

# 發明專利說明書

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

**公告本**

※申請案號：95111812

※申請日期：95年04月03日

※IPC分類：A61K 7/16,

## 一、發明名稱：

A61P 9/10, 25/28 (2006.1)

(中) 具低含量 4' - O - 甲基吡哆醇及 / 或雙黃酮之銀杏萃取物的改良製法

(英) Improved method for preparing ginkgo extracts having a low content of 4'-O-methyl pyridoxine and/or biflavones

## 二、申請人：(共 1 人)

1. 姓名：(中) 拜歐蘭塔製藥有限公司

(英) BIOPLANTA ARZNEIMITTEL GMBH

代表人：(中) 1. 卡漢茲 席沃

(英) 1. SIEWERT, KARL-HEINZ

地址：(中) 德國艾特令跟巴霍夫街五號

(英) Bahnhofstrasse 5, 76275 Ettlingen, Germany

國籍：(中英) 德國 GERMANY

## 三、發明人：(共 4 人)

1. 姓名：(中) 克烈蒙斯 艾德麥爾

(英) ERDELMEIER, CLEMENS

國籍：(中) 德國

(英) GERMANY

2. 姓名：(中) 赫曼 霍爾

(英) HAUER, HERMANN

國籍：(中) 德國

(英) GERMANY

3. 姓名：(中) 艾崗 寇

(英) KOCH, EGON

國籍：(中) 德國

(英) GERMANY

4. 姓名：(中) 法蘭瑞奇 藍

國籍：(英) LANG, FRIEDRICH  
(中) 德國  
(英) GERMANY

#### 四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利  主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 德國 ; 2005/05/03 ; 102005020685.9  有主張優先權
2. 德國 ; 2005/12/23 ; 102005061948.7  有主張優先權



國籍：(英) LANG, FRIEDRICH  
(中) 德國  
(英) GERMANY

#### 四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利  主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 德國 ; 2005/05/03 ; 102005020685.9  有主張優先權
2. 德國 ; 2005/12/23 ; 102005061948.7  有主張優先權

(1)

## 九、發明說明

## 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種改良的多步驟方法，用以從銀杏（*ginkgo biloba*）製備具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮之萃取物，其中經由過濾過吸附劑樹脂及／或離子交換劑完成耗竭處理且將要取出的物質保留在樹脂之上。本發明進一步關於一種可用根據本發明方法從銀杏得到之具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮之萃取物，及其用途。

## 【先前技術】

數十年以來，得自銀杏葉子的萃取物都用為藥劑。彼等於目前係用來治療各種不同類型的痴呆症和其徵候以及腦和周圍血循環疾病。與其效益相關的成分為萜內酯類（銀杏苦內酯 A、B、C 和白果內酯）以及黃酮糖苷類（槲皮黃素、山奈黃素和異鼠李黃素）。銀杏葉也含無助於所欲效力，反而可能促成危險與副作用之化合物。除了非極性植物成分諸如銀杏酸之外，彼等化合物包括 4'-O-甲基吡哆醇和雙黃酮類。於一有效力且同時儘可能安全且副作用儘可能低的銀杏萃取物中，此等化合物因而必須不存在到最大可能程度。

4'-O-甲基吡哆醇可能造成中毒徵候諸如抽搐發作和神志喪失。因此，此種化合物也稱為銀杏毒素。在銀杏中取得之雙黃酮類展現出免疫毒性潛在性且可能誘發接觸

(3)

酸性陽離子交換劑保留4'-O-甲基吡哆醇且將雙黃酮吸附在活性碳上。較佳地，此等耗竭步驟係在根據EP 1 037 646 B1的方法之步驟f) (第3頁)之後進行，亦即，在“用鉛化合物或不溶性聚醯胺處理該溶液”之後。EP 1 307 646 B1的方法係根據原來在DE 39 40 091 C2中所述方法。

於EP 1 037 646 B1中，雙黃酮和4'-O-甲基吡哆醇的耗竭係在該方法的一階段(步驟f))進行，其中包含相當高含量的鉛鹽和鉍鹽使得必須用到增量的離子交換劑。

更進一步者，雙黃酮和4'-O-甲基吡哆醇的耗竭係僅以合併方式敘述及主張。不過，根據本來可能建立的限制及對萃取組成物僅可能低改質的要求，宜於只移除掉雙黃酮或4'-O-甲基吡哆醇。

更進一步者，在EP 1 037 646 B1中渴求的低於50 ppm的4'-O-甲基吡哆醇和少於100 ppm的雙黃酮，仍然為較地高者。由於EP 1 037 646 B1沒有述及比較實施例，因此其在實施例2和3中達到的實際耗竭程度不能從該參考文件看到。

因此，於本發明之下的目的為提供一種製備具低含量4'-O-甲基吡哆醇及/或低含量雙黃酮而不具上述缺點的銀杏萃取物之方法，特別者。

- 其中採用可充分回收及/或非常不貴的吸附劑，
- 其可導致低於20 ppm，較佳者低於10 ppm且特別較

(5)

，較佳者 40—60℃ 的溫度下萃取銀杏的葉子（藥物）；其中藥物：溶劑比例為 1：4 至 1：20，較 1：5 至 1：10；

b) 經由蒸發該溶劑到最多 10 重量%（較佳者最多 5 重量%）之含量以分離該有機溶劑，其中於最後蒸餾步驟中可以加入水；

c) 用水稀釋剩餘的水溶液到 5 至 25 重量%（較佳者 15 至 20 重量%）之固體含量，將溶液冷卻到低於 25℃（較佳者約 10 至 12℃）之溫度且使殘餘水溶液靜置到形成沉澱為止；

d) 用硫酸銨處理剩餘的水溶液（較佳者高達 40 重量%，特別較佳者 25 至 35 重量%之含量）且隨後使用甲基乙基酮或甲基乙基酮和丙酮的混合物（較佳者以 9：1 至 4：6，特別者 6：4 之比例）萃取該溶液至少一次；

e) 將所得萃取液濃縮（較佳者到 50 至 70 重量%的固體含量）且用乙醇—水混合物稀釋該萃取液而得含有 50 重量%的水和 50 重量%乙醇，且具有固體含量 10 重量%之溶液；

f) 用鉛化合物（較佳者醋酸鉛、醋酸氫氧化鉛、硝酸鉛或氫氧化鉛水散液）處理該溶液直到顏色從棕色變到琥珀色，或用不溶性聚醯胺（較佳者聚醯胺 6、聚醯胺 6,6、或交聯聚乙炔基吡咯烷酮（polyvidone））處理該溶液；

g) 使用有 60 至 100℃ 的沸點之脂族或環脂族溶劑萃

(6)

取該濾過的溶液；

h) 將剩餘的水－醇溶液濃縮，接著用硫酸銨處理且用甲基乙基酮和乙醇萃取，（該溶液較佳地係經減壓濃縮到最多約 5% 的乙醇含量，添加硫酸銨到 20 重量%之含量且使用 8:2 至 5:5，較佳者 6:4 之比例的溶劑萃取）；

i) 濃縮所得有機相到 50 至 70 重量%之固體含量；

k) 將濃縮物溶解在具 1 至 3 個碳原子的烷醇之水溶液內且視需要過濾該產物；

l) 過濾過吸附劑樹脂及／或離子交換劑，其中要取出的物質係保留在該樹脂之上；以及

m) 將濃縮物減壓乾燥（較佳者在 60 至 80°C 的最大溫度下）而得到具有少於 5% 水含量之乾萃取物。

本發明方法的優點在於該耗竭步驟係在方法的末端進行。如此，只需要用到較少量的離子交換劑且可得到特別低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮。

於步驟 l) 中的較佳吸附劑樹脂為以視需要經取代的苯乙烯／二乙烯基苯為基底的樹脂諸如 Diaion HP-20、HP-21 或 Sepabeads SP-207 和 SP-850。較佳的離子交換劑為強酸性離子交換劑諸如 Merck I 或 Amberlite IR-120。該過濾操作可隨意地包括使用其他溶劑的一般溶析。步驟 k) 中的烷醇水溶液為分別具有 20-90 重量%的甲醇、乙醇、正丙醇或異丙醇之水溶液，較佳者為乙醇水溶液，特別較佳者為有 40 至 60 重量%的濃度者。

(7)

本發明的一項主體為萃取物，特別是乾萃取物，其可用本發明方法得到且其展示出下列含量：

- 少於 20 ppm，較佳者少於 10 ppm 且特別者少於 2 ppm 的 4'-O-甲基吡哆醇，及 / 或

- 少於 20 ppm，較佳者少於 10 ppm 且特別者少於 5 ppm 的雙黃酮。

更進一步者，本發明的主體為萃取物，特別是乾萃取物，其可用本發明方法得到且其展示出下列含量：

- 20 至 30 重量%，較佳者 22.0 至 27.0 重量%的類黃酮，

- 4.5 至 8.5 重量%，較佳者 5.0 至 7.0 重量%的萜內酯，和

- 少於 10 ppm，較佳者少於 5 ppm 的銀杏酸。

本發明的另一主體為萃取物，特別是乾萃取物，其可用本發明方法得到且其展示出下列含量：

- 20 至 30 重量%，較佳者 22.0 至 27.0 重量%的類黃酮，

- 2.5 至 4.5 重量%的銀杏苦內酯 A、B 和 C 總合，較佳者 2.8 至 3.4 重量%的銀杏苦內酯 A、B 和 C 總合，

- 2.0 至 4.0 重量%，較佳者 2.6 至 3.2 重量%的白果內酯，

- 少於 10 ppm，較佳者少於 5 ppm 的銀杏酸，

- 少於 20 ppm，較佳者少於 10 ppm 且特別者少於 2 ppm 的 4'-O-甲基吡哆醇，及 / 或

(8)

· 少於 20 ppm，較佳者少於 10 ppm 且特別者少於 5 ppm 的雙黃酮。

根據歐洲藥典，乾萃取物通常具有至少 95 重量%的乾殘餘物。

本發明萃取物可以用粉末、粒劑、片劑、糖衣錠（塗覆片劑）、或膠囊之形式投予，較佳者為經口投予。為了製備片劑，可將萃取物與適當的藥學上可接受之佐劑諸如乳糖、纖維素、二氧化矽、交聯羧甲基纖維素和硬脂酸鎂混合，且製成片劑，其可隨意地加裝合適的塗層，諸如由羧甲基纖維素、聚乙二醇、顏料（諸如二氧化鈦和氧化鐵）與滑石所製成者。也可以將本發明萃取物裝填到膠囊內，視需要添加佐劑諸如安定劑、填充料和類似者。該劑量為使得每日投予 10 至 2000 毫克，較佳者 50 至 1000 毫克且特別較佳者 100 至 500 毫克萃取物。

本發明另一主體為含有此等萃取物，視需要組合其他物質諸如活性成分及／或藥學上可接受的佐劑之藥劑、食品和其他製劑。術語“食品”於用在本中時係特別指稱膳食性食品、食物補充產品以及醫療食物與食物補充品。

### 【實施方式】

實施例 1 和 2 以及比較例 1 和 2 中所用萃取物溶液之製備

對銀杏（藥物）死葉子使用七倍其重量（w/w）（即藥物－溶劑比為 1：7）由丙酮／水 60／40（w/w）所構成之溶劑在約 50°C 溫度下進行萃取（步驟 a）。

(9)

將有機溶劑從萃取液中大部份分離出（步驟 b））且用水稀釋剩餘的濃縮水溶液到約 10 重量 % 之固體含量。在攪動下將該溶液冷卻到約 12°C 之溫度且移除所得沈澱物（步驟 c））。

於剩餘水溶液中加入約 30 重量 % 硫酸銨且使用甲基乙基酮和丙酮 6 : 4 比例混合物萃取所形成的溶液（步驟 d））。

將所得萃取液大幅濃縮且用水和乙醇稀釋如此所得濃縮液而得到含 50 重量 % 水和 50 重量 % 乙醇，固體含量為約 10 重量 % 之溶液（步驟 e））。過濾該溶液且於濾液中加入乙酸氫氧化鉛水溶液（步驟 f））。

於進一步過濾後，用庚烷萃取剩餘水醇溶液（步驟 g））。

隨後，將剩餘水醇溶液減壓濃縮到約 5 % 之乙醇含量且加入硫酸銨以達到以水含量計算為約 20 重量 % 之含量。

使用甲基乙基酮和乙醇 6 : 4 比例之混合物萃取所得溶液（步驟 h））。

將所得有機相大幅濃縮（約 55 重量 % 之固體含量）（步驟 i））。然後用乙醇和水稀釋該產物而得具有約 75 % 乙醇含量和約 15 % 固體含量之溶液（步驟 k））。

實施例 1：具減低 4'-O-甲基吡哆醇含量之銀杏萃取物

將 1249 克根據上述製備方法所得萃取液用水調整到約 40 % (w/w) 乙醇含量且施加到 50 毫升（對應於 0.28 毫克

(12)

於剩餘水溶液中加入約30重量%硫酸銨且使用甲基乙基酮和丙酮6:4比例混合物萃取所形成的溶液。

將所得萃取液大幅濃縮且用水和乙醇稀釋如此所得濃縮液液而得含50重量%水和50重量%乙醇且固體含量約10重量%之溶液。過濾該溶液且於濾液中加入乙酸氫氧化鉛水溶液且再度過濾(步驟f))。

取150毫升如此所得溶液(乾萃取物部份:7.1%;乙醇含量:約50%)與2.5克(對應於0.17克/克最後產物)活性碳在室溫下攪拌30分鐘。將濾液施加到裝有4.2毫升(對應於0.28毫升/克最後產物)強酸性陽離子交換劑(Merck I)的管柱上。用4×5毫升EtOH(50%)洗該離子交換劑管柱。

經由使用3×70毫升正己烷萃取合併的溶析液。將乙醇/水相在旋轉蒸發器上濃縮且用水稀釋到100克。用1×40毫升、2×30毫升及1×20毫升的甲基乙基酮:乙醇3:2混合物分別萃取該萃取物溶液,其中加入15克硫酸銨以達成相分離。

在添加25克硫酸銨水之後,在室溫下攪拌有機相一小時。分離掉未溶解的硫酸銨以及所形成的水相。將萃取物溶液在旋轉蒸發器上於50°C濃縮且在60°C真空乾燥:14.8克。

從下面的表中可以看出,有52 ppm的4'-O-甲基吡哆醇含量及31.3 ppm雙黃酮含量,因而得到比本發明實施例2b)明顯數高的含量及較差的耗竭結果。

(13)

表 1 中的類黃酮、萜內酯和銀杏酸等的含量測定都是根據 DAB 進行。

4'-O-甲基吡哆醇的定量測定後在經由 Sep Pak Plus C18 短柱增濃，接著經 Bond Elut LRC-SCX 短柱增濃之後，利用 HPLC 和螢光偵測而實施，其中採用 Phenomenex Prodigy 5  $\mu$  ODS-3 HPLC 管柱及三氟乙酸 (pH 2) : 甲醇 = 9 : 1 (v/v)  $\rightarrow$  甲醇之梯度。

表 1 中所列雙黃酮含量之測定係透過 Waters Nova Pak C18 管柱利用 HPLC 和 340 奈米 UV 偵測，使用水 : 乙腈 9 : 1 (v/v) + 0.3% 體積 % 磷酸 (85%)  $\rightarrow$  乙腈 + 0.3 體積 % 磷酸的梯度實施。

於每一情況中，都使用具有高，確定純度品級的參比物質實施校準。

(14)

表 1：根據上面所給實施例的萃取物之組成

萃取物	實施例 1	比較例 1	實施例 2a)	實施例 2b)	比較例 2	比較例 3
類黃酮[%]	24.86	24.51	27.17	25.32	25.89	22.78
銀杏苦內酯 A、B 和 C [%]	3.28	2.94	2.97	3.04	2.97	3.40
白果內酯[%]	3.17	3.03	3.18	3.14	3.07	3.07
萜內酯[%]	6.45	5.97	6.15	6.18	6.04	6.47
銀杏酸[ppm]	<5	<5	<5	<5	<5	<5
4'-O- 甲基吡哆醇 [ppm]	0.4	104.5	164	0.8	89	52
阿曼托黃素[ppm]	68.5	78.7	n.d(<1)	n.d(<1)	81.6	12.6
白果黃素[ppm]	123.3	120.4	n.d(<1)	n.d(<1)	136.4	10.4
銀杏黃素[ppm]	86.3	82.1	n.d(<1)	n.d(<1)	86.1	2.7
異銀杏黃素[ppm]	103.3	104.4	n.d(<1)	n.d(<1)	111.5	4.8
西阿多黃素[ppm]	44.0	43.0	n.d(<1)	n.d(<1)	44.0	0.8
雙黃酮總量[ppm]	425.4	428.6	n.d(<5)	n.d(<5)	459.6	31.3

n. d. = 不能測得

### 五、中文發明摘要

發明名稱：具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮之銀杏萃取物的改良製法

本發明係關於一種改良的多步驟方法，用以從銀杏（ginkgo biloba）製備具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮之萃取物，其中經由過濾過吸附劑樹脂及／或離子交換劑進行耗竭處理且將要取出的物質保留在樹脂之上。本發明進一步關於一種可用根據本發明方法從銀杏得到之具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及／或雙黃酮之萃取物，及其用途。

### 六、英文發明摘要

發明名稱：

#### **Improved method for preparing ginkgo extracts having a low content of 4'-O-methyl pyridoxine and/or biflavones**

The present invention relates to an improved multi-step method for preparing an extract from ginkgo biloba having a reduced content of 4'-O-methyl pyridoxine and/or biflavones, wherein the depletion is carried out by filtration over an adsorber resin and/or an ion exchanger and the substances to be removed are retained on the resin. The invention further relates to an extract from ginkgo biloba having a reduced content of 4'-O-methyl pyridoxine and/or biflavones, which is obtainable by the method according to the present invention, as well as to its use.

七、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：無

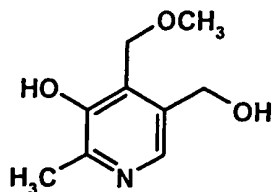
(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

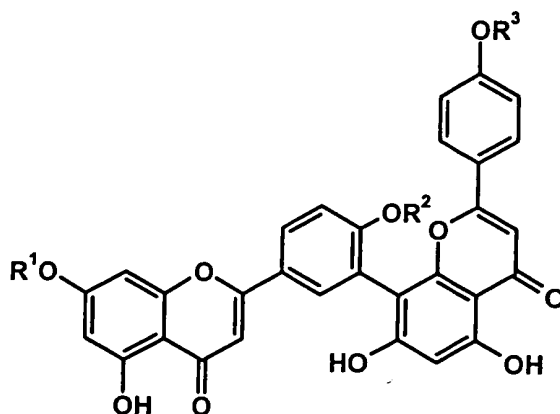
(2)

過敏。銀杏中所含此等雙黃酮類主要為下述化合物：阿曼托黃素 (amentoflasone)、白果黃素 (biloberin)、銀杏黃素 (ginkgetin)、異銀杏黃素 (isoginkgetin) 和 西阿多黃素 (sciadopitysin)。

4'-O-甲基吡哆醇：



雙黃酮類：



阿曼托黃素： $R^1 = R^2 = R^3 = H$

白果黃素： $R^1 = R^3 = H, R^2 = OCH_3$

銀杏黃素： $R^3 = H, R^1 = R^2 = OCH_3$

異銀杏黃素： $R^1 = H, R^2 = R^3 = OCH_3$

西阿多黃素： $R^1 = R^2 = R^3 = OCH_3$

將 4'-O-甲基吡哆醇及同時雙黃酮耗竭所用方法以及所得萃取物已載於 EP 1 037 646 B1 之中。於其中，使用

(4)

佳者低於 2 ppm 4'-O-甲基吡哆醇含量及 / 或低於 20 ppm，較佳者低於 10 ppm 且特別較佳者低於 5 ppm 之雙黃酮含量及

• 其可導致具有 20 至 30 重量 % (特別較佳者 22.0 至 27.0 %) 的類黃酮含量；4.5 至 8.5 重量 % (特別較佳者 5.0 至 7.0 %，較佳者 2.8 至 3.4 % 銀杏苦內酯 A、B 和 C 和 2.6 至 3.2 % 的白果內酯) 之萜內酯含量及銀杏酸含量 (最多 5 ppm)，其中該 22.0 至 27.0 % 的類黃酮含量，5.0 至 7.0 % 萜內酯含量 (其中 2.8 至 3.4 % 為銀杏苦內酯 A、B 和 C 且其 2.6 至 3.2 % 為白果內酯) 與銀杏酸含量 (最多 5 ppm) 都滿足德國藥典 2003 之要求 ("Deutsches Arzneibuch", DAB)。

根據 DAB，類黃酮係在酸水解後以槲皮黃素 (quercetin)、山奈黃素 (kaempferol) 和異鼠李素 (isorhamnetin) 之形式測定，且以類黃酮糖苷形式計算。

此目的可經由使用吸附劑樹脂分離雙黃酮及 / 或通過酸性離子交換劑分離 4'-O-甲基吡哆醇而達成。

#### 【發明內容】

為了製造本發明萃取物，較佳者為進行下述方法，其中步驟 a) 至 i) 以及 m) 皆為基本上在 DE 39 40 091 C2 中已述及者，其總揭示內容，特別是針對該方法的細節者，皆以引用方式納入本申請案中：

a) 使用具有 20-90 重量 % 的含量之含水丙酮、含水的具 1 至 3 個碳原子之烷醇 (甲醇、乙醇、正丙醇和異丙醇) 與 20-90 重量 % 的含量，或無水甲醇在 20-100°C

(10)

／克的乾萃取物) Amberlite IR-120 (強酸性離子交換劑) (管柱：約 2×16.5 厘米；流速：約 8 毫升／分) (步驟 1) ) 之上，接著用 200 毫升的 50% 乙醇 (w/w) 溶析。將所得溶液在旋轉蒸發器上濃縮且在 50°C 真空乾燥 (步驟 m) ) : 179.4 克。

從下面的表可看出，可達到 0.4 ppm 4'-O-甲基吡哆醇含量而基本上沒有改變針對效力相關的成分之含量。

比較例 1：沒有根據本發明步驟 1) 進行耗竭之銀杏萃取物

將 98.4 克實施例 1 中所用萃取液蒸發濃縮且在 50°C 真空乾燥：14.7 克。

實施例 2a)：具減低雙黃酮含量之銀杏萃取物

將 500 克根據上述製法所得萃取液用水調整到約 40% (w/w) 乙醇含量且施加到 400 毫升 (對應於 5.7 毫升／克的乾萃取液) Sepabeads SP-850 (吸收劑樹脂) (管柱：約 4×32 厘米；流速：約 8 毫升／分) (步驟 1) ) 之上，接著用總共約 2 升的 40% 乙醇 (w/w) 溶析。將 10% 所得溶液 (259.3 克) 在一旋轉蒸發器上濃縮且冷凍乾燥 (步驟 m) ) : 6.92 克。剩餘 90% 溶液用實施例 2b) 中。

如從下面表中可看出者，分別達到少於 1 ppm 的雙黃酮含量，而基本上沒有改變針對效力相關的成分之含量。

實施例 2b)：具減低含量 4'-O-甲基吡哆醇和雙黃酮之

(11)

## 銀杏萃取物

將 90% 實施例 2a) 中所得溶液 ( 2334.1 克 ) 施加到 25 毫升 ( 對應於 0.40 毫升 / 克的乾萃取物 ) Amberlite IR-120 ( 強酸性離子交換劑 ) ( 管柱 : 約 1.5x11 厘米 ; 流速 : 約 10 毫升 / 分 ) 之上 ( 步驟 1 ) ) ; 接著用 100 毫升 40% 乙醇 ( w/w ) 溶析。將所得溶液在旋轉蒸發器上濃縮且冷凍乾燥 ( 步驟 m ) ) : 61.67 克。

從下面的表可看出分別達到 0.4 ppm 的 4'-O-甲基吡哆醇含量及少於 1 ppm 的雙黃酮含量, 而基本上沒有改變針對效力相關的成分之含量。

比較例 2: 沒有根據本發明步驟 1) 耗竭的銀杏萃取物

將 50 克實施例 2a) 中採用的萃取液蒸發濃縮且冷凍乾燥 : 7.05 克。

比較例 3: 在根據 EP 1 037 646 B1 用鉛化合物處理 ( 步驟 f ) ) 後具雙黃酮耗竭和 4'-O-甲基吡哆醇耗竭的銀杏萃取物

將乾銀杏葉 ( 藥物 ) 用七倍其重量 ( w/w ) ( 亦即藥物 - 溶劑比為 1 : 7 ) 由丙酮 / 水 60 / 40 ( w/w ) 製成的溶劑在約 50°C 溫度下萃取。

將有機溶劑從萃取液中大部份分離出且將剩餘濃縮水溶液用水稀釋到約 10 重量 % 的固體含量, 在攪動下冷卻到約 12°C 的溫度且取出所的沈澱物。

附件 3A: 第095111812號申請專利範圍修正本

民國 101 年 8 月 27 日修正

### 十、申請專利範圍

1. 一種從銀杏 (ginkgo biloba) 製備具低含量 4'-O-甲基吡哆醇及 / 或雙黃酮之萃取物的方法，其特徵在於下列方法步驟：

a) 使用含水丙酮、含水的具 1 至 3 個碳原子之烷醇或無水甲醇萃取銀杏的葉子；

b) 經由濃縮該溶劑到最多 10 重量 % 之含量以分離該有機溶劑，其中於最後蒸餾步驟中可以加入水；

c) 用水稀釋剩餘的水溶液到 5 至 25 重量 % 之固體含量，將溫度冷卻到低於 25°C，且使其靜置到形成沉澱為止；

d) 用硫酸銨處理剩餘的水溶液，且隨後使用甲基乙基酮或甲基乙基酮和丙酮的混合物萃取至少一次；

e) 將所得萃取液濃縮，且用乙醇-水混合物稀釋，以得含有 50 重量 % 水和 50 重量 % 乙醇且固體含量為 10 重量 % 之溶液；

f) 用鉛化合物或不溶性聚醯胺處理該溶液；

g) 使用沸點為 60 至 100°C 之脂族或環脂族溶劑萃取該濾過的溶液；

h) 將剩餘的水-醇溶液濃縮，接著用硫酸銨處理且用甲基乙基酮和乙醇萃取；

i) 濃縮所得有機相至得 50 至 70 重量 % 之固體含量

;

k) 將濃縮物溶解在具 1 至 3 個碳原子的烷醇之水溶液內，且視需要過濾；

1) 以吸附劑樹脂過濾以減低雙黃酮的含量，及／或以酸性離子交換劑過濾以減低 4'-O-甲基吡哆醇的含量，其中要除去的物質係保留在該樹脂及／或該酸性離子交換劑上；以及

m) 將濃縮物減壓乾燥而得到具有少於 5% 水含量之乾萃取物。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，其中在步驟 k) 中的烷醇水溶液為乙醇水溶液。

3. 根據申請專利範圍第 2 項之方法，其中該乙醇水溶液含有 40 至 60 重量%之乙醇。

4. 根據申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之方法，其中在該步驟 1) 中的吸附劑樹脂為以經隨意取代的苯乙烯／二乙烯基苯為基底之樹脂。

5. 根據申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之方法，其中在該步驟 1) 中的離子交換劑為一種強酸性離子交換劑。

6. 一種得自銀杏葉的萃取物，其特徵在於具有下列含量：

- 少於 10 ppm 的 4'-O-甲基吡哆醇，及／或
- 少於 20 ppm 的雙黃酮，而該雙黃酮係選自阿曼托黃素 (amentoflasone)、白果黃素 (biloberin)、銀杏黃素

( ginkgetin ) 、 異 銀 杏 黃 素 ( isoginkgetin ) 和 西 阿 多 黃 素 ( sciadopitysin ) 。

7. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 少 於 2 ppm 的 4'-O- 甲 基 吡 哆 醇 含 量 。

8. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 少 於 10 ppm 的 雙 黃 酮 含 量 。

9. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 少 於 5 ppm 的 雙 黃 酮 含 量 。

10. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 至 9 項 中 任 一 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 下 列 含 量 ：

- 20 至 30 重 量 % 的 類 黃 酮 ， 而 該 類 黃 酮 係 選 自 槲 皮 黃 素 ( quercetin ) 、 山 奈 黃 素 ( kaempferol ) 和 異 鼠 李 素 ( isorhamnetin ) 糖 苷 ，

- 4.5 至 8.5 重 量 % 的 萜 內 酯 ， 和

- 少 於 10 ppm 的 銀 杏 酸 。

11. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 至 9 項 中 任 一 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 下 列 含 量 ：

- 22.0 至 27.0 重 量 % 的 類 黃 酮 ， 而 該 類 黃 酮 係 選 自 槲 皮 黃 素 ( quercetin ) 、 山 奈 黃 素 ( kaempferol ) 和 異 鼠 李 素 ( isorhamnetin ) 糖 苷 ，

- 5.0 至 7.0 重 量 % 的 萜 內 酯 ， 和

- 最 多 5 ppm 的 銀 杏 酸 。

12. 根 據 申 請 專 利 範 圍 第 6 至 9 項 中 任 一 項 之 萃 取 物 ， 其 具 有 下 列 含 量 ：

- 22.0 至 27.0 重量%的類黃酮，而該類黃酮係選自槲皮黃素 ( quercetin )、山奈黃素 ( kaempferol ) 和異鼠李素 ( isorhamnetin ) 糖苷，

- 總共 2.8 至 3.4 重量%的銀杏苦內酯 A、B 和 C，

- 2.6 至 3.2 重量%的白果內酯 ( bilobalid )，和

- 最多 5 ppm 的銀杏酸。

13. 一種使用根據申請專利範圍第 6 至 12 項中任一項之萃取物於製造供治療癡呆症及其徵候及 / 或腦或周圍血液循環疾病的藥劑、食品或其他製劑之用途。

14. 一種藥劑、食品或其他製劑，其特徵在於其具有一含量的根據申請專利範圍第 6 至 12 項中任一項之銀杏萃取物。