



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I787623 B

(45) 公告日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 21 日

(21) 申請案號：109121128

(22) 申請日：中華民國 109 (2020) 年 06 月 22 日

(51) Int. Cl. : A61K8/92 (2006.01)

A61K8/9789 (2017.01)

A61Q19/08 (2006.01)

(30) 優先權：2019/07/29 美國

62/879,617

(71) 申請人：友華生技醫藥股份有限公司 (中華民國) ORIENT EUROPHARMA CO., LTD. (TW)

臺北市大安區復興南路一段 368 號 7 樓

(72) 發明人：姜 欽治 CHIANG, CHIN-CHIH (US) ; 蔡孟哲 TSAI, MON-JER (TW)

(74) 代理人：李保祿

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：11 項 圖式數：10 共 38 頁

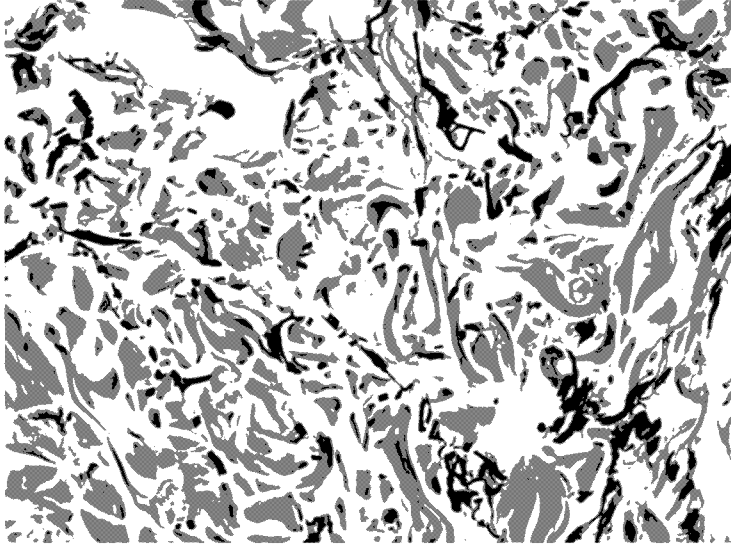
(54) 名稱

一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途

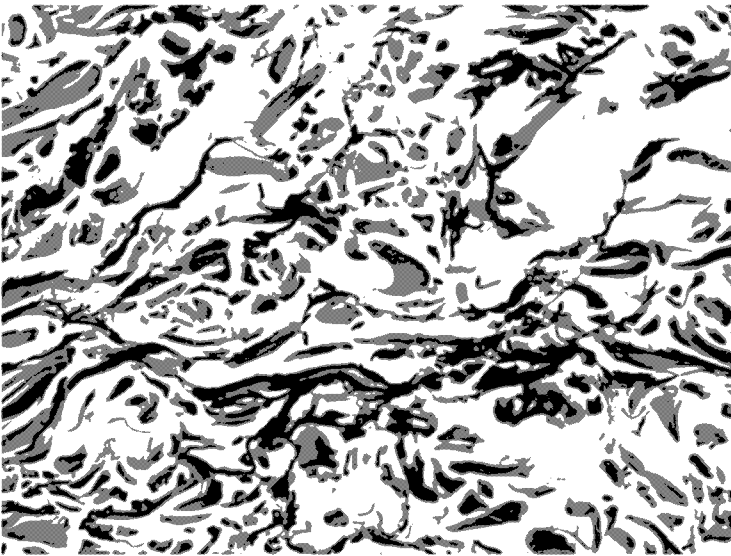
(57) 摘要

本發明提供一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途，該化妝品組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素，其中該預防和/或改善肌膚老化包含但不限於提升肌膚角質層含水量、提升肌膚彈力、增強纖維母細胞中膠原蛋白或彈性蛋白的表現或彈性、增強纖維母細胞之遷移、提升抗氧化能力、增加玻尿酸的生成、改善肌膚皺紋及紋理、改善黑色素、降低油脂含量及降低經皮水分散失。

指定代表圖：



基線：分數 3



第 12 週：分數 7

【圖6】



公告本

I787623

【發明摘要】

【中文發明名稱】 一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途

【中文】

本發明提供一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途，該化妝品組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素，其中該預防和/或改善肌膚老化包含但不限於提升肌膚角質層含水量、提升肌膚彈力、增強纖維母細胞中膠原蛋白或彈性蛋白的表現或彈性、增強纖維母細胞之遷移、提升抗氧化能力、增加玻尿酸的生成、改善肌膚皺紋及紋理、改善黑色素、降低油脂含量及降低經皮水分散失。

【指定代表圖】 圖6

【代表圖之符號簡單說明】

【發明說明書】

【中文發明名稱】 一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途

【技術領域】

【0001】 本發明涉及化妝品領域，具體涉及一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途，並闡明其可應用範圍。

【先前技術】

【0002】 皮膚的老化會以皺紋、鬆弛、斑點、膚色的暗沉及缺水等形式出現，進而明顯影響人體的外觀，其中，皺紋或鬆弛係起因於角質層的乾燥或紫外線照射，使皮膚外層缺乏作為保濕劑的必需成分所致，肌膚若保濕不當，以至於缺水，即可能發生出油、乾燥、紅腫、發癢、毛孔粗大、粉刺痘痘、暗沉斑點等皮膚問題，且如果人體內缺水，皮膚的含水量會降低，尤其是角質層的含水量降低，就會導致皮膚乾燥，甚至形成細紋、裂口，加速皮膚的老化，甚至易造成皮膚炎而引發搔癢、疼痛及灼熱等不適感；暗沉或斑點是構成膚色的因子，其與黑色素、血液中血紅素、胡蘿蔔素等構成或變化有關，尤其以黑色素為決定皮膚色的重要因子，係引起膚色的暗沉或斑點的主要原因。

【0003】 目前抗肌膚衰老化妝品的設計主要透過抗自由基及消除或減少由輻射引起的皮膚受損來實現，其中，抗氧化物質如超氧化物歧化酶(SOD)、輔酶Q10等，已被廣泛的應用在延緩肌膚衰老的化妝品中；日本專利JP5737888B2揭露了環狀磷脂酸(cyclic phosphatidic acid)用於異位性皮膚炎的治療，其中包含氫玻璃酸(Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid, NcPA)，該成分具有對抗肌膚老化

之功效，然而如何將該成分安全、有效的送入皮膚底層，從而達到其延緩肌膚衰老的效果，係本發明所屬領域中面臨的重要問題。

【0004】 橙皮苷(Hesperidin)及橙皮素(Hesperetin)皆係屬於類黃酮，其具有抗氧化之功效，目前未有關於橙皮苷或橙皮素滲透到不同皮膚層中與其對於皮膚之影響的研究報導，因此，了解橙皮苷或橙皮素如何傳遞到皮膚層中及其功效，係本發明欲探討之一重要課題。

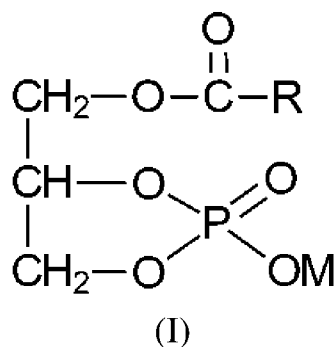
【0005】 綜上所述，如何將抗老化活性成分有效遞送到皮膚層中且依然保持其改善皮膚老化之功效，係本發明所要解決的重要問題；另外，針對NcPA結合柑橘類黃酮對於抗皮膚衰老之效果，甚至於其在臨床上之功效皆有待釐清。

【發明內容】

【0006】 本發明之目的在於提供一種化妝品組合物，其可用於預防和/或改善肌膚老化相關症狀，且經過臨床實驗證實與評估該化妝品組合物確實具有抗肌膚老化之實際功效。

【0007】 為達前述之目的，本發明提供一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途，其包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素。

【0008】 此處所述之該環狀磷脂酸結構如下式(I)：



R 是亞麻油酸、棕櫚酸或油酸；

M 是鈉(Na)或氫(H)；

其中，該環狀磷脂酸的分子量為300-500。

【0009】 為達前述之目的，該環狀磷脂酸係為暫玻酸(NcPA)。

【0010】 本發明另外提供一種包含如上所述之環狀磷脂酸與柑橘類黃酮的用途，其係用於製備預防和/或改善肌膚老化的醫藥組合物。

【0011】 為達前述之目的，該化妝品組合物中之該環狀磷脂酸的重量百分比為0.01% -0.5%。

【0012】 為達前述之目的，該化妝品組合物中之該柑橘類黃酮的重量百分比為0.01% -0.5%。

【0013】 為達前述之目的，其中該化妝品組合物為軟膏、乳液、乳霜、凝膠、滴劑、噴霧、液劑、面膜或其他醫藥、美妝學上可接受之載劑。

【0014】 為達前述之目的，其中該化妝品組合物可包含保濕劑、界面活性劑、紫外線吸收劑、香料、抗氧化劑、防腐防黴劑、體質顏料、著色顏料等色劑、pH調整劑、溶劑或其他於通常之化妝品或醫藥品等肌膚外用組合物中所使用之成分。

【0015】 本發明的另一目的在於提供一種預防和/或改善肌膚老化的方法，其係於室溫中，在需要治療的肌膚上透皮或局部施以包含如上所述之化妝品組合物，其中該化妝品組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素。

【0016】 為達前述之目的，該肌膚包含正常皮膚和老化的皮膚。

【0017】 為達前述之目的，該肌膚老化係選自於由皺紋、細紋、暗沉、脫水、色素不足和肌膚彈性不足所組成的群組。

【0018】 為達前述之目的，該預防和/或改善肌膚老化包含但不限於提升肌膚角質層含水量、提升肌膚彈力、增強纖維母細胞中膠原蛋白或彈性蛋白的表現或彈性、增強纖維母細胞之遷移、提升抗氧化能力、增加玻尿酸的生成、改善肌膚皺紋及紋理、改善黑色素、降低油脂含量、降低經皮水分散失。

【0019】 本發明部分實施例提供一種化妝品組合物之乳液及精華霜配方比例，該化妝品組合物包含橙皮苷和皙玻酸或橙皮素和皙玻酸，並以體外經皮吸收進行皮膚穿透實驗，證實兩者皆可有效增加經皮吸收，使其成份滲透進皮膚內層，以達到抗肌膚老化之功效。

【0020】 本發明部分實施例在人體臨床實驗中，證實該化妝品組合物確實具有預防和/或改善肌膚老化相關症狀之功效，且不具有副作用；本發明提供抗肌膚老化相關醫療、醫美等領域亟具潛力之化妝品組合物，亦富含產業應用價值。

【圖式簡單說明】

【0021】

圖1係為本發明實施例十一之玻尿酸染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準圖；

圖2係為本發明實施例十一之受試者於基線(Baseline)及12週後(Week 12)之玻尿酸染色圖；

圖3係為本發明實施例十二之第三型膠原蛋白染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準圖；

圖4係為本發明實施例十二之受試者於基線(Baseline)及12週後(Week 12)之第三型膠原蛋白染色圖；

圖5係為本發明實施例十三之彈力纖維碎片染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準圖；

圖6係為本發明實施例十三之受試者於基線(Baseline)及12週後(Week 12)之彈力纖維碎片染色圖；

圖7係為本發明實施例十四之受試者於VISIA高階皮膚檢測儀評估右臉皺紋基線(Baseline)及12週後(Week 12)之結果圖；

圖8係為本發明實施例十四之受試者於VISIA高階皮膚檢測儀評估左臉皺紋基線(Baseline)及12週後(Week 12)之結果圖；

圖9係為本發明實施例十五之一受試者於VISIA高階皮膚檢測儀評估右臉紋理基線(Baseline)及12週後(Week 12)之結果圖；

圖10係為本發明實施例十五之一受試者於VISIA高階皮膚檢測儀評估左臉紋理基線(Baseline)及12週後(Week 12)之結果圖。

【實施方式】

【0022】 本說明書中所述之所有技術性及科學術語，除非另外有所定義，皆為該所屬領域具有通常技藝者可共同瞭解的意義。

【0023】 本發明所提供之組合物及其用於皮膚保健之用途，其使用劑型，可視需求適宜調整，並未特別限定，較佳者為皮膚外用劑型。

【0024】 本發明之皮膚外用組合物，包含化妝品、醫藥品、醫藥外用品等。又，其劑型並無特別限定，例如可為溶液狀、乳液狀、乳霜狀、洗液狀、凝膠狀、軟膏狀、糊狀等任意劑型。

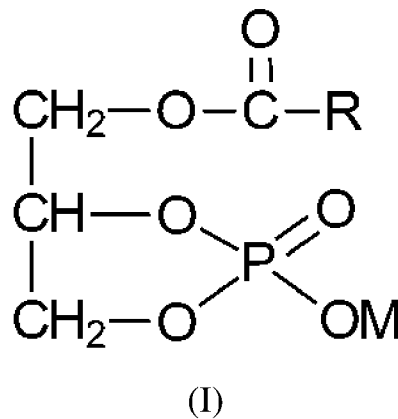
【0025】 本發明之皮膚外用組合物，除上述之必須構成成分以外，根據需要在並不影響本發明效果之範圍內，可含有例如：保濕劑、界面活性劑、紫外

線吸收劑、香料、抗氧化劑、防腐防黴劑、體質顏料、著色顏料等色劑、pH調整劑、溶劑等、或於通常之化妝品或醫藥品等皮膚外用組合物中所使用之其他任意成分。

【0026】 其中該藥學或化妝品上可接受之載劑可包含一或多種選自於下列的試劑：溶劑 (solvent)、乳化劑 (emulsifier)、懸浮劑 (suspending agent)、分解劑 (decomposer)、黏結劑 (binding agent)、賦形劑 (excipient)、安定劑 (stabilizing agent)、螯合劑 (chelating agent)、稀釋劑 (diluent)、膠凝劑 (gelling agent)、防腐劑 (preservative)、潤滑劑 (lubricant)、表面活性劑 (surfactant)，及其他類似或適用本發明之載劑。

【0027】 本發明提供一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物及其用途，其包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素。

【0028】 此處所述之該環狀磷脂酸結構如下式(I)：



R 是亞麻油酸、棕櫚酸或油酸；

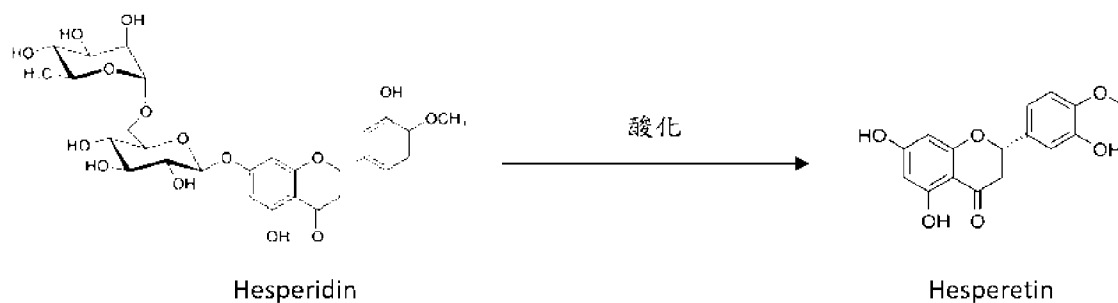
M 是鈉(Na)或氫(H)；

其中，該環磷酸鈉的分子量為300-500。

【0029】 其中，本發明實施例使用之該環狀磷脂酸係為暫玻酸(Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid, NcPA)。

【0030】 本發明另外提供一種包含如上所述之環狀磷脂酸與柑橘類黃酮的用途，其係用於製備預防和/或改善肌膚老化的醫藥組合物。

【0031】 其中，該橙皮苷(Hesperidin)為柑橘類中的天然配糖體，經酸化後，可得橙皮素(Hesperetin)，反應式如下：



【0032】 本發明係以下面之實施例予以示範闡明，但本發明不受下述實施例所限制，本發明所用之藥物、生物材料皆市售易於取得，下列僅為示例可取得之管道。

【0033】 實施例一、含環狀磷脂酸及橙皮苷(Hesperidin)的乳液之配方成分組成及製程

【0034】 下表1中公開了包含環狀磷脂酸及橙皮苷的乳液配方成分及其重量百分比：

【0035】 表1

Ingredients	Weight Percentage
Water	>80%
Propylene Glycol	1-10%
Glycerin	1-10%
Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate	1-10%
Sorbitol	<1%
Betaine	<1%
PEG-60 Hydrogenated Castor Oil	<1%
Carbomer	<1%
Triethylhexanol	<1%
Phenyl Trimethicone	<1%

Potassium Hydroxide	<1%
Polyglyceryl-10 Myristate	<1%
Hesperidin	<1%
Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid (NcPA)	<1%
Phenoxyethanol	<1%
Methylparaben	<1%

【0036】 其中該橙皮苷的較佳含量為0.01-0.5 wt%；該環狀磷脂酸的較佳含量為0.01-0.5 wt%。

【0037】 以下敘述該乳液之製備流程：

【0038】 油相：將雙-二乙氧基二甘醇環己烷1,4-二羧酸酯(Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate)、PEG-60氫化蓖麻油(PEG-60 Hydrogenated Castor Oil)、三乙基己醇(Triethylhexanol)、苯基三甲基聚矽氧烷(Phenyl Trimethicone)、聚甘油-10 肉豆蔻酸酯(Polyglyceryl-10 Myristate)、苯氧乙醇(Phenoxyethanol)及對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)加入容器A中，加熱至70°C，持續攪拌至均勻。

【0039】 水相：將聚丙烯酸(Carbomer)緩慢加入含水的容器B中，攪拌將之溶解，依序將丙二醇(Propylene Glycol)、甘油(Glycerin)及山梨糖醇(Sorbitol)加入容器B中，攪拌至均勻後，加入氫氧化鉀以便調整其稠度；加熱至70°C及持續攪拌下，分別再加入苯氧乙醇(Phenoxyethanol)及對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)，攪拌至均勻。

【0040】 油水相：持續攪拌下，將容器A中之內含物加入容器B中，於70°C下持續攪拌至均勻，之後降溫至50°C。

【0041】 乳液：將橙皮苷(Hesperidin)及暫玻酸(Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid, NcPA)依序加入容器B中，持續攪拌至均勻，以獲得該乳液。

【0042】 實施例二、含環狀磷脂酸及橙皮素(Hesperetin)的乳液之配方成分組成及製程

【0043】 下表2中公開了包含環狀磷脂酸及橙皮素的乳液配方成分及其重量百分比：

【0044】 表2

Ingredients	Weight Percentage
Water	>80%
Propylene Glycol	1-10%
Glycerin	1-10%
Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate	1-10%
Sorbitol	<1%
Betaine	<1%
PEG-60 Hydrogenated Castor Oil	<1%
Carbomer	<1%
Triethylhexanol	<1%
Phenyl Trimethicone	<1%
Potassium Hydroxide	<1%
Polyglyceryl-10 Myristate	<1%
Hesperetin	<1%
Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid (NcPA)	<1%
Phenoxyethanol	<1%
Methylparaben	<1%

【0045】 其中該橙皮素的較佳含量為0.01-0.5 wt%；該環狀磷脂酸的較佳含量為0.01-0.5 wt%。

【0046】 以下敘述該乳液之製備流程：

【0047】 油相：將雙-二乙氧基二甘醇環己烷1,4-二羧酸酯(Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate)、PEG-60氫化蓖麻油(PEG-60 Hydrogenated Castor Oil)、三乙基己醇(Triethylhexanol)、苯基三甲基聚矽氧烷(Phenyl Trimethicone)、聚甘油-10 肉豆蔻酸酯(Polyglyceryl-10 Myristate)、苯氧

乙醇(Phenoxyethanol)及對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)加入容器A中，加熱至70°C，持續攪拌至均勻。

【0048】 水相：將聚丙烯酸(Carbomer)緩慢加入含水的容器B中，攪拌將之溶解，依序將丙二醇(Propylene Glycol)、甘油(Glycerin)及山梨糖醇(Sorbitol)加入容器B中，攪拌至均勻後，加入氫氧化鉀(Potassium Hydroxide)以便調整其稠度；加熱至70°C及持續攪拌下，分別再加入苯氧乙醇(Phenoxyethanol)及對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)，攪拌至均勻。

【0049】 油水相：持續攪拌下，將容器A中之內含物加入容器B中，於70°C下持續攪拌至均勻，之後降溫至50°C。

【0050】 乳液：將橙皮苷(Hesperidin)及暫玻酸(Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid, NcPA)依序加入容器B中，持續攪拌至均勻，以獲得該乳液。

【0051】 實施例三、含環狀磷脂酸及橙皮苷(Hesperidin)的精華液之配方成分組成及製程

【0052】 下表3中公開了包含環狀磷脂酸及橙皮苷的精華液配方成分及其重量百分比：

【0053】 表3

Ingredients	Weight Percentage
Water	>75%
Butylene Glycol	5-15%
Glycerin	5-15%
Hydrogenated Lecithin	<1%
Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate	<1%
Phenoxyethanol	<1%
Carbomer	<1%
Cholesterol	<1%
Methylparaben	<1%

Hesperidin	<1%
Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid (NcPA)	<1%
Sodium Hydroxide	<1%
Xanthan Gum	<1%
Dipotassium Glycyrrhizate	<1%
Hydrogenated Lysolecithin	<1%

【0054】 其中該橙皮苷的較佳含量為0.01-0.5 wt%；該環狀磷脂酸的較佳含量為0.01-0.5 wt%。

【0055】 以下敘述該精華液之製備流程：

【0056】 油相：在室溫下，將甘油(Glycerin)、氫化卵磷脂(Hydrogenated Lecithin)、雙-二乙氧基二甘醇環己烷1,4-二羧酸酯(Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate)、苯氧乙醇(Phenoxyethanol)及氫化溶血卵磷脂(Hydrogenated Lysolecithin)加入容器A中，攪拌至均勻後，依序加入及溶解膽固醇(Cholesterol)、對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)及橙皮苷(Hesperidin)至同一容器中。

【0057】 水相：將聚丙烯酸(Carbomer)緩慢加入含有水的容器B中，攪拌將之溶解於水中。

【0058】 精華霜：在持續攪拌下，將容器A中的內含物加入容器B中攪拌均勻，之後緩慢地將氫氧化鈉(Sodium Hydroxide)加入容器B中，調整其酸鹼值。

【0059】 實施例四、含環狀磷脂酸及橙皮素(Hesperetin)的精華液之配方成分組成及製程

【0060】 下表4中公開了包含環狀磷脂酸及橙皮素的精華液配方成分及其重量百分比：

【0061】 表4

Ingredients	Weight Percentage
Water	>75%
Butylene Glycol	5-15%
Glycerin	5-15%
Hydrogenated Lecithin	<1%
Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate	<1%
Phenoxyethanol	<1%
Carbomer	<1%
Cholesterol	<1%
Methylparaben	<1%
Hesperetin	<1%
Sodium Cyclic Lysophosphatidic Acid (NcPA)	<1%
Sodium Hydroxide	<1%
Xanthan Gum	<1%
Dipotassium Glycyrrhizate	<1%
Hydrogenated Lysolecithin	<1%

【0062】 其中該橙皮素的較佳含量為0.01-0.5 wt%；該環狀磷脂酸的較佳含量為0.01-0.5 wt%。

【0063】 以下敘述該精華液之製備流程：

【0064】 油相：在室溫下，將甘油(Glycerin)、氫化卵磷脂(Hydrogenated Lecithin)、雙-二乙氧基二甘醇環己烷1,4-二羧酸酯(Bis-Ethoxydiglycol Cyclohexane 1,4-Dicarboxylate)、苯氧乙醇(Phenoxyethanol)及氫化溶血卵磷脂(Hydrogenated Lysolecithin)加入容器A中，攪拌至均勻後，依序加入及溶解膽固醇(Cholesterol)、對羥基苯甲酸甲酯(Methylparaben)及橙皮苷(Hesperidin)至同一容器中。

【0065】 水相：將聚丙烯酸(Carbomer)緩慢加入含有水的容器B中，攪拌將之溶解於水中。

【0066】精華霜：在持續攪拌下，將容器A中的內含物加入容器B中攪拌均勻，之後緩慢地將氫氧化鈉(Sodium Hydroxide)加入容器B中，調整其酸鹼值。

【0067】實施例五、含有橙皮苷(Hesperidin)或橙皮素(Hesperetin)的配方之體外皮膚滲透實驗

【0068】橙皮苷或橙皮素被調製得一系列化妝品產品，例如乳液及精華霜，該些化妝品產品以體外經皮吸收進行皮膚滲透實驗，以確認各配方產品於皮膚上的吸收效率。

【0069】該皮膚滲透實驗條件如下：

皮膚樣本：離體人皮；

皮膚滲透裝置：水平式皮膚滲透裝置；

有效的皮膚滲透面積：0.64 cm²；

接受載體：3.5 mL的10%PEG 400水溶液；

溫度：32°C；

實驗持續時間：24小時；

實驗次數：每個樣本進行3次重複。

【0070】該皮膚滲透實驗流程如下：

1. 將離體人皮安裝於水平式皮膚滲透裝置上，接受載體為10%PEG 400水溶液，溶液溫度控制在32°C，將各配方產品塗抹於皮膚表層，每一產品進行3重複實驗；
2. 接受溶液樣品：經24小時後終止實驗，吸取接受溶液為樣品；
3. 皮膚外層上殘留成分的處理：實驗終止後，將皮膚自裝置取下，平舖在平板上，以一片膠帶(Scotch Tape，約1x3 cm²大小)覆蓋在塗有產品的皮膚

上，輕施壓力後撕去該膠帶，如此重複4次，計5次，以便移除殘留在皮膚上的產品，這些樣品不進行分析；

4. 表皮層樣品：將步驟3被處理後的皮膚繼續以膠帶(Scotch Tape)依上述方法處理15次，收集該些膠帶於同一20 mL的閃爍瓶中，並以甲醇為溶劑萃取出其中的成分；
5. 內皮層樣品：將步驟4處理後的皮膚先以剪刀剪成碎片，之後加入甲醇為溶劑，並以均質機將皮膚攪細，取出其中的成分；
6. 樣本經過前述步驟處理後，以HPLC進行橙皮苷或橙皮素的含量分析。

【0071】 HPLC分析條件如下：

使用設備：Waters, Photodiode Array Detector. 自動取樣機；

管柱：C18, 5 μ m; 4.6x250 mm；

溫度：45 \pm 5 $^{\circ}$ C；

流動相：0.2% Acetic Acid (pH 3):Methanol = 70:30 by volume；

流動速度：1.0 mL/min。

【0072】 含有橙皮苷的配方產品實驗結果如下表5所示：

【0073】 表5

產品配方	配方編號 (Lot Number)	橙皮苷(Hesperidin)		
		表皮中含量 (μ g/g)	內皮中含量 (μ g/g)	透皮量 (μ g/cm ² /24 hrs)
保濕乳液 (Hydration Lotion)	P28736-02	1,462	8	0.16
保濕晚霜 (Hydration Night Cream)	P29422-01	0	0	0

【0074】 將橙皮苷配製成保濕乳液和保濕晚霜，以用於皮膚滲透研究，經上述實驗方法處理皮膚樣品後，測定每個樣品中橙皮苷的含量。

【0075】如表5所示，本實施例所述之保濕乳液(Hydration Lotion)其橙皮苷的含量分別為每克表皮1.4mg和內皮8 μ g，橙皮苷穿透皮膚層進入受體載體的含量經測定為0.16 μ g/cm²/24 hrs；對於保濕晚霜(Hydration Night Cream)，結果顯示在接受載體中未檢測到橙皮苷，表示該配方不會使橙皮苷在表皮或真皮中沉積。

【0076】含有橙皮素的配方產品實驗結果如下表6所示：

【0077】表6

產品配方	配方編號 (Lot Number)	橙皮素(Hesperetin)		
		表皮中含量 (μ g/g)	內皮中含量 (μ g/g)	透皮量 (μ g/cm ² /24 hrs)
抗衰老乳液 (Anti-aging Lotion)	P29433-01	14	14	1.73
抗衰老精華液 (Anti-aging Essence)	P29429-01	26	131	2.35
抗衰老霜 (Anti-aging Cream)	P29431-01	1	1	0

【0078】將橙皮素配製成抗衰老乳液、抗衰老精華液及抗衰老霜，以用於皮膚滲透研究，經上述實驗方法處理皮膚樣品後，測定每個樣品中橙皮素的含量。

【0079】如表6所示，對於抗衰老乳液(Anti-aging Lotion)，橙皮素的含量分別為每克表皮14 μ g和內皮14 μ g，橙皮素穿透皮膚層進入受體載體的含量經測定為1.73 μ g/cm²/24 hrs；對於抗衰老精華液(Anti-aging Essence)，橙皮素的含量分別為每克表皮26 μ g和內皮131 μ g，橙皮素穿透皮膚層進入受體載體的含量經測定為2.35 μ g/cm²/24 hrs；對於抗衰老霜(Anti-aging Cream)，橙皮素的含量分別為每克表皮1 μ g和內皮1 μ g，結果顯示在接受載體中未檢測到橙皮素，表示該配方不會使橙皮素在表皮或真皮中沉積。

【0080】 根據上述實驗結果可知，當在化妝品中配製橙皮苷或橙皮素時，其能夠被遞送到皮膚的表皮和真皮層中，橙皮苷在每克皮膚表層的吸收量為0.1mg-5mg而內層的吸收量為1 μ g-50 μ g，橙皮素在每克皮膚表層的吸收量為0.1 μ g-50 μ g而內層的吸收量為0.1 μ g-10 μ g，其中又以抗衰老精華液(Anti-aging Essence) 配方編號：P29429-01，具有最佳的透皮量，該配方含有橙皮素0.01-0.5 wt%和暫玻酸(NcPA) 0.01-0.5 wt%，故以此配方進行後續人體臨床實驗，以確認其抗肌膚衰老之功效。

【0081】 實施例六、含環狀磷脂酸及橙皮素(Hesperetin)之抗衰老精華液之人體臨床試驗

【0082】 本發明之一實施例為了確認含有環狀磷脂酸及橙皮素之化妝品組合物是否具有預防和/或改善肌膚老化之功效，以上述配方編號：P29429-01進行人體臨床試驗，以確認人體的使用效果及安全性。

【0083】 該配方P29429-01為抗衰老精華液，其中包含橙皮素0.01-0.5wt%及暫玻酸(NcPA) 0.01-0.5wt%。

【0084】 臨床試驗方法：將35位40歲至65歲臉部皮膚有老化現象的受試者接受為期12週之該配方P29429-01治療，並檢測各項皮膚狀態數值的改變，以評估其功效，其中12位受試者額外接受皮膚組織切片附屬研究；該配方P29429-01每次的使用量約為一個手指腹大小(約0.5 c.c.)，每天早晚各施用一次。

【0085】 實施例七、皮膚角質層含水量及皮膚彈力上升

【0086】 本發明之一實施例評估人體臨床試驗前1週(基線)、第4週(Week 4)及第12週(Week 12)時，其臉部皮膚含水量及皮膚彈力對基線(Baseline)之改變值，並視為主要療效指標。

【0087】 受試者臉部皮膚含水量試驗結果如下表7所示：

【0088】表7

Time	N	Mean	S.D.	Min.	Max.
Baseline	35	61.9	15.19	24.5	84.2
Week 4	35	67.0	13.72	38.7	97.6
Week12	35	67.6*	12.17	38.5	88.2

星號*表示與基線值之間的顯著差異性(* p<0.05; ** p < 0.01;*** p < 0.001)

【0089】如表7所示，主要療效指標皮膚角質層含水量與基線值比較中，在第12週具有統計上有意義的改善，其中基線平均值為61.86(±15.19)，第12週時平均值為67.60(±12.17)，p值為0.0148，係表示皮膚角質層含水量有顯著上升；且於使用4週後皮膚角質層含水量便提升為67.00(±13.72)，其鎖水量有約10%的「穩定提升」。

【0090】受試者臉部皮膚彈力試驗結果如下表8所示：

【0091】表8

Time	N	Mean	S.D.	Min.	Max.
Baseline	35	0.66	0.08	0.467	0.857
Week 4	35	0.71	0.07	0.58	0.879
Week12	35	0.73***	0.1	0.543	1

星號*表示與基線值之間的顯著差異性(* p<0.05; ** p < 0.01;*** p < 0.001)

【0092】如表8所示，主要療效指標皮膚彈力與基線值比較中，在第12週的改善具有統計上的意義，其中基線平均值為0.66(±0.08)，第12週時平均值為0.73(±0.1)，p值小於0.0001，係表示使用12週後皮膚彈力便有超過10%的改善；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善皮膚含水量及皮膚彈力之功效。

【0093】實施例八、皮膚黑色素改善

【0094】本發明之一實施例評估人體臨床試驗前1週(基線)、第4週(Week 4)及第12週(Week 12)時，臉部皮膚黑色素對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0095】受試者臉部皮膚黑色素試驗結果如下表9所示：

【0096】表9

Time	N	Mean	S.D.	Min.	Max.
Baseline	35	185.03	31.23	136	258
Week 4	35	182.74	29.0	129	258
Week12	35	190.29	38.66	125	290

【0097】如表9所示，療效指標皮膚黑色素與基線值比較中，基線平均值為185.03(\pm 31.23)，第12週時平均值為190.29(\pm 38.66)，係表示受試者於臉部使用12週後黑色素有3%的改善；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善皮膚黑色素之功效。

【0098】實施例九、皮膚油脂含量改善

【0099】本發明之一實施例評估人體臨床試驗前1週(基線)、第4週(Week 4)及第12週(Week 12)時，脸部皮膚油脂含量對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0100】受試者脸部皮膚油脂含量試驗結果如下表10所示：

【0101】表10

Time	N	Mean	S.D.	Min.	Max.
Baseline	35	47.29	35.42	5	133
Week 4	35	44.51	32.28	3	143
Week12	35	41.8	32.41	3	154

【0102】如表10所示，療效指標皮膚油脂含量與基線值比較中，基線平均值為47.29(\pm 35.42)，第12週時平均值為41.8(\pm 32.41)，係表示受試者於脸部使用

12週後皮膚油脂含量有11%的改善；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善皮膚油脂含量之功效。

【0103】 實施例十、經皮水分散失改善

【0104】 本發明之一實施例評估人體臨床試驗前1週(基線)、第4週(Week 4)及第12週(Week 12)時，受試者之經皮水分散失(Transepidermal water loss/TEWL；Tewameter)對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0105】 表11

Time	N	Mean	S.D.	Min.	Max.
Baseline	35	13.55	17.45	-29.7	99.9
Week 4	35	10.99	5.69	4.0	28.6
Week12	35	11.18	5.87	2.7	31.8

【0106】 如表11所示，療效指標經皮水分散失與基線值比較中，基線平均值為13.55(±17.45)，第12週時平均值為11.18(±5.87)，係表示受試者於臉部使用12週後經皮水分散失有18%的改善；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善經皮水分散失之功效。

【0107】 實施例十一、活體組織切片之玻尿酸染色分數改善

【0108】 本發明之一實施例於人體臨床試驗前1週(基線)及第12週(Week 12)時，進行活體皮膚組織切片，以分析受試者之玻尿酸染色分數(Hyaluronic acid Score)對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0109】 國際間依據玻尿酸染色結果之等級可劃分成不同的分數，其透過膠體鐵染色(Colloidal iron stain)使標的物細胞呈現普魯士藍，而藍色處越粗且密集，即具有越高之染色分數，亦代表其含有較多之玻尿酸，圖1係為玻尿酸染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準(reference standard)圖；本實施例比較基線之玻尿酸染色分數及12周後玻尿酸染色分數之改變值，本實施例之所有受試者結果統計於下表12：

【0110】表12

	玻尿酸染色分數(Hyaluronic acid Score)						平均染色分數
	2分	3分	4分	5分	6分	7分	
基線 (個案數)	1件	4件	2件	1件	4件	0件	4.25分
第12週 (個案數)	0件	0件	2件	4件	3件	3件	5.58分

【0111】如表12所示，活體組織切片之平均玻尿酸染色分數於基線時為4.25分，經12週之人體試驗後，平均活體組織切片之玻尿酸染色分數提升為5.58分，且兩組之間的顯著差異性(P-value) 透過單因子多樣本中位數差異檢定(Kruskal-Wallis Test)為0.033572，表示其具有顯著差異，結果表示，使用12週後皮下玻尿酸染色分數顯著提升達31%。

【0112】其中，本實施例取其中之一受試者之玻尿酸染色圖為例，如圖2所示，在基線時該受試者玻尿酸染色分數為3分，而經過12周試驗後，玻尿酸染色分數提升為7分，其藍色處變很粗且密集；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善玻尿酸染色分數之功效。

【0113】實施例十二、活體組織切片之膠原蛋白染色分數改善

【0114】本發明之一實施例於人體臨床試驗前1週(基線)及第12週(Week12)時，進行活體皮膚組織切片，以分析受試者之膠原蛋白染色分數(Collagen Score)對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0115】國際間依據膠原蛋白染色之等級可劃分成不同的分數區間，其中，若所得之染色結果圖顏色越深且密集，即具有越高之染色分數，亦代表其具有較多之膠原蛋白含量；本實施例分別研究第一型膠原蛋白(Type I)及第三

型膠原蛋白(Type III)之結果，並比較基線之膠原蛋白染色分數及12周後膠原蛋白染色分數之改變值；第一型膠原蛋白之所有受試者結果統計於下表13：

【0116】 表13

	第一型膠原蛋白染色分數(Type I Collagen Score)					平均染色分數
	3分	4分	5分	6分	7分	
基線 (個案數)	1件	2件	8件	1件	0件	4.75分
第 12 週 (個案數)	0件	1件	6件	4件	1件	5.42分

【0117】 如表13所示，活體組織切片之平均第一型膠原蛋白染色分數於基線值時為4.75分，經12週之人體試驗後，平均活體組織切片之第一型膠原蛋白染色分數提升為5.42分，且兩組之間的顯著差異性(P-value) 透過單因子多樣本中位數差異檢定(Kruskal-Wallis Test)為0.0313，表示其具有顯著差異，結果表示，使用12週後皮下第一型膠原蛋白染色分數顯著提升達15%。

【0118】 其中，圖3係為第三型膠原蛋白染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準圖，第三型膠原蛋白之所有受試者結果統計於下表14：

【0119】 表14

	第三型膠原蛋白染色分數(Type III Collagen Score)				平均染色分數
	4分	5分	6分	7分	
基線 (個案數)	5件	5件	2件	0件	4.75分
第 12 週 (個案數)	1件	7件	2件	2件	5.42分

【0120】 如表14所示，活體組織切片之平均第三型膠原蛋白染色分數於基線值時為4.75分，經12週之人體試驗後，平均活體組織切片之第三型膠原蛋白染色分數提升為5.42分，且兩組之間的顯著差異性(P-value) 透過單因子多樣本

中位數差異檢定(Kruskal-Wallis Test)為0.0156，表示其具有顯著差異，結果表示，使用12週後皮下第三型膠原蛋白染色分數顯著提升達15%。

【0121】其中，本實施例取其中之一受試者之第三型膠原蛋白染色圖為例，如圖4所示，在基線時該受試者膠原蛋白染色分數為5分，而經過12周試驗後，膠原蛋白染色分數提升為7分；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善膠原蛋白染色分數之功效。

【0122】 實施例十三、活體組織切片之彈力纖維碎片染色分數改善

【0123】本發明之一實施例於人體臨床試驗前1週(基線)及第12週(Week12)時，進行活體皮膚組織切片，以分析受試者之彈力纖維碎片染色分數(Elastic Fiber Score)對基線(Baseline)之改變值，並視為療效指標。

【0124】彈力纖維碎片染色依據等級可劃分成不同的分數，由於皮膚光老化現象中的彈力纖維會產生碎裂，故國際間的評分等級根據彈力纖維之碎裂程度進行劃分，另外，若彈力纖維在真皮層與表皮成垂直結構，代表其皮膚狀態較為「年輕」，而老化的肌膚較難發現彈力纖維的垂直排列，圖5係為彈力纖維碎片染色3分(Score 3)、5分(Score 5)及7分(Score 7)之分數區間參考標準圖；本實施例比較基線之彈力纖維碎片染色分數及12周後彈力纖維碎片染色分數之改變值，本實施例之所有受試者結果統計於下表15：

【0125】 表15

	彈力纖維碎片染色分數(Elastic Fiber Score)							平均染色分數
	3.5分	3.8分	4分	4.3分	4.5分	4.8分	5分	
基線 (個案數)	3件	2件	1件	2件	1件	2件	1件	4.15分
第12週 (個案數)	0件	0件	2件	1件	2件	3件	4件	4.65分

【0126】如表12所示，活體組織切片之平均彈力纖維碎片染色分數於基線值時為4.15分，經12週之人體試驗後，平均活體組織切片之彈力纖維碎片染色分數提升為4.65分，且兩組之間的顯著差異性(P-value) 透過單因子多樣本中位數差異檢定(Kruskal-Wallis Test)為0.0029，表示其具有顯著差異，結果表示，使用12週後皮下彈力纖維碎片染色分數顯著提升達12%。

【0127】其中，本實施例取其中之一受試者之彈力纖維碎片染色圖為例，如圖6所示，在基線時該受試者彈力纖維碎片染色分數為3分，而經過12周試驗後，彈力纖維碎片染色分數提升為7分；由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善彈力纖維碎片染色分數之功效。

【0128】 實施例十四、VISIA高階皮膚檢測儀評估一皺紋

【0129】本發明之一實施例於人體臨床試驗前1週(基線)及第12週(Week 12)時，以VISIA高階皮膚檢測儀評估臉部皺紋對基線(Baseline)之改變值，以分析受試者之皺紋改善程度，並視為療效指標。

【0130】其中，本實施例取其中之一受試者之VISIA高階皮膚檢測儀評估結果圖為例，並分別針對左臉及右臉之皺紋改善程度進行評估。

【0131】如圖7所示，在右臉基線時該受試者之皺紋參數之平均值百分位數為24%，而經過12周試驗後，皺紋參數之平均值百分位數提升為43%，根據實驗結果，其右臉之皺紋改善程度高達79%，根據實驗結果，其右臉之紋理改善程度達16%，其實驗結果如表16所示：

【0132】 表16

	特徵計數	分值	百分位數
Baseline	45	10.645	24%
Week 12	22	7.464	43%

【0133】如圖8所示，在左臉基線時該受試者之皺紋參數之平均值百分位數為13%，而經過12周試驗後，皺紋參數之平均值百分位數提升為49%，根據實驗結果，其左臉之皺紋改善程度高達277%，根據實驗結果，其右臉之紋理改善程度達16%，其實驗結果如表17所示：

【0134】表17

	特徵計數	分值	百分位數
Baseline	45	13.919	13%
Week 12	30	6.742	49%

【0135】由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善皺紋之功效。

【0136】**實施例十五、VISIA高階皮膚檢測儀評估一紋理**

【0137】本發明之一實施例於人體臨床試驗前1週(基線)及第12週(Week 12)時，以VISIA高階皮膚檢測儀評估臉部紋理對基線(Baseline)之改變值，以分析受試者之紋理改善程度，並視為療效指標。

【0138】其中，本實施例分別取受試者之VISIA高階皮膚檢測儀評估結果圖為例，並分別針對左臉及右臉之紋理改善程度進行評估。

【0139】如圖9所示，在右臉基線時該受試者之紋理參數之平均值百分位數為81%，而經過12周試驗後，紋理參數之平均值百分位數提升為94%，根據實驗結果，其右臉之紋理改善程度達16%，其實驗結果如表18所示：

【0140】表18

	特徵計數	分值	百分位數
Baseline	494	1.948	81%
Week 12	257	0.845	94%

【0141】如圖10所示，在左臉基線時該受試者之紋理參數之平均值百分位數為70%，而經過12周試驗後，紋理參數之平均值百分位數提升為89%，根據實驗結果，其左臉之皺紋改善程度達27%，其實驗結果如表19所示：

【0142】表19

	特徵計數	分值	百分位數
Baseline	934	3.433	70%
Week 12	433	1.464	89%

【0143】由上述結果可知，本案之化妝品組合物具有改善紋理之功效。

【0144】本發明揭示一種預防和/或改善肌膚老化的方法，係於室溫中，在需要治療的肌膚上透皮或局部施以一種化妝品組合物，該化妝品組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素。其中，該肌膚包含正常皮膚和老化的皮膚，該肌膚老化係選自於由皺紋、細紋、暗沉、脫水、色素不足和肌膚彈性不足所組成的群組。

【0145】其中，該預防和/或改善肌膚老化包含但不限於提升肌膚角質層含水量、提升肌膚彈力、增強纖維母細胞中膠原蛋白或彈性蛋白的表現或彈性、增強纖維母細胞之遷移、提升抗氧化能力、增加玻尿酸的生成、改善肌膚皺紋及紋理、改善黑色素改善、降低油脂含量及降低經皮水分散失。

【0146】綜上所述，本發明提供之組合物於施用後能穩定提升使用者肌膚鎖水量，並且改善經皮水分散失，進一步維持使用者肌膚之含水量，防止肌膚因為缺水進而導致皮膚老化的加速，同時降低油脂含量並改善黑色素，使肌膚看起來更加細緻、緊實；另外，本發明亦有益於提升玻尿酸、膠原蛋白及彈力纖維碎片的合成與功效，使其達到提升彈力纖維及增加肌膚彈力等功效，並於

臨床試驗中進一步證明其具有改善肌膚皺紋及紋理之效果，並且配方天然、無不良副作用，使用上不僅具有實質功效更具有安全性。

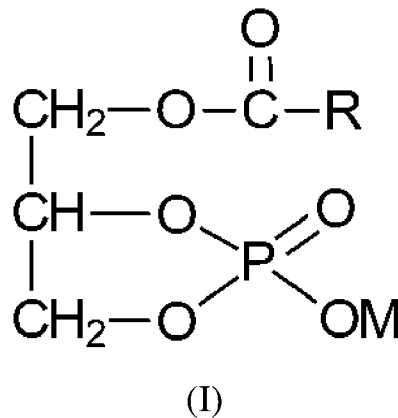
【0147】 以上所述之實施例僅係為說明本發明之技術思想及特點，其目的使熟習此項技藝人士能夠瞭解本發明之內容並據以實施，當不能以之限定本發明之專利範圍，即凡依本發明所揭示之精神所作之均等變化或修飾，仍應涵蓋在本發明之專利範圍內。

【0148】 上述多項功效，已充分符合新穎性及進步性之法定發明專利要件，爰依法提出申請，懇請 貴局核准本件發明專利申請案，以勵發明，至感德便。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種用於預防和/或改善肌膚老化的化妝品組合物，其包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素；該環狀磷脂酸的重量百分比為 0.01%-0.5%；該柑橘類黃酮的重量百分比為 0.01%-0.5%；該組合物在離體人皮測試的透皮量為 16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/24 \text{ hrs}$ 以上，在臨床實驗經自願測試者使用後可以達成皮膚角質層含水量及皮膚彈力上升、黑色素改善、油脂含量改善、經皮水分散失改善、玻尿酸增加、膠原蛋白增加、彈力纖維增加、皺紋紋理改善。

【請求項2】 如申請專利範圍第1項所述之化妝品組合物，其中，該環狀磷脂酸結構如下式(I)：



R 是亞麻油酸、棕櫚酸或油酸；

M 是鈉(Na)或氫(H)；

其中，該環狀磷脂酸的分子量為 300-500。

【請求項3】 如申請專利範圍第1項所述之化妝品組合物，其中，該環狀磷脂酸係為暫玻酸(NcPA)。

【請求項4】 如申請專利範圍第1項所述之化妝品組合物，其中該化妝品組合物為軟膏、乳液、乳霜、凝膠、滴劑、噴霧、液劑、面膜或其他醫藥、美妝學上可接受之載劑。

【請求項5】 如申請專利範圍第1項所述之化妝品組合物，其中該化妝品組合物可包含保濕劑、界面活性劑、紫外線吸收劑、香料、抗氧化劑、防腐防黴劑、體質顏料、著色顏料等色劑、pH調整劑、溶劑或其他於通常之化妝品或醫藥品等皮膚外用組合物中所使用之成分。

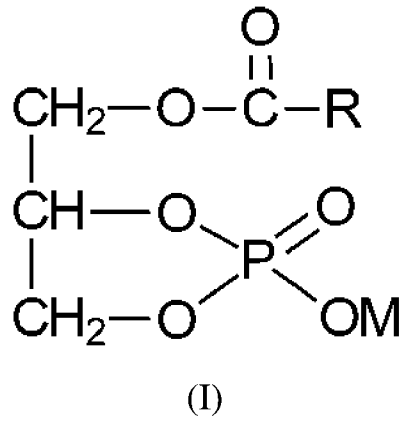
【請求項6】 一種如申請專利範圍第1項所述之化妝品組合物用於保養肌膚的用途，該保養肌膚是預防和/或改善肌膚老化。

【請求項7】 如申請專利範圍第6項所述之用途，其中，該肌膚係為正常皮膚和老化的皮膚。

【請求項8】 如申請專利範圍第6項所述之用途，其中，該肌膚係選自於由皺紋、細紋、暗沉、脫水、色素不足和肌膚彈性不足所組成的群組。

【請求項9】 如申請專利範圍第6項所述之用途，其中，該預防和/或改善肌膚老化係為提升肌膚角質層含水量、提升肌膚彈力、增強纖維母細胞中膠原蛋白或彈性蛋白的表現或彈性、增強纖維母細胞之遷移、提升抗氧化能力、增加玻尿酸的生成、改善肌膚皺紋及紋理、改善黑色素、降低油脂含量、降低經皮水分散失。

【請求項10】 一種化妝品組合物用於預防和/或改善肌膚老化的用途，該化妝品組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素，其中，該環狀磷脂酸結構如下式(I)：

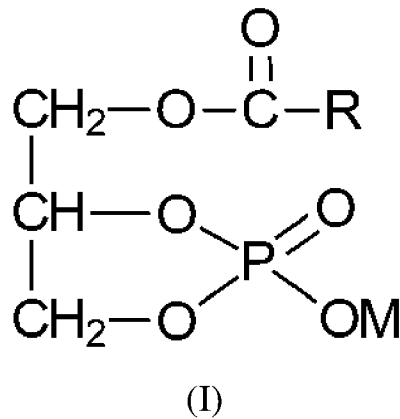


R 是亞麻油酸、棕櫚酸或油酸；

M 是鈉(Na)或氫(H)；

其中，該環狀磷脂酸的分子量為 300-500。

【請求項11】 一種組合物的用途，其係用於製備預防和/或改善肌膚老化的醫藥組合物，該組合物包含環狀磷脂酸與柑橘類黃酮，其中該柑橘類黃酮係為橙皮苷和/或橙皮素，其中，該環狀磷脂酸結構如下式(I)：

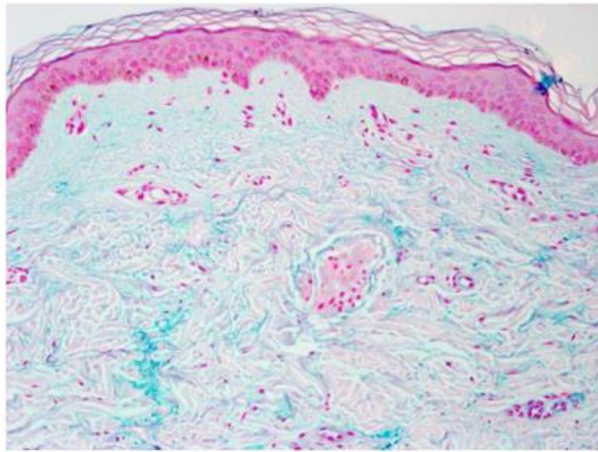


R 是亞麻油酸、棕櫚酸或油酸；

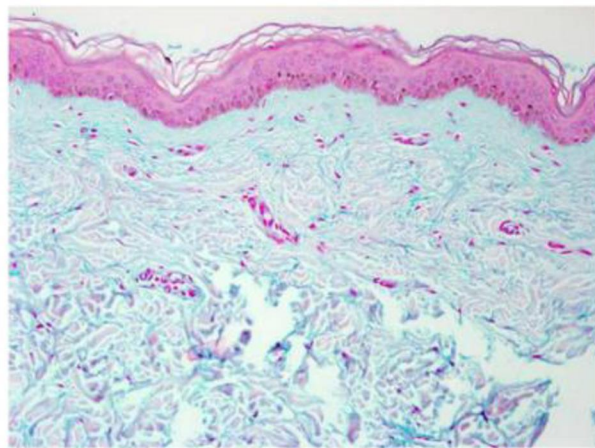
M 是鈉(Na)或氫(H)；

其中，該環狀磷脂酸的分子量為 300-500。

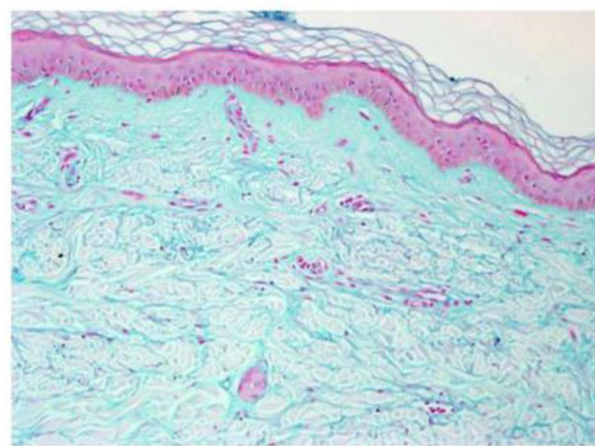
【發明圖式】



分數 3

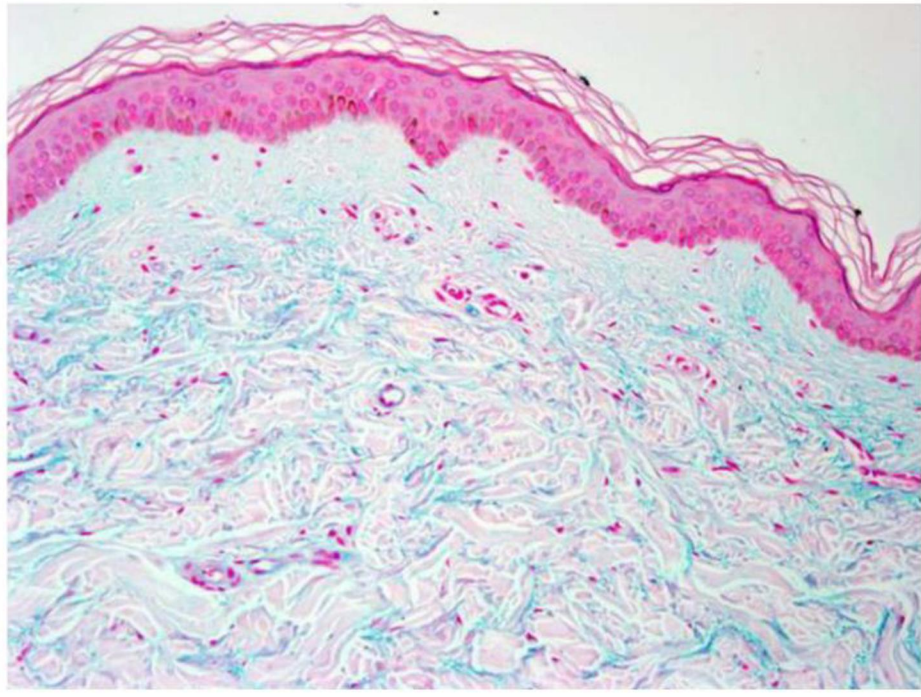


分數 5

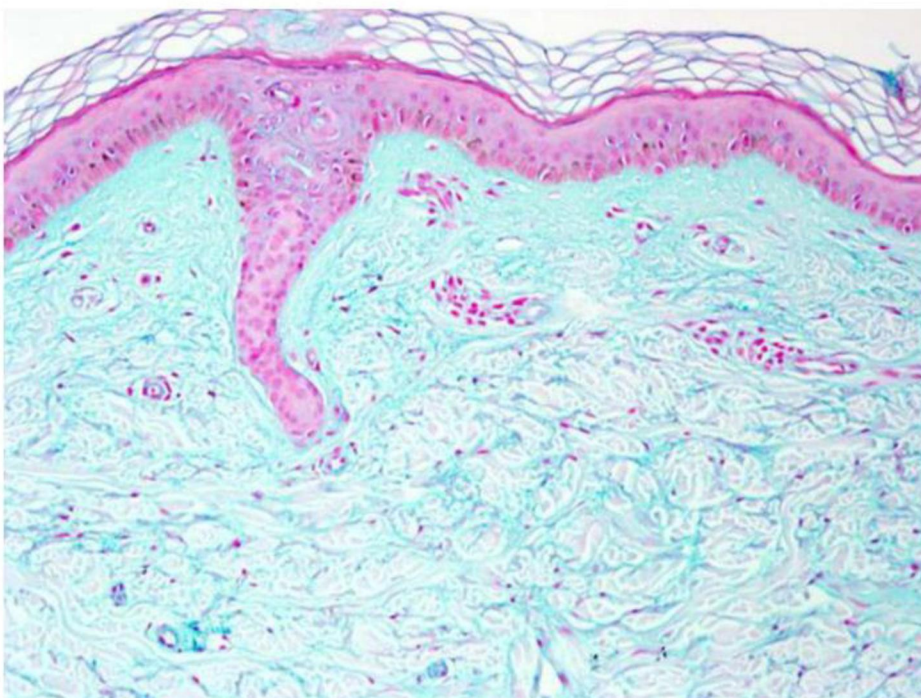


分數 7

【圖1】

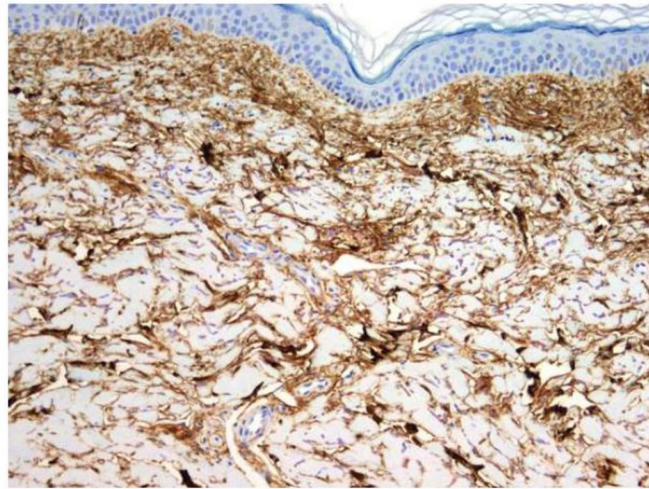


基線：分數 3

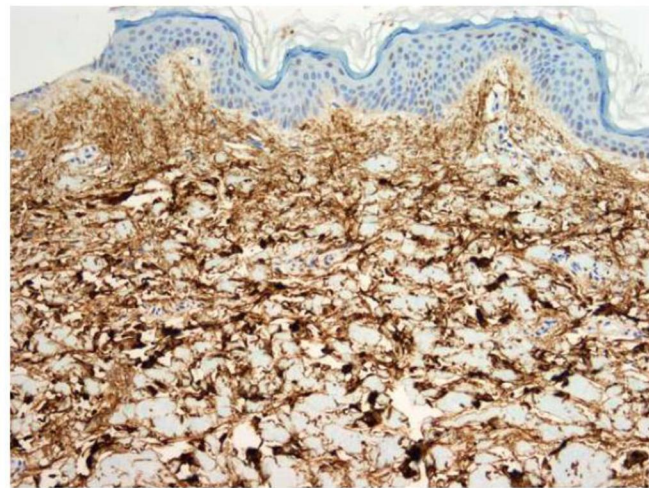


第 12 週：分數 7

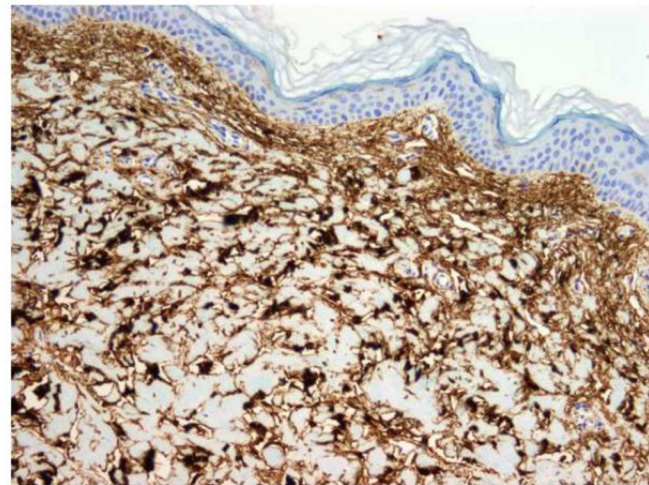
【圖2】



分數 3

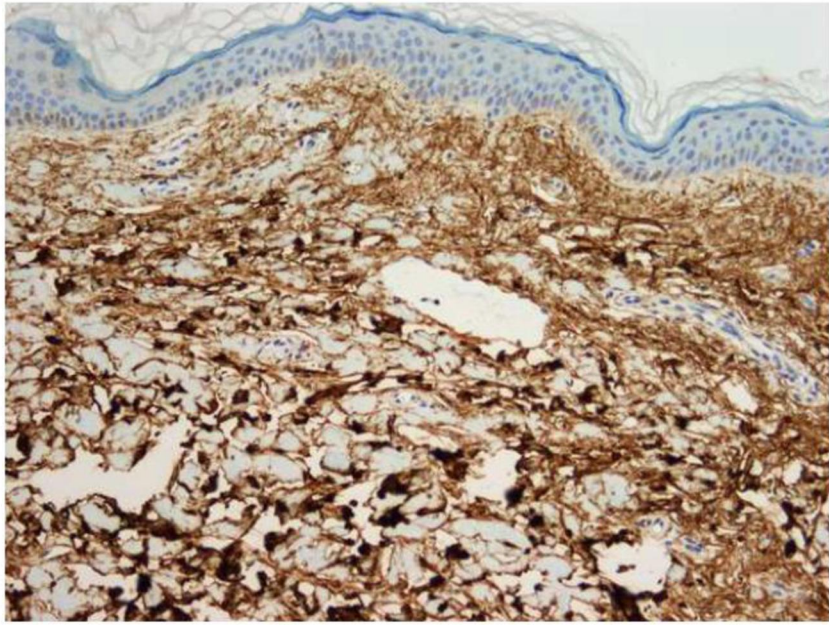


分數 5

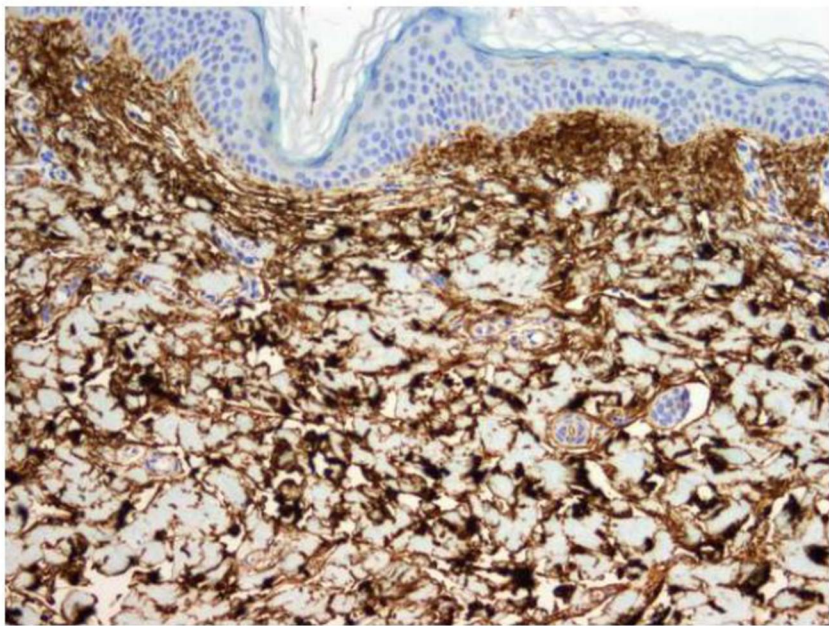


分數 7

【圖3】

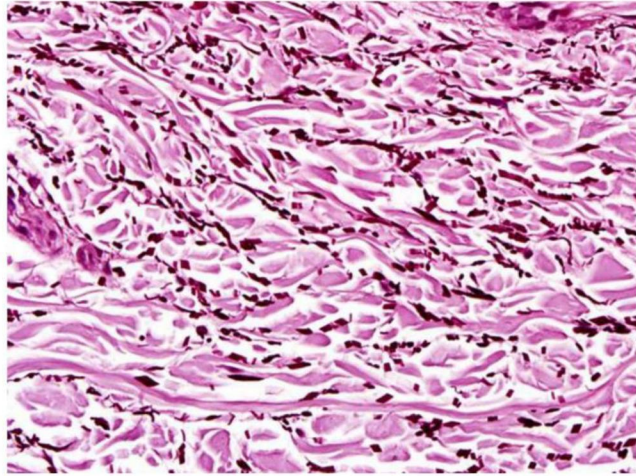


基線：分數 5

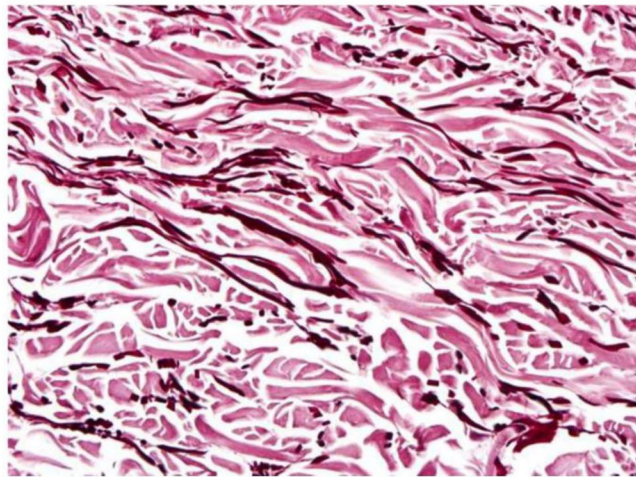


第 12 週：分數 7

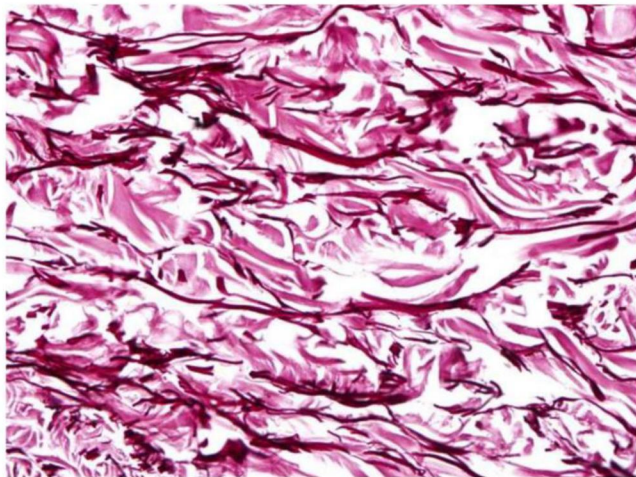
【圖4】



分數 3

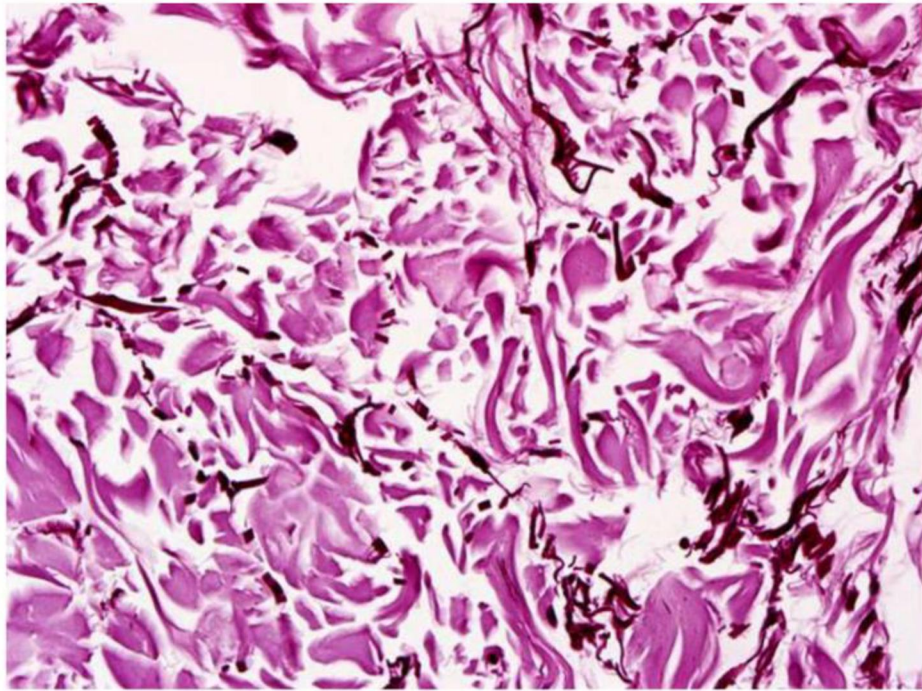


分數 5

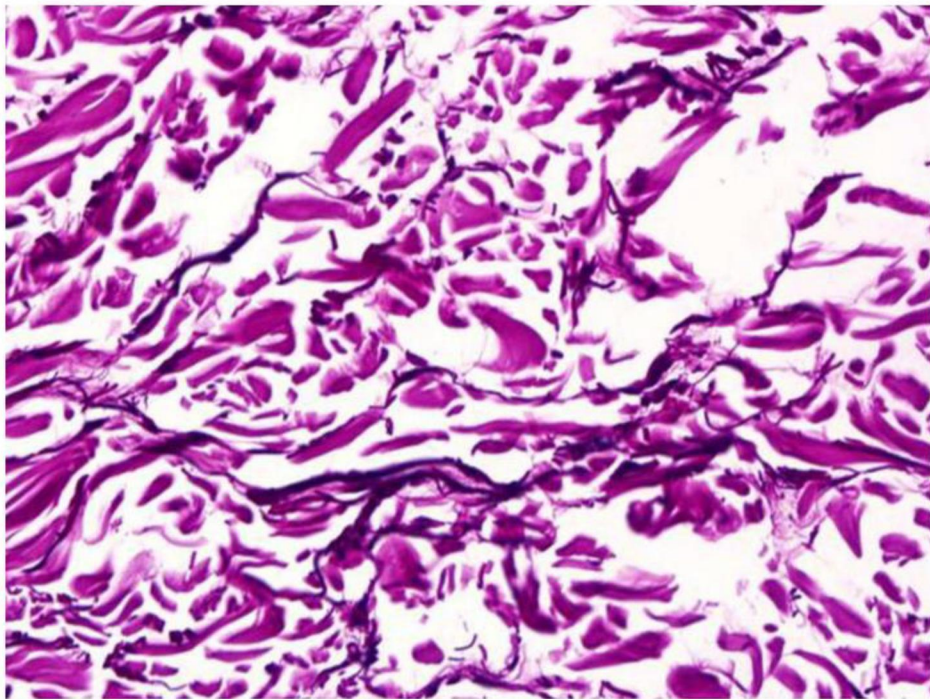


分數 7

【圖5】



基線：分數 3



第 12 週：分數 7

【圖6】



基線

第12週

【圖7】



基線

第12週

【圖8】



基線

第12週

【圖9】



基線

第12週

【圖10】