

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610103626.0

[51] Int. Cl.

A61K 31/365 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/22 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 1 月 3 日

[11] 公开号 CN 1887283A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 9/14 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

[22] 申请日 2006.7.26

[21] 申请号 200610103626.0

[71] 申请人 孙 毅

地址 610041 四川省成都市高新区高朋大道 3
号 A 座 310

[72] 发明人 孙 毅

权利要求书 1 页 说明书 25 页 附图 2 页

[54] 发明名称

一种银杏内酯的药物组合物

[57] 摘要

本发明公开了一种含银杏内酯注射液。这种注射液中各成份及各成份的比例与所投的银杏内酯提取物是一致的。而且与银杏叶中的成份具高度相关性并且能在很长时间内保持稳定。能够最大限度地发挥白果内酯促进神经生长的作用,以及防止脑、脊髓神经脱髓鞘作用,防止老年性痴呆的发生和发展的作用。

1. 一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，该药物组合物中含有白果内酯。

2. 根据权利要求 1 所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，该药物组合物中银杏内酯的重量比例为：银杏内酯 B10%-90%：白果内酯 10%-90%。

3. 根据权利要求 1 所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，该药物组合物中银杏内酯的重量比例银杏内酯 A：银杏内酯 B：银杏内酯 C：白果内酯=10%-45%：5%-40%：3%-35%：10%-70%。

4. 根据权利要求 1 所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，该药物组合物中银杏内酯的重量比例银杏内酯 A：银杏内酯 B：银杏内酯 C：白果内酯=15%-40%：7%-30%：5%-20%：20%-60%。

5. 根据权利要求 1 所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，银杏内酯 A、银杏内酯 B、银杏内酯 C、白果内酯重量之和占提取物总重 80%以上。

6. 根据权利要求 1 所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，它的剂型是适合临床应用的注射剂、乳剂、丸剂、滴丸、片剂、缓释片、胶囊、软胶囊、颗粒剂、散剂、锭剂、煎膏剂、口服液合剂、糖浆剂等药剂学上可以接受的剂型中的任何一种药物剂型；其中注射剂包括输液、冻干粉针，片剂包括分散片、口崩片。

7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的一种银杏内酯的药物组合物，其特征在于，该药物组合物在防治中风和外周血栓形成疾病上的用途。

一种银杏内酯的药物组合物

技术领域

本发明涉及一种含银杏内酯的制剂，特别是银杏内酯注射液，同时还提供该注射液的制备工艺，属于药物组合物领域。

背景技术

银杏内酯是从中草药银杏叶当中提取获得的有效物质，银杏内酯是二萜烯类化合物，是包括1个四氢呋喃环、3个 α -内酯基和由2个戊碳环连结在1个碳原子上形成的螺[4,4]壬烷系统，共6个戊碳环与叔丁基相结合的独特的C₂₀笼蔽分子。其顺式稠环F、A、D与C被塑造成半球形的空腔，这个空腔是足以容纳1个阳离子或阳性极化的有机分子。

P.Braquet等(1988)报导已知的银杏内酯有5种，用A、B、C、M、J命名(Ginkgolides A、B、C、M、J)，银杏内酯的基本结构是共同的，不同的银杏内酯之间的差别仅是羟基的数目与位置的不同。银杏内酯M与J，实际上是银杏内酯B的同分异构物。银杏内酯A、B、C既存在于银杏根皮内，也存在于银杏叶内，银杏内酯M仅存在于根皮内；银杏内酯J发现较晚，仅存在于银杏叶内。银杏内酯的化学性质不活泼，是极为稳定的。

对于银杏内酯的提取方法已经有详细的文献报道，例如，李新岗等人介绍了银杏内酯的实验室提取方法(参加李新岗等，银杏叶中银杏内酯的实验室提取方法研究，中国医药工业杂志1998第1期)，中国专利文献CN1195665A介绍了银杏内酯的提取方法和含有银杏内酯的制剂，该方法是将银杏叶用水煮沸提取，用吸附剂对提取滤液吸附，再用乙醇脱附，回收乙醇，将析出的结晶溶解，重结晶，干燥制得银杏内酯。中国专利文献CN1313287A公开了一种银杏内酯的生产工艺。从银杏内酯的总提取物当中分离银杏内酯单体的方法，也有很多相关的文献报道，例如，游松等人介绍了银杏内酯中银杏内酯的分离与结构

测定方法（参见游松等，银杏叶中银杏内酯的分离与结构测定，中国药物化学杂志 1995 年第 4 期）。中国专利文献 CN1287121A 公开了由银杏叶或银杏叶浸膏制备药物银杏内酯 A、B 的方法。银杏内酯作为一个有效的活性物质，可以将其制备成不同的临床药物剂型。刘洁等使用银杏叶注射剂治疗急性脑梗塞取得了一定疗效[参见刘洁等，银杏叶注射液对急性脑梗塞后肢体运动功能及 TXB-2、6- $\text{Keto-PGF-}(1\alpha)$ 的影响]。关于银杏内酯的药理作用，已经有较为详细的文献报道（参见陈维军等，银杏内酯的化学结构及药理作用研究进展，中国药学杂志 1998 年第 9 期）。尽管现有技术当中对于银杏内酯及其制剂的研究已经有很多的报道，但是，对于银杏内酯的研究一直没有停止，特别是对于银杏内酯单体的分离及其衍生物的研究，不断有文献报道。目前对于银杏内酯当中有效单体的研究，已经报道了银杏内酯 A、B、C 等结构，将银杏内酯制备成注射剂，很重要一项技术问题是如何解决其难溶解性，到目前为止，银杏内酯注射剂制备过程当中，对于助溶剂的选择也非常重要，这直接影响到产品的稳定性和临床疗效。

根据银杏内酯的内酯环结构，一般很容易想到用酸或碱使开环，或者用有机溶剂溶解，但是它在一般的有机溶剂中溶解性也很差，如乙醇，聚乙二醇 400，甘油，丙二醇中溶解度都很小。所以，目前银杏内酯制备注射剂的方法有通过使用碱溶液增加银杏内酯的溶解性而制得，例如 CN200510040497.0，CN00115134.7，CN02134223.7。加入葡甲胺的情况下，对银杏内酯有很好的助溶作用例如 CN02128962.X。对银杏内酯采用羟丙基- β -环糊精增溶制得的水溶液例如 CN200510072466.3，CN200410013937.9，CN200410041120.2。另外，CN03100334.6 公开针剂中含有 5—99% 银杏叶提取物、1—95% 泊洛沙姆 188 和 pH 值调节剂以及其它赋形剂。CN03137720.3 一种银杏内酯 B 针

剂的制备方法，将银杏内酯B原料溶解于注射用非水溶剂聚乙二醇中，聚乙二醇可单独使用或与无水乙醇配成混合溶剂，按体积计，聚乙二醇：乙醇=0.5：0.5~0.9。

这些方法中，加羟丙基-β-环糊精，泊洛沙姆，聚乙二醇等试剂，其作为注射液的安全性值得商榷。羟丙基-β-环糊精具有潜在的肾毒性，目前仅用抗真菌药伏力康唑注射液中，在中国没有作为合法的注射用附加剂。泊洛沙姆因为安全性问题在中国也没有作为合法的注射用附加剂。聚乙二醇浓度较大时有溶血的危险。所以基本无实用的可能。加碱或加葡甲胺都属于让内酯开环成盐，在中性或酸性条件下，很难形成有药效形式的内酯原形，甚至没有白果内酯。而白果内酯是目前银杏中最受关注的化学成分，动物试验报导，白果内酯具有促进神经生长的作用，以及防止脑、脊髓神经脱髓鞘作用，其神经营养、神经保护作用比银杏内酯强。近年来还发现白果内酯可防止脑细胞线粒体氧化应激引起的功能改变，选种抗氧化应激对改善老年记忆功能，防止老年性痴呆的发生和发展起到有益的作用，因此目前国际上对银杏提取物的要求(德国卫生部 Commission E 制订的规格)是，白果内酯含量应为2.6-3.2%。

为了解决有效性问题。本发明公开了一种银杏内酯注射液的处方，能使所投的银杏内酯原料与银杏内酯注射液，各组份和比例保持不变。并且与银杏叶中的组份比例接近。

银杏内酯A 18%-36%、银杏内酯B 10%-29%、银杏内酯C 15%-24%、白果内酯12%-57%。平均为26%，18%，19%，36%。(参见唐红芳等的银杏叶中银杏萜内酯的GC—MS定性定量分析，中草药，第34卷第3期2003年3月)

发明内容

意外地发现用几种注射液的常用溶剂组成的混合溶剂，能使银杏内酯溶解并能作成银杏内酯注射液。这种混合溶剂作成注射液中各成份及各成份的比例与所投的银杏内酯提取物是一致的。而且与银杏叶中的组份比例接近。并且能在很长时间内保持稳定。说明了这种混合溶剂是惰性的，并且所作的注射液符合中国药典的注射液的通则要求。

本发明的目的是提供一种含有银杏内酯的制剂，特别是银杏内酯注射液，同时还提供该注射液的制备工艺。

本发明所述的银杏内酯的制剂是以高纯度的银杏内酯为有效成份制备而成，银杏内酯 A，银杏内酯 B，银杏内酯 C，白果内酯之和大于总提取物的 80% 以上（重量比）。

本发明的注射液的各组成部分的重量比为：

银杏内酯：乙醇：甘油：水=(0.05%~1.5%):(20%~70%):(10%~40%):(20%~70%)

上述组份的优选重量比为：

银杏内酯：乙醇：甘油：水=(0.2%~0.7%):(30%~50%):(10%~30%):(30%~50%)

其中还需加入适量的 10%柠檬酸溶液调节 PH 值。

制剂处方

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%柠檬酸溶液调节

pH, 搅匀, 半成品检验合格后, 用 $0.65\ \mu\text{m}$ 和 $0.45\ \mu\text{m}$ 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明, 灌封于 2ml 玻璃瓶中, 于 100°C 灭菌 20 分钟, 冷却, 灯检, 贴标, 即得。

制备本发明银杏内酯杏内酯注射液所使用的银杏内酯原料, 可以通过已知的提取方法提取, 或者通过市售购得, 但是银杏内酯 A、B、C 和白果内酯的比例应该与银杏叶中的比例大体一致。

银杏内酯 B 10%~90%; 白果内酯 10%~90% (重量比)

更优选: 银杏内酯 A : 银杏内酯 B : 银杏内酯 C : 白果内酯为 (10%~45%): (5%~40%): (3%~35%): (10%~70%)。

更优选: 银杏内酯 A : 银杏内酯 B : 银杏内酯 C : 白果内酯为 (15%~40%): (7%~30%): (5%~20%): (20%~60%)。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法: 10% 甲醇制作供试品溶液, 经 C18 色谱柱, 以甲醇—水为流动相。梯度洗脱, 以蒸发光检测器检测。(参见颜玉贞, 谢培山 HPLC—ELSD 法测定银杏叶中的 4 种萜类内酯含量 《药物分析杂志》: 2001 年 21 卷 3 期 173-176 页)。

从所投料的银杏内酯原料和所得成品的 HPLC 图谱上可见: 银杏内酯 A、B、C 及白果内酯各成份及各成份的比例没有变化。(见附图 1, 2)

初步稳定性试验

仿市售包装, 于室内常温下放置 (温度 $8\sim 32^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 60%~90%), 样品于当月考察一次后, 分别于 1 月、2 月、3 月、6 月、12 月、18 月取样按自拟的《银杏内酯注射液质量标准 (小针剂) (草案)》进行考察 (其中无菌、溶血、刺激性仅在 0、3 和 18 月进行)。结果均符合规定, 说明本发明的银杏内酯注射

液基本稳定。

银杏内酯注射液主要药效学试验资料

供试药品

银杏内酯注射液, 银杏内酯注射剂辅料溶液 (简称空白溶液), 灯盏花素注射液, 规格: 5 mg / 2 mL, 系云南个旧生物药业有限公司产品。

1 抗血小板聚集性试验

富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 和贫血小板血浆 (platelet-poor plasma, PPP) 的制备: 取健康家兔, 体重 2~3 kg, 雌雄均用。自清醒家兔颈动脉取血收集于塑料离心管中, 以 3.8 % 枸橼酸钠抗凝 (血与抗凝剂体积比 9 : 1)。室温下 900 rpm 离心 10 min, 得 PRP, 吸出 PRP 于洁净塑料管中; 剩余血液再以 3000 rpm 离心 10 min 得 PPP。PPP 用于调零或调整 PRP 中的血小板数目, 试验过程中血小板数控制在 5×10^{11} cell / L。

①银杏内酯注射液在体外对血小板聚集功能的影响

将银杏内酯注射液用空白溶液、灯盏花素注射液用生理盐水稀释成不同浓度的药液备用, 分别取 10 μ L 药液或空白溶液于 PRP 中, 37 $^{\circ}$ C 温育 10 min。按 Born 比浊法 (Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. Nature, 1962, 194: 927-929), 即 PPP 调零及 PRP 调幅后, 加入 5 μ L 的 PAF (终浓度 7.2 nmol / L), 在血小板聚集仪上测定血小板聚集性并记录 5 min 内最大血小板聚集率。血小板聚集抑制率按下式计算, 用直线回归法求出药物的半数抑制浓度 (50 % inhibitory concentration, IC_{50})。

$$\text{血小板聚集抑制率 (\%)} = [1 - (\text{对照管聚集百分率} / \text{给药管聚集百分率})] \times 100$$

结果显示,银杏内酯注射液呈浓度依赖性明显抑制 PAF 诱导的血小板聚集,其 IC_{50} 为 9.4 mg / L, 灯盏花素注射液 IC_{50} 为 214.8 mg / L (表 1, 2)。表明银杏内酯注射液抑制 PAF 诱导的血小板聚集, 显著强于灯盏花素注射液。

表 1. 银杏内酯注射液在体外对 PAF 诱导的血小板聚集功能的影响

药 浓 (mg / L)	血小板聚集率 (%)
0	62.3 ± 3.8
3.125	$55.2 \pm 3.7^{**}$
6.25	$44.1 \pm 4.3^{**}$
12.5	$24.5 \pm 5.4^{**}$
25	$17.8 \pm 4.1^{**}$
50	$8.4 \pm 2.9^{**}$

$n = 5, x \pm s, ** P < 0.01$ 与空白溶液组比较 (Student t -检验)

表 2. 灯盏花素注射液在体外对 PAF 诱导的血小板聚集功能的影响

药 浓 (mg / L)	血小板聚集率 (%)
0	64.2 ± 5.7
31.25	57.2 ± 6.2
62.5	$50.3 \pm 4.1^{**}$
125	$38.1 \pm 5.3^{**}$
250	$25.1 \pm 6.0^{**}$
500	$18.6 \pm 4.7^{**}$

$n = 5, x \pm s, ** P < 0.01$ 与空白溶液组比较. (Student t -检验)

2 银杏内酯注射液在体内对血小板聚集功能的影响

健康家兔 30 只,体重 2.0 ~ 2.5 kg,雌雄均用,随机分成 5 组,每组 6 只,即等体积空白溶液组、2.0、4.0、8.0 mg/kg 的银杏内酯注射液组和 13.2 mg/kg 的灯盏花素注射液组。上述各组份均以 5.0 mL / kg 体重经耳缘静脉注射给药。给药前取血一次,给药后 10、30、60、90 和 120 min 分别取血,同体外试验方法制备 PRP 和 PPP,观察药物静脉注射后对 PAF 诱导血小板聚集功能的影响。

实验结果表明,银杏内酯注射液静脉注射后,剂量为 2.0 mg/kg 时对 PAF 诱导的血小板聚集功能无明显抑制作用,4.0 mg/kg 时,于注射后 30 和 60 min 明显抑制 PAF 引起的血小板聚集,8.0 mg/kg 时,于注射后 10 min 起效,于 60 min 达最大抑制作用,抗 PAF 作用持续至 90 min; 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 的灯盏花素注射液的作用特点与 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 的银杏内酯注射液相似。注射后 60 min, 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 银杏内酯注射液的抗 PAF 作用强度明显高于 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 灯盏花素注射液组 (表 3)。

表 3. 银杏内酯注射液静脉注射对 PAF 诱导的血小板聚集功能的影响

组别	剂量 (mg / kg)	临床剂 的倍 数	血小板聚集率 (%)					
			0 min	10 min	30 min	60 min	90 min	120 min
空白等体 溶液积 银杏 内酯 注射 液			61.7 ± 3.1	65.9 ± 2.7	66.6 ± 4.5	62.0 ± 2.6	64.5 ± 4.4	62.6 ± 4.0
	2.0	5	64.7 ± 3.7	63.3 ± 2.0	63.9 ± 3.1	63.5 ± 3.8	61.0 ± 2.5	62.3 ± 2.4
	4.0	10	61.2 ± 3.2	58.8 ± 2.5	51.4 ± 4.1*	47.7 ± 3.2*	57.2 ± 2.7	59.4 ± 2.7
	8.0	20	63.0 ±	53.6 ±	46.9 ±	31.4 ±	49.2 ±	59.6 ±

灯 盏 花 素 注 射 液	13.2	40	3.6	3.2**	4.5**	10.1**#	4.1**	3.1
			65.0 ±	54.9 ±	49.7 ±	42.5 ±	51.6 ±	61.0 ±
			3.8	5.7*	2.6**	4.9**	3.4**	3.5

$n = 5, x \pm s, * P < 0.05, ** P < 0.01$, 与等时间点的空白溶液组或 0 min 比较, # $P < 0.05$ 与灯盏花素注射液比较 (Student t -检验)。

3 对电刺激大鼠颈动脉血栓形成的影响试验

雄性 SD 大鼠 50 只, 体重 190 ~ 230 g, 随机分成 5 组, 每组 10 只, 即空白溶液组 (等体积)、2.0、4.0、8.0 mg/kg 的银杏内酯注射液组和 13.2 mg/kg 的灯盏花素注射液组。上述各组份均以 0.2 mL / 100 g 体重腹腔注射 (ip), 1 次 / d, 共 2 次, 于末次给药 30 min 后, 应用 Charlton 等方法 (Charlton PA, Faint RW, Bent F, Bryans J, Chicarelli-Robinson I, Mackie I, Machin S, Bevan P. Evaluation of a low molecular weight modulator of human plasminogen activator inhibitor-1 activity. Thrombosis and Haemostasis, 1996, 75 (5): 808-15) 并加以改良, 即用 30 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠, 分离左颈总动脉, 测定正常血流量; 药物再以 0.2 mL / 100 g 体重经股静脉注射, 10 min 后置两根银制电极于血管两端, 间距 0.5 cm, 电极及血管下衬一绝缘薄膜, 通以 1.5 mA 直流电连续刺激 7 min, 同时用 5 MHz 点式超声探头, 连续测量刺激部位远心端的血流量。从刺激开始至血流量为零的时间间隔, 代表血管栓塞时间 (occlusion time, OT), 此为血栓形成时间。若 60 min 内血管仍开放, 则以 60 min 作为记录终点。实验数据用 Student t -检验行统计学处理。

结果显示, 银杏内酯注射液静脉注射后, 呈剂量相关性明显延长电刺激大鼠颈动脉的血栓形成时间; 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 灯盏花素注射液组的血栓形成时间与 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 银杏内酯注射液组的相当 (表 4)。

表 4. 银杏内酯注射液静脉注射对电刺激雄性大鼠颈动脉血栓形成的影响

组 别	剂 量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	血栓形成时间 (OT, min)
空白溶液	等体积		18.5 ± 2.9
银杏内酯注射液	2.	5	19.9 ± 2.9
	4.0	10	23.3 ± 2.5 ^{** #}
	8.0	20	35.9 ± 8.8 ^{**}
灯盏花素注射液	13.2	40	33.7 ± 11.9 ^{**}

$n = 10, \bar{x} \pm s, ^{**} P < 0.01$ 与空白溶液组比较, $^{\#} P < 0.01$ 与灯盏花素注射液组比较

(Student *t*-检验).

4 银杏内酯注射液的溶栓试验

血栓模型的制备

雄性 SD 大鼠 50 只, 体重 240 ~ 280 kg, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 即等体积的空白溶液组、13.2 mg/kg 灯盏花素注射液组、2.0、4.0 和 8.0 mg/kg 的银杏内酯注射液组。改良 Charlton 等方法, 即用 30 mg/kg 的戊巴比妥钠 ip 麻醉大鼠, 分离大鼠左颈总动脉, 置两根银制电极 (间距 0.8 cm), 超声探针置远心端。用电刺激器以 2 mA 的直流连续刺激大鼠颈动脉 5 min。用超声波双向血流仪连续探测颈动脉血流量。以血流量降低为刺激前的 50 % 作为血栓形成。

溶栓活性的测定

以刺激结束后至血流量降低为刺激前的 50 % 所需的时间定为血栓形成时间。形成血栓后 20 min, 上述各组分均经股静脉一次性注射, 观察给药后 1 h 内血管再通情况; 该段时间内, 若血管没有再通, 则认为再通失败。若再通, 则继续观察血管开放状态 1 h。以 $\geq 50\%$ 或 $\leq 25\%$ 的刺激前血流量者判定为持续再通或继后的再栓塞; 再通后 1 h 内, 每只动物的颈动脉血流量以刺激前

血流量为基线可分为 $\geq 50\%$, $> 25\%$ 至 $< 50\%$, 和 $\leq 25\%$ 。颈动脉血管开放程度分别为 (1) 持续栓塞 (persistent occlusion, PO): 无再通; (2) 再通与再栓塞交错出现 (cyclic reflow, CR); (3) 再通后持续开放 (persistent patency, PP): 再通后无再栓塞。

结果表明, 2.0 mg/kg 银杏内酯注射液组的栓塞血管与空白溶液组相似, 均无一再通, 4.0、8.0 mg/kg 银杏内酯注射液组及灯盏花素注射液组的血管再通率分别为 30、60 和 60 %; 4.0 mg/kg 银杏内酯注射液组的血管再栓率为 66.7 %, 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 银杏内酯注射液组的再栓率与 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 灯盏花素注射液组相当, 均为 50 % (表 5)。再通后 1 h 内, 血管开放状态表现为, 空白溶液组均持续栓塞; 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 的灯盏花素注射液组的血管开放状态分值与 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 的银杏内酯注射液组相当 (表 6)。

表 5. 银杏内酯注射液对动脉血栓的溶栓作用

药 物	剂量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	血栓形成 时间 (min)	血流量零点 时间 (min)	再通率 (再通数 /总数)	再栓率 (再栓数/ 总数)
空白溶液	等体积		$8.2 \pm .4$	21.4 ± 4.3	0 / 10	0 / 0
银杏内酯注射液	2.0	5	8.9 ± 3.0	19.6 ± 3.2	0 / 10	0 / 0
	4.0	10	7.6 ± 4.2	19.4 ± 3.7	3 / 10*	2 / 3*
	8.0	20	8.3 ± 3.6	20.3 ± 4.2	6 / 10*	3 / 6*
灯盏花素注射液	13.2	40	8.1 ± 2.7	21.7 ± 4.6	6 / 10*	3 / 6*

$n = 10, x \pm s, * P < 0.05$ 与空白溶液比较 (X^2 test).

表 6. 一次性静注银杏内酯注射液溶栓后 1 h 动脉开放状态

药 物	剂量 (mg / kg)	临床剂 的倍数	血管开放状态分值		
			持续栓塞	栓塞与再通交错	持续再通
空白溶液	等体积		10	0	0
银杏内酯注射液	2.0	5	10	0	0

	4.0	10	7	2	1
	8.0	20	4	3	3
灯盏花素注射液	13.2	40	4	3	3

$n = 10$ 雄性大鼠

5 银杏内酯注射液对小鼠抗缺血、耐缺氧试验

ICR 小鼠 50 只，体重 18~22 g，雌雄各半，随机分成 5 组，每组 10 只，即等体积的空白溶液组、2.0、4.0、8.0 mg/kg 的银杏内酯注射液组和 13.2 mg/kg 的灯盏花素注射液组。各组动物按 0.1 mL / 10 g 体重 ip, 1 次 / d，连续 2 d。于末次给药后 30 min，再分别经尾静脉缓慢注射上述各组分，10 min 后将小鼠逐只断头，立即按秒表记录小鼠断头后张口喘气停止时间作为抗脑缺血、耐缺氧指标，数据以 Student *t*-检验行组间统计学处理。

结果显示, 高、中剂量的银杏内酯注射液及灯盏花素注射液均明显延长正常小鼠断头张口喘气时间，13.2 mg/kg（临床剂量的 40 倍）的灯盏花素注射液组的喘气时间与 8.0 mg/kg（临床剂量的 20 倍）银杏内酯注射液组相当（表 7）。

表 7. 银杏内酯注射液静脉注射对小鼠断头张口喘气时间的影响

组 别	剂量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	张口喘气时间 (s)
空白溶液	等体积		17.8 ± 3.6
银杏内酯注射液	2.0	5	18.0 ± 4.2
	4.0	10	20.8 ± 1.9 [#]
	8.0	20	23.3 ± 2.1 ^{**}
灯盏花素注射液	13.2	40	24.4 ± 3.2 ^{**}

$n = 10, x \pm s, * P < 0.05, ** P < 0.01$ 与空白溶液组比较, [#] $P < 0.05$ 与灯盏花素, 注射液组比较 (Student *t*-检验)。

6 对沙土鼠脑缺血再灌注损伤改善试验

模型：健康沙土鼠 40 只，体重 50~70 g，雌雄兼用。2 %戊巴比妥钠 (50

mg·kg⁻¹) ip 麻醉动物, 颈部正中切口, 分离颈总动脉, 用无损伤动脉夹夹闭双侧颈总动脉 10 min, 松夹后直视血管再通 (再灌注), 造成脑缺血再灌注损伤模型, 假手术组行同样操作, 但不夹闭颈总动脉。缝合皮肤切口, 放回原条件继续饲养 5 天 (d)。手术过程中保持肛温约 37℃。

分组: 动物随机分为 5 组, 每组 8 只, 分别为: 假手术组、缺血模型组、银杏内酯注射液中、高剂量组和灯盏花素注射液阳性对照组。造型前 2 天, 分别 ip 溶媒 (假手术组和缺血模型组)、银杏内酯注射液 4.0、8.0 mg/kg 和灯盏花素注射液 13.2 mg/kg, 每天 1 次, 夹闭动脉前 5 min 股静脉注射各受试样品 1 次, 再灌注期间 ip 1 次/d, 共 5 次。

检测指标

(1). 记录脑电图 (EEG): 参照文献 (Sun F, Liu TP. Tetrandrine vs nicardipine in cerebral ischemia-reperfusion damages in gerbils. *Acta Pharmacol Sin.* 1995, 16 (2): 145) 用单个针形电极插入沙土鼠前脑皮下, 参比电极置于枕部皮下, 另一端接日本光电 VC-11 型记忆示波器, 记录缺血前、静脉注射 5 min、缺血 10 min、再灌注 10、30 和 60 min 的 EEG, 并将脑电信号输入日本光电 QC-111J 型叠加直方分析仪, 记录其直方图, 以 x 轴的 μV 数作为 EEG 电位幅度, 以缺血前 EEG 为 100 %, 按下式计算 EEG 电位幅度 %。

$$\text{EEG 电位幅度 (\%)} = \text{缺血或再灌注后幅度} \div \text{缺血前幅度} \times 100$$

(2). 大脑皮层组织 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、水含量测定: 脑缺血 10 min 再灌注 5 d 后, 脱颈处死动物, 参照 Young 法 (Young W, Rappaport H, Chalif DJ, Flamm ES. Regional brain sodium, potassium and water changes in the rat middle cerebral artery occlusion of ischemia. *Stroke* 1987; 18: 751) 取右侧颞顶叶皮质, 用滤纸吸去血迹, 置预先称重的坩锅中, 精确称取湿重, 后置 100℃烤箱烘烤 5 h

致恒重，再称取干重，按下式计算组织的含水量：

水含量 (%) = (湿重 - 干重) ÷ 湿重 × 100

之后经消化、灰化、稀释处理，用原子吸收分光光度计测定大脑皮层Ca²⁺、Na⁺含量 (Bradbury, MWB, Kleeman, CR, Bagdoyan, H, Berberian A. The calcium and magnesium content of skeletal muscle, brain, and cerebrospinal fluid as determined by atomic absorption flame photometry. J Lab Clin Med 1968; 71: 884)。

实验结果表明，夹闭双侧颈总动脉后，缺血再灌注组动物 EEG 电位幅度立即降低，持续低平，与假手术对照组相比差异有显著性 ($P < 0.01$)，再灌注后电位幅度恢复缓慢，60 min 时，仅恢复至缺血前的 40.5 %。给予银杏内酯注射液 4.0、8.0 mg/kg 灯盏花素注射液 13.2 mg/kg 后，均能促进 EEG 电位幅度的恢复，再灌注 60 min 时分别恢复至缺血前的 49.5%，58.1%和 70.8 %，明显高于缺血再灌注组， $P < 0.05$ (表 8)。

表 8 银杏内酯注射液注射给药对沙土鼠脑缺血再灌损伤 EEG 的影响

组 别	剂量 (mg / kg)	临床剂 的倍数	静 脉 注射 5 (min)	缺血 10 (min)	EEG 电位幅度 (%)			
					再灌注			
					10 (min)	30	60	
假手术组	等体积		105.8 ± 11.0	107.1 ± 7.6**	106.2 ± 11.4**	109.8 ± 12.0**	113 ± 14.7**	
缺血再灌注组	等体积		95.8 ± 13.8	18.9 ± 7.1	23.5 ± 7.9	28.9 ± 6.0	40.5 ± 7.1	
银杏内酯注射液	4.0	10	106.5 ± 8.0	20.3 ± 2.1	26.0 ± 9.7	36.7 ± 11.2	49.5 ± 9.0*	
	8.0	20	99.0 ± 9.5	20.4 ± 4.6	33.0 ± 7.2*	46.4 ± 9.4**	58.1 ± 11.5**	

灯盏花素注射液	13.2	40	102.3 ± 14.5	19.6 ± 5.0	29.6 ± 12.5	46.9 ± 17.0*	70.8 ± 15.1**
---------	------	----	--------------	------------	-------------	--------------	---------------

$x \pm s, n = 8. {}^*P < 0.05, {}^{**}P < 0.01$, 与缺血再灌注组比较 (Student *t*-检验).

缺血 10 min 再灌注 5 d 后, 缺血再灌注组动物大脑皮层水、钠和钙含量明显高于假手术对照组 ($P < 0.01$)。银杏内酯注射液 8.0 mg/kg (临床剂量的 20 倍) 能减轻缺血再灌注损伤引起的脑水肿, 与缺血再灌注组比较, 差异有显著性; 对钙钠累积具有减少趋势, 但未达到统计学显著意义。灯盏花素注射液 13.2 mg/kg (临床剂量的 40 倍) 对脑水肿影响不明显, 但能减轻钙钠累积 (表 9)。

表 9 银杏内酯注射给药对沙土鼠脑缺血 10 min 再灌 5 d
大脑皮层 H₂O、Na⁺、Ca²⁺含量的影响

组 别	剂量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	H ₂ O (%)	Na ⁺ (μmol·g ⁻¹ 干重)	Ca ²⁺ (μmol·g ⁻¹ 干重)
假手术组	等体积		76.6 ± 0.5 **	365.2 ± 62.1 *	3.59 ± 0.82 *
缺血再灌注组	等体积		77.4 ± 0.4	462.6 ± 94.4	5.08 ± 1.45
银杏内酯注射液	4.0	10	77.3 ± 0.6	489.2 ± 51.6	4.22 ± 2.18
	8.0	20	76.8 ± 0.4 *	395.2 ± 61.7	3.89 ± 1.40
灯盏花素注射液	13.2	40	77.5 ± 0.5	378.1 ± 37.0 *	3.61 ± 1.22 *

$x \pm s, n = 8. {}^*P < 0.05, {}^{**}P < 0.01$, 与缺血再灌注组比较 (Student *t*-检验).

7 对大鼠局灶性脑缺血改善试验

雄性 SD 大鼠 80 只, 体重 310 ± 17 g, 随机分为 6 组, 分别为: 假手术组、缺血模型组 (均给予等体积溶媒)、银杏内酯注射液高剂量组 (8.0 mg/kg)、中剂量组 (4.0 mg/kg)、低剂量组 (2.0 mg/kg)和灯盏花素注射液阳性对照组 (13.2 mg/kg)。于实验前 2 天每天 ip. 1 次, 第 3 天于缺血前 5 min 给药 1 次。参照文献方法 (徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理学实验方法学, 第三版, 人民卫生出版社, 2002, pp. 1066), 采用颈内动脉线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞

(MCAO)模型。用 10%水合氯醛 (300 mg/kg) ip 麻醉动物，将硅化的 0.28mm 直径尼龙线经颈总动脉插入大脑前动脉（以颈总动脉分叉处为标记，约为 17 mm）造成局灶性脑缺血模型。假手术组行同样操作，但不闭塞大脑中动脉。手术过程中保持肛温约 37℃。术后 24 h 对动物出现的神经症状进行行为评分，标准如下：

- 0 无异常
- 1 竖毛，轻度运动低下
- 2 行动不协调，屈曲姿势，旋转运动
- 3 偏瘫，不能站立或行走
- 4 痉挛，昏睡
- 5 死亡

MCAO 后 24 h，脱颈处死动物，取出全脑，做冠状切片，用 1%TTC 溶液 37℃避光孵育 25 min，分离苍白区（梗塞区）和非苍白区（正常区），称重，按下式计算百分比：

$$\text{梗塞百分比 (\%)} = \text{梗塞区重量} \div (\text{梗塞区重量} + \text{正常区重量}) \times 100$$

结果表明，ip 银杏内酯注射液 4.0 mg/kg（临床剂量的 10 倍）和 8.0 mg/kg（临床剂量的 20 倍）和灯盏花素注射液 13.2 mg/kg（临床剂量的 40 倍）均能明显缩小 MCAO 大鼠的梗塞范围，试验各组的脑切片见图 1，与缺血模型组比较，差异有显著性 ($P < 0.05$, 0.01)；银杏内酯注射液和灯盏花素注射液均能降低 MCAO 大鼠的脑卒中评分和动物死亡率（表 10）。

表 10 银杏内酯注射液注射给药对大鼠 MCAO 24 h 神经缺陷评分和梗塞百分比

组 别	剂量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	例 数	死亡率 (%)	行为 评分	例数	梗塞范围 (%)
假手术组	等体积		10	0	0	10	0
缺血模型组	等体积		15	53.3	3.8 ± 1.5	11	30.7 ± 6.4
银杏内酯注射液	2.0	5	15	46.7	3.6 ± 1.5	12	27.1 ± 6.4
	4.0	10	14	40.0	3.0 ± 1.9	12	22.8 ± 9.0 [*]
	8.0	20	15	26.7 [*]	2.6 ± 1.7 [*]	12	21.6 ± 8.2 ^{**}
灯盏花素注射液	13.2	40	10	20.0 [*]	2.0 ± 1.8 ^{**}	9	21.5 ± 4.7 ^{**}

$x \pm s$. 行为评分和梗塞百分比采用 Student t -检验: $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, 与缺血模型组比较; 死亡率采用 χ^2 -检验: $^*P < 0.05$, 与缺血模型组比较。

8 增加小鼠腹腔毛细血管通透性试验

小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 即空白溶液组、2.0、4.0、8.0 mg/kg 银杏内酯组和 13.2 mg/kg 的灯盏花素注射液组。各组动物均先以 0.1 mL / 10 g 体重腹腔注射, 1 次 / d, 共 2 次, 于末次给药后 30 min, 再继以尾静脉注射, 10 min 后, 0.5 %伊文思蓝以 0.2 mL / 只尾静脉注射并及时腹腔注射 0.7 % 醋酸 0.2 mL / 只, 15 min 后处死动物, 腹腔注射生理盐水 5 mL, 轻揉后抽取腹腔液, 离心, 上清液于 590 nm 处测定其 OD 值, 数据行组间 t 检验。

结果表明, 高、中剂量的银杏内酯注射液和灯盏花素注射液均能促进 H^+ 刺激引起小鼠腹腔毛细血管通透性的增高 (表 11)。

表 11. 银杏内酯注射液静脉注射对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响

组 别	剂量 (mg / kg)	临床剂量 的倍数	OD 值
空白溶液	等体积		0.33 ± 0.03
银杏内酯注射液	2.0	5	0.36 ± 0.05
	4.0	10	0.41 ± 0.08 ^{*#}

	8.0	20	$0.52 \pm 0.13^{**}$
灯盏花素注射液	13.2	40	$0.51 \pm 0.13^{**}$

$n = 10, x \pm s, ^* P < 0.05, ^{**} P < 0.01$ 与空白溶液组比较, $^{\#} P < 0.05$ 与灯盏花素注射液组比较 (Student t -检验).

1.8 对原代培养小鼠皮层神经细胞的保护作用

小鼠皮层神经细胞的原代培养:取孕 14-17 d 龄 ICR 胎鼠大脑皮层, D-Hanks 液洗 2 次后, 剪成糜状, 加入 0.125% 胰酶消化 10 min, 用含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液终止消化, 用吸管轻轻吹打, 使细胞分散, 200 目金属网筛过滤, 细胞滤液以 $800 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清液, 用 DMEM 培养液 (含 10 % 小牛血清, 青霉素 G 100 U/mL, 链霉素 100 U/mL) 重新悬浮细胞, 将细胞浓度调整为 $1.5 \times 10^6 / \text{mL}$, 接种于多聚赖氨酸包被过的 24 孔和 96 孔板中, 接种体积分别为 400 μL 和 100 μL 。于 37°C 5% CO_2 培养箱中培养。每周换液 2 次, 3~5 d 后, 加入阿糖胞苷 10 $\mu\text{mol/L}$ 培养 24 h, 以抑制非神经细胞增殖。

谷氨酸对培养的神经细胞的损伤:于培养第 8 天加入受试样品 (用 DMSO 助溶) 或空白溶媒, 24 h 后吸去培养液, 用 DMEM 洗 1 次, 加谷氨酸 (终浓度 500 $\mu\text{mol/L}$) 处理 1 h, 吸去含谷氨酸的培养液, 用 DMEM 洗 1 次, 再加入含小牛血清的 DMEM 继续培养 24 h。

MTT 微量自动比色法: 谷氨酸处理后 24 h, 在 96 孔板中加入 MTT (终浓度 0.5 mg/mL), 继续培养 4 h, 再加入三联液溶解蓝紫色结晶 (Formazan), 次日用 EL340 型酶标仪测定 570 nm 的吸收度, 按公式计算细胞的相对存活率 (相对存活率 % = 加样孔 OD 值或 Glu 损伤孔 OD 值 \div 空白对照孔 OD 值 $\times 100$), 结果进行 t -检验。

LDH 活性测定: 谷氨酸处理后 24 h, 测定 24 孔板培养液中即细胞外液

的 LDH 活性，之后将细胞冻存于-30℃冰箱，以破坏细胞，次日再次测定培养液中总的 LDH 活性，两次差值的大小反应细胞的损伤程度，差值越小损伤越重，说明 LDH 泄漏到细胞外液越多，结果进行 *t*-检验。

在缺血性脑损伤的机制研究中，兴奋性氨基酸在缺血性脑损伤病理过程中发挥着重要作用，研究表明谷氨酸与原代培养的大脑皮层神经细胞接触一定时间后将引起神经细胞的死亡，LDH 泄漏到细胞外液中。本实验结果表明：银杏内酯注射液和灯盏花素注射液均能减少谷氨酸引起的神经细胞 LDH 的泄漏，两者相比无显著性差异，提示对谷氨酸所致细胞膜损伤有一定的保护作用；但对提高谷氨酸损伤后细胞的相对存活率影响不明显（表 12）。

表 12. 银杏内酯注射液对谷氨酸诱导小鼠原代培养皮层神经原损伤的影响

药 浓 例数 (μg / L)	相对细胞存活率 %		例数	LDH (U/L)差值	
	银杏内酯	灯盏花素		银杏内酯	灯盏花素
对照			4	189.2 ± 40.5*	189.2 ± 40.5*
0	5	76.2 ± 8.3	4	134.7 ± 12.5	134.7 ± 12.5
0.1	5	68.7 ± 9.0	4	152.5 ± 22.6	134.4 ± 28.6
1	5	71.6 ± 12.8	4	161.7 ± 21.6	154.1 ± 35.9
10	5	72.9 ± 12.4	4	164.6 ± 19.2*	165.3 ± 21.4*
100	5	76.5 ± 13.7	4	169.1 ± 16.8*	180.5 ± 20.4**
1000	5	80.2 ± 14.6	4	177.6 ± 14.3**	201.2 ± 25.8**

$x \pm s$, $P > 0.01$ 与 0 浓度比较 (Student *t*-检验); $P > 0.05$ 与灯盏花素注射液比较(Student *t*-检验)。

综上所述，银杏内酯注射液具有显著改善脑组织的缺血和缺氧作用，银杏内酯注射液具有明显的通脉、活血化瘀及促进血瘀性物质的吸收之功效。大部分药效学试验项目中，银杏内酯注射液 8.0 mg/kg（临床剂量的 20 倍）作用与灯盏花素注射液 13.2 mg/kg（临床剂量的 40 倍）相当，但前者选择性强力拮抗 PAF，抗脑水肿作用较强，后者减轻钙、钠累积作用较明显。本试验为银杏内酯注射

液作为防治中风和外周血栓性疾病提供了较为可靠的依据。

附图说明

图 1 银杏内酯提取物的含量测定 HPLC 图，其中峰 1 是银杏内酯 C、峰 2 是白果内酯、峰 3 是银杏内酯 A、峰 4 是银杏内酯 B。

图 2 银杏内酯注射液的含量测定 HPLC 图，其中峰 1 是银杏内酯 C、峰 2 是白果内酯、峰 3 是银杏内酯 A、峰 4 是银杏内酯 B。

具体实施方式

实施例一

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	1000ml
乙醇	2500ml
注射用水加至	5000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%柠檬酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μ m 和 0.45 μ m 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 5ml 玻璃瓶中，于 100℃灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法： 10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇-水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测

结果：银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 1mg，0.5mg，1.5mg，

7mg。

实施例二

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%醋酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μ m 和 0.45 μ m 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 2ml 玻璃瓶中，于 100℃灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法：10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇-水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测

结果：银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 1.8mg, 0.7mg, 3.5mg, 4mg。

实施例三

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%柠檬酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μm 和 0.45 μm 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 2ml 玻璃瓶中，于 100℃灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法：10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇—水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测

结果：银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 1mg, 0.7mg, 0.3mg, 6mg。

实施例四

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%柠檬酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μm 和 0.45 μm 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 2ml 玻璃瓶中，于 100℃灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏

叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法： 10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇—水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测

结果：银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 4mg，4mg，1mg，1mg。

实施例五

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80% 的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10% 柠檬酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μ m 和 0.45 μ m 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 2ml 玻瓶中，于 100℃ 灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法： 10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇—水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测。

结果：每瓶银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 4.5mg，3.5mg，1mg，1mg。

实施例六

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
<hr/>	
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%醋酸溶液调节 pH，搅匀，半成品检验合格后，用 0.65 μ m 和 0.45 μ m 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明，灌封于 2ml 玻瓶中，于 100℃灭菌 20 分钟，冷却，灯检，贴标，即得。

含量测定用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法：10% 甲醇制作供试品溶液，经 C18 色谱柱，以甲醇-水为流动相。梯度洗脱，以蒸发光检测器检测。

结果：每瓶银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 2.6mg，1.8mg，2mg，3.6mg。

实施例七

处方（以 1000 剂量单位计）：

银杏内酯	10g
甘油	400ml
乙醇	800ml
注射用水加至	2000ml
<hr/>	
制成	1000 支

制备方法

取处方量约 80%的注射用水，处方全量的甘油和乙醇，置配液缸中，加入处方量的银杏内酯，搅拌溶解后，加注射用水至全量，用 10%柠檬酸溶液调节

pH, 搅匀, 半成品检验合格后, 用 $0.65\ \mu\text{m}$ 和 $0.45\ \mu\text{m}$ 复合耐醇微孔滤膜作滤材的微膜过滤系统过滤澄明, 灌封于 2ml 玻璃瓶中, 于 100°C 灭菌 20 分钟, 冷却, 灯检, 贴标, 即得。

含量测定用高效液相色谱——蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法: 10% 甲醇制作供试品溶液, 经 C18 色谱柱, 以甲醇-水为流动相。梯度洗脱, 以蒸发光检测器检测。

结果: 每瓶银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 0.1mg, 8.8mg, 0.1mg, 1mg。

实施例八

处方 (以 1000 剂量单位计):

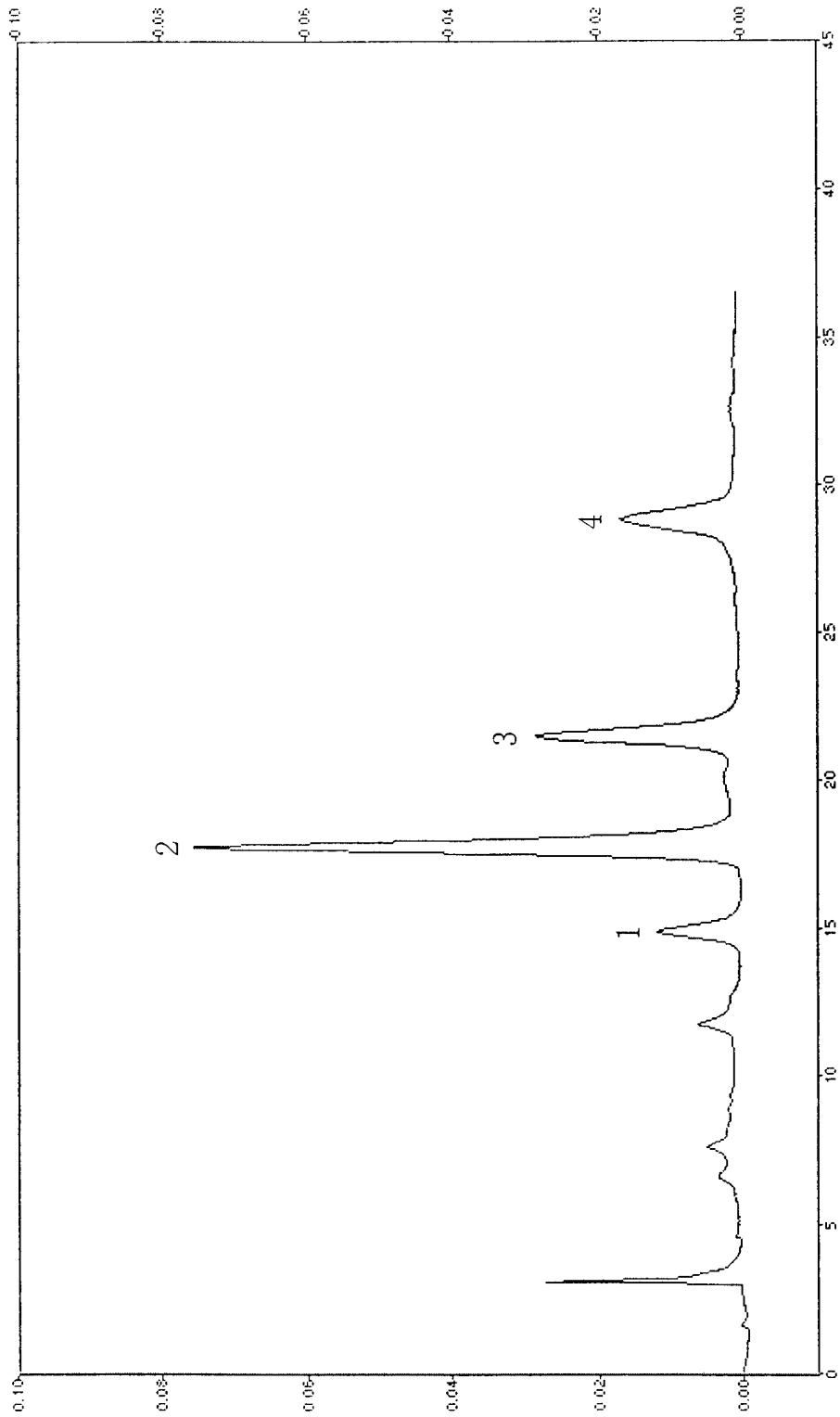
银杏内酯	10g
淀粉	100g
二氧化硅	10g
制成	1000 粒

制备方法

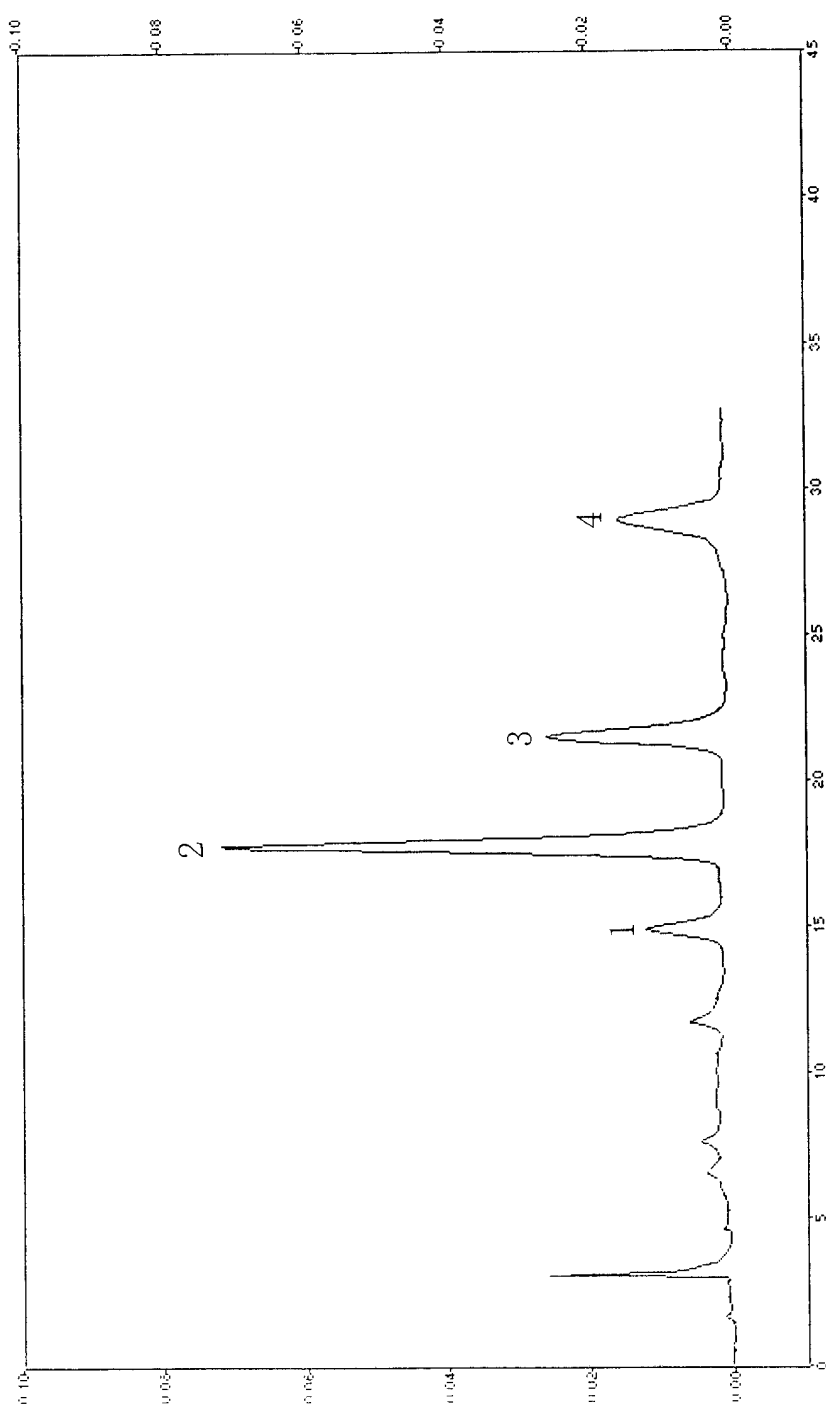
取处方量主药和辅料混匀, 装 2 号胶囊。

含量测定用高效液相色谱——蒸发光散射检测法 (HPLC—ELSD) 直接测定银杏叶中银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量。方法: 10% 甲醇制作供试品溶液, 经 C18 色谱柱, 以甲醇-水为流动相。梯度洗脱, 以蒸发光检测器检测。

结果: 每粒胶囊银杏萜类内酯 A、B、C 及白果内酯的含量分别为 1.5mg, 3mg, 2mg, 3.5mg。



附图 1



附图 2