

MICHAŁ DROBNIK, TERESA LATOUR

BADANIE WŁAŚCIWOŚCI FARMAKODYNAMICZNYCH ROZTWORU  
KWASU BOROWEGO

INVESTIGATION OF THE PHARMACODYNAMIC PROPERTIES OF THE  
SOLUTION OF BORIC ACID

Zakład Tworzyw Uzdrawiskowych  
Państwowy Zakład Higieny  
60-821 Poznań, ul. Słowackiego 8/10  
Kierownik: dr T. Latour

*W badaniach doświadczalnych na zwierzętach laboratoryjnych określono wpływ roztworu  $H_3BO_3$  zastosowanego doustnie, na niektóre parametry gospodarki węglowodanowej, tłuszczowej, białkowej, wodno-elektrolitowej, morfologię oraz równowagę kwasowo-zasadową we krwi. Zbadano oddziaływanie roztworu kwasu na mięśnie gładkie jelita, wydalanie moczu i żółci*

WSTĘP

Bor należy do pierwiastków nie posiadających znaczenia dla życiowych funkcji organizmu człowieka. Jego dzienna dawka pobierana przez dorosłego człowieka z wodą do picia, żywnością i środowiska oceniana jest na ok. 0,3–20 mg. Pierwiastek ten w wodzie występuje głównie w postaci słabo zdysocjowanego kwasu borowego, ale także w formach anionów kompleksowych oraz połączeń organicznych. Bor stanowi swoisty składnik wielu naturalnych wód leczniczych, w których traktowany jest obecnie jako pierwiastek potencjalnie toksyczny ( $HBO_2$ ,  $H_3BO_3$ ).

Powyżej 5 mg  $HBO_2/dm^{3*}$  zawierają wody lecznicze z 57 ujęć w 16 uzdrowiskach polskich. Koncentrację związków boru powyżej dopuszczalnej dla wody do picia oraz dla butelkowanych naturalnych wód mineralnych/30 mg kwasu metaborowego ( $dm^3$ ) stwierdzono w 65% wód z ww. ujęć. Najwyższe stężenie tych związków występuje w wodach Iwonicza (do 175 mg), Rabki (do 395 mg), Rymanowa (do 177 mg), Szczawnicy (do 753 mg) i Wysowej (do 989 mg  $HBO_2/dm^3$ ).

Bor jest łatwo wchłaniany zarówno przez przewód pokarmowy, uszkodzoną skórę jak i drogą oddechową. Kwas borowy kumuluje się w organizmie, głównie w kościach [14], nerkach [13] ponadto w mózgu, wątrobie, tkance tłuszczowej oraz w mniejszych ilościach płynach ustrojowych [21].

W pracach doświadczalnych przeprowadzonych na zwierzętach (myszy, króliki, szczury, kurczęta) z udziałem kwasu borowego wykazano jego toksyczność rozrodczą i rozwojową łącznie z opóźnieniem wzrostu płodu i zmienioną morfologią szkieletu [2, 8, 11, 12, 17].

Wg *Eichlera-Satke* [7] granica tolerancji w ustroju człowieka bez objawów szkodliwości wynosi ok. 0,85 mg/kg dziennie.

Fizjologiczna rola boru dla ludzi i zwierząt nie jest w pełni wyjaśniona. Istnieją doniesienia o jego wpływie na metabolizm wapnia [20] oraz procesy enzymatyczne [16]. Uważa się, że kwas borowy i borany, działając odwadniająco na protoplazmę komórkową, powodują zaburzenia przemiany materii co prowadzi do zaburzeń gospodarki elektrolitowej i równowagi kwasowo-zasadowej.

Postanowiono zatem zbadać wpływ roztworu kwasu borowego, zastosowanego *per os* u zwierząt doświadczalnych, na poziom niektórych wskaźników podstawowej przemiany materii, równowagę kwasowo-zasadową oraz na mięśnie gładkie jelita cienkiego, wydalanie moczu i żółci. Uzyskane wyniki pozwolą na porównanie oddziaływania na organizm roztworu samego kwasu borowego oraz kwasu obecnego wespół z innymi pierwiastkami w borowych wodach leczniczych, które niejednokrotnie stosowane są w krenoterapii i były przedmiotem naszych wcześniejszych badań [1, 5].

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badaniom poddano wodny roztwór kwasu o-borowego, zawierający 274,47 mg tego związku w litrze. Stężenie to odpowiada zawartości boru w leczniczej szczawie wodorowęglanowo-chlorkowo-sodowej, bromkowej, jodkowej, borowej pochodzącej z ujęcia B-4 w Szczawnicy.

Wpływ ww. roztworu  $H_3BO_3$  na równowagę kwasowo-zasadową, poziom elektrolitów, lipidów, białka całkowitego, węglowodanów oraz morfologię krwi przeprowadzono na szczurach, samcach rasy Wistar, o początkowym średnim ciężarze ciała  $215 \pm 5$  g. Zwierzęta karmiono granulowaną mieszanką standardową typu LABOFEED B z Wytwórni Pasz i Koncentratów w Keyni. Szczury przebywały przez cały czas trwania doświadczenia tj. 30 dni w pomieszczeniu o optymalnych warunkach klimatycznych.

Zwierzęta podzielono losowo na dwie grupy po 15 sztuk każda. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały do picia wodę wodociągową, a grupy badanej wodny roztwór  $H_3BO_3$ . Wody podawano szczurom do picia w dawce „*ad libitum*” przez podany wyżej okres.

Po zakończeniu stosowania wód, od uśpionych heksobarbitem sodowym szczurów, pobierano (metodą punkcji) krew z prawej komory mięśnia sercowego oraz niektóre narządy wewnętrzne (nerki, nadnercza, wątrobę).

We krwi lub w surowicy wykonano oznaczenia:

- parametrów równowagi kwasowo-zasadowej za pomocą analizatora typu OP-206 firmy Plastomed;
- sodu i potasu za pomocą analizatora biologicznego zasad typu OP-266/1 firmy Radelkis;
- hematokrytu metodą mikrohematokrytową;
- glukozy, kwasu pirogronowego, kwasu mlekowego, cholesterolu całkowitego, frakcji HDL cholesterolu, lipidów całkowitych, triglicerydów, białka całkowitego, wapnia, magnezu, hemoglobiny – za pomocą odczynnikowych zestawów diagnostycznych firm (POCh-Gliwice, Boehringer-Manheim, Wytwórni Surowic i Szczepionek w Krakowie, Sermognost, Alpha Diagnostics).

W czasie doświadczenia mierzono codzienne zużycie płynów, obserwowano zachowanie się zwierząt, ich wygląd.

Oprócz stałej obserwacji szczurów oraz badań biochemicznych na uzyskanym materiale biologicznym, przeprowadzono również badania farmakodynamiczne [4], które objęły ocenę działania moczopędnego, działania żółciopędnego oraz wpływu na mięśnie gładkie.

– **Działanie moczopędne** – głodzoną przez 12 godzin szczurom podawano sondą dożołądkowo badany roztwór  $H_3BO_3$  a szczurom grupy kontrolnej wodę wodociągową, w jednorazowych

dawkach 3,6 oraz 10,7 cm<sup>3</sup>/kg m.c. (masy ciała). Ilość wydalanego moczu od zwierząt umieszczonych w klatkach metabolicznych przez 5 godzin trwania doświadczenia mierzono co godzinę.

– *Działanie żółciopędne* – badano na świnkach morskich o wadze 350–400 g, szczepu laboratoryjnego, płci obojga. Będącym w narkozie zwierzętom podwiązywano przewód żółciowy, instalowano sondę odprowadzającą żółć, następnie podawano dożołądkowo roztwór kwasu borowego lub wodę wodociągową w dawkach: 3,6 ; 7,1 oraz 10,7 cm<sup>3</sup>/kg m.c.. Przez 3 godziny, co 15 minut mierzono ilość wydalanej żółci – 1 godzinę przed podaniem oraz przez 2 godziny od momentu podania badanego roztworu.

– *Wpływ na mięśnie gładkie* – przeprowadzono na wyodrębnionym jelicie cienkim królika. Do utlenianego w roztworze odżywczym *Tyrode'a* odcinka wyizolowanego jelita dodawano odpowiednie ilości roztw. H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, rejestrując jednocześnie ruchy spontaniczne jelita na kimografie.

Przy statystycznym opracowaniu wyników zastosowano test *t-Studenta*. Przyjęto poziom istotności różnic  $P \leq 0,05$ .

## WYNIKI

Wartości oznaczonych wskaźników gospodarki lipidowej zestawiono w tabeli I. Jak wynika z zestawienia, kwas o-borowy powodował statystycznie znamienne obniżenie poziomów cholesterolu całkowitego, frakcji HDL cholesterolu, lipidów całkowitych oraz tendencje spadkowe stężenia triglicerydów. Stosunek stężeń HDL do cholesterolu całkowitego wzrósł z wartości 0,55 w grupie kontrolnej szczurów do 0,63 w grupie badanej zwierząt.

Z oznaczeń stężeń elektrolitów (tabela II) wynika, że po zastosowaniu H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> nastąpił spadek poziomu sodu, potasu, magnezu i wapnia w surowicy krwi. Wszystkie powyższe zmiany stężeń kationów były statystycznie znamienne. Należy zwrócić uwagę na malejący stosunek stężeń Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> z wartości 2,11 w grupie badanej w porównaniu ze zwierzętami grupy kontrolnej, w której ten iloraz wynosi 1,96.

Tabela III zawiera wartości oznaczonych parametrów równowagi kwasowo-zasadowej we krwi żyłnej. Obserwowano statystyczny spadek wartości pH, prężności dwutlenku węgla i tlenu, stężenia wodorowęglanów, nadmiaru zasad, standardowego nadmiaru zasad, nadmiaru zasad osocza, zasad buforowych osocza, całkowitego dwutlenku węgla, całkowitej zawartości tlenu i saturacji tlenem.

Pod wpływem roztworu H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> obserwowano także tendencje wzrostowe poziomu glukozy i kwasu mlekowego oraz niewielki spadek stężenia hemoglobiny. Nie stwierdzono istotnych zmian w poziomie kwasu pirogronowego, białka całkowitego oraz hematokrytu, erytrocytów i leukocytów krwi.

Badany roztwór kwasu borowego podany dożołądkowo szczurom w jednorazowej dawce 3,6 cm<sup>3</sup>/kg m.c., powodował nieznaczne zmniejszenie ilości wydalonego moczu w porównaniu ze zwierzętami grupy kontrolnej otrzymującymi wodę wodociągową w takiej samej dawce. Natomiast po dawce 10,7 cm<sup>3</sup>/kg m.c., obserwowano statystycznie znamienne spadki (o 18%) ilości oddawanego moczu. Roztwór ten nie wywierał w żadnej z zastosowanych dawek działania żółciopędnej u świnek morskich.

Roztwór kwasu zawierający 274,5 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>/dm<sup>3</sup> zastosowany w rozcieńczeniu płynem odżywczym do narządów izolowanych, w stosunku (roztwór kwasu/płyn odżywczy):

- 1:9 – nie powodował żadnych zmian w ruchach perystaltycznych jelita;

– 1:4 – między pierwszą a drugą minutą od momentu podania kwasu wystąpił wzrost napięcia jelita o ok. 50% przy niezmienionej wielkości amplitudy i częstotliwości w stosunku do stanu wyjściowego;

– 1:1,5 – bezpośrednio po podaniu  $H_3BO_3$  następował wzrost napięcia jelita z jednoczesnym całkowitym zniesieniem jego ruchów spontanicznych.

We wszystkich przypadkach, po przepłukaniu jelita płynem *Tyrode'a*, stan napięcia, wielkość amplitudy i częstotliwość skurczów jelita powracały do stanu pierwotnego.

W wyniku stosowania per os roztworu kwasu borowego w dawce „*ad libitum*”, przez 30 dni, obserwowano w grupie badanej zwierząt zmniejszenie ilości wypitego wodnego roztworu kwasu o ok. 5% w stosunku do ilości wypitej wody wodociągowej, zastosowanej w grupie kontrolnej szczurów.

Zachowanie się zwierząt, ich ruchliwość jak i wygląd oraz ciężar pobranych narządów wewnętrznych w obydwu grupach zwierząt były podobne.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Reasumując uzyskane wyniki badań, należy stwierdzić, że wodny roztwór kwasu o-borowego zawierający 47,99 mg B/dm<sup>3</sup>, zastosowany w różnych dawkach (dawki odpowiadają objętości 1,2 i 3 szklanek lub objętości roztworu wypijanego bez ograniczeń przez dorosłego człowieka o arbitralnie przyjętej masie 70 kg) wykazywał czynne działanie biologiczne.

W odpowiedniej dawce działał spastycznie na mięśnie gładkie jelita, powodował zmniejszenie wydalania moczu oraz spadek obrotu  $H_2O$  w organizmie. Obniżenie łaknienia oraz skąpomocz wg *Rusieckiego* i *Kubikowskiego* [19] oraz *Seńczuka* [21] świadczą o objawach przewlekłego zatrucia. Natomiast w pracach doświadczalnych [3, 6, 9, 10, 18] na różnych gatunkach zwierząt, z udziałem kwasu borowego zastosowanego w diecie, stwierdzono wzrost ilości wypitej wody, wzrost ciężaru nerek oraz zmniejszenie przyrostu masy ciała.

Badany roztwór kwasu borowego zastosowany u szczurów przez 30 dni, w dawce „*ad libitum*” powodował istotne zmiany w gospodarce tłuszczowej i mineralnej. Obserwowany wzrost stosunku stężeń lipoprotein o wysokiej gęstości do cholesterolu całkowitego o 14,5% w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt oraz zmiany pozostałych oznaczonych wskaźników lipidowych świadczyć mogą o korzystnym oddziaływaniu  $H_3BO_3$  na przemiany tłuszczowe. Stwierdzony spadek stężenia wapnia w surowicy krwi pod wpływem badanego roztworu kwasu zgodny jest z wynikami pracy *Seala* i *Weetha* [20] a obniżenie poziomu potasu z doniesieniem *Rusieckiego* i *Kubikowskiego* [19].

Za obserwowany w doświadczeniu nieznaczny wzrost stężenia glukozy i jej metabolitu odpowiedzialny może być spadek stężenia magnezu, który to pierwiastek jest katalizatorem przemian węglowodanowych. Stąd też jego niedobór może działać jako inhibitor procesu glikolizy tlenowej prowadząc w efekcie do wzrostu poziomu glukozy i mleczanów we krwi szczurów.

Z otrzymanych wartości parametrów gazometrycznych wynika, że długotrwałe stosowanie badanego roztworu  $H_3BO_3$  prowadzi do zmian, które świadczyć mogą o możliwości wystąpienia niewyrównanej kwasicy metabolicznej.

W opracowaniu przedstawionym przez *Murraya* [15], dotyczącym ryzyka zagrożenia zdrowia ludzkiego przez związki zawierające bor w wodzie do picia, punktem oparcia

były studia nad rozwojem toksyczności u szczurów, w których wyselekcjonowano 9,6 mg B/kg/dzień jako wielkość podstawową dla ryzyka zagrożenia. Po uwzględnieniu wielu czynników (np. obliczeń farmako-kinetycznych podobieństw wśród gatunków, podobnych profili toksyczności itp.) obliczono dawkę dla ludzi na 0,3 mg B/kg/dzień, która w przeliczeniu na akceptowane dzienne spożycie wynosi 18 mg B/dzień. Dorośli przy górnym zakresie zagrożenia mogą otrzymywać dzienną dawkę boru 0,005 mmol B/kg m.c. przy zagrożeniu z diety (3,1 mg B/dobę) i wody do picia (0,4 mg B/d).

W powiązaniu z powyższym oraz przyjmując, że człowiek wypija 1500 cm<sup>3</sup> płynów dziennie, w naszym doświadczeniu otrzymywałby 4x większą dawkę od zalecanej. Z ekstrapolacji wyników uzyskanych na zwierzętach trudno jest w sposób jednoznaczny określić wpływ kwasu borowego na ludzki organizm, z powodu LD<sub>50</sub>, z którego wg Weira i Fishera [22] wynika, że wrażliwość człowieka jest 20 x wyższa niż u szczurów.

Występujące rozbieżności dotyczące ilości przyjmowanych płynów, ciężaru nerek między wynikami obecnej pracy a ww. doniesieniami, można tłumaczyć faktem zastosowania H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> przez różny okres, w różnych dawkach i postaciach, na różnych gatunkach zwierząt.

#### WNIOSKI

1. Wodny roztwór kwasu o-borowego zawierający 47,99 mg B/dm<sup>3</sup>, w określonej dawce powodował zmniejszenie wydalania moczu u szczurów, wpływał hamująco na motorykę mięśni gładkich jelita cienkiego królika, nie wywierał działania żółciopędnego u świnek morskich.

2. Badany roztwór, stosowany u szczurów, przez okres 30 dni, doustnie w dawce „*ad libitum*”, powodował statystycznie znamienne obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego, frakcji HDL cholesterolu, lipidów całkowitych, potasu, magnezu, wapnia i sodu w surowicy krwi.

3. Po stosowaniu H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> w dawce i czasie jak wyżej obserwowano zmniejszenie obrotu wody w organizmie badanych szczurów.

4. Długotrwałe stosowanie badanego kwasu może prowadzić do istotnych zmian w zakresie równowagi kwasowo-zasadowej.

5. Stwierdzone w pracy oddziaływanie farmakodynamiczne samego kwasu borowego w roztworze, różni się od oddziaływania wód mineralnych, w których występuje bor jako jeden z wielu składników wody. Różnice te wskazują, że zachodzi interakcja, która zmienia siłę i kierunek działania boru.

M. Drobnik, T. Latour

#### INVESTIGATION OF THE PHARMACODYNAMIC PROPERTIES OF THE SOLUTION OF BORIC ACID

##### Summary

By virtue of experimental investigations that had been carried out on animals an essential biological action of the aqueous solution of boric acid on the organism could be stated. The solution containing 274.46 mg of H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> in a litre, administered to rats for 30 days orally in an “*ad libitum*” dose, caused changes in the lipid metabolism and in the water-mineral balance of

the organism and in the acid-base equilibrium of the blood, it did not affect the morphology and the parameters of carbohydrate and protein metabolism. No influence has been stated of the investigated boric acid, as used in guinea pigs, on the excretion of bile. Suitably diluted with a nutritive fluid the solution acted spastically on the peristalsis of the small intestine of the rabbit.

#### PIŚMIENICTWO

1. *Banaszkiewicz W., Drobnik M., Straburzyński G.*: Niektóre właściwości farmakodynamiczne wód mineralnych ze źródeł w Szczawnicy Zdroju. *Baln. Pol.* 1992, 35, 1–4, 96–119.
2. *Chapin R.E., Ku W.W.*: The reproductive toxicity of boric acid. *Environ. Health Perspect.* 1994, 102, Suppl. 7, 87–91.
3. *Dieter M.P.*: Toxicity and carcinogenicity studies of boric acid in male and female B6C3F1 mice. *Environ. Health Perspect.* 1994, 102, Suppl. 7, 93–97.
4. *Drobnik M.*: Ocena właściwości farmakodynamicznych średniozmineralizowanej wody alkalicznej przeznaczonej do dystrybucji jako butelkowana naturalna woda mineralna. *Roczn. PZH* 2000, 51, 379–384.
5. *Drobnik M., Latour T.*: Czynne działanie biologiczne średniozmineralizowanej wody wodorowęglanowo-sodowej z ujęcia „Pitoniakówka” w Szczawnicy, przeznaczonej do uzdrowiskowej kuracji pitnej. *Roczn. PZH* 2001, 52, 41–47.
6. *Dufour L., Sander J.E., Wyatt R.D., Rowland G.N., Page R.K.*: Experimental exposure of broiler chickens to boric acid to assess clinical signs and lesions of toxicosis. *Avian Dis.* 1992, 36, 1007–1011.
7. *Eichler-Satke I.*: Potentiell schadliche Spurenstoffe in Mineralwassern. *Mat. Sympozjum Austriackiego Towarzystwa Balneologii i Klimatologii.* Illmitz-15 may 1976, 4–16.
8. *Harris M.W., Chapin R.E., Lockhart A.C., Jokinen M.P.*: Assessment of a short-term reproductive and developmental toxicity screen. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1992, 19, 186–196.
9. *Heindel J.J., Price C.J., Field E.A., Marr M.C., Myers C.B., Morrissey R.E., Schwetz B.A.*: Developmental toxicity of boric acid in mice and rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1992, 18(2), 266–277.
10. *Heindel J.J., Price C.J., Schwetz B.A.*: The developmental toxicity of boric acid in mice, rats and rabbits. *Environ. Health Perspect.* 1994, 102, Suppl. 7, 107–112.
11. *Ku W.W., Chapin R.E., Wine R.N., Gladen B.C.*: Testicular toxicity of boric acid (BA): relationship of dose to lesion development and recovery in the F244 rat [see comments]. *Reprod. Toxicol.* 1993, 7, 305–319.
12. *Ku W.W., Shih L.M., Chapin R.E.*: The effects of boric acid (BA) on testicular cells in culture [see comments]. *Reprod. Toxicol.* 1993, 7, 321–331.
13. *Magour P., Schramel P., Ovcár J., Haser H.*: Uptake and distribution of boron in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1982, 11, 521–526.
14. *Moseman R.F.*: Chemical disposition of boron in animals and humans. *Environ. Health Perspect.* 1994, 102, Suppl. 7, 113–117.
15. *Murray F.J.*: A human health risk assessment of boron (boric acid and borax) in drinking water. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1995, 22, 221–230.
16. *Nielsen F.H.*: *Boron. W.*: Trace elements in human and animal nutrition. Red.: *W.Mertz*, Academic Press, 1986, vol.2, 420–427.
17. *Price C.J., Strong P.L., Murray F.J., Goldberg M.M.*: Blood boron concentrations in pregnant rats fed boric acid throughout gestation. *Reprod. Toxicol.* 1997, 11, 833–842.
18. *Price C.J., Strong P.L., Marr M.C., Myers C.B., Murray F.J.*: Developmental toxicity NOAEL and postnatal recovery in rats fed boric acid during gestation. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1996, 32, 179–193.
19. *Rusiecki W., Kubikowski P.*: Toksykologia współczesna. PZWL, Wydanie III, Warszawa 1977.

20. *Seal B. S., Weeth H.J.*: Effect of boron in drinking water on male laboratory rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1980, 25, 782–788.
21. *Seńczuk W.*: Toksykologia. PZWL, Wydanie III, Warszawa 1999.
22. *Weir R.J., Fisher R.S.*: Toxicol Studies on Borax and Boric Acid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1972, 23, 351–355.

Otrzymano: 2001.01.21