



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

LUIZ RICARDO GARCÊZ

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIRREABSORTIVO DE UM DERIVADO
SEMISSINTÉTICO DO TRITERPENO 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-eno DE
Combretum leprosum NO MODELO DE OSTEOPOROSE INDUZIDA POR
GLICOCORTICÓIDE EM RATOS *WISTAR***

FORTALEZA

2023

LUIZ RICARDO GARCÊZ

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIRREABSORTIVO DE UM DERIVADO
SEMISSINTÉTICO DO TRITERPENO 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-eno DE
Combretum leprosum NO MODELO DE OSTEOPOROSE INDUZIDA POR
GLICOCORTICÓIDE EM RATOS *WISTAR***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Metabolismo Ósseo.

Orientadora: Prof.^a Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner

Coorientadora: Prof.^a Dra. Raquel Felipe de Vasconcelos

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G197a Garcez, Luiz Ricardo.

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIRREABSORTIVO DE UM DERIVADO SEMISSINTÉTICO DO TRITERPENO 3beta, 6beta, 16beta-trihidroxilup-20(29)-eno DE Combretum leprosum NO MODELO DE OSTEOPOROSE INDUZIDA POR GLICOCORTICÓIDE EM RATOS WISTAR / Luiz Ricardo Garcez. – 2023.
63 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Sobral, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner.

1. Metabolismo Ósseo. 2. Osteoporose. 3. Glicocorticóides. 4. Combretum leprosum. I. Título.

CDD 610

LUIZ RICARDO GARCÊZ

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIRREABSORTIVO DE UM DERIVADO
SEMISSINTÉTICO DO TRITERPENO 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-eno DE
Combretum leprosum NO MODELO DE OSTEOPOROSE INDUZIDA POR
GLICOCORTICÓIDE EM RATOS WISTAR**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Ceará – *Campus* Sobral, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Metabolismo Ósseo.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Mirna Marques Bezerra Brayner (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

Prof.^a Dra. Raquel Felipe de Vasconcelos (Coorientadora)
Instituto Federal do Ceará (IFCE) – *Campus* Fortaleza

Prof. Dr. Francisco Samuel Rodrigues Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

Prof. Dr. Paulo Goberlânio de Barros Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Fortaleza

“Porque estou feliz

Bata palmas, se se sentir como uma sala sem teto

Porque estou feliz

Bata palmas, se sentir que a felicidade é a verdade

Porque estou feliz

Bata palmas, se você sabe o que é felicidade para você

Porque estou feliz

Bata palmas, se sentir que isso é o que você quer fazer”

(Trecho traduzido da música Happy de Pharrell Williams)

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por sempre caminhar junto comigo e permitir que eu seja vitorioso em todas as batalhas e desafios da minha vida e proporcionar que eu alcance os meus objetivos.

Aos **meus pais Maria das Dores e Paulo Rubens** por sempre segurarem minhas mãos e serem o alicerce de tudo que sou. Por todo o cuidado, carinho, amor, proteção e por sempre acreditarem no meu melhor e me mostrarem que sou capaz de conquistar tudo que eu almejo e por sempre apoiarem minhas decisões.

A **minha irmã, Ana Paula**, exemplo de companheirismo, amizade e por sempre acreditar nos meus sonhos. Sou muito grato por ser seu irmão mais novo e saber que posso contar com você sempre.

A **minha orientadora, Profa. Mirna**, por ter acreditado em mim, abrindo as portas da Universidade e proporcionar que eu pudesse realizar esse grande sonho, além dos grandes ensinamentos que me concedeu e por toda atenção e cuidado que sempre teve comigo.

Aos **Professores Fábio Wildison, Raquel Felipe, Paula Goes, e Karuza Alves**, pelo grande apoio oferecido durante minha pesquisa, por todas as contribuições durante todo o processo de coleta e análises dos resultados.

Aos **alunos de iniciação científica Levi, Jennifer e Sislana**, por sempre estarem disponíveis e pela agradável convivência durante o período da pesquisa.

A minha **família do coração Lia Mayra, Neurismar Araújo e Diego Coutinho**, por sempre estarem presente durante as melhores e piores fases do meu mestrado, por serem apoio e conforto durante os momentos difíceis e por vibrarmos juntos nas vitórias.

Aos colegas e técnicos que se tornaram grandes amigos do Núcleo de Estudos e Processamento de Imagens (NEMPI) **André, Maike, Rafaela, Josy, Luana, Junior e Ludmila**, muito obrigado por toda ajuda, disponibilidade, atenção, carinho e por terem me recebido de braços abertos na casa de vocês.

As minhas amigas e colegas de profissão, **Adrielly, Rebeca, Marília e Isabel** pelas conversas, risadas, apoio, ajuda e por sempre estarem disponíveis e atenção e por sonharem junto comigo essa conquista.

Aos professores participantes da banca examinadora **Prof. Dr. Samuel Carvalho e Prof Dr. Paulo Goberlânio** pelo a disponibilidade e pelas valiosas colaborações e sugestões que enriqueceram mais ainda a minha pesquisa

A **Universidade Federal do Ceará** por proporcionar a conclusão desse grande sonho.

'Todos os nossos sonhos podem-se realizar, se tivermos a coragem de persegui-los' (Walt Disney).

RESUMO

A osteoporose é uma doença ósteometabólica caracterizada por baixa densidade óssea e deterioração da microarquitetura do tecido ósseo, com consequente porosidade óssea e aumento no risco de fraturas. O uso de glicocorticoides de forma crônica é a causa mais comum de osteoporose secundária. Os glicocorticoides diminuem o amadurecimento, o tempo de vida e a função dos osteoblastos e osteócitos, consequentemente levando a perda óssea, além disso, alteram o equilíbrio formação/reabsorção, ocasionando a diminuição da formação e alterações na resistência óssea e podem provocar mudanças na microarquitetura do osso, ocasionado microlesões no tecido. *Cobretum leprosum* Mart. é uma espécie usada popularmente como agente cicatrizante e anti-inflamatório. A partir de um metabólito secundário CL-1 das flores de *Cobretum leprosum* Mart. foi produzido um derivado semissintético CL-P2, que demonstrou efeito antinociceptivo e anti-inflamatório, e sem toxicidade quando administrado por 14 dias em camundongos. Este estudo buscou avaliar o efeito antirreabsortivo de CL-P2 no modelo de osteoporose induzida por glicocorticoide em ratos. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, sob número 6655221121. A osteoporose foi induzida através de injeção (I.M.) de dexametasona (7 mg/kg) uma vez a cada 7 dias, durante 65 dias. No 36º dia foi iniciado o tratamento (*per os*) com CL-P2 (0,01 ou 0,1 mg/kg) durante 30 dias consecutivos. Após esse intervalo de tempo, os animais foram eutanasiados e os fêmures e as vértebras lombares coletados para análise através de: microtomografia computadorizada (micro-CT), ensaios biomecânicos (resistência à flexão de três pontos), análises histomorfométricas (H&E e Picrosirius Red) e espectrometria micro-Raman, além disso foi coletado o coração e o fígado para análise de toxicidade (H&E). CL-P2 melhorou significativamente ($p < 0,05$) a microarquitetura óssea das vértebras lombares, marcada pelo aumento do volume e número de trabéculas (18,78%) e (17,49%) respectivamente, e do aumento da densidade mineral óssea em (23,24%). CL-P2 aumentou o número ($p < 0,05$) de osteócitos em (30,02%) e foi capaz de reverter a diminuição dos osteoblastos e o aumento dos osteoclastos causados pela a dexametasona nos fêmures e vértebras lombares em relação ao grupo não tratado. As propriedades biomecânicas dos fêmures apresentaram melhores resultados nos grupos tratados com o CL-P2, que também apresentou o aumento ($p < 0,05$) de colágeno total, tipo I e tipo III em vértebras lombares. Além disso, não apresentou sinais histopatológicos de toxicidade cardíaca e demonstrou atividade hepatoprotetora. Esses resultados sugerem que CL-P2 é uma ferramenta segura e pode proteger o osso dos efeitos deletérios causados pelos glicocorticoides no tecido ósseo.

Palavras-chave: *Cobretum leprosum* Mart.; Semissintético; Osteoporose; Fratura.

ABSTRACT

Osteoporosis is an osteometabolic disease characterized by low bone density and peripheral bone tissue microarchitecture, with consequent bone porosity and increased risk of fractures. Chronic use of glucocorticoids is the most common cause of secondary osteoporosis. Glucocorticoids decrease the maturation, lifespan and function of osteoblasts and osteocytes, consequently leading to bone loss, in addition, they alter the balance/resorption formation, causing an increase in formation and changes in bone resistance and can cause changes in microarchitecture of the bone, microlesions caused in the tissue. *Cobretum leprosum* Mart. is a species popularly used as a healing and anti-inflammatory agent. From a secondary metabolite CL-1 from the flowers of *Cobretum leprosum* Mart. a semi-synthetic derivative CL-P2 was produced, which demonstrated antinociceptive and anti-inflammatory effects, and no toxicity when administered for 14 days in mice. This study sought to evaluate the antiresorptive effect of CL-P2 in the model of osteoporosis caused by glucocorticoids in rats. The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (ECUA) of the Federal University of Ceará, under number 6655221121. Osteoporosis was induced through injection (I.M.) of dexamethasone (7 mg/kg) once every 7 days, for 65 days. On the 36th day, treatment (per os) with CL-P2 (0.01 or 0.1 mg/kg) was started for 30 consecutive days. After this time interval, the animals were euthanized and the femurs and lumbar vertebrae were collected for analysis through: microcomputed tomography (micro-CT), biomechanical tests (three-point flexural strength), histomorphometric analyzes (H&E and Picrosirius Red) and micro-Raman spectrometry, in addition the heart and liver were collected for toxicity analysis (H&E). CL-P2 significantly improved ($p < 0.05$) the bone microarchitecture of the lumbar vertebrae, marked by an increase in the volume and number of trabeculae (18.78%) and (17.49%) respectively, and an increase in mineral density bone in (23.24%). CL-P2 increased the number ($p < 0.05$) of osteocytes by (30.02%) and was able to reverse the decrease in osteoblasts and the increase in osteoclasts caused by dexamethasone in the femurs and lumbar vertebrae compared to the non-group. treated. The biomechanical properties of the femurs showed better results in the groups treated with CL-P2, which also showed an increase ($p < 0.05$) in total, type I and type III collagen in lumbar vertebrae. Furthermore, it did not present histopathological signs of cardiac toxicity and demonstrated hepatoprotective activity. These results suggest that CL-P2 is a safe tool and can protect bone from the deleterious effects caused by glucocorticoids on bone tissue.

Keywords: *Cobretum leprosum* Mart.; Semi-synthetic; Osteoporosis; Fracture.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Tecido Ósseo.....	13
1.2 Osteoporose.....	14
1.3 Glicocorticóides.....	16
1.4 Osteoporose por Glicocorticóides.....	16
1.5 <i>Combretum leprosum</i> Mart.....	18
2. JUSTIFICATIVA.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2 Objetivos Específicos.....	22
4. CAPÍTULO 1: AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIRREABSORPTIVO DE UM DERIVADO SEMISSINTÉTICO DO TRITERPENO 3β, 6β, 16β-trihidroxilup-20(29)- eno DE <i>Combretum leprosum</i> NO MODELO DE OSTEOPOROSE INDUZIDA POR GLICOCORTICOIDE EM RATOS WISTAR.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA.....	63

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACERBO, A. S.; KWACZALA, A. T. Alterations in Collagen and Mineral Nanostructure Observed in Osteoporosis and Pharmaceutical Treatments Using Simultaneous Small- and Wide-Angle X-ray Scattering. **Calcif Tissue Int**, v.95, n.1, p.446–456, 2014.

AKKUS, O.; ADAR, F.; SCHAFFLER, M. B. Age-related changes in physicochemical properties of mineral crystals are related to impaired mechanical function of cortical bone. **Bone**, v.34, n.3, p.443–53, 2004.

ANDRADE, T.A.; IYER, A.; DAS, P.K. The inflammatory stimulus of a natural latex biomembrane improves healing in mice. **Braz J Med Biol Res.**, v.44, n.01, p.1036-1047, 2011.

ANAM, A. K.; INSOGNA, K. Update on Osteoporosis Screening and Management. **Medical Clinics Of North America**, v. 105, n. 6, p.1117-1134, 2021.

AQUIARA, I. A.; GIACOMINIA, R. L.; LUCINDA, L. M. F.; BARREIROS, L. L.; FONTES, L. B. A.; NONATO, I. A.; FERNANDES, E. T. A ação dos glicocorticoides no metabolismo ósseo levando a osteoporose. **Revista Científica Fagoc Saúde**, v.3, n.1, p. 30-37, 2018.

BEATTIE, J. R.; SOPHOCLEOUS, A.; CARAHER, M. C.; O'DRISCOLL, O.; CUMMINS, N. M.; BELL, S. E. J. et al. Raman spectroscopy as a predictive tool for monitoring osteoporosis therapy in a rat model of postmenopausal osteoporosis. **J Mater Sci Mater Med.**, v.30, n.2, p.1-15, 2019.

BERGSTROM, I.; ISAKSSON, H.; KOSKELA, A.; TUUKKANEN, J.; OHLSSON, C.; ANDERSSON, G.; WINDAHL, S. H. Prednisolone treatment reduces the osteogenic effects of loading in mice. **Bone**, v.112, n.1, p.10-18, 2018.

BLACK, D. M.; GEIGER, E. J.; EASTELL, R.; VITTINGHOFF, E.; LI, B. H.; RYAN, D. S. et al. Atypical Femur Fracture Risk versus Fragility Fracture Prevention with Bisphosphonates. **N Engl J Med**, v.383, n.8, p.743-753. 2020.

BORBA, V. Z. C.; LAZARETTI-CASTRO, M. Osteoporose Induzida por Glicocorticóide. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.43, n.6, p.452-465, 1999.

BRIOT, K. Bone and glucocorticoids. **Annales d'Endocrinologie**, v.79, n.1, p.115-118, 2018.

CARAHER, M. C.; SOPHOCLEOUS, A.; BEATTIE, J. R.; O'DRISCOLL, O.; CUMMINS, N. M.; BRENNAN, O. et al. Raman spectroscopy predicts the link between claw keratin and bone collagen structure in a rodent model of oestrogen deficiency. **BBA - Molecular Basis of Disease**, v.1864, n1, p.398–406, 2018.

CHE, C. T.; WONG, M. S.; LAM, C. W. K. Natural Products from Chinese Medicines with Potential Benefits to Bone Health. **Molecules**, v.21, n.239, p.01-52, 2016.

CHEN, M.; FU, W.; XU, H.; LIU, G. Pathogenic mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v.70, n.1, p.54–66, 2023.

CHENG, C. H.; CHEN, L. R.; CHEN, K. H. Osteoporosis Due to Hormone Imbalance: An Overview of the Effects of Estrogen Deficiency and Glucocorticoid Overuse on Bone Turnover. **Int. J. Mol. Sci.**, v.23, n.1376, p.1-17, 2022.

CHOTIYARNWONG, P.; MCCLOSKEY, E. V. Pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis and options for treatment. **Endocrinology**, v.16, n.1, p.437-447, 2020.

COUTINHO, M. R.; OLIVEIRA, L. S.; EVARISTO, F. F. V.; MARINHO, M. M.; MARINHO, E. M.; TEXEIRA, E. H. et al. Pharmacological potential of the triterpene 3 β ,6 β ,16 β -trihidroxilup-20 (29)-ene isolated from *Combretum leprosum*: A literature review. **Fundam Clin Pharmacol.**, v.36, n.1, p.486–493, 2022.

CRUZ, B. G.; TEIXEIRA, A. M. R.; SILVA, P. T.; EVARISTO, F. F. V.; VACONCELOS, M. A.; TEIXEIRA, E. H. et al. Antimicrobial activity of the lupane triterpene 3 β ,6 β ,16 β -trihydroxilup-20(29)-ene isolated from *Combretum leprosum* Mart. **Journal Of Medical Microbiology**, v.68, n.10, p.1438-1444, 2019.

EFFENDY, N. M.; IBRAHIM, N. I.; MOHAMED, N.; SHUID, A. N. An Evidence-Based Review of Micro-CT Assessments of the Postmenopausal Osteoporosis Rat Model. *International Journal of Pharmacology*, v.11, n.3, p.177-200, 2015

EVERTS-GRABER, J.; LEHMANN, D.; BURKARD, J. P.; SCHALLER, B.; GAHL, B.; HAUSELMANN, H. et al. Risk of Osteonecrosis of the Jaw Under Denosumab Compared to Bisphosphonates in Patients With Osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.37, n. 2, p.340–348, 2022.

FARIA, L. P.; SUEYOSHI, G.; OLIVEIRA, T. C.; HOLLIDAY, L. S.; ARANA-CHAVEZ, V. E. Effects of Alendronate and Dexamethasone on Osteoclast Gene Expression and Bone Resorption in Mouse Marrow Cultures. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v.70, n.2, p.169–179, 2021.

FARLAY, D.; PANCZER, G.; REY, C.; DELMAS, P. D.; BOIVIN, G. Mineral maturity and crystallinity index are distinct characteristics of bone mineral. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v.28, n.1, p.433-45, 2010.

FERREIRA, V. C. S. **Efeito da atorvastatina no tecido ósseo de ratas submetidas a osteonecrose de maxilares induzida por ácido zoledrônico**. 2018. 102f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

FERREIRA JÚNIOR, A. E. C. **Avaliação da influência da terapia por infliximabe na cicatrização óssea de alvéolos dentários pós-exodontia em ratos**. 2016. 81f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

FREITAS, A.; CAMARGO, W. S.; AQUINO, R. J.; NETO, V. G.; BONAVIDES JUNIOR, A. F.; SHIMANO, A. C. Preliminary mechanical test of proximal femur reinforcement with cemented x-shaped pmma. **Acta Ortop Bras. [online]**, v.26, n.4, p.231-5, 2018.

GADO, M.; BASCHANT, U.; HOFBAUER, L.; HENNEICKE, H. Bad to the Bone: The Effects of Therapeutic Glucocorticoids on Osteoblasts and Osteocytes. *Frontiers in Endocrinology*, v13, n.835720, p.1-14, 2022.

GOPINATH, V. Osteoporosis. *Med Clin N Am*, v.107, n.1, p.213–225, 2023.

HORINOUCI, C. D. S.; MENDES, D. A. G. B.; SOLEY, B. S.; PIETROVSKI, E. F.; FACUNDO, V. A.; SANTOS, A. R. S. et al. Combretum leprosum Mart. (Combretaceae): potential as an antiproliferative and anti-inflammatory agent. *Journal Of Ethnopharmacology*, v.145, n.1, p.311-319, 2013.

JIA, J.; YAO, W.; GUAN, M.; DAI, W.; SHAHNAZARI, M.; KAR, R. et al. Glucocorticoid dose determines osteocyte cell fate. *The FASEB Journal*, v.25, n.1, p.3366-3376, 2011.

KJAER, M.; JORGENSEN, N. R.; HEINEMEIER, K.; MAGNUSSON, S, P. Exercise and Regulation of Bone and Collagen Tissue Biology. *Musculoskeletal Matrix and Exercise*, v.135, n.1, p.260-290, 2015.

KOYAMA, T.; NAKAJIMA, C.; NISHIMOTO, S.; TAKAMI, M.; WOO, J. T.; YAZAMA, K. Suppressive Effects of the *Terminalia catappa* L. on Osteoclast Differentiation In Vitro and Bone Weight Loss In Vivo. *J Nutr Sci Vitaminol*, v.58, n1, p.129-135, 2012.

LANE, N. E. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v.194, n.1, p.3-11, 2006.

LANE, N. E. Glucocorticoid Induced Osteoporosis: New insights into the Pathophysiology and Treatments. *Curr Osteoporos Rep*, v.17, n.1, p.1-7, 2019.

LEE, M. Y.; KIM, H. Y.; SINGH, D.; YEO, S. H.; BAEK, S. Y.; PARK, Y. K. et al. Metabolite Profiling Reveals the Effect of Dietary Rubus coreanus Vinegar on Ovariectomy-Induced Osteoporosis in a Rat Model. *Molecules*, v.21, n.149, p.01-19, 2016.

LEI, S. S.; SU, J.; ZHANG, Y.; HUANG, X. W.; WANG, X. P.; HUANG, M. C.; LI, B.; SHOU, D. Benefits and mechanisms of polysaccharides from Chinese medicinal herbs for anti-osteoporosis therapy: a review. *International Journal Of Biological Macromolecules*, v. 193, p. 1996-2005, 2021.

MA, Z.; FU, Q. Therapeutic Effect of Organic Gallium on Ovariectomized Osteopenic Rats by Decreased Serum Minerals and Increased Bone Mineral Content. *Biol Trace Elem Res*, v.133, n.3, p.342-49, 2010.

MANDAIR, G. S.; AKHTER M. P.; ESMONDE-WHITE, F. W. L.; LAPPE, J. M.; BARE, S. P.; LLOYD, W.R. et al. Altered collagen chemical compositional structure in osteopenic women with past fractures: A case-control Raman spectroscopic study. *Bone*, v.148, p.115962, 2021.

MIEDEL, E. L.; BRISSON, B. K.; HAMILTON, T.; GLEASON, H.; SWAIN, G. P. et al. Type III collagen modulates fracture callus bone formation and early remodeling. *J Orthop Res.*, v.33, n.5, p.675–684, 2015.

MORAES, L. S.; ROHOR, B. Z.; AREAL, L. B.; PEREIRA, E. V.; SANTOS, A. M. C.; FACUNDO, V. A. et al. Medicinal plant Combretum leprosum mart ameliorates

motor, biochemical and molecular alterations in a Parkinson's disease model induced by MPTP. **Journal Of Ethnopharmacology**, v.185, p.68-76, 2016.

MORRIS, M. D.; MANDAIR, G. S. Raman assessment of bone quality. **Clin Orthop Relat Res.**,v.469, n.8, p.2160–9, 2011.

MUÑOZ, M.; ROBINSON, K.; SHIBLI-RAHHAL, A. Bone Health and Osteoporosis Prevention and Treatment. **Clinical Obstetrics & Gynecology**, v. 63, n. 4, p. 770-787, 2020.

NUNES, P. H.; CAVALCANTI, P. M.; GALVÃO, S. M.; MARTINS, M. C. Antiulcerogenic activity of *Combretum leprosum*. **Pharmazie**, v.64, n.1, p.58-62, 2009.

PAN, J.; WU, L. G.; CAI, J. W.; WU, L. T.; LIANG, M. Dexamethasone suppresses osteogenesis of osteoblast via the PI3K/Akt signaling pathway in vitro and in vivo. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v.39, n.1, p.80–86, 2019.

PAOLILLO, F. R.; ROMANO, R. A.; MATOS, L.; MARTIN, A. A.; GUIMARÃES, F. E. G.; NETO, J. C. C.; BAGNATO, V. S. Short-term and long-term effects of osteoporosis on incisor teeth and femoral bones evaluated by Raman spectroscopy and energy dispersive X-ray analysis in ovariectomized rats. **J Bone Miner Metab.**, v.37, n.1, p.18-25, 2018.

PASCHALIS, E.P.; GAMSJAEGER, S.; KLAUSHOFER, K. Vibrational spectroscopic techniques to assess bone quality. **Osteoporos Int.**, v.28, n.8, p.2275–91, 2017.

PASSARINI, G. M.; FERREIRA, A. S.; MOREIRA-DILL, L. S.; ZANCHI, F. B.; JESUS, A. G.; FACUNDO, V. A.; TELES, C. B. G. Natural and Semisynthetic Triterpenes from *Combretum leprosum* Mart. with Antiplasmodial Activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.33, n.5, p.483-490, 2022.

PASSOS, M. J. **Análise in vitro, in silico e in vivo dos efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios de dois triterpenos semissintéticos (CL-P2 e CL-P2A) obtidos das flores do Combretum Leprosum Mart.** 2020. 141 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Federal do Ceará, Sobral, 2020.

PENG, C. H.; LIN, W. Y.; YEH, K. T.; CHEN I. H.; WU, W. T.; LIN, M. D. The molecular etiology and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. **Tzu Chi Medical Journal**, v.33, n.3, p.212-223, 2021.

PORFÍRIO, E.; FANARO, G. B. Suplementação com colágeno como terapia complementar na prevenção e tratamento de osteoporose e osteoartrite: uma revisão sistemática. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.**, n.19, v.1, p.153-164, 2016.

RAI, R.; SINGH, K. B.; KHANKA, S.; MAURYA, R.; SINGH D. Cladrin alleviates dexamethasone-induced apoptosis of osteoblasts and promotes bone formation through autophagy induction via AMPK/mTOR signaling. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 190., n.1, p.339-350, 2022.

REID, I. R.; BILLINGTON, E. O. Drug therapy for osteoporosis in older adults. **The Lancet**, v. 399, n. 10329, p. 1080-1092, 2022.

RONG, X.; KOU, Y.; ZHANG, Y.; YANG, P.; TANG, R.; LIU, H.; LI, M. ED-71 Prevents Glucocorticoid-Induced Osteoporosis by Regulating Osteoblast Differentiation

via Notch and Wnt/ β -Catenin Pathways. **Drug Design, Development and Therapy**, v.16, n.1, p.3929-3946, 2022.

SCHEPPER, J. D.; COLLINS, F.; RIOS-ACRE, N. D.; KANG, H. J.; SCHAEFER, L.; GARDINIER, J. D. et al. Involvement of the Gut Microbiota and Barrier Function in Glucocorticoid-Induced Osteoporosis. **Journal of Bone and Mineral Research**, v.35, n.4, p.801–820, 2020.

SILVA, F. C. O.; MENEZES, J. E. S. A.; FERREIRA, M. K. A.; SILVA, A. W.; HOLANDA, C. L. A.; LIMA, J. R. et al. Antinociceptive activity of 3 β -6 β -16 β -trihydroxylup-20 (29)-ene triterpene isolated from *Combretum leprosum* leaves in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Biochemical And Biophysical Research Communications**, v.533, n.3, p.362-367, 2020.

SILVA-FILHO, C. J. A.; FREITAS, P. G.C.; OLIVEIRA, F. C.; BARBOSA, F. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; ELOY, J. O. et al. Nanoencapsulation of triterpene 3 β ,6 β ,16 β -trihydroxylup-20(29)-ene from *Combretum leprosum* as strategy to improve its cytotoxicity against cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.30, n.20, p.127469, 2020.

SHEN, J.; FAN L.; YANG, J.; SHEN A.; HU, J. A longitudinal Raman microspectroscopic study of osteoporosis induced by spinal cord injury. **Osteoporos Int.**, v.21, n.1, p.81–7, 2010.

SHI, J.; WANG, L.; ZHANG, H.; JIE, Q.; LI, X.; SHI, Q. et al. Glucocorticoids: Dose-related effects on osteoclast formation and function via reactive oxygen species and autophagy. **Bone**, v.79, n.1, p.222-232, 2015.

SOBH, M. M.; ABDALBARY, M.; ELNAGAR, S.; NAGY, E.; ELSHABRAWY, N.; ABDELSALAM, M.; ASADIPOOYA, K.; EL-HUSSEINI, A. Secondary Osteoporosis and Metabolic Bone Diseases. **Journal Of Clinical Medicine**, v. 11, n. 9, p. 2382, 2022.

SOUSA FERREIRA, V. C.; LOPES, A. P.; ALVEZ, N.M.; SOUSA, F. R. N.; PEREIRA, K. M. A.; GONDIM, D. V. et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis induced change in alveolar bone architecture in rats with participation of Wnt signaling. **Clin Oral Investig.**, v.25, n.2, p.673–82, 2020.

TRAJANOSKA, K.; RIVADENEIRA, F. The genetic architecture of osteoporosis and fracture risk. **Bone**, v.126, p.2-10, 2019.

VASCONCELOS, R. F.; COSTA, V.; ARAUJO, B.; MAIS, T. A. C.; DIAS, R.; VASCONCELOS, L. et al. Milk kefir therapy improves the skeletal response to resistance exercise in rats submitted to glucocorticoid-induced osteoporosis. **Experimental Gerontology**, v.167, n1, p 1-10, 2022.

WANG, L.; HECKMANN, B. L.; YANG, X.; LONG, H. Osteoblast autophagy in glucocorticoid-induced osteoporosis. **J Cell Physiol.**, v.234, n.1, p.3207-3215, 2018.

XAVIER, A.; TOUMI, H.; LESPESSAILLES, E. Animal Model for Glucocorticoid Induced Osteoporosis: A Systematic Review from 2011 to 2021. **Molecular Sciences**, v.23, n.377, p. 1-22, 2022.

ZHENG, Y.; XIAO, Y.; ZHANG, D.; ZHANG, S.; OUYANG, J.; LI, L.; et al.
Geniposide Ameliorated Dexamethasone-Induced Cholesterol Accumulation in
Osteoblasts by Mediating the GLP-1R/ABCA1 Axis. **Cells**, v.10, n.3424, p.1-15, 2021.