

可溶性鸟苷酸环化酶激动剂的研究进展

胡立庆, 易锐, 李乾斌*

(中南大学药学院药物化学系, 长沙 410013)

摘要 可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)在体内是一种非常重要的信号转导酶,其活化后既可以激活 NO-sGC-cGMP 信号通路,又可以抑制 TGF- β 信号通路。cGMP 是体内一种非常重要的第二信使,可以通过调节一些下游相关效应分子,如蛋白激酶 G、cGMP 依赖的磷酸二酯酶及 cGMP 门控离子通道,从而参与一系列的生理或病理反应,包括舒张血管、抑制血小板聚集、抑制细胞增殖等多种生理调节;TGF- β 信号通路受到抑制后,可产生抑制组织纤维化与细胞增殖的生理作用。近年研究表明,通过直接激活 sGC 可治疗多种疾病。sGC 激动剂作为一类新型药物,表现出了许多独特的优势。本文就 sGC 激动剂的作用机制及其最新研究进展做一综述,旨在为 sGC 激动剂类药物的研发提供参考。

关键词 可溶性鸟苷酸环化酶;sGC 激动剂;作用机制;信号通路;利奥西呱

中图分类号 R914.2 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)05-0531-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160504

引用本文 胡立庆,易锐,李乾斌.可溶性鸟苷酸环化酶激动剂的研究进展[J].中国药科大学学报,2016,47(5):531-536.

Cite this article as: HU Liqing, YI Rui, LI Qianbin. Advances in soluble guanylate cyclase stimulator[J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(5): 531-536.

Advances in soluble guanylate cyclase stimulator

HU Liqing, YI Rui, LI Qianbin*

Department of Medicinal Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China

Abstract Soluble guanylate cyclase is a key signal transduction enzyme in the body, which can activate the NO-sGC-cGMP signaling pathway and inhibit the TGF- β signaling pathway. cGMP is one of the most important second messengers and also involved in a series of physiological or pathological responses including vasodilation, inhibition of platelet aggregation, inhibition of cell proliferation and so on. When TGF- β signaling pathway is inhibited, it can inhibit tissue fibrosis and cell proliferation. Recent studies have shown that sGC can be activated directly to treat a variety of diseases. As a new class of potential drugs, sGC stimulators have shown many unique advantages. Herein, the mechanism and the latest research progress of sGC stimulators are reviewed, which could provide a useful information for further research of sGC stimulators.

Key words soluble guanylate cyclase (sGC); sGC stimulators; mechanism of action; signaling pathway; riociguat

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21102184, No. 21172268)

可溶性鸟苷酸环化酶(soluble guanylate cyclase, sGC)广泛存在于哺乳动物的细胞溶质内,在肺部和脑部的含量相对较高,是一氧化氮(NO)-sGC-环磷酸鸟苷(cGMP)信号通路中关键的信号转导酶,sGC在体内被激活后会催化GTP转化为

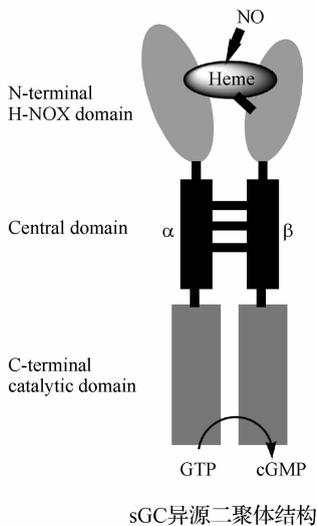
cGMP^[1]。cGMP是一种重要的二级信使分子,通过激活其下游的多种效应分子,如磷酸二酯酶(PDE)、环核苷酸门控离子通道(CNG)和蛋白激酶G(PKG)等,进而引发下游一系列级联反应,在胃肠系统、血液循环系统和神经系统中发挥重要的

生理功能,如促进血管和平滑肌舒张,抑制血小板凝聚、血管重塑、细胞凋亡和炎症发生以及参与神经传递等^[2]。一旦 NO 信号转导通路发生异常将会引发一系列的心血管疾病,如:肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)、心力衰竭(heart failure, HF)等疾病^[3]。近两年又有研究显示,sGC 介导的信号通路异常还与慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)^[4]、系统性硬化病(systemic sclerosis, SSc)^[5]等纤维化疾病的发生有着密切的关系。因此,sGC 激动剂作为可以直接激活 sGC 的新型药物,越来越受到人们的关注。本文就 sGC

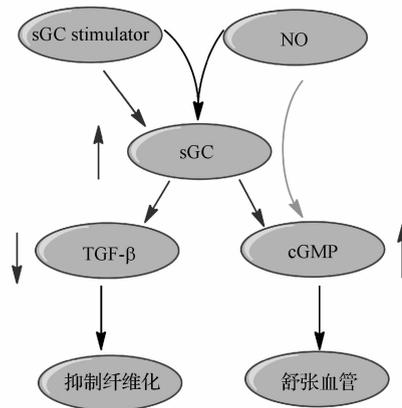
的激动剂的作用机制、相关 sGC 激动剂的最新研究进展做一综述。

1 sGC 结构与作用机制

sGC 是由两种亚基(α 、 β)组成的异源二聚体, α 亚基和 β 亚基又分别有两个亚构体 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 和 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 。二聚体 $\alpha 1\beta 1$ 主要分布于心血管组织中,表达水平与组织血管化的程度呈正相关^[6],而二聚体 $\alpha 2\beta 1$ 则主要表达于大脑和神经系统中。尽管两者在组织分布和细胞定位上有很大的差异,但它们在维持 sGC 酶功能方面有着类似作用。



sGC异源二聚体结构



sGC异的活化机制

图1 sGC 结构与活化机制示意图

sGC 激动剂在体内对 sGC 具有双重作用机制,当 NO 浓度较低时,可以直接激活 sGC;当 NO 具有一定水平时,又可以与 NO 协同作用,从而激活 sGC 催化底物三磷酸鸟苷(GTP)转化为二级信使分子环磷酸鸟苷(cGMP),进而参与调节许多重要的生理过程,例如促进血管和平滑肌舒张;抑制血小板凝集、血管重塑等^[7]。sGC 激动剂激活 sGC 还会介导 TGF- β 等其他信号通路,从而发挥抗纤维化、抗肿瘤等作用^[8]。

2 sGC 与相关疾病

2.1 sGC 与肺动脉高压

肺动脉高压(PAH)是一种发病机制复杂,由肺血管内皮细胞与平滑肌细胞功能失调引发肺血管阻力及肺动脉压力进行性升高,最终导致右心衰竭直至死亡的一种罕见疾病,严重威胁着人类的生

活与健康^[9]。PAH 的诱发因素很多,研究显示,在 PAH 的发病机制中,NO-sGC-cGMP 信号通路的表达受到了损害^[10]。所以,可以通过激活体内的 NO-sGC-cGMP 信号转导通路,升高 cGMP 水平,从而治疗 PAH 与心力衰竭等心血管疾病^[11]。

尽管心血管疾病的治疗已经取得了重大进展,包括临床上已采用的治疗药物有机硝酸盐或者其他 NO 供体药物,它们可以通过自发降解或者生物转化释放 NO,从而激活 sGC。但是,由于这些药物作用时间短,会产生耐药性,以及 NO 会与许多生物分子发生非特异性的相互作用,都使得吸入 NO 及服用 NO 供体药物不合作为治疗 PAH 的长期疗法。磷酸二酯酶-5(PDE-5)抑制剂可以增强内源性 NO 的作用,通过抑制 cGMP 的降解来提高体内的 cGMP 水平。可是,PDE-5 抑制剂对很多 PAH 患者的治疗并没有起到疗效。这主要是因为这些

患者体内的内源性 NO 的水平太低,以致于 PDE-5 抑制剂已经不能将 cGMP 升高到有效水平。所以,对于患者来说,直接激活 sGC 的 sGC 激动剂药物治疗法具有很好的应用前景。

2.2 sGC 与纤维化疾病

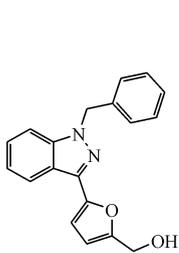
慢性肾脏疾病是由于细胞外基质的过度积累,最终导致肾纤维化的一种疾病^[12],也是一种世界性的医学难题,影响着全球 10% ~ 15% 的成年人^[13]。很多研究已经显示,通过直接激活 sGC 可以对多种心血管疾病起到治疗作用,同时还具有抑制肾组织重构和保护器官功能的作用^[14]。故 sGC 激动剂类药物可以通过激活 sGC 发挥相应的生理效应,从而在临床上治疗慢性肾脏疾病。

系统性硬化病是由于微血管功能紊乱引起的自身免疫与皮肤胶原蛋白的沉积导致皮肤增厚和纤维化的一类疾病^[8]。纤维化与血管病变是 SSc 的主要病变特征,影响着多个器官的功能表达,并且也是导致患者高发病率与病死率的主要原

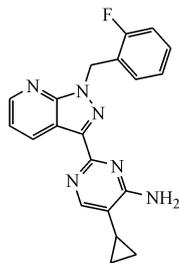
因^[15]。研究人员先前想通过寻找抗纤维化的药物来治疗 SSc,但是到目前为止还没有类似药物进入临床研究^[16]。近两年,拜耳公司的科研人员发现,sGC 激动剂激活 sGC 后,可通过阻断非经典的 TGF- β 信号通路,抑制成纤维细胞的增殖,从而治疗 SSc^[17]。

3 sGC 激动剂

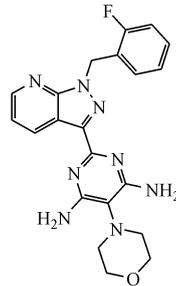
1994 年,拜耳医药保健公司的科学家们通过高通量筛选,发现了一种可以诱导 NO 合成增加的化合物^[18]。sGC 激动剂具有双重作用机制,既可以不依赖于 NO,但需要依赖含有 Fe^{2+} 的血红素辅基直接激活 sGC-cGMP 信号通路;也可以增强 sGC 对内源性 NO 的敏感性从而与 NO 产生协同作用。当时,台湾国立大学的研究者们发现了一个苯并吡啶类化合物 YC-1。自 YC-1 发现之后,科研人员以它为先导化合物,进行了大量的构效关系研究,合成了很多活性更高的化合物。



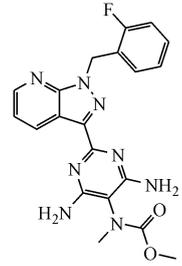
YC-1



BAY 41-2272



BAY 41-8543



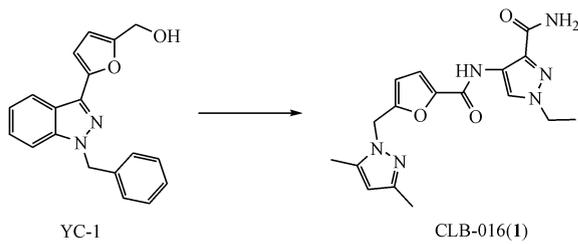
BAY 63-2521

3.1 YC-1

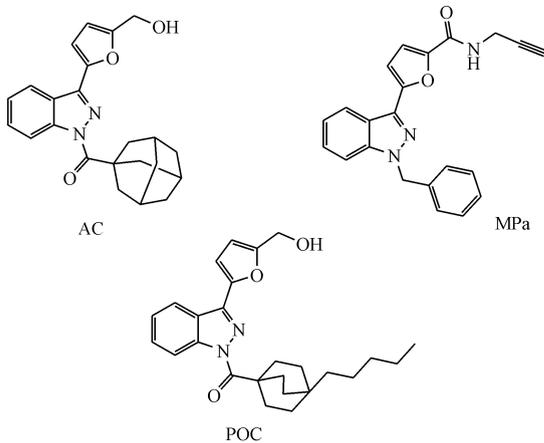
YC-1 的母核为苯并吡啶环,化学名是 3-(5-羟甲基-2-咪唑)-1-苯甲基吡啶。这个化合物早在 1978 年就被合成,但是直到 1994 年科学家们才发现这个化合物具有通过刺激 cGMP 的合成而抑制血小板聚集的作用。由于其活性较好,YC-1 随后成为了非 NO 依赖、血红素依赖型 sGC 激动剂的代表药物。在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下,它可以使离体 sGC 的活性增加 30 ~ 40 倍,并且与 NO 供体化合物会产生很强的协同作用,但是当 sGC 上的血红素辅基被氧化或被移除后,YC-1 对 sGC 将不再具有激活作用。YC-1 在很多药理学实验中都显示了很好的作用。但是,它对 sGC 的激活作用相对较弱,药代动力学性质较差,选择性不高,对磷酸二酯酶具有抑制作用,而且还有许多非 cGMP 依赖的调

节作用。

近两年对 YC-1 的研究主要集中在它的抗肿瘤与抗肝纤维化方面的作用。YC-1 的抗肿瘤作用主要是通过抑制低氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor, HIF-1) 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 发挥作用^[19]。HIF-1 是介导细胞缺氧反应最关键的核转录因子,表达于多种人类恶性肿瘤中,在肿瘤的发展中扮演着重要角色,通过抑制 HIF-1 可治疗多种肿瘤,如:肝癌、肾癌、白血病、子宫肿瘤等^[20-21]。HIF-1 位于 VEGF 启动子中,凡是抑制 HIF-1 的药物都会影响 VEGF 的表达。最新研究显示,以 YC-1 为先导化合物之一,经过科学的药物结构设计及一系列构效关系讨论,最终发现了一个活性较好的 HIF-1 抑制剂 CLB-016(1)^[19]。



最新研究显示, YC-1 类似物 AC、MPa、POC, 还具有抗肝纤维化的作用, 可以通过调节肝星状细胞的细胞凋亡而控制肝脏的纤维化程度^[22], 但是具体作用机制目前还不清楚。

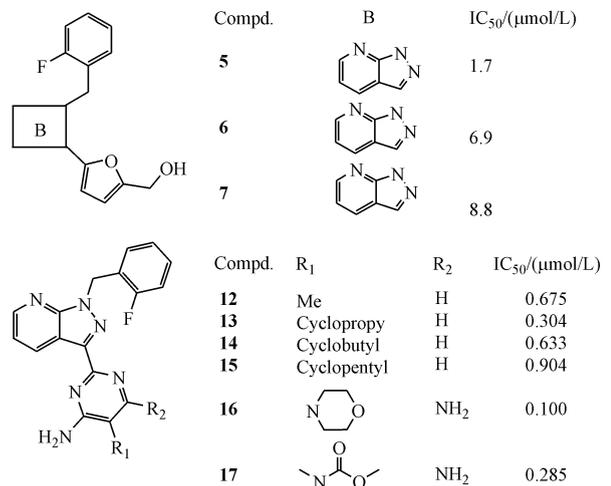
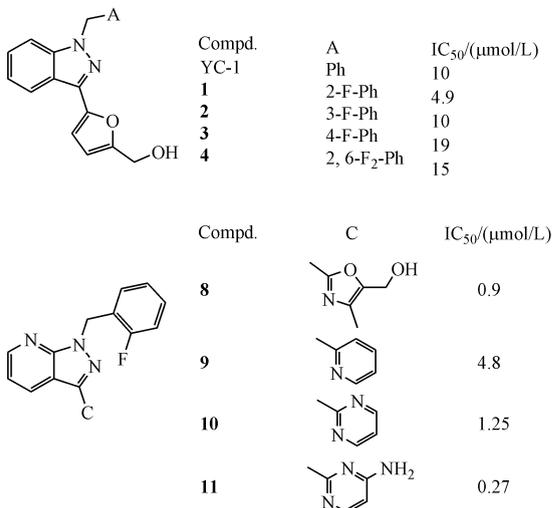


3.2 BAY 41-2272 和 BAY 41-8543

以 YC-1 为先导化合物, 拜耳公司进行了大量的构效关系研究实验。实验证明, 母核结构 1-(2-氟溴苄)吡唑并吡啶是对 sGC 激活作用所必需的, 而嘧啶环部分可以有很大的变化空间。化合物 13、16 即分别是 BAY 41-2272 与 BAY 41-8543, 它

们在体内的作用方式与 YC-1 也很相似, 但是对 sGC 的催化活性与选择性要比 YC-1 强很多, 对血管的舒张作用也比 YC-1 高出两个数量级。在对山羊进行的急性肺动脉高压实验模型中, BAY 41-2272 和 BAY 41-8543 可以通过催化产生 cGMP, 起到舒张血管作用, 进而可以降低血压。可是, 二者的代谢稳定性与口服生物利用度较低, BAY 41-2272 对细胞色素 P450 (CYP) 同工酶有很强的抑制和诱导作用, BAY 41-8543 的药代动力学性质也不好, 这些因素都限制了二者作为降压药的进一步研究开发。

3.2.1 BAY 41-2272 研究显示, BAY 41-2272 对 sGC 的激活作用明显得到改善, 对肺动脉血管收缩的半数抑制浓度 IC_{50} 为 $0.3 \mu\text{mol/L}$ (YC-1, $IC_{50} = 10 \mu\text{mol/L}$), 在中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 中催化生成 cGMP 的最低有效浓度 (MEC) 为 $0.03 \mu\text{mol/L}$ (YC-1, MEC = $10 \mu\text{mol/L}$)。与 YC-1 相比, BAY 41-2272 对 sGC 的选择性非常高, 而且对磷酸二酯酶也没有相关的抑制作用。近两年的研究显示, BAY 41-2272 作为 sGC 激动剂通过激活 NO-sGC-cGMP 信号通路, 而发挥抑制血管重构与促进血管平滑肌舒张的作用, 在慢性肾脏疾病方面疗效显著。另外, BAY 41-2272 还可以通过阻断非经典的 TGF- β 通路抑制纤维化的发展^[17]。有文献报道, BAY 41-2272 能通过激活宿主防御功能用于治疗原发性免疫缺陷病 (primary immunodeficiencies, PIDs), 但是, 具体的作用机制还不清楚^[23]。



3.2.2 BAY 41-8543 BAY 41-8543 对肺动脉血管收缩的半数抑制浓度更低 ($IC_{50} = 0.10 \mu\text{mol/L}$)。在一个小鼠的完整胸部模型中,在适当血压条件下,BAY 41-8543 对体循环动脉的舒张作用强于对肺动脉的舒张作用,同时也可以增加血输出量;但在由凝血噁烷受体激动剂 U46619 引起的高血压模型中,给药 BAY 41-8543 后,能显著降低肺动脉压力,且具有剂量依赖性,而且结果还显示是 sGC 激动剂对肺部和体循环血管壁有着类似的舒张作用^[24]。当然,BAY 41-8543 在抑制组织纤维化方面也同样有着一定的疗效。近两年的研究发现它在保护右心室功能与凝集棕色脂肪组织方面的活性具有很大的优势,同时也表明了 sGC 激动剂在治疗肺栓塞、肥胖症等疾病上具有着很大的潜在价值^[25-26]。

3.3 BAY 63-2521 (利奥西呱)

通过对 BAY 41-2272 和 BAY 41-8543 代谢产物的研究发现,它们分别是在环丙基和吗啡啉等取代基部位发生氧化代谢反应。而且通过进一步的研究显示,嘧啶环上 C5 位上小的亲脂性基团(如 BAY 41-2272 上的环丙基)如果被一些极性更大的基团(BAY 41-8543)取代的话,化合物将不再对 CYP 同工酶产生抑制作用。后来,他们通过在嘧啶环的 C5 上引入其他极性更大,化学性质更稳定的基团,发现了化合物 17 即 BAY 63-2521 (利奥西呱)^[27]。研究显示,利奥西呱对 CYP 同工酶没有抑制作用,药代动力学性质更好,而且在不同物种中,口服生物有效利用度比较好。在体外实验中,利奥西呱激活 sGC 具有剂量依赖性,且具有典型的 sGC 激动剂的特性:当与 NO 供体药物联合用药时会产生很强的协同作用;严重依赖于 sGC 上还原型血红素辅基的存在。

对于自发性肺动脉高压的大鼠,口服利奥西呱后会引起来长时间、剂量依赖性的血压降低。与有机硝酸盐相比,或者是当大鼠对硝酸盐产生耐药后,服用利奥西呱后产生的作用可以持续长达几周。另外,还在由低氧和野百合碱诱导的大鼠肺动脉高压模型中,利奥西呱可以改善肺部血流动力学,也可以预防甚至逆转部分血管重构的症状,例如右心室肥大和肺小动脉肌化^[28]。由于作用强、特异性好、疗效高、安全性好等性质,使得利奥西呱成为第一个成功从动物实验转向临床实验的 sGC 激动

剂,并且目前已成功完成Ⅲ期临床实验。

在对肺动脉高压患者进行的随机、双盲、安慰剂控制的Ⅲ期临床实验中,利奥西呱对患者 6 min 步行距离测试结果的改善具有统计学意义,并且与安慰剂组相比,利奥西呱治疗组的 6MWD 显著改善(结果较基线改善 36 m)^[29-30]。另外,利奥西呱治疗 PAH 后,肺部血流动力学、肺动脉高压的功能分级、临床恶化时间等方面都得到了改善。在肺动脉高压的并发症如左心衰竭、间质性肺病和慢性阻塞性肺病的临床实验中,利奥西呱也具有很好的治疗作用^[3]。最近又有研究显示,利奥西呱可以通过激活 sGC-cGMP 信号通路发挥抑制纤维化的作用,并且在 SSc 的大鼠模型中具有较好的表达^[31]。

4 结论与展望

随着人们对 sGC 结构与 NO-sGC-cGMP 信号通路的不断深入研究,非 NO 依赖却依赖于还原型血红素辅基的 sGC 激动剂在治疗心肺血管疾病(尤其是肺动脉高压等疾病)方面的临床应用前景越来越广阔。虽然以 YC-1, BAY 41-2272 和 BAY 41-8543 等为代表第一代 sGC 激动剂疗效不够理想,选择性低,但是经过研究者们不断的努力,发现了新一代 sGC 激动剂——利奥西呱。目前,利奥西呱在治疗 PAH 的Ⅲ期临床实验中,已取得了理想的临床实验结果。但 sGC 激动剂在治疗 PAH 时,存在明显不良反应,即会引起全身性低血压。在此类药物研发时,如能降低血管舒张的作用,从加强抑制血管重构方面着手,有望减轻此类不良反应,发现更理想的治疗药物。

近两年,sGC 激动剂的抗纤维化作用越来越受到人们关注,为慢性肾脏疾病、纤维化疾病、肥胖症等疾病的治疗指明了方向。本课题组长年从事抗纤维化药物的研发,先后发现氟非尼酮和 ZHC-116 两个新药,并已经成功进入临床前研究,课题组前期设计合成的药物分子,具有较好的抗纤维化作用,能有效抑制细胞增殖、血管重构。而本课题立足于课题组先前研究基础,结合利奥西呱的强舒张血管作用,利用药物分子有效药效团拼接原理,以期设计合成出既能舒张血管又具有抗纤维化作用的药物小分子,更好地治疗 PAH 疾病。相信在不远的将来,sGC 激动剂这种新型作用机制的潜在价值将会不断被发现,展现出广阔的临床应用前景。

参考文献

- [1] Derbyshire ER, Marletta MA. Structure and regulation of soluble guanylate cyclase [J]. *Ann Rev Biochem*, 2012, **81**:533-559.
- [2] Wang-Rosenke Y, Neumayer HH, Peters H. NO signaling through cGMP in renal tissue fibrosis and beyond; key pathway and novel therapeutic target [J]. *Curr Med Chem*, 2008, **15**:1396-1406.
- [3] Stasch JP, Pacher P, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase as an emerging therapeutic target in cardiopulmonary disease [J]. *Circulation*, 2011, **123**(20):2263-2273.
- [4] Stasch JP, Schlossmann J, Hocher B. Renal effects of soluble guanylate cyclase stimulators and activators; a review of the preclinical evidence [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, **21**:95-104.
- [5] Kotzki S, Roustit M, Arnaud C, et al. Anodal iontophoresis of a soluble guanylate cyclase stimulator induces a sustained increase in skin blood flow in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, **346**(3):424-431.
- [6] Friebe A, Koesling D. The function of NO-sensitive guanylyl cyclase; what we can learn from genetic mouse models [J]. *Nitric Oxide*, 2009, **21**(3/4):149-156.
- [7] Hill BG, Dranka BP, Bailey SM, et al. What part of NO don't you understand? Some answers to the cardinal questions in nitric oxide biology [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**(26):19699-19704.
- [8] Castro NE, Kato M, Park JT, et al. Transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) enhances expression of profibrotic genes through a novel signaling cascade and microRNAs in renal mesangial cells [J]. *J Biol Chem*, 2014, **289**(42):29001-29013.
- [9] Seferian A, Simonneau G. Therapies for pulmonary arterial hypertension; where are we today, where do we go tomorrow [J]? *Eur Respir Rev*, 2013, **22**(129):217-226.
- [10] Crosswhite P, Sun Z. Nitric oxide, oxidative stress and inflammation in pulmonary arterial hypertension [J]. *Hypertens*, 2010, **28**(2):201-212.
- [11] Baldi F, Fuso L, Arrighi E, et al. Optimal management of pulmonary arterial hypertension prognostic indicators to determine treatment course [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2014, **10**:825-839.
- [12] Liu Y. Renal fibrosis; new insights into the pathogenesis and therapeutics [J]. *Kidney Int*, 2006, **69**(2):213-217.
- [13] Judd E, Calhoun DA. Management of hypertension in CKD; beyond the guidelines [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2015, **22**(2):116-122.
- [14] Geschka S, Kretschmer A, Sharkovska Y, et al. Soluble guanylate cyclase stimulation prevents fibrotic tissue remodeling and improves survival in salt-sensitive Dahl rats [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(7):e21853.
- [15] Gabrielli A, Avvedimento EV, Krieg T. Scleroderma [J]. *N Engl J Med*, 2009, **360**(19):1989-2003.
- [16] Beyer C, Distler O, Distler JH. Innovative antifibrotic therapies in systemic sclerosis [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2012, **24**(3):274-280.
- [17] Beyer C, Zenzmaier C, Palumbo-Zerr K, et al. Stimulation of the soluble guanylate cyclase (sGC) inhibits fibrosis by blocking non-canonical TGF β signalling [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, **74**(7):1408-1416.
- [18] Stasch JP, Hobbs AJ. NO-independent, haem-dependent soluble guanylate cyclase stimulators [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009(191):277-308.
- [19] Yasuda Y, Arakawa T, Nawata Y, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationships of 1-ethylpyrazole-3-carboxamide compounds as novel hypoxia-inducible factor (HIF)-1 inhibitors [J]. *Bioorg Med Chem*, 2015, **23**(8):1776-1787.
- [20] Luo ZY, Jiang JT, Qin XH. The advancement in YC-1 anti-hepatocellular carcinoma mechanisms [J]. *Med Recapit*, 2011, **17**:2288-2290.
- [21] Chen YF, Lin YC, Chen JP, et al. Synthesis and biological evaluation of novel 3,9-substituted β -carboline derivatives as anticancer agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, **25**(18):3873-3877.
- [22] Xiao J, Jin C, Liu Z, et al. The design, synthesis, and biological evaluation of novel YC-1 derivatives as potent anti-hepatic fibrosis agents [J]. *Org Biomol Chem*, 2015, **13**(26):7257-7264.
- [23] Soeiro-Pereira PV, Falcai A, Kubo CA, et al. BAY 41-2272 activates host defence against local and disseminated *Candida albicans* infections [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 2015, **110**(1):75-78.
- [24] Badejo AM Jr, Nossaman VE, Pankey EA, et al. Pulmonary and systemic vasodilator responses to the soluble guanylyl cyclase stimulator, BAY 41-8543, are modulated by nitric oxide [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, **299**(4):H1153-H1159.
- [25] Watts JA, Gellar MA, Fulkerson MB, et al. A soluble guanylate cyclase stimulator, BAY 41-8543, preserves right ventricular function in experimental pulmonary embolism [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2013, **26**(2):205-211.
- [26] Hoffmann LS, Eitzrodt J, Willkomm L, et al. Stimulation of soluble guanylyl cyclase protects against obesity by recruiting brown adipose tissue [J]. *Nat Commun*, 2015, **6**:7235.
- [27] Mittendorf J, Weigand S, Alonso-Alija C, et al. Discovery of riociguat (BAY 63-2521): a potent, oral stimulator of soluble guanylate cyclase for the treatment of pulmonary hypertension [J]. *ChemMedChem*, 2009, **4**(5):853-865.
- [28] Lang M, Kojonazarov B, Weissmann N, et al. The soluble guanylate cyclase stimulator riociguat ameliorates pulmonary hypertension induced by hypoxia and SU5416 in rats [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(8):e43433.
- [29] Stasch JP, Evgenov OV. Soluble guanylate cyclase stimulators in pulmonary hypertension [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2013, **218**:279-313.
- [30] Ghofrani HA, Galie N, Grimminger F, et al. Riociguat for the treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *N Engl J Med*, 2013, **369**(4):330-340.
- [31] Dees C, Beyer C, Distler A, et al. Stimulators of soluble guanylate cyclase (sGC) inhibit experimental skin fibrosis of different aetiologies [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, **74**(8):1621-1625.