

Simulasi *Docking* Molekuler Senyawa Potensial Tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. Sebagai Antidiabetes

MOLECULAR DOCKING SIMULATION OF JUSTICIA GENDARUSSA AS ANTIDIABETIC

Rosa Adelina*

Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Badan Litbang Kesehatan
Jl. Percetakan Negara 23 Jakarta 10560, Indonesia

*Email : rosa.adelina@safro.net

Submitted : 22-02-2020, Revised : 27-03-2020, Revised : 24-04-2020, Accepted : 10-05-2020

Abstract

Indonesia has various natural compounds that are potential as antidiabetics but the mechanism of action was not yet known in detail, one of them is *Justicia gendarussa*. *Justicia gendarussa* is known as *Gandarusa* contains kaempferol and naringenin. In this study, the two compounds were simulated with glucokinase enzyme using a glibenclamide as a standard reference drug to determine their potential action as an antidiabetic. The research method was carried out using molecular docking computation simulation (*in silico*). The results showed the binding energy scores of glibenclamide, naringenin, and kaempferol to glucokinase enzymes are -22.0917; -22,1866; and -22,6328 kcal/mol, respectively. The hydrogen bonding plays in binding the enzyme. These results showed the binding energy score was not different significantly. Thus, naringenin and kaempferol had the same antidiabetic potential as glibenclamide.

Keywords: *Justicia gendarussa*, antidiabetes, molecular docking, naringenin, kaempferol

Abstrak

Berbagai senyawa alam Indonesia berpotensi sebagai antidiabetes namun belum diketahui mekanisme aksinya secara rinci, salah satu contohnya *Justicia gendarussa* Burm.f.. Tanaman *Justicia gendarussa* yang dikenal baik dengan nama *Gandarusa*, mengandung kaempferol dan naringenin. Pada penelitian ini, kedua senyawa disimulasikan terhadap enzim glukokinase menggunakan senyawa pembanding glibenklamid yang merupakan obat referensi untuk mengetahui potensinya sebagai antidiabetes. Metode penelitian dilakukan menggunakan simulasi komputasi *docking* molekuler (*in silico*). Hasil *docking* molekuler menunjukkan skor energi ikatan glibenklamid, naringenin dan kaempferol terhadap enzim glukokinase masing-masing sebesar -22,0917; -22,1866 ; dan -22,6328 kkal/mol. Ikatan yang berperan adalah ikatan hydrogen. Hasil penelitian menunjukkan nilai skor energi ikatan yang tidak berbeda signifikan. Dengan demikian naringenin dan kaempferol memiliki potensi sebagai antidiabetes yang sama dengan glibenklamid.

Kata kunci: *Justicia gendarussa*, antidiabetes, docking molekuler, naringenin, kaempfero

PENDAHULUAN

Angka kejadian penyakit diabetes melitus (DM) meningkat setiap hari di dunia. Berdasarkan laporan dari International Diabetes Federation (2019), terdapat 463 juta manusia (20-79 tahun) yang saat ini menderita diabetes dan diperkirakan meningkat menjadi 700 juta pada tahun 2045. Proporsi jumlah penderita

diabetes tipe 2 meningkat di sebagian besar negara dan 79% diantaranya yang tinggal di negara miskin dan berkembang. Sebanyak 374 juta orang sedang dalam posisi risiko diabetes tipe-2 saat ini.¹ Penyakit DM merupakan penyakit gangguan metabolik kronis yang disebabkan defisiensi atau resistensi insulin. Pada DM tipe 1 terjadi kerusakan beta sel di pankreas sehingga mengakibatkan defisiensi insulin dan pada DM

tipe 2 terjadi resistensi atau penurunan sekresi insulin. Terdapat beberapa terapi obat yang digunakan untuk penanganan DM tipe 2 yaitu sulfonilurea, tiazolidindion, agonis reseptor GLP-1, inhibitor DPP-4, inhibitor SGLT2, agonis reseptor GLP-1 atau basal insulin, pemilihan obat berdasarkan efek spesifik obat atau kondisi pasien.² Contoh obat pada golongan sulfonilurea adalah glibenklamid. Glibenklamid memiliki aksi meningkatkan sekresi insulin.³

Saat ini, banyak masyarakat menginginkan terapi DM yang bersifat alami atau herbal. Di sisi lain banyak penelitian yang menginginkan penemuan obat yang berasal dari tanaman obat tradisional untuk menangani DM yang efektif, memiliki efek samping rendah dan sudah digunakan secara empiris. Salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan secara empiris adalah *Justicia gendarussa* Burm.f. yang dikenal dengan tanaman gandarusa. Gandarusa adalah anggota famili Acanthaceae yang banyak ditemukan di Indonesia. Berdasarkan ilmu etnofarmasi, gandarusa disebutkan digunakan untuk antidiabetes secara empiris di India.⁴ Pada penelitian preklinis sebelumnya menggunakan mencit terinduksi aloksan dan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan bahwa ekstrak metanolik daun gandarusa terbukti memiliki efek antihiperlikemia yang signifikan dan tidak memiliki efek sitotoksik yang signifikan.⁵ Berdasarkan uji antidiabetes menggunakan tikus terinduksi streptozocin menunjukkan bahwa ekstrak etanolik daun gandarusa mampu memperbaiki profil biokimia lipid darah, menurunkan kadar glukosa dalam serum dan urin tikus.⁶

Kandungan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun *J. gendarussa* diantaranya adalah kaempferol dan naringenin⁷. *Justicia gendarussa* digunakan untuk pengobatan antidiabetes secara etnofarmasi dan beberapa penelitian in vivo menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa dapat menunjukkan efek antidiabetes karena kandungan flavonoidnya.⁴ Naringenin dan kaempferol yang terkandung dalam *J. gendarussa* berpotensi sebagai antidiabetes. Pada penelitian ini, naringenin dan kaempferol akan disimulasikan secara *docking* molekuler untuk mengetahui ikatan dan kekuatan ikatan (afinitasnya) terhadap protein glukokinase. Naringenin dikenal sebagai antiinflamasi, antifibrosis⁸, analgesik⁹, anti aterosklerosis¹⁰,

antioksidan dan mencegah stroke iskemik.¹¹

Enzim glukokinase sebuah bentuk isoform unik dari enzim heksokinase yang diketahui bertugas untuk memfosforilasi D-glukosa dan heksosa lainnya, telah diidentifikasi sebagai target obat yang menjanjikan untuk diabetes tipe 2. Glukokinase beraksi sebagai sensor glukosa sehingga insulin dapat diproduksi oleh sel β -pankreas sehingga dapat mengontrol konversi glukosa menjadi glikogen di hati dan meregulasi produksi glukosa hepatik.^{12,13} Dalam proses penelitian dan pengembangan obat, prediksi struktur kompleks ligan-protein dinamakan *docking* ligan-protein dan uji ini digunakan untuk mengetahui perkiraan mekanisme aksi ligan terhadap protein di dalam tubuh sehingga dapat berefek farmakologi. Enzim glukokinase dikenal sebagai heksokinase (HK) tipe IV dari anggota famili enzim heksokinase. Fungsi enzim glukokinase adalah mengkatalisis reaksi dalam metabolisme glukosa yaitu fosforilasi glukosa ke glukosa-6-fosfat.¹³ Pada penggunaan tradisional secara empiris, gandarusa digunakan sebagai analgetika¹⁴, antiinflamasi¹⁵, kanker¹⁶, dan rematik.¹⁷ Kaempferol sendiri dikenal sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker dengan menginduksi apoptosis dan dikenal sebagai fitoestrogen.¹⁸ Selain di gandarusa, kaempferol juga terkandung di *Ginkgo biloba*, *Tilia* spp., *Equisetum* spp., *Moringa oleifera*, *Sophora japonica* and propolis.¹⁹

BAHAN DAN METODE

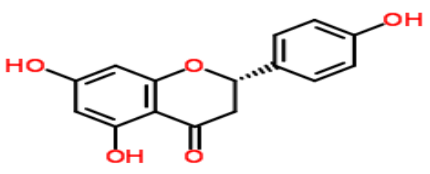
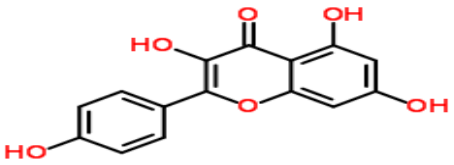
Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa kaempferol, naringenin, glibenklamid, dan enzim glukokinase (Tabel 1 dan 2). Molekul kaempferol dan naringenin diperoleh dalam bentuk 2D dengan format (.mol) yang diunduh dari situs www.chemspider. Molekul glibenklamid dan enzim glukokinase diperoleh dalam bentuk 3D dengan format (.pdb) yang didapatkan dari situs www.rcsb.or yang merupakan situs protein data bank yaitu dengan kode 1V4S. Format 3D didapatkan dari pemodelan kristalisasi protein dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat komputer yang telah dipasang (install) software *Molecular Operating Environment* (MOE) 2015.08 (Ryoka System Inc, Japan).

Penelitian ini merupakan penelitian in

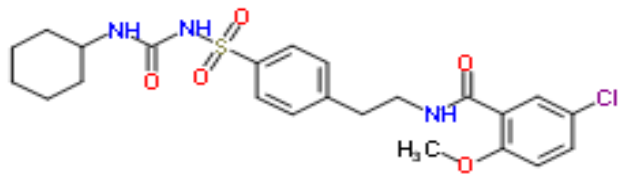
silico atau komputasi menggunakan komputer dengan menggunakan metode *docking* molekuler. Penelitian dilakukan di laboratorium Farmasi Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.

Uji in silico dilakukan melalui empat tahap. Tahap pertama adalah tahap optimasi enzim glukokinase. Tahap ini dilakukan untuk mempersiapkan enzim glukokinase ke bentuk konformasi 3D optimal untuk dilakukan *docking* molekuler. Struktur 3D enzim glukokinase didapatkan dari situs <http://www.rcsb.org>. File yang diunduh dalam bentuk format *file* (.pdb). Optimasi enzim glukokinase dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan ligan *native* yang terikat dengan molekul enzim lalu menambahkan atom hidrogen. Pada tahap ini dilakukan isolasi senyawa glibenklamid dan diubah ke dalam format *file* (.mol).

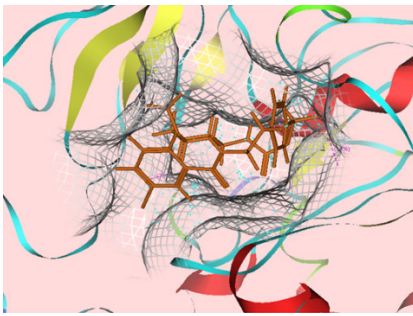
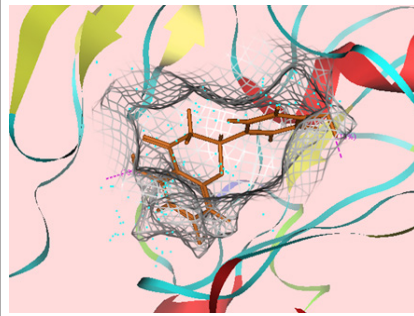
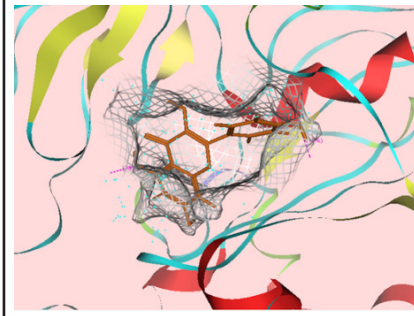
Tahap kedua adalah tahap optimasi senyawa uji. Struktur senyawa uji kaempferol dan naringenin dan senyawa pembanding glibenklamid (.mol) diunduh dalam bentuk 2D kemudian dikonversikan menjadi bentuk 3D dan dioptimasi menggunakan *software* MOE. Ketiga struktur senyawa ditampilkan dan dilakukan minimalisasi energi senyawa untuk mencari satu bentuk konformasi tiga dimensi senyawa yang paling stabil. Tahap ketiga adalah uji *docking* molekuler. Proses docking dilakukan antara protein glukokinase dengan glibenklamid, kaempferol, dan naringenin. Pada tahap ini, *docking* molekuler dilakukan sebanyak 10 kali untuk tiap-tiap senyawa dan skor energi ikatan terendah diambil sebagai hasil. Tahap keempat dilakukan dengan melihat jarak ikatan dan gambaran interaksi yang terjadi antara ketiga senyawa dengan enzim glukokinase.

Struktur Senyawa Uji		
Nama Senyawa Uji	Naringenin	Kaempferol

Gambar 1. Struktur Senyawa Aktif Yang Digunakan Pada Uji Docking Molekuler

Struktur senyawa pembanding	
Nama senyawa pembanding	Glibenklamid

Gambar 2. Identitas Makromolekul Target dan Ligan Pembanding Dalam Uji Docking Molekuler

		
Glibenklamid	Kaempferol	Naringenin

Catatan: Gambar didapatkan dari program MOE setelah proses docking

Gambar 3. Interaksi Glibenklamid, Kaempferol, dan Naringenin dengan Enzim Glukokinase

Tabel 4. Hasil uji docking molekuler

Nama Ligan	Energi Ikatan	Atom yang berperan	Residu Reseptor	Peran atom pada ligan
Glibenklamid	-22,0917	O pada S=O	Ser 445	donor H
			Arg 85	donor H
			Gly 444	donor H
Kaempferol	-22,1866	H pada OH	Asp 409	donor H
		H pada OH	Asp 78	donor H
		O pada OH	Lys 169	akseptor H
Naringenin	-22,6328	H pada OH	Asp 409	donor H
		O pada OH	Lys 169	akseptor H

Pada tanaman gandarusa, dua senyawa aktif yaitu naringenin dan kaempferol digunakan untuk proses penambatan molekuler (*docking* molekuler). Kedua senyawa ini disandingkan dengan senyawa *native* sebagai kontrol positif yaitu obat terapi DM tipe 2, glibenklamid. Reseptor yang dipilih pada penelitian ini adalah enzim glukokinase.

Uji *docking* molekuler dilakukan untuk memprediksi kemampuan ligan/senyawa dalam berinteraksi dengan enzim glukokinase dan berikutnya dapat diprediksi kekuatan ikatan serta gambaran interaksi yang terjadi antara senyawa dan enzim glukokinase melalui hasil visual dan perhitungan yang dilakukan secara komputasi menggunakan *software* MOE. Hasil ikatan yang terjadi antara kedua senyawa aktif dan glibenklamid pada sisi aktif enzim glukokinase dapat dilihat pada Gambar 3.

Besarnya energi ikatan yang terjadi antara senyawa kaempferol, naringenin, dan glibenklamid dalam berikatan dengan enzim glukokinase ditunjukkan oleh Tabel 4. Energi ikatan yang terbentuk merupakan energi yang dihasilkan atau diserap ketika pembentukan kompleks ligan/senyawa dengan protein target. Energi yang semakin rendah menandakan ikatan yang terjadi semakin stabil dan berpotensi memberikan efek farmakologi pada manusia yang lebih baik. Energi ikatan untuk kedua senyawa tidak berbeda signifikan yaitu sekitar -22 kkal/mol dengan naringenin yang memiliki energi ikatan terendah yaitu -22,6328 kkal/mol. Selain itu, Tabel 4 juga menunjukkan gambaran interaksi yang terjadi antara senyawa dengan enzim glukokinase yang didapatkan berdasarkan hasil dari proses *docking* molekuler yang ditampilkan oleh *software* MOE. Gambaran interaksi yang dilihat berdasarkan interaksi yang

terjadi antara ligan/senyawa dengan enzim glukokinase sebagai protein target di dalam tubuh manusia.

Ketiga senyawa berikatan dengan ikatan hidrogen dan gugus asam amino di enzim glukokinase yang berbeda. Pada glibenklamid, gugus yang berperan adalah gugus sulfoksida (S=O) yang berikatan dengan gugus asam amino serin pada posisi 445, arginin pada posisi 85, dan glisin pada posisi 444.

Hal ini berbeda dengan kedua senyawa yang terdapat pada gandarusa. Kaempferol dan naringenin memiliki gugus fungsional yang sama dalam berikatan dengan enzim glukokinase yaitu gugus hidroksi (OH). Gugus hidroksi pada kedua senyawa berikatan dengan dua gugus asam amino yang sama pada enzim glukonase yaitu gugus asam amino asam aspartat posisi 409 dan lisin posisi 169. Pada kaempferol, gugus hidroksi juga berikatan pada gugus asam aspartat posisi 78.

PEMBAHASAN

Senyawa kaempferol dan naringenin merupakan golongan flavonoid yang kaya akan atom hidroksi (OH) sehingga meningkatkan potensi berikatan dengan enzim glukokinase menggunakan ikatan hidrogen. Ikatan senyawa dengan enzim glukokinase menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki kemungkinan untuk mengaktivasi enzim glukokinase secara prediksi modelling menggunakan uji komputasi. Dengan demikian, sisi aktif asam amino dapat digunakan untuk memprediksi struktur senyawa yang paling kuat berikatan dengan ligan sehingga menimbulkan efek farmakologis yang terbaik. Ikatan ketiga ligan (glibenklamid, kaempferol, dan naringenin) dengan enzim glukokinase

menunjukkan daya penghambatan yang setara antara ketiganya, hal ini menunjukkan adanya potensi kaempferol dan naringenin berperan sebagai antidiabetes seperti mekanisme kerja glibenklamid. Kemampuan kaempferol dan naringenin sebagai antidiabetes perlu dilanjutkan dengan percobaan *in vitro* pada sel untuk membuktikan hasil simulasi ini dengan menguji aktivitas kaempferol dan naringenin terhadap enzim glukokinase.

Skor energi ikatan merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan senyawa terhadap enzim glukokinase. Semakin stabil interaksi senyawa-enzim glukokinase dicerminkan dengan semakin rendahnya skor energi ikatan (minus) dan akan menghasilkan efek farmakologis yang lebih efektif. Hasil *docking* molekuler menunjukkan bahwa nilai afinitas ikatan glibenklamid, kaempferol, dan naringenin hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga senyawa memiliki efek farmakologis yang setara. Besarnya kantung (yang ditunjukkan dengan gambar jala) pada Tabel 3 tergantung terhadap besarnya molekul ligan. Kantung menandakan batas interaksi antara asam amino pada enzim glukokinase dengan ligan.

Enzim glukokinase berada pada jalur fisiologis sekresi insulin pada sel beta pancreas. Jalur ini dinamakan jalur glikolisis. Jalur glikolisis dikarakterisasi dengan beberapa tipe sel diantaranya sel alfa dan beta pankreas, hepatosit, sel pituitari, dan neuron otak dengan bentuk yang spesifik. Dalam jalur fisiologis ini, terdapat ekspresi empat isoenzim heksokinase dan glukokinase yang berperan dalam mengatur konsentrasi gula darah.²¹ Enzim glukokinase meregulasi sekresi insulin terhadap peningkatan konsentrasi gula darah dan kecepatan *uptake* glukosa hati dan sintesis glikogen di hati. Dengan demikian, enzim glukokinase akan berperan sebagai sensor glukosa untuk meregulasi homeostasis glukosa tubuh.^{13,21} Di hati, regulasi glukokinase penting untuk sintesis dan penyimpanan glikogen pada tahap *postprandial* tapi tidak untuk pembentukan energi. Enzim glukokinase akan mengaktifkan glikolisis untuk membuat sinyal metabolik yang diperlukan dalam sekresi insulin.²² Dengan demikian, ketika berikatan dengan enzim glukokinase maka ligan akan mengaktifasi proses fosforilasi

yang menjadi tahapan selanjutnya. Aktivasi glukokinase dapat menjadi strategi terapeutik baru dan potensial untuk DM tipe 2. Beberapa enzim glukokinase dilaporkan dapat menurunkan kadar Hemoglobin A1c (HbA1c) pada pasien DM tipe 2.^{13, 21, 23}

Hasil penelitian komputasi pada artikel ini menunjukkan bahwa Kaempferol dan Naringenin yang merupakan senyawa aktif gandarusa mampu berikatan dengan enzim glukokinase dengan nilai hasil *docking* molekuler yang tidak berbeda nyata. Dengan demikian, senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam gandarusa memiliki potensi sebagai antidiabetes dengan protein target yang sama dengan glibenklamid yaitu enzim glukokinase.

KESIMPULAN

Kaempferol dan Naringenin yang merupakan senyawa aktif gandarusa mampu berikatan dengan enzim glukokinase setara dengan glibenklamid. Gandarusa memiliki potensi sebagai antidiabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan atas fasilitas yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR RUJUKAN

1. International Diabetes Federation. About Diabetes. Diabetes Facts & Figures [Internet]. [12 Februari 2020] diunduh 18 April 2020.
2. Association AD. Diabetes Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. The Journal of Clinical and Applied Research and Education. 2019.;42.
3. Jadna SFM, Jhonatan Gomes Castro A, Menegaz D, De Bernardis M, Pires Mendes C, Mascarello A, dkk. Mechanism of action of novel glibenclamide derivatives on potassium and calcium channels for insulin secretion. Current drug targets. Current Drug Target. 2017;18(6):10.
4. Kavitha K, Sujatha K dan Manoharan S.

- Antidiabetic Potential of Acanthaceae Family. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2016;36(1):8.
5. Islam MR, Sayeed MA, Billah MM, Rana MN, Hossain MA, Anwar ZB, dkk. Effects of Methanolic Leaf Extract of *Justicia gendarussa* on Alloxan Induced Diabetic Mice and Brine Shrimp NAUPLII. *World Journal of Pharmaceutical Research.* 2015;4(6):1981-1990.
 6. Suresh BN, Satish PV dan Oswal. RJ. Effects of *Justicia gendarussa* Leaves in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2020;11(7):3300-3305.
 7. Ayob Z, Jamil S, Bohari M, Pauliena S, Ahmad F, Samad A, dkk. Detection of Naringenin and Kaempferol in *Justicia gendarussa* Leaf Extracts by GC-FID. *Sains Malaysiana.* 2017;46(3):457-461.
 8. Shine V, Anuja G, Pradeep S dan Suja S. Molecular Interaction of Naringenin and its Metabolite Naringenin to Human Liver Fibrosis Proteins: an In Silico Approach. *Pharmacognosy Magazine.* 2018;14(55):102-109.
 9. Manchope M, Casagrande R dan Verri Jr W. Naringenin: an Analgesic and Anti-Inflammatory Citrus Flavanone. *Oncotarget.* 2017;8(3):3766.
 10. Orhan I, Nabavi S, Daglia M, Tenore GC, Mansouri K dan SM. N. Naringenin and Atherosclerosis: a Review of Literature. *Current pharmaceutical biotechnology.* 2015;16(3):245-251.
 11. Wang K, Chen Z, Huang J, Huang L, Luo N, Liang X, dkk. Naringenin Prevents Ischaemic Stroke Damage via Anti-Apoptotic and Anti-Oxidant Effects. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2017;44(8):862-871.
 12. Haeusler RA, Camastra S, Astiarraga B, Nannipieri M, Anselmino M dan Ferrannini E. Decreased expression of hepatic glucokinase in type 2 diabetes. *Mol Metab.* 2015;4(3):222-226. Epub 2015/03/05.
 13. Toulis K, Nirantharakumar K, C P, AHB dan AA. T. Glucokinase Activators for Type 2 Diabetes: Challenges and Future Developments. *Drugs.* 2020;80:467-475.
 14. Hesturini R, Herowati R dan GP. W. Uji Aktivitas Analgetika Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f) dengan Metode Tail Flick. *Jurnal Farmasi Indonesia.* 2018;15(1):13-17.
 15. Hesturini R. Aktivitas Analgetik dan Anti-Inflamasi Fraksi-Fraksi Ekstrak Etanol Daun Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm. F) secara *In Vivo* dan Uji Keamanan terhadap Lambung [Disertasi doktoral]. Surakarta: Universitas Setia Budi; 2016.
 16. Widodo A, Khumaidi A dan Lasongke P. Toksisitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air dari Daun Jotang Kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), Daun Gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm. F.), dan Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) dengan *Brine Shrimp Lethality Test*. *Jurnal Farmasi Galenika.* 2019;5(2):198-205.
 17. Chandra Y. Perancangan Aplikasi Resep Pengobatan Gangguan Pernapasan dengan Tanaman Obat Menggunakan Pendekatan Agile Process dengan Model Extreme Programming berbasis Android. *Jurnal Informatika Wicida.* 2017;1(1):33-41.
 18. Lee G, Choi K dan Hwang K. Kaempferol, a phytoestrogen, suppressed triclosan-induced epithelial-mesenchymal transition and metastatic-related behaviors of MCF-7 breast cancer cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2017;49:48-57.
 19. Duan L, Ding W, Liu X, Cheng X, Cai J, Hua E, dkk. Biosynthesis and Engineering of Kaempferol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial cell factories.* 2017;16(1):165.
 20. Adelina R, Kurniatri A. Mekanisme Katekin sebagai Obat Antidislipidemia (Uji *In Silico*). *Buletin Penelitian Kesehatan.* 2018;46(3):147-154.
 21. Tsumura Y, Tsushima Y, Tamura A, Hasebe M, Kanou M, Kato H, dkk. TMG-123, a Novel Glucokinase Activator, Exerts Durable Effects on Hyperglycemia without Increasing Triglyceride in Diabetic Animal Models. *Plos One.* 2017;12(2).
 22. Richter J, Goroncy A, Ronimus R dan Sutherland-Smith A. The Structural and Functional Characterization of Mammalian ADP-Dependent Glucokinase. *Journal of Biological Chemistry.* 2016;291(8):3694-3704. Epub 2015/11/12.
 23. Amin NB, Aggarwal N, Pall D, Paragh G, Denney WS, Le V, dkk. Two Dose-Ranging Studies with PF-04937319, a Systemic Partial Activator of Glucokinase, as add-on Therapy to Metformin in Adults with Type 2 Diabetes, Obesity, and Metabolism. 2015.;17(8):751-759.