

小分子 AMPK 直接激动剂的最新研究进展

魏强强¹, 段文虎², 周金培¹, 张惠斌^{1*}

(¹中国药科大学新药研究中心, 南京 210009; ²中国科学院上海生命科学研究院上海药物研究所, 上海 201203)

摘要 2型糖尿病是一种慢性代谢性疾病, 其主要表现为高血糖和微血管并发症, 是影响人类生活的重要疾病之一, 目前尚无理想的治疗药物。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在细胞和机体能量代谢与平衡等方面发挥重要作用; 小分子 AMPK 直接激动剂因在降低血糖方面的作用而有望成为新一代治疗 2型糖尿病的药物。本文按结构分类, 对近几年报道的小分子 AMPK 直接激动剂进行综述。

关键词 腺苷酸活化蛋白激酶; AMPK 直接激动剂; 构效关系; 2型糖尿病; 新靶点; 进展

中图分类号 R587.1 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)04-0406-10

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150404

Recent research progress in small molecule AMPK direct activators

WEI Qiangqiang¹, DUAN Wenhui², ZHOU Jinpei¹, ZHANG Huibin^{1*}

¹Center of New Drug Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ²Department of Medicinal Chemistry, Shanghai Institute of Materia Medica, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

Abstract Type 2 diabetes, an epidemic disorder characterized by high blood glucose level associated with micro-vascular complications, is one of the main causes of human suffer across the globe, with no effective medicine up to now. AMP-activated protein kinase (AMPK), a highly conserved serine/threonine protein kinase, is a key sensor and regulator of intracellular and whole-body energy metabolism. Small molecule AMPK direct activators have been proven to lower blood-glucose, which is a promising candidate for the treatment of type 2 diabetes. The progress on the research of small molecule AMPK direct activators in recent years is summarized in this paper.

Key words AMP-activated protein kinase; AMPK direct activators; structure-activity relationship; type 2 diabetes; new target; advances

2型糖尿病以葡萄糖和脂类的异常代谢为特征, 导致骨骼肌、肝脏以及脂肪组织等部位的胰岛素抵抗和胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能障碍, 致使机体能量代谢失衡^[1]。目前, 临幊上用于治疗 2型糖尿病的药物, 如双胍类(二甲双胍)、磺酰脲类(格列美脲)、二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂(维格列汀)、过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (PPAR γ)激动剂(吡格列酮)、 α 糖苷酶抑制剂(阿卡波糖)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)类似物(利拉鲁肽)等虽然具有较好的降糖疗效, 但常伴随有诸如低血糖、体重增加、水肿、乳酸血症、胃胀气等不良反应^[2]。因此, 寻找新的治疗糖尿病的作用靶点, 开

发更安全、更有效的降糖药物就显得尤为重要。腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)在细胞及机体能量代谢平衡方面起着至关重要的作用, 且有研究表明, 临幊上用于治疗 2型糖尿病的一线药物, 如二甲双胍等, 也可以通过激活肝细胞 AMPK, 从而抑制乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)和诱导脂肪酸氧化达到降低血糖的目的^[3]。因此, AMPK 作为细胞的“代谢感受器”有望成为治疗 2型糖尿病的又一个新的药物作用靶点。本文对近几年小分子 AMPK 直接激动剂的研究进展进行综述。

1 AMPK的结构特点与活性调节

1.1 AMPK的结构特点

AMPK是一种异源三聚体蛋白,由高度保守的 α 、 β 和 γ 3个亚单位组成;其中, α 亚单位起催化作用, β 和 γ 亚单位主要起调节作用^[4],每个亚单位都存在2~3种基因所编码的异构体($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$, $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$)。 $\alpha 1$ 在细胞中广泛存在,而 $\alpha 2$ 在心肌、肝脏和骨骼肌中表达较高; $\beta 1$ 主要高表达于肝脏,而 $\beta 2$ 则在骨骼肌中表达较高; $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 广泛存在于各种组织,而 $\gamma 3$ 仅在骨骼肌中含量较高^[5]。 α 亚单位含有548个氨基酸,结构由1个丝氨酸/苏氨酸激酶区域(kinase domain, KD)、1个自抑制区域(autoinhibitory domain, AID)、 α -钩域(α -hook domain)以及1个 β 亚单位结合域(β -binding domain)组成;其激酶区域内的苏氨酸172(Thr172)结合位点及其磷酸化对AMPK活性的调节起着至关重要的作用^[6]。 β 亚单位主要由1个糖原结合域(glycogen binding domain, GBD)和 α 、 γ 亚单位结合域(α , γ -binding domain)组成,主要起连接 α 亚单位和 γ 亚单位的支架作用。 γ 亚单位则由1个 β 亚单位结合域和4个胱硫醚- β -合成酶(cystathione- β -synthase, CBS)串联重复序列组成的两个“贝特曼域”(bateman domain)组成;其中,CBS4被ATP完全占据,CBS1、CBS3可以结合1个AMP、ADP或ATP,CBS2因缺少关键的天冬氨酸残基而空缺(图1)^[7]。

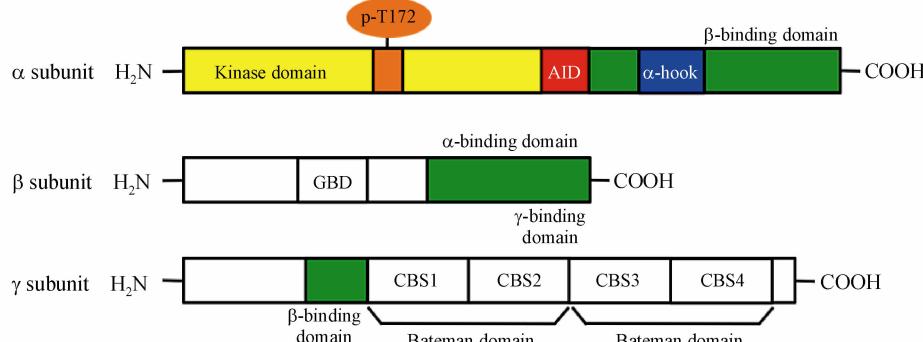


图1 腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)亚单位 α 、 β 、 γ 的结构特点^[7]

1.2 AMPK活性的调节

AMPK作为一种重要的蛋白激酶参与多种代谢过程,其活性主要受AMP/ATP比值调控^[8];任何引起机体ATP生成减少或者消耗增加的刺激,如组织缺血、缺氧、热休克、运动等,都可以激活AMPK。其激活机制一般认为有3种方式:①直接作用于AMPK,变构激活AMPK;②与AMPK结合之后使其成为上游AMPK激酶(AMPKK)的良好底物,促进Thr172的磷酸化而激活AMPK;③降低Thr172的去磷酸化程度^[9]。此外,AMPK也可以被上游的AMPK激酶,如丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶B1(serine/threonine protein kinase B1,LKB1)、转化生长因子 β (TGF- β)活化激酶-1(TGF- β -activated kinase 1,TAK1)、钙调蛋白激酶激酶(calmodulin-dependent protein kinases,CaMKK)直接激活,它们都是通过直接磷酸化AMPK α 亚单位上的Thr172而激活AMPK(图2)^[10]。其中,LKB1被普

遍认为是一种抑癌基因,它可以直接磷酸化AMPK α 亚单位上的Thr172而激活AMPK^[11];TAK1被广泛认为是一种MAPKK-7(促分裂原活化蛋白激酶激酶),其在AMPK活化通路中具有中枢般的调节作用^[12];CaMKK主要存在于神经系统,其对Thr172的磷酸化不依赖AMP浓度的升高,而是通过调节细胞内钙离子的浓度而启动。另外,在静息状态下,AMPK也可以被瘦素、抵抗素、脂联素、二甲双胍等激活^[13]。本文总结的AMPK小分子直接激动剂主要是通过对 α 亚单位Thr172的直接磷酸化而发挥作用。

2 AMPK在葡萄糖和脂类代谢中的作用

2.1 AMPK在糖类代谢中的作用

葡萄糖体内稳态的平衡由肝葡萄糖的生成和周围组织对葡萄糖的摄取两方面来维持(图3)。肝葡萄糖生成过量(hepatic glucose production,

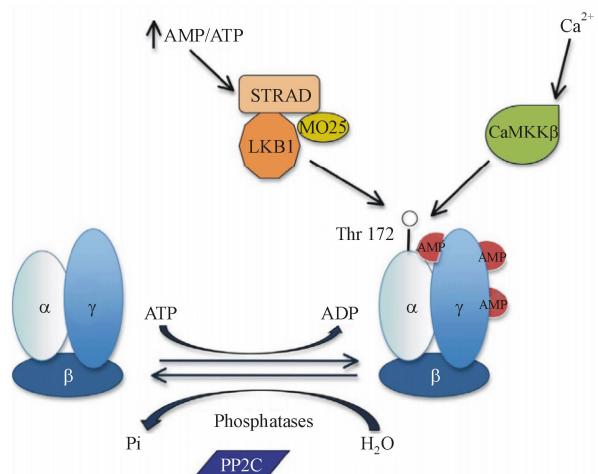


图 2 AMPK 的激活方式

HGP) 是空腹高血糖的主要原因, 且有研究表明, 给予健康或胰岛素抵抗的 *ob/ob* 小鼠注射 AMPK

激动剂 AICAR(1) 致使肝脏 AMPK 激活、血糖浓度降低正是通过抑制 HGP 而实现的^[14]。AMPK 促进周围组织对葡萄糖的摄取主要通过诱导葡萄糖转运蛋白(GLUT) 向细胞膜转位以及磷酸化转录因子从而开启 GLUT 基因的表达来完成的^[15]。另外, 磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK) 是糖酵解的限速酶, AMPK 活性增加时, PFK2 活性和 2,6-二磷酸的含量明显增加。体外纯化的 AMPK 可磷酸化 PFK2 也进一步证明了 AMPK 在糖酵解方面的促进作用。在肝细胞实验中, 活化的 AMPK 不仅通过抑制 6-磷酸果糖-2-激酶、L 型丙酮酸激酶等促进葡萄糖酵解, 还能通过抑制果糖 1,6-二磷酸激酶抑制糖异生^[16]。总之, AMPK 通过调节肝葡萄糖的转化和增强周围组织对葡萄糖的摄取和利用, 从而维持机体糖代谢的稳定。

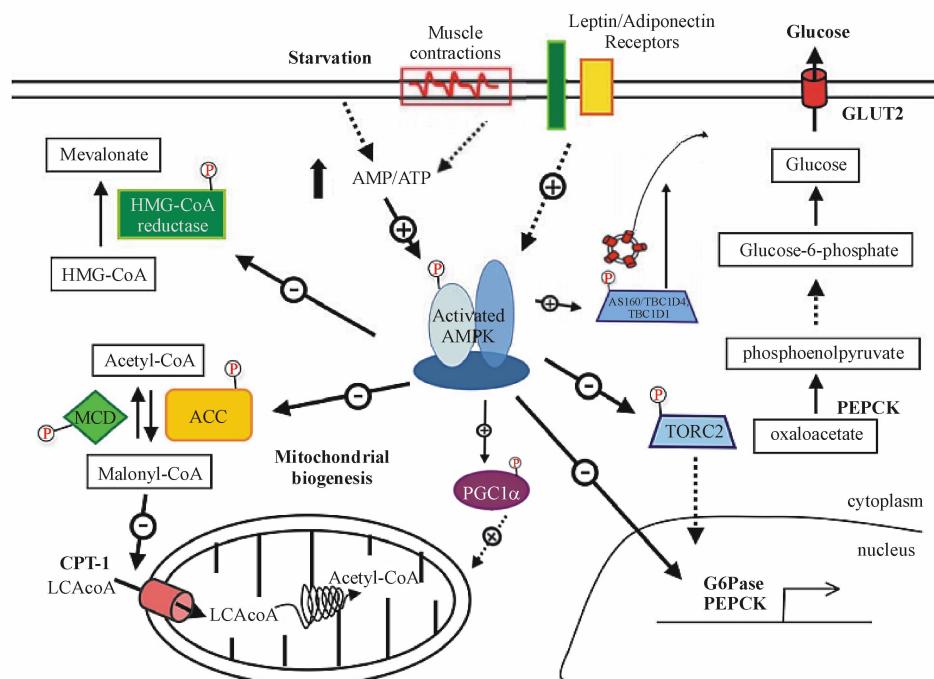


图 3 AMPK 在葡萄糖和脂类代谢中的作用方式

2.2 AMPK 在脂类代谢中的作用

乙酰辅酶 A 羧化酶(ACC) 和羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶(HMGR) 分别是脂肪酸和胆固醇合成的关键酶。ACC 是脂肪酸合成的限速酶, 糖代谢生成的乙酰辅酶 A 可在 ACC 作用下合成丙二酰辅酶 A, 后者又可以通过负反馈抑制肉毒碱棕榈酸转移酶-1(CPT-1) 的活性, 从而抑制线粒体的脂肪酸氧化以及酮体的生成; 而 HMGR 为胆固醇合

成的限速酶, 可催化羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 生成甲羟戊酸。ACC 和 HMGR 均为 AMPK 的重要底物, 活化的 AMPK 能够使两者磷酸化失活, 从而分别抑制胆固醇和脂肪合成^[17]。此外, 脂肪酸氧化是肌肉组织能量来源的重要方式, AMPK 的激活可以通过磷酸化作用抑制 ACC, 减少丙二酰辅酶 A 的合成, 负反馈增强 CPT-1 的活性以及脂肪酸的氧化。因此, AMPK 的激活既降低了胆固醇和脂肪的

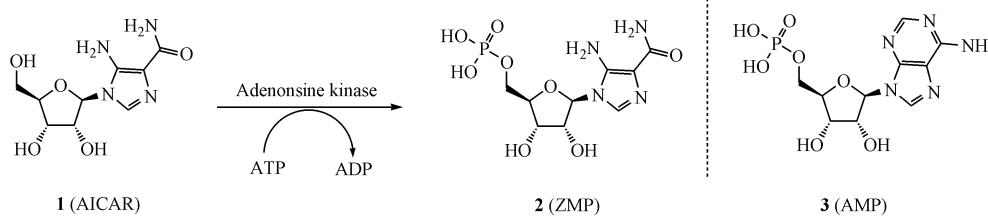
合成,又增强了脂肪酸的氧化作用,表明其在脂类代谢调节方面具有重要的作用。

3 小分子AMPK直接激动剂

AMPK在血糖调节方面的突出表现,使其成为寻找新型降血糖药的热门靶点。自2005年由Abbott实验室通过计算机高通量筛选并进行结构优化得到第1个小分子AMPK直接激动剂A-769662(5)以来,各制药公司一直将小分子AMPK直接激动剂作为调节血糖药物研究的重点;目前尚无小分子AMPK直接激动剂作为降血糖药物上市,但不断有新的药物进入临床试验(I/II期临床1个;II期临床2个)。现根据文献报道的小分子AMPK直接激动剂的结构类型进行综述。

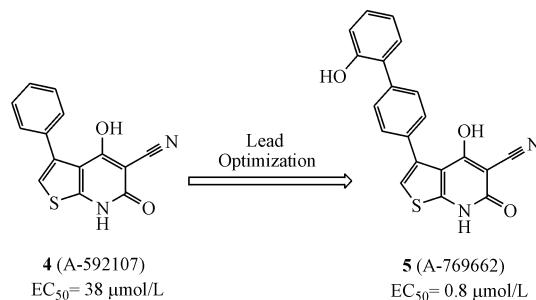
3.1 阿卡地新(acadesine,AICAR)

化合物AICAR(1)是1956年从受碘胺类药



3.2 噻吩并吡啶酮类(thienopyridones)

2015年,Abbott实验室通过计算机高通量筛选得到了非核苷类AMPK小分子直接激动剂A-5921074(4,大鼠肝脏AMPK EC₅₀=38 μmol/L),在此基础上进行结构优化得到化合物A-769662(5,大鼠肝脏AMPK EC₅₀=0.8 μmol/L)^[24]。



研究表明:A-769662通过降低α亚单位Thr172的去磷酸化程度而变相激活AMPK,并且不会与现有已知的所有AMPK亚单位的任何位点结合^[25],而且A-769662只对含有β1亚单位的AMPK有激活作用。Xiao等^[26]通过AMPK亚型

物抑制的大肠杆菌中分离出来的结晶化合物^[18]。该化合物的5-羟基在体内被腺苷激酶磷酸化后转化成化合物ZMP(2)^[19],后者于1994年经Sullivan等证实具有较好的AMPK激动活性,且与AMP亲和力较之AMP(3)更强;激活机制与AMP相同,都是通过绑定γ亚单位上的CBS1或CBS3结合位点而变构激活AMPK^[20],但不同之处在ZMP激活AMPK过程并没有检测到明显的AMP/ATP比值的变化,这使其成为研究AMPK的理想探针^[21]。啮齿动物实验研究表明,AICAR可以激活不同组织的AMPK,而且同时促进GLUT向细胞质膜的转运^[22];临床前实验研究表明,AICAR可以明显降低血糖浓度,提高口服糖耐量^[23]。截至2015年1月,该化合物正由Merck&Co.公司进行I/II期临床研究。

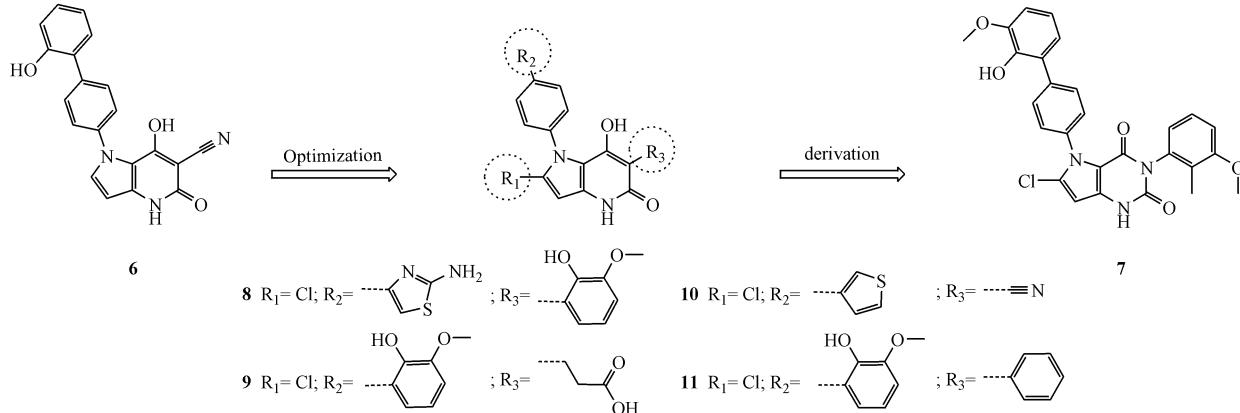
α2β1γ1与A-769662的共晶作用证实,A-769662的作用位点位于α亚单位激酶区域(KD)与β亚单位的糖原结合域(GBD)之间。通过ob/ob小鼠每天两次剂量(30 mg/kg)给药实验结果显示:A-769662可以明显降低血糖和肝脏甘油三酯水平,并可以抑制脂肪酸合成和促进脂肪酸的利用^[24]。该化合物由Abbott实验室推上临床,希望藉此更深入地探索AMPK的结构功能特点,并得到活性更加优良且成药性好的AMPK小分子激动剂。

3.3 吡咯并吡啶酮类(pyrrlopyridones)

化合物A-769662作为小分子AMPK直接激动剂进行临床研究时,口服生物利用度并不理想。故而2011年Glaxo Smith Kline(GSK)公司的Mirguet等^[27]以提高口服生物利用度和选择性为目的设计合成了一类吡咯并吡啶酮类化合物。其中,化合物6具有较好的口服生物利用度,但是仍具有较高的血浆清除率。在此基础上,对R₂、R₃位置替换以不同的基团得到了一系列小分子AMPK直接激动剂,构效关系研究表明:①R₃为氨基时,因为化合物本身的酸性,其细胞膜渗透性较差,引入芳香羧

酸基团取代氨基, AMPK 激活活性明显增强^[7];②2'位引入吸电子基团(如 F、Cl 原子)时, 口服利用度显著提高, 然而血浆清除率和细胞膜渗透率却并不理想, 与 P 蛋白阻断剂合用可以明显降低血浆清除率^[27]。此外, 该类化合物对大多数 AMPK

亚型都有激活活性;其中, 化合物 8~11 于 2012 年 8 月进入临床前期试验阶段。2012 年, GSK 又对专利做了进一步补充, 设计并合成了吡咯并嘧啶酮类(化合物 7), 也显示出一定的 AMPK 激活活性^[28]。

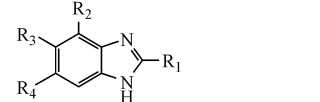


3.4 芳并咪唑类(benzimidazoles)

自 2010 年起, Merck 和 Metabasis Therapeutic 公司发表了数篇专利, 用于保护具有 AMPK 激活活性的一系列芳并咪唑类化合物(表 1)^[29~32], 活性评价以半数有效浓度(EC₅₀)和 AMPK(α1β1γ1)最大激活率(Act_{max})为指标。此类化合物结构修饰主要在母核的 2'、5'、6'位置, 5'位取代基的改变对活性有很大影响;有趣的是该类化合物保留了化合物 A-769662(5)3 位的 4-(2-羟基苯基)苯基片段, 且显示十分优异的活性。之后, Merck 公司做了对

专利的进一步补充, 主要在 4'位和 6'位引入氟原子, 化合物活性基本保持或有所增强。构效关系研究表明:①6'位引入吸电子基团(如 F、Cl)时活性提升明显;②5'位基团是芳香(杂)环类化合物时 AMPK 激活活性显著;③2'位连接位阻较大且带有羧酸的药效团时活性优异。该类化合物因体外活性优异而备受关注, 目前, 该公司研究人员正展开对其进行生体内活性测试的进一步研究;自 2010 年 10 月至今, 已有 19 个芳并咪唑类化合物进入生物活性测试阶段。

表 1 芳并咪唑类 AMPK 小分子激动剂



化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	EC ₅₀ /(nmol/L)	Act _{max} /%
12		H		Cl	3	241
13		H		Cl	1	189
14		H		Cl	0.6	173
15		H		Cl	3	241

(续表1)

化合物	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	EC ₅₀ /(nmol/L)	Act _{max} /%
16		H		F	4	504
17		H		F	17	631
18		H		Cl	0.3	362

鉴于苯并咪唑类化合物表现出十分优异的AMPK激动活性(如化合物12, EC₅₀ = 3 nmol/L, Act_{max} = 241%), Xiao等^[26]通过化合物12与AMPK(α2β1γ1)的共晶结构和模拟对接进一步阐释了该类化合物与AMPK的主要作用方式:①化合物12与酶的作用位点位于由α亚单位激酶区域(KD)与β亚单位糖原结合域(GBD)组成的间隙疏水口袋,主要容纳化合物12的A、B环体系(图4);②C环伸展在疏水口袋右侧的开口亲水区域,伸展空间较大,且该部分对AMPK最大激动率(Act_{max})的大小有重要影响;③与关键氨基酸(如

Lys29、Asp88、Arg83等)存在重要作用力(如氢键作用、碱基堆积力等)。这为AMPK小分子激动剂的结构设计提供了可靠的思路和依据。

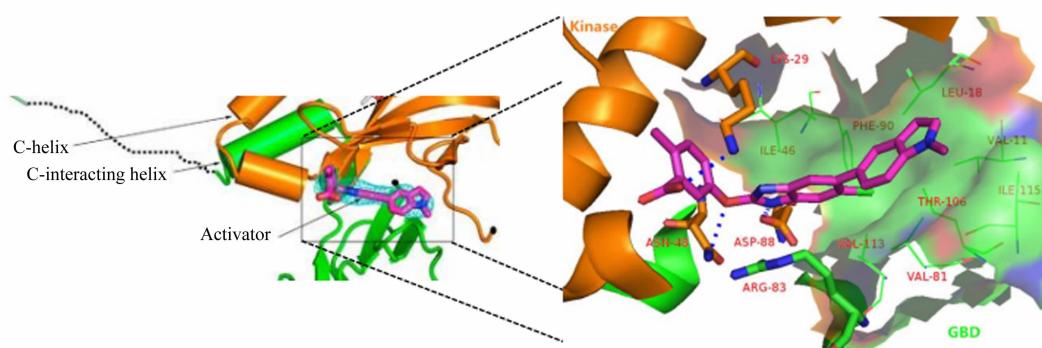
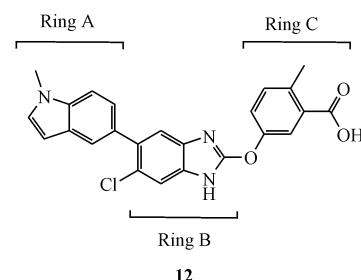


图4 化合物12与AMPK结合方式

之后,日本Shionogi公司就以苯并咪唑类化合物结构为基础,利用电子等排原理,仅用6个月的时间设计并合成了吡啶并咪唑类约450个化合物(表2)^[33-36],此类化合物在2'位(R₁)和5'位(R₃)引入大量天然基团,其中部分化合物在分子水平的AMPK激动活性较之苯并咪唑类表现更为突出(如化合物19, α1β1γ1EC₅₀ = 0.38 nmol/L, Act_{max} = 660%)。Merck公司后期也对该类化合物做了专

利补充,部分实施例有所重复。自2013年2月至今,Shionogi公司共筛选28个吡啶并咪唑类化合物进行生物活性测试,Merck公司同样筛选了13个化合物展开药理实验研究,暂时未见更新报道。此外,Merck公司进一步对氮杂吲哚类化合物作了专利补充(表2),其主要药效团未作改变,并筛选了4个化合物进入生物活性测试阶段。

表 2 吡啶并咪唑及氮杂吲哚类 AMPK 小分子激动剂

化合物	研制公司	结构式	R ₁	R ₂	R ₃	EC ₅₀ /(nmol/L)	Act _{max} /%
19	Shionogi&Co., Ltd.				Cl	0.38	660
20	Shionogi&Co., Ltd.				Cl	0.49	606
21	Merck Sharp&Dohme Group				Cl	<1	492
22	Merck Sharp&Dohme Group				Cl	12	295

3.5 吲哚酸类(indole acids)

同样是在苯并咪唑及其衍生类 AMPK 小分子激动剂结构公开之后, Pfizer 公司通过分子模拟对接设计并合成了一系列吲哚酸类化合物^[37], 分子水平活性测试显示该类化合物对 AMPK $\alpha 1\beta 1\gamma 1$ 亚型具有明显的激动作用(如化合物 23, EC₅₀ = 1.7 nmol/L, Act_{max} = 68%), 然其 AMPK 最大激动率普遍较低。通过分子对接, 比较化合物 23(黄色)与 12(绿色)的空间构象发现:①左侧环系以及母核在疏水口袋的伸展并没有发生明显变化;②化合物 23 与 12 空间重叠性好, 且与 Lys29、Arg83 以及 Asp88 的关键氢键作用都得以保持;③吲哚酸类缺失的右侧环系对 AMPK 最大激动率的大小有重要影响(图 5 和图 6)。Pfizer 公司于 2014 年 5 月筛选出 8 个吲哚酸类 AMPK 小分子直接激动剂进行生物活性测试。

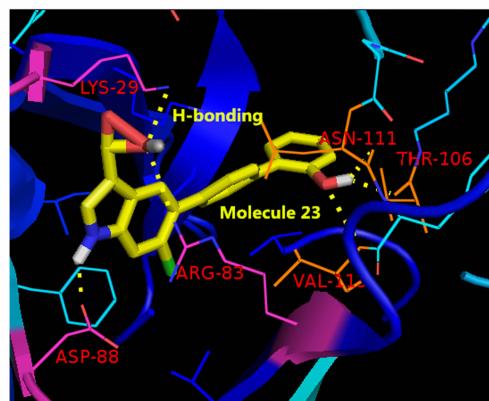
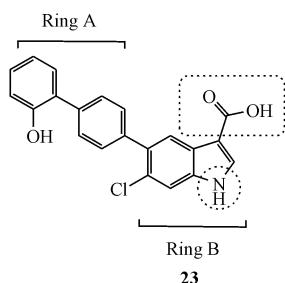


图 5 化合物 23 与 AMPK 结合方式

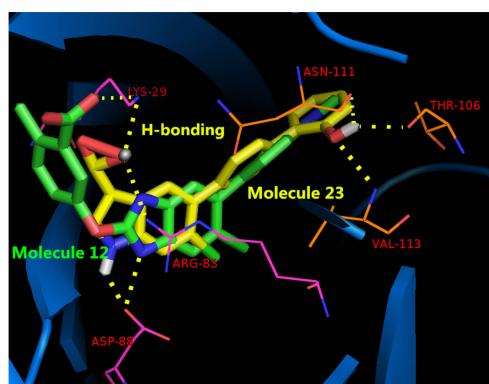


图 6 化合物 12 与 23 的空间对接构象

3.6 噻唑烷酮类(thiazolidones)

针对非激动状态的 $\alpha 1$ 亚单位片段(1-394AA),Pang等^[38]通过对3600个化合物进行活性筛选,得到小分子AMPK直接激动剂PT1(24, $\alpha 1\beta 1\gamma 1$, $EC_{50}=8\mu mol/L$)。PT1对于切除 $\alpha 1$ 亚单位自抑制区域(AID,312~392AA)的AMPK并没有激活作用;共晶结构及对接研究表明,PT1镶嵌在 α 亚单位激酶区域(KD)与自抑制区域(AID)之间的间隙,通过与AID附近的Glu96和Lys156等氨基酸的氢键作用使该区域构象变得松散而激活AMPK。实验证明,PT1只选择性地激活AMPK α 亚单位,且是AMPK的直接激动剂,并不

导致AMP/ATP比值变化;然而由于该化合物生物利用度较差,体内并没有检测到明显的AMPK激动活性^[39];故而以其为先导化合物不断进行结构优化,将2-氨基-4-噻唑烷酮替换为3-烷基吲哚酮得到化合物25($EC_{50}=2.1\mu mol/L$),AMPK激动活性明显增强;进一步优化得到化合物26($EC_{50}<2\mu mol/L$),通过4周db/db小鼠经口给药,与二甲双胍相比可以明显降低血浆甘油三酯水平和提高葡萄糖耐受性^[40];之后,由Roche公司开发的一系列烷基吲哚酮类化合物用于食源性肥胖或者2型糖尿病的治疗。化合物PT1于2013年9月进入临床前期试验,未见更新报道(图7)。

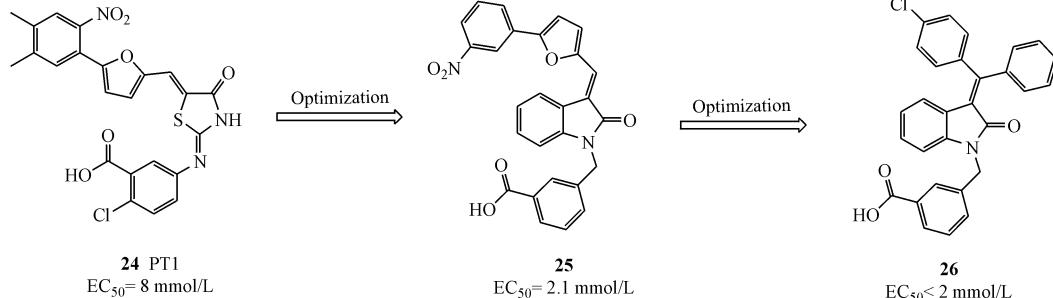
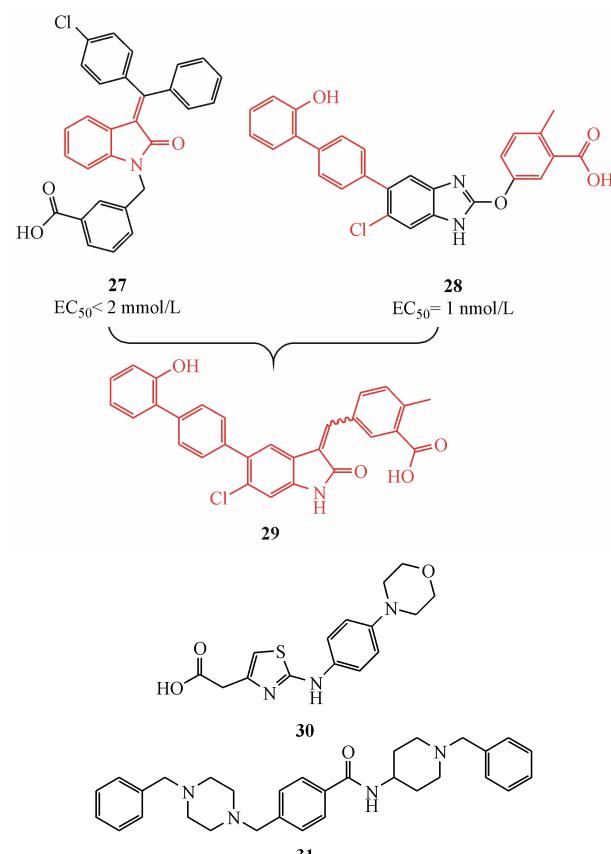


图7 化合物PT1及其结构优化过程

最近,由Boehringer Ingelheim公司与印度生物技术公司Connexios Life Sciences合作开发的用于治疗2型糖尿病的AMPK小分子激动剂CNX-012-570($\alpha 1\beta 1\gamma 1$, $EC_{50}=93\mu mol/L$; $\alpha 2\beta 2\gamma 3$, $EC_{50}=285\mu mol/L$)进入临床前研究阶段^[41],该化合物结构未予公开。但由近期Boehringer Ingelheim公司发表的专利显示,其结构可能与PT1类(27)和苯并咪唑类(28)有很大相似性(化合物29),虽然PT1与苯并咪唑类的AMPK激动机制完全不同。动物实验显示,CNX-012-570不仅提高机体胰岛素敏感性和葡萄糖耐受性,而且明显降低血浆甘油三酯和血糖水平。此外,另有13个该类化合物于2015年1月进入生物活性测试阶段。

3.7 其他类

除上述AMPK小分子激动剂结构外,文献报道了如2-氨基噻唑类(30, $Act_{max}=109.09\% / 10\mu mol/L$)^[42]、吡啶酰胺类(31, $EC_{50}<0.1\mu mol/L$)^[43]等也具有AMPK激动活性,以这些结构为先导化合物的构效关系讨论或生物活性测试也正在进行中。



4 结语

AMPK在细胞和机体能量代谢平衡维持方面的重要作用,使之成为代谢性疾病(如糖尿病、肥胖症等)治疗药物的研究靶点。多家制药公司竞相开发其小分子激动剂,已初步取得满意的效果。尽管目前尚无此类药物上市,但是随着不同结构的AMPK小分子激动剂与AMPK之间的结合方式、AMPK上游调控蛋白结构和功能以及对机体代谢影响机制的进一步阐明,以AMPK为靶点的新一代抗糖尿病药物终将研发成功,为人类健康带来福音。

参考文献

- [1] Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism [J]. *Nature*, 2001, **414** (6865): 799-806.
- [2] Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American diabetes association and the European association for the study of diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2006, **29** (8): 1963-1972.
- [3] Zhou G, Myers R, Li Y, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action [J]. *J Clin Investig*, 2001, **108** (8): 1167-1174.
- [4] Scott JW, Ross FA, Liu JK, et al. Regulation of AMP-activated protein kinase by a pseudosubstrate sequence on the γ subunit [J]. *EMBO J*, 2007, **26** (3): 806-815.
- [5] Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, et al. Targeting the AMPK pathway for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Front Biosci, Landmark Ed.*, 2009, **14** (9): 3380-3400.
- [6] Hardie DG, Hawley SA, Scott JW. AMP-activated protein kinase: development of the energy sensor concept [J]. *J Physiol*, 2006, **574** (Pt 1): 7-15.
- [7] Rana S, Blowers EC, Natarajan A. Small molecule adenosine 5'-monophosphate activated protein kinase (AMPK) modulators and human diseases [J]. *J Med Chem*, 2015, **58** (1): 2-29.
- [8] Schimmack G, Defronzo RA, Musi N. AMP-activated protein kinase: role in metabolism and therapeutic implications [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2006, **8** (6): 591-602.
- [9] Xiao B, Sanders MJ, Underwood E, et al. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP [J]. *Nature*, 2011, **472** (7342): 230-243.
- [10] Zhang BB, Zhou G, Li C. AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Cell Metab*, 2009, **9** (5): 407-416.
- [11] Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101** (10): 3329-3335.
- [12] Xie M, Zhang D, Dyck JR, et al. A pivotal role for endogenous TGF-beta-activated kinase-1 in the LKB1/AMP-activated protein kinase energy-sensor pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, **103** (46): 17378-17383.
- [13] Hardie DG. AMP-activated protein kinase as a drug target [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2007, **47**: 185-210.
- [14] Bergeron R, Previs SF, Cline GW, et al. Effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside infusion on *in vivo* glucose and lipid metabolism in lean and obese zucker rats [J]. *Diabetes*, 2001, **50** (5): 1076-1082.
- [15] McGee SL, Hargreaves M. Exercise and skeletal muscle glucose transporter 4 expression: molecular mechanisms [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2006, **33** (4): 395-399.
- [16] Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, et al. Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver [J]. *Diabetes*, 2005, **54** (5): 1331-1339.
- [17] Kukidome D, Nishikawa T, Sonoda K, et al. Activation of AMP-activated protein kinase reduces hyperglycemia-induced mitochondrial reactive oxygen species production and promotes mitochondrial biogenesis in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Diabetes*, 2006, **55** (1): 120-127.
- [18] Peabody RA, Goldthwait DA, Greenberg GR. The structure of glyciamide ribotide [J]. *J Biol Chem*, 1956, **221**: 1071-1081.
- [19] Schnebli HP, Hill DL, Bennett LL, Jr. Purification and properties of adenosine kinase from human tumor cells of type HEp No. 2 [J]. *J Biol Chem*, 1967, **242** (9): 1997-2004.
- [20] Henin N, Vincent MF, Van den Berghe G. Stimulation of rat liver AMP-activated protein kinase by AMP analogs [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 1996, **1290** (2): 197-203.
- [21] Corton JM, Gillespie JG, Hardie DG. Role of the AMP-activated protein kinase in the cellular stress response [J]. *Curr Biol*, 1994, **4** (4): 315-324.
- [22] Russell RR, Bergeron R, Shulman GI, et al. Translocation of myocardial GLUT-4 and increased glucose uptake through activation of AMPK by AICAR [J]. *Am J Physiol*, 1999, **277** (Pt. 2): H643-H649.
- [23] Hayashi T, Hirshman MF, Kurth EJ, et al. Evidence for 5' AMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport [J]. *Diabetes*, 1998, **47** (8): 1369-1373.
- [24] Cool B, Zinker B, Chiou W, et al. Identification and characterization of a small molecule AMPK activator that treats key components of type 2 diabetes and the metabolic syndrome [J]. *Cell Metab*, 2006, **3** (6): 403-416.
- [25] Goeransson O, McBride A, Hawley SA, et al. Mechanism of action

- of A-769662, a valuable tool for activation of AMP-activated protein kinase [J]. *J Biol Chem*, 2007, **282** (45):32549–32560.
- [26] Xiao B, Sanders MJ, Carmena D, et al. Structural basis of AMPK regulation by small molecule activators [J]. *Nat Comm*, 2013, **4** (4017):1–10.
- [27] Mirguet O, Sautet S, Clement CA, et al. Discovery of pyridones as oral AMPK direct activators [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, **4** (7):632–636.
- [28] Bouillot AMJ, Daugan ACM, Lamotte Y, et al. Preparation of ¹H-pyrrolo[3,2-d] pyrimidinedione derivatives as activators of AMPK; *US*, 2012119979A1 [P]. 2012-09-13 [2015-02-09].
- [29] Bookser BC, Dang Q, Gibson TS, et al. Preparation of cyclic benzimidazole derivatives as activators of AMP-protein kinase useful anti-diabetic agents; *US*, 2010036613A1 [P]. 2010-04-01 [2015-02-09].
- [30] Bookser BC, Dang Q, Gibson TS, et al. Cyclic benzimidazole derivatives as AMP-protein kinase activators and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases; *US*, 2010047982A1 [P]. 2010-04-26 [2015-02-09].
- [31] Dang Q, Chung DM, Gibson TS, et al. Novel cyclic benzimidazole derivatives as AMP-activated protein kinase activators and anti-diabetic agents and their preparation; *US*, 2010051176A1 [P]. 2010-05-06 [2015-02-09].
- [32] Dang Q, Chung DM, Gibson TS, et al. Novel cyclic benzimidazole derivatives as AMP-activated protein kinase activators and anti-diabetic agents and their preparation; *US*, 2010051206A1 [P]. 2010-05-06 [2015-02-09].
- [33] Kojima E, Fujioka M. Benzimidazole or azabenzimidazole derivative having AMPK-activating effect, pharmaceutical composition containing it, and method prevention or treatment of diabetes mellitus; *JP*, 2014069426A1 [P]. 2014-03-15 [2015-02-09].
- [34] Kojima E, Hinata Y, Tamura Y, et al. Preparation of 5-oxybenzimidazole and 5-oxyazabenzimidazole derivatives as AMPK activators; *JP*, 2014175330A1 [P]. 2014-10-03 [2015-02-09].
- [35] Kojima E, Tonogaki K, Tanaka N, et al. Azabenzimidazole derivatives having AMPK-activating activity; *JP*, 2013011932A1 [P]. 2013-01-24 [2015-02-09].
- [36] Tonogaki K, Ino A, Kojima E, et al. Preparation of hetero ring-fused imidazole derivatives as AMPK activators; *JP*, 2012033149A1 [P]. 2012-08-05 [2015-02-09].
- [37] Bhattacharya SK, Cameron KOK, Dowling MS, et al. Preparation of indole and indazole compounds that activate AMPK; *US*, 2014140704A1 [P]. 2014-09-18 [2015-02-09].
- [38] Pang T, Zhang ZS, Gu M, et al. Small molecule antagonizes autoinhibition and activates AMP-activated protein kinase in cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, **283** (23):16051–16060.
- [39] Yu LF, Li YY, Su MB, et al. Development of novel alkene oxindole derivatives as orally efficacious AMP-activated protein kinase activators [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, **4** (5):475–480.
- [40] Li YY, Yu LF, Zhang LN, et al. Novel small-molecule AMPK activator orally exerts beneficial effects on diabetic db/db mice [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, **273** (2):325–334.
- [41] Anil TM, Harish C, Lakshmi MN, et al. CNX-012-570, a direct AMPK activator provides strong glycemic and lipid control along with significant reduction in body weight; studies from both diet-induced obese mice and db/db mice models [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2014, **13** (27):1–14.
- [42] Potluri VK, Das SK, Sasmal PK, et al. Preparation of thiazole carboxylates as AMP-activated protein kinase (AMPK) activator; *IN*, 2007005785A1 [P]. 2007-01-11 [2015-02-09].
- [43] Darwish IS, Yu J, Hong H, et al. Preparation of carboxamide, sulfonamide and amine compounds for the treatment of metabolic disorders; *US*, 2009076631A1 [P]. 2009-06-18 [2015-02-09].