

ANÁLISE DO POTENCIAL TOXICOLÓGICO DE FILTROS UV PELO BIOENSAIO COM *ARTEMIA SALINA*

Kamily Kretli Roque¹, João Vitor Vicente da Conceição², Julianne Soares Jardim Lacerda Batista³, Fabiana Vieira Lima Solino Pessoa⁴, Paola Rocha Gonçalves⁵

Ciências Biológicas

Introdução e Objetivo

A exposição excessiva aos raios ultravioleta (UV) do sol tem sido associada a uma série de problemas de saúde, incluindo queimaduras solares, envelhecimento precoce da pele e aumento do risco de desenvolvimento de câncer de pele. Como medida de prevenção, os protetores solares têm sido amplamente utilizados pela população como uma forma eficaz de prevenir esses danos causados pela radiação UV.

A realização de ensaios com procedimentos descomplicados para a avaliação de compostos, sejam eles provenientes de extrações ou obtidos por síntese orgânica, é fundamental, uma vez que a colaboração com pesquisadores da área de farmacologia nem sempre é viável para a condução de ensaios com animais ou tecidos isolados (Cavalcante *et al.*, 2000). Nos estudos de Carvalho e colaboradores (2009) conclui por experimentações com compostos fitoquímicos a *Artemia salina* é um modelo viável, com resultados replicáveis para relacionar ação de substâncias em nível fisiológico. Testar moléculas fotoprotetoras é fundamental não apenas para garantir a eficácia na proteção contra radiação ultravioleta, mas também para avaliar a segurança cutânea (Kwon, Choi, 2021). O bioensaio com *Artemia salina* mostra utilidade frente a uma diversidade de compostos estruturalmente distintos e que possuem mecanismos de ação diferentes (Olmedo *et al.*, 2024). Diante do exposto, o presente estudo tem por objetivo apresentar os resultados de uma prospecção da toxicidade de sete moléculas fotoprotetoras: avobenzona (AVB), benzofenona-3 (BZF-3), dietilamino hidroxibenzoil hexil

¹ Graduando em Farmácia, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/CEUNES.

² Graduanda em Farmácia, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/CEUNES.

³ Doutorado em Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/CEUNES, julianne.lacerda@ufes.br.

⁴ Doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/CEUNES. fabiana.v.lima@ufes.br

⁵ Doutorado em Biologia Funcional e Molecular - Bioquímica, Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/CEUNES, paola.goncalves@ufes.br.

benzoato (DHHB), fenil dibenzimidazol tetrassulfonato dissódico (DPBT), metoxicinamato de octila (EHMC), homosalato (HMS) e octocrileno (OC) pelo bioensaio de letalidade em *Artemia salina*.

Materiais e Métodos

Para o preparo das soluções de tratamento foi realizada a dissolução de 10mg do filtro UV em 50mL de água do mar artificial (água destilada com 30g/L de sal para aquário *Red Sea Salt*), acrescida de 1% de etanol 99,8% e 1% de Tween 20, resultando em concentração final de 200µg/mL com 2% de sistema solvente, que posteriormente é diluído para 1% ao ser aplicado no poço da placa de 24 poços. Os ensaios foram conduzidos seguindo a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982), com adaptações. Os cistos de *A. salina*, liofilizados, foram emergidos em um béquer contendo cerca de 200 ml de água do mar artificial (pH ~ 7,8), colocado sob uma lâmpada halógena de 100W (25-29°C). Após o período de 48 horas de eclosão, os ensaios foram iniciados pelas transferências dos 10 náuplios/poço, acrescido por 1ml de solução teste com concentração final do fotoprotetor de 100µg/mL, 50µg/mL, 25µg/mL, 12,5µg/mL, 6,25µg/mL, 3,12µg/mL, em um volume de 2mL. Para o controle negativo (C-) foi utilizado água do mar artificial acrescida pelo sistema solvente, e controle positivo (C+) solução de K₂CrO₄ (2mg/ml) em água do mar artificial (Sahgal *et al.*, 2010). Os ensaios foram realizados em triplicata para cada condição: teste, controle negativo e controle positivo.

Discussão e Resultados

No presente estudo, os 07 filtros UV avaliados apresentaram diferentes perfis de toxicidade frente ao modelo utilizado, demonstrando um padrão de aumento da mortalidade de forma dose-dependente entre os compostos analisados. Foi possível estabelecer um comparativo, segundo o perfil toxicológico observado nos testes, entre os sete fotoprotetores avaliados (**Figura 1**), e classificá-los do menos ao mais tóxico, na seguinte ordem: DPBT < DHHB < OCT < AVB < HMS < BZF-3 < EHMC. Esses dados corroboram com evidências anteriores acerca dos potenciais riscos ambientais e toxicológicos relacionados a determinados filtros UV. Neste estudo, a taxa de sobrevivência observada no C- variou entre 96,66% e 100% e, C+ apresentou 100% de mortalidade em todos os testes realizados. O sistema solvente que apresentou os melhores resultados foi a combinação de etanol e Tween 20 a 1%, demonstrando boa capacidade de solubilização, além de não induzir mortalidade nos náuplios nos ensaios preliminares.

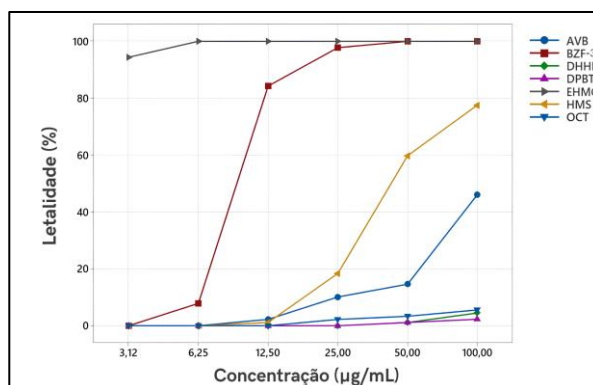


Figura 1. Comparação do Letalidade (%) de *A. salina* exposta a diferentes concentrações dos sete filtros UV testados: avobenzona (AVB), benzofenona-3 (BZF-3), dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato (DHHB), fenil dibenzimidazol tetrasulfonato dissódico (DPBT), metoxicinamato de octila (EHMC), homosalato (HMS) e octocrileno (OC). Fonte: autoria própria (2025).

Na pesquisa, o DPBT foi o composto com menor toxicidade, com CL50 estimada superior a 100 µg/mL. Esta molécula é fotoestável e, recentemente incluída na lista positiva de filtros UV aprovados para uso em cosméticos pela regulamentação europeia (Osterwalder, Luther, Herzog, 2001). O DHHB também teve uma CL50 estimada acima de 100 µg/mL. Esses resultados estão em concordância com Thorel *et al.* (2020), onde não foi observado efeitos tóxicos do DHHB sobre *A. salina*. Além disso, estudos *in vitro* conduzidos por Kawakami *et al.* (2017) demonstraram que o DHHB não apresenta citotoxicidade, fototoxicidade ou potencial de irritação cutânea em formulações tópicas. Segundo Shan *et al.* (2023), esse filtro pode sofrer transformações químicas em ambientes aquáticos, como cloração em piscinas, resultando na formação de subprodutos mais tóxicos. O Octocrileno (OC) apresentou um pequeno aumento na mortalidade em comparação aos anteriores, tendo CL50 estimada também > 100 µg/mL. Esses achados diferem dos encontrados por Thorel *et al.* (2020), que relataram efeitos tóxicos mais pronunciados do OC sobre *A. salina*. Por outro lado, He *et al.* (2019) demonstrou que o OC pode bioacumular significativamente em corais, atingindo concentrações elevadas nos tecidos desses organismos.

AVB exibiu uma mortalidade mais expressiva, com CL50 estimada em 128,65 µg/mL. O estudo de Lee *et al.* (2023), por meio de ensaios com peixe-zebra machos e células humanas, indicou que a exposição à AVB pode provocar efeitos anti androgênicos. Além disso, Boyd *et al.* (2021) demonstrou que AVB pode causar efeitos tóxicos em *Daphnia magna*, um invertebrado de água doce. O HMS apresentou CL50 superior: 53,74 µg/mL. Embora não tenham sido encontrados estudos específicos utilizando o ensaio de letalidade com *A. salina* para esse composto, dados disponíveis na literatura confirmam os resultados do presente estudo.

Yazar e Ertekin (2020), utilizaram modelos celulares que apresentaram potencial do HMS para causar citotoxicidade e genotoxicidade. A BZF-3, por sua vez, mostrou CL50 estimada em 9,35 µg/mL. Tapia-Salazar, Díaz-Sosa e Cárdenas-Chávez (2022) obtiveram resultados semelhantes ao expor *A. salina* a BZF-3, onde determinaram valores de CL50 de 16,5 µg/mL. Sun et al. (2015), utilizando *D. magna*, relataram uma CL50: 7,6 µg/mL em 24 horas de exposição, corroborando com os achados deste trabalho.

Por fim, o EHMC foi o composto mais tóxico em nossos experimentos, tendo sua CL50 considerada inferior a 3,12 µg/mL, caracterizando alta toxicidade aguda frente à *A. salina*. Esses achados estão alinhados com os relatados por De Paula *et al.* (2022), que estimou uma CL50 de 0,37 µg/mL para o EHMC em *A. salina* após 48 horas de exposição, e CL50 abaixo de 1 µg/mL em outros organismos aquáticos, apontando elevada toxicidade desse composto nesse ecossistema.

Considerações Finais

O estudo da toxicidade de fotoprotetores em *A. salina* confirmou o risco associado a alguns compostos amplamente utilizados, evidenciando a eficácia do ensaio como método preliminar simples, econômico e consistente com modelos mais complexos. Os resultados reforçam a segurança de DPBT e DHHB, mas indicam riscos ligados a EHMC, BZF e HMS, com implicações para a saúde pública e os ecossistemas marinhos. Destaca-se, assim, a necessidade de regulamentações mais rigorosas e do desenvolvimento de fotoprotetores alternativos que conciliam eficácia na proteção UV com menor impacto ambiental.

Agradecimentos

À FAPES. Ao Evando Barbosa pelo apoio técnico no laboratório de Bioquímica (DCS/CEUNES/UFES).

Referências

- BOYD, A. et al. **A burning issue: The effect of organic ultraviolet filter exposure on the behaviour and physiology of *Daphnia magna***. *Sci Total Environ*, v. 750, 2021.
- CARVALHO, C. et al. **Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers – Bignoniaceae): estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina***. *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 6, n. 1, p. 51-58, 2009.
- CAVALCANTE, M. et al. **Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach**. *Química Nova*, v. 23, n. 1, p. 20-22, 2000.

- DE PAULA, V.C.S. et al. **Acute toxicity characterization of organic UV-filters and chronic exposure revealing multigenerational effects in *Daphnia magna*.** *Ecotoxicology*, v. 31, n. 9, p. 1413-1425, 2022.
- DOWNS, C.A. et al. **Toxicopathological Effects of the Sunscreen UV Filter, Oxybenzone (Benzophenone-3), on Coral Planulae and Cultured Primary Cells and Its Environmental Contamination in Hawaii and the U.S. Virgin Islands.** *Arch Environ Contam Toxicol*, v. 70, n. 2, p. 265-288, 2016.
- GEETHAA, S. et al. **Interference from ordinarily used solvents in the outcomes of *Artemia salina* lethality test.** *J. Adv. Pharm. Technol. Res*, v. 4, n. 4, p. 179-182, 2013.
- HE, T. et al. **Toxicological effects of two organic ultraviolet filters and a related commercial sunscreen product in adult corals.** *Environ Pollut*, v. 245, p. 462-471, 2019.
- KAWAKAMI, C.M. et al. **Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate (DHHB) as additive to the UV filter avobenzone in cosmetic sunscreen formulations - Evaluation of the photochemical behavior and photostabilizing effect.** *Eur J Pharm Sci*, v. 99, p. 299-309, 2017.
- KWON, B.; CHOI, K. **Occurrence of major organic UV filters in aquatic environments and their endocrine disruption potentials: A mini-review.** *Integr Environ Assess Manag*, v. 17, n. 5, p. 940-950, 2021.
- LEE, S. et al. **Single and mixture toxicity evaluation of avobenzone and homosalate to male zebrafish and H295R cells.** *Chemosphere*, v. 343, 2023.
- MAYER, B. et al. **Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents.** *Planta Médica*, v. 45, n. 5, p. 31-35, 1982.
- OLMEDO, D. et al. **Understanding the *Artemia salina* (Brine Shrimp) Test: Pharmacological Significance and Global Impact.** *Bentham Science Publishers*, v. 27, n. 4, p. 545-554, 2024.
- OSTERWALDER, U.; LUTHER, H.; HERZOG, B. **Über den Lichtschuttfaktor hinaus – neue effiziente und photostabile UVA-Filter.** *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, v. 44, p. 463-470, 2001.
- SAHGAL, G. et al. **Brine shrimp lethality and acute oral toxicity studies on *Swietenia mahagoni* (Linn.) Jacq. seed methanolic extract.** *Pharmacogn Res*, v. 2, n. 4, p. 215-220, 2010.
- SHAN, P. et al. **Transformation and toxicity studies of UV filter diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate in the swimming pools.** *Sci Total Environ*, v. 881, 2023.
- SUN, H. Q. et al. **Acute Toxicity and Ecological Risk Assessment of Benzophenone and N,N-Diethyl-3 Methylbenzamide in Personal Care Products.** *Int J Environ Res Public Health*, v. 13, n. 9, p. 925, 2016.
- TAPIA-SALAZAR, M. et al. **Toxicological effect and enzymatic disorder of non-studied emerging contaminants in *Artemia salina* model.** *Toxicol Rep*, v. 9, p. 210-218, 2022.
- THOREL, E. et al. **Effect of 10 UV Filters on the Brine Shrimp *Artemia salina* and the Marine Microalga *Tetraselmis* sp.** *Toxics*, v. 8, n. 2, p. 29, 2020.
- VILA, M. et al. **Ultrasound-assisted emulsification microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of UV filters in water.** *Microchemical Journal*, v. 124, p. 530-539, 2016.
- YAZAR, S.; KARA ERTEKIN, S. **Assessment of the cytotoxicity and genotoxicity of homosalate in MCF-7.** *J Cosmet Dermatol*, v. 19, n. 1, p. 246-252, 2020.