

การศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตาของ ครีมสารสกัดจากใบบัวบกสำหรับหญิงไทย

EFFECTIVENESS OF CENTELLA ASIATICA EXTRACT CREAM ON WRINKLE REDUCTION AROUND THE EYES FOR THAI FEMALE

Received: March 28, 2019

Revised: June 8, 2019

Accepted: June 10, 2019

มัญชุณิทร วงษารธรรม*

Munchuninthorn Wongsatham*

ปองศิริ คุณงาม**

Pongsiri Koonngam*

* นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต

* Graduate Student, Anti-aging and Regenerative Medicine College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

* Email: 595159110006@dpu.ac.th

** แพทย์หญิงและอาจารย์ประจำภาควิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต

** M.D and Lecturer, Department of Anti-Aging and Regenerative Medicine, College of Integrative medicine, Dhurakij Pundit University

** Email: pongsiri.k@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาประสิทธิผลของการใช้ครีมสารสกัดไบบัวบกในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตาเมื่อเปรียบเทียบกับครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ และ 2) ประเมินผลข้างเคียงของการใช้ครีมสารสกัดไบบัวบกในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตา ทำการศึกษาในอาสาสมัครคนไทย เพศหญิง อายุ 30-45 ปีจำนวน 35 คน โดยรอบดวงตาข้างหนึ่งทาครีมสารสกัดไบบัวบกและรอบดวงตาอีกข้างหนึ่งทาครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ทาวันละ 2 ครั้ง เช้าและก่อนนอนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ผลการศึกษากายหลังทาครีมสารสกัดไบบัวบกเพื่อทดสอบริ้วรอยด้วยเครื่อง Cutometer พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของความยืดหยุ่นของผิวหนังบริเวณใต้ตาและหางตาหลังใช้ต่อเนื่อง 8 สัปดาห์ เทียบเท่ากับกลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ส่วนในการทดสอบความหยาบ ความราบเรียบและความกว้างของรอยย่นของผิวหนังด้วยเครื่อง Visioscan พบว่าความหยาบของผิวหนังบริเวณใต้ตาของกลุ่มครีมสารสกัดไบบัวบกลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ แต่ในบริเวณหางตาไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งสองกลุ่ม ความราบเรียบของผิวหนังบริเวณใต้ตามีการเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาเทียบเท่ากันทั้งสองกลุ่ม แต่ในบริเวณหางตากลุ่มสารสกัดไบบัวบกเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ความกว้างของรอยย่นของผิวหนังบริเวณใต้ตาลดลงในสัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาเทียบเท่ากันทั้งสองกลุ่ม แต่ในบริเวณหางตากลุ่มสารสกัดไบบัวบกลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ส่วนความชุ่มชื้นของผิวทดสอบด้วยเครื่อง Comeometer และเครื่อง Visioscan พบว่ากลุ่มครีมสารสกัดไบบัวบกมีการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยซึ่งน้อยกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ และทั้งสองกลุ่มไม่พบผลข้างเคียงต่อผิวหนัง และมีความพึงพอใจต่อกลุ่มครีมสารสกัดจากไบบัวบกมากกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์

คำสำคัญ: สารสกัดไบบัวบก ริ้วรอยรอบดวงตา ประสิทธิภาพ

Abstract

The researcher has studied 1) the effectiveness with wrinkles around the eyes from the extract of *Centella asiatica* extract cream when compared with the counter brand cream, and 2) evaluate the side effects of using *Centella asiatica* extract on wrinkle reduction around the eyes. This study was conducted in Thai female volunteers, age between 30-45 years from 35 people. One side of the eye applied *Centella asiatica* extract cream and the other side of the eye applied counter brand cream. The volunteers will be treated with cream twice, in the morning and bedtime for 12 weeks. The results of the study after applied the *Centella asiatica* extract cream to test elasticity by Cutometer showed that there was an increase in the elasticity of the skin around the eyes after 8 weeks of continuous use, equivalent to the counter brand cream. The test of the roughness, the smoothness and width of the wrinkles of the skin by Visioscan machine found that the roughness of the skin under the eyes with *Centella asiatica* cream decreased in the 4th week of treatment, which was faster than the counter brand cream. But in the end of the eyes, there was no change in both groups. The smoothness of the skin under the eyes has increased in the 4th week of treatment, equivalent to both groups whereas the skin in the end of the eyes, the *Centella asiatica* extract cream increased in the 4th week, which is faster than the counter brand cream. The width of the wrinkles of the skin under the eyes decreased in the 4th week of treatment, equivalent to both groups. But the skin in the end of the eyes using the *Centella asiatica* extract cream decreased in the 4th week, which is faster than the counter brand cream. The moisture of the skin was tested by Comeometer and Visioscan. It was found that the *Centella asiatica* extract cream had a little increase, which is less than the counter brand cream. Additionally both groups did not experience side effects on the skin. Moreover, the volunteers were satisfied with the *Centella asiatica* extract cream more than the counter brand cream.

Keywords: *Centella asiatica* Extract Cream, Elasticity of The Skin, Effectiveness

บทนำ

รอยเหี่ยวย่นบนใบหน้าเป็นสิ่งที่ทุกคนไม่พึงประสงค์เพราะจะบ่งบอกถึงความชราของผิวหนังที่เกิดขึ้น ซึ่งก่อให้เกิดความวิตกกังวล หมดความมั่นใจในตัวเองในเรื่องความสวยงาม ปัจจุบันผู้คนจึงให้ความสำคัญในการแสวงหาวิธีแก้ไขปัญหาริ้วรอยโดยจะต้องเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและราคาไม่แพง มีความปลอดภัย ไม่มีผลข้างเคียงต่อผิวหนัง

องค์ประกอบที่ทำให้เกิดความเสื่อมสภาพของเซลล์จนทำให้เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น มี 3 ประการ คือ ชั้นใต้ผิวหนังผ่นตัวลงเพราะคอลลาเจน (collagen) สูญสลาย เส้นใยอีลาสติน (elastic fiber) เสื่อมสภาพ และการสูญเสียน้ำ ซึ่งเกิดจากปัจจัยหลักที่สำคัญสองปัจจัยคือ ปัจจัยภายในร่างกาย (Intrinsic Factor) ซึ่งขึ้นอยู่กับกรรมพันธุ์ของแต่ละคน เชื้อชาติ อายุ ฮอร์โมน อารมณ์ ความเครียด และการชราภาพของเซลล์ ปัจจัยภายนอกร่างกาย (Extrinsin Factor) การได้รับแสงแดด มลภาวะ การดื่มสุรา การสูบบุหรี่ เป็นต้น (Fisher et al., 2002)

การสูญเสียคอลลาเจนถือเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น เนื่องจากเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective Tissue) ในชั้นหนังแท้ ดังนั้นเมื่อมีการลดลงของคอลลาเจน ความแข็งแรงและความเต่งตึงของผิวก็จะลดลงด้วย ทำให้เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นตามมา

ในปัจจุบันมีสมุนไพรหลากหลายชนิดที่มีคุณสมบัติช่วยในการลดเลือนริ้วรอย ดังเช่น ใบบัวบก เป็นพืชพื้นบ้านของไทย พบได้ทุกภาค เป็นพืชที่ขึ้นอยู่ตามพื้นดินและเลื้อยแผ่ไปตามดิน เจริญเติบโตได้ดีในที่ชื้นแฉะ ซึ่งมีสารประกอบสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเภสัชคือสารในกลุ่มไตรเทอร์พินอยด์ (Triterpenoid) ได้แก่ เอเชียติโคไซด์ (Asiaticaside) กรดเอเชียติก (Asiatic acid) กรดมาเดแคสซิก (Madecassic acid) และมาเดแคสโซไซด์ (Madecassoside) (Hashim et al., 2011; Tiwari et al., 2011; Zainol et al., 2008) ซึ่งสารเหล่านี้มีบทบาทหลายประการในการรักษาสุขภาพของผิวหนัง เช่น การกระตุ้นการสร้างและลดการสลายคอลลาเจน การเร่งกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ รักษาแผลเป็น และลดสารกระตุ้นการอักเสบ (จันทร์พรทองเอกแก้ว, 2556)

จากคุณสมบัติของใบบัวบกที่ได้กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยได้เล็งเห็นความสำคัญของสมุนไพรจึงต้องการศึกษาประสิทธิภาพของครีมสารสกัดจากใบบัวบกในการลดริ้วรอยรอบดวงตา เมื่อเปรียบเทียบกับครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง เพื่อนำไปสู่การแปรรูปทำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสมุนไพรต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตาเมื่อเปรียบเทียบกับครีมเคาน์เตอร์แบรนด์
2. เพื่อประเมินผลข้างเคียงของการใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกในการรักษาริ้วรอยรอบดวงตา

สมมุติฐานการวิจัย

1. การใช้ครีมสารสกัดจากใบบัวบกสามารถลดริ้วรอยรอบดวงตาได้แตกต่างจากการใช้ครีมเคาน์เตอร์แบรนด์
2. การใช้ครีมจากสารสกัดใบบัวบกไม่มีผลข้างเคียงต่อผิวหนังบริเวณรอบดวงตา

บททวนวรรณกรรม

กลไกการสร้างคอลลาเจนของผิวหนังและความชราของผิวหนังเมื่ออายุ 30 ปีขึ้นไป

โดยปกติชั้นหนังกำพร้าจะถูกพยุงไว้ด้วย extracellular matrix ในชั้นหนังแท้ ซึ่งชั้นหนังแท้ดังกล่าวประกอบไปด้วยชั้น papillary and reticular และมีเซลล์ที่สำคัญ คือ fibroblasts ทำหน้าที่สร้าง extracellular matrix ซึ่งประกอบไปด้วย 1. คอลลาเจน มีคุณสมบัติในการยึดได้น้อยมากแต่มีความแข็งแรงและรับน้ำหนักได้ดี คอลลาเจนที่กระจายอยู่ในชั้นหนังแท้จะเป็นคอลลาเจน type I และ III ในทางตรงกันข้ามคอลลาเจน type VII จะกระจายอยู่ในบริเวณรอยต่อผิวหนังชั้นหนังแท้กับหนังกำพร้า ซึ่งเรียกว่า dermal-epidermal junction 2. เส้นใยอีลาสติน (elastic fiber) มีคุณสมบัติในการยืดและหดได้เหมือนยางช่วยให้เนื้อเยื่อมีความยืดหยุ่นและ 3. glycosaminoglycan (GAG) หรือ mucopolysaccharide มีหน้าที่ทำให้ ผิวหนังชั้นหนังแท้มีความชุ่มชื้นเพราะมีความสามารถในการดูดความชื้นสูง เช่น hyaluronic acid (hexamers) และ chondroitin sulphate glycosaminoglycan (Naylor et al., 2011)

ความแก่ของผิวหนังเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติบนผิวหนังมนุษย์ โดยเกิดจากความเสื่อมของร่างกายซึ่งเมื่อเวลาที่ผ่านมาหลังจากอายุ 30 ปีขึ้นไป ผิวหนังจะมีปริมาณโปรตีนคอลลาเจน อีลาสติน และไกลโคสะมิโนไกลแคนที่ลดลงส่งผลให้ผิวหนังมีลักษณะที่ปรากฏให้เห็นเด่นชัด คือ มีร่องลึก ริ้วรอย ผิวขาดความยืดหยุ่น เป็นต้น

ความแก่ของผิวหนังเกิดจาก 2 ปัจจัยหลัก คือ ปัจจัยภายในร่างกาย (intrinsic aging) อันเนื่องมาจากกาลเวลาที่ผ่านไปและเกิดจากการสัมผัสกับปัจจัยภายนอก (extrinsic aging) เช่น แสงยูวี ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการเกิดความแก่ของผิวหนัง ทำให้ผิวหนังขาดความยืดหยุ่น intrinsic aging เป็นสาเหตุสำคัญหลักๆ ที่ทำให้เกิดความแก่ในมนุษย์ อย่างไรก็ตามพบว่า ความแก่ของผิวหนังที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่เกิดจากปัจจัยภายในร่างกายและการสัมผัสกับปัจจัยภายนอกร่วมกัน (Zouboulis and Makrantonaki, 2011)

สารสกัดจากใบบัวบกและกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวบก

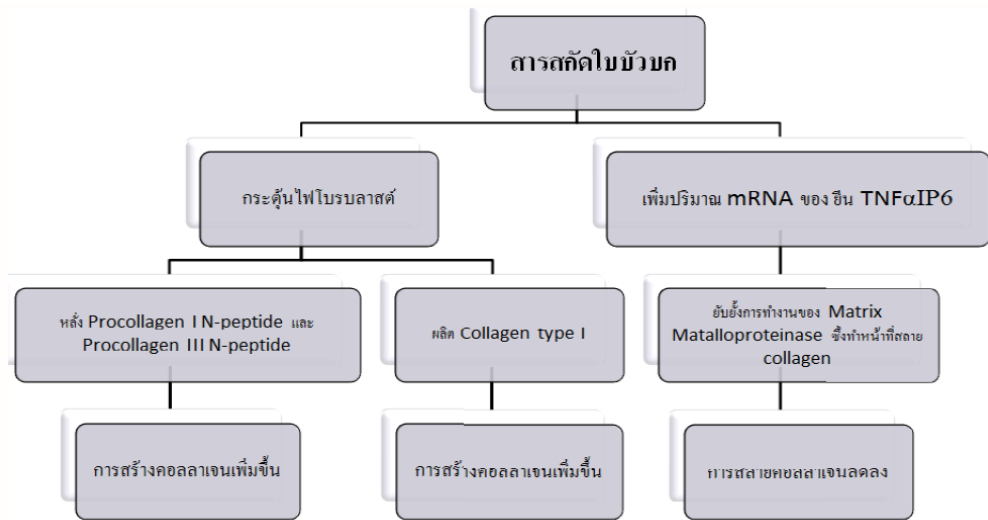
ใบบัวบกเป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก อยู่ในวงศ์ Umbelliferae ชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ Centella asiatica (Linn.) Urban ชื่อสามัญคือ gotu kola ชื่อภาษาอังกฤษคือ Asiatic Pennywort และชื่อพื้นเมืองมีหลากหลายชื่อตามภูมิภาค สารที่พบในใบบัวบกจัดอยู่ในกลุ่มไตรเทอเพนอยด์ ไกลโคไซด์ (Triterpenoid glycoside) ซึ่งประกอบด้วย กรดเอเชียติก (Asiatic acid) สารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) กรดแมดิแคสซิก (Madecassic acid) และสารแมดิแคสซอล (Medecassol)

กลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวบกในการลดริ้วรอย

พบว่าสารเอเชียติโคไซด์ทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์หลั่งสาร procollagen I N-peptide (PINP) และ procollagen III N-peptide (PIIINP) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของคอลลาเจนมากขึ้น (Lu et al., 2004)

กรดเอเชียติก กรดมาเดแคสซิก และเอเชียติโคไซด์ ทั้งสามชนิดสามารถกระตุ้นให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ให้ผลิตคอลลาเจนชนิดที่หนึ่ง (Collagen type I) และเมื่อนำสารทั้งสามชนิดนี้มารวมกันส่งผลให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ผลิตคอลลาเจนได้มากที่สุด (Bonte et al., 1994)

พบว่าสารเอเชียติโคไซด์ กรดเอเชียติก และกรดมาเดแคสซิก สามารถเพิ่มปริมาณ mRNA ของยีนบางตัวในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ได้ โดยเฉพาะยีนที่สร้างสาร TNFIP 6 (tumor necrosis factor alpha, induced protein 6) ซึ่งมีหน้าที่หนึ่งในการระงับยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แมทริกซ์เมทัลโลโปรตีนเนส (Matrix Metalloproteinase) ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารในเมทริกซ์นอกเซลล์ต่างๆ เช่น คอลลาเจน เป็นต้น (Bonte et al., 1994)



ภาพที่ 1 กลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวบกในการลดริ้วรอย
ที่มา: ดัดแปลงจาก Bonte et al., 1994, Lu et al., 2004)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lee et al. (2008) ได้ทำการทดลองแบบ Randomized Controlled Trial เปรียบเทียบการทาครีม 0.1% Asiaticoside ที่สกัดได้จากใบบัวบก รอบดวงตาด้านหนึ่งกับ Vehicle Base Cream รอบดวงตาดีก ด้านหนึ่งในอาสาสมัครผู้หญิงชาวเกาหลีจำนวน 27 ราย เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ารอบดวงตาที่ใช้ครีม 0.1% Asiaticoside มีรอยย่นรอบดวงตาบริเวณหางตาลดลง มากกว่ารอบดวงตาที่ใช้ครีม Vehicle Base Cream อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Lee et al., 2008)

มยุรี ต้นติลิระ (2551) ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดมาตรฐานใบบัวบก โดยการให้หนูทดลองกินสารสกัดใบบัวบกใน ปริมาณความเข้มข้น 10, 100, 1000 มก/กก ในหนูทดลองนาน 3 เดือน ในระหว่างที่ทำการทดลองมีการ ตรวจเลือดเป็นระยะ ดูทั้งผลการตรวจเลือดและน้ำหนัก ผลการทดสอบพบว่า ไม่มีหนูตัวใดตายตลอด การทดลอง 3 เดือน และมีการเจริญเติบโตตามปกติ (มยุรี ต้นติลิระ, 2551)

Maquart, Bellon, Gillery, Wegrowski and Borel (1990) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเซลล์บัวบก พบว่า Asiatic acid เป็น triterpene ชนิดเดียวที่กระตุ้นการสังเคราะห์คอลลาเจน (collagen synthesis) ของ fibroblast ในมนุษย์ ต่อมาได้มีการทดลองสกัดสาร triterpenes 3 ชนิดจากบัวบกคือ Asiatic acid, Madecassic acid และ Asiaticoside พบว่าทั้ง 3 ชนิด สามารถกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนใน fibroblast ของผิวหนังที่เพาะเลี้ยงไว้ได้ (Bonte et al., 1994, pp. 133-135) ขณะที่ Asiaticoside และ Madecassoside กระตุ้น type I collagen และ type-II collagen ตามลำดับ (Bonte et al., 1995) และสาร triterpenes ทั้ง 3 ตัวคือ Asiatic acid, Madecassic acid และ Asiaticoside ยังช่วยในการเกาะเกี่ยว fibroblast และสังเคราะห์ คอลลาเจนได้ถึง 20-35% (Tenni et al., 1988) และยังสามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ glycosaminoglycan อีกด้วย (Maquart et al., 1999)

วิธีดำเนินการวิจัย

ประเภทงานวิจัย: การวิจัยเป็นการทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครผู้เข้าร่วมวิจัยแบบสุ่ม double-blind, randomized, controlled split-face clinical trial

กลุ่มตัวอย่าง: อาสาสมัครคนไทยเพศหญิงจำนวน 35 คนมีอายุ 30-45 ปี ที่ไม่มีการใช้ผลิตภัณฑ์รักษา ร้อยรอบดวงตาอยู่แล้วเป็นประจำ และมีร้อยรอบบริเวณรอบดวงตา

ปัจจัยควบคุม: อาสาสมัครที่อยู่ระหว่างการวิจัย ให้หลีกเลี่ยงการใช้เครื่องสำอางอื่น ๆ ที่ช่วยรักษา ร้อยรอบดวงตา ระหว่างการทดลอง

วิธีการทดลอง: โครงการวิจัยเล่มนี้ได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ หมายเลขโครงการ 009/60 โดยทำการแบ่งครึ่งหน้าของอาสาสมัครด้วยวิธีการสุ่ม โดยรอบดวงตา ด้านหนึ่งจะทาครีมสารสกัดใบบัวบกและรอบดวงตาอีกด้านหนึ่งทาครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ อาสาสมัครจะได้รับการรักษาโดยการทาครีมวันละ 2 ครั้ง เช้าและก่อนนอนต่อเนื่องกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยผู้เข้าร่วมวิจัยและผู้วิจัยจะไม่ทราบชนิดของครีมที่ใช้ทาแต่ละข้าง

เครื่องมือการวิจัย: วัดประเมินค่าความยืดหยุ่นของผิวหนังด้วยเครื่อง Cutometer ประเมินความชุ่มชื้นของผิวหนังด้วยเครื่อง Comeometer และเครื่อง Visioscan ประเมินความหยาบของผิวหนังด้วยเครื่อง Visioscan ประเมินความราบเรียบของผิวหนังด้วยเครื่อง Visioscan ประเมินความกว้างของรอยย่นของผิวหนังด้วยเครื่อง Visioscan และใช้แบบทดสอบในการประเมินความพึงพอใจ โดยใช้ patient satisfaction score ดังนี้ 0 คือ ไม่พอใจเล็กน้อย 1 คือ เท่าเดิม ไม่มีอะไรเปลี่ยนแปลง 2 คือ พึงพอใจเล็กน้อย 3 คือ พึงพอใจปานกลาง 4 คือ พึงพอใจมาก และ 5 คือ พึงพอใจมากที่สุด

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล: อาสาสมัครทุกคนจะได้รับการตรวจประเมินทุกๆ 4 สัปดาห์ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยจะมีการประเมินผลความยืดหยุ่นของผิว ความชุ่มชื้นของผิว ความหยาบของผิว ความราบเรียบของผิว ความกว้างของรอยย่นของผิว และผลข้างเคียงในสัปดาห์ที่ 0, 4, 8 และ 12 โดยทุกครั้งที่มาตรวจประเมินอาสาสมัครจะต้องนำครีมกระปุกเดิมมาด้วยเพื่อตรวจประเมินว่าอาสาสมัครมีการใช้ครีมในปริมาณที่เพียงพอ และจะได้รับครีมชุดใหม่ทุกครั้งที่มาตรวจประเมิน เมื่อสิ้นสุดการวิจัยทั้งหมด 12 สัปดาห์ จะมีการประเมินความพึงพอใจ ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 ระดับ

การวิเคราะห์ข้อมูล: ข้อมูลทั่วไปของประชากร ใช้สถิติเชิงพรรณนา จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลก่อนเริ่มทำการทดลองของรอบดวงตาข้างซ้าย และรอบดวงตาข้างขวาโดยจะต้องไม่แตกต่างกัน โดยใช้สถิติ T-test การวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลก่อนและหลังการเข้าร่วมโครงการวิจัย โดยใช้สถิติ Paired t-test การทดสอบความแตกต่างหรือเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ 2 ข้าง โดยใช้สถิติ T-test

ผลการวิจัย

จากการศึกษาเหลืออาสาสมัครที่สามารถติดตามผลได้จำนวน 32 คน ผลพบว่าครีมสารสกัดใบบัวบกสามารถรักษา ร้อยรอบดวงตาได้โดยการเพิ่มขึ้นของความยืดหยุ่นของผิวหนังบริเวณใต้ตาและหางตาในสัปดาห์ที่ 8 ของการรักษาเทียบเท่ากับกลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ส่วนความหยาบของผิวหนังบริเวณใต้ตาของกลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกลดลงในสัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ แต่ในบริเวณหางตาไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งสองกลุ่ม ส่วนความราบเรียบของผิวหนังบริเวณใต้ตากลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกมีการเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาเทียบเท่ากับกลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ แต่ในบริเวณหางตากลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกมีความราบเรียบของผิวหนังเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ที่เริ่มมีการเพิ่มขึ้นของความราบเรียบของผิวหนังในสัปดาห์ที่ 8 ในส่วนของความกว้างของรอยย่นของผิวหนังบริเวณใต้ตากลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกมีขนาดความกว้างของรอยย่นของผิวหนังลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาเทียบเท่ากับกลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ แต่ในบริเวณหางตากลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกมีความกว้างของรอยย่นลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ซึ่งเร็วกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ที่เริ่มมีการลดลงของความกว้างของรอยย่นของผิวหนังใน

สัปดาห์ที่ 8 ส่วนของความชุ่มชื้นของผิวกลุ่มครีมสารสกัดใบบัวบกมีการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งน้อยกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ ดังแสดงในตารางที่ 1-6 และความพึงพอใจของอาสาสมัครหลังจากการรักษาต่อเนื่อง 12 สัปดาห์ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในกลุ่มครีมสารสกัดจากใบบัวบกมากกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ และผลข้างเคียงของทั้งสองกลุ่มไม่พบอาการระคายเคือง อาการแพ้ แห้ง แดง ลอก หรือการเกิดสิว

ตารางที่ 1 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความยืดหยุ่นของผิวหนังบริเวณใต้ตา และหางตาด้วยเครื่อง Cutometer ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จำนวน 32 คนในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD (mbar)	P-Value	Mean $\pm$ SD (mbar)	P-Value	
ใต้ตา	0	0.37 $\pm$ 0.25		0.36 $\pm$ 0.24		
	0-4	0.38 $\pm$ 0.23	0.9495	0.41 $\pm$ 0.25	0.2547	0.5422
	0-8	0.55 $\pm$ 0.18	0.0032**	0.51 $\pm$ 0.15	0.0006***	0.8403
	0-12	0.65 $\pm$ 0.19	< 0.0001***	0.61 $\pm$ 0.15	< 0.0001***	0.7461
หางตา	0	0.42 $\pm$ 0.24		0.36 $\pm$ 0.27		
	0-4	0.42 $\pm$ 0.26	0.9514	0.42 $\pm$ 0.27	0.2392	0.4420
	0-8	0.55 $\pm$ 0.19	0.0097**	0.55 $\pm$ 0.14	0.0003***	0.4004
	0-12	0.64 $\pm$ 0.15	< 0.0001***	0.62 $\pm$ 0.15	< 0.0001***	0.5665

หมายเหตุ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ ($\alpha = 0.05$)

ตารางที่ 2 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความหยาบของผิวหนัง (SEr) บริเวณใต้ตาและหาง ตาด้วยเครื่อง Visioscan ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จำนวน 32 คนในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD (μm)	P-Value	Mean $\pm$ SD (μm)	P-Value	
ใต้ตา	0	2.65 $\pm$ 1.24		2.45 $\pm$ 1.18		
	0-4	2.08 $\pm$ 1.04	0.0288*	2.27 $\pm$ 1.04	0.5282	0.2917
	0-8	2.14 $\pm$ 0.91	0.0514	2.22 $\pm$ 0.86	0.3826	0.4405
	0-12	2.19 $\pm$ 0.81	0.0441*	2.19 $\pm$ 0.82	0.2665	0.5353
หางตา	0	2.281 $\pm$ 0.86		2.64 $\pm$ 1.65		
	0-4	2.27 $\pm$ 1.23	0.9679	2.55 $\pm$ 1.91	0.7996	0.8556
	0-8	2.282 $\pm$ 0.99	0.9925	2.18 $\pm$ 1.02	0.1406	0.1872
	0-12	2.611 $\pm$ 1.52	0.2567	2.14 $\pm$ 0.98	0.0628	0.7350

หมายเหตุ * $p < 0.05$ ($\alpha = 0.05$)

ตารางที่ 3 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความราบเรียบของผิวหนัง (SEsm) บริเวณใต้ตาและหางตาด้วยเครื่อง Visioscan ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จำนวน 32 คนในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD (V/mm ²)	P-Value	Mean $\pm$ SD (V/mm ²)	P-Value	
ใต้ตา	0	256.5 $\pm$ 110.1		254.6 $\pm$ 117.6		
	0-4	210.9 $\pm$ 74.04	0.0183*	200.3 $\pm$ 58.22	0.0117*	0.7521
	0-8	203.3 $\pm$ 71.20	0.0292*	193.9 $\pm$ 62.65	0.0122*	0.8195
	0-12	197.8 $\pm$ 89.63	0.0069**	177.6 $\pm$ 45.26	0.0017**	0.5473
หางตา	0	172.3 $\pm$ 64.52		172.2 $\pm$ 70.23		
	0-4	149.9 $\pm$ 50.63	0.0435*	149.9 $\pm$ 46.92	0.1202	0.9807
	0-8	149.9 $\pm$ 35.41	0.0628	141.4 $\pm$ 43.25	0.0142*	0.6161
	0-12	144.0 $\pm$ 45.07	0.0188*	134.3 $\pm$ 30.44	0.0030*	0.5612

หมายเหตุ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ($\alpha = 0.05$)

ตารางที่ 4 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความกว้างของรอยย่นของผิวหนัง (SEw) บริเวณใต้ตาและหางตาด้วยเครื่อง Visioscan ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ จำนวน 32 คนในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD (mm)	P-Value	Mean $\pm$ SD (mm)	P-Value	
ใต้ตา	0	137.3 $\pm$ 77.66		133.7 $\pm$ 88.86		
	0-4	99.08 $\pm$ 43.78	0.0057**	93.35 $\pm$ 42.11	0.0150*	0.9167
	0-8	87.55 $\pm$ 42.77	0.0050**	86.58 $\pm$ 42.51	0.0089**	0.9112
	0-12	86.55 $\pm$ 49.04	0.0017**	74.93 $\pm$ 24.12	0.0016**	0.7229
หางตา	0	79.71 $\pm$ 36.32		69.27 $\pm$ 29.47		
	0-4	65.38 $\pm$ 29.22	0.0409*	69.25 $\pm$ 26.11	0.9967	0.0962
	0-8	62.17 $\pm$ 21.22	0.0195*	56.83 $\pm$ 20.01	0.0046**	0.5365
	0-12	59.95 $\pm$ 17.12	0.0056**	54.80 $\pm$ 16.97	0.0022**	0.5079

หมายเหตุ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ($\alpha = 0.05$)

ตารางที่ 5 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความชุ่มชื้นของผิวหนัง (SEsc) บริเวณใต้ตาและหางตาด้วยเครื่อง Visioscan ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ จำนวน 32 คนในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD(A.U.)	P-Value	Mean $\pm$ SD(A.U.)	P-Value	
ใต้ตา	0	0.61 $\pm$ 0.35		0.75 $\pm$ 0.90		
	0-4	0.61 $\pm$ 0.31	0.9513	0.68 $\pm$ 0.38	0.7110	0.7138
	0-8	0.64 $\pm$ 0.31	0.6656	0.65 $\pm$ 0.30	0.5781	0.4916
	0-12	0.74 $\pm$ 0.36	0.0423*	0.81 $\pm$ 0.51	0.7161	0.6669
หางตา	0	0.7313 $\pm$ 0.44		0.57 $\pm$ 0.26		
	0-4	0.7909 $\pm$ 0.57	0.5052	0.87 $\pm$ 0.63	0.0277*	0.1325
	0-8	0.7981 $\pm$ 0.58	0.5910	0.76 $\pm$ 0.53	0.0734	0.4460
	0-12	0.8025 $\pm$ 0.44	0.4722	0.90 $\pm$ 0.58	0.0062**	0.0897

หมายเหตุ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ($\alpha = 0.05$)

ตารางที่ 6 ข้อมูลค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการประเมินความชุ่มชื้นของผิวหนังบริเวณใต้ตา และหางตาด้วยเครื่อง Comeometer ของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จำนวน 32 คน ในแต่ละช่วงสัปดาห์

ตำแหน่ง	Week	Centella group		Counter brand group		P-Value Intergroup t-test
		Mean $\pm$ SD (A.U.)	P-Value	Mean $\pm$ SD (A.U.)	P-Value	
ใต้ตา	0	72.54 $\pm$ 18.23		71.06 $\pm$ 18.55		
	0-4	77.50 $\pm$ 15.29	0.0712	78.97 $\pm$ 14.41	0.0060**	0.4381
	0-8	72.42 $\pm$ 10.74	0.9722	74.29 $\pm$ 8.96	0.3251	0.4722
	0-12	78.53 $\pm$ 9.76	0.0838	77.62 $\pm$ 8.95	0.0325*	0.9001
หางตา	0	70.89 $\pm$ 15.50		70.55 $\pm$ 14.86		
	0-4	73.95 $\pm$ 13.27	0.2055	75.21 $\pm$ 12.04	0.0567	0.6332
	0-8	68.74 $\pm$ 10.48	0.4073	69.31 $\pm$ 9.43	0.6341	0.8009
	0-12	74.39 $\pm$ 10.72	0.2608	73.85 $\pm$ 11.27	0.2940	0.9646

หมายเหตุ * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ($\alpha = 0.05$)

อภิปรายผล

จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพของครีมสารสกัดใบบัวบกจะสามารถเทียบเท่ากับครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ได้ในทุกๆ เรื่อง เพราะว่าเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพผลต่างๆ ของครีมทั้งสองกลุ่มนั้นไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อวิเคราะห์โดยละเอียดในเรื่องของการลดริ้วรอย โดยใช้พารามิเตอร์ ความยืดหยุ่นของผิว ความราบเรียบของผิว และความกว้างของรอยย่นของผิว พบว่าครีมทั้งสองกลุ่มมีประสิทธิภาพในการลดริ้วรอยได้ดี โดยทุกพารามิเตอร์สามารถเห็นผลความแตกต่างได้ในสัปดาห์ที่ 12 และมีบางพารามิเตอร์ เช่น ความราบเรียบของผิว และความกว้างของรอยย่นของผิวที่เห็นผลลัพธ์ที่ดีตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษา ส่วนในเรื่องของความหยาบของผิวจะเห็นได้ว่าครีมสารสกัดใบบัวบกจะมีประสิทธิภาพในการลดความหยาบของผิวได้ดีตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาแต่กลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ไม่เห็นผลในการลดลงของความหยาบของผิว ส่วนในเรื่องของความชุ่มชื้น จะเห็นได้ว่าครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จะเห็นผลที่ดีกว่าครีมสารสกัดใบบัวบก โดยเริ่มเห็นผลมาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 และเห็นผลที่ดีต่อเนื่องไปจนถึงสัปดาห์ที่ 12 ของการรักษาแต่ครีมสารสกัดใบบัวบกเห็นผลแค่ในสัปดาห์ที่ 12 และอยู่เฉพาะบริเวณใต้ตาเท่านั้น แต่ผลของความชุ่มชื้นของครีมเคาน์เตอร์แบรนด์ก็เห็นผลแค่บางพื้นที่ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มก็ไม่พบความแตกต่างกันเพราะฉะนั้นถึงแม้ว่าครีมเคาน์เตอร์แบรนด์จะดีกว่าในเรื่องความชุ่มชื้นแต่ก็ยังไม่ดีกว่าถึงขั้นมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อาจจะเป็นไปได้ว่าครีมสารสกัดใบบัวบกอยู่ในรูปแบบเซรัม ครีมเคาน์เตอร์แบรนด์อยู่ในรูปแบบเนื้อครีมซึ่งอาจจะให้ความชุ่มชื้นได้ดีกว่า แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับกลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัดใบบัวบก โดยสารเอเซียติโคไซด์ทำให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์หลั่งสาร procollagen I N-peptide (PINP) และ procollagen III N-peptide (PIIINP) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของคอลลาเจน (Lu et al., 2004) ส่งผลให้มีการสร้างคอลลาเจนที่เพิ่มขึ้น ส่วนกรดเอเซียติก กรดมาเดแคสซิก และเอเซียติโคไซด์ สามารถกระตุ้นให้เซลล์ไฟโบรบลาสต์ผลิตคอลลาเจนชนิดที่หนึ่ง (Collagen type I) ได้มากขึ้น (Bonte et al., 1994) และสารเอเซียติโคไซด์ กรดเอเซียติก และกรดมาเดแคสซิก สามารถเพิ่มปริมาณ

mRNA ของยีนบางตัวในเซลล์ไฟโบรบลาสต์ โดยเฉพาะยีนที่สร้างสาร TNF α IP 6 (tumor necrosis factor alpha, induced protein 6) ซึ่งมีหน้าที่หนึ่งในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แมทริกเมทัลโลโปรตีนเนส (Matrix Metalloproteinase) ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารในเมทริกซ์นอกเซลล์ต่างๆ เช่น คอลลาเจน เป็นต้น (Bonte et al., 1994) ส่งผลให้มีการสลายคอลลาเจนลดลง ทำให้ผิวหนังบริเวณรอบดวงตามีความยืดหยุ่นของผิว ความราบเรียบของผิวเพิ่มมากขึ้น และความกว้างของรอยย่นของผิว ความหยาบของผิวที่ลดลง

ส่วนความพึงพอใจของอาสาสมัครหลังจากการรักษาต่อเนื่อง 12 สัปดาห์ พบว่าอาสาสมัครมีความพึงพอใจในกลุ่มครีมสารสกัดจากใบบัวบกมากกว่ากลุ่มครีมเคาน์เตอร์แบรนด และทั้งสองกลุ่มครีมไม่พบอาการแพ้ อาการระคายเคือง

สรุป

ครีมสารสกัดจากใบบัวบกมีประสิทธิภาพในการรักษา ร้อยได้ดีเทียบเท่ากับครีมเคาน์เตอร์แบรนด และไม่มีอาการแพ้หรือระคายเคืองใดๆ โดยมีการเพิ่มขึ้นของความยืดหยุ่นของผิว ความราบเรียบของผิว และมีการลดลงของความกว้างของรอยย่นของผิว และความหยาบของผิวตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการรักษาและเห็นผลต่อเนื่องไปจนถึงสัปดาห์ที่ 12 แต่ในเรื่องของความชุ่มชื้นนั้นพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง อาจเนื่องมาจากตัวครีมอยู่ในรูปแบบเซรัม การให้ความชุ่มชื้นจึงน้อย

ข้อเสนอแนะ

1. ระยะเวลาในการศึกษาควรมีการศึกษาที่นานขึ้น เพื่อดูผลของครีมสารสกัดใบบัวบกและครีมเคาน์เตอร์แบรนดในระยะยาว เนื่องจากข้อมูลจากการรักษาพบว่าผลการรักษา ร้อยรอบดวงตาของทั้ง 2 กลุ่ม มีแนวโน้มดีขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการใช้งาน และควรมีการติดตามผลการรักษาหลังจากหยุดใช้ยา ว่าผลการรักษา ร้อยรอบดวงตาอยู่ได้นานเท่าใด
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของคุณสมบัติของสมุนไพรอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติสามารถช่วยรักษา ร้อยรอบดวงตาได้ เช่น โสมจีน โหระพา ขมิ้นชัน ว่านหางจระเข้ เผล็ดองุ่น
3. ควรทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างในเพศหญิง ในช่วงอายุต่างๆ เพื่อให้กลุ่มตัวอย่างมีความหลากหลาย และสามารถนำข้อมูลที่ได้มาพัฒนาครีมสารสกัดจากใบบัวบก
4. ควรทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเพศชาย
5. ควรทำการเปรียบเทียบราคาครีมสารสกัดจากใบบัวบกกับครีมเคาน์เตอร์แบรนด

บรรณานุกรม

- จันทร์พร ทองเอกแก้ว. (2556). *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, (พิมพ์ครั้งที่ 15).
อุบลราชธานี: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- มยุรี ตันติลิระ. (2551). *โครงการศึกษาฤทธิ์และความเป็นพิษของสารสกัดมาตรฐานบัวบก*, กรุงเทพฯ:
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Bonte, F., Ducas, M., Chaudange, C. & Mayback, A. (1994). Influence of Asiatic Acid, Madecassic Acid, and Asiaticoside on Human Collagen type I synthesis. *Planta Medica*, 60(2), 133-135
- Fisher, G.J., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y., Datta, S. & Voorhees, J. J. (2002). Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch. Dermatol*, 138(11), 1462-1470.
- Hashim, P., Sidek, H., Helan, M. H., Sabery, A., Palanisamy, U. D. & Lham, M. (2011). Triterpene Composition and Bioactivity of *Centella asiatica*. *Molecules*, 16(2), 1310-1322.
- Lee, J., Jung, E., Lee, H., Seo, Y., Koh, J. & Park, D. (2008). Evaluation of the effects of a preparation containing asiaticoside on periorcular wrinkles of human volunteers. *International Journal of Cosmetic Science*, 30(3), 167-173
- Lee, J. H., Kim, H. L., Lee, M. H., You, K. E., Kwon, B. J., Seo, H. J. & Park, J. C. (2012). Asiaticoside enhances normal human skin migration, attachment and growth in vitro wound healing mode. *Phytomedicine*, 19(13), 1223-1227
- Lu, L., Ying, K., Wei, S., Fang, Y., Liu, Y., Lin, H., Ma, L. & Mao, Y. (2004). Asiaticoside induction for cell cycle progression proliferation and collagen synthesis in human dermal fibroblast. *International Journal of Dermatology*. 2004; 43(11), 801-807.
- Maquart, F.X., Bellon, G., Gillery, P., Wegrowski, Y. and Borel, J.P. (1990). "Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by a triterpene extracted from *Centella asiatica*". *Connect Tissue Res*. 24(2), 107
- Maquart FX., Chastang F., Simeon A., Birembaut P., Gillery P. and Wegrowski, Y. (1999). Triterpenes from *Centella asiatica* stimulate extracellular matrix accumulation in rat experimental wounds, *Eur J Dermatol*, 9(4), 289-296.
- Naylor EC, Watson RE, and Sherratt MJ. (2011). Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*, 69(36), 249-256.
- Shukla, A., Rasik, A.M. and Dhawan, B.N. (1999a). "Asiaticoside-induced elevation of antioxidants levels in healing wounds". *Phytother Res* 13(1), 50-54.
- Shukla, A., Rasik, A.M., Jain, G.K., Shankar, R., Kulshrestha, D.K. and Dhawan, B.N. (1999b). "In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*". *J Ethnopharmacology* 65(1), 1-11.
- Tenni R., Zanzboni G., De Agostini MP., Rossi A., Bendotti C. and Cetta G. (1988). Effect of the triterpenoid fraction of *Centella asiatica* on macromolecules of the connective matrix in human skin fibroblast cultures, *Ital J Biochem*, 37(2), 69-77
- Tiwari, S., Gehlot, S. & Gambhir, I.S. (2011). *Centella Asiatica*: A Concise Review with Probable Clinical use. *Journal of stress physiology & biochemistry*, 7(1), 38-44
- Zainol, N. L., Voo, S. C., Sarmidi, M. R. & Aziz, R. A. (2008). Profiling of *Centella asiatica* (L.) urban extract. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 12(2), 322-327.
- Zouboulis CC, and Makrantonaki E. (2011). Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in Dermatology*. 29: 3-14.