



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

LÓIDE BASÍLIO OTON

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DE *Ginkgo biloba L.* EM MATÉRIA-PRIMA E PRODUTO ACABADO**

Cuité – PB

2017

UFCG/BIBLIOTECA

LÓIDE BASÍLIO OTON

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DE *Ginkgo biloba L.* EM MATÉRIA-PRIMA E PRODUTO ACABADO**

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, como requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Juliana de Souza Alencar Falcão

Cuité – PB

2017

UFCG/BIBLIOTECA



Biblioteca Setorial do CES.

Julho de 2021.

Cuité - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes CRB 15 256

O88a Oton, Lôide Basílio.

Avaliação da estabilidade preliminar e atividade antioxidante de Ginkgo biloba L. em matéria-prima e produto acabado. / Lôide Basílio Oton. Cuité: CES, 2017.

73 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) Centro de Educação e Saúde / UFCEG, 2017.

Orientadora: Juliana de Souza Alencar Falcão.

1. Extratos de Ginkgo biloba L; Antioxidante; Estabilidade de emulsões cosméticas. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCEG

CDU 687.5

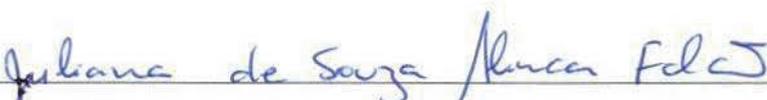
LÓIDE BASÍLIO OTON

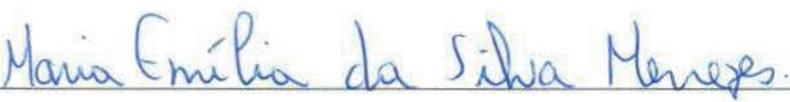
**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE PRELIMINAR E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE
DE *Ginkgo biloba* L. EM MATÉRIA-PRIMA E PRODUTO ACABADO**

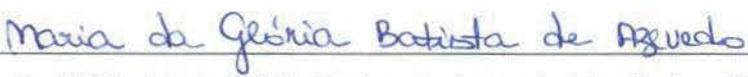
Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande UFCG/CES, com requisito à obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 23/02/2017

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dr.^a Juliana de Souza Alencar Falcão (Orientadora)


Prof.^a Dr.^a Maria Emília da Silva Menezes (Avaliadora I)
Suplente: Prof. Ms Cleildo Pereira de Santana


Prof.^a Ms. Maria Glória Batista de Azevedo (Avaliadora II)
Suplente: Prof.^a Dr.^a Júlia Beatriz Souza

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Dr. **Juliana de Souza Alencar Falcão**, por ter idealizado e me orientado nesse estudo, possibilitando sua realização. Obrigada por todos estes anos de ensinamentos, confiança, paciência, exemplo de competência profissional e por despertar em mim o amor pelos cosméticos.

À Ms^a **Glória Batista** pela amizade, pelos ensinamentos, confiança e pela ajuda inestimável durante vários passos da elaboração deste trabalho na farmácia escola.

À Prof.^a Dr. **Maria Emília**, pelos ensinamentos dados como professora e coordenadora do Curso de Farmácia, por lapidar com perfeição esse trabalho e pela confiança ao aceitar participar da banca examinadora.

À **Marina Souza** (irmã acadêmica), **Edlla Rannyela** e **Edilberto Grangeiro** pelo companheirismo e auxílio nos experimentos deste projeto.

À **Aline Barbosa**, **Rômulo Pinto** e **Anny Palloma**, meus amigos que estiveram ao meu lado em todos os momentos e permitiu, cada um ao seu modo, que eu me tornasse uma pessoa melhor ao longo dessa caminhada.

À meu namorado e amigo **Tércio Augusto**, pela compreensão nos momentos de ausência, paciência nos momentos de crise, pelo apoio, carinho, confiança e pelos momentos felizes que temos compartilhado.

À **Maria José** pelo carinho e imensa ajuda durante meus últimos períodos de curso como também, por me fazer sentir mais do que parte da família.

Às pessoas iluminadas que pude conviver e criar laços em Cuité: **Chagas**, **Thallyta**, **Francielly**, **Ana**, **Cleide**, **Tarcísio**, **Débora**, **Marco** e **Miranceide**.

Ao Prof. Dr. **Paulo Sérgio** pela doação de reagentes.

À farmacêutica **Silmar Dias**, por aceitar o desafio desse trabalho e ainda fornecer matérias-primas para realização do mesmo.

Aos farmacêuticos **Marcone** e **Wende** pela ajuda com a aquisição de matérias-primas.

Ao moto-táxi **Davi Ferreira** que de domingo à domingo, durante a greve, me conduziu a universidade para realizar os meus testes e ao técnico **Jaciél** que com paciência disponibilizou seu tempo e a estufa para realização dos testes.

Enfim, a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para que este percurso pudesse ser concluído.

Muito obrigada!

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

José de Alencar

DEDICATÓRIA

A **Deus**, autor da vida, Senhor do impossível, alvo da minha adoração e gratidão.

Aos meus pais, **Consolação** e **Edivino**, por tudo que me ensinaram e proporcionaram desde meu nascimento até o dia de hoje; por serem minha referência de ética e benevolência; pelo apoio nos momentos mais difíceis; por terem me ensinado a não desistir nunca e por acreditarem em mim e no meu potencial.

À minha irmã **Lídia Oton**, pelo amor, amizade e ajuda durante todo esse percurso.

Em especial, à **Damiana Simplicio**, minha mãe do coração, por toda ajuda, carinho e amor incondicional desde minha infância.

À **Jucelania Silvino**, por todo amor, cuidado e ajuda durante essa trajetória.

Estendo minha gratidão **Tia Maria, Jancildo, Karen e Keven**, minha segunda família.

À minha fiel e amada cadelinha **Lunna**, pelo amor incondicional, companheirismo e por ter tornado meus dias mais felizes.

RESUMO

O uso de extratos de *Ginkgo biloba L.* (Gb) tem sido proposto em formulações tópicas na prevenção e tratamento de danos causados pelos radicais livres, devido esse extrato possuir elevado conteúdo de flavonoides, agregando benefício ao produto manipulado. Tais benefícios justificam o uso dos mesmos pela indústria cosmética, entretanto, existe a necessidade de estudos científicos que possam garantir se estes extratos possuem atividade e eficácia terapêutica após incorporação em cremes. Pesquisas envolvendo estudo de estabilidade do extrato de *Ginkgo biloba L.* em matéria-prima e incorporado em emulsões cosméticas são raras na literatura, sendo grande parte dos estudos referentes a fitoterapia de administração oral, o que limita a quantidade de dados referenciais para comparação. Diante do exposto, objetivou-se nessa pesquisa, a determinação *in vitro* da atividade antioxidante do *Ginkgo biloba L.* em extrato seco e glicólico através do método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), verificar se o mesmo possui atividade quando incorporado na forma farmacêutica creme e com este realizar o estudo de estabilidade preliminar através de testes físico-químicos (pH, espalhabilidade, viscosidade, centrifugação e análise microscópica) para determinar seu comportamento frente a condições ambientais. As formulações apresentaram-se estáveis frente aos testes de estabilidade físico-química. No entanto, após incorporação nos cremes, os extratos de Gb apresentaram instabilidade frente a eficácia antioxidante, sendo observado uma perda maior naquelas contendo extrato glicólico de Gb. Os resultados apontam para a viabilidade de utilização do extrato seco de Gb em cosméticos de uso tópico, pois todas as formulações acrescidas desse extrato, mesmo após estresse térmico, apresentaram atividade antioxidante dentro dos parâmetros farmacopêicos. Desse modo, sugere-se a microencapsulação dos extratos, como forma de garantir uma maior biodisponibilidade do ativo após a incorporação em produtos cosméticos, bem como durante o armazenamento.

Palavras-chave: Extratos de *Ginkgo biloba L.* Antioxidante. Estabilidade de emulsões cosméticas.

ABSTRACT

The use of *Ginkgo biloba L.* (Gb) extracts have been proposed in topical formulations for prevention and treatment of the damages caused by free radicals, due this extract has high flavonoid content, adding benefit to the compounding product. Such advantages justify their use by the cosmetic industry, however, there is a need for scientific studies to ensure that these extracts have activity and therapeutic efficacy after incorporation into creams. Studies involving the stability of *Ginkgo biloba L.* extract in raw material and incorporated in cosmetic emulsions are rare in literature, being a large part of the studies referring to oral administration phytotherapy, which limits the amount of reference data for comparison. Given the above, the aim of this research was determining *in vitro* the antioxidant activity of *Ginkgo biloba L.* in glycolic and dry extract using the free radical scavenging activity on DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), verify if it has activity when incorporated into the pharmaceutical form cream and with this conduct the study of preliminary stability through physical-chemical tests (pH, spreadability, viscosity, centrifugation and microscopic analysis) to determine their behavior against environmental conditions. The formulations were stable against the physical-chemical stability tests. However, after incorporation in the creams, the extracts of Gb presented instability against antioxidant efficacy, being observed a greater loss in those containing Gb glycolic extract. The results point the feasibility of using Gb dry extract in cosmetics of topical use since all the formulations added to this extract, even after thermal stress, presented antioxidant activity within the pharmacopeia parameters. Thus, the microencapsulation of the extracts is suggested in order to ensure greater bioavailability of the active after incorporation in cosmetic products, as well as during storage.

Keywords: Extracts of *Ginkgo biloba L.* Antioxidant. Cosmetic emulsion stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Folhas de <i>Ginkgo biloba L.</i>	14
Figura 2- Estruturas químicas dos principais compostos presentes no extrato de <i>Ginkgo biloba L.</i>	15
Figura 3 - Reação do radical livre DPPH• com uma espécie radicalar R•.....	22
Figura 4 - Preparo dos extratos secos para incorporação nos cremes.....	30
Figura 5 - Preparação dos extratos para o ciclo gelo-degelo e para o teste com o DPPH.....	34
Figura 6- Amostras de cremes pré e pós ciclo gelo-degelo submetidas à centrifugação.....	36
Figura 7 – Gráfico com os valores da viscosidade das amostras submetidas às condições do estudo de estabilidade preliminar (T0 e T30)......	39
Figura 8 – Gráfico com os valores da espalhabilidade para as amostras submetidas às condições do estudo de estabilidade preliminar (T0 e T30)......	40
Figura 9- Microscopia das formulações pré e pós ciclo gelo-degelo.....	41
Figura 10- Reação fotolorimétrica in vitro do radical livre estável DPPH mostrando a atividade antioxidante e pró-oxidante do <i>Ginkgo biloba L.</i>	42
Figura 11 - Atividade antioxidante (%) dos extratos puros de <i>Ginkgo biloba L.</i> testadas pela metodologia do radical livre DPPH.....	43
Figura 12 - Atividade antioxidante (%) da formulação testadas pela metodologia do radical livre DPPH.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades dos principais componentes encontrados nas folhas <i>Ginkgo biloba L.</i>	17
Tabela 2- Condições gerais para realização de estudo de estabilidade preliminar.	25
Tabela 3- Composição do creme base.	30
Tabela 4- Valores de pH para as diferentes condições de temperatura.	38
Tabela 5 - Valores (p) na análise da Viscosidade.	66
Tabela 6 - Valores (p) na análise da Espalhabilidade.	66
Tabela 7 - Valores (p) na análise do pH.	66
Tabela 8 – Valores (p) na análise da Atividade antioxidante (%) da formulação completa testadas pela metodologia do radical livre estável DPPH.	67
Tabela 9 - Valores (p) na análise da Atividade antioxidante (%) dos extratos puros de <i>Ginkgo biloba</i> testadas pela metodologia do radical livre estável DPPH.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍGLAS

AA	Atividade Antioxidante
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHT	Hidroxitolueno butilado
CAS	Chemical abstracts service
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
cP	Centipoise
DNA	ácido desoxirribonucléico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra- acético
EG-1	Extrato glicólico 1
EG-2	Extrato glicólico 2
EGb	Extrato de <i>Ginkgo biloba L.</i>
Ei	Espalhabilidade
ES - 1	Extrato seco 1
ES - 1MP	Extrato seco 1 matéria-prima
ES - 2	Extrato seco 2
ES - 2MP	Extrato seco 2 matéria-prima
FEG -1	Formulação extrato glicólico 1
FEG -2	Formulação extrato glicólico 2
FES - 1	Formulação de extrato seco 1
FES - 2	Formulação extrato seco 2
Gb	<i>Ginkgo biloba L.</i>
IUPAC	International Union of Pure na Applied Chemistry
nm	Nanômetro
P	Placebo
pH	Potencial hidrogênio
RPM	Rotações por minuto
UV	Radiação ultra Violeta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	<i>Ginkgo biloba L.</i>	14
2.1.1	Constituintes químicos e características físico-químicas	15
2.1.2	Técnica de extração	16
2.1.3	Atividade farmacológica	18
2.1.4	Atividade antioxidante	19
2.1.5	Aplicação em cosméticos	20
2.2	Métodos de avaliação da atividade antioxidante	21
2.2.1	Método DPPH	21
2.3	Estudo de estabilidade	22
2.3.1	Fatores que influenciam a estabilidade	23
2.3.2	Tipos de estudo de estabilidade	23
2.3.2.1	Estabilidade preliminar	24
2.3.2.2	Estabilidade acelerada	25
2.3.2.3	Teste de prateleira	26
2.3.3	Prazo de validade	26
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	MATERIAL	28
4.1.1	Reagentes, solventes e ativos	28
4.1.2	Equipamentos	28
4.1.3	Vidrarias e utensílios	29
4.2	MÉTODOS	29
4.2.1	Preparo das amostras	29
4.2.2	Estabilidade preliminar	31
4.2.2.1	Estabilidade frente a diferentes condições de temperatura	31
4.2.2.2	Avaliação visual e características organolépticas	31
4.2.2.3	Análise microscópica	31

4.2.2.4	Teste de centrifugação.....	31
4.2.2.5	Determinação do pH.....	32
4.2.2.6	Determinação da viscosidade.....	32
4.2.2.7	Determinação da espalhabilidade.....	32
4.2.3	Avaliação da atividade antioxidante.....	33
4.2.3.1	Espectrofotometria de varredura do DPPH.....	33
4.2.3.2	Aplicação do método DPPH.....	33
4.2.4	Análise estatística.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1	Avaliação organoléptica.....	36
5.2	Teste de centrifugação.....	37
5.3	Avaliação do pH.....	37
5.4	Avaliação da viscosidade.....	38
5.5	Avaliação da espalhabilidade (Ei).....	39
5.6	Análise microscópica.....	41
5.7	Avaliação da atividade antioxidante.....	42
5.7.1	Matéria-prima.....	42
5.7.2	Produto acabado.....	45
6	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS.....	50
	APÊNDICES.....	57
	APÊNDICE A - Tempo (0) Ensaio com extrato puro de <i>Ginkgo biloba L.</i>	57
	APÊNDICE B - Tempo final (30) Ensaio com extrato puro de <i>Ginkgo biloba L.</i>	59
	APÊNDICE C - Tempo (0) Formulações de cremes com extrato de <i>Ginkgo biloba L.</i>	62
	APÊNDICE D - Tempo final (30) formulações de cremes com extrato de <i>Ginkgo biloba L.</i>	64
	APÊNDICE E – Tabelas apresentando os cálculos da análise estatística dos resultados do pH, viscosidade e espalhabilidade.....	66
	APÊNDICE F – Tabelas apresentando os cálculos da análise estatística dos resultados da atividade antioxidante da matéria-prima e produto acabado.	67
	ANEXOS.....	68
	ANEXO A – Certificado de Análise do fornecedor Attivos Magistrais®.....	68

ANEXO B– Certificado de Análise do fornecedor Galena®.....	69
ANEXO C– Certificado de Análise do fornecedor Mapric®	70
ANEXO D – Certificado de Análise do fornecedor Farnos®.....	71

1 INTRODUÇÃO

A indústria de cosméticos tem utilizado cada vez mais os extratos vegetais em formulações, visto a demanda crescente no mercado mundial por esses produtos. Fato relacionado tanto ao apelo de “marketing natural” que atrai os consumidores, como também à necessidade de substituição de derivados animais não substituídos plenamente pelas substâncias sintéticas em produtos cosméticos (GEDIYA et al., 2011; SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013).

O uso de extratos de *Ginkgo biloba L.* (Gb) tem sido proposto em formulações tópicas na prevenção e tratamento dos danos causados pelos radicais livres, visto que esse extrato possui elevado conteúdo de flavonoides, agregando benefício ao produto manipulado. Tais benefícios justificam o uso dos mesmos pela indústria cosmética, entretanto, existe a necessidade de estudos científicos que possam garantir se estes extratos possuem atividade e eficácia terapêutica após incorporação em cremes, o que irá proporcionar a eficácia terapêutica desses produtos, sendo imprescindíveis os cuidados na aquisição, recebimento e manipulação das matérias-primas (ABURJAI et al., 2003; DAL'BELO, 2008; BALOGH, 2011; GEDIYA et al., 2011).

Pesquisas envolvendo estudo de estabilidade de extrato de *Ginkgo biloba L.* em matéria-prima e em emulsões cosméticas contendo a substância ativa são raras na literatura, sendo grande parte dos estudos referentes a fitoterapia de administração oral, o que limita a quantidade de dados referenciais para comparação (ABURJAI et al., 2003; BANOV et al., 2006; DAL'BELO, 2008; RUIVO, 2012).

O desenvolvimento de um produto antioxidante tópico é complexo, sendo necessário o conhecimento de fatores tais como: a forma molecular do composto ativo, suas propriedades físico-químicas, solubilidade, pH e a base cosmética a ser utilizada, permitindo assim o desenvolvimento de formulações eficazes e seguras (FRIES; FRASSON, 2010).

Diante do exposto, objetiva-se nessa pesquisa, a determinação *in vitro* da atividade antioxidante do *Ginkgo biloba L.* em extrato seco e glicólico através do método de sequestro de radicais livres, o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), verificar se o mesmo possui atividade quando incorporado na forma farmacêutica creme e com este realizar o estudo de estabilidade preliminar através de testes físico-químicos (pH, espalhabilidade, viscosidade, centrifugação e análise microscópica) para determinar seu comportamento frente a condições ambientais.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Ginkgo biloba* L.

Ginkgo biloba L., nomenclatura botânica, é uma árvore alta que pode alcançar 30 metros de altura, robusta e extremamente duradoura, nativa do Japão, China e Coreia. É a única planta vivente da família Ginkgoaceae, sendo considerada um “fóssil vivo” devido à idade aproximada de 250 milhões de anos de alguns de seus fósseis. Foi descrita pela primeira vez pelo médico alemão, Engelbert Kaelmpter, por volta de 1690, mas apenas despertou o interesse de pesquisadores após a Segunda Guerra Mundial, quando perceberam que a planta tinha sobrevivido à radiação em Hiroshima, brotando no solo da cidade devastada. Seu nome, de origem chinesa, significa damasco prateado (gin = prata, kyo = damasco), a palavra biloba vem do formato bilobado das folhas dessa planta e significa dois leques (bi = dobrar, loba = folha) (Figura 1) (DAL’BELO, 2008; BALOGH, 2011).

Figura 1- Folhas de *Ginkgo biloba* L.



Fonte: RABIN, 2016.

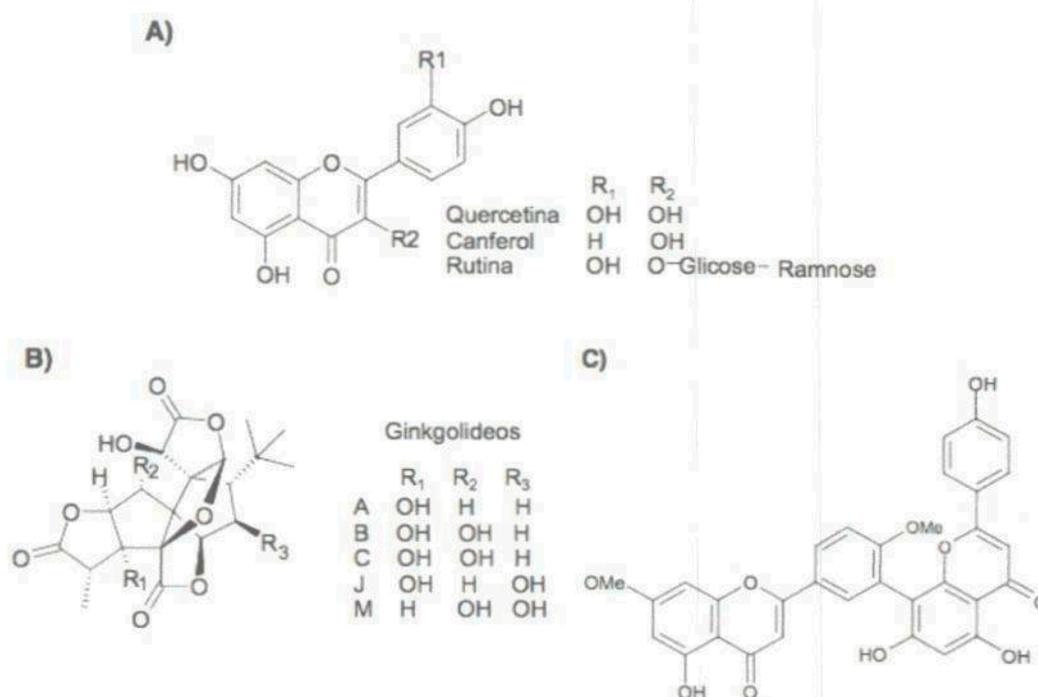
É uma árvore decídua, com folhas verdes e estas se tornam douradas no outono. As folhas características do Gb. podem atingir até 8 cm e suas cores são dependentes da estação do ano: verde acinzentado a amarelo esverdeado no verão e amarelo dourado no outono. Estas são simples, possuem arranjo alternativo e margens lobadas, com nervuras paralelas em forma de leque e um comprimento de lâmina de 5-10 cm. As árvores do sexo feminino possuem um

fruto de odor fétido não comestíveis contendo um disco com semente comestível (BANOV et al., 2006; EUROPE, 2008).

2.1.1 Constituintes químicos e características físico-químicas

A Tabela 1 apresenta os principais componentes bioativos encontrados nas folhas de ginkgo que são divididos em flavonoides e fração terpênica. Suas respectivas estruturas químicas podem ser visualizadas na Figura 2 (CHAN; XIA; FU, 2007; DIAMOND et al., 2013).

Figura 2- Estruturas químicas dos principais compostos presentes no extrato de *Ginkgo biloba L.*



Legenda: A: quercetina, canferol e rutina; B: ginkgolideos (lactonas diterpênicas); C: ginkgetina (biflavona).

Fonte: DAL'BELO, 2008.

O Extrato de *Ginkgo biloba L.* 761 (EGb 761) de CAS-Nº 90045-36-6 possui massa molecular 756.7, é bem solúvel em solventes orgânicos polares e intermediariamente polares como álcoois inferiores, tetrahydrofurano, acetona e acetato de etila. Ele é moderadamente solúvel em éter dietílico e água, sendo insolúvel em solventes não-polares, tais como: clorofórmio, tolueno e hexano. A solubilidade em água aumenta significativamente em

temperaturas mais elevadas e o refluxo em água ou de água com uma determinada percentagem de metanol, o que tem sido um processo muito usado. A droga é constituída por folhas secas e o extrato líquido feito a partir delas apresenta cor castanho-esverdeada, com odor herbáceo e sabor fraco (BEEK et al., 2009; BRASIL, 2011; USP, 2011).

São estabelecidos os valores para extrato glicólico de 5,0 e 6,0 de pH, densidade 1,035-1,050 g/cm³ e 2,3-3,3% de resíduo seco. Estudos mostraram que o Gb possui uma alta estabilidade térmica, este se decompõe a uma temperatura de cerca de 270°C (FREIRE et al., 2008; ITANO et al., 2015).

2.1.2 Técnica de extração

EGB 761 é o extrato padronizado concentrado de folhas de Gb produzidos pela empresa farmacológica Dr. Willmar Schwabe na Alemanha. A síntese do produto padronizado EGB 761 requer um processo de extração de 27 etapas, que começa com cinquenta libras (22,67 Kg) de folhas e produz uma libra (0,453 Kg) de extrato (50:1). O produto final deve conter 24% de flavonoides, 7% de proantocianidinas e 6% de terpenóides, 13% de ácidos carboxílicos e 2% de catequinas (CHAN; XIA; FU, 2007).

A Farmacopéia Americana sugere que o extrato seco das folhas de *Ginkgo biloba L.* deve conter não menos do que 22% e não mais do que 27% de flavonoides, calculados como glicosídeos flavonoides por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O extrato também não deve conter menos de 5,4% e não mais de 12% de lactonas terpênicas. É necessário que o extrato tenha uma proporção de material vegetal bruto ao extrato em pó entre 35:1 e 67:1. Para avaliação do teor de glicosídeos flavonoides é utilizado uma fase móvel constituída por metanol, água e ácido fosfórico (100:100:1) e para avaliar o teor de lactonas terpênicas é utilizado uma mistura eluente, gradiente de metanol e água (25:75-90:10) (USP, 2013).

Deve notar-se que os extratos comerciais de folhas de Gb podem ser "extratos completos", "extratos bruto" ou "extratos simples", que são misturas complexas contendo princípios ativos, componentes vegetais inertes, podendo causar efeitos secundários adversos. O Instituto de Drogas e Produtos Medicinais da Alemanha recomenda para uso terapêutico apenas os extratos obtidos a partir de uma mistura de água e acetona, e, na sequência, purificados sem adição de outras substâncias. O extrato deve apresentar concentrações mínimas dos compostos terapeuticamente ativos e eliminar componentes indesejáveis que

Tabela 1- Propriedades dos principais componentes encontrados nas folhas *Ginkgo biloba* L.

	NOME DO CONSTITUINTE	NOMECLATURA IUPAC	CAS	PONTO DE FUSÃO	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA MOLAR
FLAVONOÍDES	Quercetina-3-β-D-glucosídeo	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	482-35-9	322.3°C	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.38
	Quercitrina	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3S,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxychromen-4-one	522-12-3	174°C	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448.38
	Rutina	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranosyloxy]-4H-chromen-4-one	153-184	195°C	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.52
	Quercetina	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-one	117-39-5	316°C	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.24
	Canferol	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one	520-18-3	276°C	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24
	Isoammetina	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one	480-19-3	307°C	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316.26
LACTONAS	Ginkgolide A	9H-1,7a-(epoxymethano)1H,6aH-cyclopenta[c]furo[2,3-b]furo[3',2':3,4]-cyclopenta[1,2-d]furan-5,9,12(4H)-trione,3-(1,1-dimethylethyl)hexahydro-4,7b-dihydroxy-8-methyl, [1R-(1α,3β,3aS*,4β,6αα,7αα,7bα,8α,10αα,11aR*)]-)	15291-75-5	280°C	C ₂₀ H ₂₄ O ₉	408.40
	Ginkgolide B	9H-1,7a-(epoxymethano)-1H,6aH-cyclopenta[c]furo[2,3-b]furo[3',2':3,4]-cyclopenta[1,2-d]furan-5,9,12(4H)-trione, 3-(1,1-dimethylethyl)hexahydro-4,7b,11-trihydroxy-8-methyl-, [1R-(1α,3β,3aS*,4β,6αα,7αα,7bα,8α,10αα,11β,11aR*)]-)	15291-77-7	-300°C	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₀	424.40
	Ginkgolide C	H-1,7a-(epoxymethano)-1H,6aH-cyclopenta[c]furo[2,3-b]furo[3',2':3,4]-cyclopenta[1,2-d]furan-5,9,12(4H)-trione, 3-(1,1-dimethylethyl)hexahydro-2,4-, 7b,11-tetrahydroxy-8-methyl-, [1R-(1α,2α,3β,3aS*,4β,6αα,7αα,7bα,8α,10αα,11α,11aR*)]-)	15291-76-6	-300°C	C ₂₀ H ₂₄ O ₁₁	440.40
	Bilobalide	(5aR-(3aS*,5aα,8b,8aS*,9a,10a-α))-9-(1,1-dimethylethyl)-10,10a-dihydro-8,9-dihydroxy-4H,5aH,9H-furo[2,3-b]furo[3',2':2,3]cyclopenta[1,2-c]furan-2,4,7(3H,8H)-trione	33570-04-6	247.5°C	C ₁₅ H ₁₈ O ₈	326.3
	Ginkgotoxin	5-Hydroxy-3-(hydroxymethyl)4(methoxymethyl)-6-(methylpyridine)	1464-33-1	181°C	C ₉ H ₁₃ NO ₃	183.20

Legenda: IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry); CAS (Chemical Abstracts Service).

Fonte: (USP, 2011; CAS, 2016; IARC, 2016).

ofereçam riscos toxicológicos (CHAN; XIA; FU, 2007; FURMAN, 2011).

A patente para o extrato EGb 761 expirou. Desde então, muitos fabricantes padronizaram seus extratos semelhante ao do EGb 761. No entanto, é importante notar que os remédios feitos à base da planta não são produzidos com os mesmos padrões de pureza e eficácia. Dependendo do país de origem e da época da coleta, entre outros fatores, a porcentagem individual dos constituintes pode variar. Como tal, uma tremenda variabilidade do mesmo produto pode ocorrer entre os fabricantes e de lote para lote (CHAN et al., 2007; BEEK et al., 2009; SILVA; MARCELINO; GOMES, 2010; DEMIREZER et al., 2014).

2.1.3 Atividade farmacológica

Ginkgo biloba L. tem sido usado como remédio de ervas durante séculos na China, os seus extratos são um dos produtos mais utilizados como erva e/ou suplemento alimentar no mundo. É considerado uma das preparações de plantas medicinais mais prescritas na Alemanha e nos Estados Unidos nos dias atuais. Indicações para a sua utilização são geralmente em uma das 3 categorias: cerebrovasculares, vascular periférica, ou dano tecidual (DIAMOND, 2013).

De acordo com Alexandre, Garcia e Simões (2005), o Gb foi estudado como opção terapêutica nas demências do tipo Alzheimer e multi-infarto. Os resultados de uma meta-análise de quatro ensaios clínicos mostraram que o extrato padronizado EGb 761 produziu um efeito positivo significativo sobre a função cognitiva em pacientes com doença de Alzheimer. Outras indicações incluem distúrbios circulatórios periféricos, como exemplo, a melhoria da claudicação intermitente (má circulação nas pernas), melhoria da disfunção erétil secundária a terapias antidepressivas, aumento do fluxo sanguíneo periférico em pacientes com diabetes melito e melhoria na audição em pacientes, cuja audição está prejudicada secundariamente pela má circulação nas orelhas insuficiência cerebral devido à falta de fluxo de sangue adequado e por outras doenças relacionadas (SILVA; MARCELINO; GOMES, 2010; MILOŠEVIĆ et al., 2011).

As propriedades imunomoduladoras do Gb justificam a sua aplicação como terapia complementar de várias afeções cutâneas, entre as quais o vitiligo, doença comum caracterizada por hipopigmentação da pele, com impacto psicológico significativo quando do aparecimento precoce (RUIVO, 2012; SZCZURKO et al., 2011).

2.1.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos da planta é atribuída, principalmente, aos seus constituintes fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos e compostos polifenólicos que neutralizam os radicais livres, incluindo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), hidroxila (OH), peroxilo (ROO) por mecanismo diferente incluindo quelação de metais e doação de elétrons como agente redutor. Os radicais livres são produtos normais do metabolismo humano, mas em excesso podem causar dano oxidativo ao DNA (ácido desoxirribonucléico), proteínas e lipídios (MALTAS et al., 2012).

O extrato de *Ginkgo biloba L.*, através da combinação de seus princípios ativos (Tabela 1), 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 (MARCUCCI, 2010).

Alguns estudos destacam que a ação antioxidante do Gb pode ser empregada na tentativa de proteger a pele contra danos causados pela radiação Ultra Violeta (UV) na pele. O primeiro desses trabalhos foi realizado por Pietschmann, Kuklinski e Otterstein (1992) que avaliaram os efeitos da ingestão oral do extrato de Gb em comparação com outros antioxidantes após indução de estresse oxidativo por radiação UV em voluntários humanos. Verificou-se que após 14 dias de suplementação oral, houve redução do estresse oxidativo após uma segunda exposição à luz solar, sendo o Gb mais efetivo do que o beta caroteno e o alfa tocoferol (DAL'BELO, 2008).

Mercurio et al. (2015) estudaram a eficácia fotoprotetora e as propriedades antienvhecimento de uma formulação, fazendo a combinação de vitaminas A, E, C e *Ginkgo biloba L.* juntamente com extratos de algas vermelhas da espécie *Porphyra umbilicalis*. Eles comprovaram que essa junção melhorou significativamente o desempenho de filtros solares e evitaram danos ao DNA causados por radiação UV.

O EGb 761 desmostrou potencial antioxidante na lipoperoxidação, observada pela dosagem de malondialdeído, induzida por peróxido de hidrogênio em eritrócitos de pacientes com a doença de Behcet. O potencial antioxidante do extrato foi proporcional a dose e tempo de incubação (KOSE et al., 1997).

Um estudo realizado em Poznan, Polônia, sugeriu que extratos preparados a partir de folhas amarelas e verdes de Gb, podem constituir uma boa fonte de antioxidantes naturais e podem prolongar a vida de prateleira de carnes e produtos a base de carnes. Carnes e

derivados, devido à presença de gordura, são instáveis: eles se deterioram facilmente e durante o armazenamento sofrem alterações, principalmente oxidação (KOBUS-CISOWSKA et al., 2014).

2.1.5 Aplicação em cosméticos

Devido a seu alto teor de flavonoides, o *Ginkgo biloba L.* tem mostrado papel significativo no tratamento antienvhecimento. Em um estudo realizado por Chuarienthong e et al. (2010), a preparação de gel contendo Gb aumentou a hidratação da pele (27,88%) e suavidade (4,32%), reduziu asperezas (0,4%) e as rugas (4,63%).

Outra possível aplicação do extrato de Gb em produtos cosméticos com finalidade antienvhecimento seria devido ao fato de que este extrato estimula a síntese de colágeno. Um estudo de Kim et al. (1997) demonstrou efeitos *in vitro* do extrato de Gb e de seus flavonoides isolados (quercetina, canferol, sciadopitisina, ginkgetina, isoginkgetina) na proliferação de fibroblastos *in vitro* e na produção de colágeno e fibronectina. Com o mesmo propósito, a associação do extrato de Gb com derivados das vitaminas A, C e E em formulações cosméticas também apresentou atividade antioxidante *in vitro* e proteção contra os danos induzidos pela radiação ultravioleta, tais como proteção contra a formação de células de queimadura solar (DAL'BELO, 2008; GIANETI, 2013).

Estudos sugeriram que o extrato da folha também promove o crescimento do cabelo, por meio do efeito combinado sobre a proliferação e apoptose das células do folículo piloso, sugerindo uma ação potencial como tônico capilar. Xampus com extrato aquoso das folhas podem ser aplicados para reduzir a formação de caspa (ABURJAI et al., 2003; RUIVO, 2012).

Devido aos seus numerosos efeitos na circulação periférica, a planta tem sido utilizada no tratamento da celulite atuando na redução da viscosidade do sangue. Os terpenos, especialmente ginkgolide B, atuam inibindo o fator ativador de plaquetas, em seguida aumentam a deformabilidade do glóbulo vermelho, diminui a permeabilidade vascular, e melhoram o tônus da parede vascular. Todas estas ações produzem melhoria da microcirculação (HEXSEL et al., 2005; SILVA; MARCELINO; GOMES, 2010).

Em formulações tópicas, o extrato glicólico é usado na concentração de 5 a 10% e o extrato seco na concentração de 0,2 a 2%. Existem alguns relatos na literatura de casos de hipersensibilidade ao extrato contidos em produtos anticelulite, onde o constituinte químico

irritante é o ácido gincólico. Nestes casos, a concentração recomendada é de 1 a 3% de extrato (HEXSEL et al., 2005).

2.2 Métodos de avaliação da atividade antioxidante

As atividades antioxidantes de derivados vegetais têm sido avaliadas por diferentes métodos, colorimétricos, biológicos e eletroquímicos, entre outros métodos instrumentais. Borges et al. (2011) os resumiu como:

- Métodos colorimétricos: nessa classe destacam-se aqueles que relacionados à habilidade dos antioxidantes em neutralizar radicais como: DPPH. (1,1-difenil-2-picrilhidrazila) ou ABTS [sal de amônio do ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzenotiazolina-6-sulfônico)].
- Métodos biológicos: existem aqueles que avaliam a capacidade do antioxidante na proteção à peroxidação lipídica e oxidação protéica. A medida do consumo de oxigênio em emulsões com oxidação lipídica iniciada por metamioglobina também é bastante praticada neste intento.
- Técnicas eletroquímicas: correlacionam potenciais de oxidação, intensidade de corrente ou outros parâmetros eletroquímicos correlacionáveis à capacidade antioxidante.

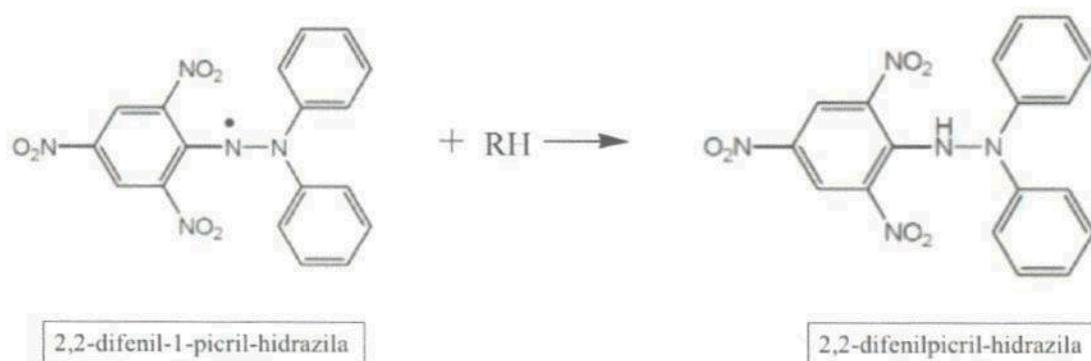
2.2.1 Método DPPH

O teste de DPPH é um dos métodos indiretos para se determinar a atividade antioxidante mais antigo, sendo sugerido originalmente em 1950 para se descobrir os doadores de hidrogênio em matérias naturais. Mais tarde foi quantificado para determinar o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados e alimentos tão bem como amostras biologicamente relevantes (BORGES et al., 2011).

Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH• (Figura 3). O radical DPPH• possui coloração púrpura absorvendo a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 516 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazila (DPPH-H), de coloração amarela, com consequente

desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. O DPPH apresenta-se como um método simples podendo também ser usado para avaliar a atividade antioxidante de formas sintéticas (ex: nimesulida, dapsona e ácido acetilsalicílico), algas, quitosanas, etc., mas por ser um método colorimétrico não é muito aplicado para substâncias coloridas devido a interferências por pigmentos (OLIVEIRA et al., 2009; BORGES et al., 2011).

Figura 3 - Reação do radical livre DPPH• com uma espécie radicalar R•.



Fonte: OLIVEIRA et al., 2009.

2.3 Estudo de estabilidade

O conhecimento sobre a estabilidade de produtos se faz necessário durante o desenvolvimento farmacotécnico de formulações cosméticas. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA sugere que se faça uma sequência de estudos, sendo eles: estudos preliminares, acelerados e de prateleira (BRASIL, 2004; OLIVEIRA, 2013).

O estudo da estabilidade de produtos cosméticos fornece informações que indicam o grau de estabilidade relativa de um produto nas variadas condições a que possa estar sujeito desde sua fabricação até o término de sua validade. Cabe à empresa detentora a responsabilidade de avaliar a estabilidade de seus produtos, antes de disponibilizá-los ao consumo, requisito fundamental à qualidade e à segurança dos mesmos. Produtos expostos ao consumo e que apresentem problemas de estabilidade organoléptica, físico-química e ou microbiológica, além de descumprirem os requisitos técnicos de qualidade podem, ainda,

colocar em risco a saúde do consumidor configurando infração sanitária (BRASIL, 2004).

Pelo perfil de estabilidade de um produto é possível avaliar seu desempenho, segurança e eficácia, além de sua aceitação pelo consumidor.

2.3.1 Fatores que influenciam a estabilidade

Para o desenvolvimento de uma formulação cosmética estável, segura e eficaz, é obrigatória a escolha adequada das matérias-primas que farão parte da sua composição, ou seja, estas devem ser compatíveis entre si e com as substâncias ativas selecionadas para atender a indicação de uso do produto. Cada componente, ativo ou não, pode afetar a estabilidade de um produto. Variáveis relacionadas à formulação, ao processo de fabricação, ao material de acondicionamento e às condições ambientais e de transporte podem influenciar na estabilidade do produto. Conforme a origem, as alterações podem ser classificadas como extrínsecas ou intrínsecas (BRASIL, 2004; MORAIS et al., 2011).

As alterações extrínsecas referem-se a fatores externos aos quais o produto está exposto, tais como: tempo, temperatura, luz e oxigênio, umidade, material de acondicionamento, microorganismos e vibração. Entretanto, os fatores intrínsecos estão relacionados à própria natureza das formulações e sobretudo à interação de seus ingredientes entre si e ou com o material de acondicionamento. Esses fatores se subdividem em dois: Incompatibilidade física (ocorrem alterações, no aspecto físico da formulação, observadas por precipitação, separação de fases, cristalização, formação de gretas, entre outras) e Incompatibilidade química (pH, reações óxido-redução, reações de hidrólise, interação entre ingredientes da formulação e interação entre ingredientes da formulação e o material de acondicionamento) (BRASIL, 2004).

Os ativos, em grande parte das vezes, apresentam características físico-químicas diferentes e podem assim comprometer a integridade dos outros componentes da formulação. A adequação com adjuvantes farmacotécnicos para minimizar ou impedir essas incompatibilidades possíveis é uma tarefa difícil que exige um estudo prévio para melhor escolha dos componentes que vão assegurar a manutenção das características físico-químicas do produto final, ou seja, sua estabilidade (MORAIS et al., 2011).

2.3.2 Tipos de estudo de estabilidade

O estudo de estabilidade deve expor o produto a condições que acelerem mudanças passíveis de ocorrer durante o prazo de validade, fornecendo informações sobre a estabilidade do produto no menor tempo possível. Contudo, essas condições não devem ser tão extremas, pois ao invés de acelerarem o envelhecimento, provoquem alterações que não ocorreriam normalmente (ZANON, 2010).

Para os testes de estabilidade, as condições de armazenagem mais comuns são: temperatura (elevada, do ambiente e baixa), exposição à luz e ciclos de congelamento e de descongelamento. A temperatura ambiente deverá ser monitorada, sendo aceita variação de até $\pm 2^{\circ}\text{C}$ e as temperaturas elevadas devem obedecer aos limites mais frequentemente praticados, em estufas a 37, 40, 45 e 50 $^{\circ}\text{C}$, sendo aceita variação de até $\pm 2^{\circ}\text{C}$. Os limites de temperaturas baixas mais utilizados são em geladeira a 5 $^{\circ}\text{C}$ e em freezer de -5 a -10 $^{\circ}\text{C}$ (ISAAC et al., 2008).

Antes de iniciar os testes de estabilidade, a ANVISA recomenda submeter o produto ao teste de centrifugação a 3.000 rpm durante 30 minutos com três leituras para cada amostra. O produto deve permanecer estável e qualquer sinal de instabilidade indica a necessidade de reformulação. Se aprovado nesse teste, o produto pode ser submetido aos testes de estabilidade (BRASIL, 2004; ISAAC et al., 2008).

2.3.2.1 Estabilidade preliminar

Conhecido como Teste de Triagem ou de Curto Prazo, esse teste tem como objetivo auxiliar e orientar a escolha das formulações. É realizado na fase inicial do desenvolvimento do produto, utilizando-se diferentes formulações de laboratório e com duração reduzida. Emprega condições extremas de temperatura com o objetivo de acelerar possíveis reações entre seus componentes e o surgimento de sinais que devem ser observados e analisados conforme as características específicas de cada tipo de forma cosmética estudada (BRASIL, 2004; ISAAC et al., 2008; OLIVEIRA, 2013).

A duração do estudo é geralmente de quinze dias e devido às condições em que é conduzido (Tabela 2), este estudo não tem a finalidade de estimar a vida útil do produto, mas sim de auxiliar na triagem das formulações. As amostras são submetidas a aquecimento em estufas, resfriamento em refrigeradores e a ciclos alternados de resfriamento e aquecimento (BRASIL, 2004).

Tabela 2- Condições gerais para realização de estudo de estabilidade preliminar.

PERÍODO	CICLOS DE 24 HORAS	
	Temperatura elevada	Temperatura baixa
4 semanas	$40 \pm 2^{\circ}\text{C}$	$4 \pm 2^{\circ}\text{C}$
12 dias	$45 \pm 2^{\circ}\text{C}$	$-5 \pm 2^{\circ}\text{C}$
12 dias	$50 \pm 2^{\circ}\text{C}$	$-5 \pm 2^{\circ}\text{C}$

Fonte: BRASIL, 2004; OLIVEIRA, 2013.

2.3.2.2 Estabilidade acelerada

Também conhecida como Estabilidade Normal ou Exploratória tem como objetivo fornecer dados para prever a estabilidade do produto, tempo de vida útil e compatibilidade da formulação com o material de acondicionamento. Este teste é empregado também na fase de desenvolvimento do produto utilizando-se lotes produzidos em escala laboratorial e piloto de fabricação, podendo estender-se às primeiras produções. Serve como auxiliar para a determinação da estabilidade da formulação. É um estudo preditivo que pode ser empregado para estimar o prazo de validade do produto. Pode ser realizado, ainda, quando houver mudanças significativas em ingredientes do produto e ou do processo de fabricação, em material de acondicionamento que entra em contato com o produto, ou para validar novos equipamentos ou fabricação por terceiros (BRASIL, 2004).

Usualmente tem duração de noventa dias e as formulações em teste são submetidas a condições menos extremas que no teste de estabilidade preliminar. Em alguns casos, a duração deste teste pode ser estendida por seis meses ou até um ano, dependendo do tipo de produto (BRASIL, 2004).

A exposição à radiação luminosa pode alterar a cor do produto, levando a degradação de ingredientes da formulação. Portanto, os estudos frente à exposição luminosa devem ocorrer à luz solar, captados por vitrines especiais ou em ambientes cujas lâmpadas representam emissão semelhante à solar, como lâmpadas de xenônio. A periodicidade da avaliação das amostras pode variar conforme experiência técnica, especificações do produto, características especiais de algum componente da formulação ou sistema conservante utilizado, porém o mais usual neste estudo acelerado é que sejam avaliadas inicialmente no tempo zero, 24 horas e aos 7°, 15°, 30°, 60 e 90° dias. Se o estudo se prolongar por mais tempo, recomendam-se avaliações mensais até seu término (BRASIL, 2004; MORAIS, et al., 2011).

2.3.2.3 Teste de prateleira

Também conhecido como Estabilidade de Longa Duração ou *Shelf life*, tem como objetivo validar os limites de estabilidade do produto e comprovar o prazo de validade estimado no teste de estabilidade acelerada. É utilizado para avaliar o comportamento do produto em condições normais de armazenamento. A frequência das análises deve ser determinada conforme o produto, o número de lotes produzidos e o prazo de validade estimado. Recomendam-se avaliações periódicas até o término do prazo de validade e, se a intenção é ampliá-lo, pode-se continuar o acompanhamento do produto (BRASIL, 2004).

Esses estudos, em conjunto com os estudos de estabilidade previamente realizados, levam à determinação mais precisa da estabilidade, do prazo de validade e da possível extensão da data de expiração do produto (ZANON, 2010).

2.3.3 Prazo de validade

Entende-se por prazo de validade o período de tempo cujo produto se mantém dentro dos limites especificados de pureza, qualidade e identidade, na embalagem adotada e estocada nas condições expressas no rótulo do produto, segundo exigência da legislação (MORAIS et al., 2011).

O produto deverá ter a capacidade de manter suas propriedades e seu desempenho durante um tempo definido, de acordo com as condições previamente estabelecidas. Sendo assim, antes de ser um requisito legal, é, sobretudo, um requisito técnico de qualidade, pois um produto instável do ponto de vista físico-químico, microbiológico ou toxicológico, além da perda de eficácia poderá também causar algum dano e comprometer a confiabilidade frente ao consumidor (BRASIL, 2004; ZANON, 2010).

Devido à natureza particular das formulações dos produtos cosméticos, aceita-se como regra geral, a impossibilidade da eleição de um ingrediente isolado do restante da formulação. Assim, torna-se difícil a aplicação da relação entre constante cinética, temperatura e uma correlação direta dessas variáveis com o prazo de validade estimado. Portanto, o prazo de validade pode ser estimado por meio dos Estudos de Estabilidade, e sua confirmação deve ser realizada por meio do Teste de Prateleira (BRASIL, 2004).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a estabilidade preliminar e atividade antioxidante de *Ginkgo biloba L.* em matéria-prima e produto acabado.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo de estabilidade preliminar de cremes à base de extrato seco e glicólico de *Ginkgo biloba L.* obtidos por diferentes fornecedores;
- Analisar parâmetros organolépticos (aspecto, cor e odor), parâmetros físico-químicos (pH, viscosidade, espalhabilidade e centrifugação);
- Avaliar atividade antioxidante dos produtos acabados e da matéria-prima, *Ginkgo biloba L.* pela metodologia do radical livre, DPPH, antes e após o estudo de estabilidade preliminar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Reagentes, solventes e ativos

- Água deionizada;
- Álcool metílico (Dinâmica Química Contemporânea Ltda);
- BHT (FARMOS Ltda);
- DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazil) (Sigma[®]);
- EDTA (Dinâmica Química Contemporânea Ltda);
- Extrato glicólico de *Ginkgo biloba L.* (Attivos Magistrais; Mapric[®]);
- Extrato seco de *Ginkgo biloba L.* (FARMOS Ltda; Galena[®]);
- Glicerina (Isofar[®]);
- Lanette[®] (FARMOS Ltda);
- Nipagin[®] (ProquimioS[®]);
- Nipazol[®] (ISO FAR Ltda);
- Propilenoglicol (Codossal Química LTDA[®]);
- Silicone (Codossal Química LTDA[®]);
- Vaselina (Dinâmica Química Contemporânea Ltda);

4.1.2 Equipamentos

- Balança Analítica (Bioprecisa[®] FA-2104N);
- Centrífuga (CentriBio[®]);
- Espectrofotômetro UV/VIS (Centauro[®]);
- Estufa (SX-DTME);
- Máquina Fotográfica (Sony[®] DSC-WX60);
- Microscópio ótico (Physis[®]);
- pHmetro (QUIMIS[®] Q400MT);
- Refrigerador (Electrolux[®]);
- Viscosímetro Rotativo Analógico (QUIMIS[®] Q-860A21).

4.1.3 Vidrarias e utensílios

- Balão volumétrico 5, 10, 25 e 100mL;
- Bastões de vidro;
- Béqueres de 50, 250 e 600mL;
- Cálice graduado;
- Cubetas de vidro;
- Espátulas de alumínio;
- Lâminas;
- Lamínulas;
- Papel alumínio (Royalpacte[®]);
- Pipeta automática (10-1000 μ L)
- Placas de vidro (20cm x 20cm);
- Provetas de 50 e 100mL;
- Régua graduada (WaiEu[®]);
- Seringas de 20mL;
- Tubos para centrífuga;
- Vidro relógio.

4.2 MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Farmácia Escola Manoel Casado de Almeida, da Universidade Federal de Campina Grande/CES Campus Cuité-PB, sendo fornecido água purificada, equipamentos, reagentes e solventes, atendendo as necessidades da pesquisa. O extrato da empresa Attivos Magistrais[®] e as formulações preparadas com o mesmo foram fornecidos pela empresa “Alquimia Farmácia de Manipulação”, situada na cidade de João Pessoa- PB.

4.2.1 Preparo das amostras

Utilizou-se creme Lanette[®] como base (“P”placebo) para as formulações onde foram incorporados extratos proveniente de fornecedores distintos nomeados de:

- Formulação de extrato seco 1 (FES-1);
- Formulação extrato seco 2 (FES-2);
- Formulação extrato glicólico 1 (FEG-1);
- Formulação extrato glicólico 2 (FEG-2).

Preparou-se formulações conforme Tabela 3, de 20g de creme Lanette® contendo 1% de extrato de *Gingko biloba L.*

Tabela 3- Composição do creme base.

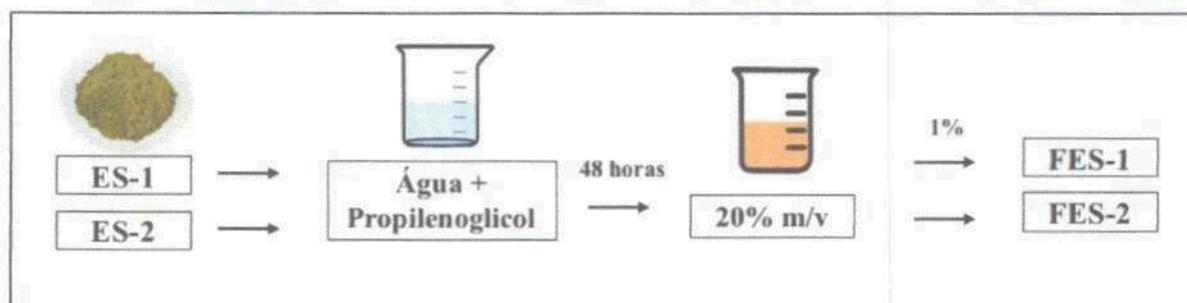
	COMPONENTES	QUANTIDADE (%)
FASE OLEOSA	Lanette®	15,0
	BHT	0,07
	Nipazol®	0,1
	Vaselina	2,5
	Silicone	3,0
FASE AQUOSA	Propilenoglicol	5,0
	Nipagin®	0,1
	EDTA	0,07
	Glicerina	3,0
	Água qsp	100

Legenda: BHT (hidroxitolueno butilado); EDTA (ácido etilenodiamino tetra- acético).

Fonte: Autoria própria.

Para as formulações FES-1 e FES-2 utilizou-se quantidade suficiente de líquido extrator a base de água e propilenoglicol para a solubilização do extrato seco a fim de favorecer sua incorporação ao creme. Este novo extrato (20% m/v) foi preparado através do processo de maceração durante 48 horas e logo após filtrado e armazenado em embalagens protegidas da luz (Figura 4).

Figura 4 – Método de preparo dos extratos secos para incorporação nos cremes.



Legenda: Extrato Seco 1 (ES-1), Extrato Seco 2 (ES-2), Formulação de extrato seco 1 (FES-1) e Formulação extrato seco 2 (FES-2).

Fonte: Autoria própria.

4.2.2 Estabilidade preliminar

4.2.2.1 Estabilidade frente a diferentes condições de temperatura

As formulações foram submetidas a diferentes condições de temperatura, a temperatura elevada $40^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}/24$ horas e à temperatura baixa de $4^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}/24$ horas, completando assim os ciclos de 24 horas alternados de resfriamento e aquecimento (ciclo gelo-degelo), durante 30 dias (BRASIL, 2004).

4.2.2.2 Avaliação visual e características organolépticas

As formulações-teste foram analisadas visualmente quanto ao aspecto, cor e odor (BRASIL, 2004), utilizando os critérios de avaliação descritos a seguir:

- Aspecto: Normal, sem alterações; Levemente separado ou precipitado; Separado, turvo ou precipitado;
- Cor: Normal, sem alterações; Levemente modificada; Modificada; e Intensamente Modificada;
- Odor: Normal, sem alterações; Levemente modificado; e Intensamente modificado.

4.2.2.3 Análise microscópica

Foram observadas lâminas preparadas com amostra das formulações, atentando-se para o tamanho, forma e distribuição das gotículas, se homogêneas ou não; presença de aglomerados, grumos, e seus tamanhos, presença de bolhas de ar e gotículas de óleo. A análise foi realizada em triplicata, utilizando microscópio óptico marca Physise nas objetivas 10x e 40x (TOLOTTI, 2012).

4.2.2.4 Teste de centrifugação

Foram centrifugadas cerca de 5g das amostras à 3.000 rpm durante 30 minutos. Utilizou-se o mesmo critério de avaliação para o aspecto, citado acima, para classificar as instabilidades físicas detectadas (GIANETI, 2013).

4.2.2.5 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada em pHmetro, calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0, inserindo o eletrodo diretamente na formulação (BRASIL, 2008).

4.2.2.6 Determinação da viscosidade

A viscosidade foi determinada em viscosímetro rotativo, no qual foram escolhidos, de acordo com a viscosidade das emulsões, o spindle n°4 e a rotação de 6 rpm (Rotações por minuto). O fuso foi mergulhado diagonalmente na amostra com temperatura estabilizada, isenta de bolhas, até a marca (sulco) da haste do fuso e em seguida o aparelho foi nivelado. Após verificada a ausência de bolhas junto ao fuso, procedeu-se à leitura da viscosidade (BRASIL, 2008).

4.2.2.7 Determinação da espalhabilidade

Para verificação desse parâmetro, utilizou-se um molde plástico de 1,1 cm de diâmetro que foi colocado sobre uma placa de vidro (20 cm x 20 cm). Uma amostra de 1 mL (determinado em uma seringa) foi introduzida no orifício plástico e logo após retirado cuidadosamente e sob a amostra colocada uma placa de vidro de massa pré-determinada. Após 1 minuto, foi calculada a superfície abrangida através da medição com uma régua do diâmetro em duas posições opostas, com posterior cálculo do diâmetro médio, de acordo com a equação 1 (BORGHETTI; KNORST, 2006).

$$d = \frac{d1 + d2}{2} \quad (1)$$

Onde:

d= diâmetro total

d1= diâmetro horizontal

d2= diâmetro vertical

A espalhabilidade (E_i), determinada a 25°C, será calculada através da equação 2:

$$E_i = \frac{(d)^2 \times \pi}{4} \quad (2)$$

Onde:

E_i = espalhabilidade da amostra para massa (mm^2)

d = diâmetro médio (mm)

π = 3,14

4.2.3 Avaliação da atividade antioxidante

4.2.3.1 Espectrofotometria de varredura do DPPH

Foi realizada entre 510 à 520 nm (nanômetro) com o intuito de identificar o comprimento de onda de absorção máxima.

4.2.3.2 Aplicação do método DPPH

A dosagem de atividade antioxidante foi adaptada de Gettens e Frasson (2007), utilizando-se o método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila) obtido da SIGMA. Foi preparada uma solução de concentração 1,25 mg/mL de *Ginkgo biloba L.* a partir de cada creme, ao qual realizou-se uma série de diluições de modo a obter as concentrações de 1, 0,5, 0,25, 0,125 e 0,05 mg/mL. Esse procedimento foi realizado com as formulações pré e pós ciclo gelo-degelo. De cada diluição utilizou-se 2,5 mL, a qual foi adicionado 1 mL de solução DPPH (0,3mM). Esperou-se 30 minutos, tempo necessário para que ocorra a reação, e mediu-se a absorbância em 516 nm. A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a Equação 3.

$$\text{Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{A_{\text{controle(-)}} - A_{\text{amostra}}}{A_{\text{controle(-)}}} \times 100 \quad (3)$$

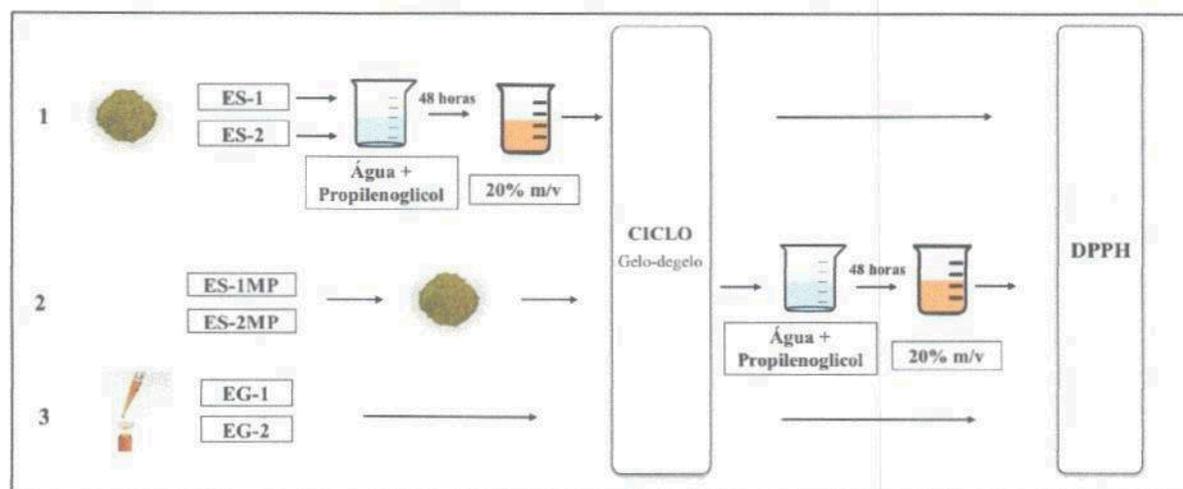
Onde:

$A_{\text{controle(-)}}$ = absorbância da solução de DPPH sem a amostra;

A_{amostra} = absorbância da amostra com o DPPH

O método DPPH foi também aplicado aos extratos sem estarem incorporados no creme, como exemplificado na Figura 5. Foi realizado a preparação de uma solução (20% m/v) com os extratos seco 1 (ES-1) e extrato seco 2 (ES-2), sendo que estes, sem estar em solução (na forma em pó), foram nomeados de extrato seco 1 matéria-prima (ES1-MP) e extrato seco 2 matéria-prima (ES2-MP) e também participaram do ciclo gelo-degelo para assim verificar se a temperatura, modo e tempo de preparação iriam influenciar na atividade antioxidante pré e pós ciclos. Após o período de trinta dias do ciclo foi realizado a preparação (20% m/v) com o material em pó.

Figura 5 – Método de preparo dos extratos para o ciclo gelo-degelo e para o teste com o DPPH.



Legenda: (1) Preparo do Extrato seco 1 (ES-1) e Extrato seco 2 (ES-2) em solução antes do ciclo. (2) Preparo do Extrato seco 1 matéria-prima (ES-1MP) e Extrato seco 2 matéria-prima (ES-2MP) em solução após o ciclo. (3) Extrato glicólico 1 (EG-1) e Extrato glicólico 2 (EG-2).

Fonte: Autoria própria

O extrato glicólico 1 (EG-1) e o extrato glicólico 2 (EG-2) participaram do ciclo gelo-degelo da mesma forma que foram adquiridos pelas farmácias de manipulação já mencionadas no presente trabalho.

Essas formulações foram tratadas da mesma forma que a formulação de cremes, utilizando-se mesmas concentrações para as soluções-mãe e diluições e os resultados foram aplicados na mesma equação.

4.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos nos estudos das formulações: P), Formulação de extrato seco 1 (FES-1), Formulação extrato seco 2(FES-2), Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), Formulação extrato glicólico 2(FEG-2) e nos extratos: Extrato seco 1 (ES-1), Extrato seco 1 matéria-prima (ES-1MP), Extrato seco 2(ES-2), Extrato seco 2 matéria-prima (ES-2MP), Extrato glicólico 1(EG-1), Extrato glicólico 2(EG-2), tiveram sua variância avaliada através do teste t de Student. Utilizou-se do software Microsoft® Excel para avaliar os resultados, tendo como intervalo de confiança de 95%. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

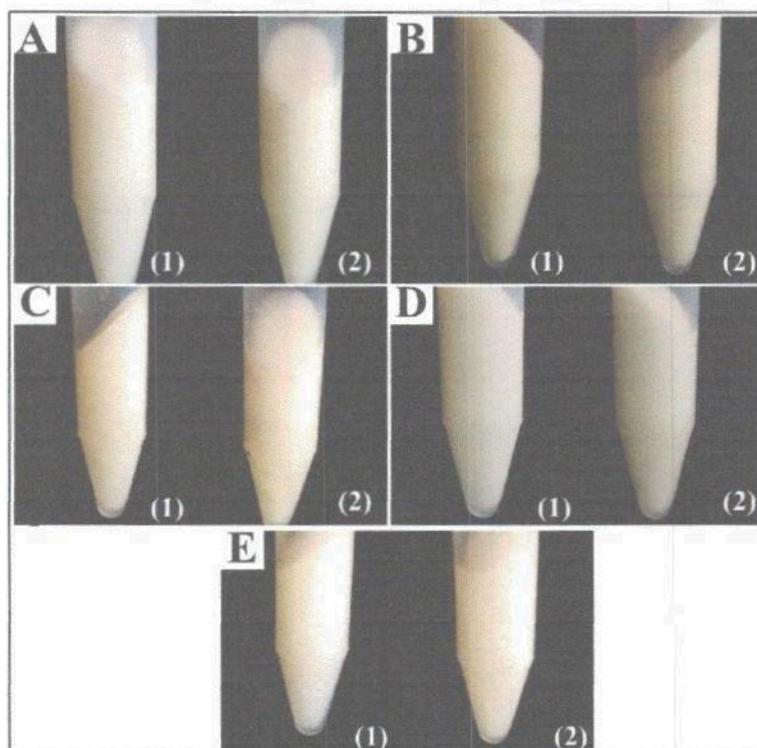
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação organoléptica

Em estudos de estabilidade preliminar de cosméticos, espera-se que as características organolépticas de um produto permaneçam as mesmas até o final dos ensaios, mesmo frente às distintas condições de estresse provocado na amostra (OLIVEIRA, 2013).

As emulsões submetidas aos ensaios de estabilidade não demonstraram alterações no que se refere à cor, odor e aparência. Na Figura 6, pode-se observar a diferença de cores entre as amostras, fato que está relacionado a tonalidade de cada extrato e não tem relação com instabilidade.

Figura 6- Amostras de cremes pré e pós ciclo gelo-degelo submetidas à centrifugação.



Legenda: Ciclos (1: Tempo 0 e 2: Tempo 30). (A) Formulação de extrato seco 1 (FES-1), (B) Formulação extrato seco 2 (FES-2), (C) Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), (D) Formulação extrato glicólico 2 (FEG-2) e (E) Placebo (P).

Fonte: Autoria própria.

É importante que o aspecto, como cor e odor de uma formulação cosmética se mantenha sem alterações durante os ensaios de estabilidade, uma vez que essas características

podem influenciar na eficácia e qualidade do produto e ainda na aceitação pelo consumidor (COELHO et al., 2016).

5.2 Teste de centrifugação

A força da gravidade atua sobre os produtos, fazendo com que suas partículas se movam no seu interior. A centrifugação é utilizada como uma análise preliminar da estabilidade da formulação, produzindo estresse na amostra, simulando um aumento na força de gravidade, aumentando a mobilidade das partículas e antecipando possíveis instabilidades. As instabilidades comumente observadas são: formação de sedimento compacto (*caking*), floculação, coalescência, precipitação, separação de fases, entre outras (BRASIL, 2004; BRASIL, 2008; OLIVEIRA, 2013).

No presente estudo, nenhuma das amostras apresentou qualquer modificação ao término do procedimento de centrifugação, mesmo após 30 dias de submissão ao estresse térmico como pode ser observado na Figura 6, revelando que a incorporação dos extratos seco e glicólico não interferem na estabilidade da emulsão quanto a esse parâmetro.

5.3 Avaliação do pH

A determinação do pH (potencial hidrogeniônico) da superfície cutânea é considerado como um importante indicador funcional da pele, devendo-se à produção de ácido láctico e conferindo à superfície cutânea aquilo que se convencionou designar por “manto ácido cutâneo”. Assim sendo, a pele apresenta pH levemente ácido (4,5 - 5,5), que contribui para que ocorra proteção bactericida e fungicida em sua superfície. Além disso, as secreções cutâneas apresentam apreciável capacidade tamponante, importante propriedade, uma vez que o pH da pele é frequentemente alterado em consequência da utilização de produtos tópicos inadequados, expondo a pele a uma série de agentes agressores, em especial microorganismos (LEONARDI et al., 2002).

O pH deve garantir a estabilidade dos excipientes da formulação, a eficácia e segurança, bem como a sua compatibilidade com os fluidos biológicos em conformidade com a via de administração pretendida. Os sistemas apresentam maior estabilidade quando os valores de pH são mantidos dentro de uma pequena variação, o que foi visualizado nas formulações estudadas. Desta forma, a diminuição progressiva da estabilidade dá-se quando o

pH se afasta de seu limite ótimo (RODRIGUES, 2013; SOUZA; CAMPOS; PACKER, 2013; DAHER, 2014).

Não houve diferença significacava entre os valores de pH obtidos nas formulações contendo o ativo ($p>0,05$), e as mesmas apresentaram pH levemente ácido na faixa de 6,2 à 6,8 estando na faixa de compatibilidade com o pH cutâneo (Tabela 4) (CASTRO, 2014).

Tabela 4- Valores de pH para as diferentes condições de temperatura.

	pH		
	TEMPO		
	T0	T30	Valores de (<i>p</i>)
P	6,8±0,05	6,2±0,17	0,04
FES-1	6,4±0,68	6,4±1,14	0,18
FES-2	6,4±0,68	6,4±1,14	0,18
FEG-1	6,4±0,68	6,4±1,14	0,18
FEG-2	6,4±0,6	6,4±1,14	0,18

Legenda: Os resultados estão expressos na forma de média ± desvio padrão. Placebo (P), Formulação de extrato seco 1 (FES-1), Formulação extrato seco 2(FES-2), Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), Formulação extrato glicólico 2(FEG-2). Potencial hidrogeniônico (pH).

Fonte: Autoria própria.

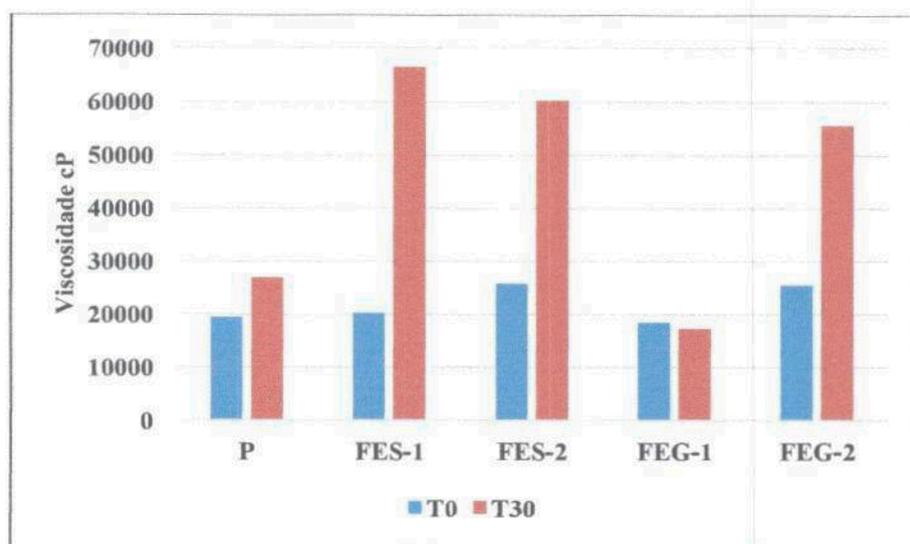
A determinação e o controle do pH, sob o ponto de vista cosmético e/ou dermatológico, é de extrema utilidade, pois ajuda a evitar a utilização de produtos tópicos inadequados. Valores baixos de pH podem provocar aparecimento de irritação dérmica cumulativa, e promover instabilidade da formulação cosmética (LEONARDI et al., 2002; ISAAC et al., 2008).

5.4 Avaliação da viscosidade

A viscosidade pode ser entendida como a resistência interna ao fluxo que um fluido apresenta, resultante da aplicação de uma força que causa deformação temporária ou permanente da matéria; ou simplesmente, a resistência do fluido frente ao fluxo ou movimento. Portanto, quanto maior a viscosidade, maior a resistência ao fluxo (CAÇÃO, 2009).

Considerando os resultados apresentados na Figura 7 no tempo 0, observa-se que não existe diferença dos resultados de viscosidade após a incorporação do princípio ativo na formulação ($p>0,05$). Não ocorreu alteração da viscosidade com relação ao placebo após o ciclo gelo-degelo. Após incorporação do princípio ativo observou-se um aumento de três vezes do valor da viscosidade comparando T0 e T30 de cada formulação. Somente a formulação FEG-1 e P apresentaram comportamento diferenciado necessitando uma avaliação mais detalhada para determinar estes resultados.

Figura 7 – Gráfico com os valores da viscosidade das amostras submetidas às condições do estudo de estabilidade preliminar (T0 e T30).



Legenda: Os resultados estão expressos em Centipoise (cP). Placebo (P), Formulação de extrato seco 1 (FES-1), Formulação extrato seco 2(FES-2), Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), Formulação extrato glicólico 2(FEG-2).

Fonte: Autoria própria.

Ainda que informativo, ou seja, não constitui um fator para reprovação do lote em análises de controle de qualidade físico-químico, do ponto de vista farmacotécnico, torna-se fundamental o conhecimento da viscosidade aparente do sistema, pois o comportamento reológico adequado é exigido para que a atividade terapêutica, ou as funções cosméticas do produto, sejam asseguradas (RODRIGUES, 2013).

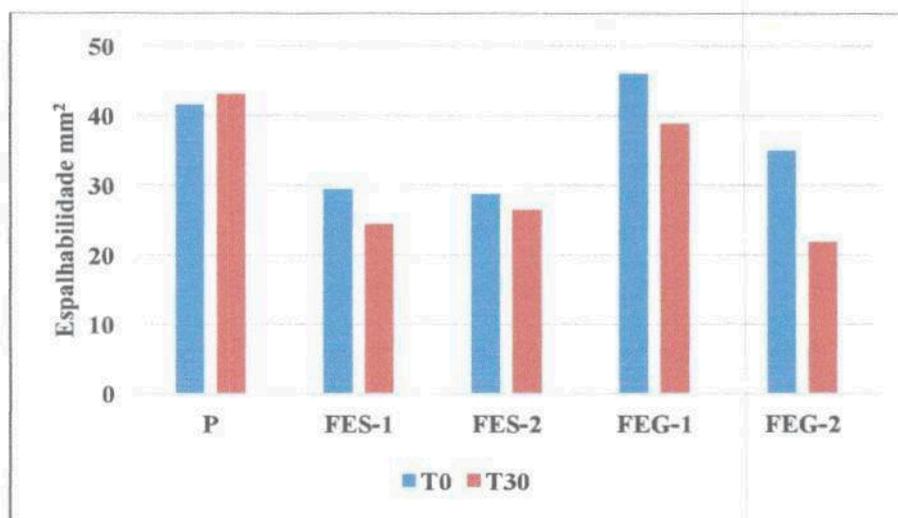
5.5 Avaliação da espalhabilidade (Ei)

O teste de espalhabilidade se baseia na resistência ao movimento forçado. Os resultados correspondem à relação entre a área de espalhamento com a força aplicada sobre o

produto e o esforço limite, relação que corresponde ao fator de espalhabilidade. Os valores da espalhabilidade em função das massas adicionadas são determinados através de 3 medições, calculando-se a média entre elas (BORGHETTI; KNORST, 2006; CORDEIRO et al., 2013).

Considerando os resultados da espalhabilidade (Figura 8), observa-se que as formulações placebo e FEG-1 apresentaram o mesmo comportamento. No entanto, após incorporação do princípio ativo observa-se uma redução dos valores da espalhabilidade, não ocorrendo nenhuma alteração significativa após o ciclo gelo-degelo ($p > 0.05$).

Figura 8 – Gráfico com os valores da espalhabilidade para as amostras submetidas às condições do estudo de estabilidade preliminar (T0 e T30).



Legenda: Os resultados estão expressos na forma de média. Placebo (P), Formulação de extrato seco 1 (FES-1), Formulação extrato seco 2(FES-2), Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), Formulação extrato glicólico 2(FEG-2).

Fonte: Autoria própria.

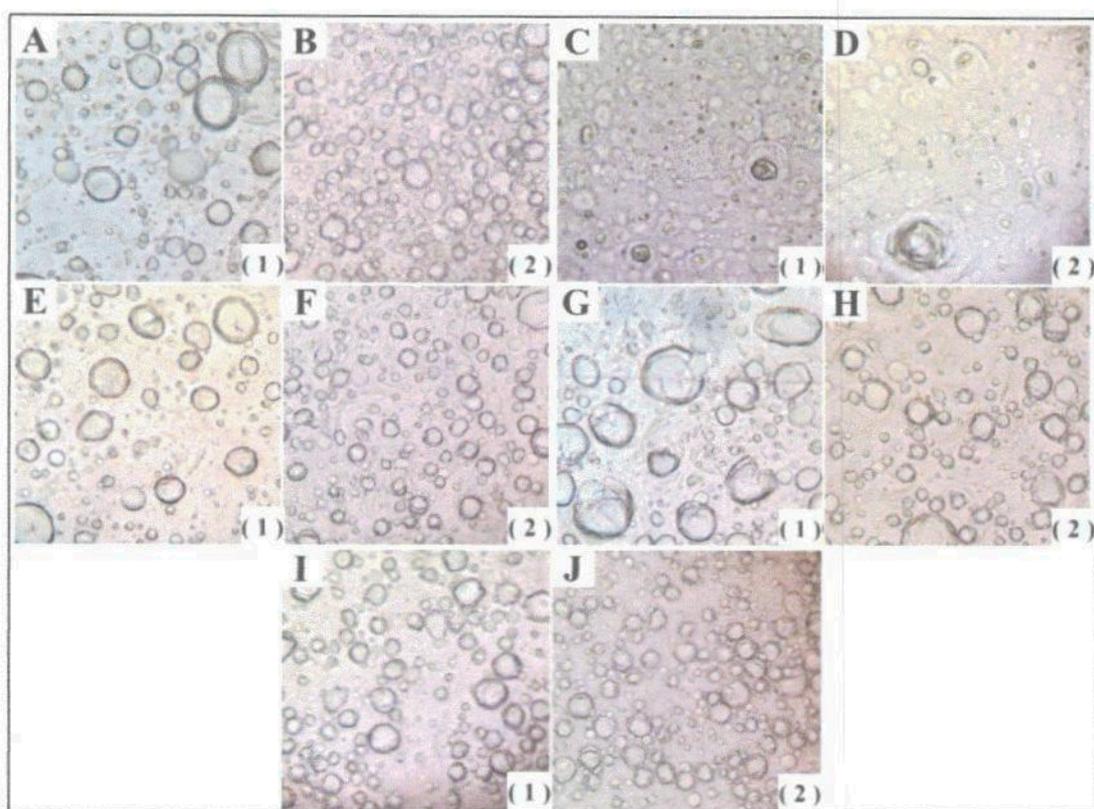
Os resultados desta análise se assemelham aos estudos realizados por Pianovski et al. (2008), que observou redução deste parâmetro para as amostras armazenadas em temperatura elevada no decorrer dos dias devido à perda de água por evaporação, com consequente alteração da consistência do produto.

Da mesma forma que a viscosidade, a determinação da espalhabilidade serve para avaliar alterações nas características reológicas da formulação durante o estudo. No caso de semissólidos de uso tópico, a quantificação desse parâmetro é importante para acompanhar modificações na capacidade que a formulação tem de se espalhar ou abranger determinada área, o que pode facilitar ou dificultar sua aplicação (BUGNOTTO et al., 2006).

5.6 Análise microscópica

Todas as formulações contendo extrato (Figura 9) apresentaram nítida formação de gotículas com diversos tamanhos, o que torna possível os menores agregarem-se aos maiores, desestabilizando o sistema mais rapidamente. No entanto, a formulação FEG-1 (Figura 9 – C/D), apresentou distribuição de tamanho dos glóbulos mais homogênea. O creme placebo (Figura 9 – I/J) mostrou gotículas bem formadas e homogêneas, porém sem uniformidade em toda a lâmina.

Figura 9- Microscopia das formulações pré e pós ciclo gelo-degelo.



Legenda: Ciclos (1: Tempo 0 e 2: Tempo 30). A/B Formulação de extrato seco 1 (FES-1); E/F Formulação extrato seco 2 (FES-2); C/D Formulação extrato glicólico 1 (FEG-1); G/H Formulação extrato glicólico 2 (FEG-2) e I/J Placebo (P). Objetiva utilizada: 40x.

Fonte: Autoria própria.

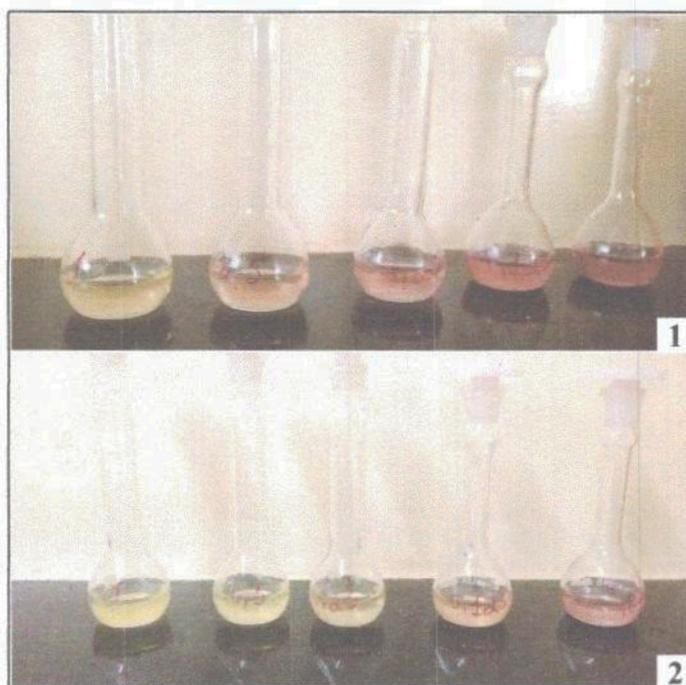
5.7 Avaliação da atividade antioxidante

5.7.1 Matéria-prima

Os extratos foram submetidos ao teste com DPPH no intuito de verificar se a forma de preparação dos extratos, o estresse térmico e a formulação creme interferia de alguma forma na atividade antioxidante. Os cálculos da atividade antioxidante podem ser visualizados nos Apêndices A e B.

Foi confirmado que o extrato seco de *Ginkgo biloba L.* (ES-1) atingiu o máximo de atividade na concentração de 0,25mg/mL e nas concentrações 0,5mg/mL e 1mg/mL ele apresentou atividade pró-oxidante como pode ser comprovado nas Figuras 10 e 11. A matéria-prima (ES-IMP) passou pelo estresse térmico e diferente do ES-1, já preparado com o líquido extrator, não apresentou atividade pró-oxidante, chegando a 93,1% de atividade antioxidante na concentração 1mg/mL no tempo (30).

Figura 10- Reação fotocolorimétrica in vitro do radical livre estável DPPH mostrando a atividade antioxidante e pró-oxidante do *Ginkgo biloba L.*



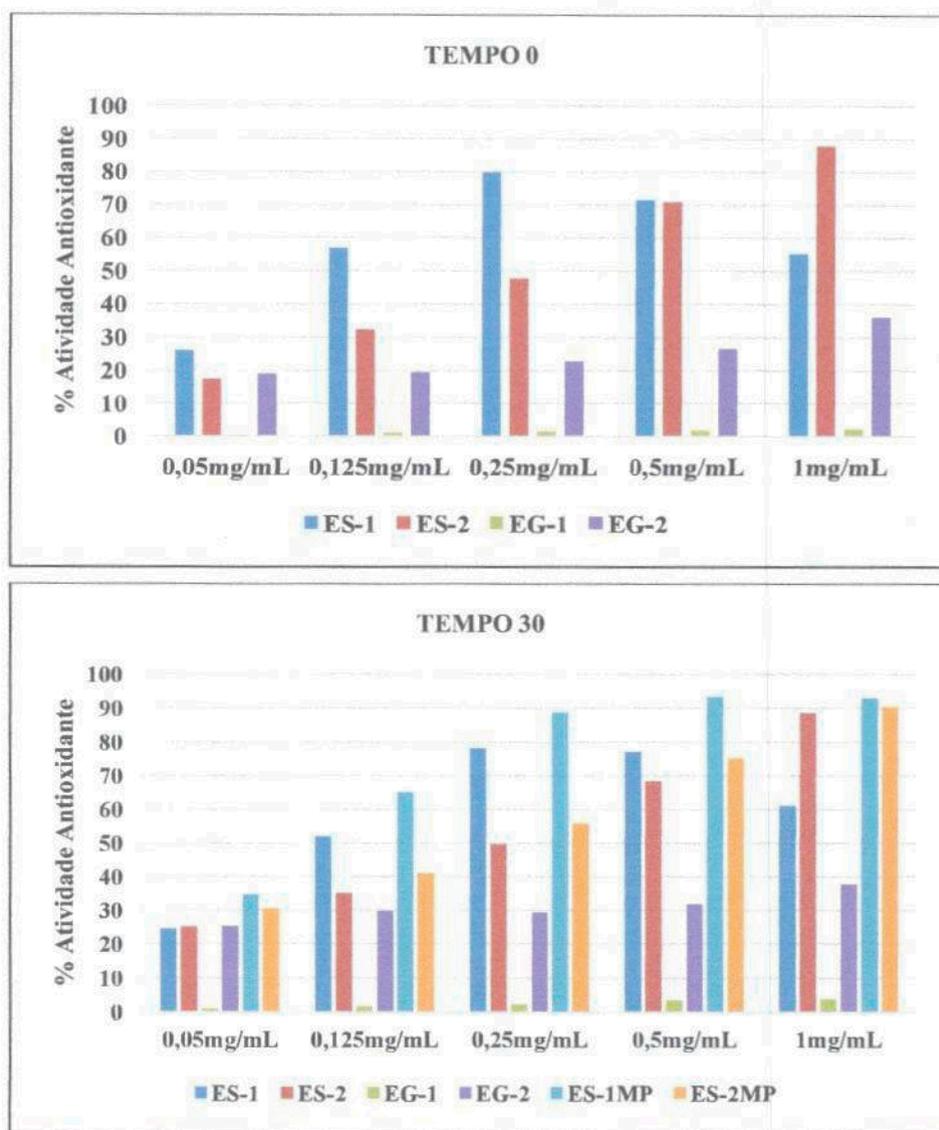
Legenda: (1) Extrato Seco Imatéria-prima (ES-IMP) e (2) Extrato seco (ES-1).

Fonte: Autoria própria.

Os extratos de Gb possuem elevada porcentagem de flavonoides, e mesmo que estes

apresentem propriedades antioxidantes importantes, alguns estudos tem demonstrado atividade pró-oxidante *in vitro*, o que foi encontrado neste trabalho no ES-1 (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002; UEDA et al., 2002).

Figura 11 - Atividade antioxidante (%) dos extratos puros de *Ginkgo biloba L.* testadas pela metodologia do radical livre DPPH.



Legenda: Os resultados estão expressos na forma de AA% (calculado através da Equação 3). Extrato seco 1 (ES-1), Extrato seco 1 matéria-prima (ES-1MP), Extrato seco 2(ES-2), Extrato seco 2 matéria-prima (ES-2MP), Extrato glicólico 1(EG-1), Extrato glicólico 2(EG-2).

Fonte: Autoria própria

Hanasaki, Ogawa e Fukui (1994) comprovaram que flavonoides isolados de várias ervas medicinais causaram efeito pró-oxidante que provocaram efeitos citotóxicos e pró-

apoptóticos. Também sugeriu que o mesmo atributo estrutural que aumenta a capacidade antioxidante pode também exacerbar o estresse oxidativo e os danos funcional e estrutural das moléculas celulares.

O fato dos flavonoides poderem atuar como pró-oxidantes e antioxidantes indica que em certas condições e em certos tecidos, eles podem oferecer mais riscos oxidativos do que benefícios antioxidantes (BEHLING et al., 2004).

O extrato ES-2 e o ES-2MP apresentaram elevada atividade antioxidante em todas as concentrações. O ES-2MP após o estresse térmico apresentou uma melhor atividade quando comparado ao ES-2, e ambos não apresentaram ação pró-oxidante.

O EG-1 não apresentou nenhuma atividade antioxidante na forma que é comercializado nem mesmo quando inserido na forma farmacêutica creme. Entretanto, o EG-2 apresentou 37,9% de atividade na última concentração (1mg/mL). Ambos não se mostraram tão eficientes quando comparados ao extrato seco, revelando que a incorporação de apenas 1% de extrato glicólico de *Ginkgo biloba L.* em cremes não é tão eficaz após um período na prateleira. Estudos de Hexsel et al. (2005) sugerem que em formulações tópicas, o extrato glicólico seja usado na concentração de 5 a 10% e o extrato seco na concentração de 0,2 a 2%.

Esses resultados mostram que o estresse térmico não interferiu consideravelmente na atividade dos extratos secos, já quando inseridos na formulação creme, eles apresentaram redução de metade de sua atividade.

Resultados de Balogh (2011) sugerem que temperaturas elevadas e exposição solar podem comprometer a estabilidade química do extrato glicólico de Gb, sugerindo que o mesmo fosse armazenado em temperatura ambiente ou em geladeira (5°C) protegido da incidência de luz solar para evitar instabilidade no teor de flavonoides totais, principal responsável pela atividade antioxidante. No presente estudo, os extratos glicólicos foram submetidos a temperatura máxima de 40°C.

Desse modo, sugere-se que as farmácias de manipulação preconizem os extratos secos, ao invés dos extratos glicólicos comercializados, que mesmo no T₀ e T₃₀ apresentaram melhor estabilidade frente as condições de estresse térmico e atividade antioxidante superior aos demais.

Pesquisas envolvendo estudo de estabilidade de extrato de Gb são raras. Tommasi e colaboradores (2006) avaliaram o efeito da temperatura sobre o metabolismo antioxidante de sementes de Gb. Os autores armazenaram sementes de Gb a 4 e 25°C por um período de 12 meses. Os autores verificaram a redução da ação antioxidantes nas sementes após os 12 meses de armazenamento.

Goh e Barlow (2002) estudaram a ação da temperatura em nozes de Gb. As amostras de nozes de Gb foram submetidas a processo de cozimento em água, em diferentes tempos que variaram de 5 a 240 minutos. Em seguida, foram preparados extratos a partir das nozes submetidas ao tratamento com calor, utilizando acetona e água. A determinação da atividade antioxidante dos extratos obtidos em cada tempo de submissão ao aquecimento indicou redução da atividade antioxidante ao longo do tempo.

Ribeiro et al. (2005) analisou vinte e cinco extratos secos de *Ginkgo biloba L.* quanto ao teor de princípios ativos e estes estavam 60% em desacordo com as especificações farmacopêicas e as fornecidas pelos fabricantes das mesmas. Esta situação reforça também a necessidade de que sejam validadas todas as matérias-primas fornecidas, exigindo que as farmácias de manipulação e indústrias 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 cosméticos bem como de medicamentos com uma sub-dosagem de fitoativos (MARCUCCI et al., 2010; SOUZA, 2014).

Bara et al. (2004) defende o uso de extratos secos nas formulações farmacêuticas justificando que estes apresentam vantagens tais como uma maior concentração de princípios ativos, a possibilidade de padronização do conteúdo de princípios ativos, melhoramento da farmacocinética e menor contaminação microbiana. Entretanto, apresenta a desvantagem de ser um material muito higroscópico e possui custo elevado.

5.7.2 Produto acabado

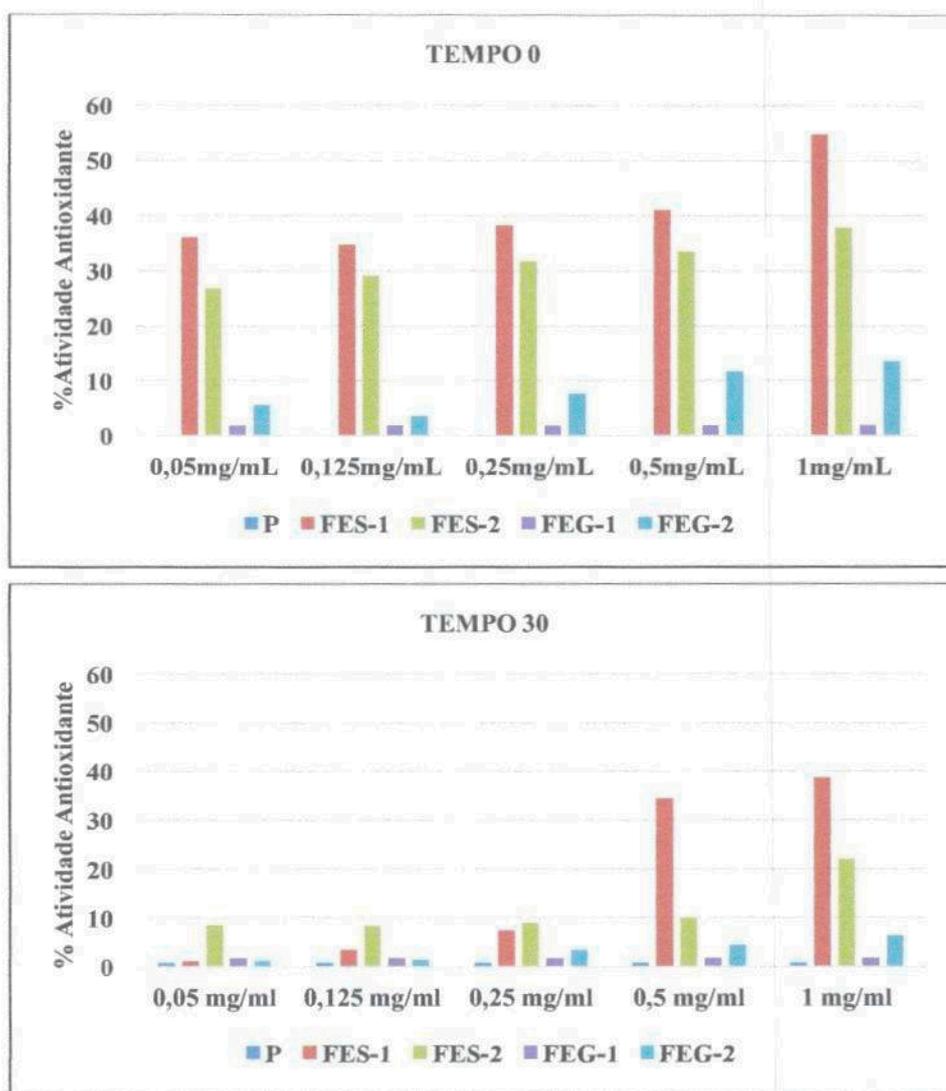
Após a realização da leitura da absorbância e aplicação da equação (Apêndices C e D), obteve-se os resultados apresentados na Figura 12.

As formulações contendo extratos secos (FES-1 e FES-2) apresentaram um maior potencial antioxidante em comparação com as formulações contendo extrato glicólico nos tempo 0 e 30. Contudo, após o estresse térmico, apenas as concentrações 0,5 e 1mg/mL continuaram apresentando potencial antioxidante.

Os resultados encontrados corroboram com os estudos realizados por Gettens e Frasson (2007), onde estes afirmam que o extrato seco de Gb apresenta uma maior ação antioxidante em comparação com o extrato glicólico atingindo um pico máximo de atividade antioxidante nos cremes com extrato seco nas concentrações de 0,5 e 1 mg/mL.

Em ambos os tempos, a FEG-1 não apresentou atividade, como mostra os dados apresentados na Figura 12, onde esta formulação teve comportamento semelhante ao placebo. Esse fato era esperado, visto que o extrato (EG-1) estudado anteriormente, sem o mesmo estar incorporado no creme, não apresentou nenhuma atividade. Já a FEG-2 apresentou uma pequena atividade antioxidante, porém não tão intensa, apenas na concentração de 1mg/mL no tempo 0.

Figura 12 - Atividade antioxidante (%) da formulação testadas pela metodologia do radical livre DPPH.



Legenda: Os resultados estão expressos na forma de AA% \pm desvio padrão. AA% (calculado através da Equação 3). Placebo (P), Formulação de extrato seco 1 (FES-1), Formulação extrato seco 2(FES-2), Formulação extrato glicólico 1(FEG-1), Formulação extrato glicólico 2(FEG-2).

Fonte: Autoria própria.

O extrato glicólico também apresenta atividade antioxidante, porém não tão intensa,

provavelmente devido à diminuição da concentração dos compostos com ação antioxidante após o processo de preparação desse extrato, ou até mesmo devido as condições propostas neste estudo, como o uso de temperaturas elevadas, que podem ter comprometido a estabilidade química do extrato glicólico (GETTENS; FRASSON, 2007; BALOGH, 2011).

Em um estudo comparando a atividade antioxidante do Gb em relação a dosagem do teor de flavonoides em extratos comerciais, foi observado que quando o conteúdo de flavonoides é bem baixo, a amostra apresenta pouca atividade antioxidante, e em contrapartida, quando os teores de flavonoides são mais altos, a amostra apresenta uma excelente atividade contra radicais livres, confirmando o potencial antioxidante do Gb (MARCUCCI et al., 2010).

Como forma de solucionar a redução da AA, que, pode ser justificada tanto pela formação de produtos de degradação, como decorrente de interferências dos componentes da formulação cosmética ou até mesmo incompatibilidade do extrato com os mesmos, sugere-se a microencapsulação do ativo.

A microencapsulação é uma técnica muito utilizada na área cosmética e o domínio das suas aplicações tem sido extensivamente ampliada incluindo, fundamentalmente, a microencapsulação de compostos muito voláteis, como fragrâncias e extratos vegetais para o cuidado pessoal (SHALAKA et al., 2009; BRASILEIRO, 2011). Ao nível da cosmética, a microencapsulação apresenta vários benefícios, tais como:

- Proteger a substância a encapsular da oxidação, da ação de fatores ambientais (luz e calor) e de possíveis interações com outras substâncias;
- Preservar a bioatividade dos ativos durante o seu armazenamento (antes da sua incorporação nos produtos cosméticos) mas também durante o seu tempo de prateleira;
- Aumentar a estabilidade de componentes instáveis;
- Aumentar o prazo de validade das substâncias a encapsular;
- Melhorar o aspecto tátil e visual de uma variedade de cosméticos;
- Permitir a modulação da liberação dos ingredientes ativos.

Diante disso, também se faz necessário a comprovação dos interferentes na formulação realizando o doseamento das amostras.

6 CONCLUSÃO

Nas condições experimentais desse trabalho foi possível concluir que tanto a formulação creme adquirida de uma farmácia de manipulação como também as demais desenvolvidas na Farmácia Escola/UFCG apresentaram-se estáveis frente aos testes de estabilidade físico-química, contudo, os extratos nelas incorporados apresentaram instabilidades.

Ao analisar os parâmetros organolépticos, as emulsões não demonstraram alterações no que se refere à cor, odor e aparência.

Quanto aos parâmetros físico-químicos as diferentes formulações objeto de estudo não apresentaram instabilidades após serem submetidas a centrifugação, como também se mantiveram em pH ideal após estresse térmico.

Observou-se que não existiu diferença dos resultados de viscosidade após a incorporação do princípio ativo na formulação no T0, como também não ocorreu alteração da viscosidade com relação ao placebo após o ciclo gelo-degelo. Após incorporação do princípio ativo, observou-se um aumento de três vezes do valor da viscosidade comparando T0 e T30 de cada formulação. Somente a formulação FEG-1 apresentou comportamento diferenciado, necessitando uma avaliação mais detalhada para determinar este resultado.

Os resultados do estudo da espalhabilidade mostraram que as formulações placebo e FEG-1 apresentaram o mesmo comportamento. No entanto, após incorporação do princípio ativo observou-se uma redução dos valores da espalhabilidade em todas as formulações.

Os extratos apresentaram atividade nas maiores concentrações (1mg/mL), exceto o EG-1. O ES-1MP passou pelo estresse térmico e diferente do ES-1, previamente preparado, não apresentou atividade pró-oxidante, chegando a 93,1% de AA na concentração 1mg/mL. Quando inserido no creme o ativo reduziu a 54,8% no tempo 0 e 38,7% no tempo 30.

Os extratos ES-2 e ES-2MP mostraram excelente atividade, atingindo atividade máxima de 88,7% e 90,6% respectivamente. Entretanto, logo ao serem incorporados no creme (FES-2), esse potencial reduziu-se para 38% no tempo 0 e 22% no tempo 30.

A FEG-2 (13,6%) apresentou uma pequena atividade, e a FEG-1 (1,8%) apresentou comportamento semelhante ao placebo (1,3%).

O presente trabalho aponta para a viabilidade de utilização do extrato seco de Gb em cosméticos de uso tópico visto que todas as formulações acrescidas desse extrato, mesmo após estresse térmico, apresentaram considerável atividade antioxidante. Quanto a utilização

de apenas 1% de extrato glicólico em creme que não se mostrou de grande eficiência, recomenda-se que essa concentração seja aumentada em futuras preparações cosméticas.

Outra solução para a redução da AA das formulações apresentadas, seria a utilização da microencapsulação, por ser vantajosa não só para preservar a bioatividade do extrato de *Ginkgo biloba L.* incorporado na emulsão cosmética, mas também durante o período de armazenagem, ainda em estado bruto, assim como durante o seu tempo de prateleira garantindo uma maior biodisponibilidade do ativo quando for utilizado pelo consumidor.

Levando-se em consideração esses aspectos, nota-se a importância de ser realizado um controle de qualidade rígido das matérias-primas e produtos acabados, como também uma maior fiscalização dos fornecedores dessas matérias-primas, evitando assim, o risco de se produzir um medicamento ou cosmético que, ao invés de trazer benefícios pode prejudicar o consumidor.

REFERÊNCIAS

ABURJAI, T., et al. Plants Used in Cosmetics. **Phytotherapy research**, v. 17, p. 987-1000, 2003.

ALEXANDRE R.F.; GARCIA F.N.; SIMÕES C.M.O. Fitoterapia Baseada em Evidências. Parte 1. Medicamentos Fitoterápicos Elaborados com Ginkgo, Hipérico, Kava e Valeriana. **Acta Farmacéutica Bonaerense** - ISSN 0326-2383, v. 24, n. 2, p. 300-309, 2005.

BALOGH, T. S. **Uso cosmético de extratos glicólicos: avaliação da atividade antioxidante, estudo da estabilidade e potencial fotoprotetor**. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

BANOV, D., BABY, A. R., DEL BOSCO, L. M., KANEKO, T. M.; VELASCO, M.V.R. Caracterização do Extrato Seco de *Ginkgo biloba*. **Acta Farm. Bonaerense**, n. 25, v. 2, p. 219-24, 2006.

BARA, M. T. F., et al. Determinação de ginkgoflavonóides por cromatografia líquida de alta eficiência em matérias-primas e produtos acabados. **Revista Eletrônica de Farmácia**. ISSN 1808-0804, v. 1, n. 1, p. 1-7. 2004.

BEEK, T. A. V., et al. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. **Journal of Chromatography A**, v. 1216 p. 2002-2032. 2009.

BEHLING, E. B., et al. Flavonóide Quercetina: Aspectos Gerais e Ações Biológicas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BORGES, L.L.; LUCIO, T. C.; GIL, E. S; BARBOSA, E. F. **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais**. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 7, n.12, p. 1-20, 2011.

BORGHETTI, G. S; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1.ed. Brasília: 52 p. 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. 2a edição, revista – Brasília: 120 p. 2008.

BRASIL. Farmacopeia Homeopática Brasileira, v. 3, p. 233. 2011.

BRASILEIRO, J. S. L. **Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas**. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências da Saúde. Dissertação (Mestrado). Porto, 2011.

BUGNOTTO, C.; SOARES, G.; LAPORTA, L. V.; ALVES, M. P.; SCHIDT, C. A.; LIMBERGER, J. B. Stability study of a topic formulation with propolis. **Disc. Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 7, n. 1, p. 1-12. 2006.

CAÇÃO, M. Development and physicochemical stability evaluation of depigmenting formulations added glycolic acid containing pectin as thickener. **Rev. Bras. Farm.**, v. 90, n. 3, p. 272-280, 2009.

CAS. **Chemical Abstracts Service, a division of American Chemical Society**. Disponível em < <https://www.cas.org/cas-home> >. Acesso em: 12 Setembro 2016.

CASTRO, R. M. L. **Emulsão: uma revisão bibliográfica**. Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade em farmácia, Universidade Federal de João Pessoa. 2014.

CHAN, P. C.; XIA, Q.; FU, P. P. *Ginkgo Biloba* Leave Extract: Biological, Medicinal, and Toxicological Effects. **Journal of Environmental Science and Health Part C**, v. 25, p. 211–244, 2007.

CHUARIENTHONG, P., et al. Clinical efficacy comparison of anti-wrinkle cosmetics containing herbal flavonoids. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 32, p. 99–106, 2010.

COELHO, K. D., et al. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade e capacidade antioxidante de uma formulação em gel contendo o extrato das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Revista Biomotriz**, v.10, n., p. 152–170, 2016.

CORDEIRO, M. S.F., et al. Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). **Rev. Bras. Farm.**, v. 94, n. 2, p. 148-153, 2013.

DAHER, C. C. **Desenvolvimento de emulsões o/a contendo extrato glicólico de açaí e avaliação da atividade fotoprotetora.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.

DAL'BELO, S. E. **Avaliação da eficácia fotoprotetora, penetração cutânea e segurança de formulações cosméticas contendo extratos de chá verde e 'Ginkgo biloba'.** Dissertação (Doutorado). Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

DEMIREZER, L.O., et al. Adulteration Determining of Pharmaceutical Forms of *Ginkgo biloba* Extracts from Different International Manufacturers. **Records of Natural Products**, v. 8, n. 4, p. 394-400, 2014.

DIAMOND, B. J., et al. Ginkgo biloba: Indications, Mechanisms, and Safety. **Psychiatric Clinics of North America** v. 36, p. 73–83. 2013.

EUROPE. European Pharmacopoeia. **Strasbourg: Council of Europe**, v. 7. 2008.

FREIRE, R. M. L., et al. **Análise da Decomposição Térmica do Ginkgo Biloba.** In: XLVIII Congresso Brasileiro de Química - CBQ, 2008, Rio de Janeiro. Anais do XLVIII Congresso Brasileiro de Química - CBQ, 2008.

FRIES, A. T.; FRASSON, A. P. Z. Avaliação da atividade antioxidante de cosméticos anti-idade. *Revista Contexto & Saúde*, v. 10 n. 19, p. 17-23, 2010.

FURMAN, A. E. F. **Ação antioxidante de extrato padronizado de *Ginkgo biloba* em eritrócitos de indivíduos normais e de portadores de anemia falciforme, submetidos à sobrecarga oxidativa, *in vitro*.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Do Paraná. Curitiba, 2011.

GEDIYA, S. K.; MISTRY, R. B.; PATEL, U. K.; BLESSY, M.; JAIN, H. N. Herbal Plants: Used as a cosmetics. **J. Nat. Prod. Plant Resour.**, v. 1, n. 1, p. 24-32, 2011.

GETTENS, L., & FRASSON, A. P. Z. Estudo comparativo da atividade antioxidante de creme aniônico e não-iônico contendo extrato seco e extrato glicólico de Ginkgo biloba. **Revista Contexto & Saúde**. V.7, n.12. 2007.

GIANETI, M. D. **Estabilidade e eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo filtros solares, vitaminas lipossolúveis e extratos de *Ginkgo biloba* e algas marinhas vermelhas.** Tese (Doutorado). Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto. Universidade De São Paulo. Ribeirão Preto. 2013.

GOH, L.M.; BARLOW, P.J. Antioxidant capacity in *Ginkgo biloba*. **Food Research International**, v.35, p. 815-820, 2002.

HANASAKI, Y.; OGAWA, S.; FUKUI, S. The correlation between active oxygen scavenging and antioxidative effects of flavonoids. **Free Radic. Biol. Med.**, New York, v. 16, p. 845-850, 1994.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J. Nutr. Biochem.**, v.13, p. 572-584, 2002.

HEXSEL, et al. Botanical extracts used in the treatment of cellulite. **Dermatologic Surgery: Official Publication For American Society For Dermatologic Surgery**, v. 31, p. 866-872. 2005.

IARC. Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans. **Some Drugs and Herbal Products**, v. 108, p. 91-116 (2016).

ISAAC, V. L. B.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO, H. R. N.; CORREA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas básica e aplicada**, v.29, n.1, p. 81-96, 2008.

ITANO, K., et al. Sugestão de protocolo para o tratamento de flacidez tissular decorrente de cirurgia bariátrica. **InterfacEHS – Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 10, n. 2, p. 116. 2015.

KIM, S.J.; LIM, M.H.; CHUN, I.K.; WON, Y.H. **Effects of flavonoids of *Ginkgo biloba* on proliferation of human skin fibroblast**. *Skin Pharmacol.*, v.10, n.4, p.200-205, 1997.

KOBUS-CISOWSKA, J., et al. Antioxidant properties of extracts from *Ginkgo biloba* leaves in meatballs. *Meat Science*, v. 97, n. 2, p. 174-180, 2014.

KOSE, K.; DOGAN, P.; ASCIOGLU, M. ASCIOGLU, O. *In vitro* antioxidant effect of *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) on lipoperoxidation induced by hydrogen peroxide in erythrocytes of Behcet's patients. **The Japanese Journal of Pharmacology**. v. 75, p.253-258, 1997.

LEONARDI, G. R., et al. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.77, n. 5, 2002.

MALTAS, E., et al. Evaluation of Phytochemicals and Antioxidant Activity of Ginkgo biloba from Turkey. **Pharmacologia**. ISSN 2044-4648, v. 3, n. 4, p. 113-120. 2012.

MARCUCCI, M. C., et al. "Composição Química e Atividade Antioxidante de Formulações Comerciais contendo Ginkgo biloba L." **Revista Fitos Eletrônica**. V. 5, n. 03, p. 64-72. 2010.

MERCURIO D.G. et al. In vivo photoprotective effects of cosmetic formulations containing UV filters, vitamins, *Ginkgo biloba* and red algae extracts. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 153, p. 121-126, 2015.

MILOŠEVIĆ. S. G., et al. Determination of extraction conditions of Ginkgo biloba L. leaves by supercritical CO₂ using response surface methodology. **Hem. Ind**, v. 65, n.2, p. 147-157. 2011.

MORAIS, I. P., et al. **A importância da estabilidade em produtos cosméticos**. Universidade Estadual de Goiás. Anápolis. 2011.

OLIVEIRA, A. C. D.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, 32(3), 689-702, 2009.

OLIVEIRA, L. M. B. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsão à base de extrato das cascas do fruto de jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Católica de Brasília, 2013.

PIANOVSKI, A. R., et al. Development and evaluated of O/W/O multiple emulsions stability containing pequi oil (*Caryocar brasiliense*). **Rev. Bras. Farm.**, v. 89, n. 2, 155-159, 2008.

PIETSCHMANN, A; KUKLINSKI, B; OTTERSTEIN, A. **Protection from uv-light-induced oxidative stress by nutritional radical scavengers**. *Z. Gesante Inn Med.*, v.47, n.11, p.518-522, 1992.

RABIN, R. C. New Doubts about Ginkgo biloba. Disponível em: <<http://goo.gl/TJs4hl>>. Acesso em: 20 de Dezembro, 2016.

RIBEIRO, P. A. M., et al. CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DE MATÉRIAS-PRIMAS VEGETAIS. **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**. ISSN 1808-0804, v. 2, n. 2, p. 176-179. 2005.

RODRIGUES, L. M. **Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água (o/a) a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Faculdade de Ceilândia. Brasília, DF 2013.

RUIVO, J. S. P. **Fitocosmética: aplicação de extratos vegetais em Cosmética e Dermatologia.** Dissertação (Mestrado). Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, 2012.

SHALAKA, D.; NAIK, S. R.; AMRUTA, A.; PARIMAL, K. Vitamin E loaded pectin alginate microspheres for cosmetic application. **Journal of Pharmacy Research**, 2(6), pp. 1098-1102, 2009.

SILVA, T. F. O.; MARCELINO, C. E.; GOMES, A. J. P. S. Utilizações e interações medicamentosas de produtos contendo o *Ginkgo biloba*. **Colloquium Vitae**, v. 2, n. 1, p. 54-61. Jan/jun 2010.

SOUZA, A. T. **Controle de qualidade e qualificação de fornecedores de matérias primas utilizadas em uma farmácia de manipulação.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho. Araraquara. 2014.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola. **Revista Ciência Farmaceutica Básica Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 69-77, 2013.

SZCZURKO, O., SHEAR, N., TADDIO, A., BOON, H. Ginkgo biloba for the treatment of vitilgo vulgaris: an open label pilot clinical trial. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2011.

TOLOTTI, M. F. **Protetores solares à base de filtros inorgânicos: desenvolvimento e caracterização.** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Centro Oeste. 2012.

TOMMASI F.; PACIOLLA C.; PINTO M.C.; GARA L. Effects of storage temperature viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. Seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, n.44, p. 359-368, 2006.

UEDA, S et al. Bacalin induces apoptosis via mitochondrial pathway as prooxidant. **Mol. Immunol.**, v. 38, p. 781-791, 2002.

USP. The United States Pharmacopeial Convention. **Revision Bulletin Official**, p. 1-3. 2011.

USP: United States Pharmacopeia. **United States Pharmacopeial Convention**, Rockville. 2013.

ZANON, A. B. **Aspectos teóricos e práticos sobre a avaliação da estabilidade de emulsões manipuladas em farmácia**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Tempo (0) Ensaio com extrato puro de *Ginkgo biloba L.*

1- (ES-1) Extrato Seco 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,377}{0,844} \times 100 = 55,33\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,240}{0,844} \times 100 = 71,56\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,170}{0,844} \times 100 = 79,85\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,364}{0,844} \times 100 = 56,87\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,625}{0,844} \times 100 = 25,94\%$$

2- (ES-2) Extrato Seco 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,102}{0,844} \times 100 = 87,91\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,245}{0,844} \times 100 = 70,97\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,440}{0,844} \times 100 = 47,86\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,571}{0,844} \times 100 = 32,34\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,696}{0,844} \times 100 = 17,53\%$$

3- (EG-1) Extrato Glicólico 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,826}{0,844} \times 100 = 2,13\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,828}{0,844} \times 100 = 1,89\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,830}{0,844} \times 100 = 1,65\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,835}{0,844} \times 100 = 1,06\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,839}{0,844} \times 100 = 0,59\%$$

4- (EG-2) Extrato Glicólico 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,538}{0,844} \times 100 = 36,25\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,619}{0,844} \times 100 = 26,65\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,651}{0,844} \times 100 = 22,86\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,679}{0,844} \times 100 = 19,54\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,844 - 0,683}{0,844} \times 100 = 19,07\%$$

APÊNDICE B - Tempo final (30) Ensaios com extrato puro de *Ginkgo biloba L.*

1- (ES-1) Extrato Seco 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,382}{0,980} \times 100 = 61,02\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,223}{0,980} \times 100 = 77,24\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,212}{0,980} \times 100 = 78,36\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,469}{0,980} \times 100 = 52,14\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,738}{0,980} \times 100 = 24,69\%$$

2- (ES-1MP) Extrato Seco matéria-prima 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,067}{0,980} \times 100 = 93,16\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,064}{0,980} \times 100 = 93,46\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,109}{0,980} \times 100 = 88,87\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,340}{0,980} \times 100 = 65,30\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,638}{0,980} \times 100 = 34,89\%$$

3- (ES-2) Extrato Seco 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,110}{0,980} \times 100 = 88,77\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,307}{0,980} \times 100 = 68,67\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,491}{0,980} \times 100 = 49,89\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,634}{0,980} \times 100 = 35,30\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,732}{0,980} \times 100 = 25,30\%$$

4- (ES-2MP) Extrato Seco matéria-prima 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,092}{0,980} \times 100 = 90,61\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,242}{0,980} \times 100 = 75,30\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,432}{0,980} \times 100 = 55,91\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,575}{0,980} \times 100 = 41,32\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,680}{0,980} \times 100 = 30,61\%$$

5- (EG-1) Extrato Glicólico 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,940}{0,980} \times 100 = 4,08\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,944}{0,980} \times 100 = 3,67\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,957}{0,980} \times 100 = 2,34\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,963}{0,980} \times 100 = 1,73\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,970}{0,980} \times 100 = 1,02\%$$

6- (EG-2) Extrato Glicólico 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,608}{0,980} \times 100 = 37,95\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,667}{0,980} \times 100 = 31,93\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,691}{0,980} \times 100 = 29,48\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,716}{0,980} \times 100 = 29,93\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,980 - 0,731}{0,980} \times 100 = 25,40\%$$

APÊNDICE C - Tempo (0) Formulações de cremes com extrato de *Ginkgo biloba L.*

1- (P) Formulação PLACEBO

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,495 - 0,491}{0,501} \times 100 = 0,8\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,495 - 0,474}{0,495} \times 100 = 4,2\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,495 - 0,477}{0,495} \times 100 = 3,6\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,495 - 0,469}{0,495} \times 100 = 5,2\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,495 - 0,481}{0,495} \times 100 = 2,8\%$$

2- (FES-1) Formulação com Extrato Seco 1

$$[1\text{mg/ mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,491 - 0,222}{0,491} \times 100 = 54,80\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,474 - 0,279}{0,474} \times 100 = 41,13\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,477 - 0,294}{0,477} \times 100 = 38,36\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,469 - 0,306}{0,469} \times 100 = 34,75\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,481 - 0,307}{0,481} \times 100 = 36,17\%$$

3- (FES-2) Formulação com Extrato Seco 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,491 - 0,301}{0,491} \times 100 = 38\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,474 - 0,302}{0,474} \times 100 = 33,54\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,477 - 0,320}{0,477} \times 100 = 31,86\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,469 - 0,328}{0,469} \times 100 = 29,21\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,481 - 0,328}{0,481} \times 100 = 26,81\%$$

4- (FEG-1) Formulação com Extrato Glicólico 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,491 - 0,479}{0,491} \times 100 = 2,4\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,474 - 0,473}{0,474} \times 100 = 0,2\%$$

$$[0,25\text{g/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,477 - 0,476}{0,477} \times 100 = 0,2\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,469 - 0,468}{0,469} \times 100 = 0,2\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,481 - 0,480}{0,481} \times 100 = 0,2\%$$

5- (FEG-2) Formulação com Extrato Glicólico 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,491 - 0,424}{0,491} \times 100 = 13,64\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,474 - 0,418}{0,474} \times 100 = 11,8\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,477 - 0,440}{0,477} \times 100 = 7,75\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,469 - 0,452}{0,469} \times 100 = 3,62\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,481 - 0,454}{0,481} \times 100 = 5,6\%$$

APÊNDICE D - Tempo final (30) formulações de cremes com extrato de *Ginkgo biloba L.*

1- (P) Formulação PLACEBO

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,446 - 0,423}{0,446} \times 100 = 5,0\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,446 - 0,425}{0,446} \times 100 = 4,7\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,446 - 0,427}{0,446} \times 100 = 4,2\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,446 - 0,428}{0,446} \times 100 = 4,0\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,446 - 0,454}{0,446} \times 100 = 1,3\%$$

2- (FES-1) Formulação com Extrato Seco 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,423 - 0,259}{0,423} \times 100 = 38,7\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,425 - 0,278}{0,425} \times 100 = 34,58\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,427 - 0,395}{0,427} \times 100 = 7,5\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,428 - 0,413}{0,428} \times 100 = 3,5\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,440 - 0,435}{0,440} \times 100 = 1,1\%$$

3- (FES-2) Formulação com Extrato Seco 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,423 - 0,330}{0,423} \times 100 = 22\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,425 - 0,383}{0,425} \times 100 = 10\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,427 - 0,389}{0,427} \times 100 = 8,9\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,428 - 0,392}{0,428} \times 100 = 8,4\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,440 - 0,402}{0,440} \times 100 = 8,6\%$$

4- (FEG-1) Formulação com Extrato Glicólico 1

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,423 - 0,415}{0,423} \times 100 = 1,8\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,425 - 0,418}{0,425} \times 100 = 1,6\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,427 - 0,420}{0,427} \times 100 = 1,6\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,428 - 0,420}{0,428} \times 100 = 1,8\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,440 - 0,423}{0,440} \times 100 = 3,8\%$$

5- (FEG-2) Formulação com Extrato Glicólico 2

$$[1\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,423 - 0,396}{0,423} \times 100 = 6,4\%$$

$$[0,5\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,425 - 0,406}{0,425} \times 100 = 4,4\%$$

$$[0,25\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,427 - 0,412}{0,427} \times 100 = 3,5\%$$

$$[0,125\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,428 - 0,422}{0,428} \times 100 = 1,4\%$$

$$[0,05\text{mg/mL}] \text{ Atividade Antioxidante (\%)} = \frac{0,440 - 0,434}{0,440} \times 100 = 1,3\%$$

APÊNDICE E – Tabelas apresentando os cálculos da análise estatística dos resultados do pH, viscosidade e espalhabilidade.

Tabela 5 - Valores (p) na análise da Viscosidade.

VISCOSIDADE					
Valores de (p)					
TEMPO	P	FES-1	FES-2	FEG-1	FEG-2
T₀ / T₃₀	0,02	7,00	0,34	0,11	0,0002

Fonte: Autoria própria

Tabela 6 - Valores (p) na análise da Espalhabilidade.

ESPALHABILIDADE					
Valores de (p)					
TEMPO	P	FES-1	FES-2	FEG-1	FEG-2
T₀ / T₃₀	0,38	0,21	0,03	0,17	0,06

Fonte: Autoria própria

Tabela 7 - Valores (p) na análise do pH.

pH					
Valores de (p)					
TEMPO	P	FES-1	FES-2	FEG-1	FEG-2
T₀ / T₃₀	0,04	0,18	0,18	0,18	0,18

Fonte: Autoria própria

APÊNDICE F – Tabelas apresentando os cálculos da análise estatística dos resultados da atividade antioxidante da matéria-prima e produto acabado.

Tabela 8 – Valores (p) na análise da Atividade antioxidante (%) da formulação completa testadas pela metodologia do radical livre estável DPPH.

FORMULAÇÕES	1mg/mL		0,5mg/mL		0,25mg/mL		0,125mg/mL		0,05mg/mL	
	<i>Valores de (p)</i>									
	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀
P	0,01		0,006		0,006		0,01		0,04	
FES-1	0,06		0,97		0,02		0,05		0,009	
FES-2	0,76		0,02		0,12		0,14		0,05	
FEG-1	0,03		0,01		0,01		0,06		0,005	
FEG-2	0,05		0,66		0,01		0,29		0,39	

Fonte: Autoria própria

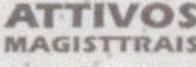
Tabela 9 - Valores (p) na análise da Atividade antioxidante (%) dos extratos puros de *Ginkgo biloba* testadas pela metodologia do radical livre estável DPPH.

EXTRATOS	1mg/mL		0,5mg/mL		0,25mg/mL		0,125mg/mL		0,05mg/mL	
	<i>Valores de (p)</i>									
	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀	T ₀	T ₃₀
ES-1	0,91		0,10		0,43		0,37		0,40	
ES-1MP	0,007		0,004		0,32		0,41		0,80	
ES-2	0,72		0,34		0,51		0,41		0,70	
ES-2MP	0,95		0,97		0,92		0,95		0,81	
EG-1	0,001		0,42		0,001		0,001		0,0009	
EG-2	0,48		0,52		0,67		0,67		0,52	

Fonte: Autoria própria

ANEXOS

ANEXO A – Certificado de Análise do fornecedor Attivos Magistrais®.



CERTIFICADO DE ANÁLISE MAGISTTRAL

Produto: Ginkgo Biloba Extrato Glicólico Sinonimia Científica: <i>Ginkgo biloba</i> Parte utilizada: Folhas Lote: AEG05114F1 Data Fab: 01/11/2011 DCB nº: N/D	N° de Análise: 2457/2011 Procedência: Brasil Lote Fabricante: 1444412 Data Val: 30/11/2013 CAS nº: N/D
--	--

Fórmula Molecular: N/D Peso Molecular: N/D

Testes	Método	Unidade	Min.	Máx.	Resultados
*Aspecto (características)	IHS	N/A	Líquido castanho claro a castanho, odor aromático		Líquido castanho claro, odor aromático
Identificação A) Polifenóis *B) Flavonoides *C) Saponinas	IHS	N/A	Positivo Positivo Positivo		Positivo Positivo Positivo
*pH	FB 5ªed	N/A	4,00	6,00	5,06
*Resíduo seco	FB 5ªed	%	-	5,00	1,42
*Densidade relativa	FB 5ªed	N/A	0,930	1,050	1,000
*Contagem total de bactérias	FB 5ªed	UFC/mL	-	500	<10
* <i>Escherichia coli</i>	FB 5ªed	N/A	Ausente		Ausente
* <i>Staphylococcus aureus</i>	FB 5ªed	N/A	Ausente		Ausente
* <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	FB 5ªed	N/A	Ausente		Ausente
* <i>Salmonella sp</i>	FB 5ªed	N/A	Ausente		Ausente
*Fungos/Leveduras	FB 5ªed	UFC/mL	-	100	<10

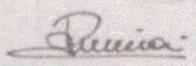
N/A = Não Aplicável IHS = In House Specification TPQL = Third Part Quality Laboratory

Armazenamento: Armazenar em recipiente fechado, ao abrigo da luz, calor e umidade. Por se tratar de produto natural, poderá ocorrer alteração da cor.

Conclusão: O material foi confirmado de acordo com procedimentos de análises atuais e os resultados estão dentro das especificações. O material está de acordo com a qualidade requerida.

(*) Os ensaios assinalados foram confirmados no Laboratório de Controle de Qualidade ATTIVOS MAGISTRAIS

Resultado: (X) Aprovado () Reprovado

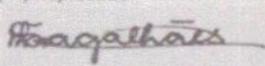


Luciene Rodrigues Silveira
Farmacêutica Responsável
CRF-GO 7625

CONFERIDO

EM: 27/03/2011

[Handwritten Signature]



Lenise Ferreira de Magalhães
Coordenadora do Controle de Qualidade
CRF-GO 8343

Anápolis, 27 de Dezembro de 2011.

Attivos Magistrais Indústria e Comércio Ltda email: falecom@attivosmagistrais.com.br
 R. Carlinhos José Ribeiro, 17 – Vila Jaiara - 75064350– Anápolis - GO Fone: 62 3943 2100– Fax: 62 3943 2100



ANEXO B- Certificado de Análise do fornecedor Galena®

1kg

Certificado de Análise
Nº Cvt: 0000460/201502-0000365/201502G02-010325701

15/04/16
NF 304161

GINKGO BILOBA - FLAVONOIDES - 1,000 KG

C.A.S. 90045-36-6 Página: 01

Data de Fabricação: 09/11/2014 Lote de Fabricação: CYX20141109
 Data de Validade: 08/11/2016 País de Origem: CHINA
 Lote Galena (CIQ): 1509037007 Ordem Fracionamento (OF): 00873501001

Dados do Requisitante
 Requisitante: Galena Química e Farmacêutica Ltda CNPJ: 57.442.774/0001-90 Fone: 0800 7714 270
 Endereço: Rua Pedro Stancato, 860 Cidade: Campinas/SP CEP: 13.082/050
 Classe Terapêutica: Vasodilatador

Informações Complementares: Nome Botânico: Ginkgo biloba L. (Ginkgoaceae). Distribuição Geográfica: nativa da China, mas cresce como árvore ornamental de sombra na Austrália, sudeste da Ásia, Europa, Japão e Estados Unidos (1-3, 6). É comercialmente cultivada na França e Estados Unidos. Parte de interesse: extrato seco da folha integral de Ginkgo biloba L.

Armazenamento: ARMAZ TEMP.AMB.CONTROLADA, FECHADO, PROTEGIDO DA LUZ E UMIDADE

Análises/Componentes	Especificações	Resultados das Análises
LABORATORIO FISICO-QUIMICO		
- DESCRIÇÃO (2)	Po amarelo-marrom	Po amarelo-marrom
- PERDA POR DESSECACAO (2)	Não mais que 5,0 %	2,7 %
- IDENTIFICACAO POR TLC (2)	Positivo	Positivo
LABORATORIO MICROBIOLOGICO		
- CONTAGEM AEROBICOS TOTAIS (2)	Não mais que 100000 UFC/g	Menor que 10 UFC/g
- SOLORES E LEVEDURAS (2)	Não mais que 10000 UFC/g	60 UFC/g
- E. COLI (2)	Ausente	Ausente
- SALMONELLA SP (2)	Ausente	Ausente
LABORATORIO FISICO-QUIMICO		
- BILOBALEIDOS (2)	2,8 % a 3,2 %	2,8 %
- GINGGOLIDEOS A, B E C (2)	2,8 % a 3,4 %	2,8 %
- GLICOSIDEOS FLAVONOIDES (2)	22,0 % a 27,0 %	25,5 %
- ACIDO GINGGOLICO (2)	Não mais que 5,0 ppm	Não mais que 5,0 ppm
- DENSIDADE APARENTE (7)	Informativo	0,542 g/mL

Observações
 - Os resultados presentes neste Certificado de Análise tem seus valores restritos a este lote.
 - As análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.

Referências: (2)FARMACOPEIA BRITANICA 2010; (7)CONFORME METODOLOGIA INTERNA GALENA

Resultado: (X) Aprovado Data Início: 13/10/2015 Data Término: 13/10/2015


Lúcia Eli Scareff
 Farmacêutica Responsável
 CRF-SP: 16.148


Renata Timm
 Gerente da Qualidade
 CRF-SP: 38.000

UFCEG/BIOLÓGICA

ANEXO C- Certificado de Análise do fornecedor Mapric®


CERTIFICADO DE ANÁLISE
EXT. GLIC. GINKGO BILOBA 1 LT

OP: 018909
 Fabricação: 08/05/15
 Origem: Brasil
 Nomenclatura INCI: Ginkgo Biloba Leaf Extract
 Parte Utilizada: Folha
 Planta utilizada: Ginkgo biloba L.

Lote: PRODD18909
 Validade: 08/05/18
 Procedência: Brasil
 No CAS: 90045-36-6

Parâmetros	Especificado	Resultados
Densidade (g/cm ³)	Entre 1,000 e 1,100	1,020
Índice de Refração (20°C)	Entre 1,360 e 1,420	1,3863
pH (sol a 10%)	Entre 3,90 e 5,50	4,81
Aparência	Líquido	De acordo
Bolores e Leveduras	Max 100 UFC/g	< 10
Coliformes Fecais	Ausente	De acordo
Coliformes Totais	Ausente	< 10
Contagem total	Max. 100 UFC / g	< 10
Cor	Castanho a Âmbar	De acordo
Odor	Característico	De acordo
Solubilidade	Solúvel em propilenoglicol, glicerina e sorbitol. Pode sofrer turvação em água e etanol.	Ocorreu turvação em etanol

Monografia: METODOLOGIA INTERNA

Armazenamento: Acondicionar em recipiente hermético, ao abrigo de calor e de luz solar direta. Com o tempo pode sofrer turvação e/ou precipitação.

OBS: ** Poderá haver alteração de cor por modificação dos componentes coloridos da planta ou de acordo com o lote/safa utilizada.

USO: Externo.

OBS: As assinaturas somente serão válidas quando estiverem acompanhadas da nota fiscal.

Dr. Luiz Gustavo Martins Matheus
 Farmacêutico Bioquímico
 CRF - SP 14.851

Ana Carolina Massarani Ramos
 Farmacêutica
 CRF - SP 35 022

16/06/15

Departamento técnico

Data de emissão

Av. Dr. Gentil de Moura, 194 CEP - 04278 080 Ipiranga São Paulo SP Tel/Fax 55(11) 5061.5282
 mapric@mapric.com.br www.mapric.com.br

Envia
 Erico Namassa Otonari
 Farmacêutico
 CRF: 5148

UFCEG/BIBLIOTECA

ANEXO D – Certificado de Análise do fornecedor FARMOS®



CERTIFICADO DE ANÁLISE

PRODUTO: GINGKO BILOBA PÓ**ORIGEM: CHINA****LOTE: 023****FABRICAÇÃO: SETEMBRO/ 2011****VALIDADE: SETEMBRO/ 2018****LOTE INTERNO: 0299/2013**

Item	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
Perfil visualizado	Folhas	De acordo
Aspecto macroscópico	As folhas apresentam formato de leque e bordas onduladas, cor verde acinzentada na parte inferior e verde vivo na parte superior.	De acordo
Características físicas	A folha de ginkgo apresenta epidérmia constituída de células glandulares. Parênquimas lacunosa contendo grandes cristais esféricos de Oxalato de Cálcio.	De acordo
Cor	Verde	De acordo
Odor	Leve, lembra tabaco	De acordo
Sabor	Fracamente amargo	De acordo
Coloração	Característica	De acordo
Reação	Reação para flavonóides: Positiva	De acordo
Índice perdido	0,0 ppm	De acordo
Flavonóides totais	Flavonóides totais	0,50%
Comprimidos	Ausente	De acordo
Umidade		5,00
Índice de cinzas		5,74%
Índice de cinzas insolúveis		12,66%
Índice de cinzas totais		2,98%
D. 423	Ausente	0,423 g/ml
D. 423 e 424	Ausente	De acordo
D. 425	Ausente	De acordo
D. 426	Ausente	De acordo
D. 427	Ausente	De acordo
D. 428	Ausente	De acordo
D. 429	Ausente	De acordo
D. 430	Ausente	De acordo
D. 431	Ausente	De acordo
D. 432	Ausente	De acordo
D. 433	Ausente	De acordo
D. 434	Ausente	De acordo
D. 435	Ausente	De acordo
D. 436	Ausente	De acordo
D. 437	Ausente	De acordo
D. 438	Ausente	De acordo
D. 439	Ausente	De acordo
D. 440	Ausente	De acordo
D. 441	Ausente	De acordo
D. 442	Ausente	De acordo
D. 443	Ausente	De acordo
D. 444	Ausente	De acordo
D. 445	Ausente	De acordo
D. 446	Ausente	De acordo
D. 447	Ausente	De acordo
D. 448	Ausente	De acordo
D. 449	Ausente	De acordo
D. 450	Ausente	De acordo
D. 451	Ausente	De acordo
D. 452	Ausente	De acordo
D. 453	Ausente	De acordo
D. 454	Ausente	De acordo
D. 455	Ausente	De acordo
D. 456	Ausente	De acordo
D. 457	Ausente	De acordo
D. 458	Ausente	De acordo
D. 459	Ausente	De acordo
D. 460	Ausente	De acordo
D. 461	Ausente	De acordo
D. 462	Ausente	De acordo
D. 463	Ausente	De acordo
D. 464	Ausente	De acordo
D. 465	Ausente	De acordo
D. 466	Ausente	De acordo
D. 467	Ausente	De acordo
D. 468	Ausente	De acordo
D. 469	Ausente	De acordo
D. 470	Ausente	De acordo
D. 471	Ausente	De acordo
D. 472	Ausente	De acordo
D. 473	Ausente	De acordo
D. 474	Ausente	De acordo
D. 475	Ausente	De acordo
D. 476	Ausente	De acordo
D. 477	Ausente	De acordo
D. 478	Ausente	De acordo
D. 479	Ausente	De acordo
D. 480	Ausente	De acordo
D. 481	Ausente	De acordo
D. 482	Ausente	De acordo
D. 483	Ausente	De acordo
D. 484	Ausente	De acordo
D. 485	Ausente	De acordo
D. 486	Ausente	De acordo
D. 487	Ausente	De acordo
D. 488	Ausente	De acordo
D. 489	Ausente	De acordo
D. 490	Ausente	De acordo
D. 491	Ausente	De acordo
D. 492	Ausente	De acordo
D. 493	Ausente	De acordo
D. 494	Ausente	De acordo
D. 495	Ausente	De acordo
D. 496	Ausente	De acordo
D. 497	Ausente	De acordo
D. 498	Ausente	De acordo
D. 499	Ausente	De acordo
D. 500	Ausente	De acordo

Análise realizada de acordo com o laudo do fabricante

COMÉRCIO E INDÚSTRIA FARMOS LTDA**TRADIÇÃO E QUALIDADE DESDE 1946**

Rua Siqueira Cavalcanti n. 52 – Engenho Novo – Rio de Janeiro/RJ – Cep 20950-110

Tel: (21) 2501-8852 / 2261-1760 Fax: (21) 2261-2605 / 2261-5935

E-mail: vendas@farmosquimicaflna.com.br

www.farmosquimicaflna.com.br