

USO DO *Ginkgo biloba* NA DOENÇA DE ALZHEIMER

USE OF *Ginkgo biloba* IN ALZHEIMER'S DISEASE

GIULIANA ZARDETO-SABEC^{1*}, LETÍCIA MATHEUS LOPES², THÁIS CAMPOS CELINI², FRANCIELE DA SILVA QUEMEL³, RENAN ALMEIDA DE JESUS³, ORLANDO SEIKO TAKEMURA⁴

1. Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR; 2. Acadêmicas do Curso de Farmácia da Universidade Paranaense - UNIPAR; 3. Mestrandos no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense - UNIPAR; 4. Docente do Curso de Farmácia da Universidade Paranaense - UNIPAR

* Rua Fernando de Noronha, 78. Residencial Ipanema. Cianorte/PR. 87204-036. giulianazardeto@unipar.br

Recebido em 14/05/2018. Aceito para publicação em 07/06/2018

RESUMO

O *Ginkgo biloba* está atualmente entre as 10 plantas mais usadas no mundo, e que para a sua utilização é utilizado na forma de extrato denominado EGb761. Seu uso no Brasil é aprovado pela ANVISA em casos de distúrbios e sintomas decorrentes da deficiência do fluxo sanguíneo cerebral, como problemas de memória, função cognitiva, tonturas, dor de cabeça, vertigem, zumbidos, devido a ação de flavonoides e terpenos. No presente trabalho foi realizado um levantamento bibliográfico sobre o uso do *G. biloba* na Doença de Alzheimer. Foi possível verificar que o extrato EGb₇₆₁ e seus componentes mostraram-se eficazes na maioria dos estudos pré-clínicos demonstrando assim, sua capacidade em diminuir a densidade de radicais livres de oxigênio nos tecidos nervosos; seu efeito neuroprotetor, reduzir as respostas inflamatórias, bem como a redução do processo de apoptose. Nos estudos clínicos, em sua maioria os resultados foram positivos em relação ao *G. biloba*, melhorando a pontuação nos testes realizados pelos voluntários. Entretanto, algumas pesquisas revelaram que o extrato não apresentou nenhuma melhora significativa em relação ao grupo controle.

PALAVRAS-CHAVE: *Ginkgo biloba*, flavonoides, terpenóides, Alzheimer, deficiência cognitiva.

ABSTRACT

Ginkgo biloba is currently included at the group of ten most used herbs in the world, and for their use is used in the form of extract called EGb761. Its use in Brazil is approved by ANVISA in cases of disorders and symptoms resulting from deficiency of cerebral blood flow, such as memory problems, cognitive function, dizziness, headache, vertigo, tinnitus, by the action of flavonoids and terpenes components. In the present work was carried out a literature review on the use of *G. biloba* in Alzheimer's disease. It was possible to verify that the EGb₇₆₁ extract and its components were effective in most of preclinical studies thus demonstrating its ability to decrease the density of oxygen free radicals in nerve tissue; its neuroprotective effect, reducing the inflammatory responses, and reducing apoptosis. According to clinical studies evaluated in this study, most of the them showed positive results of *G. biloba*, improving test scores of volunteers. However, some studies had shown that the extract did not show

any significant improvement compared at the control group.

KEYWORDS: *Ginkgo biloba*, flavonoids, terpenoids, Alzheimer's disease, cognitive impairment.

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia tem sido grandemente utilizada como recurso terapêutico nos dias atuais. Um grande número de plantas é utilizado, entre elas, o *Ginkgo biloba*, uma planta medicinal nativa da China, amplamente utilizada no tratamento da asma, disfunções cardíacas e bronquites¹. Na Europa, é uma planta registrada para o tratamento de declínios cognitivos, como memória e problemas de concentração².

O *G. biloba* vem sendo utilizado como produto fitoterápico com base no extrato padronizado (EGB₇₆₁) no tratamento em pacientes com Doença de Alzheimer (DA). O predomínio da utilização do extrato de ginkgo é no tratamento de disfunções cerebrais. Existe a indicação para diminuição cognitiva associado com a idade, e para prejuízos cognitivos no progresso de doenças como Alzheimer¹⁻³. Diversos estudos e revisões mostraram que a deterioração cognitiva em pacientes com demência, pode ser contida ou diminuída pelo *G. biloba*⁴, além disso, possui efeitos benéficos no tratamento de tonturas, doença vascular periférica, zumbidos, depressão e insuficiência cerebral⁵. Estudos publicados utilizando análises neuropsicológicas com controle por placebo tem demonstrado que seu uso crônico, além da memória, melhora também algumas funções de execução e a atenção seletiva⁶. Contudo, a sua base molecular detalhada, ainda não é completamente compreendida⁷.

Dos vários estudos com o ginkgo, nem todos os estudos obtiveram resultados que justifiquem o uso do extrato em distúrbios neurológicos, visto que muitas vezes, não se constatou diferença alguma com a utilização do *G. biloba* comparando com grupos controle.

Diante disso, o presente trabalho teve como propósito realizar uma revisão em bases de dados científicos afim de levantar estudos que mostrem os resultados obtidos

quanto a eficácia do extrato de *G. biloba* em distúrbios neurológicos, como a Doença de Alzheimer.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foi feita uma revisão bibliográfica narrativa e exploratória, com uma pesquisa qualitativa sobre o a eficácia do extrato de *G. biloba* em distúrbios neurológicos, como a Doença de Alzheimer. Para tal, realizou-se a consulta eletrônica, utilizando-se as bases de dados da SCIELO (*Scientific Electronic Library Online*), Google acadêmico e PubMed (National Center for Biotechnology Information – NCBI, U.S. National Library of Medicine). Para a busca dos artigos foram utilizadas as seguintes combinações de palavras e descritores dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): *Ginkgo biloba*, flavonoides, terpenoides, Alzheimer, deficiência cognitiva. Como se trata de uma revisão, não foi feita uma avaliação da qualidade científica dos artigos encontrados.

3. DESENVOLVIMENTO

Extrato de *Ginkgo biloba*

O extrato de *G. biloba* é obtido a partir das folhas secas de árvores cultivadas ou nativas colhidas no início do mês de maio, que é o período onde se encontra o maior conteúdo de glicosídeos flavônicos⁸. Com intuito de obter um produto estável, com baixo risco toxicológico e eliminar componentes indesejados, o extrato padrão deve ser obtido a partir de uma mistura de água e acetona. Posteriormente, a acetona é retirada por evaporação, e então, purificados sem adicionar substâncias concentradas ou isoladas^{9,10}.

O EGB₇₆₁, como é denominado o extrato seco padronizado de ginkgo, é composto por 24% de flavonoides glicosídeos, entre eles estão a quercetina, canferol e isoramnetina. Possuem também, 6% de terpenoides, no qual consistem em cerca de 2,8-3,4% de ginkgolídeos A, B e C, e aproximadamente 2,6-3,2% de bilobalídeos¹¹.

As classes químicas das substâncias presentes no ginkgo e seus representantes são mostrados na Tabela 1¹⁰, e suas respectivas estruturas moleculares na Figura 1¹¹.

Tabela 1. Classes químicas e componentes representantes presentes no extrato de *Ginkgo biloba* L.

Classe química	Componentes
Flavonol monoglicosídeo	Canferol-3-O-glicosídeo, Quercetina-3-O-glicosídeo, Isoamnetina-3-O-glicosídeo, Canferol-7-O-glicosídeo, Quercetina-3-O-amnosídeo, 3'-O-Metilmirecetina-3-O-glicosídeo.

Flavonol diglicosídeo	Canferol-3-O-rutinosídeo, Quercetina-3-O-rutinosídeo, Isoamnetina-3-O-rutinosídeo, 3'-O-Metilmirecetina-3-O-rutinosídeo, Siringetina-3-O-rutinosídeo
Flavonol triglicosídeo	Canferol-3-O-[α -ramnosil-(1-2)- α -ramnosil-(1-6)-] β -glicosídeo, Quercetina-3-O-[α -ramnosil-(1-2)- α -ramnosil-(1-6)-] β -glicosídeo, Canferol-3-O-a-(6''''-p-coumaroiglicosil)- β -1,2-amnosídeo, Quercetina-3-O-a-(6''''-p-coumaroiglicosil)- β -1,2-ramnosídeo.
Flavonol aglicona	Canferol, Quercetina, Isoamnetina
Bioflavonóide	Amentoflavona, Bilobetina, 5'-metoxibilometina, Ginkgetina, Isoginkgetina, Sciadopitina.
Terpenos	Bilobalídeo, Ginkgolídeo A, Ginkgolídeo B, Ginkgolídeo C, Ginkgolídeo J.
Ácidos orgânicos	Acetato, Ácido shiquímico, 3-Metoxi-4-ácido hidroxibenzoico, 4-Ácido hidroxibenzoico, 3,4-Diidroxibenzoico, 6-Ácido hidroxiquinurênico, Ácido quinurênico, Ácido ascórbico.
Outros compostos	Prodelfinidinas/procianidinas

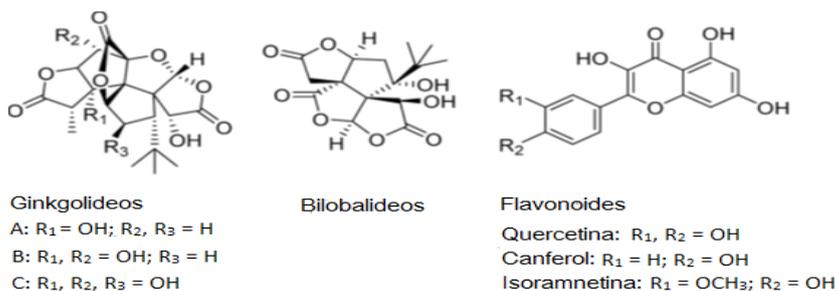


Figura 1. Estruturas químicas dos componentes do EGB₇₆₁. Fonte: Bano *et al.*, (2005)¹⁰; Nash e Shah, (2015)¹¹.

A ANVISA publicou em 2008 a RDC N° 95, na qual regulamenta a formulação de bulas de medicamentos fitoterápicos, e as informações sobre o *G. biloba* presentes nessa resolução, estão apresentados na Tabela 2.

Doença de Alzheimer

A doença foi diagnosticada inicialmente em 1907 pelo alemão Alois Alzheimer, enquanto realizava autópsia no cérebro de uma idosa de 51 anos. Ele percebeu a presença de várias desordens que estavam relacionadas à morte dos neurônios dessa mulher, e descreveu então a DA¹².

A DA é progressiva e irreversível, que desencadeia a perda da memória e alguns outros distúrbios cognitivos como problemas de coordenação, dificuldade ao falar e escrever; mudanças no comportamento como agressividade, nervosismo, depressão; dificuldade ao entender; confusão em relação à lugares; e também dificuldade de planejamento e de identificação de imagens, afetando assim o convívio pessoal e social do paciente. Ele torna-se incapaz de realizar tarefas diárias simples, necessitando

de um cuidador¹².

Tabela 2. Regulamentação da ANVISA para a formulação de bulas de *G. biloba*.

Nomenclatura Botânica Oficial	<i>Ginkgo Biloba</i> L.
Nomenclatura Popular	Ginco, Ginkgo
Família	Ginkgoaceae
Parte utilizada	Folhas
Via de Administração	Oral
Indicações	Desordens e sintomas decorrentes da deficiência do fluxo sanguíneo cerebral (problemas de memória, função cognitiva, tonturas, dor de cabeça, vertigem, zumbidos, estágios iniciais de demências como Alzheimer, distúrbios circulatórios periféricos e problemas na retina.
Padronização	Gingko flavonoides (22 a 27%), determinados como quercetina, kaempferol e Isorhammetina; e terpenolactonas (5 a 7%) determinadas como ginkgolídeos A,B,C,J e bilobalídeos.
Dose Diária	Entre 26,4 e 64,8 mg de ginkgo flavonoides e entre 6 e 16,8 mg de terpenolactonas.
Contra Indicação	Pacientes com coagulopatia ou em uso de anticoagulantes e antiplaquetários devem ser monitorados. Pacientes com alergia à componentes da fórmula não devem fazer uso do produto.

A DA pode ter um acometimento tardio, por volta dos 60 anos, onde ocorre esporadicamente, ou acometimento precoce, por volta dos 40 anos, onde se observa recorrência familiar¹³. Essa é a forma de demência mais comum, e ocorre em cerca de 75% de todas elas¹².

As características mais comuns da DA são: a clivagem de placas senis, ou neurolíticas (teoria da cascata amiloide); e o depósito de emaranhados neurofibrilares (teoria colinérgica). Desde o início da doença, essas alterações são desencadeadas em estruturas essenciais para mecanismos da memória, como o lobo temporal medial, neocórtex de associação, onde compromete outros mecanismos cognitivos¹⁴.

Segundo a teoria da cascata amiloide, ocorre uma diminuição da proteína precursora amiloide (APP) que fica posicionado no cromossomo 21. As enzimas α , β e γ secretases clivam essa proteína, causando assim o acúmulo da substância B-amiloide¹⁵. Quando essa substância é encontrada de forma exacerbada, ocorre a formação de fibras amiloidais insolúveis, se tornando tóxicas aos neurônios, formando assim as placas senis¹⁶. Ao que tudo indica os processos responsáveis por essa neurotoxicidade estão implicados na quebra da homeostase intracelular do cálcio e potássio, ativação do processo de morte celular induzida pelo estresse oxidativo, e podem ocorrer do mesmo modo, transtornos da transmissão colinérgica e acetiltransferases em indivíduos afetados¹⁷.

A teoria colinérgica está relacionada com a Proteína

Tau, codificada por um gene no cromossomo 17, que se fixa aos microtúbulos intracelulares, para o transporte de moléculas e organelas nas células¹⁸. Em decorrência do desequilíbrio entre a ação de cinases (GSK-3, CDK5) e de fosfatases (PP-1, PP-2^a), a proteína torna-se insolúvel e com esse processo se dá a hiperfosforilação¹⁹. Em consequência da hiperfosforilação, a proteína *tau* se desliga dos microtúbulos formando filamentos helicoidais pareados insolúveis, que se agrupam formando os emaranhados neurofibrilares. Os novelos formados causam danos na comunicação neuronal e em seguida, morte das células¹⁴.

Ao que tudo indica, o estresse oxidativo e a inflamação estão envolvidos no processo de envelhecimento e também de doenças neurodegenerativas. O sistema nervoso é mais susceptível ao estresse oxidativo em relação aos outros sistemas, e o cérebro é relativamente pobre em antioxidantes, e suas membranas são mais vulneráveis ao ataque de radicais livres. A parte superior do cérebro requer grande quantidade de energia, consequentemente o consumo de oxigênio nessa região é maior, aumentando também a produção de oxigênio reativo, um radical livre que favorece a morte neuronal¹⁶.

A toxicidade glutamatérgica também ocorre na DA. O glutamato é um importante neurotransmissor do SNC, que exerce função sobre a memória, aprendizado e o desenvolvimento e envelhecimento cerebral. Quando alterado, suas concentrações nas sinapses aumentam, e seus receptores ficam mais sensíveis, aumentando assim os níveis de cálcio nos neurônios. Esse fluxo exacerbado da origem à metabólitos reativos de oxigênio, alterando e fragmentando o DNA, consequentemente favorecendo a morte neuronal e dificultando a transmissão de sinais nervosos¹⁸.

Outro mediador associado à DA é o fator de necrose tumoral (TNF- α), que é uma proteína produzida por células do sistema imunológico, como macrófagos, monócitos e linfócitos, que possui função mediadora e moduladora da resposta inflamatória. Em associação com receptores celulares (TNF tipo 1 e TNF tipo 2), o TNF- α ativa cascatas intracelulares responsáveis pela regulação de respostas inflamatórias, apoptose e diferenciação²⁰. Foram descritos efeitos neuroprotetores dessa citocina em processos patológicos, contudo, alguns estudos apontam que ele está envolvido na neurotoxicidade induzida por glutamato²¹. Na DA há evidências indicando aumento do TNF tipo 1 no cérebro, e TNF- α no plasma e cérebro de pacientes¹⁷.

Na DA, ocorrem alterações em diversos pontos das vias colinérgicas. Em decorrência da perda precoce de colina-acetil-transferase (ChAT), a capacidade de síntese de acetilcolina é reduzida, e esta redução juntamente com a diminuição de receptores nicotínicos, prejudicam a atividade colinérgica²². Na busca de aumentar a biodisponibilidade de acetilcolina, os inibidores de colinesterases são utilizados atualmente como principais fármacos no

tratamento da DA. Entretanto, são relatados diversos efeitos colaterais, como náuseas, vômito, anorexia e perda de peso²³.

Estudos pré-clínicos com extrato de *G. biloba*

Estudos com animais e na modalidade *in vitro* têm sido realizados a fim de avaliar os mecanismos de ação do EGb₇₆₁ (Tabela 3)².

Um estudo realizado por Hyppolito *et al.*, (2003)²⁴, avaliou a capacidade da ação antioxidante do EGb₇₆₁. A ciplastina é um medicamento antineoplásico, e seu uso pode gerar efeito colateral, a ototoxicidade, que causa perda auditiva irreversível, bilateral para altas frequências. O processo de ototoxicidade está relacionada a alterações no sistema antioxidante, onde é gerado radicais livres que prejudicam as células ciliadas externas. Para o estudo, cobaias albinas foram divididas em 4 grupos: O primeiro com 4 animais recebendo ciplastina 8,0 mg/Kg/dia de por 8 dias; em outro, 6 animais com administração de *G. biloba* 100 mg/Kg via oral e 90 minutos após, ciplastina 8,0 mg/Kg/dia por 8 dias; um terceiro grupo onde 6 animais recebiam a dose de *G. biloba* 100 mg/Kg via oral por 10 dias e após *G. biloba* 100 mg/Kg via oral e 90 minutos após, ciplastina 8,0 mg/Kg/dia por 8 dias; e o último no qual foi administrado para 3 animais, o *G. biloba* 100 mg/Kg via oral por 8 dias. Foram observadas as emissões otoacústicas por produtos de distorção antes e após o tratamento. Ao final, observou-se que todos os grupos onde houveram administração do extrato, as células ciliadas externas estavam presentes. Concluiu-se que o extrato seco de *G. biloba* teve um efeito otoprotetor, devido seu mecanismo antioxidante, que não permite a formação de radicais livres, ou favorece a sua eliminação.

Respostas inflamatórias estão envolvidas no processo de envelhecimento e neurodegeneração. O ginkgolideo A (GA) possui propriedade antagonista do Fator de Antiagregação plaquetária (PAF), no qual está envolvido em inflamações. A STAT3 é uma via de sinalização de PAF, que ativa a transcrição de várias proteínas em resposta a citocinas. Estudos utilizaram células endoteliais da veia umbilical humana, que foram estimuladas por glucose para desencadear a resposta inflamatória pela via STAT3. Foi concluído ao final do estudo que a partir de 4,08 mg de GA, a resposta inflamatória foi significativamente reduzida²⁵.

Quando um processo inflamatório é desencadeado, células como macrófagos, monócitos, linfócitos, mastócitos, entre outras envolvidas nesse processo, estimulam a secreção do Fator de Necrose Tumoral (TNF α), que, entre outras funções, é responsável pelo processo de apoptose (morte celular programada), necessária para o bom funcionamento do organismo²⁶. Porém, a ampla liberação de TNF α pode gerar uma desordem neurodegenerativa pela ocorrência de apoptose elevada de neurônios²⁶. Guo *et al.*,

(2015)²⁷, produziram um estudo para avaliar a atividade de neuroproteção dos ginkgolídeos e dos flavonoides nas células TNF α em neurônios hipocâmpais de ratos e mecanismos *in vitro*. Foram adicionados 40ng/ml de TNF- α nos ratos para que acontecesse a apoptose, e em seguida dividiu-se três grupos: um grupo com os ratos que foram tratados com ginkgolídeos (0,02mg/ml), outro grupo com ratos tratados com flavonoides (0,012mg/ml), e um grupo modelo, sem a administração de TNF- α , para que ao final pudesse ser comparada aos ratos tratados. A apoptose dos neurônios foram significativamente reduzidas, tanto no grupo tratado com ginkgolídeos, como no grupo tratado com flavonoides quando comparados ao grupo modelo.

Xuan *et al.*, (2014)²⁸, estudou a eficiência do ginkgolideo B (GB) no tratamento de morte de células cerebrais causadas pela catepsinas B e L. Estas, entre outros mecanismos, são fundamentais para a morte neuronal, seguido pela isquemia. Foram utilizados ratos, onde, cirurgicamente, introduziu-se a partir da artéria carótida, uma sutura para que houvesse um bloqueio no fluxo sanguíneo cerebral. Depois de 80% do fluxo ser recuperado, GB diluído em NaOH 1M juntamente com uma solução de salina, e ajustado para um pH de 7,0-8,0, foram administrados nas dosagens de 10 mg, 20mg ou 40 mg por via intravenosa. A análise realizada indicou que o GB alterou negativamente a atividade e expressão das catepsinas B e L, além de que, houve uma redução da morte celular induzida por necrose e apoptose, dados que sugerem que o GB tem a capacidade de impedir a morte celular mediada por catepsina.

Em relação aos bilobalídeos (BB), compõem cerca de 2% do EGb₇₆₁, sua estrutura é similar aos ginkgolídeos¹¹. Lang *et al.*, (2011)²⁹, Estudos analisaram o efeito neuroprotetor do BB através de uma redução na liberação de glutamato induzido por isquemia. A medida que células cerebrais liberam quantidade exacerbada de glutamato, ocorre a isquemia que, por sua vez, provoca neurodegeneração por excitotoxicidade. Ratos tiveram isquemia induzida e foram divididos em grupos com um total de 9 ratos cada um, que foram testados através da análise química do microdálise de analitos, testes comportamentais e ensaios enzimáticos. O grupo em que foi administrado 10mg/kg de BB, teve a área de infarto significativamente reduzida. Outro grupo onde a administração foi de 3mg/kg, a droga também foi significativamente ativa, e moderadamente ativa no grupo onde a dose foi de 1mg/kg. Já o grupo que recebeu 0,3mg/kg, a droga foi ineficaz. Concluiu-se que o BB tem a capacidade de inibir a liberação de glutamato, promovendo sua função na neuroproteção.

Jiang *et al.*, (2014)³⁰, realizaram um estudo sobre a neuroproteção do BB em caso de isquemia cerebral. Ratos machos sofreram um processo de oclusão da artéria cerebral média (MCAO) por 2 horas, e em seguida, reperfusão

por 24 horas. Os animais foram divididos em grupos, no qual um recebeu 2,5 mg/kg de BB, outro com administração de 5 mg/kg, e outro onde a dose foi de 10 mg/kg. Um grupo de controle foi estabelecido, no qual recebiam 4mg/kg de Nimodipina, um medicamento utilizado para neuroproteção. Posteriormente, foi realizada a avaliação do volume de infarto, o edema cerebral e a classificação de déficit neurológico. Os grupos que receberam 5 e 10mg/kg obtiveram resultados significativos na redução da pontuação neurológica, bem como no grupo controle, demonstrando que o BB teve uma boa função neuroprotetora. Já o grupo que a administração foi de 2,5mg/kg não houve diferença estatística.

Tabela 3. Estudos pré-clínicos realizados com extrato de *G. biloba*.

Estudo	Modelo	Dosagem	Finalidade do Estudo	Resultado
Fawcett <i>et al.</i> , 2002	Membranas humanas	Quercetina 3,02 mg	Avaliar a capacidade da quercetina em impedir inativação de receptores mAChR	A partir de 3,02 mg a quercetina foi capaz de impedir a inativação do receptor
Hyppolito <i>et al.</i> , 2003	Cobaías albinas	EGB ₇₆₁ 100mg/kg durante 8 e 10 dias	Capacidade de ação antioxidante do Egb ₇₆₁ por ototoxicidade induzida pela ciplastina	Foi observado que o extrato foi capaz de reduzir a ototoxicidade devido sua função antioxidante
Yoshitake <i>et al.</i> , 2010	Ratos	EGB ₇₆₁ 100mg/kg dose única; EGB ₇₆₁ 100mg/kg diariamente por 14 dias	Melhora da função cognitiva através do tratamento com EGB ₇₆₁ , pelo aumento de noradrenalina, dopamina e serotonina	Os níveis de dopamina e noradrenalina foram consideravelmente aumentados com o uso crônico do extrato
Lang <i>et al.</i> , 2011	Ratos	Bilobalideo nas dosagens 0,3; 1; 3 e 10mg/kg	Efeito de neuroproteção BB através da redução do glutamato para induzir isquemia	Isquemia foi reduzida nas dosagens 1, 3 e 10 mg/kg
Jiang <i>et al.</i> , 2014	Ratos	Bilobalideo nas dosagens de 2,5; 5 e 10mg/kg	Capacidade de neuroproteção do bilobalideo no tratamento isquemia cerebral	A isquemia teve redução considerável com administração de 10 e 5 mg/kg
Xuan <i>et al.</i> , 2014	Ratos	Ginkgolideo B nas dosagens de 10, 20 e 40mg/kg	Capacidade do ginkgolideo B no tratamento da morte de células cerebrais através do bloqueio de catepsinas B e L	Todas as dosagens foram capazes de bloquear a ação das catepsinas, reduzindo a morte celular
Zhao Q <i>et al.</i> , 2015	Células endoteliais	Dosagens variadas de Ginkgolideo A	Capacidade do Ginkgolideo A reduzir respostas inflamatórias	A partir de 4,08mg do GA a resposta inflamatória foi significativamente reduzida
Guo <i>et al.</i> , 2015	Ratos	Ginkgolideos 0,02mg/ml; Flavonoides 0,012mg/ml	Capacidade de neuroproteção de ginkgolideos e flavonoides, na redução da apoptose induzida por TNF α	Ambos os grupos reduziram significativamente apoptose

Um estudo realizado por Fawcett *et al.*, (2002)³¹, utilizou membranas humanas ricas em receptor de acetilcolina muscarínicos (mAChR), para avaliar a função antioxidante de algumas substâncias, e sua capacidade de impedir que inibidores endógenos bloqueiem o mAChR. O bloqueio desse receptor está envolvido no progresso da doença de Alzheimer. Dentre as substâncias naturais avaliadas, a quercetina, presente no EGB₇₆₁, impediu a inativação de receptores de acetilcolina muscarínicos.

Yoshitake *et al.*, (2010)³², realizaram uma pesquisa para investigar a melhora da função cognitiva que o *G. biloba* proporciona. Os níveis de dopamina, noradrenalina e serotonina, nos quais estão relacionadas com funções cognitivas, foram avaliados após 14 dias de tratamento onde, um grupo de ratos recebeu uma única dose de EGB₇₆₁ 100mg/kg, e em outro grupo foi administrado diariamente 100mg/kg do extrato. O grupo que recebeu a dose diária não teve efeito significativo sobre os níveis das substâncias analisadas. Entretanto, o grupo que recebeu o tratamento crônico teve um aumento significativo de dopamina e noradrenalina, e os níveis de serotoninas não foram afetados. Os autores sugerem que o uso crônico de *G. biloba*, pode gerar um efeito positivo na função cognitiva.

Estudo clínico com extrato de *G. biloba*

Diversos estudos clínicos foram realizados para avaliar a eficácia do extrato EGB₇₆₁ em distúrbios cognitivos os estudos são apresentados na Tabela 4.

Hartley *et al.*, (2003)³³, analisaram os efeitos do *G. biloba* em 31 mulheres com idade de 53 a 65 anos, pós menopausa e que não continham distúrbios cognitivos. Foi realizado o teste em 2 grupos: um com administração de placebo em 16 mulheres, e outro onde 120mg/dia de *G. biloba* foram administrados em 15 mulheres. Acompanhou-se por sete dias, onde as pacientes foram testadas no início do estudo, e após o acompanhamento com as ferramentas Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) e Delayed Matching-to-Sample (DMTS). Ao final do estudo, verificaram uma diferença significativa estatisticamente, favorável ao grupo que usou o extrato.

Dongen *et al.*, (2003)³⁴, realizaram um estudo em 123 pacientes com demência ou transtorno cognitivo leve no ano de 2003, com idade igual ou superior a 50 anos. Eles foram separados em três grupos: um com a administração de placebo em 44 pacientes, outro onde 240 mg/dia

de *G. biloba* foram administrados em 30 pacientes, e o último onde 40 pacientes receberam 160 mg/dia do extrato. Os testes aplicados para a avaliação foram Teste Sindromom-Kurz (TSK), Impressão Clínica Global (ICG) e a Escala Geronto psicológica de Avaliação de Atividades da Vida Diária de Nurenberg, que aconteceram no início do estudo e ao final de 24 semanas. Entretanto, ao final do estudo não foi observada nenhuma alteração

significativa nas avaliações psicológicas entre os grupos.

Um estudo muito semelhante foi realizado por Mazza *et al.*, (2006)³⁵, onde 76 pacientes portadores de demência pela Doença de Alzheimer, com idade entre 50 e 80 anos foram divididos em três grupos: o primeiro grupo, foi administrado 160 mg de *G. biloba* por dia para 25 pessoas, no segundo foi administrado 5 mg de donezepila por dia para 25 pessoas, e no terceiro, placebo foi administrado para 26 pessoas. Mensalmente os pacientes eram testados através do Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), TSK e ICG. Após seis meses, os resultados obtidos foram que os pacientes que usaram donezepila e *ginkgo*, tiveram melhor pontuação no ICG comparados ao grupo placebo, porém nos testes MEEM e TSK não houveram pontuações diferentes.

Carlson, *et al.*, (2007)³⁶, incluíram 90 pacientes com idade entre 65 e 85 anos, sem demência ou outros distúrbios relevantes, e que no teste de triagem MEEM, alcançaram pontuação maior que 24. Dois grupos foram separados: um onde 46 pacientes receberam placebo, e outro no qual 44 receberam 160mg/dia de *G. biloba*. Durante quatro meses as seguintes ferramentas foram usadas mensalmente para avaliação: MEEM, Aprendizado de Lista (AL), Aprendizado visual de Benton (AVB), Julgamento de Linha de Orientação (JLO), Associação Gráfica Visual Controlada (AGVC), Modalidades Símbolo-Dígitos (MSD), Qualidade de Vida SF-36 e avaliação de atividade plaquetária. Ao desfecho do estudo, foi percebido que o grupo que utilizou placebo obteve mais pontos no AL em comparação ao grupo *ginkgo*. Em relação aos demais testes, não houveram diferenças significativas.

Um ensaio randomizado realizado por Ihl *et al.*, (2012)³⁷, avaliou durante 24 semanas, 333 pacientes com 50 anos ou mais, sofrendo de DA ou Demência Vascular (DV). Um grupo recebeu diariamente 240mg de *G. biloba*, e no grupo controle foi administrado placebo. Os testes SKT, NPI, Impressão Clínica Global da Mudança adaptada pelo Estudo Cooperativo da Doença de Alzheimer (ADCS-CGIC), ADL-IS, escala DEMQOL-proxy de qualidade de vida e Teste da Fluência Verbal, demonstraram que os pacientes que receberam o extrato tiveram pontuação superior em relação ao grupo placebo.

Um estudo publicado por Amieva *et al.*, (2013)³⁸, avaliou o desempenho do EGB₇₆₁ em 3612 pacientes, com 65 anos ou mais, sem demência durante 20 anos. Três grupos foram divididos: 589 pacientes que relataram o uso de *G. biloba* em pelo menos uma das visitas de avaliação, 149 pacientes que usaram piracetam em pelo menos uma das visitas, e outro grupo onde 2874 que relataram não usar nenhum dos dois. Os métodos para avaliação foram Mini Mental State Evaluation (MMSE), Isaacs Set Test (IST), e Benton Visual Retention Test (BVRT). Uma diferença significativa favorável foi observada nos grupos com a administração de EGB₇₆₁ e piracetam, em relação ao

grupo sem algum tratamento.

Já no estudo de Canevelli *et al.*, (2014)³⁹, foi analisada a eficácia do *G. biloba* em 828 pacientes com Alzheimer que já faziam uso de inibidores de colinesterase, durante 12 meses. Dividiu-se dois grupos: Pacientes com a DA que receberam apenas inibidores de acetil colinesterase (donezepil, rivastigmina e galantamina), e pacientes com DA que receberam inibidores de acetilcolinesterases juntamente com 120mg de *G. biloba*. Os testes foram realizados através das ferramentas MMSE, Avaliação da Escala Cognitiva na Doença de Alzheimer (ADAS-Cog) e Atividades da Vida Diária (AVD). Não foram relatadas mudanças estatisticamente significativas entre o grupo com tratamento de inibidores de colinesterases, e o grupo de terapia combinada com o EGB₇₆₁.

Li *et al.*, (2013)⁴⁰, incluíram em seu estudo, 150 pessoas com comprometimento cognitivo leve (MCI), no qual uma parte dos pacientes receberam diariamente a dose de *G. biloba* 240mg, e para controle outro grupo recebeu a administração de Nicergolina 30mg/dia. Ao final de 12 semanas, os testes MMSE e ADAS-cog mostraram que o *G. biloba* favoreceu na melhoria da função cognitiva quando comparados ao grupo controle.

Gavrilova *et al.*, (2014)⁴¹, produziu um estudo randomizado, controlado por placebo, duplo-cego e multicêntrico para avaliar a eficácia e segurança do uso do EGB₇₆₁ em voluntários de 55 anos ou mais, com comprometimento cognitivo leve (MCI). Foram incluídos 159 pacientes que marcaram pelo menos 6 pontos de 12 itens no Inventário Neuropsiquiátrico (NPI), e estes foram divididos em 2 grupos: 80 receberam EGB₇₆₁ 240 mg/dia, e 79 receberam placebo diariamente. As ferramentas utilizadas para o teste foram o Inventário de Ansiedade Traço-Estado, Escala de Depressão Geriátrica, e a-Trail Making Test. Ao final do estudo, os pacientes tratados com o extrato tiveram uma melhora significativa em todos os testes em relação ao grupo placebo. Concluiu-se que o extrato de *G. biloba* melhorou o desempenho cognitivo, e é uma droga segura e bem tolerada.

Yancheva S *et al.*, (2009)⁴², avaliaram 94 pacientes ambulatoriais com DA leve ou moderado, com idade igual ou superior a 50 anos. Um grupo de pacientes tiveram administração de *G. biloba* 240mg/dia; e para controle, outro grupo recebeu a dose de Donezepila 5mg/dia por 4 semanas, com posterior aumento para 10mg/dia; e um segundo grupo controle onde a administração de *G. biloba* 240mg/dia juntamente com Donezepila inicialmente na dose de 5mg/dia, e após 4 semanas aumentando a 10 mg/dia.

Após 22 semanas, foram realizados os testes: Síndrome-Kurz-Test (SKT), Teste de Fluência Verbal, Pontuação de Angústia do Inventário Neuropsiquiátrico, Contagem total e subtotal das atividades diárias avaliadas pela Escala Gottfries-Brane-Steen (GBS Sub-score of ADL),

Escala de Hamilton para Depressão (HAM-D), Teste do Desenho Relógio (CDT), Sintomas concomitantes do quadro de Tontura e Zumbido (CSS-Tinnitus e CSS-Dizziness).

Tabela 4. Estudos clínicos realizados com extrato de *G. biloba*.

Estudo	Desordem	Participantes/Idade	Dose	Controle	Duração	Testes	Resultados
Hartley <i>et al.</i> , 2003	Pós menopausa, sem desordem	31 voluntários, 53-65 anos	EGB ₇₆₁ 120mg/dia	Placebo	7 dias	PASAT, DMTS	O grupo tratado com <i>G. biloba</i> obteve melhora significativa na função cognitiva
Dongen <i>et al.</i> , 2003	Demência ou transtorno cognitivo leve	123 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia; EGB ₇₆₁ 160mg/dia	Placebo	24 semanas	TSK, ICG, Escala Gerontopsico-lógica de Avaliação de Atividades da Vida Diária de Nuremberg	Nenhuma alteração significativa foi observada
Mazza <i>et al.</i> , 2006	DA	76 voluntários, 50-80 anos	EGB ₇₆₁ 160mg/dia; Donepezil 5mg/dia	Placebo	6 meses	MEEM, TSK, ICG	Os pacientes que receberam <i>Ginkgo</i> e Donepezil tiveram melhor pontuação somente no ICG comparados ao placebo
Carlson JJ <i>et al.</i> , 2007	Nenhuma	90 voluntários, 65-85 anos	EGB ₇₆₁ 160mg/dia	Placebo	4 meses	MEEM, AL, AVB, JLO, AGVC, MSD, Qualidade de vida SF	O grupo placebo obteve mais pontos no teste AL em relação ao grupo <i>ginkgo</i> . Nos demais testes não houve diferença significativa
Ihl <i>et al.</i> , 2012	DA ou DV	333 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Placebo	24 semanas	SKT, NPI, ADCS-CGIC, DEMQOL-proxy de qualidade de vida, Teste de Fluência Verbal	Pacientes que receberam <i>Ginkgo</i> obtiveram melhora na função cognitiva em relação ao grupo placebo
Herrschaft <i>et al.</i> , 2012	DA leve ou moderada	410 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Placebo	24 semanas	SKT, NPI, ADCGI, ADL, QOL	Melhora na cognição, psicopatologia e qualidade de vida dos pacientes
Amieva <i>et al.</i> , 2013	Nenhuma	3612 voluntários, 65 anos ou mais	EGB ₇₆₁ pelo menos em 1 visita; Piracetam pelo menos em 1 visita	Nenhum tratamento	20 anos	MMSE, IST, BVTR	Diferença significativamente favorável aos grupos com administração de <i>ginkgo</i> e piracetam em relação ao grupo sem nenhum tratamento
Canevelli <i>et al.</i> , 2014	DA	828 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 120mg/dia	Inibidores de acetilcolinesterase	12 meses	MMSE, ADAS-Cog, AVD	Nenhuma diferença significativa foi observada entre os dois grupos
Li <i>et al.</i> , 2013	MCI	150 voluntários, idade não revelada	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Nicergolina 30mg/dia	12 semanas	ADAS-cog, MMSE	Foi observado melhora na função cognitiva no grupo que foi administrado <i>Ginkgo</i>
Gavrilova <i>et al.</i> , 2014	Comprometimento cognitivo leve	159 voluntários, 55 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Placebo	24 semanas	Ansiedade Traço-Estado, Escala de Depressão Geriátrica, a-Trail Making Test	Pacientes do grupo <i>Ginkgo</i> tiveram melhora significativa em todos os testes em relação ao placebo
Yancheva <i>et al.</i> , 2009	DA leve ou moderada	94 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Donazepil à 5mg e 10mg/dia; <i>Ginkgo</i> 240mg/dia + Donazepil 5mg/dia (4 semanas) e após 10mg/dia	22 semanas	SKY, Teste de Fluência Verbal, GBS Subscore of ADL, GBS, CDT, HAM-D, CSS-Dizziness, CSS-Tinnitus	O grupo que recebeu a administração de <i>Ginkgo</i> obteve a mesma pontuação em todos os testes quando comparado aos grupos controles
Nacu e Hoerr, 2016	DA leve ou moderada	410 voluntários, 50 anos ou mais	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Placebo	24 semanas	SKT, NPI	A pontuação do grupo que recebeu <i>Ginkgo</i> foi significativamente maior em relação ao grupo placebo
Beck <i>et al.</i> , 2016	Comprometimento da memória subjetiva	61 voluntários, 50-65 anos	EGB ₇₆₁ 240mg/dia	Placebo	18 meses	Task-set switching, TSST, FMRI	Houve uma melhora significativa observada no grupo <i>Ginkgo</i> em relação ao placebo

Ao final, todos os grupos obtiveram resultados semelhantes para todos os testes. Um estudo análogo realizado por Nacu e Hoerr (2016)⁴³, avaliou 410 pacientes sob as mesmas condições, através dos testes NPI e o Teste de Curto Desempenho Cognitivo (SKT). Uma parcela dos pacientes recebeu a dose de 240mg/dia do extrato, e para controle, placebo foi administrado ao restante. Os testes revelaram que os pacientes do grupo *G. biloba* melhorou significativamente a pontuação dos pacientes em relação ao grupo placebo.

Herrschaft *et al.*, (2012)⁴⁴, realizaram um estudo duplo-cego, randomizado, controlado por placebo, que confirma o estudo anterior. Para a investigação, 410 pacientes sofrendo de demência leve ou moderada, foram avaliados pelos testes SKT, NPI, ADCGI, ADL, QOL durante 24 semanas. Parte dos pacientes receberam EGb₇₆₁ 240mg/dia, e outra parte recebeu placebo para controle. Os resultados demonstraram uma melhora significativa na cognição, psicopatologia e qualidade de vida dos pacientes que receberam o extrato.

Beck *et al.* (2016)², utilizaram métodos parecidos para seu estudo, onde 240mg/dia de *G. biloba* ou placebo foram administrados entre 61 idosos, de 50 a 65 anos, com comprometimento da memória subjetiva. As ferramentas utilizadas foram Task-set switching, Trier Social Stress-Test (TSST) e FMRI, e ao final de 18 meses, concluiu-se que houve uma melhora significativa para os pacientes que foram tratados com extrato.

4. CONCLUSÃO

A partir do levantamento realizado, foi possível verificar que o extrato EGb₇₆₁ e seus componentes mostraram-se eficazes na maior parte dos estudos pré-clínicos exteriorizados no presente trabalho, sendo inócuo apenas em alguns testes onde a concentração foi significativamente baixa, demonstrando assim, sua capacidade em diminuir a densidade de radicais livres de oxigênio nos tecidos nervosos; seu efeito neuroprotetor, reduzir as respostas inflamatórias, bem como a redução do processo de apoptose.

Nos estudos clínicos, em sua maioria os resultados foram positivos em relação ao *G. biloba*, melhorando a pontuação nos testes realizados pelos voluntários nos testes aplicados nos estudos. Entretanto, algumas pesquisas revelaram que o extrato não apresentou nenhuma melhora significativa em relação ao grupo controle. Com isso, percebe-se que novos estudos científicos mais conclusivos são essenciais para justificar o seu uso na terapêutica, e que busque melhorar a qualidade de vida dos pacientes acometidos por essa doença.

REFERÊNCIAS

[1] Birks J, Evans JG. *Ginkgo biloba* for cognitive impairment

and dementia. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009. 21(1): 1-61.

- [2] Beck SM et al. Effects of Ginkgo biloba extract EGb₇₆₁® on cognitive control functions, mental activity of the prefrontal cortex and stress reactivity in elderly adults with subjective memory impairment - a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Hum Psychopharmacol*, 2016. 31(3):227-42.
- [3] Neto SJ et al. A fitoterapia como terapêutica complementar no tratamento do Alzheimer. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança*. 2014. 12(2).
- [4] Yang G. et al. Ginkgo biloba for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr. Top. Med. Chem*. 2016.16:520-528.
- [5] Kratz JM et al. hERG Channel Blocking Ipecac Alkaloids Identified by Combined In Silico- In Vitro Screening. *Planta Med*, 2016. 82(11-12): 1009-1015.
- [6] Kaschel R. Ginkgo biloba: specificity of neuropsychological improvement--a selective review in search of differential effects. *Hum Psychopharmacol*, 2009.4(5): 345-370.
- [7] Tan MS et al. Efficacy and adverse effects of Ginkgo biloba for cognitive impairment and dementia: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2015;43(2):589-603.
- [8] Sticher O. Quality of ginkgo preparations. *Planta Med*, 1993. 59: 2-11.
- [9] Schulz V, Hansel R, Tyler VE. *Fitoterapia Racional*. 4. Ed. Barueri: Manole, 2002.
- [10] Banov D et al. Caracterização do Extrato Seco de Ginkgo biloba L. em Formulações de Uso Tópico. *Acta Farm. Bonaerense*, 2006. 25 (2): 219-24.
- [11] Nash KM, Shah ZA. Current Perspectives on the Beneficial Role of Ginkgo biloba in Neurological and Cerebrovascular Disorders. *Integrative Medicine Insights*, 2015.10(1):1-9.
- [12] Ullah et al. Quantification and antibacterial activity of flavonoids in coffee samples. *Afr J Tradit Complement Altern Med.*, 2015. 12(4):84-86.
- [13] Smith MAC. Doença de Alzheimer. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 1999. 21(2): 03-07, 1999.
- [14] Forlenza OV. Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 2005. 32(3): 137-148.
- [15] Nitrini R. et al. Diagnóstico de Doença de Alzheimer no Brasil. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, 2005. 63(3): 720-727.
- [16] Sereniki A, Vital MABF. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. *Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul*, 2008. 30(1): 1-17.
- [17] Medeiros R. A doença de Alzheimer como um processo neuroinflamatório. Tese (doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 139, 2007.
- [18] Pinto RS. et al. Doença de Alzheimer: Abordagem Farmacoterapêutica. *Boletim Informativo Geum*, 2015. 6(1): 16-25.
- [19] Ferreira S, Massano J. Terapêutica Farmacológica na Doença de Alzheimer: Progressos e Esperanças Futuras. *Arquivos de Medicina*, 2013. 27(2): 65-86.

- [20] Palladino, M.J et al. Neural dysfunction and neurodegeneration in *Drosophila* Na⁺/K⁺ ATPase α subunit mutants. *J. Neurosci.* 2013.23(4): 1276-1286.
- [21] Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Journal Cell*, 2006. 124(4): 783-801.
- [22] Vale LAC et al. Tratamento da Doença de Alzheimer. *Dementia & Neuropsychologia*, 2011. 5(suppl 1):34-48.
- [23] Schneider LS. Alzheimer disease pharmacologic treatment and treatment research. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*. 2013.19(2):339-357.
- [24] Hyppolito MA. Otoproteção da amifostina aos efeitos ototóxicos da cisplatina: estudo em cobaias albinas por emissões otoacústicas produtos de distorção e microscopia eletrônica de varredura. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, 2005. 71(3): 268-73.
- [25] Zhao Q, Gao C, Cui Z. Ginkgolide A reduces inflammatory response high-glucose-stimulated human umbilical vein endothelial cells through STAT3-mediated pathway. *International Immunopharmacology*, 2015. 25(2): 242-248.
- [26] Galdino HJ. Produção de fator de necrose tumoral (TNF) em hemoculturas humanas induzidas por agonistas de TLR2 (toll-like receptor 2): modulação pelo fator ativador de plaquetas. [Dissertação] Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2008.
- [27] Guo M et al. The protective mechanism of Ginkgolides and Ginkgo flavonoids on the TNF- α induced apoptosis of rat hippocampal neurons and its mechanisms in vitro. *Helvion*. 2015. 1(1):e00020.
- [28] Xuan-Feng Q et al. Ginkgolide B prevents cathepsin-mediated cell death following cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neuroreport*, 2014. 25(4): 267-273.
- [29] Lang D et al. Neuroprotective effects of bilobalide are accompanied by a reduction of ischemia-induced glutamate release in vivo. *Brain Research*, 2011. 24(1425): 155-163.
- [30] Jiang M. et al. Neuroprotective effects of bilobalide on cerebral ischemia and reperfusion injury are associated with inhibition of pro-inflammatory mediator production and down-regulation of JNK1/2 and p38 MAPK activation. *Journal of Neuroinflammation*, 2014. 11(167): 1-17.
- [31] Fawcett JR et al. Inactivation of the human brain muscarinic acetylcholine receptor by oxidative damage catalyzed by a low molecular weight endogenous inhibitor from Alzheimer's brain is prevented by pyrophosphate analogs, bioflavonoids and other antioxidants. *Brain Research*, 2002. 950(1-2): 10-20.
- [32] Yoshitake T, Yoshitake S, Kehr J. The Ginkgo biloba extract EGb 761® and its main constituent flavonoids and ginkgolides increase extracellular dopamine levels in the rat pré-frontal cortex. *British Journal of Pharmacology*, 2010. 159(3): 659-668.
- [33] Heinze L, Elsabagh S, File SE. Effects on cognition and mood in postmenopausal women of 1-week treatment with Ginkgo biloba. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2003. 75(3): 711-720.
- [34] Dongen MV, Rossum EV, Kessels A, Sielhorst H, Knipschild P. Ginkgo for elderly people with dementia and age-associated memory impairment: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Epidemiology*, 2003. 56(4): 367-376.
- [35] Mazza M, Capuano A, Bria P, Mazza S. Ginkgo biloba and donepezil: a comparison in the treatment of Alzheimer's dementia in a randomized placebo-controlled double-blind study. *European Journal of Neurology*, 2006. 13(9): 981-985.
- [36] Carlson JJ et al. Safety and efficacy of a Ginkgo biloba-containing dietary supplement on cognitive function, quality of life, and platelet function in healthy, cognitively intact older adults. *Journal of the American Dietetic Association*, 2007. 107(3): 422-432.
- [37] Ihl R, Tribanek M, Bachinskaya N. Efficacy and tolerability of a once daily formulation of Ginkgo biloba extract EGb 761® in Alzheimer's disease and vascular dementia: results from a randomised controlled trial. *Pharmacopsychiatry*, 2012. 45(2): 41-46.
- [38] Amieva H et al. Ginkgo biloba Extract and Long-Term Cognitive Decline: A 20-Year Follow-Up Population-Based Study. *Plos One*, 2013. 8(1): 1-8.
- [39] Canevelli M et al. Effects of Ginkgo biloba supplementation in Alzheimer's disease patients receiving cholinesterase inhibitors: Data from the ICTUS study. *Phytomedicine*, 2014. 21(6): 888-892.
- [40] Li BH, Lai HX, Li GD. Clinical observation of Nicergoline tablet for the treatment of mild cognitive impairment. *National Medical Journal of China*, 2013. 8(21): 66-67.
- [41] Gavrilova SI et al. Efficacy and safety of Ginkgo biloba extract EGb 761® in mild cognitive impairment with neuropsychiatric symptoms: a randomized, placebo-controlled, double-blind, multi-center trial. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 2014. 29(10): 1087-1095.
- [42] Yancheva S et al. Ginkgo biloba extract EGb 761®, donepezil or both combined in the treatment of Alzheimer's disease with neuropsychiatric features: A randomised, double-blind, exploratory trial. *Aging & Mental Health*, 2009. 13(2): 183-190.
- [43] Nacu A, Hoerr R. Neuropsychiatric symptoms in dementia and the effects of Ginkgo biloba extract EGb 761® treatment: additional results from a 24-week randomized, placebo-controlled trial. *Dove Press Journal*, 2016. 2016(8): 1-6.
- [44] Herrschaft H et al. Ginkgo biloba extract EGb 761® in dementia with neuropsychiatric features: A randomised, placebo-controlled trial to confirm the efficacy and safety of a daily dose of 240 mg. *Journal of psychiatric Research*, 2012. 46(6): 716-723.