根管治療剤ホルマリン・グアヤコールの急性毒性

九州歯科大学歯科薬物学講座（指導：吉村泰治教授）

黒 木 賀 代 子・村 上 雄 次
大 住 伴 子・木 村 環

昭和57年10月5日受付

A Study on Acute Toxicity of Formalin-Guaiacol

Kayoko Kuroki, Yuji Murakami, Tomoko Osumi
and Tamaki Kimura

Department of Dental Pharmacology (Professor : Prof. Taiji Yoshimura)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

Acute toxicity of Formalin-guaiacol(FG) was studied in comparison with that of Formocresol(FC), guaiacol and cresol with use of male mice of ddY strain weighing about 20g each. Each drug was diluted in olive oil to be administered orally to the mice which had not been fed for 20 hours prior to the test. Toxic symptoms and changes in the body weight gain were observed and the number of death was recorded for 7 days; LD₅₀ with 95% confidence limits calculated by Litchfield-Wilcoxon's method was : 1.81 (1.56~2.10)g/kg for FG, 1.72(1.51~1.96)g/kg for FC, 0.89(0.75~1.05)g/kg for guaiacol and 0.76(0.66~0.87)g/kg for cresol. No significant difference was found between LD₅₀ of FG and that of FC or between LD₅₀ of guaiacol and that of cresol($p<0.05$). Little difference was observed between guaiacol and cresol, and FG bore much resemblance to FC concerning toxic symptoms and changes in the body weight gain of surviving mice induced by oral administration of each drug.

From the above it was considered that FG was less toxic than guaiacol and than cresol and that toxicity of FG was as potent as that of FC.

結 言

ホルマリン・クレゾール製剤は感染根管消毒剤として古くから繁用されているが、根管治療上、所要条件を完備した薬剤とは言えない。他剤に比較して卓越した消毒力を示す¹⁻⁶⁾反面、その局所刺激作用や腐蝕作用も強く⁷⁻⁹⁾、また、製剤変化を起こし易い¹⁰⁻¹²⁾点には十分に注意しなければならない。このような欠点を改良する目的で、クレゾール以外のフェノール系薬剤、あるいは界面活性剤などをホルマリンに配合した製剤が試作された^{13,14)}。中でも、ホルマリン・グアヤコール製剤は、感

染根管に対してホルマリン・クレゾール製剤に劣らぬ臨床成績が得られるといわれ¹⁴⁻¹⁷⁾、その薬理作用や毒性、経時変化についても検討されるに至った¹⁸⁻²⁰⁾。

ホルマリン・グアヤコール製剤の急性毒性については、既に西川ら(1978)¹⁸⁾、および二木ら(1979)¹⁹⁾、(1979)²⁰⁾により報告されている。しかし、ホルマリン・グアヤコール製剤とホルマリン・クレゾール製剤あるいは単味のグアヤコールとの比較成績では必ずしも一致した傾向が認められなかった。本実験ではこの点を明らかにするため、マウスにおける50%致死量(以下LD₅₀と記す)を求めることにより、ホルマリン・グアヤコール

ル (以下 FG と記す), ホルモクレゾール (以下 FC と記す), グアヤコールおよびクレゾールの急性毒性を比較検討した。

実験方法

A. 実験動物ならびに飼育条件

実験動物は体重18.0~22.0 g の ddY 系雄性マウス350 匹を用いた。飼料は固型飼料 (オリエンタル MF) を用い, 飲料水と共に自由に摂取できるようにしたが, 薬物投与前20時間は絶食とした。マウスは購入後実験環境に一週間観察飼育を行い, 外貌, 行動および体重変化に異常の認められなかったものだけを使用した。

B. 実験薬剤

実験薬剤は次の4種とした。

1. FG

ホルマリン	40.0%
グアヤコール	40.0%
エチルアルコール	20.0%

2. FC

ホルマリン	40.0%
クレゾール	40.0%
エチルアルコール	20.0%

3. グアヤコール

4. クレゾール

上記薬剤のうち, ホルマリンとエチルアルコールは試薬特級品, クレゾールは試薬一級品の3異性体をそれぞれ用時精製し, *o* 体35.0%, *m* 体40.0%, *p* 体25.0%の割合に混和したもの, グアヤコールは片山化学工業製最純試薬を使用し, FG および FC は新しく調製したものをを用いた。

C. 実験群ならびに投与方法

実験群はいずれも1群10匹とした。

薬剤投与は, 13時30分から14時30分の間に行い, 投与直前にマウスの体重を測定した。

実験薬剤は, 日本薬局方オリーブ油で所定の濃度 (g/dl) に希釈し, マウス体重10 g あたり薬剤溶液0.1ml を胃ゾンデを用いて経口投与した。コントロール群には, オリーブ油をマウス体重10 g あたり0.1ml投与した。

D. 死亡数ならびにLD₅₀

薬剤投与後7日間にわたり死亡数を記録し, 総死亡数から Litchfield-Wilcoxon 法²¹⁾によりLD₅₀を求めた。

E. 全身症状ならびに体重変化

薬剤投与後7日間にわたり全身症状の観察と生存例の体重測定を行った。体重は1例ごとに薬剤投与前の体重

に対する比率を求め, 各実験群の平均値をグラフに表して体重変化を調べた。

実験成績

A. 死亡数ならびに LD₅₀

FG, FC, グアヤコールおよびクレゾールを投与後7日間の死亡数は表1および図1, 2に示す通りであった。これからLD₅₀とその95%信頼限界を求めると, FGは1.81 g/kg (1.56~2.10g/kg), FC は1.72g/kg (1.51~1.96 g/kg) であり, また, グアヤコールは0.89g/kg (0.75~1.05g/kg), クレゾールは0.76g/kg (0.66~0.87g/kg) となった。FG を比較基準とすると FC, グアヤコールおよびクレゾールの用量-反応直線はいずれも平行性を有し, 毒性比を求めると表2に示すように FG 1.00 に対し, FC 1.05, グアヤコール2.03, クレゾール2.38 となった。しかし, FG と FC の間およびグアヤコールとクレゾールの間に有意差は認められなかった (危険率 5%)。

Fig. 1 Dose-response lines of FG and FC on mortality in mice.

Table 1 Mortality of mice caused by oral administration of FG, FC, guaiacol and cresol.

FG

Dose (g/kg)	Number of experimental mice	Days after administration							Total number of death
		1	2	3	4	5	6	7	
1.10	10	1	0	0	0	0	0	0	1
1.30	10	1	0	0	0	0	0	0	1
1.60	10	3	0	0	0	0	0	0	3
1.90	10	6	0	0	0	0	0	0	6
2.30	10	10	0	0	0	0	0	0	10

FC

Dose (g/kg)	Number of experimental mice	Days after administration							Total number of death
		1	2	3	4	5	6	7	
1.10	10	0	0	0	0	0	0	0	0
1.30	10	1	0	0	1	0	0	0	2
1.60	10	4	0	0	0	0	0	0	4
1.90	10	5	0	0	0	0	0	0	5
2.30	10	9	0	0	0	0	0	0	9

Guaiacol

Dose (g/kg)	Number of experimental mice	Days after administration							Total number of death
		1	2	3	4	5	6	7	
0.56	10	0	0	0	0	0	0	0	0
0.67	10	1	1	0	0	0	0	0	2
0.80	10	3	0	0	0	0	0	0	3
0.97	10	5	0	0	0	0	0	0	5
1.20	10	9	0	0	0	0	0	0	9
1.40	10	9	0	0	0	0	0	0	9

Cresol

Dose (g/kg)	Number of experimental mice	Days after administration							Total number of death
		1	2	3	4	5	6	7	
0.56	10	0	0	0	0	0	0	0	0
0.67	10	4	0	0	0	0	0	0	4
0.80	10	6	0	1	0	0	0	0	7
0.97	10	7	1	0	0	0	0	0	8
1.20	10	9	0	0	0	0	0	0	9
1.40	10	10	0	0	0	0	0	0	10

Table 2 Comparison of acute toxicities of FG, FC, guaiacol and cresol in mice.

Sample	LD ₅₀ (g/kg, p.o.)	Toxic potency ratio
FG	1.81 (1.56~2.10)	1.00
FC	1.72 (1.51~1.96)	1.05 (0.87~1.27)
guaiacol	0.89 (0.75~1.05)	2.03 (1.62~2.54)
cresol	0.76 (0.66~0.87)	2.38 (1.95~2.90)

() ; 95% confidence limits

Fig. 2 Dose-response lines of guaiacol and cresol on mortality in mice.

B. 全身症状ならびに体重変化

1. FG

FGの経口投与時に観察された全身症状は、用量1.10 g/kgでは投与後10~15分で10例全てに自発運動亢進がみられ、4例に洗顔運動もみられた。その後2例はしだいに回復に向かったが、他の8例では自発運動がしだいに減じ、40~50分後には眼裂縮小、立毛が明らかに認められるようになった。この8例中3例はその後しだいに回復したが、5例はやがて著しい歩行失調ならびに振戦

を起こし、その数分後には痙攣を起こして全身側位となった。約20~30分で4例は回復に向かい、投与後3~4時間後には正常な姿勢をとり、自発運動が可能となった。他の1例のみは痙攣状態から回復し得ず、しだいに麻痺へと移行し、3時間後に死亡した。用量を増すに従って、上記の症状はより速やかに、激しく現われるようになり、歩行失調を起こした時点では皮膚、粘膜がやや蒼白となり、チアノーゼも認められた。用量2.30 g/kgでは投与後2~5分で歩行失調、立毛が顕著となり、10~20分後に激しい痙攣を起こし、大多数の例では全身側位となり、一部のものは伏臥位のままでしだいに麻痺状態へ移行し、1時間以内に全例が呼吸停止により死亡した。

FGの各用量における生存例の体重変化は図3に示す通りで、今回実験した1.10 g/kg以上の用量では、いずれの群も投与後2日目まで著しい体重の減少がみられた。その後、徐々に増加し、3~5日ではほぼ投与前の体

Fig. 3 Change in the body weight gain of surviving mice induced by oral administration of FG.

重に回復したが、コントロール群に比較すると、明らかに低い値となり、7日後における体重をコントロール群に比較すると、1.10g/kg投与群は91%、1.30g/kg投与群は88%、1.60g/kg投与群は81%、1.90g/kg投与群は76%であった。立毛は1.30g/kg以下では3～4日後に回復したが、それ以上の用量では5日以上を要した。

2. FC

FGと同用量のFCを経口投与した場合にみられる全身症状は、FGの場合とほとんど同様であった。また、各

Fig. 4 Change in the body weight gain of surviving mice induced by oral administration of FC.

用量における生存例の体重変化も FG の場合とほぼ同様の傾向を示した (図 4)。

3. グアヤコール

グアヤコールの経口投与による全身症状は、用量0.56 g/kg では投与後3～15分で全例に自発運動の抑制あるいは停止、続いて振戦、立毛がみられ、10～20分後に7例は下半身麻痺、他の3例は激しい痙攣を起こして全身側位となった。この時期には眼裂縮小が著しく、頻繁に泣鳴を発した。このように激しい中毒症状を呈したが、0.56 g/kg投与群では、40～60分後より全例が回復に向かい、3時間後には自発運動が可能となった。しかし、用量を増加するに従って、投与後間もなく振戦と流涎がみられるようになり、やがて激しい痙攣を起こし、全身側位となったまま麻痺状態から呼吸停止に至る例数が増加した。

グアヤコールの各用量における生存例の体重変化は図5に示す通りで、いずれの用量でも投与後体重は減少し、その影響は2～3日後まで強く認められた。その後、体重は増加し、0.56, 0.67, 0.80g/kg投与群では

4日後、0.97g/kg投与群では5日後、1.20, 1.40g/kg投与群では6日後にほぼ投与時の体重まで回復した。コントロール群に比較すると、いずれの群も著しく低い値となっており、7日後においても、投与群の体重はコントロール群の75～85%であった (図5)。立毛は0.80g/kg

Fig. 5 Change in the body weight gain of surviving mice induced by oral administration of guaiacol.

以下では4～5日後に認められなくなったが、0.97g/kg以上では回復に5日以上を要し、1.40g/kgでは7日後においても回復しなかった。

4. クレゾール

グアヤコールと同一用量のクレゾールを経口投与した場合にみられた全身症状は、グアヤコールの場合とほとんど同様であった。また、各用量における生存例の体重変化にもグアヤコールと同様の傾向が認められた (図6)。

Fig. 6 Change in the body weight gain of surviving mice induced by oral administration of cresol.

考 察

FGの急性毒性とFCのそれとの比較については、すでに西川ら(1978)¹⁸⁾、および二木ら(1979)¹⁹⁾により検討され、いずれも雄性マウスに経口投与した場合のLD₅₀が報告された。前者によればFGのLD₅₀は1.64g/kgで、FCの1.72g/kgよりもわずかに低い値が得られたが、両薬剤のLD₅₀には有意差が認められず、また、観察された一般症状からもFGとFCの急性毒性には差異が認められなかった。しかし、後者によれば、FGおよびFCのLD₅₀はそれぞれ0.996g/kg、0.909g/kgで、逆にFCの方が低い値となり、FCの毒性はFGのそれよりも強いと思われた。本実験で得られたFGとFCのLD₅₀はそれぞれ1.81g/kg、1.72g/kgでFGはFCよりもわずかに高い値となったが、両薬剤のLD₅₀には有意差は認められず、生存例の体重変化もほぼ同様の傾向を示した。したがって、西川らの述べるようにFGとFCの急性毒性にはほとんど差異はないものと考えられる。また、FGとFCの経口投与時に現われる中毒症状も互いに類似しており、差異は認められなかった。

次に、FGに40%配合されているグアヤコールと、FCに40%配合されているクレゾールを、各々単味でマウスに経口投与した場合のLD₅₀について、西川らはグアヤコールは1.09g/kg、クレゾールは0.99g/kgであり、グアヤコールのLD₅₀はクレゾールよりもわずかに大きい程度で大差はないと考えた。しかし、二木らは、グアヤコールおよびクレゾールのLD₅₀はそれぞれ1.231g/kgおよび1.117g/kgで、クレゾールの毒性はグアヤコールのそれよりも強く、この毒性の差がそのまま合剤のFGとFCの毒性の差として出現したものと思われる、と述べている。本実験の結果、グアヤコールおよびクレゾールのLD₅₀はそれぞれ0.89g/kg、0.76g/kgであったが、検定の結果両薬剤間に有意差は認められず、また、全身症状および生存例の体重変化にも差異は認められなかった。したがって、グアヤコールとクレゾールの急性毒性にはほとんど差異はないものと考えられる。黒木ら(1980)²²⁾は既にクレゾールがフェノールと類似の中毒症状を呈することを観察したが、同じフェノール系薬剤のグアヤコールもまた、それと非常によく似た症状を呈することが本実験で確認された。

前述のように本実験で得たFGおよびFCのLD₅₀は西川らの報告した値に近いが、二木らの値よりもかなり高かった。また、グアヤコールおよびクレゾールのLD₅₀は西川ら、二木らいずれの値よりも低かった。しかし、

グアヤコールおよびクレゾールに比べてそれぞれの合剤であるFGおよびFCは毒性がかなり低いという点では西川らの報告と一致した。薬物の急性毒性実験には、試験環境、気候風土、実験動物の差異などの他に集団特性、バイオリズムなども関与し、また薬物の投与方法とともに溶媒や濃度によっても実験成績は左右される^{21,23)}。このように多数の因子が関与するので、ほとんど同一条件下で行ったと報告された実験であっても実験場所が異なれば、季節、天候、日時など、個々の因子の微妙な差異も集積してLD₅₀値に影響を与えるようになるであろう。そのために上記のようなLD₅₀値の差異を生じたものと思われる。黒木ら(1980)²²⁾が今回と同一条件下で行ったクレゾールとホルマリンの急性毒性実験では、クレゾールのLD₅₀は0.81g/kgであったが、それと今回得た0.76g/kgとの間に有意差は認められず、両者はほぼ一致した(危険率5%)。数種類の薬剤について毒性を比較する場合には、各薬剤についての試験を同時に平行して実施することが望ましい。しかし、實際上、それを可能とする薬剤の数には限りがある。止むを得ず数回に分けて行う時は、一定の薬剤をポジティブ・コントロールとし、これに対する毒性比を求めておくことが非常に参考になる。黒木ら(1980)²²⁾の実験成績でホルマリンのクレゾールに対する毒性比を求めると約1.2となり、ホルマリンの方が毒性は強かった。この結果と今回の実験成績とから、グアヤコールとホルマリンの毒性を比較するならばホルマリンの方が毒性は高いであろうと考えられる。実際に二木ら(1979)¹⁹⁾は実験によりホルマリンの毒性がグアヤコールよりも強いことを確認している。

さて、FGは主としてホルマリンとグアヤコールから成る製剤であるが、その急性毒性は上述のようにホルマリンまたはグアヤコールを単独で投与した時よりもはるかに低かった。その一因として、FGにはグアヤコールとホルマリンの他にこの両者よりも著しく毒性の低いエチルアルコール²⁴⁾が20%の割合で配合されていることが挙げられる。さらに、ホルマリンとクレゾールの配合において、両者の相互作用による急性毒性の拮抗現象が認められたように、クレゾールと同じくフェノール類に属するグアヤコールの場合にもホルマリンとの間に同様の拮抗現象を生じ、そのためにホルマリンとグアヤコールの配合によって急性毒性が低下することも一因を成すと考えられる²²⁾。

動物実験で得られるLD₅₀と人体における毒性との相関関係を示すDeichman-Gerardeの表²⁵⁾に従えば、FGはFC、グアヤコール、クレゾールとともにその毒性

は軽微である (slightly toxic) と判定され、また、通常使用される量も数十 μ l を越えることはないの、正しい方法で使用される限り、FG の急性毒性はFC と同様ほとんど心配する必要はないものと思われる。

結 論

体重約20 g の ddY 系雄性マウスに FG, FC, グアヤコールおよびクレゾールを経口投与して急性毒性を比較検討した結果、次の結論が得られた。

1. FG の LD_{50} は 1.81 g/kg (95% 信頼限界 1.56~2.10 g/kg) であり、FC のそれは 1.72 g/kg (95% 信頼限界 1.51~1.96 g/kg) で両者の間に有意差は認められなかった (危険率 5%)。

2. FG を経口投与した場合の中毒症状は FC のそれと類似し、マウスは一時興奮状態を呈した後、自発運動は

停止し、眼裂縮小および立毛が現われ、やがて痙攣を起こし、全身側位となり、あるいは伏臥位のまま麻痺状態に移行し、呼吸停止により死亡した。

3. グアヤコールの LD_{50} は 0.89 g/kg (0.75~1.05 g/kg) であり、クレゾールのそれは 0.76 g/kg (0.66~0.87 g/kg) で両者の間に有意差は認められなかった (危険率 5%)。

4. グアヤコールを経口投与した場合の中毒症状はクレゾールのそれと類似し、FG よりも作用発現は迅速で、投与後数分で立毛、振戦、眼裂縮小、および流涎が見られ、やがて泣鳴を伴う激しい痙攣を起こし、全身側位となってしだいに麻痺状態へ移行し、呼吸停止した。

5. FG の急性毒性は単味のグアヤコールのそれよりも明らかに低いが、FC との間にほとんど毒性の差異は認められなかった。

引 用 文 献

- 1) Bartels, H.A. : A bacteriologic appraisal of some materials used in root canal therapy. J.A.D.A. 28 : 1108—1112, 1941.
- 2) Pear, J.A. : Bactericidal effect of some drugs used in pulp canal therapy. J.A.D.A. 29 : 244—248, 1942.
- 3) 真泉平治 : 歯科用消毒薬の研究, 第1報基礎的根管消毒薬の深達性並びに消毒作用の比較研究. 歯科学雑誌 9 : 7—11, 1949.
- 4) 吉村泰治 : 歯科領域に繁用されている消毒剤の抗真菌作用について. 歯基礎誌 19 : 110—129, 1968.
- 5) Treaner, H.F. and Goldman, M. : Bactericidal efficiency of intracanal medicaments. Oral Surg. 33 : 791—796, 1972.
- 6) Cwikla, J.R. : The vaporization and capillarity effect of endodontic medicaments. Oral Surg. 34 : 117—121, 1972.
- 7) 関根永滋・浅井康宏・鳥居栄一・奥田修平・小杉国武・渡貫 健・山岸昭平・石 光範 : 歯肉療法薬剤に関する臨床病理学的研究, 特にフォルモクレゾールの露出損傷歯髄におよぼす影響について. 歯科学報 71 : 2063, 1971.
- 8) Loos, R.J., Straffon, L.H. and Han, S.S. : Biological effects of formocresol. J. Dent. Child. 40 : 193—197, 1973.
- 9) 三条大助・米沢範子・山本蒨子・引地恵夫 : FC の組織反応に関する実験的研究 (II) 病理組織変化について. 日歯保誌 18 : 264—267, 1975.
- 10) 川口 充・井本邦彦・松本仁人・堤 璋二 : Formocresol の毒性および成分の経時変化について. 歯基礎誌 20 : 279—284, 1978.
- 11) 黒木賀代子・竹中栄子・緒方智香子・小野弘子・村上雄次・吉村泰治 : 紫外吸収スペクトル分析法とガスクロマトグラフ分析法の併用により観察された FC 中の cresol の経日変化. 歯基礎誌 20 : 659—668, 1978.
- 12) 黒木賀代子・竹中栄子・小野弘子・村上雄次・中島京子・吉岡伴子 : Formocresol の経日変化に関する研究 9. 成分変化の機構に関する考察ならびに成分変化に伴う消毒作用の変化. 日歯保誌 21 : 176—185, 1978.

- 13) 鎌田公二：2, 3 殺菌性界面活性剤を配合した formalin 合剤の根管消毒剤としての基礎的研究. 歯科医学 34: 467—493, 1971.
- 14) 前田和男・柳川一征・熱田憲也・渡貫 健・大塚弘介・山岸昭平・浅井康宏・石川達也・関根永滋：ホルマリン・グアヤコールの歯内療法領域における臨床応用成績 (第1報) 歯科学報 67: 878—884, 1967.
- 15) 坂本真喜・中島俊明・内田武志・河内勝和・白川正治・東 富恵・二宮順二・安田博一・穴村紳一・吉岡道治・小川哲次・白根 忠・平島泰子・岡本 莫：根管治療剤ホルマリン・グアヤコールの臨床成績について. 日歯保誌 21: 703—712, 1978.
- 16) 前川成男：ホルムアルデヒド合剤に関する臨床病理学的研究 (第1報) 露出損傷歯髓に及ぼす影響について. 歯科学報 80: 1531—1574, 1980.
- 17) 前川成男：ホルムアルデヒド合剤に関する臨床病理学的研究 (第2報) 麻酔抜歯創に及ぼす影響について. 歯科学報 80: 1577—1589, 1980.
- 18) 西川殷維・安田博一・金城賢次・平田博則・坂本真喜・岡本 莫・辻本 明：根管治療剤ホルマリン・グアヤコールの急性毒性について. 広歯誌 10: 213—217, 1978.
- 19) 二木昇瑞・堤 璋二・島 秀一・前川成男・近藤祥弘・布施絵理子・小島慎也・浅井康宏：各種根管治療消毒剤の急性毒性実験成績について. 歯科学報 79: 569—574, 1979.
- 20) 二木昇瑞・猪狩忠久・堤 璋二：Formalin-guaiacol の毒性および成分の経時変化について. 歯基礎誌 21: 348—353, 1979.
- 21) 白須泰彦・吐山豊秋・編：毒性試験ハンドブック, フジテクノシステム, 東京, 1980, 55—60.
- 22) 黒木賀代子・竹中栄子・吉岡伴子・村上雄次・吉村泰治：急性毒性における 歯科用薬物の配合効果 1. phenol と camphor の配合および formalin と cresol の配合について 歯基礎誌 22: 144—155, 1980.
- 23) 秦 多恵子・尾陰多津子・三宅義雅・喜多富太郎：実験動物の急性毒性におよぼす薬物投与時刻の影響. 日薬理誌 71: 29—37, 1975.
- 24) 池田良雄：薬物致死量集. 南山堂, 東京, 1977, 16—71.
- 25) Deichman, W.B. and Gerarde H.W.: *Toxicology of drugs and chemicals*. (The reverse of the cover). Academic Press, Inc., New York, 1969.