

• 专 论 •

肺动脉高压药物及新靶点研究进展

华 丹¹, 汤立达^{2*}

1. 天津医科大学 药学院, 天津 300070

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要: 肺动脉高压 (PAH) 为一种少见的慢性疾病, 其危害性大、致死率高, 多发于老年人和妇女。随着我国步入老龄化社会, 对 PAH 的防治越发重视。综述了包括 CCBs、PDE-5 抑制剂、ERAs 和 PGI₂ 类常规靶点和鸟苷酸环化酶激动剂, 5-羟色胺, Bcr-Abl 蛋白酪氨酸激酶抑制剂, Rho-激酶抑制剂, 内皮祖细胞和基因等治疗该疾病的新型作用靶点在内的最新靶点与药物的研究进展, 以及新一代药物的发展方向。

关键词: 肺动脉高压; 内皮素受体拮抗剂; 磷酸二酯酶-5; 新药创制; 新靶点

中图分类号: R974 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2012)06 - 0543 - 12

Research progress in drugs and new targets for treating pulmonary arterial hypertension

HUA Dan¹, TANG Li-da²

1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a rare chronic disease with severe harm and a high mortality, and happens mainly in the elderly and women. Currently, as China is entering the aging society, more and more researches put the emphasis on the treatments of PAH. In this paper, it reviews the advanced development about new targets and drugs for treating this disease, such as calcium channel blockers (CCBs), phosphodiesterase-5 (PDE-5) inhibitors, endothelin receptor antagonist (ERAs), and prostacyclin (PGI₂), and new target consisting of guanylyl cyclase agonist, serotonin, Bcr-Abl protein tyrosine kinase inhibitors, Rho-kinase inhibitors, endothelial progenitors, and genes. In addition, it also introduces the direction of the new generation of drugs in the future.

Key words: pulmonary arterial hypertension (PAH); endothelin receptor antagonist (ERAs); phosphodiesterase-5 (PDE-5); innovation in pharmaceutics; new targets

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是由于血管异常生长、增生、重塑、收缩, 血栓形成而逐步引起外周血管阻力增加, 肺动脉压力上升和右心室功能障碍, 最终导致右心室衰竭甚至死亡的一种少见的慢性疾病, 其症状严重, 预后性差, 死亡率高^[1]。临床调查显示 PAH 患者多为老年人和女性, 数据表明 50 岁以上的人群中由于 PAH 没有及时治疗而导致的肺心病已成为老年人的主要疾病^[2-3]。随着我国进入老龄社会, PAH 治疗的重要

性日益突出。PAH 的发病机制非常复杂, 目前还未系统掌握, 但至少与以下细胞分子有关, 包括前列环素 (PGI₂) 合成酶活性降低致使 PGI₂ 水平下降、内皮素-1 (ET-1) 水平升高、磷酸二酯酶-5 (PDE-5) 过度表达^[4]。近年研究又发现更多的基因突变与 PAH 有关, 如编码骨形态发生蛋白受体-2 (BMPR2) 的基因突变^[4]和 5-羟色胺转运体 (5-HTT) 基因启动子的 L 等位基因突变^[5], 这些机制在实验室研究均获得了一定的支持。

收稿日期: 2012-08-10

作者简介: 华 丹, 在读博士研究生, 研究方向为心血管药理。Tel: (022)84845255 E-mail: kila1126@hotmail.com

*通讯作者 汤立达, 博士, 研究员, 博士生导师。E-mail: tangld@tjipr.com

目前临床有效治疗 PAH 的药物还不多, 主要为钙离子通道阻滞剂 (CCBs)、PDE-5 抑制剂、内皮素受体拮抗剂 (ERAs) 和 PGI₂^[6]。应用这些治疗 PAH 的药物时要对症治疗, 严格按照 PAH 临床分类和世界卫生组织 (WHO) 的功能分级 (FC) 进行针对性的治疗。FC I 型患者可以正常运动, 没有症状 (呼吸困难, 疲倦, 胸痛或晕厥) 出现; FC II 型患者在正常运动时有症状出现, 运动受限制; FC III 型患者轻微的运动即会引起症状出现, 具有明显的运动受限特征; FC IV 型患者进行任何活动都会产生症状, 即使休息后症状也不会消失^[7]。随着现代生物学的研究进展, 对 PAH 的生理、病理机制有了新的认识, 也对开发新的治疗药物提供了更多的选择。本文对近年来治疗 PAH 新药和在研新药研究进展进行综述, 以期对我国发展这类药物有所启迪。希望新一代的 PAH 药不仅可以缓解患者的症状、改善运动能力、使因 PAH 而导致血流动力学紊乱的肺动脉压降低和心输出量正常化, 还可以减轻病症或延缓疾病的发展, 提高患者的生存质量 (QoL)。

1 内皮素受体拮抗剂

不同的内皮素-1 (ET-1) 受体 (ETA 和 ETB) 对血管产生不同的作用。ETA 和 ETB 介导血管平滑肌细胞的增殖, ETA 介导血管收缩^[8]。平滑肌细胞上的 ETB 具有收缩血管的作用, 血管内皮细胞上 ETB 的活动可以影响血管扩张因子一氧化氮 (NO) 和 PGI₂ 和血管收缩因子血栓素^[9]。当 ET-1 水平升高时, 会引起血管异常收缩和细胞有丝分裂异常^[4]。内皮素受体拮抗剂 (ERAs) 阻滞 ET-1 受体, 具有扩张血管和抑制肺血管增生的作用, 从而达到治疗 PAH 的目的。目前, 作为治疗 PAH 的成功机制, 越来越多的针对 ERAs 类药物研究正在进行中。

1.1 波生坦

波生坦 (bosentan) 由 Actelion 公司开发, 是一种非选择性内皮素受体拮抗剂。2001 年由 FDA 批准上市, 商品名为 Tracleer, 是第一个口服治疗 PAH 的 ERAs 一线药物, 其安全有效、可改善运动功能和 QoL。波生坦是纽约心脏协会 (NYHA) 或 WHO FC II、III 和 IV 级 PAH 患者的初始治疗药, 但单独治疗 FC IV 级 PAH 患者尚存争议^[10-11]。2008 年公布的随机双盲对照实验 (EARLY 实验)^[12]中, 研究对象为 12 岁及以上 WHO FC II PAH 患者, 随机给予波生坦和安慰剂, 分别测试肺血管阻力 (PVR) 和 6 min 步行距离 (6MWD), 结果显示相比于对照

组 PVR 降低 ($P < 0.000 1$), 6MWD 提高 ($P = 0.075 8$), 不良反应轻微, 治疗轻微症状的 PAH (FC II 级) 安全有效。目前的研究显示该药不良反应发生率高^[13], 易与其他药物 (PDE-5 抑制剂、华法林和口服避孕药) 产生药物相互作用, 但易于控制^[10], 常将西地那非与波生坦联用以提高疗效^[14]。

1.2 安倍生坦

在波生坦上市后, 该类药物的蓬勃发展, Gilead 公司在 2007 年开发了又一新药安倍生坦 (ambrisentan, 图 1)。经 FDA 批准上市, 商品名为 Letairis。安倍生坦为选择性 ETA 拮抗剂^[15], 是 ERAs 中的二线药物^[16]。

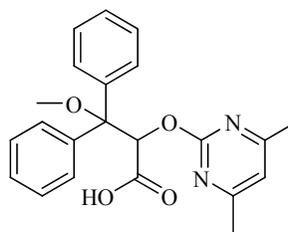


图 1 安倍生坦的结构

Fig. 1 Structure of ambrisentan

2008 年进行的双盲随机对照多中心有效性实验 (ARIES) 首次公布安倍生坦治疗 PAH 的有效性和安全性^[17]。结果表明两组 (ARIES-1 和 ARIES-2) 中的各剂量 (ARIES-1 5、10 mg; ARIES-2 2.5、5 mg) 的 6MWD 均增加, 并具有统计学意义, 结论为该药口服方便, 安全有效, 适用于治疗 NYHA/WHO FC II 和 FC III 的 PAH 患者。为了观察安倍生坦持续治疗 PAH 的安全有效性, 2010 年 Blalock 等^[15]又对 12 名 PAH 患者进行安倍生坦长期治疗, 从参加 ARIES-1 实验开始持续治疗 3~5.5 年, 第 1 年中患者的平均肺动脉压 (mPAP)、心输出量和 PVR 明显改善 ($P = 0.02$ 、 $P = 0.03$ 、 $P < 0.01$), 且 PVR 的改善可持续 2 年, 6MWD 明显提高 ($P < 0.01$, 第 1 年; $P = 0.01$, 第 2 年), 右心室射血分数明显增加 ($P = 0.02$), 该实验证明了长期使用安倍生坦单独治疗 PAH 可以有效提高患者的 6MWD 和右心室射血分数。该药相比于其他口服 ERAs 药还有另一重要特点, 即很少发生转氨酶升高事件, 并且每天只需服用 1 次, 作用长效。

1.3 西他生坦

除了波生坦和安倍生坦, 该类药物中的西他生坦 (sitaxsentan) 也值得关注。西他生坦是由 Encysive

公司开发的选择性 ETA 受体拮抗剂, 商品名为 Thelin。2007 年的有关实验中, 用 STRIDE-1 实验中抽出的 42 例做事后亚组分析, 给予该亚组患者西他生坦 (100 mg 或 300 mg), 其 6MWD (58 m) 显著提高 ($P=0.027$), 生活水平和血流动力学得到改善, 但有 2 个患者有肝脏转氨酶明显升高的症状^[18]。2010 年 12 月, 辉瑞公司公开表示要将西他生坦撤市并停止所有相关临床试验, 因为该药可能导致致命的肝脏损害。

1.4 马西替坦

马西替坦 (macitentan, 图 2) 由 Actelion 公司开发, 2010 年特许用于治疗 PAH。2012 年临床 III 期试验对 742 名患者应用马西替坦 (3 mg/10 mg, 1 次/d)^[19-20], 实验结果表明服用马西替坦 3、10 mg 的 PAH 患者与安慰剂相比, 疾病恶化的可能性分别降低了 30% 和 45%。

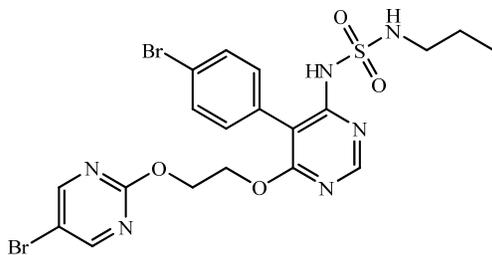


图 2 马西替坦的结构

Fig. 2 Structure of macitentan

1.5 替唑生坦

替唑生坦 (tezosentan, 图 3) 由 Actelion 公司研发, 目前仍在试验中^[21]。

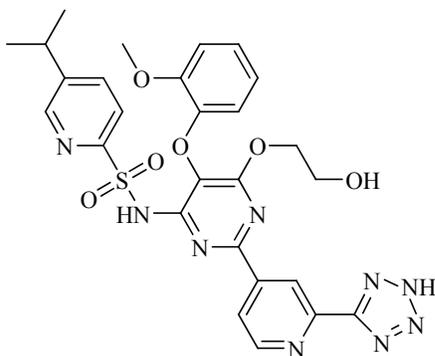


图 3 替唑生坦的结构

Fig. 3 Structure of tezosentan

1.6 TBC 3711

TBC 3711 的结构为 *N*-(2-acetyl-4,6-dimethyl-

phenyl)-3-(3,4-dimethylisoxazol-5-ylsulfamoyl)thiophene-2-carboxamide) (图 4), 是新型高效高选择性 PAH 治疗药物。Kosanovic 等^[22]发现 TBC 3711 可以治疗野百合碱诱导的大鼠 PAH, 改善血流动力学, 减轻右心室肥厚现象。另外, 该药还可以控制远端肺血管的肌型化和内层血管壁的厚度。

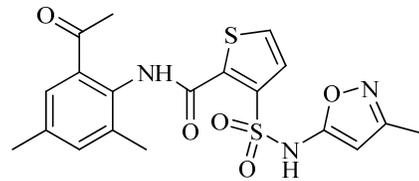


图 4 TBC 3711 的结构

Fig. 4 Structure of TBC 3711

2 磷酸二酯酶-5 抑制剂

磷酸二酯酶-5 (PDE-5) 过度表达时会导致环磷酸鸟苷 (cGMP) 大量降解, 抵消 NO 引起的血管扩张作用^[23], 产生血管异常收缩和细胞异常增殖。PDE-5 抑制剂提高 NO 依赖性, 加强 cGMP 介导的肺血管扩张和血管平滑肌细胞 (SMCs) 的抗增殖能力^[24]。

目前, 急性血管反应测试呈阴性的 PAH 患者 (WHO FC II~III) 首选 PDE-5 抑制剂进行治疗^[1]。该类物质可增强内源性 NO 的作用, 加强 cGMP 介导的肺血管扩张和抗血管 SMCs 增殖^[24]。FDA 批准用于治疗 PAH 的 PDE-5 抑制剂药物有西地那非、他达拉非和伐地那非, 但只有伐地那非在我国进行了相应的临床试验, 并推荐在急性肺血管扩张试验呈阴性、经济承受力差的患者中使用^[25]。

2.1 西地那非

PDE-5 抑制剂中首选药物为西地那非 (sildenafil, Viagra), 由 Pfizer 公司开发, 1998 年由 FDA 批准上市, 商品名为 Revatio, 2005 年 Super 实验证明其治疗 PAH 的作用^[26]。2007 年, Reichenberger 等^[27]对 104 名栓塞性 PAH 患者进行开放标签不受控的临床试验, 给予患者西地那非 50 mg, 3 次/d, 3 个月后血流动力学有明显改善, 6MWD 明显提高 ($P=0.000 1$), PVR 明显降低 ($P=0.000 2$); 但长期服用西地那非并没有预期的长期治疗效果。短期使用西地那非治疗 PAH 可以有效改善患者的运动耐受力, 心输出和 QoL, 主要用于 WHO FC II 和 III 型 PAH 患者^[28]。在该实验中, 没

有发现系统性不良反应，特别是视觉障碍和出血性并发症，只发现轻微的不良反应（潮红、头痛和流鼻血）。药物相互作用方面，西地那非与硝酸盐存在禁忌，与抗高血压药同时使用易发生低血压^[26]。

2.2 他达那非

在西地那非问世之后，2007 年 FDA 又批准 Cialis 公司生产的他达那非（tadalafil）治疗 PAH，商品名为 Adcirca，该药是第一个由 FDA 批准的用于治疗 PAH 的口服 PDE-5 抑制剂^[29]。Galiè 等^[30]公布的 16 周双盲安慰剂对照试验，将 405 名 PAH 患者（包括无药物治疗史的和有波生坦治疗史的）随机分组给予安慰剂和他达那非（2.5、10、20、40 mg/d），结果显示 40 mg 组的 6MWD 明显提高（ $P < 0.01$ ）。该药具有顺应性好，可有效改善运动功能和 QoL，防止病情恶化的优点，长期服用也显示了安全、长效、不良作用小（头痛、肌肉痛和潮红）、无并发症、价格低廉的优势^[30-31]。但目前只证明该药对临床分类 I 型患者有效，而对其他类型的疗效研究仍在进行中^[29]。

2.3 伐地那非

除西地那非和他达那非之外，拜耳公司生产的伐地那非（vardenafil）作为另一口服 PDE-5 抑制剂，因其可有效降低 PVR 与系统血管阻力（SVR）和增加心输出量成为潜在治疗 PAH 的药物，商品名为 Levitra^[32]。2011 年的一个双盲随机对照试验对其治疗 PAH 情况进行评价，随机给予 66 名 PAH 患者伐地那非 5 mg、前 4 周给药 3 次，第 5 周开始相同剂量 2 次/d 再给药 8 周、共给药 12 周；对照组给安慰剂 12 周，之后再在开放标签下给予伐地那非 5 mg，2 次/d，共 12 周。结果显示实验组 6MWD 明显增加（ $P < 0.001$ ），而且这种改善可以维持 24 周，服用 12 周后实验组心指数增加（ $P = 0.005$ ），mPAP（ $P = 0.047$ ）和 PVR（ $P = 0.003$ ）降低，病情恶化情况明显低于对照组（ $P = 0.044$ ），且该药仅有轻微和暂时的不良反应^[33]。

2.4 乌地那非

乌地那非（udenafil，图 5）是吡唑并吡啶酮衍生物，由韩国 Dong-A 药物公司开发并上市作为治疗 PAH 的药物。2009 年美国对其在 PAH 的治疗方面进行了临床 II 期实验^[34]，预计该药将在 2013—2014 年推出用于治疗 PAH。

3 NO 补充剂及内皮型一氧化氮合酶

NO 做为细胞内的第二信使，有扩张血管、抑

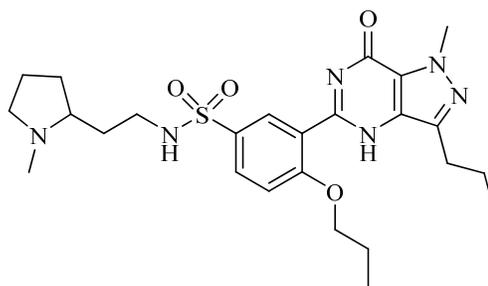


图 5 乌地那非的结构

Fig. 5 Structure of udenafil

制血小板活动和 SMCs 增殖的作用，其体内水平的变化是导致 PAH 的因素之一。NO 补充剂及内皮型一氧化氮合酶（eNOS）作为调控血管功能的关键，既能产生让血管扩张的 NO，又能产生让血管收缩的超氧化物，同时其可以通过抑制平滑肌收缩和血小板聚集从而调节血管张力。因此除传统的 PDE-5 抑制剂类药物，NO 补充类药物和 eNOS 类药物可以通过直接产生 NO 来扩张血管，缓解 PAH。

3.1 NO 吸入剂

Ikaria Holdings 公司研究并上市了一种新药吸入 NO（INOMax sup[®]），用来急救多种原因（包括 PAH）所导致的血管疾病，该药与机械通风器械一起使用。吸入式 NO 原本是由 BOC 集团的子公司 Ohmeda 公司所研发，后由 Massachusetts 总医院用于治疗 PAH。该药通过激动鸟苷酸环化酶来诱导血管平滑肌舒张，从而选择性地舒张肺血管、降低 PAH。由于吸入剂 NO 会与血液中的血红蛋白结合而快速失活，所以不会引起全身血管舒张，保证该药安全有效。Ikaria Holdings 公司计划进行治疗 PAH 的 II 期临床试验。2012 年 1 月，美国 FDA 同意应用吸入式 NO 作为联合治疗 PAH 的孤儿药^[35]。

3.2 eNOS

内源性四氢生物蝶呤（BH4）作为控制 eNOS 活性的决定因素，一旦减少会引起 NO 合成减少，相应的超氧化物合成增加，从而导致血管收缩，引起 PAH。Robbins 等^[36]又对其理想活性形式的安全性进行研究，以期用该活性形式作为新药来治疗 PAH。在分子生物学水平上，caveolin-1 的表达缺陷也会引起 NO 超氧化，从而引起 PAH，此时应用 eNOS 抑制剂可有效降低 PAH。2007 年 Wunderlich 等^[8]对 caveolin-1 表达缺陷的小鼠给予 eNOS 抑制剂 N^G-硝基精氨酸甲酯（L-NAME，图 6）。结果与空白对照组相比，氧饱和度恢复正常（ $P < 0.01$ ），右心室肥

厚得到有效抑制 ($P < 0.01$), PAP 升高能力明显减弱 ($P < 0.01$), 实验证明 eNOS 抑制剂 L-NAME 可以有效改善 PAH 患者运动能力, 可以有效治疗因 caveolin-1 表达缺陷而引起的 NO 超氧化的 PAH。

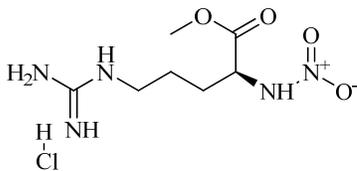


图 6 L-NAME 的结构

Fig. 6 Structure of L-NAME

除此之外, 通过对 NO 作用机制的研究, eNOS 基因本身也可作为基因治疗靶点治疗 PAH。2009 年有关报道使用腺病毒介导的 eNOS 基因进行气管性转染, 将 eNOS 基因转染到 PAH 家兔的肺中, 与未经转染的家兔对照, 结果显示实验组的 PVR 明显下降 ($P < 0.01$), 症状明显缓解^[37]。提示 eNOS 基因具有治疗 PAH 的潜在价值。

4 前列环素 (PGI₂) 及其受体

在内皮细胞中, 花生四烯酸在前列环素合成酶作用下可生成前列环素 (PGI₂), 其具有扩血管的作用^[4], 还可以促进环磷酸腺苷 (cAMP) 的形成从而抑制 SMCs 增殖和减少血小板聚集^[38]。PAH 患者体内的前列环素合成酶活性和前列环素水平均降低, 从而导致血管扩张和抗增殖能力下降, 同时, 血管收缩因子和血栓素水平都上升^[39], 致使血管收缩并形成血栓。相反, PGI₂ 过度表达可以防止缺氧诱导的 PAH^[38]。

FDA 已经批准的 PGI₂ 类药物包括依前列醇、曲前列环素和伊洛前列素, 而目前只有吸入式伊洛前列素在我国批准上市。PGI₂ 作为重要的治疗靶点, 研究人员对其受体激动剂的研究也在进行中, 并得到了新的潜在治疗 PAH 的候选药物 selexipag 和 APD-811。除此之外, 前列环素合成酶 (PGIS) 以其独特的优点成为新的治疗 PAH 的靶点, 为研发新药提供了新的方向。

4.1 伊洛前列素

拜耳公司生产的吸入式伊洛前列素 (iloprost) 可长效扩张动静脉血管 (除非通气的肺区域), 稳定内皮细胞 (ECs), 抑制血小板、白细胞和红细胞的活性, 现在该药已经批准上市, 商品名为 Ventavis。现有的多中心双盲试验^[40]中随机给予 67 名 PAH 患者 (NYHA FC III, 波生坦治疗) 安慰剂和依前列

醇 (5.6 次/d、27.8 μg/d) 12 周, 结果实验组患者的运动功能相比于对照组明显提高 ($P = 0.002$), 临床恶化发生时间明显推迟 ($P = 0.0219$), 该药不良反应少、使用方便, 长期使用可有效提高 PAH 患者的运动耐受能力、缓解症状、改善预后。

4.2 曲前列环素

与伊洛前列素一样, 曲前列环素 (treprostinil) 也作为治疗 PAH 的三线药物受到关注, 商品名为 Remodulin。该药为 United Therapeutics 公司生产的高度选择性的血管扩张剂^[41]。由于其物理化学性质稳定, 可制成多种剂型; 但是静脉注射曲前列环素易感染、顺应性差、不良反应多^[41]。皮下注射曲前列环素长期使用可改善运动功能, 其药效比静脉注射依前列醇高 3 倍, 但使用不方便^[42-43]。口服曲前列环素只适用于治疗轻度疾病^[42]。吸入式曲前列环素, 商品名为 Tyvaso, 用于治疗 PAH 时安全有效^[43], 适用于 NYHA FC III 和 WHO FC I 级的 PAH 患者^[44]。有关实验还证明按照 1 mg/(kg·min) 吸入式给药可以翻转肺动脉收缩作用并恢复到正常的血压, 不良反应包括咳嗽、头痛、喉头发炎、恶心和潮红^[42]。该药还可与其他口服制剂 (波生坦、西地那非) 联用, 提高安全性和有效性, 运动功能也得到显著改善。

4.3 依前列醇

作为最早发现的 PGI₂ 类药物的静脉注射依前列醇 (epoprostenol), 早在 1997 年就在美国上市, 该药是由 Gilead 公司开发的, 商品名为 Flolan。研究表明该药对各类 PAH 患者都有明显疗效, 但其半衰期短 (2~3 min), 且在常温下性质不稳定。有关实验认为皮下注射曲前列环素可取代其作用^[42]。最新的研究证实依前列醇具有剂量相关性降低 PVR 的作用, 可更好地治疗重度 PAH^[45]。

4.4 贝前列素钠

除了上述 3 种已被 FDA 批准上市的药物外, Toray Industries 公司开发的口服贝前列素钠 (TRK-100STP, beraprost, 图 7) 也被认定为具有潜在治疗 PAH 的药物, 化学名为 2,3,3a-8b-四氢-2-羟基-1-(3-羟基-4-甲基-1-辛烯-6-炔基)-1H-环戊并[b]苯并咪唑-5-丁酸钠。该药目前只在日本上市, 使未闭的动脉导管闭合, 用于治疗与先天性心脏病有关的 PAH^[46]。长效贝前列素制剂可持续释放活性 PGI₂, 维持血药浓度稳定, 有效改善运动功能、mPAP 和 PVR^[47]。

4.5 前列环素受体及 selexipag 和 APD-811

前列环素是有效地血管舒张因子和血小板聚集

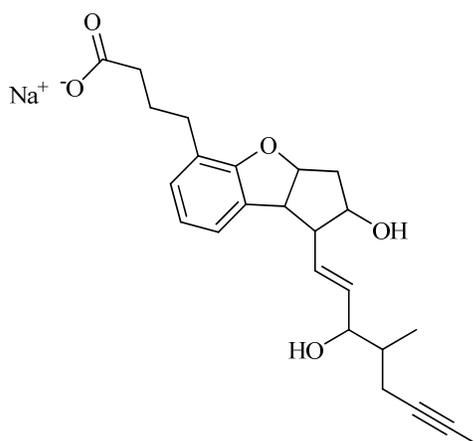


图 7 贝前列素钠的结构

Fig. 7 Structure of beraprost

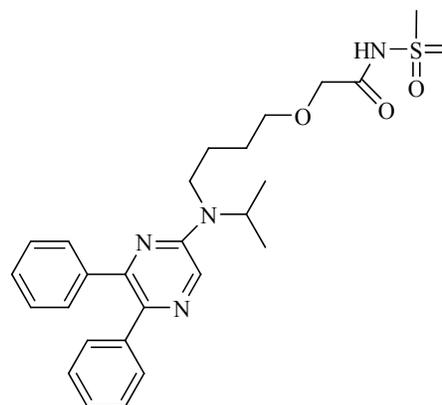
抑制剂,但有代谢快、化学性质不稳定等缺点,使其临床应用受到严格限制,也使得其受体激动剂成为研究的重点。前列腺素 IP 受体是前列腺素受体家族中的一员,也被称为依前列素醇受体、前列环素受体、前列腺素 I₂受体和 PGI₂受体。IP 受体激动剂已被证明可以改善 PAH 患者的死亡率和运动耐受性。现有的前列腺素 IP 激动剂均有口服生物利用度差、代谢迅速等缺陷,其中 selexipag 和 APD-811 是比较有希望的候选药物。

Actelion 和 Nippon Shinyaku 公司合作研究的 selexipag,代号 NS-304,结构为 2-[4-[(5,6-二苯基-2-吡嗪酮)(异丙基)氨基]丁氧基]-N-(甲磺)乙酰胺(图 8),是一种口服长效非前列腺素类 IP 受体激动剂,可以缓解野百合碱(MCT)诱导的 PAH 小鼠血管内皮素障碍和肺血管壁肥厚,增加右心室收缩压和提高生存率。{4-[(5,6-二苯基-2-吡嗪酮)(异丙基)氨基]丁氧基}乙酸(MRE-269,图 8)为 NS-304 的体内活性形式,该药比贝前列素和伊洛前列素对 IP 受体的选择性更强,对 EP3 受体亲和力更高,实验证明 NS-304 作为潜在治疗 PAH 的药物,安全有效^[48]。

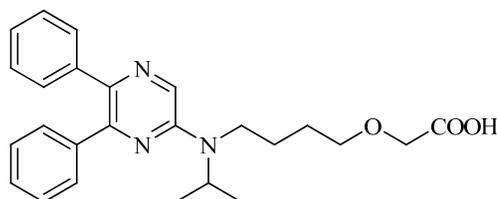
除 selexipag 以外, Arena 制药公司还研制出另一种选择性非前列腺素类前列环素 IP 受体激动剂 APD-811 用于治疗 PAH,该药具有安全有效、可口服、1 次/d 长效和改善患者生活质量的优点,目前处在 I 期临床试验阶段^[49]。

4.6 前列环素合成酶

前列环素合成酶(PGIS)作为前列环素合成途径的最后作用酶在整个合成途径中有至关重要的作用,所以对该靶点的研究也可作为 PAH 新药的研发提



NS-304



MRE-269

图 8 NS-304 和 MRE-269 的结构

Fig. 8 Structures of NS-304 and MRE-269

供新思路。2007 年公布的试验中用 PGIS 基因的腺病毒载体(AAV)转染野百合碱诱导的 PAH 小鼠,转染小鼠的 mPAH 和 PVR 明显下降($P < 0.05$),肺动脉壁厚度没有明显增厚($P < 0.01$),从而改善转染小鼠的生存率($P < 0.05$)^[50]。这一结果说明用病毒转染这种给药系统可有效治疗 PAH,为治疗 PAH 提供了新的研究方向。

5 鸟苷酸环化酶激动剂

5.1 Riociguat

Riociguat(图9)由拜耳公司开发,为氨基酸衍生物,可以在 NO 非依赖途径中激活可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)。sGC 存在于多种血管床中,通过激活 cGMP 产物使血管扩张。

目前,拜耳公司已进行了旨在治疗肺高压(PH)的 III 期临床试验,包括治疗慢性血栓肺高压和肺动脉高压;2012 年,拜耳公司将进行治疗与 PH 有关的间质性肺病和由于慢性阻塞性肺病的 PH(PH-COPD)的 II 期临床试验;2010 年,拜耳公司对 Riociguat 进行了关于与左心功能障碍的 PH(PH-LHD)临床 II 期双盲随机试验,试验分为 LEPHT 和 DILATE 两部分,分别对 180 名和 48 名左心室收缩功能障碍 PAH 患者应用 Riociguat(0.5 mg、3 次/d、16 周,剂量可以根据情况上升到 1~2

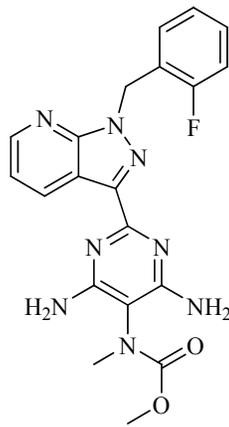


图 9 Riociguat 的结构

Fig. 9 Structure of Riociguat

mg), 实验仍在进行中; 评价Riociguat与西地那非连用的临床I期试验正在进行中; 2012年3月, CHEST-1和PATENT-1实验将对Riociguat的安全性和有效性进行评价, 之后进行的CHEST-2和PATENT-2实验又将对Riociguat在长期使用后的有效性和安全性进行评价^[51]; 2011年, 德国科学家进行了II期开放标签临床试验, 结果显示Riociguat (1~2.5 mg、3 次/d、12 周)可以降低PVR、增加心输出量、改善运动能力, 证明该药安全有效^[52-54]。

5.2 YC-1

Huh 等^[55]试验结果认为 YC-1 (图 10) 可以抑制缺血诱导的 ET-1 mRNA 的表达和增生, 具有剂量相关性地诱导 p53 和 p21 的作用, 还可以缓解右心室肥厚和肺血管重塑, 但是不能降低右心室收缩压, 该结果证明 YC-1 具有作为治疗 PAH 药物的潜力。

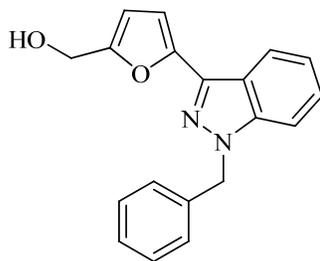


图 10 YC-1 的结构

Fig. 10 Structure of YC-1

6 5-羟色胺

5-羟色胺 (5-HT) 是血管收缩因子和有丝分裂原, 其可与 SMCs 上的 G 蛋白偶联血清素受体键合,

从而激动受体引起腺苷酸环化酶和 cAMP 减少, 使平滑肌收缩作用增强, 并具有促进平滑肌细胞肥大和增生的作用, 从而导致 PAH^[56]。

6.1 5-羟色胺受体

现已证明 5-羟色胺受体 2B (5-HT_{2BR}) 拮抗剂可用来治疗 PAH, 已得到的该类化合物有 PRX-08066、Terguride 和 C-122。

6.1.1 PRX-08066 PRX-08066 的结构为 5-((4-(6-氯噻吩[2,3-d]嘧啶-4-基氨基)哌啶-1-基)甲基)-2-氟苯腈单延胡索酸盐 (图 11), 可选择性地舒张血管。

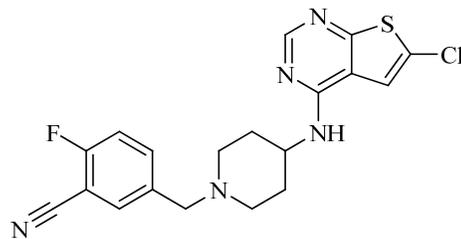


图 11 PRX-08066 的结构

Fig. 11 Structure of PRX-08066

在动物实验中, MCT 诱导的 PAH 大鼠给药 5 周, 剂量分别为 50、100 mg/kg, 结果显示 PRX-08066 可显著降低肺动脉压、缓解右心室肥厚、改善心功能和抑制血管重塑, 可有效治疗 PAH^[57]。目前该药正处在 II 期临床试验阶段。

6.1.2 Terguride Terguride (图 12) 是一个 5-HT 受体拮抗剂和部分多巴胺 D₂ 受体拮抗剂。Dumitrascu 等^[58]对 MCT 诱导 PAH 的大鼠进行试验, 结果显示该药可抑制肺动脉 SMCs 增生并阻断 5-HT 诱导的血管收缩, 从而治疗 PAH。目前, 该药已由日本富士制药工业公司上市。

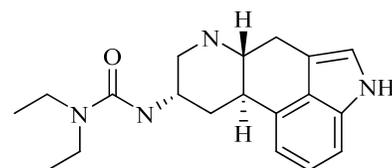


图 12 Terguride 的结构

Fig. 12 Structure of Terguride

6.1.3 C-122 C-122 的结构为(2-氨基-N-(2-{4-[3-(2-三氟甲基-吩噻嗪-10-基)-丙基]-哌嗪-1-基}-乙基)-乙酰胺三盐酸盐 (图 13), 为新型 5-HT (2B) 拮抗剂。Zopf 等^[59]已证实该药可阻止 PAH 大鼠的

微血管重塑和抑制血管平滑肌增生。

6.2 5-羟色胺转运体

细胞表面的血清素转运子 (5-HTT) 可将细胞外的血清素转运至 SMCs 的细胞质内, 促进 SMCs 增生, 而 5-HTT 基因启动子 L 等位基因变异会引起 5-HTT 过度表达, 造成不正常的增生现象^[56], 从而引起 PAH, 因此 5-HTT 作为一个治疗靶点, 其抑制剂可作为治疗 PAH 的一个未来治疗希望。

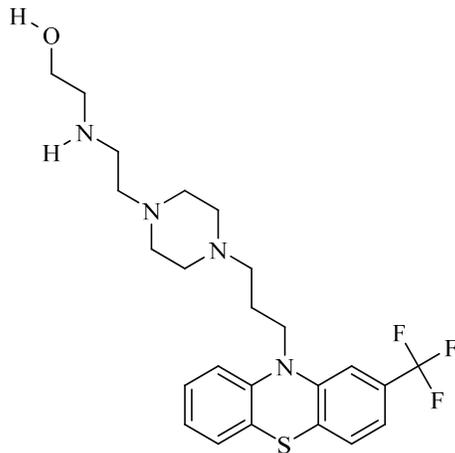


图 13 C-122 的结构

Fig. 13 Structure of C-122

7 Bcr-Abl 蛋白酪氨酸激酶抑制剂

1992 年, 伊马替尼 (imatinib, 图 14) 由诺华公司研发, 其可以在 Bcr-Abl 阳性细胞株, Philadelphia 染色体阳性慢性粒细胞白血病和急性淋巴细胞白血病 (ALL) 细胞中选择性地抑制增生和诱发细胞凋亡。该药可以抑制血小板衍生生长因子 (PDGF), 干细胞因子 (SCF) 和 c-Kit (或 CD117) 上的酪氨酸激酶受体。2006 年, 诺华公司进行了治疗 PAH 的临床 II/III 期试验, 证明该药治疗 PAH 方面安全有效、顺应性好。2009 年 9 月, 诺华公司又进行了联用该药与西地那非或波生坦的随机双盲对照 III 期临床研究 IMPRES 试验治疗重度 PAH。结果显示两药联用可有效治疗重度 PAH。2010 年诺华提出了一个额外的 IMPRES 实验, 以期观察其疗效。2012 年美国 and 欧洲旨在把该药作为治疗 PAH 的药物推向市场^[60]。

8 Rho 激酶抑制剂

Rho 激酶是一个作为细胞内信号的磷酸酶, 当血管平滑肌中的 Rho 激酶异常时则导致血管收缩。法舒地尔 (fasudil, 图 15) 是由 Asahi Kasei 公司研发的 Rho 激酶抑制剂, 可以拮抗平滑肌血管中的

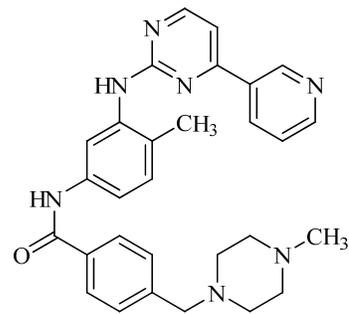


图 14 伊马替尼的结构

Fig. 14 Structure of imatinib

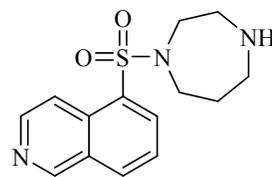


图 15 法舒地尔的结构

Fig. 15 Structure of fasudil

Ca 作用并对心脏产生直接作用, 具有扩张血管的作用。该药已上市, 并由日本 Asahi Kasei 公司对口服法舒地尔治疗 PAH 进行临床 II 期试验^[61]。

9 内皮祖细胞

根据 PAH 分子致病机制, 内皮损伤及功能障碍是产生 PAH 的重要因素, 而内皮祖细胞 (EPCs) 不仅参与人胚胎血管生成, 而且还参与出生后血管新生和内皮损伤后的修复过程, 所以 EPCs 作为未来对 PAH 类药物的研究提供了新的方向。目前, 已有研究证明移植 EPCs 可减轻由 MCT 诱导的 PAH 小鼠和狗的症状。2007 年对 PAH 患者进行前瞻性随机临床研究, 试验组在使用传统治疗的同时静脉注射自体 EPCs, 而对照组只进行传统治疗。结果试验组 6MWD 明显提高 ($P < 0.001$), mPAP、PVR 和心输出明显改善, 且无严重不良反应, 证明了静脉注射自体 EPCs 治疗 PAH 安全有效, 并可有效提高患者的运动能力, 改善肺血流动力学^[62]。

10 基因治疗靶点

10.1 生长因子- β 受体的抗体

随着基因技术的发展, 选用基因治疗作为治疗 PAH 的实验报道越来越多, 为 PAH 治疗开启了新的机会。转化生长因子- β (TGF- β) 超家族的主要作用是通过影响 Smad 蛋白的转录导致血管增殖和重塑, 从而引起 PAH。2010 年 Megalou 等对 T9429 进

行研究,其作为转化 TGF- β 受体的抗体,作用于 MCT 诱导的 PAH 小鼠,相比于对照组其右心室收缩压降低 ($P=0.0014$),右心室肥厚症状明显减轻 ($P=0.0063$),运动耐受力增强,实验结果证实 TGF- β 受体阻滞剂作为一个潜在的治疗方法可以改善血管重塑现象和减轻 PAH 症状^[63]。

10.2 骨形态发生蛋白受体-2

骨形态发生蛋白受体-2 (BMPR2) 可通过激活 Smad (Sma 和 MAD 基因是同源基因) 细胞内路径和 LIM (Lin-11、Isl-1 和 Mec-3 蛋白) 激酶来调节细胞增殖^[64]。研究表明 BMPR2 基因或相关基因的突变会造成血管增生和重塑,最终会导致 PAH^[65]。目前的研究认为 BMPR-II 的基因治疗方法可成为今后治疗缺血型及其他类型的 PAH 的发展方向^[66]。

10.3 血管紧张素转化酶 2 (ACE2)

目前,有关实验已证明肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 与 PAH 的发病有关,血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 作为 ACE 的同源物具有重要的作用,可以降解 Ang II 为高效的 Ang-(1-7)。因此 ACE2 在血管保护过程中特别是维持血管收缩方面具有非常重要的作用,在增生和纤维化的平衡中也起关键性作用。ACE2 在肺中的高度表达可以防止急性肺损伤,减轻 PAH。Yamazato 等^[67]事先用含有 ACE2 基因的慢病毒载体转染小鼠,然后再用 MCT 诱导 PAH,结果显示该转染可有效阻止实验组小鼠右心室收缩压的上升 ($P<0.05$),还可以抑制右心室、左心室加室间隔质量比的提高 ($P<0.05$),肺血管肌肉化现象和 PAH 引起的炎性细胞因子增多症状也得到缓解,6 周后右心室收缩压明显逆转,因此 ACE2 过渡表达可以作为治疗 PAH 的新方法。

11 其他治疗靶点

除了以上介绍的治疗靶点以外,为了寻找更好的方向研制出治疗 PAH 的特效药,越来越多的潜在靶点被挖掘。如:钾离子门控通道 (Kv),对其抑制,会引起肺血管收缩和肺动脉平滑肌细胞增殖,最终导致 PAH 发生^[68],所以激活 Kv 可能成为潜在治疗靶点;Tx A2 为花生四烯酸代谢产物,具有强烈的血管收缩能力,是 SMCs 有丝分裂原和血小板激动剂,对其水平的抑制可能成为治疗 PAH 的新思路;血管活性肠肽 (VIP) 具有强大的全身血管扩张作用,在 PAH 患者体内具有降低肺动脉压力和肺血管阻力的作用,正常人体内还具有抑制血小板活性和血管 SMCs 增殖作用,升高 VIP 的水平可能有

效缓解 PAH;血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 是内皮细胞的有丝分裂原和血管生成肽,对细胞增殖具有明显作用,对 PAH 患者体内的 VEGF 水平进行抑制可能改善病情^[4]。但是以上这些靶点及其药物的研究仍处于实验室阶段,对其治疗 PAH 的研究还有很漫长的一段路要走。

12 结语

随着诊断水平的提高、保健意识的增强,PAH 的危害性不断被认识。PAH 也成为临床独立的病种,加强对 PAH 的防治,对提高民众特别是老年人群的健康水平有重要意义,也有日益迫切的需求。正是因为这种市场前景和临床需求,许多制药公司加强防治 PAH 新药的研制。分子生物学的发展对 PAH 病理生理机制认识不断加深,为研制新型、高效的 PAH 药物提供了更多的选择,多种新的候选药物正处于不同的研制阶段。目前临床上可选择专用 PAH 药物还不多,这也为我国制药企业进入这个领域提供了机遇。应当充分利用基础研究的成果,建立针对性的筛选模型和评价方法,为研制新型 PAH 药物做出贡献。

参考文献

- [1] Gandhi R, Backer N, Shek A, *et al.* Pulmonary arterial hypertension: Bridging the gap between efficacy, quality of life, and cost-effectiveness [J]. *Formulary*, 2010, 45(6): 190-199.
- [2] Badesch D B, Raskob G E, Elliott C G, *et al.* Pulmonary arterial hypertension: Baseline characteristics from the reveal registry [J]. *Chest*, 2010, 137(2): 376-387.
- [3] Schannwell C M, Steiner S, Strauer B E. Diagnostics in pulmonary hypertension [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2007, 58 Suppl5(Pt2): 591-602.
- [4] McLaughlin V V, McGoon M D. Pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2006, 114(13): 1417-1431.
- [5] Eddahibi S, Guignabert C, Barlier-Mur A M, *et al.* Cross talk between endothelial and smooth muscle cells in pulmonary hypertension: critical role for serotonin-induced smooth muscle hyperplasia [J]. *Circulation*, 2006, 113(15): 1857-1864.
- [6] Chin K M, Rubin L J. Pulmonary arterial hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(16): 1527-1538.
- [7] Taichman D B, McGoon M D, Harhay M O, *et al.* Wide variation in clinicians' assessment of New York Heart Association/World Health Organization functional class in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Mayo Clin Proc*, 2009, 84(7): 586-592.

- [8] Wunderlich C, Schmeisser A, Heerwagen C, *et al.* Chronic NOS inhibition prevents adverse lung remodelling and pulmonary arterial hypertension in caveolin-1 knockout mice [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2008, 21(3): 507-515.
- [9] Sauvageau S, Thorin E, Caron A, *et al.* Endothelin-1-induced pulmonary vasoreactivity is regulated by ET(A) and ET(B) receptor interactions [J]. *J Vasc Res*, 2007, 44(5): 375-381.
- [10] Roberts K E, Preston I R. Safety and tolerability of bosentan in the management of pulmonary arterial hypertension [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2009, 3: 111-118.
- [11] Schuurin M J, Vis J C, Duffels M G, *et al.* Adult patients with pulmonary arterial hypertension due to congenital heart disease: a review on advanced medical treatment with bosentan [J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2010, 6: 359-366.
- [12] Galiè N, Rubin L J, Hoepfer M M, *et al.* Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2008, 371(9630): 2093-2100.
- [13] Valerio C J, Coghlan J G. Bosentan in the treatment of pulmonary arterial hypertension with the focus on the mildly symptomatic patient [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2009, 5: 607-619.
- [14] Mathai S C, Girgis R E, Fisher M R, *et al.* Addition of sildenafil to bosentan monotherapy in pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2007, 29(3): 469-475.
- [15] Blalock S E, Matulevicius S, Mitchell L C, *et al.* Long-term outcomes with ambrisentan monotherapy in pulmonary arterial hypertension [J]. *J Card Fail*, 2010, 16(2): 121-127.
- [16] Cheng J W M. Ambrisentan for the management of pulmonary arterial hypertension [J]. *Clin Therap*, 2008, 30(5): 825-833.
- [17] Galiè N, Olschewski H, Oudiz R J, *et al.* Ambrisentan for the treatment of pulmonary arterial hypertension results of the ambrisentan in pulmonary arterial hypertension, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter, efficacy (ARIES) study 1 and 2 [J]. *Circulation*, 2008, 117(23): 3010-3019.
- [18] Girgis R E, Frost A E, Hill N S, *et al.* Selective endothelinA receptor antagonism with sitaxsentan for pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 2007, 66(11): 1467-1472.
- [19] Actelion Ltd. Phase III study initiated with actelion-1 - highly potent tissue-targeting endothelin receptor antagonist-largest study ever in PAH to demonstrate morbidity/mortality benefits. Media Release (2007-12-12) [2012-03-22]. <http://www.actelion.com>.
- [20] Actelion Ltd. Actelion announces Half Year 2011 financial results. Media Release (2011-07-21) [2012-03-22]. <http://www.actelion.com>.
- [21] Actelion Ltd. Actelion announces first quarter 2008 financial results. Media Release (2008-04-22) [2012-03-22]. <http://www.actelion.com>.
- [22] Kosanovic D, Kojonazarov B, Luitel H, *et al.* Therapeutic efficacy of TBC3711 in monocrotaline-induced pulmonary hypertension [J]. *Respir Res*, 2011, 12: 87-100.
- [23] Murray F, Patel H H, Suda R Y S, *et al.* Expression and activity of cAMP phosphodiesterase isoforms in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with pulmonary hypertension: role for PDE1 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(1): L294-L303.
- [24] Hoette S, Jardim C, de Souza R. Diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: an update [J]. *J Bras Pneumol*, 2010, 36(6): 795-811.
- [25] 胡大一, 荆志成. 规范肺动脉高压的筛查诊断与治疗 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(11): 977-978.
- [26] Mourani P M, Sontag M K, Ivy D D, *et al.* Effects of long-term sildenafil treatment for pulmonary hypertension in infants with chronic lung disease [J]. *J Pediatr*, 2009, 154(3): 379-384.
- [27] Reichenberger F, Voswinckel R, Enke B, *et al.* Long-term treatment with sildenafil in chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2007, 30(35): 922-927.
- [28] Sastry B K S, Narasimhan C, Reddy N K, *et al.* Clinical efficacy of sildenafil in primary pulmonary hypertension: a randomized, placebo controlled, double blinded, crossover study [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(7): 1149-1153.
- [29] Falk J A, Philip K J, Schwarz E R. The emergence of oral tadalafil as a once-daily treatment for pulmonary arterial hypertension [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2010, 6: 273-280.
- [30] Galiè N, Brundage B H, Ghofrani H A, *et al.* Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2009, 119(22): 2894-2903.
- [31] Neki N S. Oral tadalafil in the management of primary pulmonary hypertension [J]. *J Indian Acad Clin Med*, 2007, 8(3): 240-241.
- [32] Aizawa K, Hanaoka T, Kasai H, *et al.* Long-term vardenafil therapy improves hemodynamics in patients

- with pulmonary hypertension [J]. *Hypertens Res*, 2006, 29(2): 123-128.
- [33] Jing Z C, Yu Z X, Shen J Y, *et al.* Vardenafil in pulmonary arterial hypertension: A randomized, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(12): 1723-1729.
- [34] Dong-A PharmTech Co Ltd. Dong-A PharmTech Co., Ltd. Announces Start of Phase III Trials for Udenafil, Its New Erectile Dysfunction Drug Under Development. Media Release.(2009-11-05) [2012-03-22]. <http://www.dongapharma.com>.
- [35] Icaria Inc. FDA Grants Orphan Drug Designation to Icaria For Use of Inhaled Nitric Oxide in Pulmonary Arterial Hypertension. Media Release.(2012-01-23) [2012-03-22]. <http://www.ikaria.com>.
- [36] Robbins I M, Hemnes A R, Gibbs J S, *et al.* Safety of sapropterin dihydrochloride (6r-bh4) in patients with pulmonary hypertension [J]. *Exp Lung Res*, 2011, 37(1): 26-34.
- [37] Zhang F G, Wu S M, Lu X S, *et al.* Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase attenuates flow-induced pulmonary hypertension in rabbits [J]. *Ann Thorac Surg*, 2008, 85(2): 581-585.
- [38] Morrell N W, Adnot M A S, Archer S L, *et al.* Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(Suppl 1): S20-S31.
- [39] Gombert-Maitland M, Olschewski H. Prostacyclin therapies for the treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2008, 31(4): 891-901.
- [40] McLaughlin V V, Oudiz R J, Frost A, *et al.* Randomized study of adding inhaled iloprost to existing bosentan in pulmonary arterial hypertension [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(11): 1257-1263.
- [41] Voswinckel R, Enke B, Reichenberger F, *et al.* Favorable effects of inhaled treprostinil in severe pulmonary hypertension: Results from randomized controlled pilot studies [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48(8): 1672-1681.
- [42] Nadler S T, Edelman J D. Inhaled treprostinil and pulmonary arterial hypertension [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2010, 6: 1115-1124.
- [43] Tapon V F, Maitland M G, McLaughlin V V, *et al.* Safety and efficacy of IV treprostinil for pulmonary arterial hypertension: A prospective, multicenter, open-label, 12-week trial [J]. *Chest*, 2006, 129(3): 683-688.
- [44] Breathe In the Power of a Prostanoid, United Therapeutics Corporation. All rights reserved. [2012-09-07]. [http://www.tyvaso.com/dtc\(USA\)](http://www.tyvaso.com/dtc(USA)).
- [45] Homma S. Dose-dependent reduction in pulmonary vascular resistance with epoprostenol in pulmonary arterial hypertension [J]. *Circ J*, 2010, 74(10): 2062-2063.
- [46] Oyamada J, Toyono M, Shimada S, *et al.* Long-term administration of ecerprost sodium for pulmonary arterial hypertension associated with congenital heart disease [J]. *Inter Med*, 2009, 48(17): 1531-1534.
- [47] Kunieda T, Nakanishi N, Matsubara H, *et al.* Effects of long-acting beraprost sodium (TRK-100STP) in Japanese patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Int Heart J*, 2009, 50(4): 513-529.
- [48] Kuwano K, Hashino A, Noda K, *et al.* A long-acting and highly selective prostacyclin receptor agonist prodrug, 2-{4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl) amino] butoxy}-N-(methylsulfonyl)acetamide (NS-304), ameliorates rat pulmonary hypertension with unique relaxant responses of its active form, {4-[(5,6-diphenylpyrazin-2-yl)(isopropyl)amino]butoxy} acetic acid (MRE-269), on rat pulmonary artery [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 326(3): 691-699.
- [49] Arena Pharmaceuticals Inc. Arena Pharmaceuticals Initiates Phase 1 Clinical Trial of APD811 for Pulmonary Arterial Hypertension. Media Release.(2010-11-11) [2012-03-22]. <http://www.arenapharm.com>.
- [50] Ito T, Okada T, Mimuro J, *et al.* Adenoassociated virus - mediated prostacyclin synthase expression prevents pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Hypertension*, 2007, 50(3): 531-536.
- [51] Bayer Schering Pharma. Bayer schering pharma starts phase III program of new drug against pulmonary hypertension. Media Release.(2009-02-09) [2012-03-22]. <http://www.bayerhealthcare.com>.
- [52] Bayer Schering Pharma AG. Bayer presents new riociguat phase II data. Media Release.(2010-05-18) [2012-03-22]. <http://www.bayerscheringpharma.de>.
- [53] Bayer HealthCare. Clinical programs with riociguat in pulmonary hypertension well on track. Media Release. (2009-12-10) [2012-03-22]. <http://www.bayerhealthcare.com>.
- [54] Bayer Schering Pharma AG. Bayer Schering Pharma presents positive results of phase II study with Riociguat. Media Release.(2009-05-19) [2012-03-22]. <http://www.bayerscheringpharma.de>.
- [55] Huh J W, Kim S Y, Lee J H, *et al.* YC-1 attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension in mice[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2011, 24(6): 638-646.
- [56] Chan S Y, Loscalzo J. Pathogenic mechanisms of pulmonary arterial hypertension [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2008, 44(1): 14-30.
- [57] Porvasnik S L, Germain S, Embury J, *et al.* PRX-08066, a novel 5-hydroxytryptamine receptor 2B antagonist,

- reduces monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension and right ventricular hypertrophy in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 334(2): 364-372.
- [58] Dumitrascu R, Kulcke C, Königshoff M, *et al*. Terguride ameliorates monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats [J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(5): 1104-1118.
- [59] Zopf D A, das Neves L A, Nikula K J, *et al*. C-122, a novel antagonist of serotonin receptor 5-HT_{2B}, prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670(1): 195-203.
- [60] Novartis. Novartis study shows QTI571 significantly improved walking distance in patients with life-threatening pulmonary arterial hypertension. Media Release.(2011-09-25) [2012-03-22]. <http://www.novartis.com>.
- [61] Actelion Ltd. Actelion announces first quarter results 2007. Media Release. (2007-04-19) [2012-03-22]. <http://www.actelion.com>.
- [62] Wang X X, Zhang F R, Shang Y P, *et al*. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: A pilot randomized controlled trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(14): 1566-1571.
- [63] Megalou A J, Glava C, Oikonomidis D L, *et al*. Transforming growth factor- β inhibition attenuates pulmonary arterial hypertension in rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2010, 3(4): 332-340.
- [64] Elliott C G, Glissmeyer E W, Havlena G T, *et al*. Relationship of BMPR2 mutations to vasoreactivity in pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2006, 113(21): 2509-2515.
- [65] Teichert-Kuliszewska K, Kutryk M J, Kuliszewski M A, *et al*. Bone morphogenetic protein receptor-2 signaling promotes pulmonary arterial endothelial cell survival: implications for loss-of-function mutations in the pathogenesis of pulmonary hypertension [J]. *Circ Res*, 2006, 98(2): 209-217.
- [66] Reynolds A M, Xia W, Holmes M D, *et al*. Bone morphogenetic protein type 2 receptor gene therapy attenuates hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(5): L1182-L1192.
- [67] Yamazato Y, Ferreira A J, Hong K H, *et al*. Prevention of pulmonary hypertension by angiotensin-converting enzyme 2 gene transfer [J]. *Hypertension*, 2009, 54(2): 365-371.
- [68] McLaughlin V V, Benza R L, Rubin L J, *et al*. Addition of inhaled treprostinil to oral therapy for pulmonary arterial hypertension: A randomized controlled clinical trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(18): 1915-1922.