



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS



Lídia Walter de Paula e Silva

**ESTUDO DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DO TERPENO ÁCIDO URSÓLICO
EM LINHAGENS TUMORAIS**

OURO PRETO

2025

Lídia Walter de Paula e Silva

**ESTUDOS DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DO TERPENO ÁCIDO URSÓLICO
EM LINHAGENS TUMORAIS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia pela Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto.

Orientadora: Prof. Dr.^a Glenda Nicioli da Silva

OURO PRETO

2025

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

S586e Silva, Lidia Walter de Paula e.
Estudos dos efeitos biológicos do terpeno ácido ursólico em linhagens
tumoriais. [manuscrito] / Lidia Walter de Paula e Silva. - 2025.
38 f.: il.: color., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Glenda Nicioli da Silva.
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola
de Farmácia. Graduação em Farmácia .

1. Antimetabólitos. 2. Ácido ursólico. 3. Bexiga - Câncer. 4. Ovários -
Tumores. I. Silva, Glenda Nicioli da. II. Universidade Federal de Ouro
Preto. III. Título.

CDU 615.3

Bibliotecário(a) Responsável: Soraya Fernanda Ferreira e Souza - SIAPE: 1.763.787



FOLHA DE APROVAÇÃO

Lídia Walter de Paula e Silva

Estudo dos efeitos biológicos do terpeno ácido ursólico em linhagens tumorais

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de farmacêutico

Aprovada em 02 de abril de 2025

Membros da banca

Dr. -Glenda Nicioli da Silva - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr. - Renata Tupinambá Branquinho - (Universidade Federal de Ouro Preto)
Dr. - Adriana Cotta Cardoso Reis - (Universidade Federal de Ouro Preto)

Glenda Nicioli da Silva, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 10/04/2025



Documento assinado eletronicamente por **Glenda Nicioli da Silva, VICE-DIRETOR(A) DA ESCOLA DE FARMÁCIA**, em 10/04/2025, às 08:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0893691** e o código CRC **D505B8BC**.

AGRADECIMENTOS ACADÊMICOS

Gostaria de expressar minha gratidão à Universidade Federal de Ouro Preto pelo ensino gratuito e de excelência. Agradeço também à Pró-reitora de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação pelo incentivo proporcionado por meio da concessão da bolsa de iniciação científica. À Escola de Farmácia, meu sincero agradecimento pelo acolhimento ao longo de toda a graduação. Sua história e seus ensinamentos certamente contribuíram de maneira significativa para o meu desenvolvimento profissional.

Sou grata aos órgãos de fomento FAPEMIG, CAPES e CNPq, que tornaram esta pesquisa financeiramente viável, bem como a todos os professores e técnicos que contribuíram direta e indiretamente para a minha formação. Em especial, à professora Glenda Nicioli da Silva, cuja orientação, conhecimento e exemplo como pesquisadora foram fontes constantes de inspiração e admiração.

Agradeço ao Laboratório de Pesquisas Clínicas da UFOP pelo acolhimento e pelos ensinamentos que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho. Minha gratidão também ao Grupo de Estudos e Pesquisas Toxicogenéticas, Epidemiológicas e Clínicas (G-TEC), por todo o conhecimento adquirido ao longo dessa trajetória

Por fim, gostaria de agradecer especialmente a Isadora Oliveira Ansaloni Pereira e a Kamila de Fátima Anunciação, pela paciência, troca de conhecimento e cumplicidade no laboratório.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Agradeço a Deus por me conceber coragem e força para lutar por este sonho.

Aos meus pais, por acreditarem em mim e pelo incentivo constante. Obrigada por fazerem de tudo para que eu pudesse me formar. Obrigada, papai e mamãe. Ao meu irmão por sempre me motivar e estar ao meu lado.

Agradeço também ao Michael, por tornar esse processo mais leve e tranquilo. Sua presença foi essencial para que eu pudesse seguir em frente com serenidade.

Sou imensamente grata à minha casa ouro-pretana, Vizinhas, por me acolherem e tornarem essa trajetória inesquecível. Aos meus inseparáveis amigos de graduação, Júlia, Maitê, Maria Cecília, Rafael e Thiago, foi gratificante poder me tornar farmacêutica ao lado de vocês. Às minhas queridas amigas Ana e Luana, por sempre me incentivarem e acreditarem no meu potencial. Vocês têm um lugar especial no meu coração.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisas Clínicas (LPC) e do Grupo de Estudos e Pesquisas Toxicogenéticas, Epidemiológicas e Clínicas (G-TEC), minha profunda gratidão pela parceria ao longo dessa jornada.

RESUMO

Os cânceres de bexiga e de ovário são neoplasias de alto custo para o sistema de saúde, devido a sua alta incidência, mortalidade e a dificuldade de diagnóstico nos estágios iniciais da doença. Apesar da alta prevalência dessas neoplasias no Brasil e no mundo, os protocolos quimioterápicos atuais envolvem a combinação de fármacos que ainda causam inúmeros efeitos tóxicos aos pacientes. O prejuízo à adesão e ao sucesso da terapia tem impulsionado estudos de novas alternativas terapêuticas. Nos últimos anos, compostos bioativos de origem vegetal tem sido alvo de pesquisas, que objetivam o desenvolvimento de um fármaco com maior especificidade e menores efeitos adversos para o tratamento do câncer. O ácido ursólico é um composto que pode ser obtido de diversos vegetais e frutas, com propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antitumorais. Entretanto, estudos que avaliam o potencial do ácido ursólico em linhagens tumorais de bexiga e de ovário de alto grau ainda são escassos. Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos do ácido ursólico em células do carcinoma de bexiga e de ovário, por meio dos testes de citotoxicidade (XTT), sobrevivência clonogênica, ensaio de cicatrização de feridas, morfologia celular e análise *in silico*. Os resultados deste estudo demonstraram redução expressiva da viabilidade celular de 51-75% na linhagem J82 ($IC_{50} = 9,27 \pm 1,75 \mu M$) e 49-65% na TOV-21G ($IC_{50} = 19,16 \pm 1,58 \mu M$). A capacidade de formação de colônias foi afetada, principalmente na linhagem derivada do câncer de ovário, em que todas as concentrações demonstraram redução da proliferação. Além disso, o tratamento com ácido ursólico afetou a capacidade de migração celular e causou alterações morfológicas sugestivas de morte celular em ambas as linhagens testadas. Nesse sentido, nosso estudo demonstrou que o ácido ursólico apresentou efeito antiproliferativo nas linhagens tumorais de bexiga e de ovário testadas, tornando-se uma potente alternativa terapêutica.

Palavras-chave: ácido ursólico; câncer de bexiga; câncer de ovário; antiproliferativo; *in silico*.

ABSTRACT

Bladder and ovarian cancer are neoplasms that impose a significant financial burden on healthcare systems due to their high incidence, mortality, and the complexity of diagnosing them in the early stages of the disease. Despite the high prevalence of these neoplasms in Brazil and worldwide, current chemotherapy protocols involve a combination of drugs that still cause numerous toxic effects to patients. This has led to a need for exploration of novel therapeutic alternatives, given the adverse impact on adherence and the efficacy of treatment. In recent years, there has been a focus on bioactive compounds of plant origin, with the aim of developing drugs with greater specificity and fewer adverse effects for the treatment of cancer. Ursolic acid, a naturally occurring compound found in various fruits and vegetables, has been shown to possess anti-inflammatory, antioxidant, and antitumor properties. However, studies evaluating the potential of ursolic acid in high-grade bladder and ovarian tumor cell lines are still scarce. The objective of this study was to assess the effects of ursolic acid on bladder and ovarian carcinoma cells employing a range of methodologies, including XTT assays, clonogenic survival tests, wound healing assays, cell morphology analysis, and *in silico* analysis. The findings of this study demonstrated a substantial decline in cell viability, ranging from 51% to 75% in the J82 strain ($IC_{50} = 9.27 \pm 1.75 \mu M$) and from 49% to 65% in TOV-21G ($IC_{50} = 19.16 \pm 1.58 \mu M$). The formation of colonies was found to be particularly impacted, particularly in the ovarian cancer lineage, where a decline in proliferation potential was observed across all concentrations. Furthermore, treatment with ursolic acid led to alterations in cell migration capacity and the induction of morphological changes indicative of cell death in both lineages examined. Consequently, the present study demonstrated that ursolic acid exerts an antiproliferative effect on bladder and ovarian tumor cell lines, establishing it as a promising therapeutic alternative.

Keywords: ursolic acid; bladder cancer; ovarian cancer; antiproliferative; *in silico*.

SUMÁRIO

RESUMO	5
1. INTRODUÇÃO	8
1.1 JUSTIFICATIVA	14
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS	18
5. DISCUSSÃO.....	26
6. CONCLUSÃO	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

Câncer é um grupo de doenças de origem multifatorial caracterizada pelo crescimento e divisão desordenada de células que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos distantes (INCA, 2023). As neoplasias malignas, atualmente, são um dos principais problemas de saúde pública do mundo, sendo uma das principais causas de morte prematura, isto é, antes dos 70 anos (SUNG et al., 2021).

O carcinoma de bexiga é a décima primeira neoplasia mais prevalente no âmbito mundial, sendo a 14ª causa de morte associada ao câncer (GLOBOCAN, 2022). A prevalência e mortalidade dessa neoplasia é três vezes maior em indivíduos do sexo masculino (SAGINALA et al., 2020). A incidência desse carcinoma demonstra-se elevada nos países mais ricos e em regiões afetadas pelos parasitas *Schistosoma haematobium*, como no norte da África (SAGINALA et al., 2020). No Brasil, o câncer de bexiga se apresenta como a 12ª neoplasia mais comum (INCA, 2023).

Diversos são os fatores de risco relacionados ao desenvolvimento do câncer de bexiga, como a predisposição genética e a exposição ambiental, e uma complexa interação entre esses fatores pode propiciar o surgimento e a progressão tumoral (MUSHTAQ et al., 2019). O principal fator de risco ambiental relacionado ao desenvolvimento do carcinoma de bexiga é o tabagismo (ZHANG et al., 2021). A fumaça do tabaco possui inúmeras substâncias carcinogênicas, que ao serem metabolizadas, entram em contato e causam toxicidade a bexiga urinária (AL-ZALABANI et al., 2016). A toxicidade ocorre devido à formação de adutos de DNA, favorecendo a ocorrência de mutações genéticas (AL-ZALABANI et al., 2016). Outro fator de risco importante é a exposição crônica a carcinógenos, dentre eles, as aminas aromáticas e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, sendo a segunda maior causa de câncer de bexiga (MUSHTAQ et al., 2019). Além disso, a redução da habilidade de reparo do DNA, associada ao processo natural de envelhecimento também é um fator associado ao desenvolvimento desse carcinoma (LENIS et al., 2020).

A herança genética está associada a aproximadamente 7% dos casos de câncer de bexiga (MUSHTAQ et al., 2019). Os fatores genéticos relacionados com as alterações hereditárias do DNA, como a Síndrome de Lynch, induzem o desenvolvimento do carcinoma de bexiga com mutações nos genes de reparo de erros de pareamento (VAN DER POST et al., 2010). Os tumores podem ser classificados conforme o grau de diferenciação celular, sendo os tumores de baixo grau bem diferenciados, e os tumores de alto grau pouco diferenciados (SAGINALA et al., 2020). Mutações pontuais no gene FGFR3 estão associados ao câncer de bexiga de baixo grau em 60% dos casos (DYRSKJØT et al., 2023). No carcinoma de bexiga

de alto grau, as mutações possuem notável heterogeneidade genética, sendo que as mutações nos genes TP53, RB1 e ATM as mais recorrentes (DYRSKJØT et al., 2023). Além disso, mutações nos genes de reparo MSH2, MLH1, MSH6 e PMA2 estão relacionadas com a progressão do carcinoma urotelial (VAN DER POST et al., 2010).

Noventa por cento dos casos de câncer de bexiga são de células uroteliais que revestem a bexiga, podendo ser classificadas como carcinoma de células transicionais de bexiga, divididos em carcinoma *in situ*, câncer músculo invasivo e câncer não músculo invasivo (PATEL; OH; GALSKY, 2020). Os outros tipos de câncer de bexiga são derivados de células uroteliais, que incluem o carcinoma de pequenas células, carcinoma de células escamosas e adenocarcinoma (DYRSKJØT et al., 2023). A recidiva e a progressão para o tipo invasivo pode acometer grande parte dos pacientes com tumores diferenciados submetidos a ressecção transuretral (PATEL; OH; GALSKY, 2020; ROBERTSON et al., 2020). Nos casos músculo-invasivos que evoluem para metástase, a taxa de sobrevida em 5 anos é menor que 30% (PATEL; OH; GALSKY, 2020; SIEGEL, MILLER, JAMAL, 2018).

Em consequência do rápido avanço tecnológico, as técnicas de diagnóstico do câncer de bexiga estão, gradativamente, tornando-se menos invasivas e mais sensíveis (HU et al., 2022). Atualmente, o diagnóstico clínico mais realizado é a cistoscopia com citologia urinária, além da utilização de biomarcadores e da tomografia computadorizada (HU et al., 2022). O diagnóstico precoce, principalmente antes que ocorra a invasão muscular, corrobora para um tratamento efetivo, podendo ser controlada com efeito mínimos na sobrevivência (TRAN et al., 2021). A hematúria indolor visível ou não visível, comumente detectado no exame de sangue, é o principal sintoma associado ao câncer de bexiga, ocorrendo em cerca de 75% dos casos de pacientes com este carcinoma (KHADHOURI et al., 2021).

Os tratamentos mais utilizados são de caráter cirúrgico, como a Ressecção Transuretral (RTU), ou seja, remoção da área tumoral, e a cistectomia que é a remoção da bexiga de forma radical ou parcial (CHANG et al., 2016). Após a RTU, quando o tumor não é músculo invasivo, a imunoterapia com Bacilo Calmette-Guérin (BCG) é utilizada como tratamento adjuvante, com o objetivo de estimular a liberação de citosinas pelo sistema imune que podem eliminar as células tumorais remanescentes (AHMADI, DUDDALWAR, DANESHMAND, 2021; LENIS et al., 2020). O câncer de bexiga músculo-invasivo exige um tratamento agressivo, por meio da remoção parcial ou total da bexiga, devido a alta letalidade e capacidade de evolução a tumor metastático (LOBO et al., 2017; SAGINALA et al., 2020).

Os esquemas terapêuticos mais utilizados para o tratamento do câncer de bexiga são a combinação de metotrexato, vimblastina, doxorubicina e cisplatina (M-VAC), bem como a

combinação de gencitabina e cisplatina (GC) (TRAN et al., 2021; LENIS et al., 2020; YU et al., 2018). O protocolo GC demonstrou maior eficácia, melhor segurança e tolerabilidade em comparação com M-VAC, além de reduzir significativamente a neutropenia, um dos efeitos colaterais relevantes na quimioterapia (TRAN et al., 2021; LENIS et al., 2020; YU et al., 2018). A terapia com M-VAC apresenta como efeitos tóxicos supressão medular, náuseas, vômitos e estomatite (ARAI et al., 2018). O tratamento com GC aumenta os riscos de trombocitopenia (YU et al., 2018). Assim, observa-se que os protocolos quimioterápicos atuais apresentam diversos efeitos adversos sistêmicos que podem influenciar na adesão e sucesso da terapia e na sobrevida dos pacientes que fazem uso desses fármacos (SILVA et al., 2010).

O carcinoma de ovário é a décima neoplasia mais prevalente no mundo, sendo a oitava causa de morte associada ao câncer (GLOBOCAN, 2022). No Brasil, o câncer de ovário é o segundo tipo de neoplasia maligna ginecológico mais comum e, em 2020, ocorreram 3.920 óbitos no mundo, tendo como causa este carcinoma (INCA, 2023). Embora, tenham ocorrido avanços no tratamento, e o uso de pílulas anticoncepcionais tenha refletido em redução nos casos de câncer de ovário, essa neoplasia ainda é um dos cânceres ginecológicos femininos mais fatais (WALKER et al., 2015).

Os fatores de risco associados ao desenvolvimento do carcinoma de ovário são diversos, ocorrendo, principalmente, em mulheres na pós-menopausa, em que o avançar da idade contribui para o aumento do risco (SAMBASIVAN et al., 2022). Além disso, a endometriose, obesidade e o tabagismo também estão relacionados com a progressão do carcinoma ovariano (SAMBASIVAN et al., 2022). Os fatores de risco não modificáveis, associados a predisposição hereditária, correspondem a 20% dos casos de câncer de ovário (SAMBASIVAN et al., 2022). Mutações da linhagem germinativa em genes associados a susceptibilidade ao câncer de mama, BRCA 1 e BRCA 2, representam um risco de 40% à 60% para a mutação no BRCA 1 e de 11% à 27% para o BRCA 2 (RYAN et al., 2018). Isso porque, os genes BRCA 1 e 2 são supressores tumorais e desempenham um papel fundamental no reparo de DNA (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). Outras condições hereditárias, como o câncer colorretal hereditário sem polipose (Síndrome de Lynch) apresentam mutações em genes de reparo de incompatibilidade que também estão associadas ao carcinoma de ovário (RYAN et al., 2018).

De acordo com a classificação da Organização Mundial da Saúde, o carcinoma ovariano pode ser classificado como: seroso de alto grau, seroso de baixo grau, endometriode, células claras e cânceres mucinosos (REDONDO et al., 2020). Cada um

desses carcinomas apresenta clínica, resposta a tratamentos e prognósticos distintos (REDONDO et al., 2020). O carcinoma seroso de alto grau é o câncer epitelial ovariano mais comum, representando noventa por cento dos casos, e os demais ocorrem nas células do tecido conjuntivo e nas células germinativas (JAYSON et al., 2014). Além disso, o câncer epitelial de alto grau apresenta mutações no gene TP53 associada à mutação em BRCA em 96% das ocorrências (SANTANDREA et al., 2021).

Em geral, inchaço abdominal, dor abdominal, aumento da frequência urinária, saciedade precoce e alteração dos hábitos intestinais são os sintomas relacionados ao câncer de ovário (CRUM et al., 2007). Devido à falta de sintomas típicos que indicam a presença da neoplasia e de testes de triagem sensíveis para esta doença, setenta por cento dos casos de câncer de ovário só são diagnosticados nos estágios III e IV (SIEGEL et al., 2018; PROTANI et al., 2012). O prognóstico da doença depende do estágio em que ela foi diagnosticada, de forma que no estágio I a taxa de sobrevida é de 90% em 5 anos, no estágio II a taxa decai para 80% (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2020).

O rastreio depende da realização da ultrassonografia transvaginal com a ultrassonografia abdominal e/ou pélvica, a fim de identificar o tamanho, local e a complexidade da massa ovariana (SAMBASIVAN et al., 2022). Os biomarcadores são utilizados juntos da ultrassonografia, como o CA 125, que se apresenta elevada especificidade, principalmente, no carcinoma seroso de alto grau (SLATNIK et al., 2015; SAMBASIVAN et al., 2022). A proteína 4 do epidídimo humano, concomitante ao CA125, possibilita a identificação do tumor ovariano maligno (SLATNIK et al., 2015; SAMBASIVAN et al., 2022). O diagnóstico da doença, por ser realizado por meio de uma biópsia de tecido, utiliza uma agulha grossa que irá aspirar o tecido, possibilitando a sua análise (STEWART et al., 2019). Apesar dos avanços no tratamento, como a cirurgia citorrredutora e tratamentos adjuvantes mais recentes, a sobrevivência global mantém-se baixa, sendo 40% no estágio III e 20% no estágio IV (O'SHEA, 2022).

O tratamento padrão para esta neoplasia é a cirurgia seguida de quimioterapia combinada, a depender do estágio e das condições da paciente (WALKER et al., 2015). As cirurgias visam estabelecer o estadiamento cirúrgico, reduzir o volume do tumor, remover os ovários e as trompas de Falópio, além da laqueadura (WALKER et al., 2015). A quimioterapia subsequente tem como objetivo garantir que resquícios de células ovarianas tumorais sejam completamente eliminadas, reduzindo as chances de recidiva (MALLEN et al., 2018). A realização da terapia neoadjuvante e adjuvante com o uso de fármacos a base de platina, como a carboplatina ou a cisplatina em combinação com paclitaxel pode ser

necessária, a fim de reduzir a carga tumoral (MALLEN et al., 2018). O tratamento com os inibidores da poli (ADP-ribose) polimerase (PARP) é relativamente novo e sua atividade está relacionada com a inibição dessa proteína, impedindo o reparo de danos causados pela quimioterapia e o crescimento tumoral (O'MALLEY et al., 2023). Entretanto, apesar dos grandes avanços, os tratamentos farmacológicos atuais ainda apresentam alta toxicidade, como trombocitopenia, alopecia e neuropatia, que podem reduzir a taxa de sobrevivência dos pacientes (BOYD et al., 2018).

Dessa forma, apesar dos diversos avanços terapêuticos, o câncer continua sendo uma das principais causas de morte no mundo (SUNG et al., 2021). As falhas no tratamento do câncer estão associadas ao desenvolvimento de resistência medicamentosa, à progressão da doença e à toxicidade limitada às células cancerígenas de medicamentos potentes (SCHIRRMACHER V., 2019). Nesse contexto, compostos advindos de plantas têm sido alvo de diversos estudos como potenciais agentes quimioterápicos por apresentarem boa eficácia no tratamento antineoplásico e efeitos adversos menos pronunciados (Figura 1).

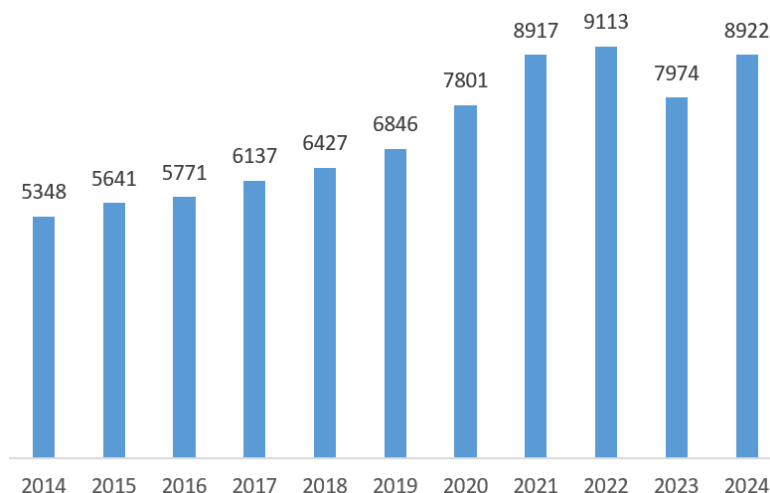


Figura 1: Número de artigos sobre o uso de compostos obtidos de plantas no tratamento de diferentes tipos de câncer publicados nos últimos 10 anos. Pesquisa realizada com os termos “cancer” e “*plant-derived compounds or natural products or bioactive compounds or phytochemicals*” na base de dados PubMed em Janeiro/2025.

O ácido ursólico (AU) 3-(ácido β -hidroxi-urs-12-em-28-óico) (Figura 2), um composto bioativo isolado de fontes naturais que tem se destacado em pesquisas científicas, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais, antioxidantes e antiproliferativas (KORNEL et al., 2022; SYCZ et al., 2022; AL-KURAISHY et al., 2022; HABTEMARIAM et al., 2019). O composto é classificado como triterpenoide pentacíclico,

apresentando um esqueleto de carbono de 6 unidades de isopreno (PANDA et al., 2022). Além da presença de grupos funcionais como um grupo carboxílico em C28, um alceno em C12-C13 e a função β -hidroxi em C3 (Figura 2) (PANDA et al., 2022). O AU pode ser isolado de diversos produtos vegetais, dentre eles a maçã, limão, laranja, café, lavanda, azeitona e outros vegetais (MLALA et al., 2019). Estudos têm destacado o AU como um fármaco promissor para o tratamento de variados tipos de cânceres, como próstata, pulmão, bexiga e pancreático (KORNEL et al., 2022; KORNEL et al., 2023; ZHENG et al., 2013; PRASAD et al., 2016). Pesquisas demonstraram que, além da sua ampla gama de atividades biológicas, abundância presença em produtos vegetais e variadas atividades farmacológicas, o AU também apresenta baixa toxicidade sistêmica e atividade antiproliferativa (PANDA et al., 2022).

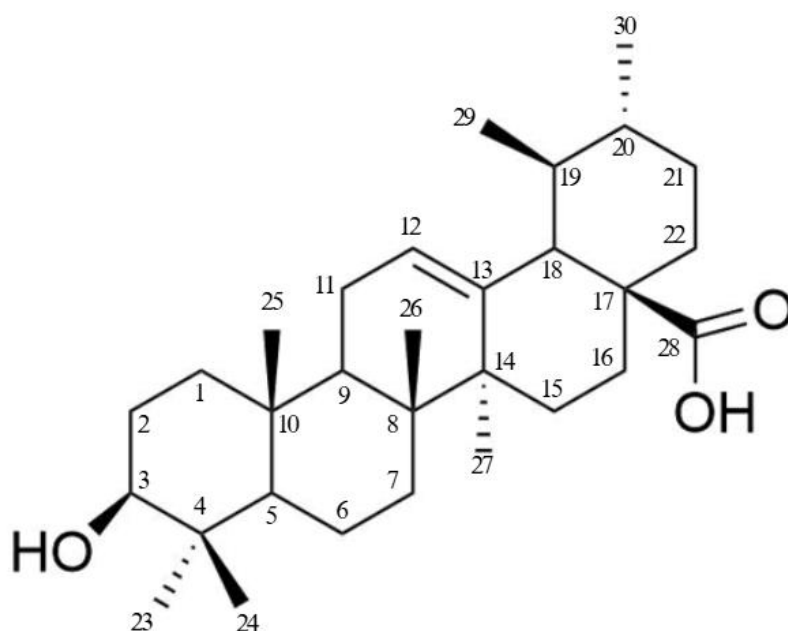


Figura 2: Estrutura química do composto ácido ursólico

A atividade do AU contra o câncer de bexiga e de ovário foi demonstrada em alguns estudos que analisaram as linhagens T24 e SKOV3 (ZHANG et al., 2013; ZHANG et al., 2025). Entretanto, é de suma importância a pesquisa dos efeitos do AU em diversas linhagens celulares, já que a presença de diferentes mutações influencia na resposta farmacológica. Não há relatos na literatura de estudos que utilizam o AU no tratamento do câncer de bexiga e de ovário utilizando as linhagens J82 e TOV-21G, respectivamente.

Nesse cenário, o presente estudo tem por objetivo investigar os efeitos do composto ácido ursólico nas linhagens tumorais de bexiga (J82) e ovário (TOV-21G), a fim pesquisar um tratamento com maior eficácia terapêutica e menores efeitos colaterais.

1.1 JUSTIFICATIVA

Apesar dos avanços terapêuticos, o câncer permanece sendo uma das principais causas de morte no mundo. O desenvolvimento de resistência medicamentosa, a progressão da doença e a toxicidade sistêmica dos medicamentos impulsiona estudos que avaliam novas alternativas terapêuticas. Pesquisas destacam a potencialidade do composto bioativo ácido ursólico no tratamento de alguns tipos de cânceres. Porém, estudos que avaliam o potencial antineoplásico do ácido ursólico em linhagens tumorais de bexiga J82 e de ovário TOV-21G ainda são escassos, justificando a realização deste trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos antitumorais do ácido ursólico em linhagens de carcinoma de bexiga (J82) e de ovário (TOV-21G).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o estudo da análise *in silico* do composto AU e compará-lo com os outros resultados;
- Analisar a citotoxicidade do AU sobre células de tumor de bexiga e de ovário de alto grau;
- Avaliar os efeitos do AU sobre a capacidade reprodutiva celular, refletida na formação de clones celulares;
- Avaliar os efeitos do AU sobre a morfologia celular;
- Avaliar os efeitos do AU sobre a migração celular.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

O meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), o meio de cultura branco (DMEM sem vermelho de fenol), a penicilina G, a estreptomicina e a tripsina/EDTA foram adquiridas da Sigma-Aldrich (Saint Louis, EUA). Anfotericina B foi adquirida de Cristália (Itapira, Brasil). O soro fetal bovino foi obtido da Cultilab Ltda. (Campinas, Brasil). Os solventes dimetilsulfóxido (DMSO), hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol foram adquiridos da Synth (Brasil). O kit Cell Proliferation II, em que utiliza o sal tetrazólico como reagente, denominado 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazólio-5-carboxanilida (XTT), foi adquirido da Roche Diagnostics (Mannheim, Alemanha).

O composto AU foi extraído das folhas da planta *Fridericia formosa* (Bureau) e gentilmente cedido pelo Professor Dr. Geraldo Célio Brandão. A obtenção do composto sucedeu-se com a secagem do material em estufa ventilada a 40°C, moagem em moinho de facas, submissão à extração com etanol e filtração em coluna sílica gel. O AU foi identificado por meio do espectro infravermelho, espectro de massas e espectro de ressonância magnética nuclear (RMN, ^1H e ^{13}C), comparando-se com os respectivos espectros presentes na literatura. Dessa forma, após a obtenção do ácido ursólico, realizou-se a dissolução do composto em DMSO a 10 mg/mL. As concentrações de tratamento foram definidas de modo que o teor final de DMSO, no meio de cultura com diferentes tratamentos, não excedesse 1%, a fim de garantir a confiabilidade dos experimentos.

3.2 Linhagens celulares

A linhagem celular de câncer de bexiga urotelial humano J82 foi adquirida do Banco de Células do Rio de Janeiro, Brasil. Esta linhagem é derivada do tumor de alto grau com três mutações pontuais no gene TP53, sendo duas no éxon 8 (códon 271 Glu (GAG) $\rightarrow$ Lis (AAG); códon 274 Val (GTT) $\rightarrow$ Phe (TTT)) e uma no éxon 9 (códon 320 Lys (AAG) $\rightarrow$ Asn (AAC)) (Pandey et al., 2018; Earl et al., 2015).

A linhagem celular TOV-21G (ATCC[®] CRL-11730[™]) deriva-se do adenocarcinoma maligno de grau III e apresenta mutação no gene TGFBR2 no éxon 3, responsável pela codificação do receptor tipo II do TGF- β (PROVENCHER et al., 2000). Ambas as linhagens celulares foram cultivadas em meio DMEM com baixo teor de glicose e suplementadas com 10% de soro fetal bovino, sendo mantidas em estufa a 37°C com 5% de CO₂ (Lima et al., 2020).

3.3 Análise *In Silico*

A análise *in silico* do ácido ursólico foi realizada por meio do programa *Prediction Activity Spectrum of Substances* (PASS). O PASS online é um software que avalia o potencial biológico geral de uma molécula orgânica no corpo humano de acordo com o seu arranjo estrutural. Assim, o software fornece previsões da atividade biológica de um composto antes da realização da síntese química e de ensaios biológicos. Os resultados das análises do PASS são expressos como uma probabilidade de que o composto seja ativo (Pa) ou inativo (Pi) para atividade ou mecanismo específico (www.way2drug.com/PassOnline/) (Seibert et al., 2019). Quatro efeitos antitumorais e oito mecanismos de ação relacionados ao processo antitumoral foram selecionados e analisados. Os resultados foram expressos como a diferença entre Pa e Pi e classificados da seguinte forma: $Pa - Pi < 0,2$: baixo potencial; $Pa - Pi < 0,5$: potencial moderado; $Pa - Pi \geq 0,5$: alto potencial.

3.4 Ensaio de citotoxicidade (XTT)

A citotoxicidade do ácido ursólico foi avaliada por meio do ensaio de viabilidade celular XTT (Cell Proliferation Kit II, ROCHE Diagnostics, Mannheim, Alemanha), com o objetivo de determinar três concentrações de ácido ursólico e o tempo de tratamento a serem utilizadas nos experimentos subsequentes. Nesse sentido, as concentrações 1,06 μM , 3,12 μM , 6,25 μM , 12,5 μM , 25 μM e 50 μM foram selecionadas com base em outros estudos do nosso grupo (SILVA, et al., 2010). Simultaneamente, células não tratadas foram utilizadas como controle. As linhagens celulares foram semeadas em placas de cultura de 24 poços com densidade celular de 1×10^5 células por poço em triplicata. Após o período de 24 horas, as células foram expostas às diferentes concentrações de ácido ursólico.

Decorrido os três tempos de tratamento (24, 48 e 72 horas), as células foram lavadas com solução de Hanks (composição: 0,4 g de KCl, 0,06 g de Na_2HPO_4 , 0,35 g de NaHCO_3 , 1 g de glicose e 8 g de NaCl em 1000 mL de H_2O). Adicionou-se o meio de cultura branco (DMEM sem vermelho de fenol). Em seguida, foram incubadas em estufa com solução de sal de tetrazólio (XTT) por aproximadamente 1 hora. Após o período de incubação, a absorbância do corante foi medida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 450 nm. Considerando-se que a absorbância é proporcional ao número de células viáveis, a absorbância foi utilizada para traçar a curva de viabilidade celular. (Lima et al., 2020).

A escolha das concentrações e o tempo de tratamento realizou-se por meio do cálculo da concentração inibitória média (IC_{50}). O valor de IC_{50} foi definido como a concentração de AU capaz de reduzir em 50% a viabilidade celular em comparação ao grupo controle. Desse modo, os resultados foram plotados em uma curva dose-resposta, a curva foi ajustada por

regressão não linear do tipo sigmoide e a análise foi realizada com um intervalo de confiança de 95%.

3.5 Ensaio de sobrevivência clonogênica

A avaliação dos efeitos do tratamento com o ácido ursólico a longo prazo foi realizada por meio do ensaio de sobrevivência clonogênica. As linhagens celulares foram semeadas em placas de cultura de 24 poços, contendo 1×10^5 células por poço, e incubadas em estufa a 37°C com atmosfera de 5% de CO₂ por 24 horas. Após o tempo de incubação, as linhagens celulares foram tratadas com as concentrações de 6,25 µM, 12,5 µM e 25 µM para a linhagem J82; e 12,5 µM, 25 µM e 50 µM para a linhagem TOV-21G, definidas no ensaio de citotoxicidade. Células não tratadas foram utilizadas como controle. Após o período de 24 horas de tratamento, as células foram lavadas com solução de Hanks, foi adicionado tripsina e realizado o replaqueamento em placa de 12 poços na densidade de 1×10^3 células por poço.

Aguardado o tempo para que as células do controle não tratado atingissem a confluência máxima (entre 7 a 10 dias), prosseguiu-se com o experimento. Dessa forma, todos os grupos celulares foram lavados com solução de Hanks e fixados com solução de formaldeído 4% por 20 minutos. Após o processo de fixação, as células foram hidratadas com metanol 100% por 20 minutos, coradas com solução de cristal violeta 0,5% e dissolvidas em metanol 25% por 5 minutos. Em seguida, os poços foram lavados delicadamente com água deionizada e aguardado o tempo de secagem em temperatura ambiente. Adicionou-se aos poços a solução de ácido acético 33%, e o seu conteúdo foi transferido para uma placa de 96 poços. Assim, foi realizada a leitura no comprimento de onda de 571 nm em espectrofotômetro e o teste foi executado em triplicata técnica (HUANG et al., 2018).

3.6 Ensaio de cicatrização de feridas

Na avaliação do efeito do ácido ursólico sobre a migração celular, 1×10^5 células por poço foram semeadas em placa de 24 poços e incubadas por 24 horas. Após o período de incubação, realizou-se o tratamento por 24 horas com três diferentes concentrações de ácido ursólico previamente definidas. O grupo não tratado foi utilizado como controle. A linhagem J82 foi tratada com as concentrações 6,25 µM, 12,5 µM e 25 µM, enquanto a linhagem TOV-21G com 12,5 µM, 25 µM e 50 µM. Imediatamente após o tratamento, uma arranhadura suave foi feita com a ponta de uma ponteira de 200 µL, em linha reta ao centro do poço. Após os tempos de 0h, 24h e 48h de tratamento, os poços foram fotografados através do software Moti Connect, em microscópio óptico com luz invertida em aumento de 40x. O software ImageJ®

foi utilizado realizar as medições da migração celular (Barros et al., 2020). A comparação das distâncias de migração foi calculada subtraindo a largura do arranhão após o tratamento pela fenda fotografada no tempo 0.

3.7 Ensaio de morfologia celular

Para avaliar os efeitos do ácido ursólico sobre a morfologia celular, 1×10^5 células foram semeadas em placas de 24 poços. Após 24 horas, as células foram tratadas em diferentes concentrações e um grupo não tratado foi definido como controle. A linhagem J82 foi tratada com as concentrações 6,25 μM , 12,5 μM e 25 μM , e a linhagem TOV-21G com 12,5 μM , 25 μM e 50 μM . Imediatamente após o tratamento, 24, 48 e 72 horas depois, as células foram fotografadas por meio do software Moti Connect em microscópio óptico com luz invertida, no aumento de 200x (Da Silva et al., 2012).

3.8 Análise estatística

As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software GraphPad Prism® 8. Os experimentos foram realizados em triplicata. A significância estatística foi calculada por meio da análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey. Os dados são apresentados com a média e o desvio padrão. A significância estatística estabelecida foi $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Análise *In Silico*

A análise *In Silico* do composto ácido ursólico obteve uma série de atividades biológicas e mecanismos de ação, em que as atividades relacionadas com o potencial efeito antitumoral foram selecionadas e apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Análise *in silico* do potencial efeito antitumoral e mecanismos de ação do ácido ursólico utilizando o programa PASS online.

Atividade Biológica	Valor de Pa - Pi
Antineoplásico	0,851
Quimiopreventivo	0,786
Antimetastático	0,594

Anticarcinogênico	0,239
Mecanismo de ação	
Estimulante de fator de transcrição	0,926
Estimulante da caspase 3	0,909
Agonista de apoptose	0,886
Antagonista da integridade da membrana	0,882
Estimulante da caspase 8	0,833
Inibidor de DNA ligase (ATP)	0,647
Inibidor do fator de transcrição NF-kB	0,636
Inibidor da expressão de JAK2	0,242

4.2 Ensaio de Citotoxicidade (XTT)

As linhagens celulares de carcinoma de bexiga (J82) e de carcinoma de ovário (TOV-21G) foram tratadas com ácido ursólico nas concentrações de 1,06 μM , 3,12 μM , 12,5 μM , 25 μM e 50 μM . A avaliação da linhagem J82 demonstrou que, após 24 horas de tratamento, as concentrações de 12,5 μM , 25 μM e 50 μM reduziram a viabilidade celular em relação ao grupo controle de 51 a 75% (Figura 2, a). Passadas 48 horas de tratamento com ácido ursólico, as concentrações de 6,25 μM , 12,5 μM , 25 μM e 50 μM apresentaram uma redução da viabilidade celular em relação ao controle de 36-83% (Figura 2, b). E, após 72 horas de tratamento, apenas as concentrações de 25 μM e 50 μM apresentaram diminuição significativa na viabilidade celular em relação ao grupo controle (Figura 2, c).

Desse modo, a realização do cálculo do IC_{50} demonstrou que o tempo de 24 horas para a linhagem J82 apresentou melhor distribuição dos pontos na curva, sendo selecionado para execução dos testes posteriores. Além disso, o valor obtido com o cálculo da concentração inibitória correspondente a 50% para a linhagem J82 foi $\text{IC}_{50} = 9,27 \pm 1,75 \mu\text{M}$. Logo, as concentrações 6,25 μM , 12,5 μM e 25 μM foram indicadas para a realização dos testes subsequentes.

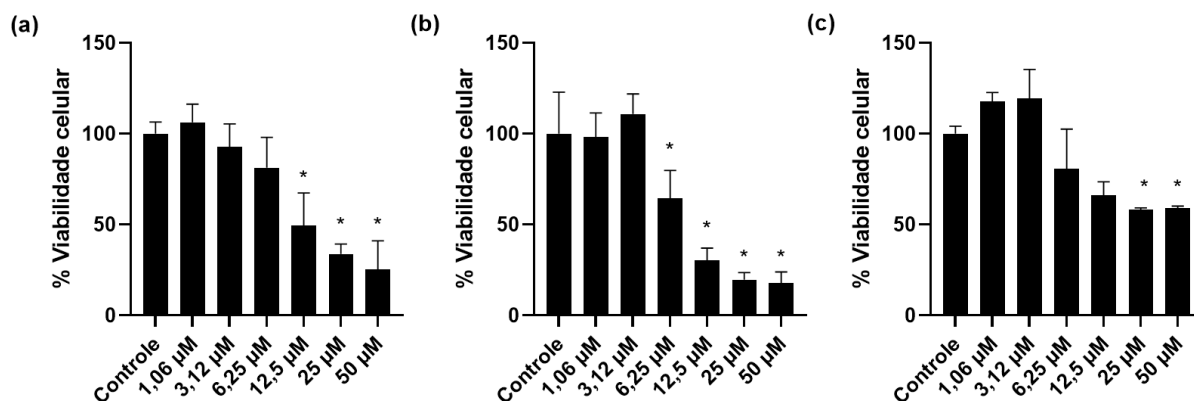


Figura 2: Ensaio de citotoxicidade referente a linhagem celular J82 derivada do carcinoma de bexiga após 24 (a), 48 (b) e 72 horas (c) de tratamento, respectivamente, com ácido ursólico. * $p > 0,05$ comparado com o controle. Controle: controle não tratado.

A avaliação da linhagem celular derivada de câncer de ovário (TOV-21G) após 24 horas de tratamento, demonstrou que os grupos tratados com as concentrações de 25 µM e 50 µM de ácido ursólico apresentaram redução da viabilidade celular em relação ao grupo controle de 49-65% (Figura 3, a). Passadas 48 horas de tratamento com ácido ursólico, as concentrações de 25 µM e 50 µM levaram à redução significativa na viabilidade celular quando comparado ao controle de 75-82% (Figura 3, b). E após 72 horas de tratamento, grupos tratados com as concentrações de 12,5 µM, 25 µM e 50 µM apresentaram diminuição significativa no número de células viáveis.

A realização dos cálculos do IC_{50} possibilitou a escolha de concentrações que apresentam a porcentagem de viabilidade próxima a 50%. O tempo de tratamento definido para a linhagem celular TOV-21G com base no IC_{50} foi de 24 horas, uma vez que os pontos da curva apresentaram melhor distribuição. O IC_{50} obtido para a TOV-21G foi $IC_{50} = 19,16 \pm 1,58$ µM, sendo selecionado as concentrações 12,5 µM, 25 µM e 50 µM para a execução dos testes posteriores.

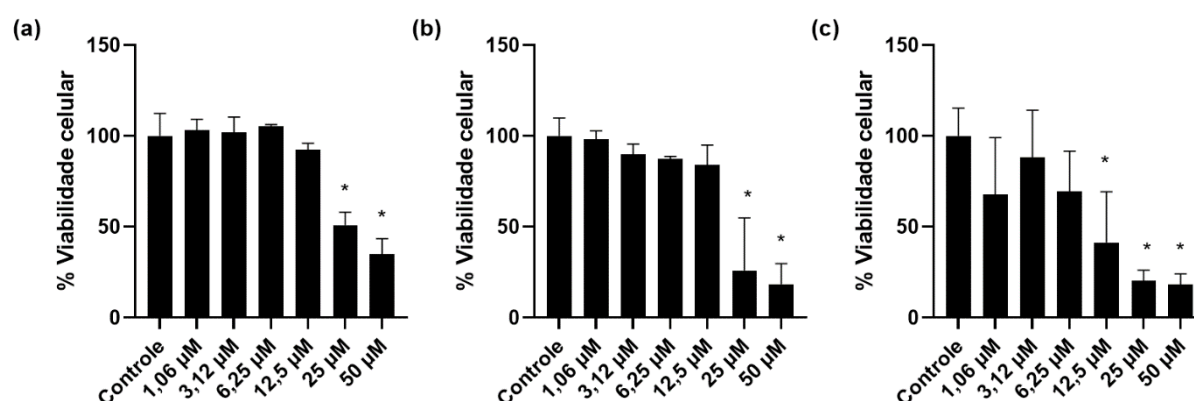


Figura 3: Ensaio de citotoxicidade referente a linhagem celular TOV-21G, derivada do carcinoma de ovário, após 24 (a), 48 (b) e 72 horas (c) de tratamento com ácido ursólico. * $p > 0,05$ comparado com o controle. Controle: controle não tratado.

4.3 Ensaio de sobrevivência clonogênica

Os resultados referentes ao experimento de sobrevivência clonogênica para a linhagem J82 (Figura 4) demonstraram que as concentrações 12,5 μM e 25 μM reduziram a formação de clones de forma significativa quando comparadas ao controle não tratado.

A linhagem celular TOV-21G (Figura 5) apresentou redução da formação em clones de forma significativa em todas as concentrações testadas (12,5 μM , 25 μM e 50 μM), comparando-se ao grupo controle.

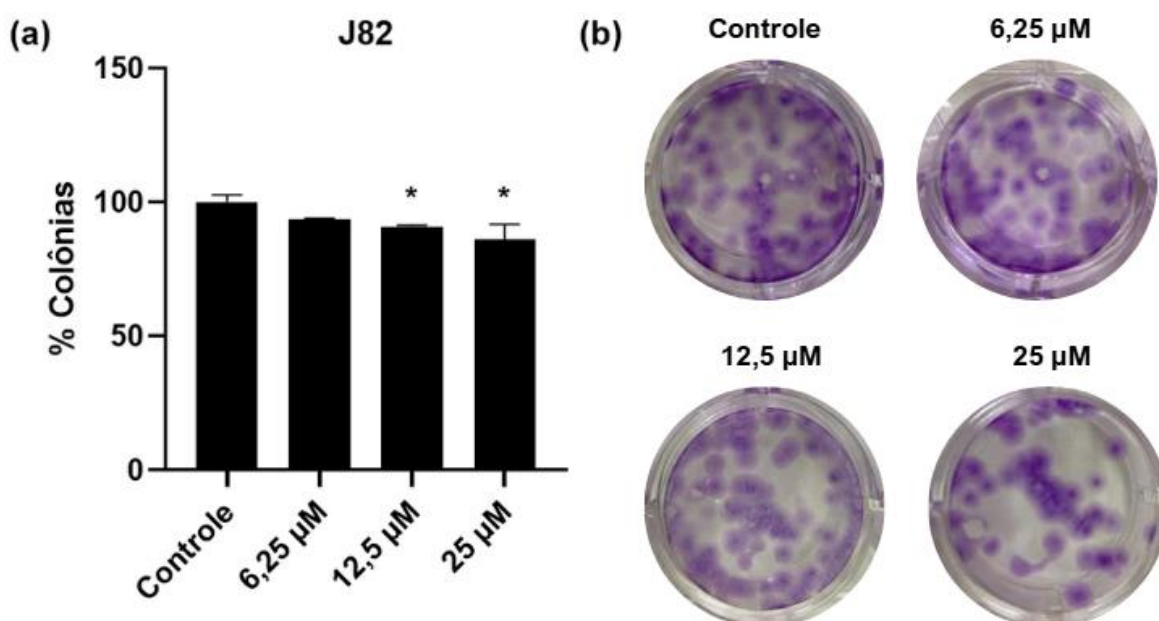


Figura 4: (a) Porcentagem de formação de colônias referente à linhagem celular J82, derivada de carcinoma de bexiga, após 24 horas de tratamento com ácido ursólico. (b) Imagens dos poços da linhagem J82 após a fixação das células e coloração com o corante cristal violeta. * $p > 0,05$ comparado com o controle. Controle: controle não tratado.

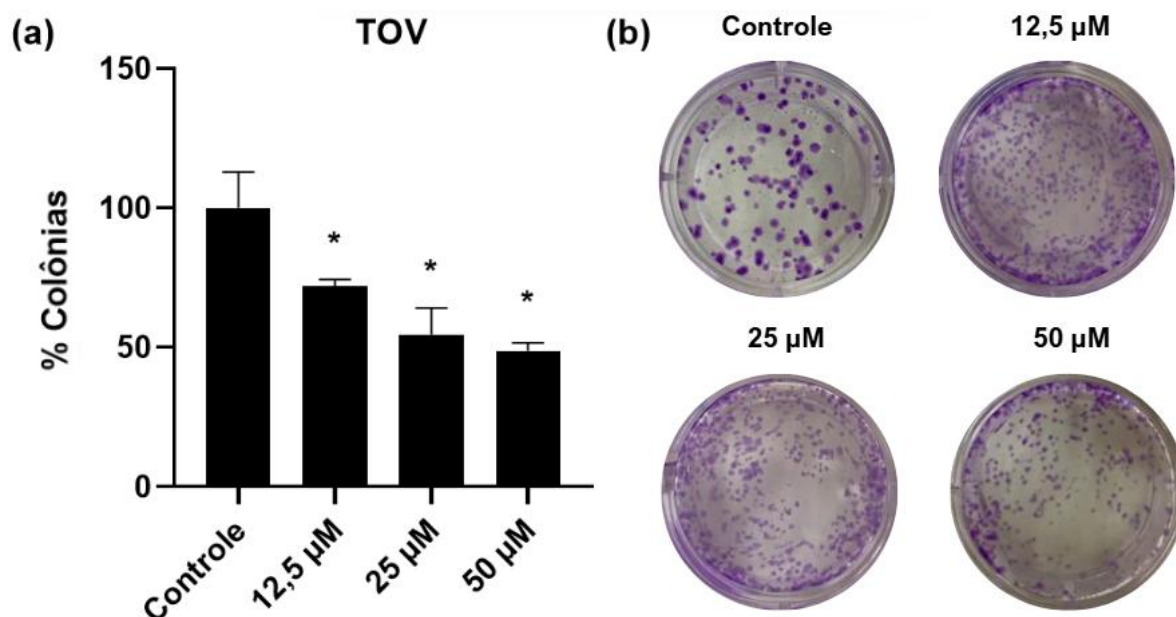


Figura 5: (a) Porcentagem de formação de colônias da linhagem celular TOV-21G, derivada do carcinoma de ovário, após 24 horas de tratamento com ácido ursólico. (b) Imagens dos poços da linhagem TOV-21G após a fixação das células e coloração com o corante cristal violeta. * $p > 0,05$ comparado com o controle. Controle: controle não tratado.

4.4 Ensaio de cicatrização de feridas

No ensaio de cicatrização de feridas, a análise dos resultados da linhagem celular J82 (Figura 6) constatou que após 24 horas de tratamento com AU (Figura 6, b), as maiores concentrações, 12,5 µM e 25 µM, reduziram significativamente a migração celular quando comparadas com o grupo controle. A avaliação do tempo de 48 horas (Figura 6, c), demonstrou a ocorrência do fechamento da fenda do grupo controle e observou-se que todas as concentrações testadas levaram à inibição da migração celular quando comparadas com o controle.

Na linhagem celular TOV-21G (Figura 7), foi observada a redução na migração celular em todas as concentrações testadas (12,5 µM, 25 µM e 50 µM) em ambos os tempos avaliados, 24 e 48 horas, quando comparadas com o grupo controle (Figura 7 b e c, respectivamente). Após 48 horas, ocorreu o fechamento da fenda do grupo controle.

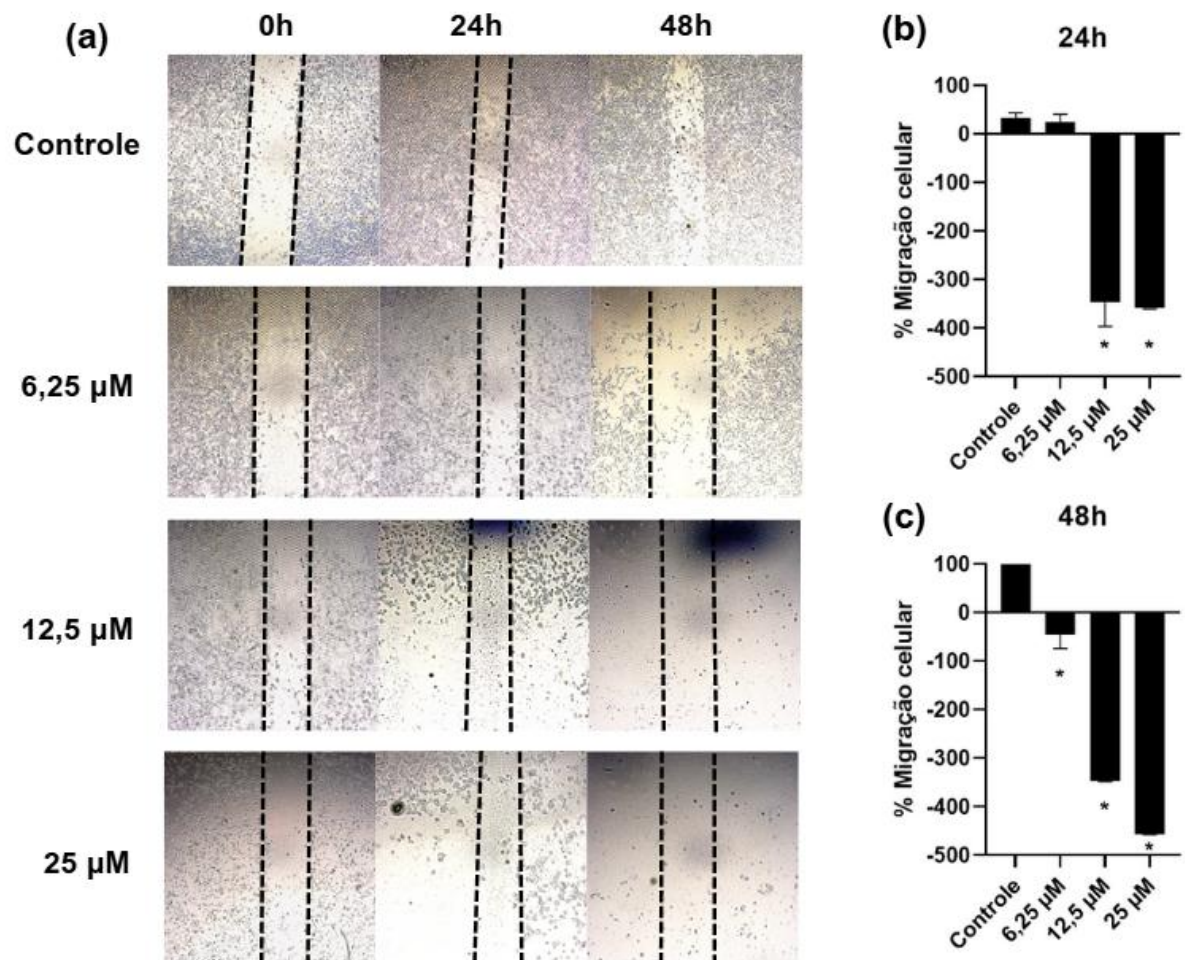


Figura 6: Fotomicrografias das fendas formadas na monocamada celular antes e após 24, 48 e 72 horas de tratamento com ácido ursólico no ensaio de migração celular com a linhagem J82. * $p < 0,05$ comparado ao controle. T0: tempo 0, em que foram realizados o tratamento e a arranhadura nos poços. T1: 24 horas após o tratamento. T2: 48 horas após o tratamento. T3: 72 horas após o tratamento.

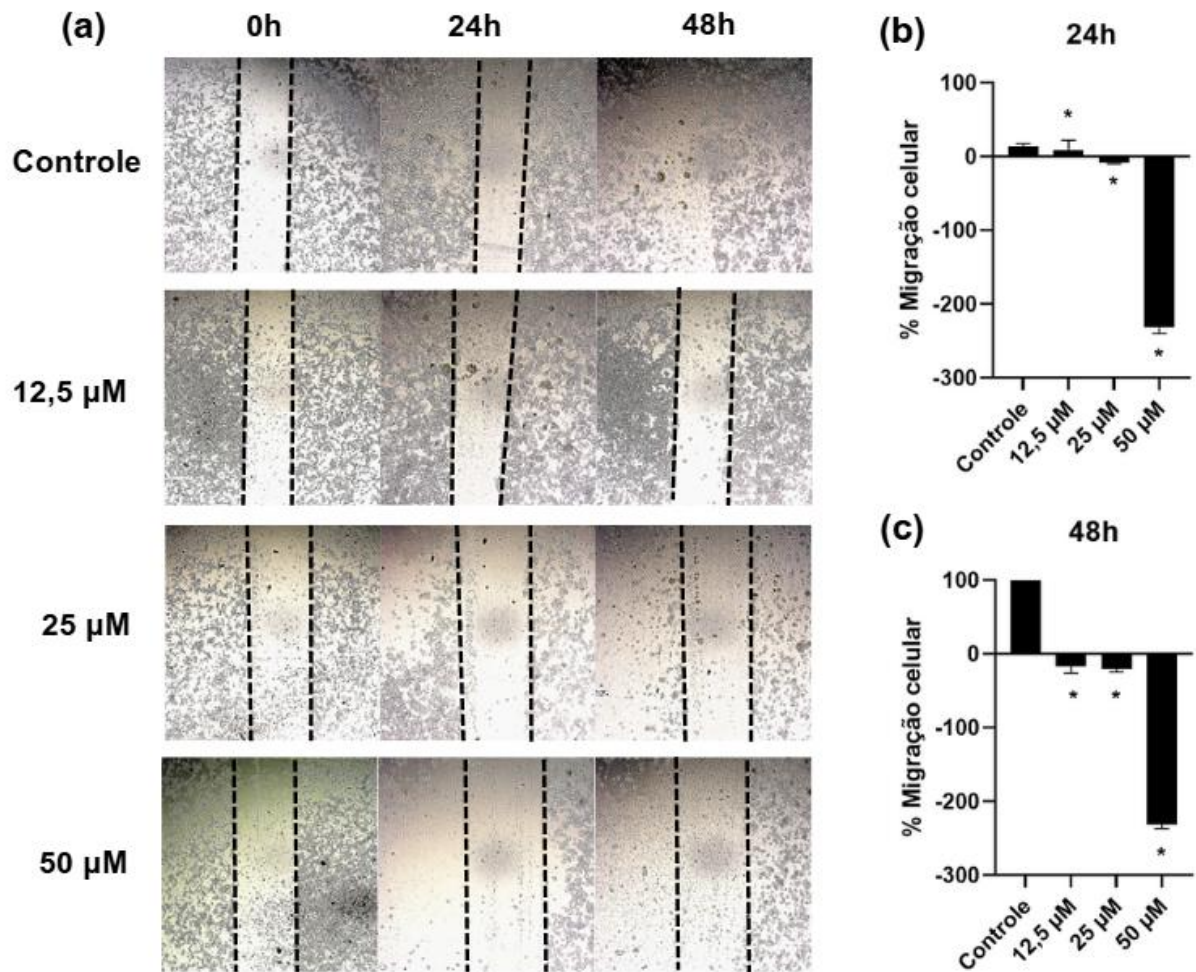


Figura 7: Fotomicrografias das fendas formadas na monocamada celular antes e após 24, 48 e 72 horas de tratamento com ácido ursólico no ensaio de migração celular com a linhagem TOV-21G. * $p < 0,05$ comparado ao controle. T0: tempo 0, em que foram realizados o tratamento e a arranhadura nos poços. T1: 24 horas após o tratamento. T2: 48 horas após o tratamento. T3: 72 horas após o tratamento.

4.5 Ensaio de morfologia celular

O tratamento com diferentes concentrações de ácido ursólico reduziu a densidade celular de maneira dose-dependente nas linhagens celulares J82 (Figura 8) e TOV-21G (Figura 9). Além disso, percebe-se que o tratamento levou a alterações na morfologia celular, com o aparecimento de extensões celulares longas, aparência irregular na forma das células, células arredondadas, células mortas e debris celulares.

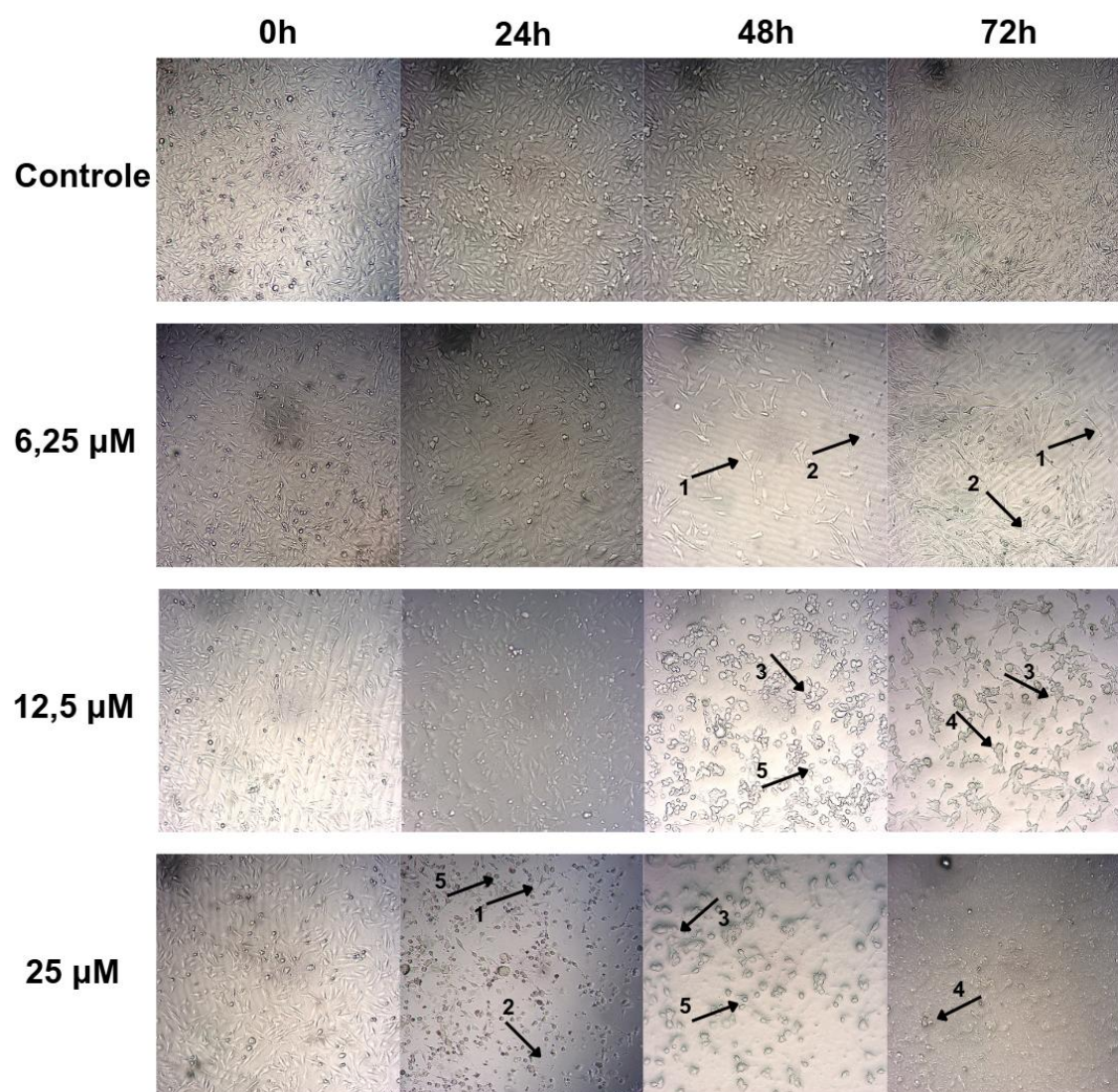


Figura 8: Fotomicrografias da linhagem celular J82 derivada do carcinoma de bexiga, após 24 horas de tratamento com as concentrações de 6,25 μM , 12,5 μM e 25 μM de AU. Controle: controle não tratado. (1): extensões celulares; (2): debris celulares; (3): formas irregulares; (4): células mortas; (5): células arredondadas.

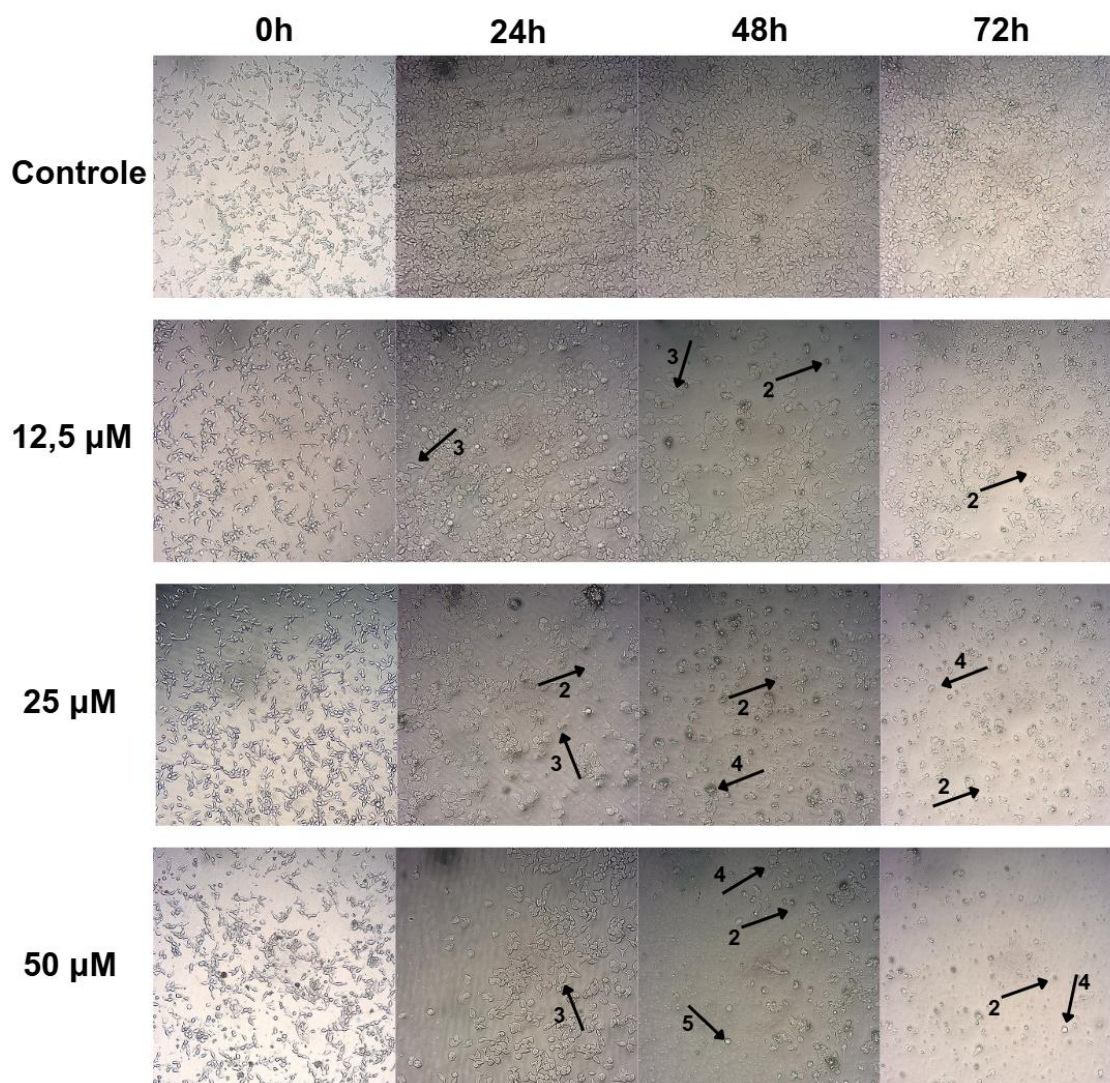


Figura 9: Fotomicrografias da linhagem celular TOV-21G derivada do carcinoma de bexiga, após 24 horas de tratamento com as concentrações de 12,5 μM, 25 μM e 50 μM AU. Controle: controle não tratado. (1): extensões celulares; (2): debris celulares; (3): formas irregulares; (4): células mortas; (5): células arredondadas.

5. DISCUSSÃO

Os esquemas quimioterápicos atuais para o tratamento, tanto do câncer de bexiga quanto do câncer de ovário, causam diversos efeitos tóxicos, que contribuem para a ineficácia do tratamento e reduzem a taxa de sobrevida do paciente (ARAI et al., 2018; BOYD et al., 2018). A resistência quimioterápica, frequentemente observada nesses tipos de neoplasias, também é um fator importante para a ineficácia do tratamento, relacionando-se à progressão e recidiva tumoral (MALEK et al., 2014).

A quimioterapia combinada a base de cisplatina ou análogos ainda é utilizada predominantemente no tratamento do câncer de bexiga e de ovário (FOTOPOULOU et al.,

2022; MALLÉN et al., 2018). Entretanto, 65% dos pacientes com carcinoma de bexiga de alto grau não respondem ao tratamento inicial com cisplatina e, consequentemente, ocorre o desenvolvimento de resistência e um mau prognóstico (SHI et al., 2022). Da mesma forma, a maior parte das pacientes com câncer de ovário tratadas com cisplatina desenvolvem resistência (GANG, KUMAR, 2023). Os mecanismos biológicos que levam à resistência a cisplatina estão relacionados com alterações no transporte e metabolismo de medicamentos (FERREIRA et al., 2016). Além de alterações na regulação do ciclo celular, o aprimoramento na habilidade de reparo de DNA, a inibição de apoptose e a hipermetilação do DNA (FERREIRA et al., 2016; LI et al., 2023).

A busca por agentes antitumorais com maior especificidade e menores efeitos colaterais têm impulsionado a pesquisa por novas moléculas de origem vegetal como alternativas para o tratamento de cânceres (SHENG et al., 2011). Compostos bioativos como Vincristina, Taxol, Vimblastina e Camptotecina são alguns isolados de plantas que apresentam atividade anticâncer e são utilizados na clínica (SANDHU et al., 2023). A perpetuação de estudos com outros compostos bioativos antineoplásicos, tem o intuito de abranger o tratamento para cânceres com terapêutica ineficaz por diferentes mecanismos de ação (SANDHU et al., 2023).

Pesquisas com AU tem destacado suas propriedades antioxidante, anti-inflamatórias e anticancerígenas (KORNEL et al., 2022). A baixa solubilidade em água e a baixa biodisponibilidade do AU, relacionadas ao número reduzido de grupos hidrofílicos presentes em sua molécula, têm embasado a busca pelo desenvolvimento de análogos sintéticos que possam ser empregados na clínica (PANDA et al., 2022). A utilização de nanopartículas para melhorar a biodisponibilidade do AU também se apresenta como uma alternativa (WANG et al., 2017). Isso porque, as nanopartículas são capazes de atingir o alvo cancerígeno com maior especificidade, possibilitando o aumento da concentração do composto no local de ação, reduzindo, assim, a resistência medicamentosa regulada pela bomba de efluxo (BYRNE et al., 2008).

Embora os estudos que empregam o AU na terapia antineoplásica ainda estejam em estágio experimental, pesquisas já demonstram a sua capacidade anti-inflamatória, anticancerígena, indutor de apoptose e antiproliferativa (SANDHU et al., 2023; KORNEL et al., 2022; SYCZ et al., 2022). Ademais, o AU apresenta a vantagem de ser classificado como não tóxico para as células normais (HUANG et al., 2024; PANDA et al., 2022). Estudos com camundongos demonstraram que doses de AU de até 1000 mg/kg de peso corporal não causaram efeitos adversos, além de reduzir o crescimento do tumor e aumentar a taxa de

sobrevida de camundongos (NAMDEO et al., 2023). Entretanto, estudos que avaliam o potencial antitumoral do ácido ursólico em linhagens tumorais de bexiga e de ovário ainda são escassos.

Desse modo, o presente estudo teve o intuito de gerar informações sobre a potencialidade da utilização do AU no tratamento dos carcinomas de bexiga e de ovário. A avaliação do tratamento com AU se deu por intermédio da análise da atividade *in silico* e de ensaios de citotoxicidade, sobrevivência clonogênica, migração celular e morfologia celular em linhagens celulares J82 e TOV-21G.

No ensaio de citotoxicidade, constatou-se que o tratamento com o AU conduziu à diminuição da viabilidade celular para ambas as linhagens celulares nas maiores concentrações em todos os tempos avaliados. A análise *in silico* do composto (Tabela 1) corrobora com esse resultado, ao destacar a capacidade citotóxica do ácido ursólico em inibir a DNA ligase. Esta enzima é um fator crítico para a sobrevivência celular, por causar interferência na capacidade das células tumorais em realizar o reparo do DNA, acarretando em instabilidade genômica e morte celular (TAN et al., 1996).

Os efeitos do tratamento com AU a longo prazo, avaliados experimentalmente com o ensaio de sobrevivência clonogênica, avalia a capacidade proliferativa linhagens celulares. Os resultados demonstraram que o composto reduz significativamente a formação de colônias, promovendo a inibição da progressão tumoral em ambas as linhagens celulares. Isso porque, células incapazes de formar colônias não são capazes de proliferar (TANNOCK, LEE, 2001; BRIX et al., 2021).

A avaliação dos efeitos do tratamento com AU sobre a capacidade de proliferação celular das células cancerosas obteve um alto potencial de atividade antineoplásica na análise *in silico*, concordando com os resultados obtidos no ensaio de citotoxicidade e sobrevivência clonogênica.

O ensaio de cicatrização de feridas tem por objetivo avaliar a capacidade migratória das células cancerígenas, sendo uma importante ferramenta de avaliação da capacidade de invasão e metástase tumoral após o tratamento (RIABI et al., 2012). Em ambas as linhagens celulares, após 48 horas de tratamento com o AU, foi possível constatar que todas as concentrações testadas levaram à inibição da capacidade migratória e observou-se o fechamento da fenda no grupo controle. O potencial elevado da atividade antimetastática apresentada pelo AU na análise *in silico* corrobora com estes resultados.

Ademais, um dos principais mecanismos de ação do ácido ursólico está relacionado à apoptose, principalmente com ativação da caspase-3, promovendo a morte celular programada

e a redução da capacidade de invasão de tecidos e sobrevivência na corrente sanguínea (TANG et al., 2009). O AU, conforme a análise *in silico*, possui um potencial elevado de atuar por mecanismos que promovem a estimulação de fatores de transcrição (Tabela 1). A depender do fator estimulado, processos metastáticos e proliferativos são inibidos, como o P53 (YU et al., 2010). Apesar do AU apresentar um potencial moderado de inibir a expressão do JAK2, conforme a análise *in silico* (Tabela 1), um estudo destacou a capacidade do AU de suprimir a expressão de JAK2 no câncer de colorretal, possibilitando a inibição da proliferação celular, sobrevivência, migração e invasão tumoral (KIM et al., 2018).

As vias Akt/NF-kB estão envolvidas em vários eventos antiapoptóticos e de resistência a medicamentos (SUN et al., 2011; GAI et al., 2013). Conforme demonstrado pela análise *in silico* (Tabela 1), o AU é um potente inibidor do fator de transcrição NF-kB. Além disso, um estudo demonstrou que o AU induz a apoptose via supressão da sinalização de AKT/NF-kB com regulação simultânea positiva da caspase-3 de forma dose-dependente em câncer de bexiga humano (GAI et al., 2013).

A análise da morfologia celular demonstrou redução da densidade celular de maneira dependente da concentração e alterações morfológicas em ambas as linhagens celulares. Foram observadas nos grupos tratados com AU extensões celulares longas, formas irregulares, células arredondadas e debris celulares. Essas alterações sugerem a perda de adesão e morte celular. A capacidade do AU de apresentar um potencial elevado como antagonista da integridade da membrana, obtido na análise *in silico*, pode levar a morte de células tumorais e alterações morfológicas (FOGDE et al., 2022). Além disso, a estimulação da caspase 8 promove a ativação da via extrínseca de apoptose, sugerindo a capacidade do ácido ursólico em inibir a proliferação e induzir a apoptose em linhagens tumorais (CHUANG et al., 2016).

Zheng e colaboradores demonstraram que o tratamento com AU, utilizando a linhagem tumoral de bexiga T24 apresentou redução da viabilidade celular de maneira dose-dependente, corroborando com os nossos resultados (ZHENG et al., 2012). Estudo de Zhang e colaboradores elucidam que o tratamento com AU em linhagem tumoral de bexiga SKOV3 reduz a proliferação celular, inibe a formação de colônias e a migração, apoiando os resultados obtidos na presente pesquisa (ZHANG et al., 2025).

Desse modo, foi possível constatar a capacidade do ácido ursólico de modular diversas enzimas de sinalização celular, principalmente relacionadas com a apoptose. Assim, sugere-se que o composto ácido ursólico possui atividade antiproliferativa em linhagens tumorais de bexiga (J82) e de ovário (TOV-21G), podendo ser avaliado como um quimioterápico com potencial utilização na clínica.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, o estudo demonstrou que o tratamento com o ácido ursólico reduziu a viabilidade celular, inibiu a capacidade de formação de colônias, diminuiu a migração celular e causou alterações morfológicas sugestivas de morte celular em ambas as linhagens tumorais de bexiga e de ovário testadas. Esse estudo fornece informações sobre uma nova alternativa terapêutica com capacidade antiproliferativa eficaz para tumores de bexiga e de ovário.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-KURAI SHY, H. M., AL-GAREEB, A. I., NEGM, W. A., ALEXIOU, A., & BATIHA, G. E. (2022). **Ursolic acid and SARS-CoV-2 infection: a new horizon and perspective.** *Inflammopharmacology*, 30(5), 1493–1501. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-01038-3>
- AL-ZALABANI, ABDULMOHSEN H.; STEWART, Kelly F. J.; WESSELIUS, Anke; SCHOLS, Annemie M. W. J.; ZEEGERS, Maurice P.. **Modifiable risk factors for the prevention of bladder cancer: a systematic review of meta-analyses.** *European Journal Of Epidemiology*, [S.L.], v. 31, n. 9, p. 811-851, 21 mar. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10654-016-0138-6>.
- AHMADI, H.; DUDDALWAR, V.; DANESHMAND, S. **Diagnosis and Staging of Bladder Cancer.** *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 35, n. 3, p. 531–541, jun. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2014.10.013>.
- AMERICAN CANCER SOCIETY. *Cancer facts & figures 2018*. Atlanta: American Cancer Society, 2018. Disponível em: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-research/cancer-facts-and-statistics/annual-cancer-facts-and-figures/2018/cancer-facts-and-figures-special-section-ovarian-cancer-2018.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2024.
- ARAI, Satoko; HARA, Tomohiko; MATSUI, Yoshiyuki; KOIDO, Keiichi; HASHIMOTO, Hironobu; SHINODA, Yasuo; KOMIYAMA, Motokiyo; FUJIMOTO, Hiroyuki; TERA KADO, Hiroyuki. **Tolerability and Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy with a Tri Weekly Interval Methotrexate, Doxorubicin, Vinblastine, and Cisplatin Regimen for Patients with Locally Advanced Bladder Cancer.** *Case Reports In Oncology*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 450-460, 5 jul. 2018. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000490458>.
- BOYD, L. R., & MUGGIA, F. M. (2018). **Carboplatin/Paclitaxel Induction in Ovarian Cancer: The Finer Points.** *Oncology (Williston Park, N.Y.)*, 32(8), 418–424. <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85053773229&origin=inward&txGid=946fd5aecfee1b21d3c894e7d7eba14a>
- BRIX N, SAMAGA D, BELKA C, ZITZELSBERGER H & LAUBER K (2021). **Analysis of clonogenic growth in vitro.** *Nature protocols*, 16 (11), 4963-4991. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00615-0>

BURNE, J. D., BETANCOURT, T., & BRANNON-PEPPAS, L. (2008). **Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics.** *Advanced drug delivery reviews*, 60(15), 1615–1626. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.08.005>

CHANG, Sam S.; BOORJIAN, Stephen A.; CHOU, Roger; CLARK, Peter E.; DANESHMAND, Siamak; KONETY, Badrinath R.; PRUTHI, Raj; QUALE, Diane Z.; RITCH, Chad R.; SEIGNE, John D.. **Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: aua/suo guideline.** *Journal Of Urology*, [S.L.], v. 196, n. 4, p. 1021-1029, out. 2016. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2016.06.049>

CHUANG, W. L., LIN, P. Y., LIN, H. C., & CHEN, Y. L. (2016). **The Apoptotic Effect of Ursolic Acid on SK-Hep-1 Cells is Regulated by the PI3K/Akt, p38 and JNK MAPK Signaling Pathways.** *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(4), 460. <https://doi.org/10.3390/molecules21040460>

CRUM, C. P., DRAPKIN, R., MIRON, A., INCE, T. A., Muto, M., Kindelberger, D. W., & Lee, Y. (2007). **The distal fallopian tube: a new model for pelvic serous carcinogenesis.** *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 19(1), 3–9. <https://doi.org/10.1097/GCO.0b013e328011a21f>

DYRSKJØT, L., Hansel, D. E., Efstathiou, J. A., Knowles, M. A., Galsky, M. D., Teoh, J., & Theodorescu, D. (2023). **Bladder cancer.** *Nature reviews. Disease primers*, 9(1), 58. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00468-9>

EARL, J., Rico, D., Carrillo-de-Santa-Pau, E., Rodríguez-Santiago, B., Méndez-Pertuz, M., Auer, H., Gómez, G., Grossman, H. B., Pisano, D. G., Schulz, W. A., Pérez-Jurado, L. A., Carrato, A., Theodorescu, D., Chanock, S., Valencia, A., & Real, F. X. (2015). **The UBC-40 Urothelial Bladder Cancer cell line index: a genomic resource for functional studies.** *BMC genomics*, 16(1), 403. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1450-3>

FERREIRA, J. A., Peixoto, A., Neves, M., Gaiterio, C., Reis, C. A., Assaraf, Y. G., & Santos, L. L. (2016). Mechanisms of cisplatin resistance and targeting of cancer stem cells: Adding glycosylation to the equation. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 24, 34–54. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2015.11.003>

FOGDE, D. L., Xavier, C. P. R., Balnytė, K., Holland, L. K. K., Stahl-Meyer, K., Dinant, C., Corcelle-Termeau, E., Pereira-Wilson, C., Maeda, K., & Jäättelä, M. (2022). **Ursolic Acid Impairs Cellular Lipid Homeostasis and Lysosomal Membrane Integrity in Breast Carcinoma Cells.** *Cells*, 11(24), 4079. <https://doi.org/10.3390/cells11244079>

FOTOPOULOU, E., Titilas, I., & Ronconi, L. (2022). Metallodrugs as Anticancer Chemotherapeutics and Diagnostic Agents: A Critical Patent Review (2010-2020). *Recent patents on anti-cancer drug discovery*, 17(1), 42–54. <https://doi.org/10.2174/1574892816666210907101146>

GAI, L., Cai, N., Wang, L., Xu, X., & Kong, X. (2013). Ursolic acid induces apoptosis via Akt/NF- κ B signaling suppression in T24 human bladder cancer cells. *Molecular medicine reports*, 7(5), 1673–1677. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1364>

GANG, V., & KUMAR, L. (2023). Metronomic chemotherapy in ovarian cancer. *Cancer letters*, 579, 216469. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216469>

HABTEMARIAM S. (2019). **Antioxidant and Anti-inflammatory Mechanisms of Neuroprotection by Ursolic Acid: Addressing Brain Injury, Cerebral Ischemia, Cognition Deficit, Anxiety, and Depression.** *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 8512048. <https://doi.org/10.1155/2019/8512048>

HU, X., LI, G., & WU, S. (2022). **Advances in Diagnosis and Therapy for Bladder Cancer.** *Cancers*, 14(13), 3181. <https://doi.org/10.3390/cancers14133181>

HUANG, Yanjun; ZHOU, Sichun; HE, Caimei; DENG, Jun; TAO, Ting; SU, Qiongli; DARKO, Kwame Oteng; PENG, Mei; YANG, Xiaoping. **Phenformin alone or combined with gefitinib inhibits bladder cancer via AMPK and EGFR pathways.** *Cancer Communications*, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 50, 27 jul. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1186/s40880-018-0319-7>.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). *Global Cancer Observatory: Cancer Today – Data Visualization*. Lyon: IARC, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today/en/dataviz/bars?mode=population>. Acesso em: 20 fev. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). *Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em: 20 fev. 2025.

JAYSON, G. C., Kohn, E. C., Kitchener, H. C., & Ledermann, J. A. (2014). **Ovarian cancer.** *Lancet (London, England)*, 384(9951), 1376–1388. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62146-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62146-7)

Khadhour, S., Gallagher, K. M., MacKenzie, K. R., Shah, T. T., Gao, C., Moore, S., Zimmermann, E. F., Edison, E., Jefferies, M., Nambiar, A., Mannas, M. P., Lee, T., Marra, G., Lillaz, B., Gómez Rivas, J., Olivier, J., Assmus, M. A., Uçar, T., Claps, F., Boltri, M., ... IDENTIFY Study group (2021). The IDENTIFY study: the investigation and detection of urological neoplasia in patients referred with suspected urinary tract cancer - a multicentre observational study. *BJU international*, 128(4), 440–450. <https://doi.org/10.1111/bju.15483>

KIM, K., Shin, E. A., Jung, J. H., Park, J. E., Kim, D. S., Shim, B. S., & Kim, S. H. (2018). **Ursolic Acid Induces Apoptosis in Colorectal Cancer Cells Partially via Upregulation of MicroRNA-4500 and Inhibition of JAK2/STAT3 Phosphorylation.** *International journal of molecular sciences*, 20(1), 114. <https://doi.org/10.3390/ijms20010114>

KORNEL, A., Nadile, M., & Tsiani, E. (2022). **Evidence of the Beneficial Effects of Ursolic Acid against Lung Cancer.** *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(21), 7466. <https://doi.org/10.3390/molecules27217466>

KORNEL, A., Nadile, M., Retsidou, M. I., Sakellakis, M., Gioti, K., Beloukas, A., Sze, N. S. K., Klentrou, P., & Tsiani, E. (2023). **Ursolic Acid against Prostate and Urogenital Cancers: A Review of In Vitro and In Vivo Studies.** *International journal of molecular sciences*, 24(8), 7414. <https://doi.org/10.3390/ijms24087414>

LENIS, Andrew T; LEC, Patrick M; CHAMIE, Karim. **Bladder Cancer: A Review.** *Jama*, [S.L.], c. 324, n. 19, p. 1930, 17 nov. 2020. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.17598>

Li, F., Zheng, Z., Chen, W., Li, D., Zhang, H., Zhu, Y., Mo, Q., Zhao, X., Fan, Q., Deng, F., Han, C., & Tan, W. (2023). Regulation of cisplatin resistance in bladder cancer by epigenetic mechanisms. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, 68, 100938. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2023.100938>

LIMA, Ana Paula Braga; ALMEIDA, Tamires Cunha; BARROS, Tatiane Martins Barcelos; ROCHA, Lorrana Cachuite Mendes; GARCIA, Camila Carriao Machado; SILVA, Glenda Nicioli da. **Toxicogenetic and antiproliferative effects of chrysin in urinary bladder cancer cells.** *Mutagenesis*, [S.L.], v. 35, n. 5, p. 361-371, 13 ago. 2020. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/mutage/geaa021>.

LOBO, Niyati; MOUNT, Chloe; OMAR, Kawa; NAIR, Rajesh; THURAIRAJA, Ramesh; KHAN, Muhammad Shamim. **Landmarks in the treatment of muscle-invasive bladder cancer.** *Nature Reviews Urology*, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 565-574, 4 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2017.82>.

MLALA S., Oyedeji AO, Gondwe M., Oyedeji OO Ácido ursólico e seus derivados como agentes bioativos. *Moléculas*. 2019; 24 :2751. doi: 10.3390/molecules24152751.

MALLEN, A., Soong, T. R., Townsend, M. K., Wenham, R. M., Crum, C. P., & Tworoger, S. S. (2018). Surgical prevention strategies in ovarian cancer. *Gynecologic oncology*, 151(1), 166–175. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.08.005>

MUSHTAQ, Jameel; THURAIRAJA, Ramesh; NAIR, Rajesh. Bladder cancer. **Surgery (Oxford)**, [S.L.], v. 37, n. 9, p. 529-537, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mpsur.2019.07.003>.

NAMDEO, P., Gidwani, B., Tiwari, S., Jain, V., Joshi, V., Shukla, S. S., Pandey, R. K., & Vyas, A. (2023). Therapeutic potential and novel formulations of ursolic acid and its derivatives: an updated review. *Journal of the science of food and agriculture*, 103(9), 4275–4292. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12423>

NATIONAL CANCER INSTITUTE. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer stat facts: ovarian cancer. Available at: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html>. (Acesso em 02 de Agosto de 2024)

O'MALLEY, D. M., Krivak, T. C., Kabil, N., Munley, J., & Moore, K. N. (2023). PARP Inhibitors in Ovarian Cancer: A Review. *Targeted oncology*, 18(4), 471–503. <https://doi.org/10.1007/s11523-023-00970-w>

O'SHEA A. S. (2022). Clinical Staging of Ovarian Cancer. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2424, 3–10. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1956-8_1

PANDA, S. S., Thangaraju, M., & Lokeshwar, B. L. (2022). Ursolic Acid Analogs as Potential Therapeutics for Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(24), 8981. <https://doi.org/10.3390/molecules27248981>

PANDEY, Sony; BOURN, Jennifer; CEKANNOVA, Maria. **Mutations of p53 decrease sensitivity to the anthracycline treatments in bladder cancer cells.** *Oncotarget*, [S.L.], v. 9, n. 47, p. 28514-28531, 19 jun. 2018. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.25530>.

PATEL, V. G., Oh, W. K., & Galsky, M. D. (2020). Treatment of muscle-invasive and advanced bladder cancer in 2020. *CA: a cancer journal for clinicians*, 70(5), 404–423. <https://doi.org/10.3322/caac.21631>

PRASAD, S., Yadav, V. R., Sung, B., Gupta, S. C., Tyagi, A. K., & Aggarwal, B. B. (2016). Ursolic acid inhibits the growth of human pancreatic cancer and enhances the antitumor potential of gemcitabine in an orthotopic mouse model through suppression of the inflammatory microenvironment. *Oncotarget*, 7(11), 13182–13196. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7537>

PROTANI MM, Nagle CM, Webb PM. Obesidade e sobrevivência ao câncer de ovário: uma revisão sistemática e meta-análise. *Câncer Prev Res (Phila)* 2012; 5 :901–910. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0048.

PROVENCHER, D. M., Lounis, H., Champoux, L., Tétrault, M., Manderson, E. N., Wang, J. C., Eydoux, P., Savoie, R., Tonin, P. N., & Mes-Masson, A. M. (2000). **Characterization of four novel epithelial ovarian cancer cell lines.** *In vitro cellular & developmental biology. Animal*, 36(6), 357–361. [https://doi.org/10.1290/1071-2690\(2000\)036<0357:COFNEO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1290/1071-2690(2000)036<0357:COFNEO>2.0.CO;2)

REDONDO, A., Guerra, E., Manso, L., Martin-Lorente, C., Martinez-Garcia, J., Perez-Fidalgo, J. A., Varela, M. Q., Rubio, M. J., Barretina-Ginesta, M. P., & Gonzalez-Martin, A. (2021). SEOM clinical guideline in ovarian cancer (2020). *Clinical & translational oncology : official publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico*, 23(5), 961–968. <https://doi.org/10.1007/s12094-020-02545-x>

RIABI, Reza; Yang, Yongliang; Zhang, Donna D.; Wong, Pak Kin. **Advances in Wound-Healing Assays for Probing Collective Cell Migration.** *Slas Technology*, [S.L.], v.17, n. 1, p. 59-65, fev. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1177/2211068211426550>.

ROBERTSON, A. G., GROENEVELD, C. S., JORDAN, B., LIN, X., McLaughlin, K. A., Das, A., Fall, L. A., Fantini, D., Taxter, T. J., Mogil, L. S., Linskrog, S. V., Dyrskjot, L., McConkey, D. J., Svatek, R. S., de Reyniès, A., Castro, M. A. A., & Meeks, J. J. (2020). **Identification of Differential Tumor Subtypes of T1 Bladder Cancer.** *European urology*, 78(4), 533–537. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.06.048>

RYAN, N. A. J., Bolton, J., McVey, R. J., Evans, D. G., & Crosbie, E. J. (2017). BRCA and lynch syndrome-associated ovarian cancers behave differently. *Gynecologic oncology reports*, 22, 108–109. <https://doi.org/10.1016/j.gore.2017.11.007>

SAMBASIVAN S. (2022). Epithelial ovarian cancer: Review article. *Cancer treatment and research communications*, 33, 100629. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100629>

SANDHU, S. S., Rouz, S. K., Kumar, S., Swamy, N., Deshmukh, L., Hussain, A., Haque, S., & Tuli, H. S. (2023). Ursolic acid: a pentacyclic triterpenoid that exhibits anticancer therapeutic potential by modulating multiple oncogenic targets. *Biotechnology & genetic engineering reviews*, 39(2), 729–759. <https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2162257>

SANTANDREA, G., Piana, S., Valli, R., Zanelli, M., Gasparini, E., De Leo, A., Mandato, V. D., & Palicelli, A. (2021). Immunohistochemical Biomarkers as a Surrogate of Molecular Analysis in Ovarian Carcinomas: A Review of the Literature. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(2), 199. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020199>

SAGINALA, Kalyan; BARSOUK, Adam; ALURU, John Sukumar; RAWLA, Prashanth; PADALA, Sandeep Anand; BARSOUK, Alexander. Epidemiology of Bladder Cancer. *Medical Sciences*, [S.L.], v. 8, n. 1, p. 15, 13 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/medsci8010015>.

SCHIRRMACHER V. (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *International journal of oncology*, 54(2), 407–419. <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4661>

SEIBERT, J. B., Viegas, J. S. R., Almeida, T. C., Amparo, T. R., Rodrigues, I. V., Lanza, J. S., Frézard, F. J. G., Soares, R. D. O. A., Teixeira, L. F. M., de Souza, G. H. B., Vieira, P. M. A., Barichello, J. M., & Dos Santos, O. D. H. (2019). **Nanostructured Systems Improve the Antimicrobial Potential of the Essential Oil from *Cymbopogon densiflorus* Leaves.** *Journal of natural products*, 82(12), 3208–3220. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00870>

SHENG, H., & Sun, H. (2011). **Synthesis, biology and clinical significance of pentacyclic triterpenes: a multi-target approach to prevention and treatment of metabolic and vascular diseases.** *Natural product reports*, 28(3), 543–593. <https://doi.org/10.1039/c0np00059k>

SHI, Z. D., Hao, L., Han, X. X., Wu, Z. X., Pang, K., Dong, Y., Qin, J. X., Wang, G. Y., Zhang, X. M., Xia, T., Liang, Q., Zhao, Y., Li, R., Zhang, S. Q., Zhang, J. H., Chen, J. G., Wang, G. C., Chen, Z. S., & Han, C. H. (2022). Targeting HNRNPU to overcome cisplatin resistance in bladder cancer. *Molecular cancer*, 21(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01517-9>

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2018. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 68, n. 1, p. 7–30, 2018. DOI: 10.3322/caac.21442.

SILVA, Glenda Nicioli da; MARCONDES, João Paulo de Castro; CAMARGO, Elaine Aparecida de; PASSOS JÚNIOR, Geraldo Aleixo da Silva; SAKAMOTO-HOJO, Elza Tiemi; SALVADORI, Daisy Maria Fávero. **Cell cycle arrest and apoptosis in TP53 subtypes of**

bladder carcinoma cell lines treated with cisplatin and gemcitabine. *Experimental Biology And Medicine*, [S.L.], v. 235, n. 7, p. 814-824, jul. 2010. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2010.009322>.

SLATNIK, C. L., & Duff, E. (2015). Ovarian cancer: Ensuring early diagnosis. *The Nurse practitioner*, 40(9), 47–54. <https://doi.org/10.1097/01.NPR.0000450742.00077.a2>

STEWART, C., Ralyea, C., & Lockwood, S. (2019). Ovarian Cancer: An Integrated Review. *Seminars in oncology nursing*, 35(2), 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2019.02.001>

Sun, C. H., Chang, Y. H., & Pan, C. C. (2011). Activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway correlates with tumour progression and reduced survival in patients with urothelial carcinoma of the urinary bladder. *Histopathology*, 58(7), 1054–1063. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2011.03856.x>

SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: Cancer Journal for Clinicians*, Hoboken, v. 71, n. 3, p. 209-249, Feb. 2021. DOI 10.3322/caac.21660.

SYCZ, Z., Tichaczek-Goska, D., & Wojnicz, D. (2022). Anti-Planktonic and Anti-Biofilm Properties of Pentacyclic Triterpenes-Asiatic Acid and Ursolic Acid as Promising Antibacterial Future Pharmaceuticals. *Biomolecules*, 12(1), 98. <https://doi.org/10.3390/biom12010098>

TAN, G. T., Lee, S., Lee, I. S., Chen, J., Leitner, P., Besterman, J. M., Kinghorn, A. D., & Pezzuto, J. M. (1996). **Natural-product inhibitors of human DNA ligase I.** *The Biochemical journal*, 314 (Pt 3)(Pt 3), 993–1000. <https://doi.org/10.1042/bj3140993>

TANG, C., Lu, Y. H., Xie, J. H., Wang, F., Zou, J. N., Yang, J. S., Xing, Y. Y., & Xi, T. (2009). **Downregulation of survivin and activation of caspase-3 through the PI3K/Akt pathway in ursolic acid-induced HepG2 cell apoptosis.** *Anti-cancer drugs*, 20(4), 249–258. <https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e328327d476>

TANNOCK, I. F., & LEE, C. (2001). **Evidence against apoptosis as a major mechanism for reproductive cell death following treatment of cell lines with anti-cancer drugs.** *British journal of cancer*, 84(1), 100–105. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2000.1538>

TRAN, L., Xiao, J. F., Agarwal, N., Duex, J. E., & Theodorescu, D. (2021). Advances in bladder cancer biology and therapy. *Nature reviews. Cancer*, 21(2), 104–121. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-00313-1>

VAN DER POST, R. S., Kiemeny, L. A., Ligtenberg, M. J., Witjes, J. A., Hulsbergen-van de Kaa, C. A., Bodmer, D., Schaap, L., Kets, C. M., van Krieken, J. H., & Hoogerbrugge, N. (2010). Risk of urothelial bladder cancer in Lynch syndrome is increased, in particular among MSH2 mutation carriers. *Journal of medical genetics*, 47(7), 464–470. <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.076992>

WALKER, J. L., Powell, C. B., Chen, L. M., Carter, J., Bae Jump, V. L., Parker, L. P., Borowsky, M. E., & Gibb, R. K. (2015). Society of Gynecologic Oncology recommendations

for the prevention of ovarian cancer. *Cancer*, 121(13), 2108–2120. <https://doi.org/10.1002/cncr.29321>

WANG, S., Meng, X., & Dong, Y. (2017). Ursolic acid nanoparticles inhibit cervical cancer growth in vitro and in vivo via apoptosis induction. *International journal of oncology*, 50(4), 1330–1340. <https://doi.org/10.3892/ijo.2017.3890>

YU, Y. X., Gu, Z. L., Yin, J. L., Chou, W. H., Kwok, C. Y., Qin, Z. H., & Liang, Z. Q. (2010). **Ursolic acid induces human hepatoma cell line SMMC-7721 apoptosis via p53-dependent pathway.** *Chinese medical journal*, 123(14), 1915–1923.

ZHANG, R., Zhang, Z., Xie, L., Yu, Z., Gao, R., Zhang, Z. R., Zhang, Y., Wei, X., Chen, Y., Jiao, S., Gao, Y., & Guo, J. P. (2025). In vitro analysis of the molecular mechanisms of ursolic acid against ovarian cancer. *BMC complementary medicine and therapies*, 25(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s12906-025-04808-y>

ZHANG, Y., ZHU, B., HE, M., CAI, Y., YING, X., JIANG, C., JI, W., & ZENG, J. (2021). **N6-Methyladenosine-Related lncRNAs Predict Prognosis and Immunotherapy Response in Bladder Cancer.** *Frontiers in oncology*, 11, 710767. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.710767>

ZHENG, Q. Y., Li, P. P., Jin, F. S., Yao, C., Zhang, G. H., Zang, T., & Ai, X. (2013). Ursolic acid induces ER stress response to activate ASK1-JNK signaling and induce apoptosis in human bladder cancer T24 cells. *Cellular signalling*, 25(1), 206–213. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.09.012>

ZHENG, Q. Y., Jin, F. S., Yao, C., Zhang, T., Zhang, G. H., & Ai, X. (2012). **Ursolic acid-induced AMP-activated protein kinase (AMPK) activation contributes to growth inhibition and apoptosis in human bladder cancer T24 cells.** *Biochemical and biophysical research communications*, 419(4), 741–747. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.02.093>