RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

# Associação entre óleo de prímula e doxorrubicina em formulações à base de alginato: avaliação preliminar da viabilidade celular em MDA-MB-231

# Association of evening primrose oil and doxorubicin in alginate-based formulations: preliminary evaluation of cell viability in MDA-MB-231 cells

# Asociación entre aceite de onagra y doxorrubicina en formulaciones a base de alginato: evaluación preliminar de la viabilidad celular en MDA-MB-231

**Isabela Guidone Ferreira**
Graduanda em Biomedicina, Laboratório de Ensaios Celulares e Engenharia Regenerativa (LECER), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: igferreira12@uniara.edu.br

**Rafael Henrique Cruz Simões**
Graduando em Biologia, Laboratório de Biomateriais e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: rhcsimoes@uniara.edu.br

**Nathalie Neta Domingos (autor correspondente)**
Doutoranda em Biotecnologia, Laboratório de Ensaios Celulares e Engenharia Regenerativa (LECER), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: nndomingos@uniara.edu.br

**Vivian Iara Reis Rocha Bernardi**
Doutoranda em Biotecnologia, Laboratório de Biomateriais e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: virrbernardi1@uniara.edu.br



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

**Eliane Trovatti**
Doutora, Laboratório de Biomateriais e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: etrovatti@uniara.edu.br

**Mônica Rosas da Costa Iemma**
Doutora, Laboratório de Ensaios Celulares e Engenharia Regenerativa (LECER), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Medicina Regenerativa e Química Medicinal, Universidade de Araraquara (UNIARA), Brasil
E-mail: mrciemma@uniara.edu.br

## Resumo
O desenvolvimento de formulações poliméricas contendo agentes bioativos e quimioterápicos tem despertado interesse como estratégia para investigar novas associações com potencial antitumoral. Este estudo teve como objetivo avaliar preliminarmente a viabilidade de células MDA-MB-231 após exposição a formulações à base de alginato e Tween 80 contendo óleo de prímula e/ou doxorrubicina, comparando os efeitos das diferentes composições com aqueles observados após o tratamento com doxorrubicina livre, por meio do ensaio de MTT. Foram preparadas três formulações: Alg/T80/OP, contendo óleo de prímula; Alg/T80/DOX, contendo doxorrubicina; e Alg/T80/OP/DOX, contendo ambos os componentes. As células foram expostas às formulações ou à doxorrubicina livre durante 24 horas, e a viabilidade celular foi determinada pelo ensaio colorimétrico de MTT. Os experimentos foram realizados em três ensaios independentes, com quatro réplicas técnicas por condição. A formulação Alg/T80/OP/DOX apresentou a menor viabilidade celular média entre os tratamentos avaliados (43,76 ± 4,39%), seguida pela doxorrubicina livre (51,12 ± 16,58%), Alg/T80/DOX (57,26 ± 11,38%) e Alg/T80/OP (61,63 ± 9,20%). Entretanto, a análise de variância de uma via com medidas repetidas não identificou diferenças estatisticamente significativas entre essas quatro condições ($p = 0,2061$). Embora a formulação combinada tenha apresentado a menor média de viabilidade metabólica celular, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos, não sendo possível confirmar a potencialização dos efeitos da doxorrubicina pela associação com o óleo de prímula. Conclui-se que a associação entre óleo de prímula e doxorrubicina em formulações à base de alginato e Tween 80 apresenta resultados preliminares que justificam investigações adicionais, envolvendo diferentes concentrações, tempos de exposição e métodos complementares de avaliação da citotoxicidade.
**Palavras-chave:** Alginato; óleo de prímula; doxorrubicina; câncer de mama triplo-negativo; citotoxicidade.

## Abstract
The development of polymeric formulations containing bioactive agents and chemotherapeutic drugs has garnered interest as a strategy to explore new combinations with antitumor potential. This study aimed to conduct a preliminary assessment of the viability of MDA-MB-231 cells following exposure to formulations based on alginate and Tween 80—containing evening primrose oil and/or doxorubicin—and to compare the effects of these different compositions with those observed after treatment with free doxorubicin, using the MTT assay. Three formulations were prepared: Alg/T80/OP (containing evening primrose oil), Alg/T80/DOX (containing doxorubicin), and



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Alg/T80/OP/DOX (containing both components). Cells were exposed to the formulations or to free doxorubicin for 24 hours, and cell viability was determined via the colorimetric MTT assay. Experiments were conducted in three independent trials, with four technical replicates per condition. The Alg/T80/OP/DOX formulation resulted in the lowest mean cell viability among the treatments evaluated (43.76 ± 4.39%), followed by free doxorubicin (51.12 ± 16.58%), Alg/T80/DOX (57.26 ± 11.38%), and Alg/T80/OP (61.63 ± 9.20%). However, a one-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures revealed no statistically significant differences among these four conditions ($p = 0.2061$). Although the combined formulation yielded the lowest mean cellular metabolic viability, no statistically significant differences were found between the treatments; therefore, it was not possible to confirm that the combination with evening primrose oil enhances the effects of doxorubicin. It is concluded that the combination of evening primrose oil and doxorubicin in formulations based on alginate and Tween 80 yields preliminary results that warrant further investigation, involving different concentrations, exposure times, and complementary methods for assessing cytotoxicity.
**Keywords:** Alginate; evening primrose oil; doxorubicin; triple-negative breast cancer; cytotoxicity.

## Resumen
El desarrollo de formulaciones poliméricas que contienen agentes bioactivos y quimioterápicos ha despertado interés como estrategia para investigar nuevas combinaciones con potencial antitumoral. Este estudio tuvo como objetivo evaluar de forma preliminar la viabilidad de las células MDA-MB-231 tras su exposición a formulaciones a base de alginato y Tween 80 que contenían aceite de onagra y/o doxorrubicina, comparando los efectos de las distintas composiciones con los observados tras el tratamiento con doxorrubicina libre, mediante el ensayo MTT. Se prepararon tres formulaciones: Alg/T80/OP, que contenía aceite de onagra; Alg/T80/DOX, que contenía doxorrubicina; y Alg/T80/OP/DOX, que contenía ambos componentes. Las células se expusieron a las formulaciones o a la doxorrubicina libre durante 24 horas, y la viabilidad celular se determinó mediante el ensayo colorimétrico MTT. Los experimentos se llevaron a cabo en tres ensayos independientes, con cuatro réplicas técnicas por condición. La formulación Alg/T80/OP/DOX presentó la menor viabilidad celular media entre los tratamientos evaluados (43,76 ± 4,39 %), seguida de la doxorrubicina libre (51,12 ± 16,58 %), Alg/T80/DOX (57,26 ± 11,38 %) y Alg/T80/OP (61,63 ± 9,20 %). Sin embargo, el análisis de varianza de un factor con medidas repetidas no reveló diferencias estadísticamente significativas entre estas cuatro condiciones ($p = 0,2061$). Aunque la formulación combinada presentó la menor media de viabilidad metabólica celular, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, por lo que no es posible confirmar una potenciación de los efectos de la doxorrubicina mediante su asociación con el aceite de onagra. Se concluye que la asociación entre aceite de onagra y doxorrubicina en formulaciones a base de alginato y Tween 80 presenta resultados preliminares que justifican investigaciones adicionales, que incluyan diferentes concentraciones, tiempos de exposición y métodos complementarios de evaluación de la citotoxicidad.
**Palabras clave:** Alginato; aceite de onagra; doxorrubicina; cáncer de mama triple negativo; citotoxicidad.

## 1. Introdução

O câncer de mama permanece entre as neoplasias malignas de maior incidência mundial e constitui um importante problema de saúde pública, figurando entre as neoplasias mais frequentemente diagnosticadas no mundo e constituindo



CC BY

ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

a principal neoplasia maligna entre as mulheres (Bray et al., 2024). Apesar dos avanços nas estratégias terapêuticas, incluindo quimioterapia, terapias-alvo e imunoterapia, a eficácia dos tratamentos ainda é limitada por fatores como resistência farmacológica, toxicidade sistêmica e recorrência tumoral (Zhang et al., 2024).

A doxorrubicina (DOX), um agente quimioterápico da classe das antraciclinas, constitui um componente-chave dos protocolos de tratamento do câncer de mama e de diversas neoplasias sólidas e hematológicas (Gewirtz, 1999). Sua atividade citotóxica está relacionada principalmente à intercalação no DNA, à interferência na atividade da topoisomerase II e à geração de espécies reativas de oxigênio, processos que podem desencadear danos ao material genético, disfunção mitocondrial e morte celular (De Graff et al., 2003). Entretanto, sua utilização clínica é limitada por efeitos adversos importantes, especialmente cardiotoxicidade cumulativa e mielossupressão, além do desenvolvimento de mecanismos de resistência farmacológica (Kciuk et al., 2023). Essas limitações têm motivado a investigação de associações terapêuticas e formulações capazes de modificar a resposta tumoral ao fármaco.

O óleo de prímula (OP), extraído das sementes de Oenothera biennis L., apresenta composição caracterizada pela presença de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente os ácidos linoleico e γ-linolênico (Timoszuk, Bielawska e Skrzydlewska, 2018). Esses constituintes têm sido associados a diferentes atividades biológicas, incluindo a modulação de processos inflamatórios e a formação de metabólitos com propriedades anti-inflamatórias e antiproliferativas (Sharifi et al., 2024; Timoszuk, Bielawska e Skrzydlewska, 2018). Embora a composição do óleo possa variar conforme as condições de cultivo, a origem das sementes e os métodos de extração, seu conteúdo de compostos bioativos tem motivado investigações sobre possíveis aplicações terapêuticas, incluindo seu potencial como componente complementar em estratégias antitumorais (Timoszuk, Bielawska e Skrzydlewska, 2018).



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Evidências experimentais recentes têm demonstrado a atividade citotóxica do óleo de prímula em linhagens celulares humanas de câncer de mama. Abd-Alhaseeb et al., (2022) avaliaram seus efeitos em células MCF-7 e MDA-MB-231 e observaram redução da viabilidade celular dependente da concentração, com valores de $IC_{50}$ de 183,96 e 216,9 µg/mL, respectivamente. Os autores também verificaram que a associação do óleo de prímula ao tamoxifeno intensificou respostas relacionadas à apoptose e à regulação do ciclo celular, acompanhadas de alterações na expressão de VEGF, ciclina D1 e proteínas envolvidas na sinalização apoptótica. Esses resultados fornecem evidências experimentais que sustentam a investigação do óleo de prímula como componente de estratégias terapêuticas combinadas para o câncer de mama.

Paralelamente, o uso de polímeros naturais tem recebido atenção como estratégia para a incorporação e liberação de agentes terapêuticos. Entre esses polímeros, o alginato destaca-se por sua origem natural, hidrofilicidade, biocompatibilidade e capacidade de formar diferentes sistemas de administração de substâncias. Sua estrutura polissacarídica permite o desenvolvimento de formulações com características variadas, incluindo sistemas destinados à incorporação de compostos bioativos e fármacos, como a DOX. Estudos anteriores têm investigado o alginato como matriz polimérica para sistemas de liberação de doxorrubicina, visando à manutenção ou ao aprimoramento de sua atividade antitumoral. Nanopartículas de alginato funcionalizadas com o peptídeo LyP-1, por exemplo, demonstraram maior captação celular e atividade citotóxica em células MDA-MB-231 (Zhong, Cai e Li, 2020). De maneira semelhante, micropartículas à base de alginato e peptídeos anfifílicos preservaram a atividade citotóxica da DOX, enquanto modificações na superfície das partículas influenciaram sua eficácia (Boekhoven et al., 2015). Nanopartículas constituídas por alginato e quitosana, contendo DOX associada à hidroxicloroquina, também apresentaram maior atividade citotóxica em células MDA-MB-231 quando comparadas à DOX livre (Zhang et al., 2023).



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Apesar desses resultados encorajadores, a associação entre o óleo de prímula e a doxorrubicina permanece pouco explorada em modelos experimentais de câncer de mama. A investigação dessa lacuna pode fornecer uma base experimental para avaliar essa combinação em estudos mais avançados. Para essa finalidade, as células MDA-MB-231 constituem um modelo experimental apropriado por representarem um subtipo agressivo de câncer de mama triplo-negativo (CMTN), caracterizado por alta capacidade invasiva, comportamento metastático, resistência intrínseca a múltiplos agentes quimioterápicos e ativação constitutiva de diversas vias de sinalização pró-sobrevivência (Rashid et al., 2014). Essas características biológicas tornam essa linhagem adequada à investigação de novas estratégias de combinação destinadas a melhorar a atividade citotóxica da doxorrubicina.

A sensibilidade das células MDA-MB-231 à doxorrubicina apresenta considerável variabilidade na literatura, com diferenças nos valores de concentração inibitória de 50% ($IC_{50}$) relatados entre estudos. Após 48 horas de exposição, foram descritos valores de $IC_{50}$ de 0,69 μM (Wan et al., 2021), 0,80 ± 0,19 μM (Duarte et al., 2023), 0,97 ± 0,15 μM (Cavanagh et al., 2024) e 1,20 ± 0,08 μM (Orhaner, Tuncer e Özdemir, 2026). Valores superiores também foram relatados após 24 horas de exposição, incluindo uma $IC_{50}$ de 1,6 μg/mL, equivalente a aproximadamente 2,76 μM quando considerada a massa molar do cloridrato de doxorrubicina (Bashi, Madanchi e Yousefi, 2024), e 12,90 ± 1,80 μM no mesmo período de exposição (Mizielska et al., 2023). Cavanagh et al. (2024) também identificaram diferenças entre modelos de cultivo, com valores de $IC_{50}$ de 0,97 ± 0,15 μM em culturas bidimensionais (2D) e 5,50 ± 1,00 μM em esferoides tridimensionais (3D) de células MDA-MB-231, ambos após 48 horas de exposição à doxorrubicina. Em conjunto, esses resultados evidenciam que a resposta à doxorrubicina depende das condições experimentais, incluindo o tempo de exposição e o modelo de cultivo, reforçando a importância de investigar sua atividade em diferentes contextos de formulação.



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Considerando as limitações associadas ao uso da doxorrubicina, as evidências experimentais sobre a atividade antitumoral do óleo de prímula e o potencial do alginato como matriz polimérica para incorporação de compostos bioativos e fármacos, torna-se relevante investigar formulações que combinem esses constituintes. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo realizar uma avaliação preliminar da viabilidade de células MDA-MB-231 após exposição a formulações à base de alginato e Tween 80 contendo óleo de prímula e/ou doxorrubicina, comparando os efeitos das diferentes composições com aqueles observados após o tratamento com doxorrubicina livre, por meio do ensaio de MTT.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Materiais

O alginato de sódio foi adquirido da Êxodo Científica Química Indústria e Comércio Ltda. (Brasil), enquanto o óleo de prímula (Oenothera biennis) foi obtido comercialmente da AROOM Health. O polissorbato 80 (Tween 80) foi adquirido da Dinâmica Química Contemporânea Ltda. (Brasil), e o cloridrato de doxorrubicina (Doxorubicin HCl) foi adquirido da Carbosynth Limited (Reino Unido).

Para o cultivo celular, foram utilizados o meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), com alta concentração de glicose (High Glucose), contendo bicarbonato de sódio, glutamina, antibiótico e antimicótico (Vitrocell/Embriolife, Brasil), e soro fetal bovino (SFB) estéril e inativado (Nova Biotecnologia, Brasil). Para a dissociação celular, foi utilizada tripsina 1:250, de origem suína (Gibco, Life Technologies; cat. nº 27250-018).

Para os ensaios de viabilidade celular, foi utilizado o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT; Sigma-Aldrich). O azul de tripano (Trypan Blue Dye, 0,40%; Bio-Rad Laboratories) foi empregado na avaliação da viabilidade celular durante a manutenção das culturas. O dimetilsulfóxido (DMSO; grau P.A.-ACS; Synth) foi utilizado na solubilização dos cristais de formazana e



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

como controle positivo de citotoxicidade.

### 2.2 Preparo das formulações à base de alginato e Tween 80

Inicialmente, foi preparada uma solução-base de alginato a 1% (m/v), mediante a dispersão de 2 g do polímero em 200 mL de água destilada, seguida da adição de 4 mL de Tween 80. Considerando o volume total aproximado de 204 mL, a formulação-base (Alg/T80) apresentou concentrações nominais de aproximadamente 0,98% (m/v) de alginato e 1,96% (v/v) de Tween 80. A partir dessa preparação, foram obtidas as formulações contendo óleo de prímula e/ou doxorrubicina, conforme as composições e proporções apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição das formulações à base de alginato e Tween 80.

| Formulação | Solução de partida | Óleo de prímula | DOX (2.000 µM) |
|---|---|---|---|
| Alg/T80 | 200 mL de alginato 1% (m/v) + 4 mL de Tween 80 | — | — |
| Alg/T80/OP | 20 mL de Alg/T80 | 200 µL | — |
| Alg/T80/DOX | 20 mL de Alg/T80 | — | 12,3 µL |
| Alg/T80/OP/DOX | 20 mL de Alg/T80/OP | Incorporado previamente | 12,3 µL |

**Nota:** Alg: alginato; T80: Tween 80; OP: óleo de prímula; DOX: doxorrubicina; —: ausência do componente. Os volumes correspondem às quantidades utilizadas no preparo de cada formulação.

**Fonte:** Autores (2026).

Para o preparo da formulação contendo óleo de prímula (Alg/T80/OP), foram adicionados 200 µL de óleo de prímula a uma alíquota de 20 mL da formulação-base, resultando em uma concentração nominal de aproximadamente 1% (v/v). A formulação contendo alginato, Tween 80 e doxorrubicina (Alg/T80/DOX) foi preparada pela adição de 12,3 µL de uma solução-estoque de doxorrubicina (2.000 µM) a 20 mL da formulação Alg/T80. Por sua vez, a formulação completa (Alg/T80/OP/DOX) foi obtida pela adição de 12,3 µL da mesma solução-estoque de



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

doxorrubicina a 20 mL da formulação Alg/T80/OP. Dessa forma, as formulações contendo doxorrubicina apresentaram concentração nominal de aproximadamente 1,23 μM do fármaco, enquanto aquelas contendo óleo de prímula apresentaram concentração nominal de aproximadamente 1% (v/v). Essas concentrações correspondem às preparações antes de sua diluição no meio de cultura para os ensaios celulares, não representando, portanto, as concentrações finais de exposição das células.

As formulações foram submetidas individualmente à agitação magnética durante 30 minutos, seguida de sonicação em equipamento ultrassônico com frequência de 20 kHz e potência nominal de 550 W, equipado com macroponta e ajuste de potência de 50%. Cada amostra foi processada em três ciclos de 30 segundos, com intervalos de 1 minuto entre os ciclos, sendo mantida em banho de gelo para minimizar o aquecimento durante o procedimento. As mesmas condições operacionais de agitação e sonicação foram empregadas no processamento das diferentes formulações.

### 2.3 Cultivo celular

As células da linhagem tumoral mamária humana MDA-MB-231 foram cultivadas em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), com alta concentração de glicose (4,5 g/L), contendo bicarbonato de sódio, glutamina, antibiótico e antimicótico, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). As culturas foram mantidas em incubadora a 37 °C, sob atmosfera umidificada contendo 5% de $CO_2$. O meio de cultura foi renovado periodicamente, e o crescimento celular foi monitorado por microscopia óptica. Ao atingirem aproximadamente 80% de confluência, as células foram subcultivadas por dissociação enzimática com tripsina, para manutenção rotineira da cultura ou utilização nos ensaios subsequentes.

A viabilidade celular foi determinada pelo método de exclusão com azul de tripano, utilizando um contador automático de células TC20™. Para os



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

procedimentos experimentais, foram utilizadas apenas culturas que apresentaram viabilidade celular igual ou superior a 95%.

### 2.4 Avaliação da viabilidade celular após exposição às formulações e à doxorrubicina livre

A viabilidade celular após exposição às formulações foi avaliada pelo método colorimétrico de MTT, utilizando células MDA-MB-231. As células foram semeadas em placas de 96 poços, na densidade de 1 × $10^4$ células/poço, e submetidas aos diferentes tratamentos durante 24 horas.

Foram avaliadas três formulações constituídas por alginato e Tween 80, diferenciadas pela incorporação de doxorrubicina (Alg/T80/DOX), óleo de prímula (Alg/T80/OP) ou ambos os componentes (Alg/T80/OP/DOX). Adicionalmente, foi incluído um grupo tratado com doxorrubicina livre (DOX livre), para comparação com as formulações contendo o fármaco. A formulação-base Alg/T80, sem óleo de prímula e sem doxorrubicina, não foi avaliada isoladamente no ensaio de viabilidade celular.

Para os tratamentos com as formulações, foram adicionados 20 µL de cada preparação a 80 µL de meio de cultura, totalizando 100 µL por poço, correspondendo a uma diluição de cinco vezes das preparações. Para o tratamento com doxorrubicina livre, foi preparada uma solução intermediária a 10 µM, obtida por diluição da solução-estoque de 2.000 µM. Em seguida, 12,3 µL dessa solução intermediária foram adicionados a 87,7 µL de meio de cultura, totalizando 100 µL por poço e resultando em concentração final de 1,23 µM de doxorrubicina. As concentrações nominais finais de alginato, Tween 80, óleo de prímula e doxorrubicina utilizadas durante a exposição celular estão apresentadas na Tabela 2. Ressalta-se que a concentração nominal final de doxorrubicina livre foi aproximadamente cinco vezes superior à utilizada nas formulações contendo o fármaco.



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

**Tabela 2.** Concentrações nominais finais durante a exposição celular.

| Tratamento | Alginato (% m/v) | Tween 80 (% v/v) | Óleo de prímula (% v/v) | DOX (μM) |
|---|---|---|---|---|
| Alg/T80/DOX | 0,196 | 0,392 | — | 0,246 |
| Alg/T80/OP | 0,194 | 0,388 | 0,198 | — |
| Alg/T80/OP/DOX | 0,194 | 0,388 | 0,198 | 0,244 |
| DOX livre | — | — | — | 1,230 |
| Controle negativo | — | — | — | — |
| Controle positivo (DMSO 10%) | — | — | — | — |

**Nota:** valores nominais aproximados, calculados a partir das quantidades utilizadas no preparo e dos volumes finais das formulações, considerando a aditividade dos volumes. Para os tratamentos com as formulações, foram utilizados 20 μL de preparação e 80 μL de meio de cultura. O controle positivo continha DMSO a 10% (v/v). O símbolo (—) indica ausência do componente.

**Fonte:** Autores (2026).

Foram incluídos um controle negativo de citotoxicidade, constituído por células mantidas em meio de cultura sem tratamento, e um controle positivo de citotoxicidade, constituído por células expostas a DMSO a 10%.

Após 24 horas de exposição, os tratamentos foram removidos e substituídos por 50 μL de solução de MTT (0,5 mg/mL), preparada em solução salina tamponada com fosfato (PBS). As placas foram incubadas por 4 horas a 37 °C e, posteriormente, a solução de MTT foi removida. Os cristais de formazana formados foram solubilizados com 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO), e a absorbância foi determinada a 570 nm em leitor de microplacas. Não foram utilizados poços contendo as formulações na ausência de células para avaliação de possíveis interferências na leitura colorimétrica.

O ensaio foi realizado em três experimentos independentes, com quatro réplicas técnicas por condição experimental em cada experimento. Para cada experimento independente, foi calculada a absorbância média das quatro réplicas



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

técnicas de cada condição experimental. A viabilidade celular relativa (%) foi determinada pela razão entre a absorbância média do tratamento (*ABStratamento*) e a absorbância média do controle negativo correspondente (*ABScontrole negativo*), multiplicada por 100, conforme a Equação 1:

$$Viabilidade\ celular\ (\%): \frac{ABStratamento}{ABScontrole\ negativo}\ x\ 100 \qquad \textbf{(1)}$$

Não foi realizada subtração de absorbância de branco. O controle negativo foi considerado como 100% de viabilidade separadamente em cada um dos três experimentos independentes. Posteriormente, os valores percentuais obtidos em cada experimento foram utilizados para calcular a média e o desvio-padrão dos três experimentos independentes.

### 2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada para os resultados do ensaio de viabilidade celular após exposição às formulações e à doxorrubicina livre na concentração de referência. Os dados foram expressos como média ± desvio-padrão de três experimentos independentes (n = 3), cada um realizado com quatro réplicas técnicas por condição experimental. As réplicas técnicas foram inicialmente utilizadas para calcular a média de cada condição em cada experimento independente, sendo essas médias consideradas as unidades experimentais para a análise estatística. Como todos os tratamentos e controles foram avaliados em cada um dos três experimentos independentes, cada experimento foi considerado um bloco experimental pareado, justificando a utilização da análise de variância (ANOVA) de uma via com medidas repetidas.

As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism. A comparação entre os tratamentos e o controle positivo de citotoxicidade (DMSO a 10%) foi realizada por ANOVA de uma via com medidas repetidas, seguida do pós-



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

teste de Dunnett. Adicionalmente, foi realizada uma segunda ANOVA de uma via com medidas repetidas, considerando exclusivamente as quatro condições de tratamento, seguida do pós-teste de Dunnett, utilizando a formulação Alg/T80/OP/DOX como referência para as comparações múltiplas. Foi adotado nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

## 3. Resultados

A avaliação da viabilidade celular demonstrou variações entre as diferentes condições experimentais (Figura 1). O controle positivo de citotoxicidade (DMSO a 10%) apresentou a menor viabilidade celular média (27,86 ± 12,10%), seguido pela formulação Alg/T80/OP/DOX (43,76 ± 4,39%), pela doxorrubicina livre (51,12 ± 16,58%), pela formulação Alg/T80/DOX (57,26 ± 11,38%) e pela formulação Alg/T80/OP (61,63 ± 9,20%). Os valores foram expressos como média ± desvio-padrão de três experimentos independentes.

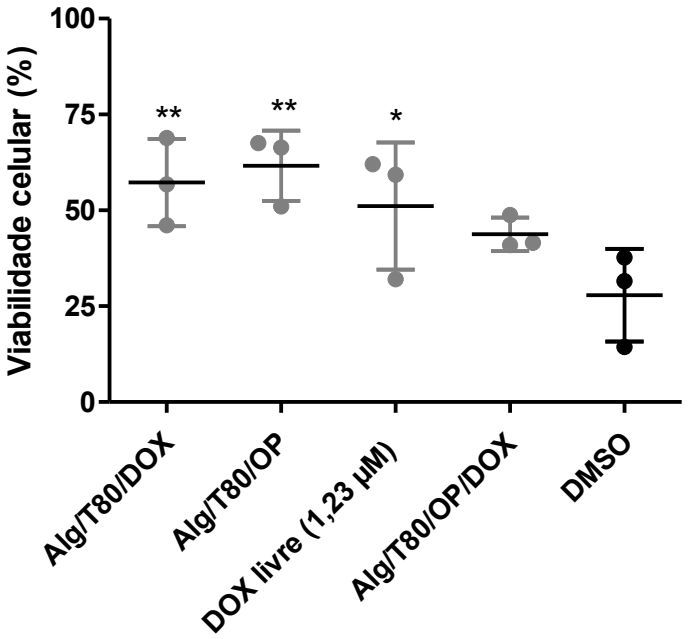


CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

**Figura 1. Viabilidade metabólica relativa de células MDA-MB-231 após 24 horas de exposição às formulações Alg/T80/DOX, Alg/T80/OP e Alg/T80/OP/DOX, à doxorrubicina livre e ao controle positivo de citotoxicidade (DMSO 10%), determinada pelo ensaio de MTT.** Os resultados são expressos como média ± desvio-padrão de três experimentos independentes (n = 3), realizados com quatro réplicas técnicas por condição experimental. Cada ponto representa a média das réplicas técnicas de um experimento independente, normalizada em relação ao respectivo controle negativo, considerado como 100%. As comparações estatísticas foram realizadas por ANOVA de uma via com medidas repetidas, seguida do pós-teste de Dunnett, utilizando DMSO como grupo de referência. *p < 0,05; **p < 0,01 em relação ao DMSO.




**Fonte:** Autores (2026).

A análise de variância de uma via com medidas repetidas, considerando os cinco grupos experimentais, identificou diferenças estatisticamente significativas entre as condições avaliadas ($F(4,8) = 7,290$; $p = 0,0089$). As comparações múltiplas pelo teste de Dunnett, utilizando o DMSO como referência, demonstraram viabilidade celular significativamente maior nos grupos Alg/T80/DOX ($p < 0,01$), Alg/T80/OP ($p < 0,01$) e DOX livre ($p < 0,05$). Por outro lado, a formulação



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Alg/T80/OP/DOX não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle positivo ($p > 0,05$).

Considerando a hipótese de que a associação entre doxorrubicina e óleo de prímula poderia promover maior redução da viabilidade metabólica celular, foi realizada uma análise complementar envolvendo exclusivamente as quatro condições de tratamento. Embora a formulação Alg/T80/OP/DOX tenha apresentado a menor viabilidade celular média entre os tratamentos, a ANOVA de uma via com medidas repetidas não identificou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($F(3,6) = 2,067$; $p = 0,2061$). De maneira consistente, o pós-teste de Dunnett, utilizando a formulação Alg/T80/OP/DOX como referência, não identificou diferenças significativas em relação às formulações Alg/T80/DOX, Alg/T80/OP ou à doxorrubicina livre ($p > 0,05$).

Em conjunto, os resultados demonstraram diferenças na viabilidade celular entre as condições experimentais, enquanto a menor viabilidade média observada para a formulação Alg/T80/OP/DOX não foi acompanhada de diferenças estatisticamente significativas em relação aos demais tratamentos avaliados.

## 4.Discussão

Os resultados demonstraram redução da viabilidade celular em todas as condições de tratamento em relação ao controle não tratado, com o menor valor médio observado para a formulação Alg/T80/OP/DOX. Entretanto, apesar dessa diferença numérica, a formulação não apresentou redução estatisticamente superior da viabilidade metabólica em comparação às demais formulações ou à doxorrubicina livre. Esses achados evidenciam uma menor média de viabilidade metabólica para a formulação combinada, embora não permitam confirmar a potencialização da atividade citotóxica.

A formulação Alg/T80/OP, contendo óleo de prímula na ausência de doxorrubicina, apresentou viabilidade celular média de 61,63 ± 9,20%, indicando



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

redução do sinal metabólico das células MDA-MB-231 após o tratamento. Para a formulação Alg/T80/DOX, a viabilidade média foi de 57,26 ± 11,38%, enquanto a doxorrubicina livre apresentou valor de 51,12 ± 16,58%. A formulação Alg/T80/OP/DOX, por sua vez, apresentou a menor viabilidade média (43,76 ± 4,39%), sugerindo que a presença simultânea de óleo de prímula e doxorrubicina pode influenciar a resposta celular. Contudo, a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos impede concluir que essa associação tenha promovido maior redução da viabilidade metabólica celular em comparação à doxorrubicina livre. A demonstração de uma possível interação sinérgica entre os componentes também exigiria avaliações adicionais, envolvendo diferentes concentrações e combinações, que permitissem distinguir os efeitos individuais daqueles decorrentes da associação.

Na comparação com o controle positivo de citotoxicidade, constituído por DMSO a 10%, a formulação Alg/T80/OP/DOX foi a única condição que não apresentou diferença estatisticamente significativa. Em contrapartida, as formulações Alg/T80/DOX e Alg/T80/OP, assim como a doxorrubicina livre, apresentaram viabilidade celular significativamente maior que a observada no grupo DMSO. Entretanto, a ausência de diferença estatisticamente significativa entre Alg/T80/OP/DOX e DMSO não permite estabelecer equivalência entre os tratamentos. Considerando que o DMSO foi utilizado como controle positivo de citotoxicidade, a avaliação do potencial da formulação combinada deve se basear principalmente na comparação com a doxorrubicina livre e com as demais formulações.

Algumas limitações metodológicas devem ser consideradas na interpretação desses resultados. Inicialmente, a ausência de um grupo experimental contendo exclusivamente a formulação-base Alg/T80 impede determinar a contribuição isolada do alginato e do Tween 80 para as alterações observadas na viabilidade metabólica celular, limitando a atribuição dos efeitos exclusivamente ao óleo de prímula e/ou à doxorrubicina. Além disso, as concentrações nominais finais de



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

doxorrubicina não foram equivalentes entre os tratamentos, sendo de aproximadamente 0,246 μM nas formulações contendo o fármaco e de 1,23 μM no tratamento com doxorrubicina livre. Essa diferença limita a comparação direta entre os tratamentos e impede atribuir eventuais variações da resposta celular exclusivamente à composição das formulações. Adicionalmente, não foram realizados controles específicos para investigar possíveis interferências das formulações na redução do MTT ou na leitura colorimétrica, de modo que não é possível excluir completamente a influência de seus componentes sobre o sinal obtido. Assim, a ausência de significância estatística não deve ser interpretada como demonstração de equivalência ou ausência de efeito biológico.

Em conjunto, os resultados sugerem que a associação entre óleo de prímula e doxorrubicina em formulações à base de alginato e Tween 80 merece investigação adicional, embora os dados disponíveis não demonstrem redução estatisticamente superior da viabilidade metabólica celular em comparação às demais condições de tratamento. Adicionalmente, a utilização de uma única linhagem celular (MDA-MB-231) e de um único período de exposição (24 horas) restringe a extrapolação dos resultados para outros modelos celulares e condições experimentais. Estudos envolvendo diferentes concentrações e tempos de exposição, outras linhagens celulares, incluindo modelos não tumorais para investigação da seletividade, concentrações equivalentes de doxorrubicina, avaliação isolada da formulação-base Alg/T80, controles de interferência no ensaio de MTT e métodos complementares de avaliação da morte celular poderão contribuir para esclarecer os efeitos dessa associação e determinar sua contribuição efetiva à atividade antitumoral.

## 5.Conclusão

Os resultados demonstraram que as formulações à base de alginato e Tween 80, contendo óleo de prímula e/ou doxorrubicina, reduziram a viabilidade



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

metabólica de células MDA-MB-231 após 24 horas de exposição. A formulação Alg/T80/OP/DOX apresentou a menor viabilidade celular média entre os tratamentos avaliados, sugerindo uma possível contribuição da associação entre óleo de prímula e doxorrubicina para a resposta celular observada. Entretanto, a ausência de diferenças estatisticamente significativas em relação às demais formulações e à doxorrubicina livre não permite confirmar a potencialização da atividade citotóxica. Assim, os resultados indicam que essa associação merece investigação adicional, envolvendo diferentes concentrações e tempos de exposição, controles específicos da formulação e métodos complementares de avaliação da citotoxicidade, para esclarecer sua contribuição efetiva à atividade antitumoral.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular (FUNADESP) pela concessão de bolsa de Iniciação Científica (IC), que contribuiu para a realização deste estudo.

## Referências

ABD-ALHASEEB, M. M.; MASSOUD, S. M.; ELSAYED, F.; OMRAN, G. A.; SALAHUDDIN, A. Evening Primrose Oil Enhances Tamoxifen's Anticancer Activity against Breast Cancer Cells by Inducing Apoptosis, Inhibiting Angiogenesis, and Arresting the Cell Cycle. **Molecules**, v. 27, n. 8, p. 2391, jan. 2022.

BASHI, M.; MADANCHI, H.; YOUSEFI, B. Investigation of cytotoxic effect and action mechanism of a synthetic peptide derivative of rabbit cathelicidin against MDA-MB-231 breast cancer cell line. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 13497, 12 jun. 2024.

BOEKHOVEN, J.; ZHA, R. H.; TANTAKITTI, F.; ZHUANG, E.; ZANDI, R.; NEWCOMB, C. J.; STUPP, S. I. Alginate-peptide amphiphile core-shell



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

microparticles as a targeted drug delivery system. **RSC advances**, v. 5, n. 12, p. 8753–8756, 8 jan. 2015.

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263, 2024.

CAVANAGH, R. J.; MONTEIRO, P. F.; MOLONEY, C.; TRAVANUT, A.; MEHRADNIA, F.; TARESCO, V.; RAHMAN, R.; MARTIN, S. G.; GRABOWSKA, A. M.; ASHFORD, M. B.; ALEXANDER, C. Free drug and ROS-responsive nanoparticle delivery of synergistic doxorubicin and olaparib combinations to triple negative breast cancer models. **Biomaterials Science**, v. 12, n. 7, p. 1822–1840, 7 abr. 2024.

DE GRAFF, W. G.; MYERS, L. S.; MITCHELL, J. B.; HAHN, S. M. Protection against Adriamycin® cytotoxicity and inhibition of DNA topoisomerase II activity by 3,4-dihydroxybenzoic acid. **International Journal of Oncology**, v. 23, n. 1, p. 159–163, 1 jul. 2003.

DUARTE, J. A.; GOMES, E. R.; DE BARROS, A. L. B.; LEITE, E. A. Co-Encapsulation of Simvastatin and Doxorubicin into pH-Sensitive Liposomes Enhances Antitumoral Activity in Breast Cancer Cell Lines. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 369, 21 jan. 2023.

GEWIRTZ, D. A. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. **Biochemical Pharmacology**, v. 57, n. 7, p. 727–741, 1 abr. 1999.

KCIUK, M.; GIELECIŃSKA, A.; MUJWAR, S.; KOŁAT, D.; KAŁUZIŃSKA-KOŁAT, Ż.; CELIK, I.; KONTEK, R. Doxorubicin-An Agent with Multiple Mechanisms of Anticancer Activity. **Cells**, v. 12, n. 4, p. 659, 19 fev. 2023.

MIZIELSKA, A. *et al.* Doxorubicin and Cisplatin Modulate miR-21, miR-106, miR-126, miR-155 and miR-199 Levels in MCF7, MDA-MB-231 and SK-BR-3 Cells That Makes Them Potential Elements of the DNA-Damaging Drug Treatment Response



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

Monitoring in Breast Cancer Cells—A Preliminary Study. **Genes**, v. 14, n. 3, p. 702, mar. 2023.

ORHANER, C.; TUNCER, M. C.; ÖZDEMIR, İ. Rosmarinic Acid Enhances Doxorubicin Activity in MDA-MB-231 Cells: Associations with Intracellular Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Apoptosis. **Biomedicines**, v. 14, n. 9, p. 1977, set. 2026.

RASHID, O. M.; NAGAHASHI, M.; RAMACHANDRAN, S.; DUMUR, C.; SCHAUM, J.; YAMADA, A.; TERRACINA, K. P.; MILSTIEN, S.; SPIEGEL, S.; TAKABE, K. An improved syngeneic orthotopic murine model of human breast cancer progression. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 147, n. 3, p. 501–512, out. 2014.

SHARIFI, M.; NOURANI, N.; SANAIE, S.; HAMEDEYAZDAN, S. The effect of Oenothera biennis (Evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 24, n. 1, p. 89, 15 fev. 2024.

TIMOSZUK, M.; BIELAWSKA, K.; SKRZYDLEWSKA, E. Evening Primrose (Oenothera biennis) Biological Activity Dependent on Chemical Composition. **Antioxidants**, v. 7, n. 8, p. 108, 14 ago. 2018.

WAN, X.; HOU, J.; LIU, S.; ZHANG, YANLI; LI, W.; ZHANG, YANRU; DING, Y. Estrogen Receptor α Mediates Doxorubicin Sensitivity in Breast Cancer Cells by Regulating E-Cadherin. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, 4 fev. 2021.

ZHANG, H.; XUE, Q.; ZHOU, Z.; HE, N.; LI, S.; ZHAO, C. Co-delivery of doxorubicin and hydroxychloroquine via chitosan/alginate nanoparticles for blocking autophagy and enhancing chemotherapy in breast cancer therapy. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, 9 maio 2023.

ZHANG, J.; WU, Y.; LI, Y.; LI, S.; LIU, J.; YANG, X.; XIA, G.; WANG, G. Natural products and derivatives for breast cancer treatment: From drug discovery to molecular mechanism. **Phytomedicine**, v. 129, p. 155600, 1 jul. 2024.



CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

**Received:** 13/09/2026 - **Accepted:** 25/10/2026
**Vol**: 08.10
**DOI**: 10.66104/qxhrg543
**Pages:** 1-21

ZHONG, Z.; CAI, L.; LI, C. Characterization and targeting ability evaluation of cell-penetrating peptide LyP-1 modified alginate-based nanoparticles. **RSC Advances**, v. 10, n. 54, p. 32443–32449, 6 set. 2020.



CC BY