

## STUDI BIOINFORMATIKA KONSTITUEN MAYOR *Centella asiatica* DALAM MEMODULASI KECEMASAN DAN DEPRESI

Vania Amanda Samor<sup>1\*</sup>, Rachmi Nurkhalika<sup>2</sup>, Yovita Endah Lestari<sup>3</sup>, Saddam Husein<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Malahayati,

[\*Email korespondensi: svaniamanda@malahayati.ac.id]

**Abstract: Bioinformatics Study of *Centella asiatica* Major Constituents towards Anxiety and Depression Modulation.** *Centella asiatica* (CA) has several pharmacological advantages and is known to affect anxiety and depression disorder, although the molecular signaling pathways remain elusive. Through bioinformatics approach, this study intends to investigate potential molecular targets of CA major constituents through molecular pathway. SwissTargetPrediction2019 and STITCH 5.0 were used to predict proteins regulated by major constituents of CA, and slice analysis was performed using depression and anxiety genes provided from GeneCards. STRING 11.5 was used to analyze protein-protein interactions, and WebGestalt 2019 was used to investigate potential gene signaling networks. The study found that the major constituent of CA (*asiaticoside*) has the potential to control anxiety and depression disorders via the BDNF signaling pathway. Additional research is needed to investigate the therapeutic potential of CA major constituents in depression and anxiety models.

**Keywords :** Anxiety, Bioinformatics Study, *Centella Asiatica*, Depression,

**Abstrak: Studi Bioinformatika Konstituen Mayor *Centella asiatica* dalam Memodulasi Kecemasan dan Depresi.** Konstituen mayor *Centella asiatica* (CA) memiliki banyak manfaat farmakologis dan diduga dapat mempengaruhi kondisi kecemasan dan depresi, namun jalur persinyalan molekuler belum sepenuhnya dipahami. Studi ini bertujuan untuk mengeksplorasi target potensial mekanisme konstituen mayor melalui pendekatan bioinformatika. Prediksi protein yang dimodulasi oleh konstituen mayor CA dilakukan dengan SwissTargetPrediction 2019 dan STITCH 5.0 yang kemudian dilakukan analisis irisan dengan gen depresi dan kecemasan yang diperoleh dari GeneCards. Analisis interaksi protein-protein dilakukan dengan STRING 11.5 dan ditelusuri kemungkinan jalur persinyalan gen dengan WebGestalt 2019. Melalui studi diketahui bahwa konstituen mayor CA (*asiaticoside*) berpotensi memodulasi kondisi kecemasan dan depresi melalui jalur persinyalan BDNF. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi potensi terapi konstituen mayor CA dengan model depresi dan kecemasan.

**Kata Kunci :** *Centella Asiatica*, Depresi, Kecemasan, Studi Bioinformatika

### PENDAHULUAN

Kecemasan adalah suatu kondisi yang didominasi rasa takut secara berlebihan atas sesuatu (asli atau khayalan) yang diantisipasi dan dianggap membahayakan (Chand & Marwaha, 2023), sedangkan depresi adalah kondisi gangguan *mood* yang ditandai dengan rasa sedih berkepanjangan dan kehilangan gairah untuk melakukan apapun. Perasaan kosong, tidak

berdaya, yang juga disusul dengan penurunan kemampuan fisik dan kognitif yang signifikan menjadi beberapa tanda yang membedakan depresi dari rasa sedih pada umumnya (Chand & Arif, 2023). Keduanya termasuk dalam golongan gangguan jiwa yang terjadi pada berbagai kalangan, setidaknya 1 dari 8 orang atau 970 juta orang di seluruh dunia mengalami gangguan mental (WHO, 2022) dan merupakan

penyebab kematian dan disabilitas global (Charlson et al., 2015). Kesadaran terhadap gangguan mental masih minim, sehingga tidak semua individu yang mengalami gejala akan mencari bantuan tenaga profesional meskipun kedua gangguan ini selain mengganggu aktivitas fisik dan psikis yang normal dari suatu individu (Chand & Marwaha, 2023). Pengobatan yang kronis dan menelan biaya yang tidak sedikit berujung pada penurunan kualitas hidup individu (Domhardt et al., 2019). Pengobatan terhadap kecemasan dan depresi sejauh ini masih terbatas pada psikoterapi dan farmakoterapi yang tidak sepenuhnya aksesibel bagi semua kalangan (Lund et al., 2015; Wagenaar et al., 2015).

Kondisi ini kemudian mendorong penemuan substansi berkhasiat farmakologis yang mungkin saja dapat menjadi alternatif dalam penanganan masalah mental. Bioinformatika yang memanfaatkan data transkriptomik, proteomik, epigenetik, cistromik, genomik dalam suatu *database*, telah memudahkan para peneliti dalam memprediksi kandidat obat pada target terapi yang dikehendaki selama beberapa dekade ini (Patel et al., 2023) sehingga biaya riset, pengembangan, hingga pemasaran kandidat obat dapat ditekan dengan signifikan (Wooller et al., 2017). *Centella asiatica* (CA) atau 'Pegagan' adalah satu dari sekian banyak tanaman herbal dengan segudang khasiat farmakologis yang menarik untuk dikembangkan. Observasi pada 38 partisipan *Generalized Anxiety Disorder* (GAD) mengemukakan bahwa CA menurunkan kecemasan dan fenomena stres terkait depresi (Jana et al., 2010). Aktivitas ansiolitik dan antidepresan CA disinyalir dimediasi oleh terpenoid pentasiklik asiaticoside melalui interaksi dengan reseptor GABA<sub>A</sub> (Chen et al., 2006), modulasi fungsi aras hipotalamus-pituitari-adrenokortikal (HPA) dan peningkatan jumlah neurotransmitter monoamin (Chen et al., 2006; Kalshetty et al., 2012). Disrupsi aras HPA oleh

induktor ansietas yang menyebabkan peningkatan pelepasan hormon stres *corticotropin releasing hormone* (CRH) dapat dikembalikan oleh pemberian CA (Kalshetty et al., 2012).

Belum adanya cukup studi yang memanfaatkan aspek bioinformatika terkait aktivitas konstituen mayor yang spesifik pada *Centella asiatica* terhadap ansietas dan depresi menjadi dasar dilakukannya studi ini. Menggunakan serangkaian *database* seperti *SwissTargetPrediction 2019*, *STITCH 5.0*, analisis interaksi konstituen mayor *Centella asiatica* pada gen yang terkait dengan ansietas dan depresi dilakukan. Secara lebih lanjut analisis interaksi protein-protein juga dilakukan dengan STRING 11.5 dan ditelusuri kemungkinan jalur persinyalan gen dengan WebGestalt 2019.

## METODE

### Penggalian data interaksi konstituen mayor *Centella asiatica* dengan protein

Prediksi protein yang dimodulasi oleh konstituen mayor *Centella asiatica* dilakukan dengan menggunakan *database* STITCH 5.0 (<https://stitch.embl.de/>). Serangkaian kata kunci konstituen mayor CA "asiaticoside", "asiatic acid", "madecosside", dan "madecassic acid" (Gohil et al., 2010) ke dalam kolom dalam menu *multiple names* pada *database* organisme *homo sapiens*. Data yang diambil adalah yang memiliki *combined score* >0.7.

Konstituen yang tidak ditemukan pada *database* STITCH 5.0, "caffeoylquinic acid" ditelusuri dengan memasukkan *canonical SMILES* dari senyawa yang berkaitan pada *database* SwissTargetPrediction (<https://swisstargetprediction.ch/>) untuk menemukan interaksinya dengan protein target.

### Penggalian data gen terkait ansietas dan depresi

Penggalian data atau *data mining* gen manusia yang berhubungan dalam

kondisi kecemasan dan depresi dilakukan dengan *GeneCards* (<https://www.genecards.org>). *Data mining* dilakukan dengan memasukkan kata kunci "anxiety" dan "depression"

lalu hasil gen yang memenuhi *cut-off* >5.00 diambil dan diseleksi pada tahap selanjutnya.

### Penentuan interaksi protein konstituen mayor CA vs gen penyandi kecemasan dan depresi

Protein yang dimodulasi oleh konstituen mayor CA (STITCH 5.0 dan SwissTargetPrediction) kemudian dilakukan analisis irisan dengan gen penyandi protein yang ditemukan dari situs *GeneCards*, dengan menggunakan situs Venny2.1 (<https://bioinfoq.cnb.csic.es/tools/venny/>). Analisis irisan dibagi menjadi dua tahap, hasil konstituen mayor CA versus gen terkait kecemasan, dan hasil konstituen mayor CA vs gen terkait depresi. Data gen yang diperoleh pada irisan merupakan kemungkinan jalur persinyalan yang akan dipengaruhi oleh konstituen mayor CA.

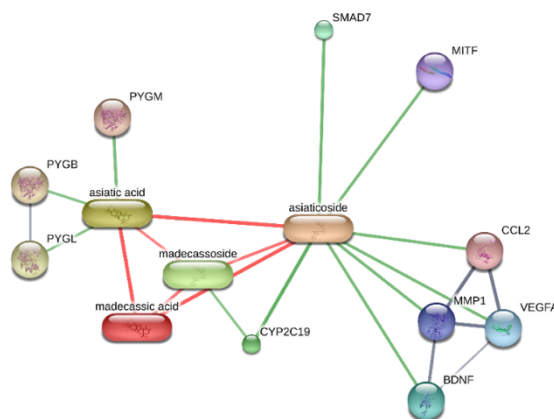
### Penentuan interaksi protein-protein

Untuk memprediksi adanya interaksi protein dan protein, dilakukan

analisis lanjutan dengan *database* STRING 11.5 (<https://string-db.org/>). Kode protein yang masuk ke dalam irisan pada hasil analisis Venny2.1 dimasukkan pada menu "multiple proteins" dengan *database* "homo sapiens." Interaksi protein yang menghasilkan skor >0.7 dianggap signifikan.

### Enrichment analysis KEGG pathway dan ontologi gen

Alat bioinformatika WEB-based GENE SeT AnaLysis Toolkit (<https://www.webgestalt.org/>) digunakan untuk mengidentifikasi hubungan gen terhadap suatu fenotipe penyakit tertentu. Data hasil analisis interaksi gen-protein pada Venny2.1 dimasukkan dalam sub menu *Gene List*, kemudian dipilih "Homo sapiens" pada kolom *Organism of Interest*. Metode yang dipilih untuk analisis *enrichment* dipilih *Over-Representation Analysis* (ORA), sedangkan pada pilihan "pathways" dipilih KEGG sebagai *database* utama. Adapun gen yang dimasukkan adalah *BDNF* terkait kecemasan, dan *VEGFA*, *BDNF*, dan *CCL2* terkait depresi.



**Gambar 1. Interaksi antara konstituen mayor *Centella asiatica* dan protein target berdasarkan STITCH 5.0**

### HASIL

### Probabilitas interaksi konstituen mayor *Centella asiatica* dengan protein

Hasil eksplorasi dengan *database* STITCH 5.0 mengungkap terdapat

beberapa protein yang dimodulasi oleh konstituen mayor CA seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1. *Asiaticoside* berinteraksi dengan 7 jenis protein diantaranya: CYP2C19, SMAD7, VEGFA, BDNF, CCL2, MITF, MMP1. Adapun skor

kombinasi tertinggi terdapat pada CYP2C19. Interaksi tertinggi pada *asiatic acid* adalah dengan PYGM, sedangkan *madecosside* hanya dengan CYP2C19. Tidak terdapat interaksi protein yang berarti pada *madecassic acid*. Skor kombinasi dengan protein lain dapat

dilihat pada Tabel 1. Penelusuran terhadap *caffeoylquinic acid* (Tabel 2) dilakukan dengan SwissTargetPrediction dan diketahui skor probabilitas tertingginya hanya pada AKR1B1 dan AKR1B10.

**Tabel 1. Protein yang berinteraksi dengan konstituen mayor *Centella asiatica* berdasarkan STITCH 5.0**

Nodus 1	Nodus 2	Deskripsi	Skor Kombinasi
Asiaticoside	CYP2C19	<i>Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19</i>	0.938
	SMAD7	<i>SMAD family member 7</i>	0.828
	VEGFA	<i>Vascular endothelial growth factor A</i>	0.800
	BDNF	<i>Brain-derived neurotrophic factor</i>	0.800
	CCL2	<i>Chemokine (C-C motif) ligand 2</i>	0.800
	MITF	<i>Microphthalmia-associated transcription factor</i>	0.800
	MMP1	<i>Matrix metalloproteinase 1</i>	0.800
Asiatic Acid	PYGM	<i>Glycogen phosphorylase, muscle associated</i>	0.795
	PYGB	<i>Glycogen phosphorylase B</i>	0.712
	PYGL	<i>Glycogen phosphorylase, liver form</i>	0.712
Madecosside	CYP2C19	<i>Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19</i>	0.700
Madecassic acid	-	-	-

**Tabel 2. Protein yang berinteraksi dengan konstituen mayor *Centella asiatica* berdasarkan Swiss Target Prediction**

Nodus 1	Nodus 2	Deskripsi	Skor Probabilitas
Caffeoylquinic acid	AKR1B1	<i>Aldose reductase</i>	0.641
	AKR1B10	<i>Aldo-keto reductase family 1 member B10</i>	0.641

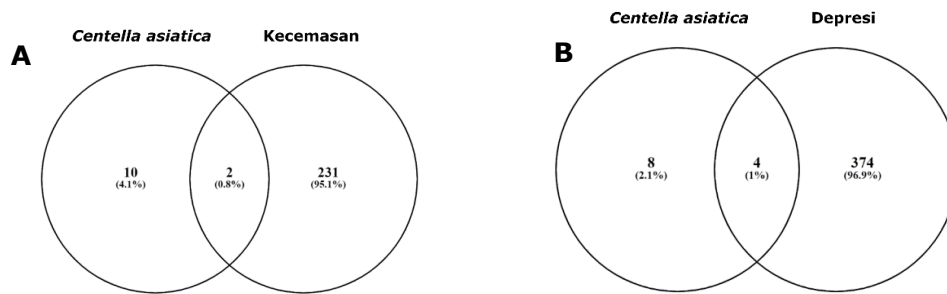
**Penelusuran interaksi konstituen mayor *Centella asiatica* pada gen terkait kecemasan dan depresi**

Melalui penelusuran menggunakan kata kunci kecemasan, diperoleh sejumlah 233 gen yang berperan dalam kondisi ansietas, dan 378 gen yang berkaitan dengan kondisi depresi yang memenuhi persyaratan skor relevansi >5.00.

Kemudian setelah data gen diperoleh dilakukan analisis *overlapping* dengan Venny2.1 (Gambar 2). Melalui hasil pada Tabel 3 diketahui bahwa terdapat 2 gen yang dimodulasi CA pada kondisi ansietas (*BDNF* dan *CYP2C19*). Sedangkan pada kondisi depresi terdapat 4 gen yang dimodulasi (*CYP2C19*, *VEGFA*, *BDNF*, dan *CCL2*).

**Tabel 3. Hasil irisan gen yang dimodulasi konstituen mayor *Centella asiatica* dan terkait dengan kondisi kecemasan dan depresi**

Kecemasan	Depresi
<i>CYP2C19</i>	<i>CYP2C19</i>
<i>BDNF</i>	<i>VEGFA</i>
	<i>BDNF</i>
	<i>CCL2</i>



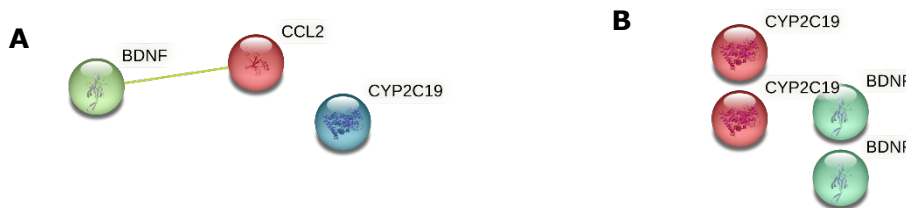
**Gambar 2. Hasil irisan gen yang dimodulasi konstituen mayor *Centella asiatica* dan terkait dengan kondisi kecemasan (A) dan depresi (B)**

**Interaksi protein-protein**

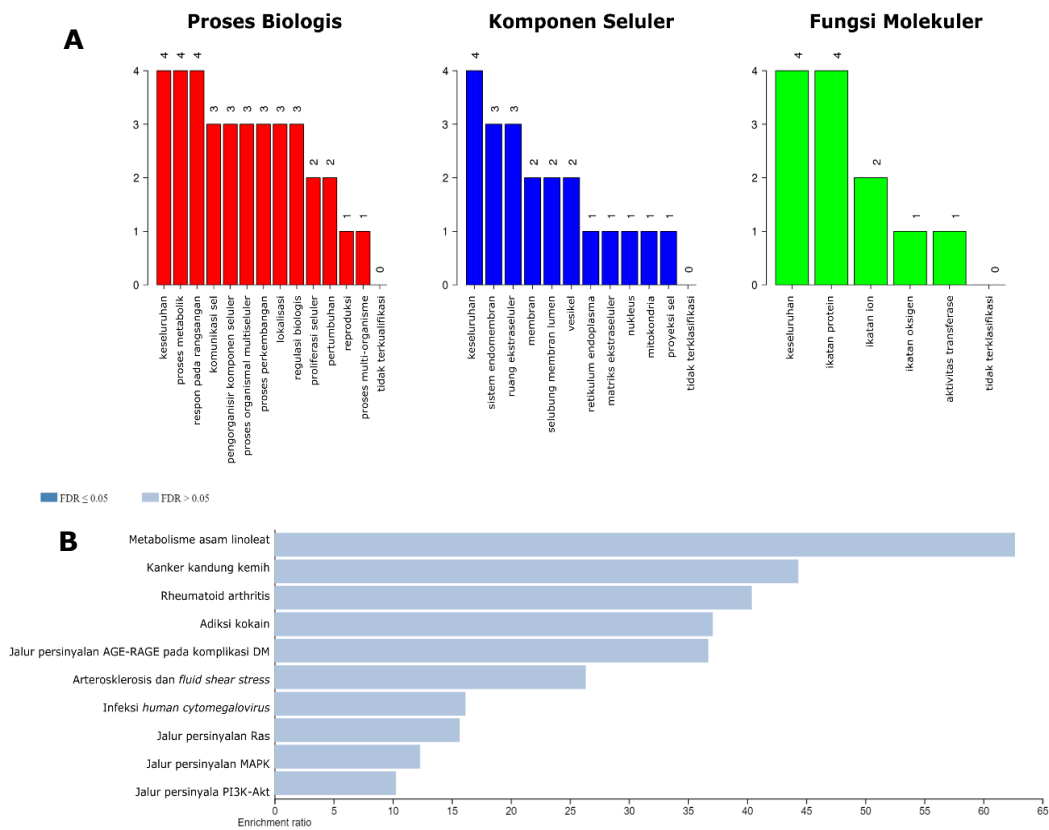
Melalui penelusuran interaksi protein-protein dengan STRING 11.5 (Gambar 3) tidak terdapat interaksi antara 2 protein yang dimodulasi konstituen mayor CA pada kondisi ansietas CYP2C19 dengan BDNF dan sebaliknya. Sedangkan pada kondisi depresi, terdapat interaksi antara BDNF dan CCL2 dengan skor 0.597. Garis yang berwarna kuning kehijauan menandakan jenis interaksi yang terjadi merupakan interaksi antar gen.

**KEGG pathway enrichment analysis**

Eksplorasi *enrichment* pada KEGG *pathway* mengindikasikan bahwa terdapat beberapa jalur yang dipengaruhi oleh konstituen mayor CA (Gambar 4), yang tertinggi terdapat pada *rheumatoid arthritis*, jalur persinyalan AGE-RAGE pada komplikasi DM, serta arterosklerosis dan *fluid shear stress*. Meskipun begitu konstituen mayor CA terlibat dalam adiksi kokain, jalur persinyalan Ras, MAPK, dan PI3K-Akt meskipun nilai FDR>0.05 (Tabel 4) yang berarti data terkurasi belum cukup membuktikan keterlibatannya di dalam jalur tersebut.



**Gambar 3. Hasil analisis interaksi antara protein-protein target yang dipengaruhi oleh konstituen mayor *Centella asiatica* pada kondisi ansietas (A) dan depresi (B) berdasarkan STRING 11.5**



**Gambar 4. Hasil enrichment analysis (A) hasil KEGG pathway (B)**

**Tabel 4. Jalur persinyalan yang dipengaruhi konstituen mayor *Centella asiatica* berdasarkan KEGG pathway**

Gene Set	Deskripsi	P Value	FDR
hsa05323	<i>Rheumatoid arthritis</i>	8,946E+11	0.1763249
hsa04933	<i>AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications</i>	0.0010817	0.1763249
hsa05418	<i>Fluid shear stress and atherosclerosis</i>	0.0020928	0.2274179
hsa05163	<i>Human cytomegalovirus infection</i>	0.0054894	0.3800811
hsa04014	<i>Ras signaling pathway</i>	0.0058294	0.3800812
hsa04010	<i>MAPK signaling pathway</i>	0.0093233	0.5065687
hsa04151	<i>PI3K-Akt signaling pathway</i>	0.0132848	0.6186937
hsa00591	<i>Linoleic acid metabolism</i>	0.0158618	0.6463703
hsa05219	<i>Bladder cancer</i>	0.0223698	0.7910118
hsa05030	<i>Cocaine addiction</i>	0.0266905	0.7910118

**PEMBAHASAN**

Studi ini dilakukan untuk menganalisis probabilitas mekanisme molekuler konstituen mayor *Centella asiatica* (*CA*) *asiaticoside*, *asiatic acid*, *madecosside*, *madecassic acid*, dan *caffeoylquinic acid* menggunakan pendekatan bioinformatika. Metode ini mengombinasikan data *multi-omics* dan

*high-throughput screening* untuk memprediksi interaksi kandidat obat pada fungsi biologis (metabolit, protein, sel, jaringan, dan sebagainya) (Romano & Tatonetti, 2019; Thomford et al., 2018).

Analisis awal dilakukan dengan *database* STITCH 5.0 yang menggabungkan hasil dataset dari

berbagai data eksperimen *high-throughput* menjadi jaringan yang dapat memprediksi interaksi protein-protein dan senyawa-protein (Szkarczyk, Santos, et al., 2016). Berdasarkan analisis (Tabel 1) diketahui bahwa 11 protein berinteraksi dengan konstituen mayor CA, dengan 7 protein paling banyak berikatan dengan *asiaticoside*. Satu protein yang unik terlihat berinteraksi dengan *asiaticoside*, yaitu BDNF. Hal ini dipertegas dalam studi Wang et al. (2020), yang melaporkan bahwa *asiaticoside* meningkatkan level neurotransmitter monoamin (5-HT dan NE), meningkatkan fosforilasi CREB dan kadar BDNF di hipokampus. Dari keseluruhan protein lain, hanya CCL2 yang juga berkaitan dengan kondisi depresi atau kecemasan. CCL2 merupakan kemokin yang menjadi reseptor utama CCR2. Keduanya berperan dalam aras CCL2-CCR2 dalam meregulasi neuroinflamasi, neurogenesis dan transmisi sinaptik (Leighton et al., 2018). Peningkatan CCL2 berhubungan dengan kejadian depresi (Curzytek & Leśkiewicz, 2021). Sedangkan CYP2C19 berperan dalam metabolisme antidepressan (Campos et al., 2022; Joas et al., 2023). *Caffeoylquinic acid* ditelusuri interaksi proteinnnya dengan SwissTargetPrediction, yaitu suatu *web-tool* berbasis prediksi target ligan (Daina et al., 2019). Melalui penelusuran (Tabel 2) AKR1B1 dan AKR1B10 adalah dua target yang memenuhi syarat skor probabilitas mendekati 1 (prediksi lebih akurat) (Gfeller et al., 2014).

GeneCards kemudian dipilih sebagai *web-tool* lanjutan untuk melakukan *data-mining* berupa gen apa saja yang terlibat dalam kondisi depresi dan kecemasan. *Database* ini memuat data terkait gen, protein, sel, elemen regulator, jalur biologis dan penyakit pada manusia serta menganalisis hubungan antar semua parameter (Safran et al., 2021). Hasil gen yang diperoleh kemudian disortir berdasarkan skor relevansi, dan ditetapkan *cut-off*  $\geq 5$ . Notabene studi lain dapat menggunakan *cut-off*  $\geq 7$  (Yang et al.,

2021). Semakin besar skor relevansinya, semakin erat kaitannya gen tersebut pada jalur yang dikehendaki. Untuk mengetahui gen dan protein yang dimodulasi konstituen mayor CA, dan juga terdapat pada kondisi depresi dan kecemasan digunakan *tool* Venny 2.1 (Gambar 2). Melalui analisis (Tabel 3) diperoleh 2 gen yang beririsan di kondisi kecemasan dan 4 gen yang beririsan.

Tahapan selanjutnya dilakukan untuk memperjelas apakah masing-masing gen saling berinteraksi menggunakan *web-tool* STRING 11.5 yang merupakan *database* untuk melihat asosiasi pada berbagai organisme. Tahap ini dilakukan untuk menganalisis protein-protein yang secara tidak langsung berinteraksi dan dimodulasi oleh konstituen mayor CA (Szkarczyk et al., 2021). Melalui hasil analisis hanya diperoleh dua jenis protein yang diduga saling berinteraksi, yaitu BDNF dan CCL2 dengan nilai kombinasi 0.597. Hasil skor kombinasi ini dinilai tidak signifikan, di mana yang dipersyaratkan adalah  $>0.7$  (taraf kepercayaan tinggi) (Szkarczyk, Morris, et al., 2016). Adapun skor kombinasi berada pada skala 0-1, semakin mendekati 1 semakin kuat interaksi keduanya menghasilkan efek biologis yang signifikan (Szkarczyk et al., 2021). Asosiasi BDNF-CCL2 dilaporkan terjadi pada studi pada tikus hiperammonemia, di mana aktivasi S1PR2 pada cerebellum karena tingginya kadar amonia dalam darah mengaktifkan CCL2-CCR2 sehingga terjadi aktivasi mikroglia yang berujung pada peningkatan BDNF. BDNF yang berhubungan dengan TrkB akan meningkatkan ekspresi KCC2 dan menyebabkan inkoordinasi motorik karena peningkatan neurotransmisi via GABA (Arenas et al., 2022). Pemberian CCL2 eksogen meningkatkan migrasi neuroblas, memicu neurogenesis, serta meningkatkan ekspresi BDNF pasca *traumatic brain injury* (Wu et al., 2023).

*Enrichment analysis* selanjutnya dilakukan dengan *web-tool* WebGestalt 2019 (Gambar 4). Analisis dilakukan dengan melihat *false discovery rate*

(FDR) adalah proporsi temuan yang salah di antara seluruh temuan dalam suatu *microarray and next-generation sequencing* (NGS) (Li et al., 2017). Nilai FDR digunakan untuk melihat nilai signifikansi, di mana nilai  $FDR \leq 0.05$  menandakan sekumpulan gen tersebut secara signifikan terlibat dalam jalur yang dimuat dalam *database* KEGG tersebut dengan nilai positif palsu yang telah diminimalisir (Liao et al., 2019). Pada Gambar 4A terlihat bahwa target konstituen CA diklasifikasi menjadi tiga kategori yaitu: proses biologis, komponen seluler dan fungsi molekuler dengan masing-masing gen ditampilkan dalam angka pada ujung grafik. Sedangkan pada Gambar 4B, hasil *enrichment analysis* KEGG *pathway* mengemukakan beberapa jalur persinyalan yang melibatkan gen yang dimodulasi oleh CA, diantaranya: metabolisme asam linoleat, kanker kandung kemih, rheumatoid arthritis, adiksi kokain, jalur AGE-RAGE, arterosklerosis, infeksi cytomegalovirus, jalur persinyalan Ras, MAPK, atau PI3K-Akt. Melalui penelusuran lebih lanjut BDNF yang dimodulasi oleh konstituen mayor CA juga terlibat dalam jalur MAPK, di mana peningkatan BDNF pada proses sinaptogenesis melibatkan aktivasi dan promosi fosforilasi pada MAPK/Erk 1/2 (Chen et al., 2006; Liu et al., 2013). Berdasarkan hasil penelitian keseluruhan *asiaticoside* lah yang secara *in silico* mempengaruhi jalur persinyalan BDNF.

## KESIMPULAN

Melalui hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konstituen mayor *Centella asiatica* dapat memodulasi kondisi depresi dan kecemasan melalui jalur persinyalan BDNF. Komponen yang mungkin berperan utama dalam efek ini adalah *asiaticoside*. Perlu dilakukan uji lanjutan untuk memverifikasi pengaruh *asiaticoside* terhadap secara *in vitro* dan *in vivo* menggunakan model depresi dan/atau kecemasan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arenas, Y. M., Balzano, T., Ivaylova, G., Llansola, M., & Felipo, V. (2022). The S1PR2-CCL2-BDNF-TrkB pathway mediates neuroinflammation and motor incoordination in hyperammonaemia. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, 48(4), e12799. <https://doi.org/10.1111/nan.12799>
- Campos, A. I., Byrne, E. M., Mitchell, B. L., Wray, N. R., Lind, P. A., Licinio, J., Medland, S. E., Martin, N. G., Hickie, I. B., & Rentería, M. E. (2022). Impact of CYP2C19 metaboliser status on SSRI response: A retrospective study of 9500 participants of the Australian Genetics of Depression Study. *The Pharmacogenomics Journal*, 22(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/s41397-022-00267-7>
- Chand, S. P., & Arif, H. (2023). Depression. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430847/>
- Chand, S. P., & Marwaha, R. (2023). Anxiety. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470361/>
- Charlson, F. J., Baxter, A. J., Dua, T., Degenhardt, L., Whiteford, H. A., & Vos, T. (2015). Excess mortality from mental, neurological and substance use disorders in the Global Burden of Disease Study 2010. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*, 24(2), 121–140. <https://doi.org/10.1017/S2045796014000687>
- Chen, S. W., Wang, W. J., Li, W. J., Wang, R., Li, Y. L., Huang, Y. N., & Liang, X. (2006). Anxiolytic-like effect of asiaticoside in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 85(2), 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.08.017>



- Curzytek, K., & Leśkiewicz, M. (2021). Targeting the CCL2-CCR2 axis in depressive disorders. *Pharmacological Reports*, 73(4), 1052–1062. <https://doi.org/10.1007/s43440-021-00280-w>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W357–W364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- Domhardt, M., Geßlein, H., von Rezori, R. E., & Baumeister, H. (2019). Internet- and mobile-based interventions for anxiety disorders: A meta-analytic review of intervention components. *Depression and Anxiety*, 36(3), 213–224. <https://doi.org/10.1002/da.22860>
- Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). SwissTargetPrediction: A web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 42(Web Server issue), W32–W38. <https://doi.org/10.1093/nar/gku293>
- Gohil, K. J., Patel, J. A., & Gajjar, A. K. (2010). Pharmacological Review on Centella asiatica: A Potential Herbal Cure-all. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(5), 546–556. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.78519>
- Jana, U., Sur, T. K., Maity, L. N., Debnath, P. K., & Bhattacharyya, D. (2010). A clinical study on the management of generalized anxiety disorder with Centella asiatica. *Nepal Medical College Journal: NMCJ*, 12(1), 8–11.
- Joas, E., Jonsson, L., Viktorin, A., Smedler, E., Pålsson, E., Goodwin, G. M., & Landén, M. (2023). Effect of CYP2C19 polymorphisms on antidepressant prescription patterns and treatment emergent mania in bipolar disorder. *The Pharmacogenomics Journal*, 23(1), 28–35. <https://doi.org/10.1038/s41397-022-00294-4>
- Kalshetty, P., Aswar, U., Bodhankar, S., Sinnathambi, A., Mohan, V., & Thakurdesai, P. (2012). Antidepressant effects of standardized extract of Centella asiatica L in olfactory bulbectomy model. *Biomedicine & Aging Pathology*, 2(2), 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2012.03.005>
- Leighton, S. P., Nerurkar, L., Krishnadas, R., Johnman, C., Graham, G. J., & Cavanagh, J. (2018). Chemokines in depression in health and in inflammatory illness: A systematic review and meta-analysis. *Molecular Psychiatry*, 23(1), 48–58. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.205>
- Li, D., Xie, Z., Zand, M., Fogg, T., & Dye, T. (2017). Bon-EV: An improved multiple testing procedure for controlling false discovery rates. *BMC Bioinformatics*, 18(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12859-016-1414-x>
- Liao, Y., Wang, J., Jaehnig, E. J., Shi, Z., & Zhang, B. (2019). WebGestalt 2019: Gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W199–W205. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz401>
- Liu, Y., Tao, L., Fu, X., Zhao, Y., & Xu, X. (2013). BDNF protects retinal neurons from hyperglycemia through the TrkB/ERK/MAPK pathway. *Molecular Medicine Reports*, 7(6), 1773–1778. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1433>
- Lund, C., Alem, A., Schneider, M., Hanlon, C., Ahrens, J., Bandawe, C., Bass, J., Bhana, A., Burns, J.,

- Chibanda, D., Cowan, F., Davies, T., Dewey, M., Fekadu, A., Freeman, M., Honikman, S., Joska, J., Kagee, A., Mayston, R., ... Susser, E. (2015). Generating evidence to narrow the treatment gap for mental disorders in sub-Saharan Africa: Rationale, overview and methods of AFFIRM. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*, 24(3), 233–240. <https://doi.org/10.1017/S2045796015000281>
- Patel, P. H., Jha, A., & Chakraborty, G. S. (2023). Role of Bioinformatics in Drug Design and Discovery. In M. Rudrapal & J. Khan (Eds.), *CADD and Informatics in Drug Discovery* (pp. 1–33). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-1316-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-99-1316-9_1)
- Romano, J. D., & Tatonetti, N. P. (2019). Informatics and Computational Methods in Natural Product Drug Discovery: A Review and Perspectives. *Frontiers in Genetics*, 10. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fgene.2019.00368>
- Safran, M., Rosen, N., Twik, M., BarShir, R., Stein, T. I., Dahary, D., Fishilevich, S., & Lancet, D. (2021). The GeneCards Suite. In I. Abugessaisa & T. Kasukawa (Eds.), *Practical Guide to Life Science Databases* (pp. 27–56). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-5812-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-981-16-5812-9_2)
- Szklarczyk, D., Gable, A. L., Nastou, K. C., Lyon, D., Kirsch, R., Pyysalo, S., Doncheva, N. T., Legeay, M., Fang, T., Bork, P., Jensen, L. J., & von Mering, C. (2021). The STRING database in 2021: Customizable protein–protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D605–D612. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>
- Szklarczyk, D., Morris, J., Cook, H., Kuhn, M., Wyder, S., Simonovic, M., Santos, A., Doncheva, N., Roth, A., Bork, P., Jensen, L., & von Mering, C. (2016). The STRING database in 2017: Quality-controlled protein-protein association networks, made broadly accessible. *Nucleic Acids Research*, 45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw937>
- Szklarczyk, D., Santos, A., von Mering, C., Jensen, L. J., Bork, P., & Kuhn, M. (2016). STITCH 5: Augmenting protein–chemical interaction networks with tissue and affinity data. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D380–D384. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1277>
- Thomford, N. E., Senthebane, D. A., Rowe, A., Munro, D., Seele, P., Maroyi, A., & Dzobo, K. (2018). Natural Products for Drug Discovery in the 21st Century: Innovations for Novel Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/ijms19061578>
- Wagenaar, B. H., Stergachis, A., Rao, D., Hoek, R., Cumbe, V., Napúa, M., & Sherr, K. (2015). The availability of essential medicines for mental healthcare in Sofala, Mozambique. *Global Health Action*, 8, 27942. <https://doi.org/10.3402/gha.v8.27942>
- Wang, L., Guo, T., Guo, Y., & Xu, Y. (2020). Asiaticoside produces an antidepressant-like effect in a chronic unpredictable mild stress model of depression in mice, involving reversion of inflammation and the PKA/pCREB/BDNF signaling pathway. *Molecular Medicine Reports*, 22(3), 2364–2372. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.113052022>. *Mental disorders*. World Health Organization.

- <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
- Wooller, S. K., Benstead-Hume, G., Chen, X., Ali, Y., & Pearl, F. M. G. (2017). Bioinformatics in translational drug discovery. *Bioscience Reports*, 37(4), BSR20160180. <https://doi.org/10.1042/BSR20160180>
- Wu, N., Sun, X., Zhou, C., Yan, J., & Cheng, C. (2023). Neuroblasts migration under control of reactive astrocyte-derived BDNF: A promising therapy in late neurogenesis traumatic brain injury. *Stem Cell Research & Therapy*, 14(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03232-0>
- Yang, Y., Long, X., Li, K., Li, G., Yu, X., Wen, P., Luo, J., Tian, X., & Zhao, J. (2021). Development and validation of an oxidative stress—Associated prognostic risk model for melanoma. *PeerJ*, 9, e11258. <https://doi.org/10.7717/peerj.11258>