

Composição Química e Atividade Antioxidante de Formulações Comerciais contendo *Ginkgo biloba* L.[#]

Chemical Composition and Antioxidant Activity of Formulations containing *Ginkgo biloba* L.

Caieiro, D. M.; *Marcucci, M. C

Universidade Bandeirante de São Paulo, Programa de Mestrado Profissional em Farmácia, Rua Maria Cândida 1813, 5º andar, 02071-013, Vila Guilherme, São Paulo, SP, Brasil.

Resumo

O extrato de *Ginkgo biloba* EGb 761 (Tebonin, Byk Química) é uma mistura padronizada de substâncias ativas obtidas das folhas verdes da árvore *Ginkgo biloba* L. Efeitos benéficos do EGb 761 foram descritos no tratamento da insuficiência cerebral, déficits cognitivos e na doença vascular periférica. Embora os mecanismos responsáveis por estes efeitos não estejam bem esclarecidos, estudos experimentais mostram que o EGb 761 pode neutralizar radicais livres, entre eles o óxido nítrico. O objetivo deste estudo foi verificar a composição química e a atividade antioxidante de formulações comerciais à base de *Ginkgo biloba*. Para atender o objetivo proposto foi realizado um ensaio químico da atividade antioxidante de *Ginkgo biloba* que foi avaliada pelo teste do DPPH. Foram realizados também testes para a detecção de flavonóides totais e corrida cromatográfica para a evidênciação dos picos correspondentes aos flavonóides. Com relação às análises de cromatografia líquida, realizou-se somente o *fingerprint* para a identificação dos flavonóides denominados de ginkgo-flavonóides. Foi constatado que existe uma correlação entre o conteúdo de flavonóides totais e a atividade antioxidante. Com referência às bulas, somente uma amostra estava de acordo com o preconizado pela ANVISA.

Abstract

EGb 761 is an extract of *Ginkgo biloba* (Tebonin, Byk Chemistry), a standardized mixture of active substances derived from green leaves of the *Ginkgo biloba* L. tree. Beneficial effects of EGb 761 were described in the treatment of cerebral insufficiency, cognitive deficits and peripheral vascular disease. While the mechanisms responsible for these effects are not well understood, experimental studies show that the EGb 761 can scavenge free radicals, including nitric oxide. The objective of this study was to verify the chemical composition and the antioxidant activity of commercial formulations with *Ginkgo biloba*. The antioxidant effect of *Ginkgo biloba* was evaluated using the free radical DPPH. The presence of total flavonoids was measured and those peaks in the chromatographic fingerprint which corresponded to flavonoids were identified but not quanti-

Correspondência:

E-mail: cris.marcucci@yahoo.com.br

Unitermos: *Ginkgo biloba*, Atividade Antioxidante, Flavonóides, Controle de Qualidade.

Key Words: *Ginkgo biloba*, Antioxidant Activity, Flavonoids, Quality Control.

[#] Este estudo é parte do requisito de conclusão de curso da aluna Dediana Cavalcante Caieiro para a obtenção do grau de Bacharel em Bio-medicina, UNIBAN, 2007.



fied. A correlation between the flavonoid content and antioxidant activity was established. Only one among seven samples studied herein was in accordance with ANVISA regulations.

Introdução

O *Ginkgo biloba* vem sendo indicado por possuir efeitos preventivos sobre as patologias relacionadas à circulação sanguínea, sendo ação eficaz na proteção do organismo contra os radicais livres (SUZUKI, 2002). O extrato de *Ginkgo biloba*, através da combinação de seus princípios ativos, garante uma vasodilatação com concomitante redução na viscosidade sanguínea promovendo um aumento no suprimento de sangue no cérebro, a partir da ação sobre os radicais livres que resulta em uma maior oxigenação dos tecidos nervosos (MAHADEVAN; PARK, 2008; NISHIDA; SATOH, 2004; BIRKS et al., 2002). Foi relatado que extratos padronizados de *Ginkgo biloba* reduziram a osteoporose em ratos (LUCINDA et al. 2010). Os resultados apresentados pelo extrato do *Ginkgo biloba* 761 (EGb 761), que é a mistura complexa padronizada com teor de 24% de flavonóides e 6% de terpenos, os quais são considerados os principais constituintes ativos; promoveram um aumento na comercialização deste produto, que já é utilizado em cerca de 40 países (SIMÕES; FARIAS, 2002).

Dada a diversidade de aplicações com base no *Ginkgo biloba*, surgiram no mercado vários produtos que vêm sendo contestados por médicos e farmacêuticos sobre a equivalência entre os mesmos. Assim, no mercado brasileiro evidencia-se uma divisão em três grandes grupos conforme apresentado por Simões e Farias (2002):

- 1) Produtos contendo o extrato seco EGb 761
- 2) Produtos contendo outros extratos secos; e
- 3) Produtos contendo folhas pulverizadas de *Ginkgo biloba*.

As cápsulas de *Ginkgo* comerciais frequentemente são preparadas no conteúdo de 40, 80 ou 120 mg de flavonóides. O uso de pó das folhas desta planta não é recomendado por apresentar ácido gincólico, substância alergênica que é encontrada em concentrações menores que 5 ppm no extrato padronizado. Além disso, sua concentração em fla-

vonóides é aproximadamente de 0,8% (BARA et al., 2004). É importante destacar a propriedade do ginkgolídeo B que atua sobre a antiagregação plaquetária, agindo, desta forma, de maneira antagônica sobre o fator ativador de plaquetas (PAF). Além deste fato, deve-se notar a ação neuroprotetora e antiapoptótica, confirmadas pelos estudos realizados em animais (LUO, 2001). O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* EGb 761, segundo a Instrução Normativa no. 5 de 2008 (ANVISA, 2008a) deve conter as seguintes informações, contidas na tabela 1.

Tabela 1 – Informações da IN nº 5 de 11/12/2008 ANVISA para o *Ginkgo biloba*

Nomenclatura botânica	<i>Ginkgo biloba</i> L.
Nome popular	Ginkgo
Parte usada	Folhas
Padronização/Marcador	Ginkgoflavonóides (22 a 27%), determinados como quercetina, kaempferol e isorhamnetina; e terpenolactonas (5 a 7%), determinadas como ginkgolídeos A, B, C, J e bilobalídeos
Formas de uso	Extratos
Indicações / ações terapêuticas	Vertigens e zumbidos (tinidos) resultantes de distúrbios circulatórios; distúrbios circulatórios periféricos (claudicação intermitente), insuficiência vascular cerebral
Dose Diária	26,4 a 64,8 mg de ginkgoflavonóides e 6 a 16,8 mg de terpenolactonas
Via de Administração	Oral
Restrição de uso	Venda sob prescrição médica

No processo de obtenção do extrato de *Ginkgo biloba* L., as folhas secas passam pelo processo inicial de extração



com acetona e água. Após total eliminação da acetona por evaporação, utiliza-se uma sequência de tratamentos para a eliminação das demais substâncias indesejáveis. O procedimento de extração e a definição da composição qualitativa e quantitativa do extrato devem ser rigorosamente controlados e padronizados (BANOV et al., 2006).

Bara e cols. (2004) realizaram estudos com o intuito de avaliar a qualidade das amostras dos extratos secos e da cápsula de *Ginkgo*, determinando os flavonóides de *Ginkgo* pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC; High Performance Liquid Chromatography), o que evidenciou que 33% das matérias primas e 91% das cápsulas estavam em desacordo com as especificações feitas pelos fabricantes durante o processo de controle de qualidade. Estes dados indicam a fundamental importância de se implementar um controle qualitativo das plantas medicinais e fitoterápicos.

Segundo investigações de Ribeiro e cols. (2005), verificou-se que os princípios ativos das matérias primas vegetais devem ser cuidadosamente analisados de forma farmacopeica, com base em uma amostra de 25 extratos secos padronizados de *Ginkgo biloba* L. (EGb 761). Os resultados obtidos indicaram que 60% das amostras analisadas de *Ginkgo* se apresentavam em desacordo com as especificações contidas sobre os princípios ativos. Esta situação reforça também a necessidade de que sejam validadas todas as matérias-primas fornecidas, exigindo que as empresas farmacêuticas assumam uma postura mais criteriosa no armazenamento, evitando a absorção de umidade que afeta de forma profunda a composição da amostra. A utilização de matérias-primas fora das especificações acarreta a produção de lotes de medicamentos com uma sub-dosagem de fitoativos.

O controle de qualidade de preparações contendo *Ginkgo biloba* vem sendo efetuado de diversas formas: cromatografia em camada delgada de alta eficiência (HPTLC) (XIE et al., 2006), cromatografia líquida de alta eficiência empregando-se a detecção por ultravioleta (HPLC-UV) (JI et al., 2005), HPLC com detector de fotodiodos (HPLC-DAD) (DUBBER; KANFER, 2004), HPLC com detector de massas (DING et al., 2006), HPLC com técnicas acopladas como DAD e detecção por quimiluminescência (DING et

al., 2009), por HPLC com detecção por espectrometria de massas *tandem* (LC/MS/MS) (SUN et al., 2005), ou ainda a análise cromatográfica por *fingerprinting* (HUI-FAN et al., 2006). Van Beek (2002) publicou uma excelente revisão sobre métodos analíticos aplicados à análise de *Ginkgo biloba*, atualizando ainda o assunto, posteriormente, por intermédio de outra revisão (VAN BEEK; MONTORO, 2009). Dubber e Kanfer (2004) desenvolveram e validaram um método analítico para a detecção e quantificação de flavonóides em *Ginkgo biloba*.

À medida que cresce o consumo destas drogas, aumenta a responsabilidade das agências regulatórias reguladoras e dos fabricantes, a fim de que se assegure a qualidade e eficácia terapêutica. Baseado no exposto anteriormente, o objetivo deste estudo foi o de verificar a composição química empregando-se a espectrofotometria e a cromatografia líquida de alta eficiência bem como a atividade antioxidante de formulações comerciais à base de *Ginkgo biloba*.

Material e Métodos

Amostras

Para a avaliação da atividade antioxidante foram utilizadas as seguintes formulações comerciais: tintura de *Ginkgo biloba* (amostra **1**), cápsulas de extrato seco a 24% PN (**2**), cápsulas de extrato seco a 24% G (**3**), extrato fluido a 40% (**4**), droga vegetal seca e triturada (**5**), cápsulas de extrato seco (**6**) e cápsulas de extrato seco a 24% de procedência chinesa (**7**).

Determinação do teor de sólidos solúveis

Foram preparadas as tinturas das amostras secas e da droga vegetal. Para cada um dos extratos e tinturas foi determinado o teor de sólidos solúveis, pesando-se um béquer e anotando-se o seu peso. Foram pipetados 5 mL dos extratos e tinturas em um béquer levando-o à estufa a 60 °C até a secura. Retirou-se o béquer, deixando-o atingir a temperatura ambiente em dessecador. Em seguida, o mesmo foi pesado e a operação repetida até peso constante. Desta forma, foi possível calcular a quantidade dos sólidos solúveis no extrato. O procedimento foi realizado em triplicata.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi analisada pelo método de sequestro de radicais de DPPH (radical difenilpicrilidrazila) (HATANO et al., 1989; BANSKOTA et al., 2000) que se baseia em uma reação de óxido-redução. Os extratos e tinturas foram diluídos a 0,01% (v/v). Em seguida, 8 tubos foram enumerados de 0 até 7. Adicionaram-se os volumes de etanol (Ecibra), correspondentes às diluições do teste. Em seguida, foram adicionados os volumes dos extratos e tinturas para se obter as concentrações finais desejadas. Um volume de 1000 µL de DPPH (Sigma, St.Louis, USA a 60µM) foi adicionado no 1º tubo. Aqui o cronômetro foi ligado, sendo desligado depois de um minuto. O mesmo volume de DPPH foi adicionado nos outros tubos a cada 1 minuto. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Varian Cary 50, EUA) em 517 nm, após 30 minutos da adição do DPPH no 1º tubo. Foi traçado um gráfico (em %) de DPPH versus a concentração de *Ginkgo biloba* (µg/mL) e a CE₅₀ (concentração de própolis que elimina 50% dos radicais livres) foi calculada, utilizando-se uma planilha de cálculos, empregando-se o método dos mínimos quadrados.

Análise de flavonóides nos extratos e tinturas

Foram utilizados 0,05 g do extrato seco de todas as amostras de *Ginkgo biloba*, nos quais foram adicionadas pequenas quantidades de metanol, acertando-se o volume final para 25,0 mL, em balão volumétrico. A partir deste ponto, o procedimento foi realizado em triplicata. Foram pipetados 200 µL desta solução em um balão de 10,0 mL, com aproximadamente 5,0 mL

de metanol. Foram adicionados 200 µL da solução de cloreto de alumínio, AlCl₃ (Reagen) a 5%, completando os 10,0 mL do balão volumétrico com metanol até próximo ao menisco, agitando-se em seguida por alguns segundos. A solução foi mantida a 15 °C por 30 minutos. Decorrido este tempo, o menisco foi acertado e a leitura da absorbância realizada no comprimento de onda de 425 nm.

Análise cromatográfica

As amostras foram analisadas por HPLC num equipamento da Merck-Hitachi modelo D-7000 com rede de fotodiodos e injetor automático. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna em fase reversa Lichrochart 100 RP-18 (12,5 x 0,4 cm, diâmetro de partícula de 5µm) (Merck, Darmstadt, Alemanha) utilizando-se como fase móvel água-ácido fórmico (Merck) (95:5, solvente A) e metanol (solvente B) (Grau cromatográfico, Merck). A eluição foi desenvolvida em um fluxo de 1 mL/min, utilizando-se um gradiente linear. O tempo máximo de análise foi de 50 minutos e a detecção foi efetuada em comprimentos de onda de 280 e 340 nm. O programa utilizado para a análise de dados foi o Merck-Hitachi modelo D-7000 (Chromatography Data Station - DAD Manager).

Resultados e Discussão

Verificação das Bulas

Devido a uma grande disparidade de informações em rótulos/bulas de fitoterápicos, foi desenvolvido um trabalho de coleta destas para se verificar o conteúdo de informações encontradas. A tabela 2 mostra os dados levantados sobre as informações contidas em bulas/rótulos de produtos à base de *Ginkgo biloba*.

**Tabela 2 – Informações das bulas das amostras de *Ginkgo biloba* analisadas**

Bula/Produto	1	2	3	4	5	6	7
Forma de apresentação*	4	2	2	3	1	2	2
Nomenclatura botânica oficial	X					X	X
Lote	X	X	X	X	X	X	X
Data de Fabricação	X	X	X	X	X	X	X
Prazo de validade	X	X	X	X	X	X	X
Fornecedor	X	X	X	X	X	X	X
Origem	X	X	X	X	X	X	X
Fitoterápico						X	
Forma farmacêutica						X	
Via de administração					X	X	
Indicação terapêutica					X	X	X
Efeitos colaterais						X	
Contra-indicações						X	
Interações medicamentosas						X	
Superdosagens						X	
Armazenamento						X	
Advertências						X	
Parte utilizada da planta	X	X	X	X	X	X	X

*Forma de apresentação: 1. Folhas secas, 2. Cápsulas de extrato seco a 24% (excipiente: amido), 3. Extrato fluido a 24%, 4. Tintura a 40%, 5. Folha Seca 100%, 6. Extrato Seco, 7. Extrato Seco a 24%. X: informação existente.

No que se refere às informações constantes na bula, apenas a Amostra nº 6 demonstrou estar plenamente de acordo com o preceituado pela ANVISA (2008b), mostrando a falta de padronização destes dos demais produtos no mercado.

Flavonóides versus Atividade antioxidante

Souza e cols. (2007) demonstraram ser possível relacionar a porcentagem de atividade antioxidante (%AA) obtida pela quantidade de DPPH consumida com a quantidade de oxidante necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em até 50%. Esta concentração é representada pelo CE_{50} (ou ED_{50}), a qual é também

reconhecida por ser uma concentração inibitória (CI_{50}). Daí depreende-se o fato de que quanto maior o consumo de DPPH, menor será a CE_{50} e maior a sua atividade como antioxidante. A tabela 3 apresenta os valores de flavonóides totais expressos em quercetina (% m/m) para todas as amostras analisadas e também os valores de CE_{50} (dose que elimina 50% dos radicais livres). Os resultados obtidos revelam que a atividade antioxidante (expressa pelos valores de CE_{50}) foi muito diferente de amostra para amostra e estes valores estão concordantes com os teores de flavonóides – o que está de acordo melhor a atividade antioxidante correspondendo ao maior o teor de flavonóides.



Tabela 3 – Flavonóides totais (% m/m) e atividade antioxidante (CE₅₀ em µg/mL) das amostras testadas

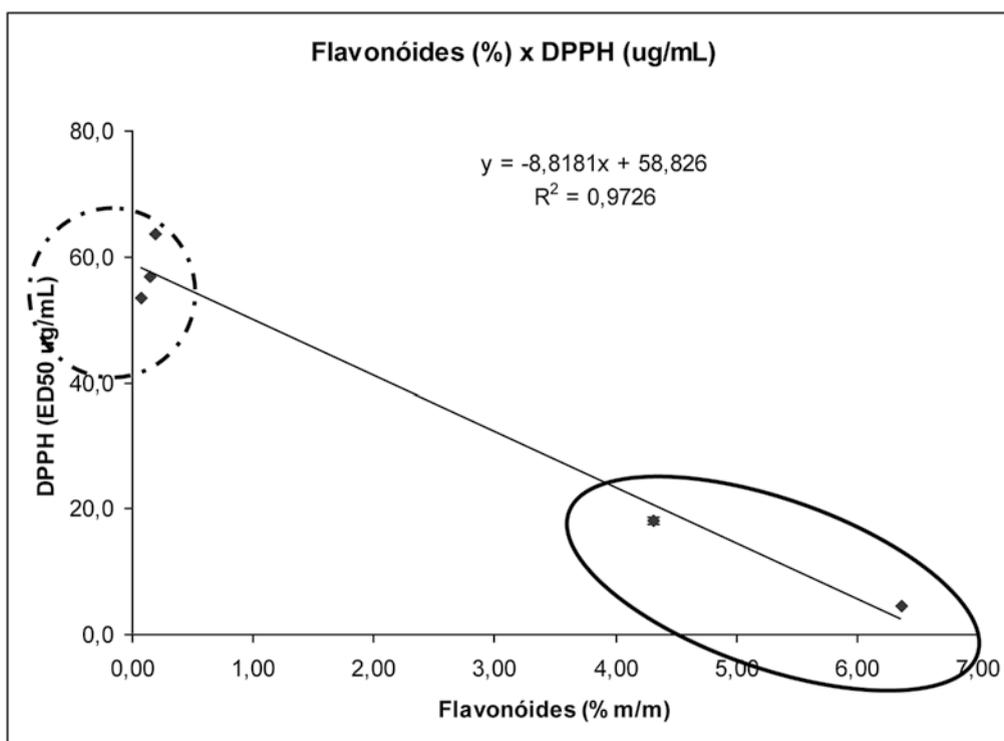
Amostra	% Flavonóides (%m/m)	CE ₅₀ * (DPPH) (mg/mL)
1(Tintura a 100%)	0,069 ± 0,002	63,63
2(Extrato seco a 24%)	1,184 ± 0,057	18,02
3 (Extrato seco a 24%)	3,058 ± 0,147	6,49
4 (Extrato Fluido a 40%)	0,184 ± 0,004	56,92
5 (Droga vegetal)	0,263 ± 0,027	53,38
6 (Extrato seco)	2,155 ± 0,273	9,61
7 (Extrato a 24%)	5,095 ± 0,000	4,44

* O valor de CE₅₀ é a dose que elimina 50% dos radicais livres, em microgramas de amostra (padronizada a 0,01%) por mililitros de solução teste. O teor de flavonóides representa a média de três análises.

A figura 1 mostra a correlação entre o teor de flavonóides totais e a atividade antioxidante. Observa-se que quando o conteúdo de flavonóides é bem baixo, a amostra apresenta pouca atividade antioxidante (cí-

culo pontilhado) e em contrapartida, quando os teores de flavonóides são mais altos, a amostra apresenta uma excelente atividade contra radicais livres (circulo cheio).

Figura 1 – Correlação entre o teor de flavonóides totais (% m/m) e a atividade antioxidante representada pelo valor de ED₅₀ (µg/mL). Medidas de flavonóides em triplicata



Assim, pode-se observar que as amostras analisadas não estão em conformidade com o preconizado pela RE nº 89/2004 da ANVISA (2004), mantendo-se abaixo do padrão estabelecido para a taxa de flavonóides que é de 24%. Isto significa que o consumidor deve consumir uma dosagem maior de medicamento para obter o efeito desejado.

Análise cromatográfica

Com a finalidade de se identificar alguns marcadores presentes no *Ginkgo biloba*, tais como flavonóides,

derivados de canferol e quercetina (ginkgolídeos), efetuou-se uma corrida cromatográfica de cada amostra analisada. A figura 2 mostra um cromatograma típico de uma amostra analisada. Os picos de tempos de retenção de 8,92; 11,09; 22,84; 27,79 e 32,07 min são atribuídos aos derivados de quercetina e canferol, pois apresentam espectros idênticos no ultravioleta, porém diferentes tempos de retenção (cujos espectros UV estão na figura 3).

Figura 2 – Cromatograma típico de uma amostra de *Ginkgo biloba*, cujos tempos de retenção representam flavonóides derivados de quercetina e canferol (ginkgolídeos)

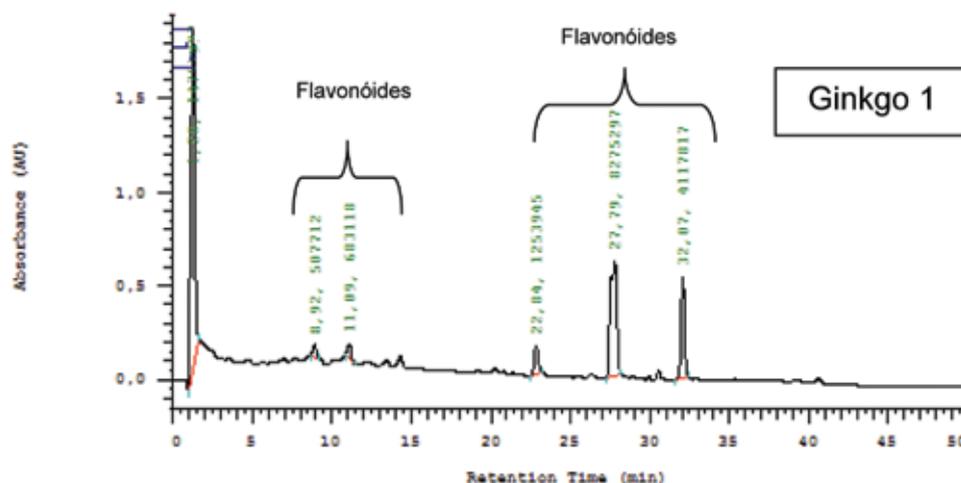
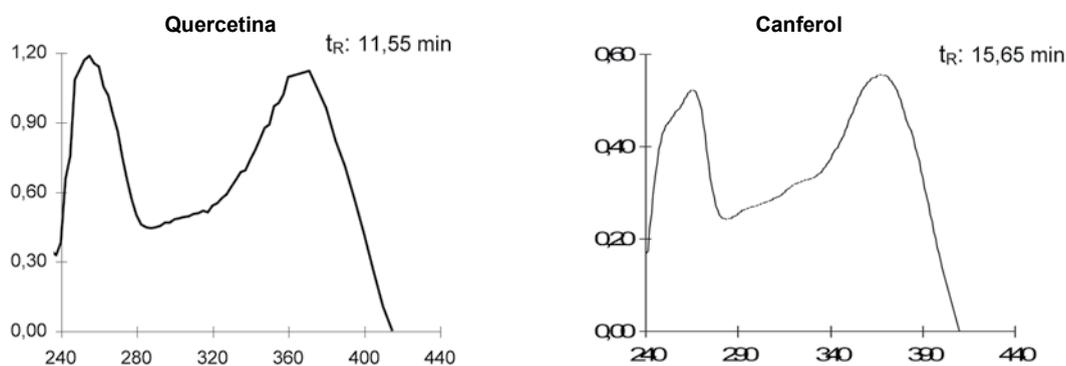


Figura 3 – Espectros no UV de quercetina e canferol, injetados nas mesmas condições experimentais das amostras de *Ginkgo biloba* analisadas. O tempo de retenção de cada um está inserido na figura



É importante salientar que, ao realizar o teste de cromatografia, constatou-se a presença de flavonóides, porém a sua identificação foi prejudicada devido a não se dispor

de padrões de ginkgolídeos. Nas sete amostras avaliadas no presente estudo, verificou-se que há uma grande falha na bula dos medicamentos fitoterápicos, e que somen-

te a amostra nº 6, está dentro do padrão estipulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. A amostra nº 5, adquirida em ervanaria, também está fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA para este tipo de apresentação e comércio do produto (RDC nº 10 de 09 de março de 2010). A ANVISA determina que os produtos fitoterápicos sejam registrados devidamente e que possuam na bula dados gerais, tais como: a parte utilizada da planta; a composição do medicamento, indicando peso ou volume da matéria prima vegetal; princípios ativos quando conhecidos; prazo de validade; forma farmacêutica, etc. A legislação também preconiza quais os itens que devem, obrigatoriamente, fazer parte da bula (a ANVISA possui bulas padronizadas para vários fitoterápicos, RDC nº 95 de 11 de dezembro de 2008). É importante salientar que toda matéria vegetal utilizada em farmácias de manipulação e indústrias de medicamentos fitoterápicos deve passar por um controle de qualidade. Portanto, é de extrema importância que as informações constantes nas bulas (onde é demonstrada a forma de uso do *Ginkgo biloba*) sigam rigorosamente os trâmites legais, garantindo a qualidade no uso deste tipo de fitoterápico.

Nos testes de atividade antioxidante e na dosagem do teor de flavonóides, observou-se que quando o conteúdo de flavonóides é bem baixo, a amostra apresenta pouca atividade antioxidante, e em contrapartida, quando os teores de flavonóides são mais altos, a amostra apresenta uma excelente atividade contra radicais livres, confirmando o potencial antioxidante desta planta medicinal. Em relação ao estudo da cromatografia líquida, não foi possível identificar quais são os flavonóides presentes, pela não disponibilidade de padrões de ginkgolídeos.

Os dados obtidos neste estudo demonstraram que a qualidade em produtos à base de *Ginkgo biloba* deve ser melhorada e, portanto, torna-se essencial a implementação de técnicas quantitativas no controle de qualidade físico-químico de matérias-primas vegetais. Para se garantir a eficácia terapêutica desses produtos, são imprescindíveis os cuidados na aquisição, recebimento e manipulação das matérias-primas.

Acredita-se que este estudo poderá contribuir para um alerta sobre o controle de qualidade de fitoterápicos garantindo assim a sua eficácia terapêutica, tão importan-

te para a saúde da população. Produtos farmacêuticos a base de *Ginkgo biloba* L. constituem o medicamento fitoterápico de maior comercialização no Brasil.

Referências

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RE no. 89, Lista de Registros Simplificados de Fitoterápicos, de 16 de março de 2004. Disponível em www.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RE_89_16_03_2004.pdf. Acesso em 27/08/2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Instrução Normativa nº. 5, Lista de Medicamentos Fitoterápicos de Registro Simplificado, de 11 de dezembro de 2008a. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=344778&word##>. Acesso em 27/08/2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução da Diretoria Colegiada RDC no. 95, Bula de Medicamentos Fitoterápicos, de 11 de dezembro de 2008b. Disponível em www.anvisa.gov.br/.../bula_padronizadas_fitoterapico.pdf. Acesso em 27/08/2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução da Diretoria Colegiada RDC no. 10, Notificação de Drogas vegetais, de 09 de março de 2010. Disponível em www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/103202-10.html. Acesso em 27/08/2010.

BANOV, D.; BABY, A.R.; DEL BOSCO, L.M.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, v. 25, n.2, p.219-24, 2006.

BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; ADNYANA, K.; MIDORIKAWA, K.; MATSUSHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A.A.G.; KADOTA, S. Cytotoxic hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China, *Journal of Ethnopharmacology*, v.72, p.239-246, 2000.

BARA, M.T.T.; CIRILO, H.N.; OLIVEIRA, V. de. Determinação de ginkgoflavonóides por cromatografia líquida de alta eficiência em matérias primas e produtos acabados. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v.1, n.1, p.1-7, 2004.

- BIRKS, J.; GRIMLEY, E.V.; VAN DONGEN M. *Ginkgo biloba* for cognitive impairment and dementia. Cochrane Database Systematic Review (4): CD003120, 2002.
- DING, S.; DUDLEY, E.; PLUMMER, S.; TANG, J.; NEWTON, R.P.; BRENTON, A.G. Quantitative determination of major active components in *Ginkgo biloba* dietary supplements by liquid chromatography/mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry, v.20, p.2753-2760, 2006.
- DING, X.-P.; QI, J.; CHANG Y.-X.; MU, L.-L.; ZHU, D.-N.; YU, B.-Y. Quality control of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves by high-performance liquid chromatography with diode array detection and on-line radical scavenging activity detection. Journal of Chromatography A, v.1216, p.2204-2210, 2009.
- DUBBER, M.-J.; KANFER I. High-performance liquid chromatographic determination of selected flavonols in *Ginkgo biloba* solid oral dosage forms. Journal of Pharmaceutical Sciences, v.7, p.303-309, 2004.
- HATANO, T.; EDAMATSU, R.; MORI, A.; FUJITA, Y.; YASUHARA, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Effects of the Interaction of Tannins with Co-existing Substances. VI. : Effects of Tannins and Related Polyphenols on Superoxide Anion Radical, and on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, v.37, p.2016-2021, 1989.
- HUI-FAN, X.; CHENG, Y.-Y.; YE, Z.-L.; LIN, R.-C.; QIAN, Z.-Z. Multiple chromatographic fingerprinting and its application to the quality control of herbal medicines. Analytica Chimica Acta, v.555, p.217-224, 2006.
- JI, Y.-B.; XU, Q.-S.; HU, Y.-Z.; HEYDE, Y.V. Development, optimization and validation of a fingerprint of *Ginkgo biloba* extracts by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography A, v.1066, p.97-104, 2005.
- LUCINDA, L.M.F.; VIEIRA, B.J.; SALVADOR, P.A.; DE OLIVEIRA T.T.; PETERS, V.M., REIS, J.E.P., GUERRA, M.O. Efeito do extrato de *Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae, na osteoporose induzida em ratos Wistar. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.20, p.429-434, 2010.
- LUO, Y. *Ginkgo biloba* neuroprotection: therapeutic implications in Alzheimer's disease. Journal Alzheimers Disease v.3, p.401-407, 2001.
- MAHADEVAN, S.; PARK, Y. Multifaceted Therapeutic Benefits of *Ginkgo biloba* L.: Chemistry, Efficacy, Safety, and Uses. Journal of Food Science, v.73, p.14-19, 2008.
- NISHIDA, S.; SATOH, H. Comparative vasodilating actions among terpenoids and flavonoids contained in *Ginkgo biloba* extract. Clinica Chimica Acta, v. 339, p. 129-133, 2004.
- RIBEIRO, P.A.M.; ARANTES, M.C.B.; SANDOVAL J.R., AMORIM, L.L.R.S.; REALINO, P.J.; BARA, M.T.F. Controle de qualidade físico-químico de matérias-primas vegetais. Revista Eletrônica de Farmácia, v. 2, p.176-179, 2005.
- SIMÕES, C.M. O.; FARIAS, M.R. Equivalência terapêutica entre medicamentos fitoterápicos. Folha Médica n.2, vol. 121, abr/mai/jun, 2002.
- SOUZA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA J.R., AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAUJO, D.S.; CAVALANTE, L.C.; BARROS, E.D.S.; ARAUJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Química Nova, v.30, p.351-355, 2007.
- SUN, Y.; LI, W.; FITZLOFF, J.F.; VAN BREEMEN, R.B. Liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry of terpenoid lactones in *Ginkgo biloba*. Journal of Mass Spectrometry, v.40, p.373-379, 2005.
- SUZUKI, S.F.O Mercado de Medicamentos Fitoterápicos no Brasil. In: SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V.E. Fitoterapia Racional. Ed. Manole, São Paulo, p.363-369, 2002.
- VAN BEEK, T. Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts. Journal of Chromatography A, v.967, p.21-55, 2002.
- VAN BEEK, T.; MONTORO, P. Chemical analysis and quality control of *Ginkgo biloba* leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. Journal of Chromatography A, v.1216, n.11, p.2002-2032, 2009.
- XIE, P.; CHEN, S.; LIANG, Y.; WANG, X.; TIAN, R.; UPTON, R. Chromatographic fingerprint analysis-a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. Journal of Chromatography A, v.1112, p.171-180, 2006.