

CUIDADOS NA PREPARAÇÃO DE MEDICAMENTOS COM EXTRATOS PADRONIZADOS DE *GINKGO BILOBA*

LEANDRO MACHADO ROCHA

Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais e Farmácia Universitária da Universidade Federal Fluminense-UFF, Rua Mário Vina, 523, 24.241-000, Niterói, RJ.

E-mail: lean@vm.uff.br

INTRODUÇÃO

Ginkgo biloba Linné, planta da família Ginkgoaceae, é o único sobrevivente de uma Ordem que foi largamente representada, até o fim da era jurássica, sendo, por isso, considerado um fóssil vivo. É uma árvore cultuada por sua robustez frente a cataclismas variados, sendo, por isso, chamada de “Árvore da Vida”.

É utilizada como medicinal, desde longa data, tendo registro de uso pelos chineses desde 2.800 a.C. (*Chen Houng Pen T'são* - Imperador Shen Nun). Apresenta entre seus constituintes químicos flavonóides simples e complexos (24%), diterpenos (gincolídeos A, B, C, J e M - 6%) e sesquiterpenos (bilobalídeo) (Rocha, L. *et al.*, 2005).

Vários estudos clínicos validaram o uso seguro e eficaz do *Ginkgo biloba*, que se iniciaram, em 1965, a partir de estudos que levaram à padronização de um extrato das folhas, denominado Egb 761, quantificado com 24% de glicosídeos flavonoídicos. Em uma experiência realizada, durante um ano, 112 pacientes com média de idade de 70,5 anos que sofriam de insuficiência cerebral crônica foram tratados com doses diárias de 120mg de um extrato padronizado da folha.

Os resultados mostraram regressão significativa dos principais sintomas, como vertigem, cefaléia, tinido auditivo, deficiência de memória, vigília e alteração do humor. Durante o período da experiência, não foram observadas alterações na frequência cardíaca ou na pressão arterial e as concentrações sanguíneas de colesterol e triacilglicerídeos permaneceram inalteradas (Vorberg, G., 1985).

Em um livro desenvolvido por um Comitê Especial de Especialistas do Instituto Germânico para Medicamentos (Blumenthal, M.(Editor), 1998), os extratos de *Ginkgo biloba* são indicados para tratamento de três principais tipos de sintomas:

- Deficiência de memória, distúrbio de concentração, condição emocional depressiva, vertigem, tinido auditivo e dor de cabeça. São indicados principalmente para síndromes de demência, incluindo demência degenerativa

primária e demência vascular em suas formas diversas

- Distúrbios da circulação arterial periférica: Melhora nas dores e maior amplitude de caminhada em pacientes com distúrbio arterial periférico oclusivo no estágio II de Fontaine.

- Desordens do equilíbrio: Vertigem e tinido auditivo de origem vascular.

Extratos de *Ginkgo biloba* tem demonstrado ser um produto bastante seguro. No entanto, deve-se evitar administrar o produto junto com drogas anticoagulantes, devido à sua atividade antiagregante plaquetária (Alonso, 1998).

Extratos de *Ginkgo biloba* padronizados para conter 24% isoflavonas e 6% de lactonas terpênicas devem ser administrados na quantidade de 120 – 240 g do extrato divididos em doses de 40 a 80 mg 3X por dia, a critério médico(Alonso, 1998).

Como resultado de todos esses estudos clínicos realizados, medicamentos preparados com extratos de *Ginkgo biloba* se tornaram um dos medicamentos mais prescritos pela classe médica. Tem sido um dos medicamentos mais importantes nas farmácias de manipulação do país. Durante o ano de 2005, por exemplo, se tornou o medicamento manipulado mais vendido pela Farmácia Universitária da Universidade Federal Fluminense.

Para que as ações benéficas do *Ginkgo biloba* sejam obtidas, é imprescindível que se utilize medicamentos elaborados com o mesmo extrato utilizado nos estudos clínicos, ou seja, padronizados para conter 24% de flavonoides simples e complexos (biflavonóides), além de 6% de derivados terpenoídicos (gincolídeos A, B, C, J e M e bilobalídeo). Por essa razão, alguns cuidados durante a prescrição, aquisição e recebimento da matéria-prima, além de verificação de possível alteração por sofisticação devem ser realizados:

Prescrição do medicamento

A prescrição médica deve ser elaborada de modo a não permitir dúvidas na hora da manipulação do medicamento. Não se deve deixar margens para que seja aviada planta moída ou mesmo uma padronização diferente da que

foi realizado os testes clínicos. Por essa razão a prescrição deve ser bem elaborada, citando:

- *Ginkgo biloba* extrato seco padronizado (24% de ginkgoflavonóides e 6% de gincgolídeos) – fazer X cápsulas.

Aquisição da matéria-prima

Para a aquisição de *Ginkgo biloba*, alguns itens imprescindíveis devem ser explicitados, como a data da validade, quantidade e a padronização em marcadores, da seguinte forma:

Data da consulta	Nome botânico	Forma extrativa	Padronização	Quantidade	Validade
X/X/XX	Ginkgo biloba	Extrato seco	Ginkgoflavonóides – 24% / gincgolídeos – 6%	X Kg	X/X/XX

Recebimento da matéria-prima

Além de verificar se as especificações técnicas da matéria-prima enviada pelo fornecedor estão de acordo com aquelas descritas na planilha de aquisição, é imprescindível que seja realizada uma avaliação criteriosa do laudo de análise expedido pelo fornecedor. Produtos recebidos com laudos de análise incompletos ou com informações incipientes devem ser devolvidos. Se o produto foi importado pelo fornecedor, além do laudo de análise do produtor, é necessário que o fornecedor também realize os testes de controle de qualidade para comprovar a qualidade do produto importado. O laudo de análise deve conter, pelo menos, os seguintes itens:

- Nome botânico
- Análise sensorial (cor, odor, sabor, etc)
- Autenticidade da amostra (normalmente cromatografia em camada-fina)
- Verificação da pureza (pesquisa de microorganismos, etc)
- Análise quantitativa (doseamento)

Avaliação de adulteração por sofisticação

Grande parte das dificuldades encontradas na preparação de medicamentos com extratos padronizados de *Ginkgo biloba* estão associados a problemas ligados à prescrição incompleta dos medicamentos, aquisição de matérias-primas diferentes das validadas por estudos clínicos (planta moída, extratos com padronizações diferentes, etc) e no recebimento do produto. No entanto práticas como a sofisticação de extratos de *Ginkgo biloba* podem ocorrer e são de difícil detecção. Por isso devemos estar alertas para evitarmos esta prática.

Sofisticação consiste em adicionar à droga vegetal ou a um extrato com baixo teor de princípios ativos, substâncias naturais isoladas ou substâncias sintéticas de estrutura semelhante aos princípios ativos contidos originalmente na planta (Sharapin, 2000). Os extratos sofisticados são de di-

ficil detecção, pois visam “enganar” o controle de qualidade, propiciando a realização de resultados “falso-positivo”.

Tem-se detectado com mais frequência que o desejado a presença de extratos padronizados de *Ginkgo biloba* adicionados de rutina. Rutina é um flavonóide glicosilado de baixo valor agregado que, ao ser adicionado aos extratos, aumenta o teor em flavonóides totais, gerando um resultado “falso-positivo” para o mesmo. Dessa forma, extratos de baixa qualidade, apesar de não reproduzirem as atividades terapêuticas desejadas validadas pelos estudos clínicos, ao serem adicionados de rutina, podem gerar laudos de análise com alto teor de flavonóides totais.

Essa sofisticação, entretanto, pode ser detectada ao se observar alguns detalhes no controle de qualidade das amostras. O objetivo desse trabalho é, portanto, estabelecer técnicas analíticas simples que seriam eficazes para a detecção de adulteração por sofisticação de extratos de *Ginkgo biloba* por adição de rutina.

MATERIAL E MÉTODOS

Quantificação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A técnica utilizada para a quantificação de flavonóides totais utilizada é descrita na Farmacopéia Americana (USP 28, 2005). Como a monografia descrita é para folhas secas e não para os extratos padronizados, foi realizada uma adaptação para que a concentração em flavonóides do extrato esteja na mesma faixa descrita no método, de forma a se manter a linearidade da técnica desenvolvida pela farmacopéia.

Como o extrato padronizado é rico em flavonóides simples e complexos, a técnica preconiza uma hidrólise do extrato e posterior quantificação das agliconas, que são então quantificadas na forma de quercetina, kaempferol e isoramnetina. A concentração em flavonóides totais é o somatório da concentração dessas três substâncias.

Avaliação qualitativa por Cromatografia em Camada Fina (CCD)

Análise de extratos de *Ginkgo biloba* foram realizadas, utilizando placas cromatográficas de gel de sílica, utilizando como eluente mistura de acetato de etila/água/ácido fórmico anidro e ácido acético glacial (67,5:17,5:7,5:7,5). A placa é então revelada com NP/PEG (USP 28, 2005). Aplicou-se na placa cromatográfica, além das amostras a serem analisadas, padrão de referência de rutina comercial.

Amostras analisadas

As amostras de extratos secos padronizados foram adquiridas junto a fornecedores de insumos farmacêuticos existentes no país, de forma completamente aleatória.

RESULTADOS

Determinação de sofisticação dos extratos: avaliação do cromatograma para a análise quantitativa de ginkgoflavonóides totais por HPLC

Os extratos padronizados devem apresentar um teor de ginkgoflavonóides de, no mínimo, 24%. Abaixo, reproduzimos o cromatograma obtido, a partir de um extrato padrão de *Ginkgo biloba*, obtido em nosso laboratório (figura 1):

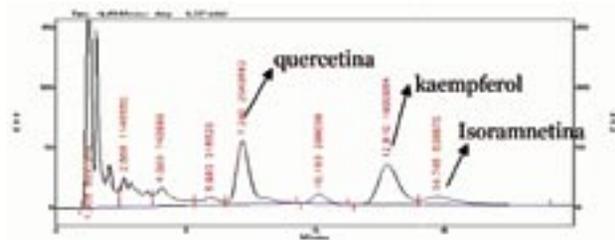


Figura 1. Análise quantitativa por HPLC dos flavonóides totais presentes em extrato padronizado padrão de *Ginkgo biloba*. Resultado: 26% de flavonóides totais.

Foi avaliado ainda extrato de *Ginkgo biloba* sofisticado por adição de rutina, encontrado no mercado. Nota-se que valores muito elevados de flavonóides totais em adição à presença de sinal referente à quercetina extremamente elevado que os atribuídos ao kaempferol e à isoramnetina, são sintomas que nos levam a desconfiar da sofisticação do mesmo. Abaixo, reproduzimos análise cromatográfica, obtida a partir de extrato sofisticado de *Ginkgo biloba*:

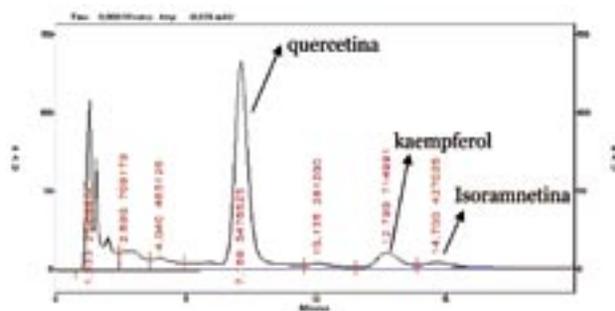


Figura 2. Análise quantitativa por HPLC dos flavonóides totais presentes em extrato sofisticado de *Ginkgo biloba*. Resultado: 34% de flavonóides totais.

Determinação de sofisticação dos extratos: identificação por cromatografia em camada fina

A cromatografia em camada fina é uma ferramenta extremamente simples e poderosa na identificação de produtos fitoterápicos. Ela consiste na separação dos componentes de um extrato através da migração diferencial sobre uma camada fina de gel de sílica, retido sobre uma su-

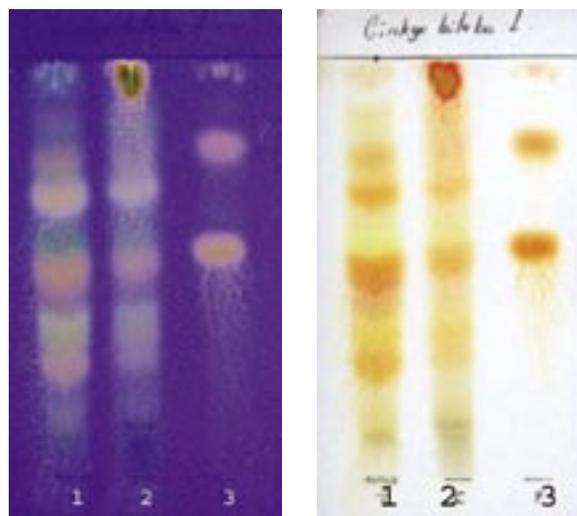
perfície plana. As substâncias assim separadas formam um perfil cromatográfico característico. Isso permite a identificação segura do produto, além de garantir a presença das substâncias responsáveis pela atividade farmacológica, em níveis adequados.

Na Figura 3 abaixo, reproduzimos uma análise por cromatografia em camada fina, realizada em nosso laboratório, de uma amostra padrão de *Ginkgo biloba*, além de uma amostra de extrato padronizado de boa qualidade. Foi cromatografado na mesma placa, padrões de rutina e isoquercitrina. Podemos notar a presença de uma mancha fluorescente marrom amarelada referente à rutina e uma mancha fluorescente azul claro referente ao ácido clorogênico.

A presença de flavonas glicosiladas é notada como 3 manchas fluorescentes de marrom amarelada a verde. Levemente abaixo da mancha referente à rutina, nota-se uma mancha fluorescente azul-esverdeada. Esse desenho observado forma uma “impressão digital” do extrato, caracterizado por seu perfil cromatográfico.

UV $\lambda=365\text{nm}$

Luz visível

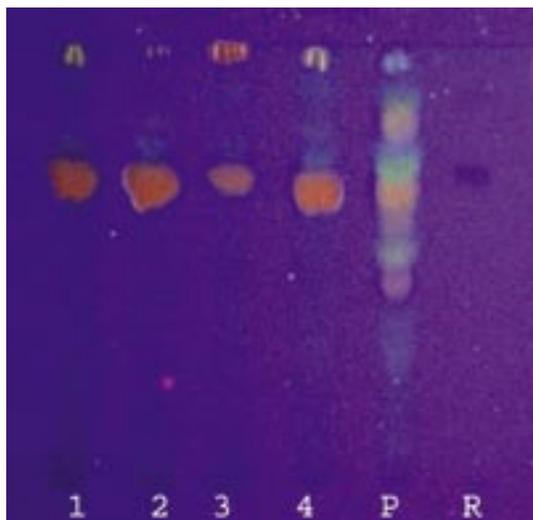


(1) Extrato padrão; (2) Amostra analisada; (3) Rutina

Figura 3. Cromatografia em camada fina de um extrato padrão de *Ginkgo biloba*, de uma amostra de boa qualidade e dos padrões rutina e isoquercitrina.

Na figura 4 abaixo, reproduzimos uma análise por cromatografia em camada fina, realizada em nosso laboratório, de uma amostra padrão de *Ginkgo biloba* (P) ao lado de quatro extratos sofisticados de *Ginkgo biloba* encontrados no mercado (1-4). Podemos observar nas amostras sofisticadas (1 – 4) a presença de praticamente uma única substância, com o mesmo fator de retenção da rutina (R). O perfil cromatográfico presente na amostra padrão é completamente ausente nas amostras sofisticadas 1 -4.

UV $\lambda=365\text{nm}$



Luz visível

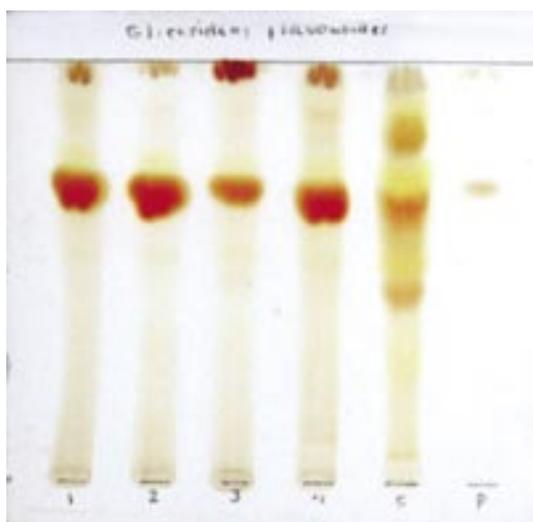


Figura 4. Cromatografia em camada fina de um extrato padrão de *Ginkgo biloba*(P), de quatro amostras sofisticadas (1 – 4) e dos padrões rutina e isoquercitrina (R).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Medicamentos preparados com extratos padronizados de *Ginkgo biloba* representam uma enorme percentagem nas vendas de farmácias magistrais. Para garantir a eficácia terapêutica desses produtos, é imprescindível cuidados na aquisição, recebimento e manipulação das matérias-primas. Extratos padronizados fornecidos podem, entretanto, estar sofisticados por adição de rutina, gerando falsos positivos no controle de qualidade. É necessário, portanto, que alguns cuidados suplementares sejam realizados para garantir a qualidade da matéria-prima e a eficácia terapêutica,

imprescindível para se manter a alta credibilidade das farmácias magistrais. Os principais itens que propomos nessa direção são descritos abaixo:

- Adquirir o produto solicitando corretamente o nome botânico e a padronização desejada
- Avaliar cuidadosamente o laudo de análise no recebimento do produto, verificando se o fornecedor realizou o controle de qualidade ou se limitou a repetir os dados fornecidos pelo exportador
- Verificar a percentagem de ginkgoflavonóides totais (no mínimo 24%) e de ginkgolídeos (no mínimo 6%). Resultados muito elevados de flavonóides totais e teor de quercetina excessivamente maior em relação aos outros padrões, podem indicar adução de rutina no extrato
- Como principal ferramenta para detectar a presença de adulteração por sofisticação, propomos que seja realizado pela farmácia ou pelo laboratório de controle de qualidade conveniado, análise por cromatografia em camada fina, utilizando os parâmetros descritos na USP 28. A ausência do perfil cromatográfico característico do extrato em adição com aparecimento de mancha amarela com fator de retenção na área característica da rutina evidencia fortemente a sofisticação por adição de rutina.

Todos os extratos com suspeita de não conformidade devem ser colocados em quarentena e a farmácia deve entrar em contato imediatamente com o fornecedor com o objetivo de se certificar da qualidade da matéria-prima.

Acreditamos que com os procedimentos sugeridos nesse artigo, estaremos contribuindo para aumentar ainda mais a credibilidade das farmácias magistrais, por garantirmos a eficácia terapêutica de um fitoterápico tão importante para a saúde de nossa população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, J., *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*, 1ª. Ed. Corpus Libros, Rosário, Argentina, p.1039, 1998.
- Blumenthal, M.(Editor), *The Complete German Commission E Monographs, Therapeutic Guide to Herbal Medicines*, American Botanical Council, Austin, Texas, p. 684,1998.
- Rocha, L., D'Hyppolito, J. e da Silva, R., *Fitoterapia Magistral, Um Guia Prático para a Manipulação de Fitoterápicos*, ANFARMAG, S.P., p. 194, 2005.
- Sharapin, N., *Fundamentos de Tecnologia de Produtos Fitoterápicos*, Convênio Andrés Bello/Cyted, Santafé de Bogotá, Colômbia, p.258, 2000.
- USP 28, *The Official Compendia of Standards*, 2005.
- Vorberg, G., *Ginkgo biloba* extract: a long term study on chronic cerebral insufficiency in geriatric patients, *Clin. Trials J.*, **22**, p.149-57, 1985.