

Eksplorasi Mekanisme Antioksidan *Centella asiatica* (L.) Urb. melalui *Molecular Docking* terhadap NADPH:FMN Oxidoreductase

Novyananda Salmasfattah¹, M.Imron², Yuneka Saristiana³, Fendy Prasetyawan⁴, Mohammad Firdaus Alshol⁵, Putri Syilviana⁶, Junior⁷

^{1,2,3,4}Progam Studi Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

^{5,6,7}Progam Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri

salmasfattah@gmail.com

Abstrak

Centella asiatica (L.) Urb. merupakan tanaman obat yang diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif dengan potensi aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi mekanisme antioksidan senyawa aktif dalam *Centella asiatica* (L.) Urb. melalui pendekatan molecular docking terhadap protein NADPH:FMN oxidoreductase. Senyawa bioaktif utama dari *Centella asiatica* (L.) Urb. diperoleh melalui studi literatur dan basis data fitokimia, kemudian dianalisis secara in silico menggunakan metode molecular docking untuk mengevaluasi afinitas ikatan dan pola interaksi molekuler terhadap target protein NADPH:FMN oxidoreductase. Hasil analisis menunjukkan bahwa kurkumin (-137.849), asam asitik (-56.3352), dan asam madecassik (-30.1314). Penelitian ini memberikan gambaran awal mengenai potensi farmakologis *Centella asiatica* (L.) Urb. sebagai sumber antioksidan alami berbasis pendekatan komputasi modern. Selain itu, hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan kandidat fitofarmaka dan penelitian lanjutan terkait mekanisme antioksidan berbasis target protein.

Kata Kunci:

Centella asiatica (L.) Urb., antioksidan, NADPH:FMN oxidoreductase

Abstract

Centella asiatica (L.) Urb. is a medicinal plant known to contain a wide range of bioactive compounds with potential antioxidant properties. This study aimed to investigate the antioxidant mechanisms of the major active constituents of *Centella asiatica* (L.) Urb. through a molecular docking approach targeting the NADPH:FMN oxidoreductase protein. The principal bioactive compounds of *Centella asiatica* (L.) Urb. were identified through an extensive literature review and phytochemical databases, followed by in silico analysis using molecular docking to evaluate their binding affinities and molecular interaction profiles with the target protein. The docking results revealed that curcumin exhibited the strongest binding affinity (-137.849), followed by asiatic acid (-56.3352) and madecassic acid (-30.1314). These findings provide preliminary insights into the pharmacological potential of *Centella asiatica* (L.) Urb. as a natural source of antioxidants from a modern computational perspective. Furthermore, this study offers a scientific basis for the development of phytopharmaceutical candidates and future investigations into target-based antioxidant mechanisms.

Keywords: *Centella asiatica* (L.) Urb., antioxidants, NADPH:FMN oxidoreductase

1. Pendahuluan

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas sistem antioksidan dalam tubuh yang berkontribusi terhadap berbagai penyakit degeneratif,

seperti diabetes melitus, kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan neurodegeneratif (Fu et al., 2026; Hu et al., 2026; Yang et al., 2026). Peningkatan jumlah reactive oxygen species (ROS) dapat menyebabkan kerusakan lipid, protein, dan DNA seluler sehingga memicu

gangguan fungsi biologis (Heredia-Molina et al., 2026; Zandona et al., 2025). Salah satu sistem pertahanan utama tubuh terhadap stres oksidatif adalah enzim antioksidan endogen, terutama NADPH:FMN oxidoreductase, yang berperan dalam menggunakan NADPH untuk mereduksi FMN, yang kemudian mentransfer elektron untuk menetralkan stres oksidatif (ROS) (Li et al., 2019, 2020). Oleh karena itu, eksplorasi senyawa alami yang mampu berinteraksi dan mendukung aktivitas NADPH:FMN oxidoreductase menjadi penting dalam pengembangan agen antioksidan berbasis bahan alam.

Centella asiatica (L.) Urb. merupakan tanaman herbal yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional dan diketahui memiliki berbagai aktivitas farmakologis, seperti antiinflamasi, neuroprotektif, penyembuhan luka, dan antioksidan (Handayani et al., 2025; Maruthiyodan et al., 2026; Noppradit et al., 2026; Pattanaik et al., 2026; Sen et al., 2026). Aktivitas tersebut dikaitkan dengan kandungan metabolit sekundernya, terutama golongan triterpenoid, flavonoid, dan senyawa fenolik, seperti asiaticoside, madecassoside, asiatic acid, dan madecassic acid (Huang et al., 2022; Lu et al., 2019; PAN et al., 2007; Yuan et al., 2015). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *Centella asiatica* (L.) Urb. memiliki kemampuan menangkal radikal bebas serta menurunkan tingkat stres oksidatif (Kim et al., 2026). Namun, sebagian besar penelitian masih berfokus pada pengujian aktivitas antioksidan secara umum dan belum menjelaskan secara spesifik mekanisme molekuler interaksi senyawa aktifnya terhadap target protein antioksidan endogen, khususnya NADPH:FMN oxidoreductase.

Selain itu, penelitian terdahulu umumnya hanya mengevaluasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai inhibisi radikal bebas tanpa menghubungkan afinitas molekuler senyawa aktif terhadap protein target. Pendekatan tersebut menyebabkan keterbatasan dalam memahami mekanisme aksi antioksidan secara lebih mendalam. Hingga saat ini, kajian berbasis molecular docking yang mengevaluasi interaksi senyawa bioaktif *Centella asiatica* (L.) Urb. terhadap protein NADPH:FMN oxidoreductase masih relatif terbatas, terutama dalam konteks identifikasi potensi modulasi aktivitas antioksidan endogen. Kondisi ini menunjukkan adanya research gap terkait hubungan antara aktivitas

antioksidan tanaman herbal dengan mekanisme interaksi molekuler terhadap protein antioksidan utama.

Penggunaan pendekatan *molecular docking* menjadi strategi yang relevan dalam penelitian modern karena mampu memprediksi afinitas ikatan, stabilitas kompleks ligan-protein, serta residu asam amino yang berperan dalam interaksi biologis (Agu et al., 2023; Ferreira et al., 2015; Meng et al., 2011). Pendekatan ini juga dinilai lebih efisien untuk skrining awal kandidat senyawa aktif dibandingkan metode eksperimental konvensional. Dengan demikian, eksplorasi interaksi senyawa aktif *Centella asiatica* (L.) Urb. terhadap protein NADPH:FMN oxidoreductase melalui molecular docking memiliki urgensi ilmiah dalam mendukung pengembangan kandidat antioksidan alami yang lebih selektif dan berbasis mekanisme molekuler.

Novelty penelitian ini terletak pada pendekatan integratif yang mengevaluasi mekanisme antioksidan *Centella asiatica* (L.) Urb. melalui interaksi langsung senyawa bioaktif terhadap protein NADPH:FMN oxidoreductase menggunakan molecular docking. Penelitian ini tidak hanya menilai potensi antioksidan berdasarkan kandungan senyawa aktif, tetapi juga mengkaji pola interaksi molekuler, binding affinity, dan residu asam amino yang berperan dalam pembentukan kompleks ligan-protein. Pendekatan tersebut diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah yang lebih komprehensif mengenai mekanisme aksi antioksidan *Centella asiatica* (L.) Urb. serta menjadi dasar pengembangan fitofarmaka berbasis komputasi modern.

2. METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi struktur tiga dimensi protein target NADPH:FMN oxidoreductase (PDB ID 1BKJ) yang diperoleh dari basis data [Protein Data Bank \(PDB\)](#) serta senyawa bioaktif utama dari *Centella asiatica* (L.) Urb., seperti asam asiatik dan asam madekasik serta kurkumin sebagai senyawa pembanding yang diperoleh dari basis data [MPDB 2.0](#) dan [PubChem](#) (*Asiatic Acid* | C30H48O5 | CID 119034 - PubChem, n.d.; *Curcumin* | C21H20O6 | CID 969516 - PubChem, n.d.; *Madecassic Acid* | C30H48O6 | CID 73412 - PubChem, n.d.; Rafamantanana et al., 2009).

Perangkat Lunak

Analisis molecular docking pada penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak Molegro Virtual Docker (MVD) versi 6.0 (CLC Bio, Qiagen, Denmark). Perangkat lunak ini dipilih karena memiliki kemampuan prediksi interaksi ligan–reseptor yang baik melalui algoritma *MolDock Optimizer*, yang mengintegrasikan pendekatan *guided differential evolution* untuk menghasilkan konformasi ikatan dengan stabilitas energi optimum. Selain itu, MVD mampu melakukan identifikasi *binding site*, evaluasi energi ikatan, serta visualisasi interaksi residu asam amino secara komprehensif (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019).

Perangkat Keras

Penelitian dilakukan menggunakan komputer/laptop dengan sistem operasi Windows 10 pro 64-bit, processor Intel(R) Core(TM) i5-5200U CPU @ 2.20GHz 2.19 GHz, installed RAM 4.00 GB (3.43 GB usable), storage 466 GB HDD WDC WD5000LPVX-22V0TT0, 112 GB SSD SSD 120GB, graphics card NVIDIA GeForce 930M (2 GB), Intel(R) HD Graphics 5500 (512 MB) untuk mendukung proses simulasi molecular docking.

Preparasi Protein

Struktur protein NADPH:FMN oxidoreductase diperoleh dari basis data *Protein Data Bank* (PDB) dalam format *.pdb* (Tanner et al., 1996). Protein dipilih berdasarkan resolusi terbaik yaitu 1.80 Å dan keberadaan native ligand (flavin mononucleotide/FMN) pada sisi aktif protein. Preparasi protein dilakukan menggunakan MVD dengan tahapan meliputi penghilangan molekul air (*water molecules*), penghapusan ligan asli dan ion yang tidak diperlukan, penambahan atom hidrogen polar, serta penentuan muatan parsial Kollman. Struktur protein yang telah dipreparasi kemudian disimpan dalam format *.pdbqt* untuk proses *docking* (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019).

Preparasi Ligan

Konformasi ligan dioptimalkan menggunakan medan gaya (*force field*) internal dengan pendekatan minimisasi energi berbasis algoritma gradien hingga mencapai kondisi energi minimum yang stabil. Selanjutnya, rotasi ikatan tunggal pada ligan diatur dalam

kondisi fleksibel (*flexible ligand*) untuk memungkinkan eksplorasi berbagai orientasi konformasi selama simulasi docking berlangsung. Hasil preparasi akhir disimpan dalam format kompatibel MVD dan digunakan sebagai input pada tahap validasi metode serta molecular docking terhadap protein target (Mavra et al., 2022; Mirzaei et al., 2015).

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan menggunakan teknik *redocking native ligand* terhadap protein target NADPH:FMN oxidoreductase. Parameter *docking* dinyatakan valid apabila nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara posisi *native ligand* hasil kristalografi dan hasil *redocking* kurang dari 2,0 Å (Gohlke et al., 2000; Iqbal et al., 2023; Ramírez & Caballero, 2018). Grid box ditentukan berdasarkan koordinat sisi aktif protein yang mengandung *native ligand* (Noumi et al., 2025). Hasil validasi digunakan untuk memastikan bahwa parameter *docking* mampu mereproduksi posisi ikatan ligan secara akurat (Hevener et al., 2009).

Molecular Docking

Simulasi *molecular docking* dilakukan menggunakan MVD dengan protein target NADPH:FMN oxidoreductase dan seluruh ligan aktif dari *Centella asiatica* (L.) Urb.. Proses *docking* dilakukan dengan menentukan ukuran *grid box* yang mencakup sisi aktif protein. Parameter *exhaustiveness* diatur sesuai standar *docking* untuk memperoleh konformasi ligan terbaik. Hasil *docking* dievaluasi berdasarkan nilai *rerank score*, di mana semakin negatif nilai energi ikatan menunjukkan interaksi yang semakin stabil antara ligan dan protein target (Alsedfy et al., 2024).

Analisis Interaksi Protein-Ligan

Hasil molecular docking dianalisis menggunakan *Discovery Studio Visualizer* untuk mengidentifikasi jenis interaksi yang terbentuk antara ligan dan residu asam amino protein target NADPH:FMN oxidoreductase. Analisis meliputi identifikasi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, van der Waals, dan interaksi elektrostatik (Iqbal et al., 2023). Kompleks protein-ligan dengan nilai *rerank score* terbaik dipilih untuk dianalisis lebih lanjut sebagai kandidat senyawa antioksidan potensial.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

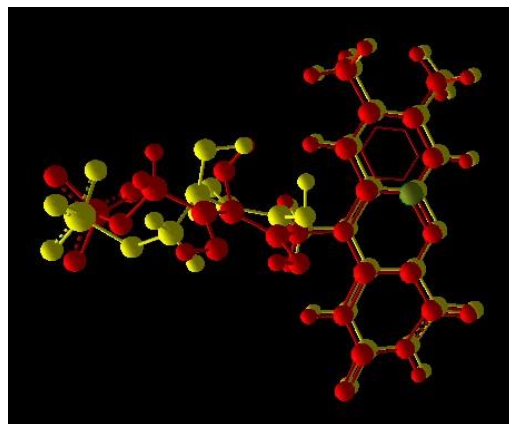
Parameter *docking*, algoritma yang diterapkan, serta validasi hasil *redocking* merupakan komponen penting untuk memastikan reliabilitas suatu studi *molecular docking*. Dalam penelitian ini, *docking* senyawa *Centella asiatica* (L.) Urb. dan Kurkumin terhadap reseptor NADPH:FMN oxidoreductase (PDB ID: 1BKJ) dilakukan menggunakan Molegro Virtual Docker 6.0. Kotak grid diatur pada center $x = -1.39$, center $y = 9.07$, dan center $z = 15.50$ dengan *scoring function grid resolution*, dan radius berturut-turut MolDock Score (GRID), yaitu: $0.30 \text{ \AA}$ dan 21 . Ukuran grid ini dipilih untuk mencakup seluruh kantong pengikatan, sehingga ligan dapat mengeksplorasi berbagai orientasi dan konformasi di sekitar sisi aktif. Nilai *run* sebesar 10 dipilih untuk menjaga keseimbangan antara ketelitian pencarian dan efisiensi komputasi. Parameter ini menentukan seberapa menyeluruh algoritma mengambil sampel ruang konformasi, di mana nilai *run* yang lebih tinggi meningkatkan kemungkinan ditemukannya pose optimal. Molegro Virtual Docker (MVD) menggunakan algoritma *MolDock Optimizer* yang berbasis pada pendekatan *guided differential evolution*. Algoritma ini dirancang untuk mengeksplorasi ruang konformasi dan orientasi ligan secara efisien di dalam *cavity* atau kantong pengikatan protein target. Berbeda dengan metode pencarian acak sepenuhnya, *guided differential evolution* mengintegrasikan operator evolusioner dengan informasi *cavity*, sehingga pose ligan dapat diarahkan menuju area sisi aktif yang secara energetik lebih menguntungkan. Melalui tahapan iteratif yang meliputi pembentukan populasi, mutasi, *crossover*, dan seleksi, algoritma ini mengidentifikasi konformasi ligan yang memiliki kesesuaian spasial dan interaksi molekuler optimal dengan kantong pengikatan reseptor. Proses *docking* pada MVD juga didukung oleh algoritma prediksi *cavity*, yang berfungsi untuk mengidentifikasi kemungkinan kantong pengikatan pada permukaan protein. Pendekatan berbasis *cavity* ini memungkinkan ruang pencarian dibatasi pada area yang relevan secara biologis, sehingga meningkatkan efisiensi komputasi sekaligus memperbesar peluang diperolehnya pose ikatan ligan–reseptor yang bermakna. Pose-pose ligan yang dihasilkan selanjutnya dievaluasi menggunakan fungsi penilaian *MolDock Score*, yang dikembangkan dari *modified Piecewise Linear Potential* (PLP). Fungsi skor ini mengestimasi afinitas ikatan dengan

mempertimbangkan kesesuaian sterik, ikatan hidrogen, serta interaksi elektrostatik antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif protein. Selain itu, MVD menyediakan fungsi *rerank score* untuk menyempurnakan evaluasi pose *docking* setelah proses *docking* awal selesai dilakukan. *Rerank score* menerapkan penilaian energi yang lebih terperinci, sehingga mampu membedakan pose-pose ligan yang memiliki nilai MolDock Score relatif berdekatan. Dengan demikian, kombinasi antara *guided differential evolution*, panduan pencarian berbasis *cavity*, MolDock Score, dan *rerank score* memungkinkan MVD menghasilkan prediksi konformasi ikatan ligan yang reliabel serta mengurutkan senyawa uji berdasarkan stabilitas interaksi yang diprediksi terhadap reseptor target (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019).

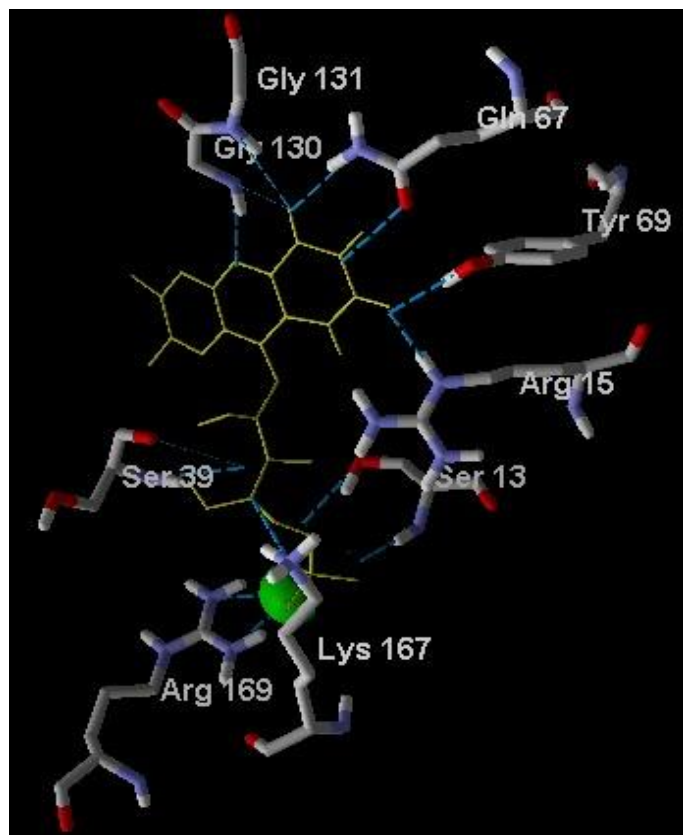
Reliabilitas hasil *docking* dievaluasi melalui *redocking*, yaitu ligan asli dari struktur kristal dihilangkan dan kemudian didocking kembali ke dalam kantong pengikatan. Pose hasil prediksi kemudian dibandingkan dengan pose kristalografi aslinya menggunakan *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Hasil *redocking* menghasilkan nilai RMSD sebesar $1.8 \text{ \AA}$ dengan , jauh di bawah ambang batas validasi yang diterima secara luas, yaitu $2,0 \text{ \AA}$ [22]. Nilai RMSD yang sangat rendah ini menegaskan bahwa protokol *docking* mampu mereproduksi orientasi ligan asli secara akurat, sehingga memvalidasi keseluruhan metodologi dan mendukung kredibilitas hasil *docking* terhadap ligan uji . Oleh karena itu, perbedaan afinitas ikatan dan pola interaksi yang diamati di antara senyawa uji kemungkinan kecil merupakan artefak komputasi, melainkan lebih merepresentasikan kecenderungan interaksi molekuler yang sebenarnya.

Protein NADPH:FMN oxidoreductase (1BKJ) dipilih sebagai reseptor target karena perannya yang penting dalam mengatalisis transfer elektron dari NADPH ke kofaktor FMN, yang merupakan tahap krusial dalam berbagai jalur metabolik. Enzim ini berperan sentral dalam menjaga keseimbangan redoks seluler, dan modulasi aktivitasnya dapat memengaruhi aliran elektron serta pembentukan ROS secara signifikan. Pengikatan ligan pada daerah aktif atau daerah pengikatan kofaktor dapat mengganggu transfer elektron atau menstabilkan keadaan enzim yang kurang aktif secara redoks, sehingga

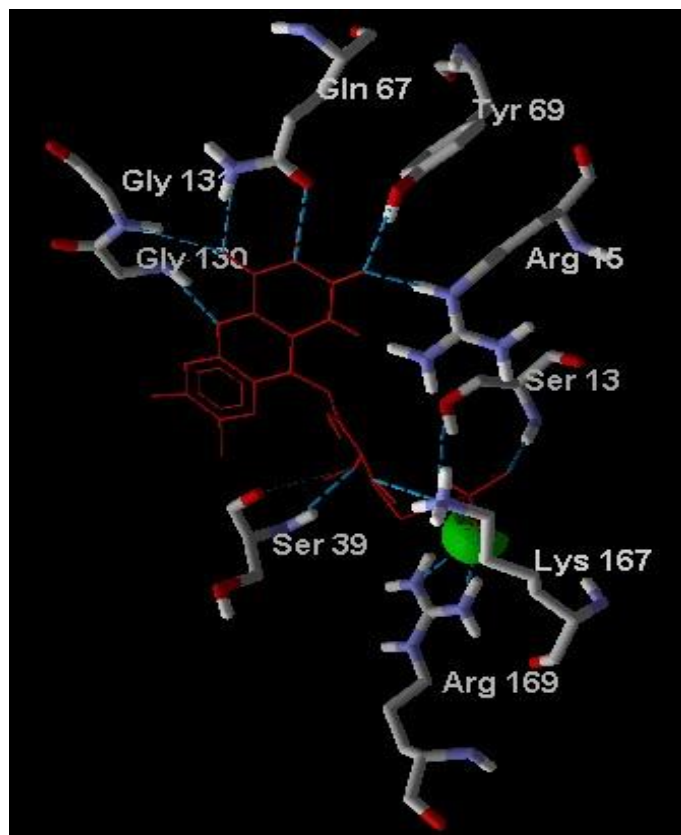
pada akhirnya dapat menurunkan produksi ROS [22], [24].



(a)



(b)



(c)

Gambar 01. Superimposisi ligan asli sebelum *docking* (merah) dan setelah *redocking* (kuning) (a), profil interaksi dua dimensi (2D) sebelum *docking* (b), serta setelah *redocking* (c).

Hasil *docking* pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kurkumin memiliki nilai *rerank score* lebih rendah

dibandingkan asam asiatic dan asam madecassic, sehingga diprediksi memiliki interaksi yang lebih kuat dengan

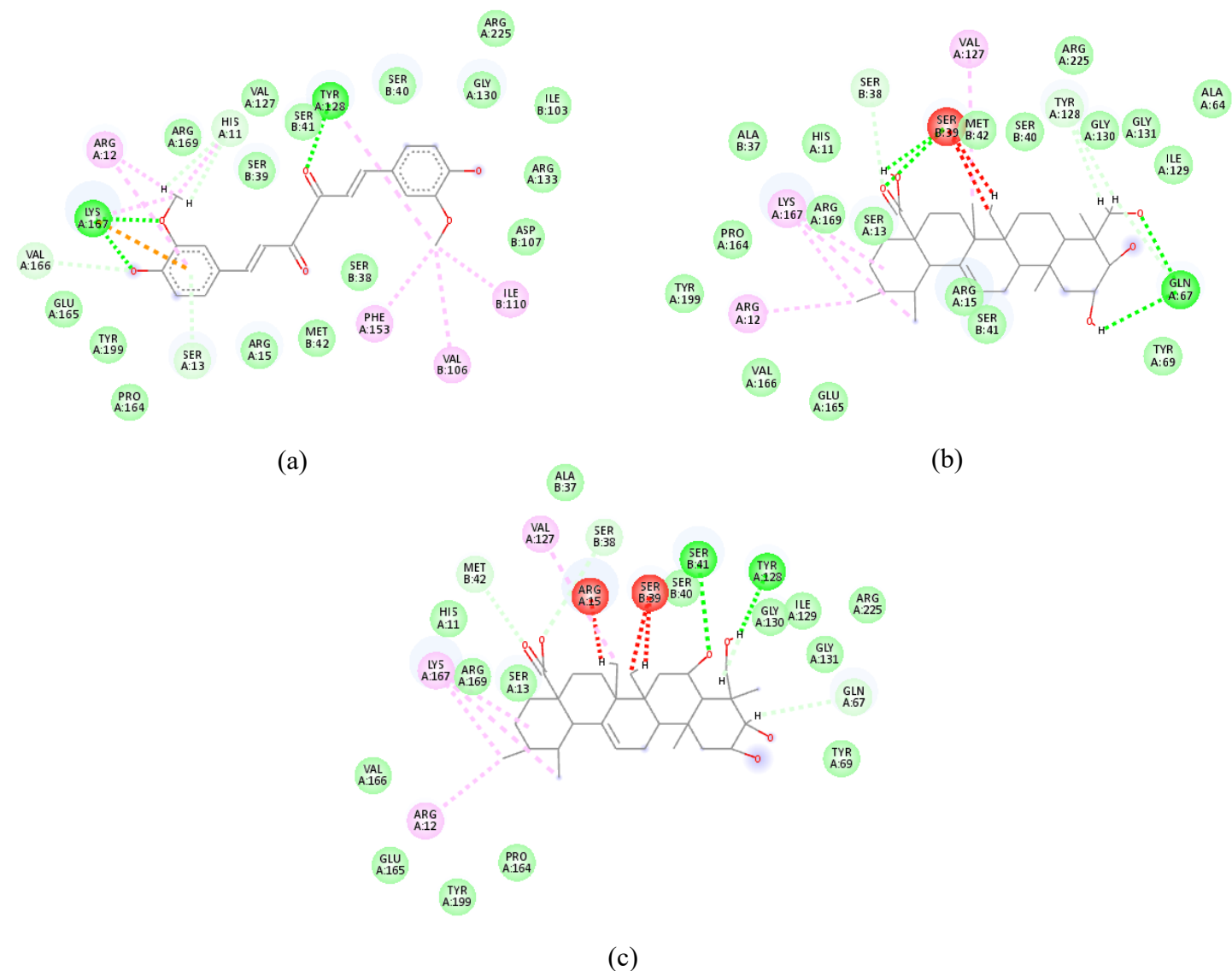
reseptor. Namun, nilai tersebut perlu ditafsirkan secara hati-hati karena docking hanya memberikan skor prediktif relatif, bukan energi ikatan absolut atau bukti langsung aktivitas inhibisi enzim.

Tabel 01. Nilai rerank score masing-masing ligand

Ligand	Rerank score	Los S (ESOL)
Asam madekasik	-30.1314	-5.58
Asam asiatik	-56.3352	-6.33
Kurkumin	-137.849	-3.94

Kurkumin (-137.849 kcal/mol) menunjukkan kestabilan kompleks ligan–reseptor yang lebih baik dibandingkan asam asiatik (-56.3352 kcal/mol) dan asam madekasik (-30.1314 kcal/mol). Afinitas asam asiatik dan

asam madekasik yang lebih lemah kemungkinan disebabkan oleh sifatnya yang sangat polar, sehingga kurang optimal dalam menempati kantong aktif enzim. Sifat kepolaran tersebut dapat dilihat dari nilai Log S ESOL, yaitu: asam asitik (-6.33), asam madekasik (-5.58), dan kurkumin (-3.94) (lihat tabel 01) (Daina et al., 2017; Kuang et al., 2023). Nilai Log S (ESOL) digunakan untuk memperkirakan kelarutan suatu senyawa dalam air. Senyawa dengan nilai Log S < -10 dikategorikan sebagai tidak larut (insoluble), nilai Log S antara -10 hingga -6 sebagai sukar larut (*poorly soluble*), nilai Log S antara -6 hingga -4 sebagai memiliki kelarutan sedang (*moderately soluble*), dan nilai Log S antara -4 hingga -2 sebagai larut (*soluble*). Semakin tinggi nilai Log S (semakin mendekati nol), semakin tinggi pula tingkat kelarutan senyawa tersebut dalam air (Daina et al., 2017).



Gambar 02. Visualisasi 2D interaksi *molekular docking* menggunakan Discovery Studio (a. kurkumin; b. asam asiatik, dan c. asam madekasik)

Dalam perspektif kimia medisinal perbedaan struktur cincin seperti benzena, sikloheksana, dan sikloheksena dapat memengaruhi pola interaksi ligan terhadap reseptor. Cincin benzena memiliki sistem aromatik dengan elektron π terdelokalisasi, sehingga berpotensi membentuk interaksi π - π stacking, π -alkil, atau π -kation dengan residu asam amino pada kantong ikatan protein, pada kurkumin ineteraksi π -kation hadir pada LYS A:167. Interaksi tersebut sering berkontribusi terhadap peningkatan stabilitas kompleks ligan-reseptor dan dapat menghasilkan nilai afinitas ikatan yang lebih rendah atau lebih menguntungkan (Kumar et al., 2018). Sebaliknya, sikloheksana yang bersifat jenuh dan non-aromatik umumnya lebih dominan membentuk interaksi hidrofobik (asam asitik dan madekasik), sehingga kontribusinya terhadap afinitas sangat bergantung pada kecocokan bentuk molekul dengan lingkungan nonpolar di sisi aktif protein. Sikloheksena menempati posisi antara sikloheksana dan benzena karena memiliki satu ikatan rangkap, tetapi belum memenuhi kriteria aromatisitas (asam asitik dan madekasik). Kehadiran ikatan rangkap dapat meningkatkan kekakuan struktur dan sedikit memengaruhi distribusi elektron, namun kemampuan interaksi elektroniknya tidak sekuat cincin aromatik benzena (lihat gambar 02). Dari aspek kepolaran, cincin hidrokarbon seperti benzena, sikloheksana, dan sikloheksena pada dasarnya bersifat relatif nonpolar, sehingga tidak secara langsung membentuk ikatan hidrogen kecuali terdapat gugus polar tambahan seperti hidroksil, karbonil, atau amina. Oleh karena itu, dalam interpretasi docking, afinitas ikatan tidak hanya ditentukan oleh keberadaan cincin, tetapi juga oleh kombinasi aromatisitas, kepolaran, ukuran molekul, fleksibilitas konformasi, serta kecocokan spasial ligan di dalam kantong ikatan reseptor.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini mengungkapkan bahwa senyawa dari *Centella asiatica* (L.) Urb, terutama asam asitik (-56.3352), menunjukkan kemampuan berikatan yang lebih baik dengan protein NADPH oxidoreductase dibandingkan asam madekasik (-30.1314), namun tidak lebih baik dari kurkumin (-137.849) sebagai kontrol

pembanding. Hasil analisis secara *in silico* mengindikasikan bahwa asam asitik berpotensi memengaruhi aktivitas enzim melalui interaksinya pada wilayah yang berkaitan dengan mekanisme redoks. Namun demikian, temuan ini masih memerlukan pembuktian lebih lanjut melalui pendekatan simulasi dinamika molekuler serta pengujian eksperimental. Dengan demikian, asam asitik dapat dipertimbangkan sebagai kandidat yang potensial untuk dikembangkan dan diteliti lebih lanjut sebagai senyawa bioaktif berbasis bukti komputasional awal.

5. REFERENSI

- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezech, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I., & Aja, P. M. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 13398-. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
- Alsedfy, M. Y., Ebnalwaled, A. A., Moustafa, M., & Said, A. H. (2024). Investigating the binding affinity, molecular dynamics, and ADMET properties of curcumin-IONPs as a mucoadhesive bioavailable oral treatment for iron deficiency anemia. *Scientific Reports*, 14(1), 22027. <https://doi.org/10.1038/S41598-024-72577-8>
- Asiatic Acid* | C30H48O5 | CID 119034 - PubChem. (n.d.). Retrieved 13 May 2026, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Asiatic-Acid>
- Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2053, 149–167. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_10
- Curcumin* | C21H20O6 | CID 969516 - PubChem. (n.d.). Retrieved 13 May 2026, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Curcumin>

- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 42717-. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20(7), 13384. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES200713384>
- Fu, C., Lan, S., Lin, Y., Chen, D., Yang, Z., Chen, C., Chen, Y., Yuan, Y., Zhong, W., Lin, Q., & Huang, Z. (2026). lncRNA MALAT1-mediated regulation of cholesterol-oxidative stress-iron metabolic dysregulation by paeoniflorin in osteoarthritic chondrocytes. *Pharmaceutical Biology*, 64(1), 278–294. <https://doi.org/10.1080/13880209.2026.2620862>
- Gohlke, H., Hendlich, M., & Klebe, G. (2000). Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions. *Journal of Molecular Biology*, 295(2), 337–356. <https://doi.org/10.1006/JMBI.1999.3371>
- Handayani, R., Febriyanti, R. M., Muhaimin, M., & Chearunisaa, A. Y. (2025). Centella asiatica (L.) Urb. in skin health and cosmeceuticals: mechanisms, clinical evidence, and advanced delivery systems. *Pharmacia*, 72. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.72.e167217>
- Heredia-Molina, R. F., Riestra-Ayora, J. I., Vasallo, I. J. T., Sanz-Fernández, R., & Sánchez-Rodríguez, C. (2026). Sirtuins mediate the reduction of age-related oxidative damage in the cochlea under a cocoa-rich diet. *GeroScience*, 48(2), 2987–3006. <https://doi.org/10.1007/s11357-025-01847-8>
- Hevener, K. E., Zhao, W., Ball, D. M., Babaoglu, K., Qi, J., White, S. W., & Lee, R. E. (2009). Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropterolate Synthase. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(2), 444. <https://doi.org/10.1021/CI800293N>
- Hu, J., Luo, P., Zhang, W., Chen, T., Yang, X., Chen, Z., Huang, S., Zhang, X., Kuang, Z., & Zhang, B. (2026). Phycocyanin-functionalized selenium nanoparticles attenuate osteoarthritis through ferroptosis suppression and modulation of the MAPK pathway. *Materials Today. Bio*, 38, 103113. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2026.103113>
- Huang, C. F., Hung, T. W., Yang, S. F., Tsai, Y. L., Yang, J. Te, Lin, C. L., & Hsieh, Y. H. (2022). Asiatic acid from centella asiatica exert anti-invasive ability in human renal cancer cells by modulation of ERK/p38MAPK-mediated MMP15 expression. *Phytomedicine*, 100. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154036>
- Iqbal, D., Alsaweed, M., Jamal, Q. M. S., Asad, M. R., Rizvi, S. M. D., Rizvi, M. R., Albadrani, H. M., Hamed, M., Jahan, S., & Alyenbaawi, H. (2023). Pharmacophore-Based Screening, Molecular Docking, and Dynamic Simulation of Fungal Metabolites as Inhibitors of Multi-Targets in Neurodegenerative Disorders. *Biomolecules*, 13(11), 1613. <https://doi.org/10.3390/BIOM13111613/S1>
- Kim, Y.-J., Kang, Y.-M., Pak, M. E., Eom, H. J., Kim, K. Y., Hur, N., Seo, Y., Oh, T. K., Bae, J., Lee, J. K., & Kim, K. (2026). Centella asiatica ameliorates scopolamine-induced cognitive impairment via acetylcholinesterase modulation and oxidative stress reduction. *Food Science and Biotechnology*, 35(6), 1611–1623. <https://doi.org/10.1007/s10068-026-02132-w>
- Kuang, Y., Shen, W., Ma, X., Wang, Z., Xu, R., Rao, Q., & Yang, S. (2023). In silico identification of natural compounds against SARS-CoV-2 main protease from Chinese herbal medicines. *Future Science OA*, 9(7), FSO873. <https://doi.org/10.2144/FSOA-2023-0055>
- Kumar, K., Woo, S. M., Siu, T., Cortopassi, W. A., Duarte, F., & Paton, R. S. (2018). Cation– π interactions in protein–ligand binding: theory and data-mining reveal different roles for lysine and arginine. *Chemical Science*, 9(10), 2655. <https://doi.org/10.1039/C7SC04905F>

- Li, F. L., Su, W. Bin, Tao, Q. L., Zhang, L. Y., & Zhang, Y. W. (2020). Expression, biochemical characterization, and mutation of a water forming NADH: FMN oxidoreductase from *Lactobacillus rhamnosus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 134, 109464.
<https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2019.109464>
- Li, F. L., Zhou, Q., Wei, W., Gao, J., & Zhang, Y. W. (2019). Switching the substrate specificity from NADH to NADPH by a single mutation of NADH oxidase from *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135, 328–336.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.05.146>
- Lu, C. W., Lin, T. Y., Wang, S. J., & Huang, S. K. (2019). Asiatic acid, an active substance of *Centella asiatica*, presynaptically depresses glutamate release in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology*, 865.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172781>
- Madecassic Acid* | C30H48O6 | CID 73412 - PubChem. (n.d.). Retrieved 13 May 2026, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Madecassic-Acid>
- Maruthiyodan, S., Munegowda, G., Thomas, M., Gangadharan, G., Joshi, M. B., Mumbekar, K. D., Goyal, A., Mahadevan, A., Erayur Mana, A., Thrikovil Sankaran, M., Marthanda Varma Sankaran, V., & Kanive Parashiva, G. (2026). Multiomics analysis reveals early administration of the Medhya rasayana formulation of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and *Centella asiatica* (L.) Urb. prevents neuroinflammation and cognitive deficits in an A β O-injected AD mouse model. *Journal of Ethnopharmacology*, 355.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2025.120633>
- Mavra, A., Petrou, C. C., & Vlasίου, M. C. (2022). Ligand and Structure-Based Virtual Screening in Combination, to Evaluate Small Organic Molecules as Inhibitors for the XIAP Anti-Apoptotic Protein: The Xanthohumol Hypothesis. *Molecules*, 27(15), 4825.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES27154825>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146.
<https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Mirzaei, H., Zarbafian, S., Villar, E., Mottarella, S., Beglov, D., Vajda, S., Paschalidis, I. C., Vakili, P., & Kozakov, D. (2015). Energy minimization on manifolds for docking flexible molecules. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(3), 1063.
<https://doi.org/10.1021/CT500155T>
- Noppradit, B., Suklim, P., Nanarong, S., Leeratiwong, C., Laphookhieo, S., & Puttarak, P. (2026). Exploring the immunomodulatory, anti-inflammatory, and cell proliferative potential of *Hydrocotyle umbellata* L. Leaf extracts: A comparative study with *Centella asiatica* (L.) Urb. *Phytomedicine Plus*.
<https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2026.100969>
- Noumi, E., Snoussi, M., Bouali, N., Alshammari, M. M., Altayb, H. N., Afzal, M., & De Feo, V. (2025). Structure-based virtual screening, molecular docking, and MD simulation studies: An in-silico approach for identifying potential MBL inhibitors. *PLOS One*, 20(7), e0324836.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0324836>
- PAN, J., KAI, G., YUAN, C., ZHOU, B., JIN, R., & YUAN, Y. (2007). Separation and Determination of Madecassic Acid in Extracts of *Centella asiatica* Using High Performance Liquid Chromatography with β -Cyclodextrin as Mobile Phase Additive. *Chinese Journal of Chromatography*, 25(3), 316–318.
[https://doi.org/10.1016/S1872-2059\(07\)60009-1](https://doi.org/10.1016/S1872-2059(07)60009-1)
- Pattanaik, S. K., Mohanty, D., Ray, A., Jena, S., Pattanaik, S., & Rath, D. (2026). Phytotherapy for ageing-related multimorbidity: Systems-level insights into *Centella asiatica* in diabetes and Alzheimer's Disease. *Phytomedicine*, 155.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2026.158026>
- Rafamantanana, M. H., Rozet, E., Raoelison, G. E., Cheuk, K., Ratsimamanga, S. U., Hubert, P., &

- Quetin-Leclercq, J. (2009). An improved HPLC-UV method for the simultaneous quantification of triterpenic glycosides and aglycones in leaves of *Centella asiatica* (L.) Urb (APIACEAE). *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 877(23), 2396–2402. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.03.018>
- Ramírez, D., & Caballero, J. (2018). Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 1038, 23(5), 1038. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23051038>
- Sen, S., Sen, S., & Karati, D. (2026). *Centella asiatica*: An ethnobotanical treasure with promising anticancer properties. *Pharmacological Research - Natural Products*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2026.100490>
- Tanner, J. J., Lei, B., Tu, S. C., & Krause, K. L. (1996). Flavin reductase P: structure of a dimeric enzyme that reduces flavin. *Biochemistry*, 35(42), 13531–13539. <https://doi.org/10.1021/BI961400V>
- Yang, W., Hao, C., Wang, N., Xie, J., Zhou, B., Yang, Z., Zheng, A., Wei, J., Li, C., Xie, C., Li, H., Lei, G., & Zeng, C. (2026). Glucagon-like peptide-1: a critical link between gut microbiota dysbiosis and degenerative musculoskeletal diseases. *Gut Microbes*, 18(1), 2661854. <https://doi.org/10.1080/19490976.2026.2661854>
- Yuan, Y., Zhang, H., Sun, F., Sun, S., Zhu, Z., & Chai, Y. (2015). Biopharmaceutical and pharmacokinetic characterization of asiatic acid in *Centella asiatica* as determined by a sensitive and robust HPLC-MS method. *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.006>
- Zandona, A., Szecskó, A., Žunec, S., Jovanović, I. N., Bušić, V., Sokač, D. G., Deli, M. A., Katalinić, M., & Veszélka, S. (2025). Nicotinamide derivatives protect the blood-brain barrier against oxidative stress. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118018>