据以平均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 使用 Graphpad Prism 进行数据统计和计算。

$$\text{酶学抑制率} \% = [A_{\text{enzyme}} - A_{\text{test}}] / [A_{\text{enzyme}} - A_{\text{con}}] \times 100\%$$

$$\text{细胞抑制率} \% = [1 - A_{\text{test}} / A_{\text{con}}] \times 100\%$$

其中, test 为待测化合物, con 为空白对照组, enzyme 为加酶对照组。

肿瘤体积 (TV): $V = 1/2 \times a \times b^2$, a 和 b 分别表示肿瘤体长和宽。

抑瘤率 TGI (%) = $(1 - T/C) \times 100$, T 为 YHP-743 组肿瘤重量, C 为阴性对照组或替莫唑胺组肿瘤重量。

结果

1 YHP-743 的体外抗肿瘤活性

YHP-743 是一个具有新型结构的 PARP1/2 抑制剂, 结构如图 1 所示。在多种乳腺癌细胞上通过 MTT 方法检测 YHP-743 杀伤肿瘤细胞的作用。由表 1 可见, YHP-743 对于存在同源重组修复缺陷的乳腺癌细胞具有较强的杀伤作用, 而对于不存在同源重组修复缺陷的乳腺癌细胞的杀伤作用较弱。体外酶学水平检测化合物 YHP-743 对 PARP1 和 PARP2 抑制活性表明, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 值分别为 2.3 和 1.5 nmol·L⁻¹, 与阳性化合物 veliparib 相当 (表 2)。

为了进一步评价 YHP-743 在细胞上对 PARP1/2 的抑制作用, 采用蛋白免疫印迹法检测反映细胞内 PARP1/2 酶活性的 PAR 水平和细胞 DNA 损伤的 γ H2AX 水平。由图 2 可见, YHP-743 处理 MX-1 细胞

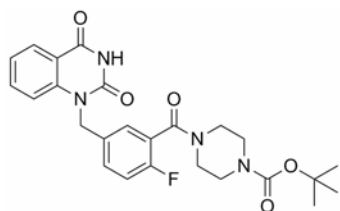


Figure 1 Chemical structure of YHP-743

Table 1 Cytotoxicity of YHP-743 on breast cancer cells. Cells were treated with various concentrations of YHP-743 or veliparib for 72 h and the cytotoxicity was detected via MTT method. BRCA 1/2: Breast cancer susceptibility gene 1/2; PTEN: Phosphatase and tensin homolog

Cell line	HR gene mutation/deletion	IC ₅₀ /μmol·L ⁻¹	
		YHP-743	Veliparib
MX-1	BRCA1/2	5.64 ± 1.58	50.37 ± 7.21
MDA-MB-468	PTEN	39.48 ± 3.23	>100
MDA-MB-453	PTEN	17.31 ± 2.20	56.55 ± 6.87
MDA-MB-231	-	>100	>100
MCF-7	-	>100	>100

Table 2 The enzymatic inhibitory activities of YHP-743 on PARP1 and PARP2

IC ₅₀ /nmol·L ⁻¹	YHP-743	Veliparib
PARP1	2.3 ± 0.3	5.2 ± 0.4
PARP2	1.5 ± 0.3	2.9 ± 0.4

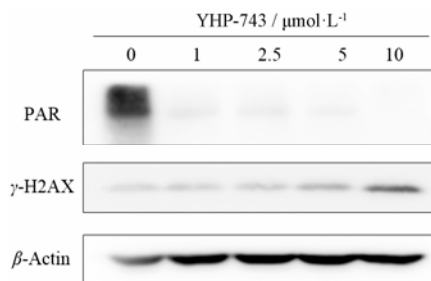


Figure 2 The inhibitory activity of YHP-743 in MX-1 breast cancer cell. The protein levels of PAR and γ H2AX were detected via immunoblotting in MX-1 cells exposure to various concentrations of YHP-743 for 24 h

24 h 后, 细胞内 PAR 水平降低, 而 γ H2AX 水平升高, 均具有剂量依赖性。提示 YHP-743 可抑制肿瘤细胞中的 PARP1/2 活性, 进而阻断细胞内 DNA 损伤修复, 最终引起肿瘤细胞死亡。

2 YHP-743 对于化疗药物的增敏作用

在确证 YHP-743 单药可杀伤肿瘤细胞的基础上, 考察了 YHP-743 对化疗药物的增敏作用。首先, 在不同类型的乳腺癌细胞上检测 YHP-743 与生物烷化剂 TMZ 联用杀伤肿瘤细胞的作用。从图 3 可见, 无论乳腺癌细胞是否存在同源重组修复缺陷, YHP-743 均可增强 TMZ 杀伤肿瘤的作用, 具有良好的增敏效应。

本文利用 MX-1 细胞进一步评价了 YHP-743 与其他化疗药物联用的增敏作用。由图 4 结果可见, YHP-743 不仅对生物烷化剂 TPT 和 CisPt 具有增敏作用, 而且亦可增强其他化疗药物 taxol 和 Dox 杀伤肿瘤细胞的作用。表明 YHP-743 与化疗药物联用, 可增强这些药物的作用。

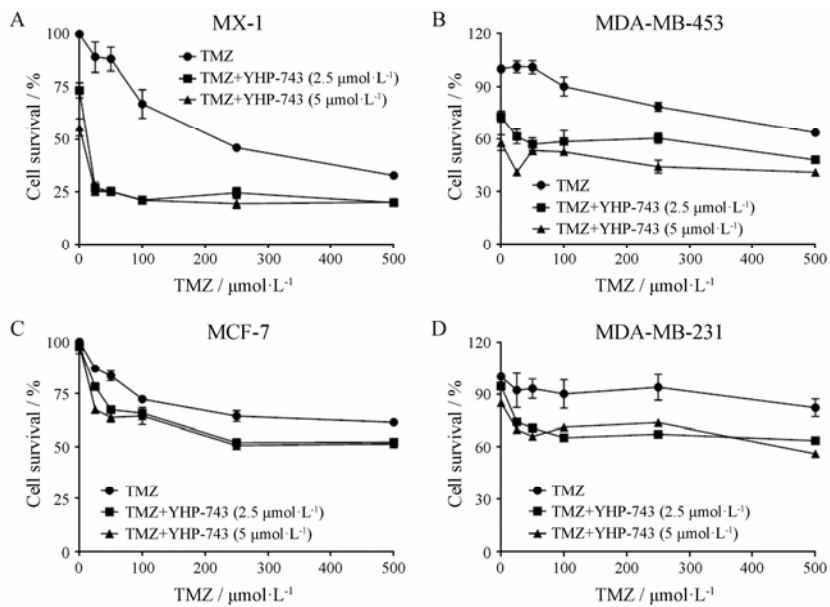


Figure 3 The potentiation effect of YHP-743 on temozolomide (TMZ) in various breast cancer cells. MX-1 (A), MDA-MB-453 (B), MCF-7 (C) and MDA-MB-231 (D) cells were treated with indicated concentrations of TMZ combined with fixed concentrations of YHP-743 for 72 h, respectively. The cell survival was calculated and shown as cell survival curve

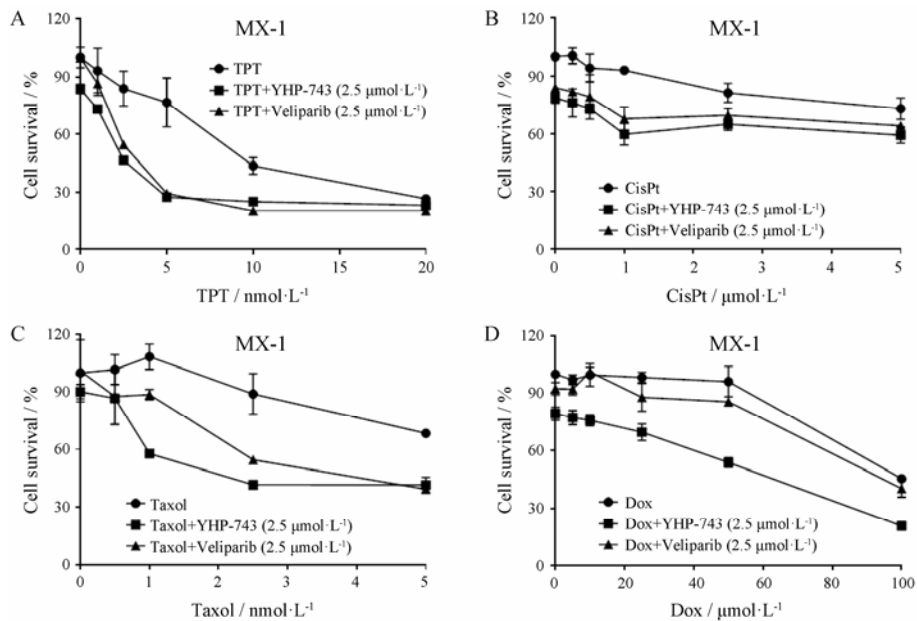


Figure 4 The potentiation effect of YHP-743 on different chemotherapy agents in MX-1 breast cancer cell. MX-1 cells were treated with indicated concentrations of topotecan (TPT, A), cisplatin (CisPt, B), taxol (C) or doxorubicin (Dox, D) combined with fixed concentration of YHP-743 or veliparib for 72 h respectively. The cell survival was calculated and shown as cell survival curve

3 YHP-743 体内抑制肿瘤生长的作用

在体外细胞水平, YHP-743 单独给药不仅可以杀伤同源重组修复缺陷的肿瘤细胞, 而且对于不同的化疗药物具有增敏作用。在人乳腺癌 MX-1 裸鼠异体移植瘤模型上, 考察了 YHP-743 单药以及联合用药对体内肿瘤生长的抑制作用。由图 5 可见, 联合给药组 YHP-743 和 TMZ 连续口服给药 5 天后停药, 结果显示 YHP-743 和 TMZ 联合给药组可显著抑制肿

瘤的生长。YHP-743 在 12.5 和 $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量下与 TMZ 合用, 相对于溶剂组的抑瘤率分别为 88% 和 91% , 而相对于 TMZ 组的抑瘤率分别为 63% 和 74% (表 3)。但 YHP-743 和 veliparib 单药组未见明显的抑制肿瘤生长的作用。在实验过程中, YHP-743 单独用药组与溶剂组相比未出现明显体重变化, 而 YHP-743 联合用药组与 TMZ 组相比, 体重没有出现明显降低。

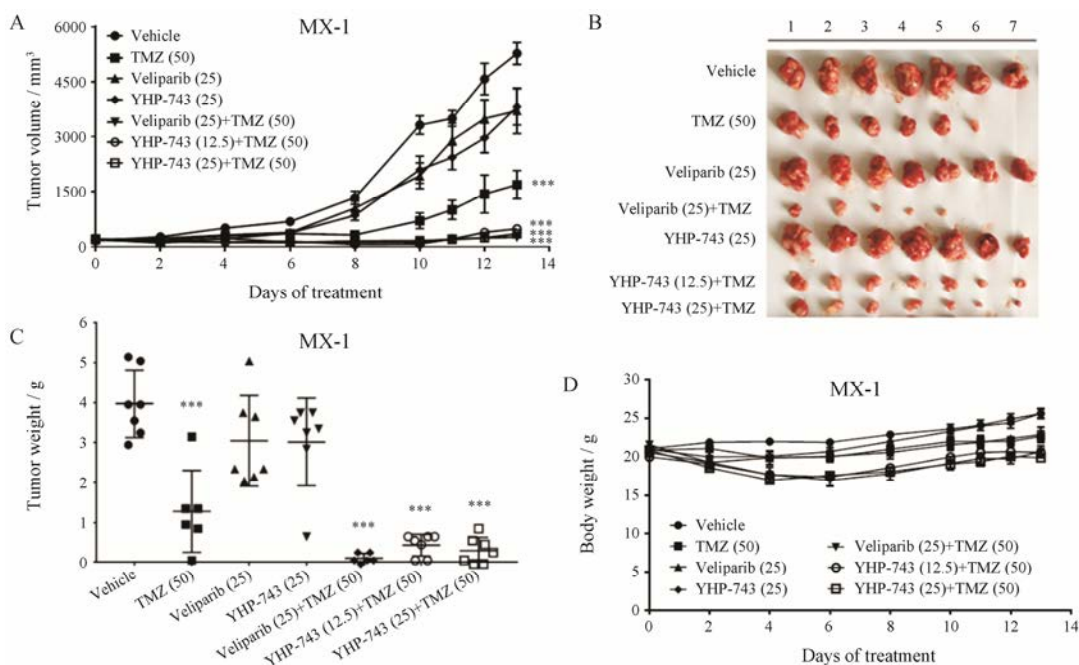


Figure 5 Antitumor activity of YHP-743 in breast cancer MX-1 xenograft mice model. MX-1 bearing mice were orally administrated with YHP-743 or veliparib of 25 mg·kg⁻¹ for 13 days or TMZ of 50 mg·kg⁻¹ for 5 days. For combination group, mice were orally administrated with YHP-743 (12.5 or 25 mg·kg⁻¹) or veliparib (25 mg·kg⁻¹) in combination with TMZ (50 mg·kg⁻¹) for 5 days. A: Tumor growth curve; B: Tumor issue; C: Tumor weight; D: Body weight curve. n=7, $\bar{x} \pm s$. ***P<0.001 vs vehicle group

Table 3 Antitumor activity of YHP-743 in breast cancer MX-1 xenograft mice model. n=7, $\bar{x} \pm s$. ***P<0.001 vs vehicle group. TGI: Tumor growth inhibition; T/C_{veh}: Mean tumor volume of treated group/mean tumor volume of vehicle group

Group	Dose/mg·kg ⁻¹ ×time/day	Number (end/start)	Tumor weight/g	T/C _{veh} % (TGI%)	T/C _{TMZ} % (TGI%)
Vehicle	–	7/7	4.03 ± 0.78	–	–
TMZ	50×5	6/7	1.33 ± 0.94***	33 (67)	–
Veliparib	25×13	7/7	3.10 ± 1.04	77 (23)	–
Veliparib+TMZ	25×5, 50×5	6/7	0.15 ± 0.11***	4 (96)	11 (89)
YHP-743	25×13	7/7	3.07 ± 1.01	76 (24)	–
YHP-743+TMZ	12.5×5, 50×5	7/7	0.49 ± 0.25***	12 (88)	37 (63)
	25×5, 50×5	7/7	0.35 ± 0.31***	9 (91)	26 (74)

讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤，其发病率逐年提高，特别是晚期乳腺癌，仍是不可治愈的疾病，BRCA 突变是其发生、发展的重要因素。目前的治疗只能减轻症状，改善生活质量和延长生存^[11,12]。在临床上，经典的治疗模式是维持治疗，维持治疗的药物都是化疗药物。由于化疗药物毒性较大、维持治疗的给药周期较长，患者的耐受性较差、不良反应较多，且容易产生耐药。因此，理想的维持治疗方案选择的药物应具有低毒、有效、使用方便等特点。这就要求能够开发出低毒、易于耐受的靶向药物。近年研究发现，三阴乳腺癌和 BRCA 突变乳腺癌对 PARP1/2 抑制剂更为敏感^[13–16]，这提示 PARP1/2 抑制剂有可能成为治疗乳腺癌的新型靶向药物。

本研究在酶学、细胞水平和动物水平对具有新型结构的 PARP1/2 抑制剂 YHP-743 进行了体内外活性评价。YHP-743 可显著地抑制 PARP1 和 PARP2 的酶学活性，在细胞上表现为可以抑制 PAR 水平，增加 γ H2AX 水平。在存在同源重组基因缺陷细胞（如 MX-1 存在 BRCA1/2 缺陷）上，YHP-743 单独使用可通过合成致死原理有效抑制乳腺癌细胞的增殖，也可以与化疗药物联用增强这些药物杀伤肿瘤细胞的作用。在体内，YHP-743 与 TMZ 联用具有显著的抑制肿瘤生长作用，但是 YHP-743 和阳性药 veliparib 单药未见明显抑制肿瘤生长的作用。这可能与该肿瘤模型有关，在该模型的其他实验中，PARP1/2 抑制剂 olaparib 每天口服给药 200 mg·kg⁻¹，连续 13 天，也未见明显的抑制肿瘤生长的作用，该结果与文献报

道类似^[13]。因此, 需要其他的肿瘤模型如 MDA-MB-436 来评价 YHP-743 单独用药的抑瘤作用^[3]。此外, 在实验过程中, YHP-743 与 TMZ 联合给药组与 TMZ 组相比, 体重没有出现明显下降, 提示 YHP-743 具有较好的安全性, 不会增加 TMZ 的毒性。

YHP-743 是本研究发现的一个具有较好体内外活性的 PARP1/2 抑制剂, 与目前在研和上市的 PARP1/2 抑制剂类似^[1], 该化合物也具有 PARP1/2 抑制剂的共同活性结构基团, 但 YHP-743 具有全新的化学结构。然而, 体内外研究结果显示 YHP-743 量效关系欠佳, 提示其透膜性和药代特性可能不理想, 因此, 仍需对 YHP-743 化合物进行结构修饰和改造, 提高其体内外活性并改善药代特性。

综上所述, 本研究证明 YHP-743 对 PARP1/2 活性具有较强的抑制作用, 不仅单药可以杀伤肿瘤细胞, 与化疗药物联合用药更可增强药物的疗效。本研究为进一步开发治疗乳腺癌的新型 PARP1/2 抑制剂提供了实验基础。

References

- [1] Gibson BA, Kraus WL. New insights into the molecular and cellular functions of poly(ADP-ribose) and PARPs [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 411–424.
- [2] Beck C, Robert I, Reina-San-Martin B, et al. Poly(ADP-ribose) polymerases in double-strand break repair: focus on PARP1, PARP2 and PARP3 [J]. *Exp Cell Res*, 2014, 329: 18–25.
- [3] Zhou Q, Ji M, Zhou J, et al. Poly (ADP-ribose) polymerases inhibitor, Zj6413, as a potential therapeutic agent against breast cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 107: 29–40.
- [4] Lai FF, Li J, Ji M, et al. Olaparib potentiates the antitumor effect of taxol on 4T1 breast cancer [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 907–912.
- [5] Kim G, Ison G, McKee AE, et al. FDA approval summary: olaparib monotherapy in patients with deleterious germline BRCA-mutated advanced ovarian cancer treated with three or more lines of chemotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 4257–4261.
- [6] Scott LJ. Niraparib: first global approval [J]. *Drugs*, 2017, 77: 1029–1034.
- [7] Syed YY. Rucaparib: first global approval [J]. *Drugs*, 2017, 77: 585–592.
- [8] Zhu Z, Jin J, Xue N, et al. Development and validation of high-throughput screening assays for poly(ADP-ribose) polymerase-2 inhibitors [J]. *Anal Biochem*, 2014, 449: 188–194.
- [9] Yao H, Ji M, Zhu Z, et al. Discovery of 1-substituted benzylquinazoline-2,4 (1*H*,3*H*)-dione derivatives as novel poly(ADP-ribose)polymerase-1 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, 23: 681–693.
- [10] Zhou J, Ji M, Zhu Z, et al. Discovery of 2-substituted 1*H*-benzo[d]imidazole-4-carboxamide derivatives as novel poly(ADP-ribose)polymerase-1 inhibitors with *in vivo* anti-tumor activity [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 132: 26–41.
- [11] Akiyama F, Horii R. Therapeutic strategies for breast cancer based on histological type [J]. *Breast Cancer*, 2009, 16: 168–172.
- [12] Akiyama F, Iwase H. Triple negative breast cancer: clinicopathological characteristics and treatment strategies [J]. *Breast Cancer*, 2009, 16: 252–253.
- [13] Shen Y, Rehman FL, Feng Y, et al. BMN 673, a novel and highly potent PARP1/2 inhibitor for the treatment of human cancers with DNA repair deficiency [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 5003–5015.
- [14] Wang L, Mason KA, Ang KK, et al. MK-4827, a PARP-1/-2 inhibitor, strongly enhances response of human lung and breast cancer xenografts to radiation [J]. *Invest New Drugs*, 2012, 30: 2113–2120.
- [15] Robson M, Im SA, Senkus E, et al. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377: 523–533.
- [16] Romero D. Breast cancer: olaparib improves PFS [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14: 460.