

トロロアオイのラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験

最終報告書

試験番号



目次

	ページ
目次	i
試験情報	iv
最終報告書の作成	vii
試験責任者および試験従事者	viii
I 要約	1
II 緒言	2
III 試験材料および方法	
1. 被験物質	2
2. 供試動物	2
3. 動物管理	
(1)飼育条件	3
(2)収容ケージおよび床敷	3
(3)飼料および給餌方法	3
(4)飲料水および給水方法	4
(5)個体識別法	4
4. 被験物質の投与経路、投与方法および投与期間の選択理由	4
5. 被験物質含有飼料の調製	4
6. 群構成および使用動物数	5
7. 投与量の設定理由	5
8. 観察および測定項目	
(1)一般状態	5
(2)体重	6
(3)摂餌量および被験物質摂取量	6
(4)摂水量	6

	ページ
(5)尿検査	7
(6)眼科学的検査	7
(7)血液学的検査	8
(8)血液生化学的検査	9
(9)病理学的検査	10
9. 統計処理	11
IV 試験結果	
1. 生存率および一般状態	12
2. 体重	12
3. 摂餌量および被験物質摂取量	12
4. 摂水量	12
5. 尿検査	13
6. 眼科学的検査	13
7. 血液学的検査	13
8. 血液生化学的検査	13
9. 病理学的検査	
(1)肉眼的病理学検査	14
(2)器官重量	14
(3)病理組織学的検査	15
V 考察および結論	16
VI 文献	18

VII 総括表

TABLE 1	生存率	19
TABLE 2	一般状態	20
TABLE 3	体重	21
TABLE 4	摂餌量	24
TABLE 5	被験物質摂取量	27
TABLE 6	摂水量	29
TABLE 7	尿検査	32
TABLE 8	眼科学的検査	37
TABLE 9	血液学的検査	38
TABLE 10	血液生化学的検査	42
TABLE 11	肉眼的病理学検査	46
TABLE 12	器官重量	47
TABLE 13	器官重量体重比	51
TABLE 14	病理組織学的検査	55

VIII 個体別表

APPENDIX A	一般状態	A-1~8
APPENDIX B	体重	B-1~8
APPENDIX C	摂餌量および被験物質摂取量	C-1~28
APPENDIX D	摂水量	D-1~28
APPENDIX E	尿検査	E-1~16
APPENDIX F	眼科学的検査	F-1~4
APPENDIX G	血液学的検査	G-1~16
APPENDIX H	血液生化学的検査	H-1~16
APPENDIX I	肉眼的病理学検査	I-1~8
APPENDIX J	器官重量	J-1~16
APPENDIX K	器官重量体重比	K-1~16
APPENDIX L	病理組織学的検査	L-1~48

IX 添付資料

1. 床敷中環境汚染物質分析試験成績書
2. 飼料中環境汚染物質分析試験成績書
3. 水質試験検査成績書

試験情報

表 題： トロロアオイのラットを用いた90日間反復投与毒性試験

試験目的： トロロアオイをラットに90日間投与し、反復投与による毒性を検索した。

適 応 GLP： 「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」
(平成9年3月26日厚生省令第21号) に従って実施した。

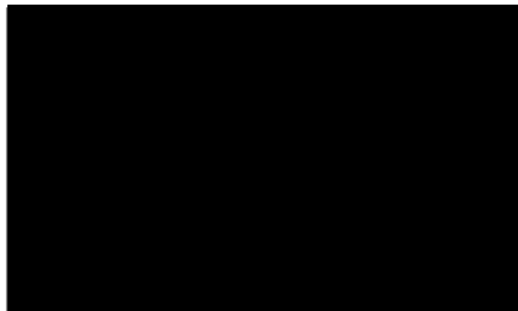
ガイドライン： 「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」平成8年3月
22日公示(厚生省生活衛生局通知) に従って実施した。

動物愛護： 「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」昭和55年3月27日、総
理府告示6号に従って実施した。

試験委託者： 国立医薬品食品衛生研究所
〒158-8501
東京都世田谷区上用賀1-18-1

試験実施施設：

試験開始日：



試験日程：

動物入荷日：

群分け日：

実験開始日：

被験物質投与開始日：

被験物質投与終了日：

剖検日：

実験終了日：

試験終了日：

資料の保管： 本試験で発生した試験計画書および変更書（原本）、資料、生データ、標本類および最終報告書（原本）は全て、最終報告書提出後10年間、
が GLP 適合施設にて保管する。保管期間の満了後の措置については、試験委託者と
との協議の上決定する。なお、被験物質保存サンプルについては
で永久保存する。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと：

1. 午後の観察時に、モニタリング動物の生死確認を怠り、コンピュータに入力されていないことを翌日に発見した。翌日には全動物生存しており、また動物の状態も良好であったことから、この逸脱が試験系へ与える影響はなかったものと判断した。

2. 温湿度記録計の記録紙フィードミスにより、[REDACTED]の温湿度記録の取れない日があったが、同系統の空調機を使用している他の飼育室で異常が認められていないことから、[REDACTED]においても異常はなかったものと判断した。フィードミスの発生した日を以下に列挙する。

[REDACTED]午後から [REDACTED]午前9時頃

[REDACTED]午前2時頃から [REDACTED]午前9時頃

[REDACTED]午後4時頃から [REDACTED]午前11時30分まで

[REDACTED]午前0時頃から同日午前10時まで

[REDACTED]午前8時より同日午前9時まで

3. [REDACTED]の湿度が一過性に基準値から逸脱したが、同日の観察時に動物に異常を認めていないことから、試験系に与える影響はなかったと判断した。

[REDACTED]午前10時頃 湿度 67%

[REDACTED]午前10時頃 湿度 66%

4. 病理組織学的検査において、雄の対照群（第1群）の1例（動物番号：0566010）のジンバル腺が標本作製時の人為的原因により病理組織学的検査が実施できなかった。この器官には肉眼的に異常を認めず、さらに、同群の他の動物において、これら器官に組織学的に変化を観察しなかったことから、試験結果の評価には影響しなかったと判断した。

最終報告書の作成

表 題：トロロアオイのラットを用いた90日間反復投与毒性試験

試験番号： 

試験責任者： 

試験責任者および試験従事者

試験責任者：

動物飼育管理：

動物入荷・群分け：

飼料調製：

一般状態の観察：

体重測定：

摂餌・摂水量測定：

眼科学的検査：

尿検査：

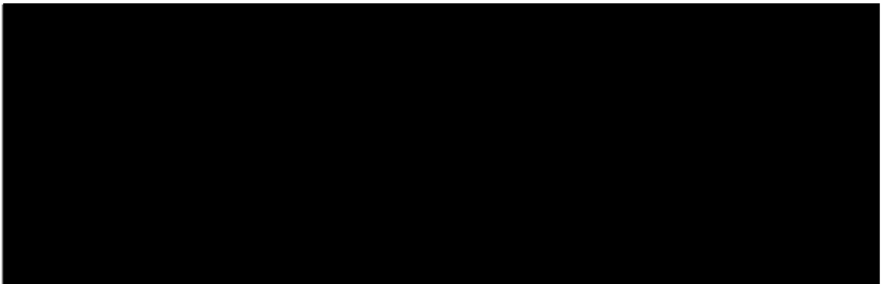
血液学的検査（血液塗抹標本および網状赤血球数算定用標本作製を含む）：

血液生化学的検査：

肉眼的病理学検査（器官重量測定を含む）：



病理組織標本作製（切り出しを含む）：



病理組織学的検査：

集 計 処 理：

*：

アンダーライン：部門責任者

I 要約

F344/DuCr1Cr1j 系ラットの雌雄各群 10 匹に、トロロアオイを飼料中濃度 0%, 0.5%, 1.5% および 5.0% で 90 日間混餌投与し、反復投与による毒性を検索した。

投与期間中に死亡動物を認めず、また一般状態においても著変を認めなかった。

体重、摂餌量、摂水量、尿検査、眼科検査、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理学検査、器官重量および病理組織学的検査において、被験物質投与に起因すると考える変化はみられなかった。

以上、トロロアオイを雌雄の F344 ラットに最高濃度 5.0% で 90 日間投与した結果、いずれの検査項目においても被験物質に起因すると考えられる毒性学的な影響は認められなかったことから、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は 5.0% (雄: 2939 mg/kg/日、雌: 3325 mg/kg/日) と判断された。

II 緒言

トロロアオイは、アオイ科トロロアオイ(*Abelmoschus manihot* Med)の根を乾燥、粉碎して得られたもので、食品添加物として利用されている。このトロロアオイの一般毒性学的性質を検討し、あわせて無毒性量(NOEL)を明らかにする目的で、0%、0.5%、1.5%および5.0%の飼料中濃度で雌雄のF344系ラットに90日間混餌投与する反復投与毒性試験を実施した。

III 試験材料および方法

1. 被験物質

名 称：トロロアオイ
供 給 源：日本食品添加物協会
製 造 元：
ロット番号：
保 管 場 所：(実測値：13-20℃)
入 手 日：

2. 供試動物

4週齢のF344/DuCrIj系ラット(SPF動物)の雌雄各46匹(発注動物数、雌雄各44匹)を、日本チャールス・リバー(株)[生産場所：神奈川県厚木市下古沢795番地]より入手し、6日間の検疫および馴化期間中に、一般状態を1日2回観察し、個体別に記録した。さらに入手翌日および群分け時に体重測定を実施し、異常の認められない動物を選び、5週齢より実験を開始し、6週齢より被験物質の投与を開始した。群分け後の余剰動物のうち雌雄各2匹はモニタリング動物として同一飼育室内で飼育し、残りの動物(雌4匹、雄4匹)は、試験系より除外した。モニタリング動物は、飼育期間中を通して体重、一般状態のいずれも異常を認めなかった。また、計画屠殺時における剖検でも異常を認めなかった。

使用したラットは「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」に基づいてげっ歯類の一つとしてラットを選択し、その系統については試験委託者と協議の上決

定した。なお使用動物については、微生物学的に統御され、遺伝的に安定であり、累積データが豊富であることから選択した。

3. 動物管理

(1)飼育条件

飼育室： (検疫および馴化期間中も同室で飼育)

温度： 実測値；21~24℃（設定温度；22±3℃）

相対湿度： 実測値；51~62%（設定湿度；55±10%）

(最高湿度 67%および最高湿度 66%を除く)

照明時間： 12時間/日（7:00点灯、19:00消灯）

換気回数： 15回以上/時間

飼育： 2匹/ケージ

(検疫および馴化期間：2匹/ケージ)

ケージ交換頻度： 1または2回/週

給餌器交換頻度： 1または2回/週（なお、3~4日毎に追給餌実施）

給水瓶交換頻度： 1または2回/週

(2)収容ケージおよび床敷

動物は床敷を入れたプラスチック製ケージ（トキワ科学器械㈱：W260×L412×H195mm）で飼育した。プラスチック製ケージは常圧蒸気殺菌して使用した。床敷として用いたベータチップ(Northeastern Products Co., NY, USA)は高圧蒸気滅菌して使用した。ステンレス製ケージ蓋は高圧蒸気滅菌して使用した。床敷中の環境汚染物質について、オリエンタル酵母工業㈱より分析値を入手したところ、一般細菌数が当研究所で定めている基準より逸脱していたが、使用前に高圧蒸気滅菌していることから、問題はないと判断した。その他の分析値は当研究所で定めている基準に適合していることを確認した（IX 添付資料1）。

(3)飼料および給餌方法

飼料は、オリエンタル酵母工業㈱製γ線照射（6.0kGy）粉末飼料MF(Lot No.)を用いた。飼料はケージ内に設置したガラス製給餌器（CL-0921：日本クレア㈱）を使用し、自由に摂取させた。給餌器本体は高圧蒸気滅菌し、給餌器蓋はソフト酸化水消毒したのものを用いた。飼料中の環境汚染物質については、オリエンタル酵母

工業㈱より使用ロットの分析値を入手した。分析値は当研究所で定められている基準に適合していた（IX 添付資料2）。

(4)飲料水および給水方法

を、透明な給水瓶を用いて動物に自由に摂取させた。給水瓶および給水栓はソフト酸化水で消毒したものをを用いた。飲料水の水質はで分析を行い、当研究所で定めている水質基準に適合していることを定期的（年2回）に確認した（IX 添付資料3）。

(5)個体識別法

検疫および馴化期間中は、ケージラベルに試験番号、仮ケージ番号、仮動物番号および動物管理責任者名を明記し、動物の個体識別は上記内容とケージ内動物番号（マジックインキ法）の組み合わせで行った。

群分け後は、ケージラベルに試験番号、雌雄の別、群番号、ケージ番号、被験物質名および投与量（投与濃度毎に異なった色を用いて識別した）、動物番号、実験開始および終了年月日、試験責任者名を明記した。動物の個体識別は、上記内容とケージ内動物番号（イヤープンチ法およびマジックインキ法による）の組み合わせで行った。

4. 被験物質の投与経路、投与方法および投与期間の選択理由

投与経路は、ヒトが被験物質に暴露される可能性の最も大きい経路である経口投与とし、混餌投与方法を採用した。被験物質の投与は、後述の調製飼料を給餌器に入れてケージ内に設置し、自由に摂取させる方法を用いた。投与期間は「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」に基づいて90日以上とした（実際には、雄で92日、雌で93日間投与した）。

5. 被験物質含有飼料の調製

各濃度毎に所定量の被験物質を電子天秤（BP2100S型、ザルトリウス㈱）にて秤量し、秤量した被験物質と少量の粉末飼料MFをビニール袋に入れてよく混合後、ミキサー（HP-50M型、関東混合機工業㈱）にて所定の濃度となる様に残りの粉末飼料を加えて更に30分間混合し投与飼料とした。飼料の調製は、約2～5週に1回実施し室温

(実測値：21~24℃) で保存した。なお、飼料中被験物質の濃度分析（安定性、均一性および濃度確認）は、方法が確立されていないため実施しなかった。

6. 群構成および使用動物数

雌雄各 46 匹よりそれぞれ各 40 匹の動物を、コンピューターによる体重を基にした乱塊法により次表の如く雌雄各 4 群、計 8 群（10 匹/群）に群分けした。実験開始時におけるラットの体重範囲は雄：81~91g、雌：67~74g であった。また、投与開始時の体重範囲は雄：106~125g、雌：86~97g であり、平均体重の±20%以内であったことを確認した。なお、群分けは実験開始前日に行い、群分け時の体重が各群間で統計学的に有意差のないことを確認した。

投与濃度および群の構成

性別	群	被験物質	飼料中濃度		動物番号
			(%)	匹数	
雄	1	トコロアオイ	0	10	0566001~010
	2	トコロアオイ	0.5	10	0566011~020
	3	トコロアオイ	1.5	10	0566021~030
	4	トコロアオイ	5.0	10	0566031~040
雌	5	トコロアオイ	0	10	0566041~050
	6	トコロアオイ	0.5	10	0566051~060
	7	トコロアオイ	1.5	10	0566061~070
	8	トコロアオイ	5.0	10	0566071~080

7. 投与量の設定理由

以前に実施された試験¹⁾の結果を基に、最高用量を 5.0% とし、以下公比約 3 で 1.5% および 0.5% を設定した。

8. 観察および測定項目

(1) 一般状態

実験開始後、1 日 1 回、午前中に全ての動物について一般行動、中毒症状、生死等について観察し、個体別に記録した。また午後の観察時には生死について確認した。

(2)体重

実験開始時およびその後毎週 1 回、全動物について電子天秤（LC2200 型，ザルトリウス㈱）を用いて個体別に体重を測定した。また、計画屠殺時に各動物の 1 晩（約 16 時間）絶食後の体重（最終体重）を測定した。

(3)摂餌量および被験物質摂取量

実験開始後、毎週 1 回、2 日間の摂取量を電子天秤（LC2200 型，ザルトリウス㈱）にてケージ単位で測定し、1 匹当りの 1 日平均摂取量を計算した。また、投与期間中の被験物質摂取量を算出した。

(4)摂水量

実験開始後、毎週 1 回、2 日間の摂水量を電子天秤（LC2200 型，ザルトリウス㈱）にてケージ単位で測定し、1 匹当りの 1 日平均摂取量を計算した。

(5)尿検査

被験物質投与第 13 週に、雌雄各群毎に 6 匹（動物番号順）について採尿ラック（日本チャールス・リバー株）を用いて 4 時間（9:00～13:00）の蓄尿を行い、以下の尿検査（尿 pH を除く）を実施した。なお、採尿中の給餌・給水は行わなかった。

尿 pH については、別に強制排尿により採取した新鮮尿を用いて pH メーターにて測定した。

測定項目および測定法は次の通りである。

項 目	測定法および測定機器
1) 尿量	重量測定法 電子天秤 LC2200 型（ザルトリウス株）
2) 色調	肉眼的観察法
3) 潜血	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
4) ケトン体	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
5) 尿糖	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
6) 蛋白	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
7) ウロビリノーゲン	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
8) ビリルビン	マルチスティックス（バイエルメディカル株）
9) 沈渣	Sternheimer & Malbin 染色後鏡検
10) 比重	アタゴ血清蛋白屈折計 N（株アタゴ）
11) ナトリウム(NA)	日立 7070 形自動分析装置（株日立製作所）
12) カリウム(K)	日立 7070 形自動分析装置（株日立製作所）
13) 塩素(CL)	日立 7070 形自動分析装置（株日立製作所）
14) 尿 pH	pH メーター F-51 型（株堀場製作所）

(6)眼科学的検査

被験物質投与第 13 週に、雌雄各群から 6 匹（動物番号順）について前眼房、中間透光体、眼底あるいはその他の部位を倒像検眼鏡 IO- α （株ナイツ）を用いて検査を行い、各群の代表例について眼底カメラ RC-2（株KOWA）を用いて眼底の写真撮影を実施した。散瞳剤としてミドリン P（参天製薬株）を使用した。

(7)血液学的検査

被験物質投与期間終了時の全動物について下記の検査を実施した。検査は、動物を解剖前日の夕方（16:00頃）にケージ交換ならびに給餌器を取り除くことにより一晩絶食させ、エーテル麻酔下にて開腹後、腹部大動脈より採取した血液の一部を用いて実施した。血液は、抗凝固剤として項目 1)~10)には EDTA-2K を、項目 11), 12)にはクエン酸ナトリウムを用いて凝固を阻止した。なお、動物の採血（屠殺）順は、雄については第 1 群の最も若い動物番号を第一番目とし、次に第 2 群の最も若い動物番号へと順次進め、第 4 群到達後は最初の群に戻る方法で、雌については第 5 群の最も若い動物番号を第一番目とし、以後、第 6 群の最も若い動物番号へと順次進め、第 8 群到達後は最初の群に戻る方法で実施した。採取した検体は項目 1)~10)については多項目自動血球分析装置 XT-2000i（シスメックス㈱）を、項目 11), 12)についてはドライヘマトシステム COAG1（㈱エイアンドティー）を用いて測定した。なお、測定できなかった場合のために、白血球型別百分率および網状赤血球数については血液塗抹標本を作製したが、検査には使用しなかった。

項目	測定法
1) 赤血球数(RBC)	シスフロー DC 検出方式
2) 白血球数(WBC)	フローサイトメトリー法
3) 血色素量(HGB)	SLS ヘモグロビン法
4) ヘマトクリット値(HCT)	シスフロー DC 検出方式
5) 血小板数(PLT)	シスフロー DC 検出方式
6) 平均赤血球血色素量(MCH)	算出法
7) 平均赤血球容積(MCV)	算出法
8) 平均赤血球血色素濃度(MCHC)	算出法
9) 白血球型別百分率*	フローサイトメトリー法
(DIFFERENTIAL COUNT OF WBC)	
10) 網状赤血球数(RET)	フローサイトメトリー法
11) プロトロンビン時間(PT)	磁性粒子による凝固終点検知方式
12) 活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)	磁性粒子による凝固終点検知方式

*; [好中球数比率(NEUT)、リンパ球数比率(LYMPH)、単球数比率(MONO)、好酸球数比率(EO)、好塩基球数比率(BASO)]

(8)血液生化学的検査

検査は、全動物について、前項で採取した血液の残りを遠心分離して得た血清を用いて実施した。測定項目および測定法は以下の通りである。

測定機器は、日立 7070 形自動分析装置（日立製作所㈱）を用いた。

項 目	測 定 法
1) アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)	リンゴ酸脱水素酵素共役・UV法 (JSCC法)
2) アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)	乳酸脱水素酵素共役・UV法 (JSCC法)
3) アルカリフォスファターゼ (ALP)	酵素活性測定法 (GSCC法)
4) γ -グルタミルトランスアミナーゼ (γ -GTP)	酵素活性測定法 (L- γ -グルタミル-3-カルボキシル-4-ニトロアニリン基質法)
5) 総ビリルビン(T-BIL)	アゾビリルビン法
6) 尿素窒素(BUN)	酵素法 (ウレアゼ・GLDH法)
7) クレアチニン(CRE)	ヤッフ法
8) ブドウ糖(GLU)	ヘキソキナーゼ法
9) 総コレステロール(T-CHO)	酵素法
10) リン脂質(PL)	酵素法
11) トリグリセリド (TG)	酵素法 (遊離グリセロール消去法)
12) 総蛋白(TP)	ビウレット法
13) アルブミン(ALB)	BCG法
14) A/G比(A/G)	算出法
15) 無機リン(IP)	フィスク・サバロー法
16) カルシウム(CA)	OCPC法
17) マグネシウム(MG)	キシリジブルー法
18) ナトリウム(NA)	電極法
19) カリウム(K)	電極法
20) 塩素(CL)	電極法

(9)病理学的検査

投与期間終了時に、(7)項において採血し、放血致死させた動物について、下記の病理学的検査を行った。

1)肉眼的病理学検査

全動物について、全身の諸器官・組織の肉眼的病理学検査を実施し、採取した器官・組織（下記3）項参照）は10%緩衝ホルマリン液にて固定し、保存した。但し、精巣は Glutaraldehyde Formalin Acetic acid(GFA)液にて前固定した後、眼球については摘出時にハーダー氏腺を外し、Glutaraldehyde Formaldehyde (G-F)混合固定液にて前固定した後、それぞれ10%緩衝ホルマリン液にて保存した。

2)器官重量

i.下記の器官について電子天秤（CP323S, ザルトリウス株）を用いて重量を測定した。

脳、下垂体*、心臓、肺（気管支を含む）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、前立腺*、精囊*、卵巣（卵管含む）、子宮、唾液腺、胸腺、甲状腺（上皮小体を含む）*

*：固定後測定した。

ii.最終体重を用いて器官重量体重比（相対重量）を算出した。

3)病理組織学的検査

対照群および最高投与群（第1,4,5および8群）の全動物については、常法に従い以下の器官・組織をパラフィン包埋後、薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して、病理組織学的に検査した。その他の群については、肉眼病変部について検査した。

心臓、脾臓、リンパ節（頸部、腸間膜）、胸腺、下垂体、甲状腺（上皮小体を含む）、副腎、鼻腔（鼻甲介）、気管、肺（気管支を含む）、舌、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓、膵臓、腎臓、膀胱、精巣、前立腺、精嚢、精巣上体、卵巣、卵管、子宮、乳腺、膣、脳（大脳、小脳）、脊髄（胸部）、坐骨神経、大動脈、眼球、ハーダー氏腺、皮膚、骨および骨髄（大腿骨、胸骨）、骨格筋、ジンバル腺、その他肉眼病変部

9. 統計処理

対照群と各投与群（第1群と第2～4群、第5群と第6～8群）との間の統計学的な有意差検定を行い、危険率5% ($P < 0.05$) または1% ($P < 0.01$) のレベルで判定した。統計学的解析は、対照群と各投与群の体重、摂餌量、摂水量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査および器官重量の各測定値の平均値の差の検定について、5%有意水準でBartlett法による等分散検定を行った。等分散の場合は、パラメトリックのDunnett法による片側検定を行い、不等分散の場合は、ノンパラメトリックのSteel法による片側検定を行った[Stat Light 2000、ユックムス(株)]。また、尿検査、肉眼的病理学検査および病理組織学的検査における所見の発生頻度の差の検定については、Fisherの直接確率検定（片側）を、程度のある病変についてはMann-Whitney検定（両側）を行った[Stat Light 2000、ユックムス(株)]。一般状態については統計解析を実施しなかった。また、眼科学的検査では変化がみられなかったため、統計解析を実施しなかった。

IV 試験結果

1. 生存率および一般状態 (TABLES 1 および 2, APPENDIX A)

投与期間中、対照群および被験物質投与群の雌雄いずれの群においても、死亡動物は認められなかった。

一般状態では雌雄いずれの群においても投与期間中を通して著変はみられなかった。

2. 体重 (TABLE 3, APPENDIX B)

投与期間中を通して雌雄いずれの群においても、対照群との間に統計学的に有意な差異はみられなかった。

3. 摂餌量および被験物質摂取量 (TABLES 4 および 5, APPENDIX C)

雌では 5.0%群 (第 8 群) で投与第 9 週に摂餌量の有意な高値がみられた。また、0.5%群 (第 6 群) では投与第 8 週に有意な低値がみられた。しかしながらこれらの変動はいずれも散発的であり、一定の傾向を示さなかったことから、偶発的な変動と考えられた。

雄では投与期間中を通して対照群と被験物質投与群との間に有意な差異はみられなかった。

投与期間中の平均被験物質摂取量は、0.5%群では雄 295 mg/kg/day、雌 331 mg/kg/day、1.5%群では、雄 893 mg/kg/day、雌 971 mg/kg/day および 5.0%群では、雄 2939 mg/kg/day、雌 3325 mg/kg/day であった。

4. 摂水量 (TABLE 6, APPENDIX D)

雄の 5.0%群 (第 4 群) では、投与第 7 週に摂水量の有意な高値が、1.5%群 (第 3 群) では投与第 10 週に有意な低値がみられた。また 0.5%群 (第 2 群) では、投与第 6 週および第 7 週に対照群と比較して有意な高値がみられた。

雌の 1.5%群 (第 7 群) では投与第 4 週および第 8 週に、また 0.5%群 (第 6 群) では投与第 12 週に摂水量の有意な低値がみられた。

これらの変動はいずれも散発的であり、一定の傾向を示さなかったことから、偶発

的な変動と考えられた。

雌の 5.0%群 (第 8 群) では投与期間中を通して対照群と被験物質投与群の間に差異はみられなかった。

5. 尿検査 (TABLE 7, APPENDIX E)

尿中ナトリウム(NA)の有意な高値が、雄の 1.5%群でみられたが、用量との関連がなく、偶発的な変化と考えられた。カリウム(K)および塩素(CL)では雌雄とも対照群との間に有意な差異はみられなかった。

その他、定性検査、尿 pH、尿比重、色調、尿沈渣および尿量では統計学的有意差はみられなかった。

6. 眼科学的検査 (TABLE 8, APPENDIX F)

雌雄いずれの群においても、変化はみられなかった。

7. 血液学的検査 (TABLE 9, APPENDIX G)

平均赤血球血色素濃度(MCHC)の有意な低値が、雄の被験物質投与全群 (第 2,3,4 群) と、雌の 1.5%群 (第 7 群) でみられたが、いずれも用量との関連はなく、またこれらの群では赤血球数および血色素量ともに有意な変化はみられていないことから、偶発的な変化と考えた。

その他の検査項目では雌雄いずれの群においても、統計学的に有意な差異はみられなかった。

8. 血液生化学的検査 (TABLE 10, APPENDIX H)

アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)の有意な高値が、雌の 5.0%群 (第 8 群) でみられた。

総コレステロール(T-CHO)およびリン脂質(PL)の有意な低値が、雄の 5.0%群 (第 4 群) でみられた。

総蛋白(TP)およびアルブミン(ALB)の有意な低値が、雌の 5.0%群および 1.5%群 (第

7,8群) でみられた。

カルシウム(CA)の有意な高値が、雌の0.5%群(第6群) でみられた。

ナトリウム(NA)の有意な高値が、雄の5.0%群(第4群) でみられた。

カリウム(K)の有意な低値が、雄の5.0%および1.5%群(第3,4群) でみられた。

これらの変動のうち、カルシウム(CA)の変動は用量との関連がないことから、偶発的な変化と考えた。

その他の検査項目では雌雄いずれの群においても、統計学的に有意な差異はみられなかった。

9. 病理学的検査

(1) 肉眼的病理学検査 (TABLE 11, APPENDIX I)

肝臓の横隔膜結節が雌雄の0.5%および対照群と雌の1.5%群(第1,2,5,6,7群)に1ないしは2例みられた。

子宮体部の拡張が雌の被験物質投与群(第6,7,8群)において1~4例みられ、そのうち1.5%群では対照群(第5群)と比較して有意な高値がみられた。

腹腔内の黄色結節が雌の対照群(第5群)に1例みられた。

これらの変化のうち、子宮体部の拡張については統計学的有意差がみられたものの用量との関連のない変化であり、また本試験で使用了系統の動物にはよく観察される所見であることから、いずれも被験物質投与の影響ではないと判断した。

(2) 器官重量 (TABLES 12 および 13, APPENDICES J および K)

下垂体では雄の5.0%群(第4群)で絶対および相対重量の有意な低値が、また雄の1.5%群(第3群)では絶対重量の有意な低値がみられた。雌では1.5%群(第7群)で相対重量の有意な高値がみられた。

心臓では、雄の5.0%群(第4群)で絶対重量の有意な低値がみられた。

肝臓では、雄の5.0%群(第4群)で絶対重量および相対重量ともに有意な低値がみられた。

腎臓では、雄の5.0%群(第4群)で絶対重量の有意な低値がみられた。

脾臓では、雄の0.5%群(第2群)で相対重量の有意な低値がみられた。

唾液腺では、雄の 5.0%群（第 4 群）で絶対重量の有意な低値が、また雄の 1.5%群（第 3 群）では絶対重量および相対重量ともに有意な低値がみられた。

前立腺では、雄の 5.0%群（第 4 群）で絶対重量の有意な低値がみられた。

これらのうち、雌の 1.5%群でみられた下垂体相対重量および雄の 0.5%群でみられた脾臓相対重量の変動は、いずれも用量との関連がないことから偶発的な変化と考えられた。

(3)病理組織学的検査 (TABLE 14, APPENDIX L)

心臓、頸部リンパ節、腸間膜リンパ節、脾臓、骨髄、胸腺、下垂体、甲状腺、胃、膀胱、肝臓、腎臓、精巣、前立腺、子宮およびハーダー氏腺において種々の所見を認めたが、いずれの所見も対照群と投与群の間に統計学的に有意な差異は認められなかった。なお、肉眼所見でみられた肝臓の横隔膜結節は全て病理組織学的には異常はなく、子宮体部の拡張は病理組織学的に内腔の拡張のみであった。また、腹腔内にみられた黄色結節は、病理組織学的に脂肪壊死であった。

V 考察および結論

F344/DuCrIj系ラットの雌雄各群10匹に、トロロアオイを飼料中濃度0%、0.5%、1.5%および5.0%の濃度で90日間混餌投与し、反復投与による毒性を検索した。

投与期間中に死亡動物を認めず、また一般状態においても著変を認めなかった。

体重、摂餌量、摂水量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、肉眼的病理学検査および病理組織学的検査において、被験物質投与に起因すると考える変化はみられなかった。

血液生化学的検査では、雄の5.0%群で総コレステロールおよびリン脂質の低値がみられた。総コレステロールおよびリン脂質の低値は、肝機能障害、甲状腺機能亢進症あるいは下垂体機能低下症などの内分泌系疾患でみられる。今回の試験では、雄の5.0%群で下垂体の絶対および相対重量の低値がみられているものの、病理組織学的検査では下垂体には変化はなく、甲状腺では重量の変動および関連する病理組織学的変化もみられなかった。また血液学的検査を含めて肝機能障害を示唆する変化も観察されなかった。これらのことから、雄の5.0%群でみられた総コレステロールおよびリン脂質の低値およびこれらの変化との関連性が考えられる下垂体の絶対および相対重量の低値については、被験物質投与の影響が示唆されるものの、非常に軽度な変動であることから毒性学的に意義のない変化と考えられた。なお、下垂体絶対重量の有意な低値は雄の1.5%群においてもみられたが、その他の検査では、関連する変化は全くみられなかったことから、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

その他、雄の5.0%群でナトリウムの高値、また、雄の5.0%群および1.5%群でカリウムの低値がみられ、5.0%群では腎臓の絶対重量の有意な低値もみられた。しかしながら、相対重量では有意な変動はみられておらず、病理組織学的にも腎臓にこれらを示唆する変化は観察されなかった。また雌では5.0%群でアラニンアミノトランスフェラーゼの高値、5.0%群および1.5%群で総蛋白およびアルブミンの有意な低値がみられたものの、肝臓重量には変化はなく、また病理組織学的にも関連する変化を認めなかった。従って、これらの変動はいずれも毒性学的に意義のない変化と考えられた。

器官重量では、雄の5.0%群で唾液腺の絶対重量の有意な低値と1.5%群で絶対重量および相対重量の有意な低値が、肝臓では雄の5.0%群で絶対重量および相対重量の

有意な低値がみられたが、血液学的検査あるいは血液生化学的検査で雄の肝臓への影響を示唆する変化はみられていない。また唾液腺の相対重量の変動には用量との関連はなく、病理組織学的検査においても唾液腺および肝臓ともにこれらの変動を示唆する変化を認めていないことから、いずれも毒性学的に意義のない変化と考えられた。さらに雄の 5.0%群で心臓および前立腺の絶対重量の有意な低値がみられたが、同群でみられた軽度な体重の低値を反映した可能性が示唆され、被験物質投与の影響ではないと判断した。

以上、トロロアオイを雌雄のF344ラットに最高濃度5.0%で90日間投与した結果、いずれの検査項目においても被験物質に起因すると考えられる毒性学的な影響は認められなかったことから、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は 5.0% (雄 : 2939 mg/kg/日、雌 : 3325 mg/kg/日) と判断された。

VI 文献

- 1) 伊藤明弘：厚生省報告 平成 10 年度食品添加物安全性試験、広島大学原爆放射能医学研究所



Ⅶ 総括表

(

(

TABLE 2
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 GENERAL CONDITION DATA

STUDY NO. [REDACTED] SITE AND FINDING	SEX GROUP NO. --- LEVEL (%) ----	MALE				FEMALE			
		1	2	3	4	5	6	7	8
	0	0.5	1.5	5.0	5.0	0	0.5	1.5	5.0
NO. OF ANIMALS	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
Normal	10	10	10	10	10	10	10	10	10

TABLE 3
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 BODY WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS			
				-1	0	1	2
MALE	1	0	85.4 \pm 2.6	115.7 \pm 4.7	146.8 \pm 7.3	182.3 \pm 8.0	210.7 \pm 8.2
			86.4 \pm 3.0	116.8 \pm 5.2	148.6 \pm 8.4	183.8 \pm 9.6	213.2 \pm 9.1
			85.9 \pm 2.9	116.2 \pm 4.8	148.2 \pm 5.8	181.7 \pm 6.5	207.8 \pm 7.7
			85.4 \pm 2.8	114.8 \pm 4.8	146.8 \pm 5.7	179.2 \pm 6.9	205.8 \pm 8.8
FEMALE	5	0	71.4 \pm 2.3	92.7 \pm 3.9	107.9 \pm 4.2	122.1 \pm 5.0	132.0 \pm 6.2
			71.9 \pm 1.5	93.0 \pm 2.4	109.1 \pm 2.6	123.5 \pm 4.1	132.9 \pm 4.6
			70.7 \pm 2.3	91.8 \pm 2.3	108.8 \pm 3.7	122.1 \pm 5.5	131.4 \pm 6.3
			71.0 \pm 2.4	91.9 \pm 2.3	109.1 \pm 3.2	122.4 \pm 3.2	132.5 \pm 5.1

TABLE 3
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 BODY WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS			
				4	5	6	7
MALE	1	0	231.8 \pm 9.0	250.4 \pm 10.9	265.7 \pm 12.1	277.7 \pm 12.2	289.5 \pm 12.5
			235.4 \pm 10.3	254.3 \pm 9.9	266.8 \pm 9.4	281.4 \pm 10.8	294.3 \pm 11.8
			229.5 \pm 9.1	248.4 \pm 10.0	260.8 \pm 11.3	272.5 \pm 11.5	286.3 \pm 11.2
			228.7 \pm 9.0	247.3 \pm 10.6	259.2 \pm 11.0	269.1 \pm 12.3	281.4 \pm 13.6
FEMALE	5	0	140.7 \pm 6.5	149.7 \pm 7.0	155.7 \pm 7.8	160.0 \pm 8.0	164.6 \pm 7.6
			141.5 \pm 4.1	148.5 \pm 5.0	154.6 \pm 5.6	159.2 \pm 5.8	162.2 \pm 6.8
			138.0 \pm 7.2	146.8 \pm 8.0	152.9 \pm 8.6	155.5 \pm 9.5	159.9 \pm 10.6
			141.5 \pm 5.8	149.1 \pm 5.5	154.3 \pm 5.0	157.8 \pm 5.3	162.5 \pm 5.0

TABLE 3
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 BODY WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS				
				9	10	11	12	13
MALE	1	0	300.7 \pm 13.3	308.3 \pm 13.6	316.0 \pm 12.8	318.7 \pm 13.7	321.5 \pm 13.2	
			305.6 \pm 12.1	313.6 \pm 13.8	319.6 \pm 13.5	324.9 \pm 14.5	327.2 \pm 13.2	
			296.3 \pm 11.3	304.9 \pm 10.8	313.0 \pm 11.9	316.7 \pm 12.3	320.2 \pm 12.4	
			292.7 \pm 14.8	301.5 \pm 14.9	307.6 \pm 16.1	309.7 \pm 15.6	312.6 \pm 16.7	
FEMALE	5	0	167.6 \pm 8.4	171.1 \pm 8.9	173.8 \pm 7.8	175.5 \pm 7.8	177.3 \pm 9.0	
			166.3 \pm 6.8	169.1 \pm 6.4	172.0 \pm 5.9	173.9 \pm 5.8	175.6 \pm 6.0	
			163.6 \pm 11.5	167.2 \pm 11.5	170.7 \pm 11.5	172.6 \pm 11.7	174.3 \pm 11.4	
			166.2 \pm 5.3	169.2 \pm 5.4	173.2 \pm 6.1	174.0 \pm 5.1	175.4 \pm 5.0	

TABLE 4
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 FOOD CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS				
				-1	1	2	3	4
MALE	[REDACTED]	1	0	12.36 ± 0.42	13.46 ± 1.54	15.32 ± 0.98	15.10 ± 1.14	15.82 ± 0.93
		2	0.5	12.84 ± 1.88	13.62 ± 1.01	15.08 ± 1.20	14.88 ± 0.37	15.64 ± 0.88
		3	1.5	12.28 ± 0.48	13.58 ± 0.31	15.12 ± 1.05	14.32 ± 0.49	15.68 ± 1.52
		4	5.0	12.18 ± 0.73	13.32 ± 0.82	14.28 ± 0.69	14.54 ± 1.03	14.68 ± 0.81
FEMALE	[REDACTED]	5	0	9.66 ± 0.48	9.28 ± 0.58	12.58 ± 6.28	9.82 ± 1.38	10.32 ± 0.63
		6	0.5	9.72 ± 0.50	10.48 ± 1.33	10.06 ± 0.59	9.84 ± 1.24	12.10 ± 5.72
		7	1.5	9.38 ± 0.37	9.44 ± 0.42	9.78 ± 0.60	9.88 ± 0.58	9.48 ± 0.44
		8	5.0	9.48 ± 0.66	10.58 ± 1.56	9.58 ± 0.59	9.88 ± 0.70	10.02 ± 0.75

TABLE 4
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 FOOD CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS								
				5	6	7	8	9				
MALE	[REDACTED]	1	0	15.78 ± 1.19	15.24 ± 0.75	15.58 ± 0.80	15.08 ± 0.97	15.46 ± 0.75				
		2	0.5	15.38 ± 0.54	15.58 ± 0.74	15.62 ± 0.45	15.12 ± 0.45	15.18 ± 0.74				
		3	1.5	15.36 ± 0.42	14.78 ± 0.40	14.82 ± 0.41	14.86 ± 0.31	15.02 ± 0.40				
		4	5.0	14.82 ± 0.54	14.62 ± 0.95	15.22 ± 0.41	14.84 ± 0.62	15.04 ± 0.83				
FEMALE	[REDACTED]	5	0	11.84 ± 3.92	9.82 ± 0.72	9.74 ± 1.22	10.34 ± 0.09	9.38 ± 0.43				
		6	0.5	11.02 ± 1.98	9.66 ± 1.17	9.34 ± 0.46	9.52 ± 0.18 **	9.68 ± 0.53				
		7	1.5	10.64 ± 1.96	9.38 ± 0.90	8.80 ± 0.45	9.38 ± 1.20	9.74 ± 0.80				
		8	5.0	9.64 ± 0.48	9.92 ± 0.73	9.72 ± 0.47	10.38 ± 0.37	10.38 ± 0.51 *				

*, ** : Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 4
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 FOOD CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	WEEKS			
				10	11	12	13
MALE	[REDACTED]	1	0	15.74 ± 1.09	15.04 ± 1.10	13.92 ± 1.11	13.88 ± 1.28
		2	0.5	15.28 ± 0.51	14.72 ± 0.97	14.50 ± 0.50	13.82 ± 0.52
		3	1.5	14.88 ± 0.60	14.98 ± 0.54	14.68 ± 0.16	13.88 ± 0.54
		4	5.0	15.22 ± 0.50	14.00 ± 1.12	13.98 ± 1.43	12.74 ± 1.30
FEMALE	[REDACTED]	5	0	9.78 ± 0.33	9.56 ± 0.85	9.52 ± 0.75	9.06 ± 1.22
		6	0.5	9.68 ± 0.53	8.98 ± 0.72	9.22 ± 0.41	8.54 ± 0.34
		7	1.5	9.60 ± 0.76	9.58 ± 0.41	9.82 ± 0.65	9.10 ± 0.74
		8	5.0	9.72 ± 1.06	9.78 ± 0.64	10.26 ± 0.49	9.48 ± 0.49

TABLE 5
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 MATERIAL INTAKE DATA (MG/KG/DAY, MEAN)

STUDY NO.	SEX	GROUP LEVEL (%)	WEEKS																							
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13											
1	MALE	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00			
2	MALE	0.5	458.34	410.17	349.17	332.18	302.64	292.23	277.62	257.02	248.37	243.83	243.83	243.83	230.23	223.22	211.44	211.44	211.44	211.44	211.44	211.44	211.44	211.44	211.44	
3	MALE	1.5	1374.96	1248.70	1033.96	1026.07	927.94	850.06	815.99	778.74	760.38	732.17	732.17	732.17	718.08	695.50	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26	650.26
4	MALE	5.0	4535.29	3983.25	3529.66	3208.85	2997.11	2818.49	2829.53	2636.95	2570.82	2525.86	2525.86	2525.86	2274.47	2256.45	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54	2034.54
5	FEMALE	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
6	FEMALE	0.5	480.45	407.06	369.48	426.24	370.13	313.29	293.28	293.70	291.11	286.29	286.29	286.29	261.31	265.02	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13	243.13
7	FEMALE	1.5	1301.47	1200.83	1127.58	1030.13	1085.27	918.66	849.21	878.15	892.24	861.59	861.59	861.59	842.10	853.57	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65	782.65
8	FEMALE	5.0	4858.38	3912.60	3725.56	3537.49	3235.18	3211.89	3079.29	3193.67	3121.45	2869.57	2869.57	2869.57	2823.45	2947.94	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76	2702.76

TABLE 5
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 MATERIAL INTAKE DATA (MG/KG/DAY, MEAN)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	TOTAL (mg/kg)	AVERAGE (mg/kg/day)
	MALE	1	0	0.00	0.00
		2	0.5	26855.22	295.11
		3	1.5	81289.67	893.29
		4	5.0	267408.89	2938.56
	FEMALE	5	0	0.00	0.00
		6	0.5	30103.43	330.81
		7	1.5	88364.15	971.03
		8	5.0	302534.61	3324.56

TABLE 6
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
WATER CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

SEX	STUDY NO. ■■■■■	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS				
				-1	1	2	3	4
MALE	■■■■■	1	0	14.74 ± 0.70	15.56 ± 0.92	17.62 ± 1.13	18.02 ± 0.69	18.38 ± 0.94
		2	0.5	15.46 ± 0.68	16.16 ± 0.59	17.42 ± 1.26	18.48 ± 0.47	18.38 ± 0.58
		3	1.5	15.54 ± 0.93	16.28 ± 0.64	18.88 ± 1.05	17.82 ± 0.77	18.00 ± 1.12
		4	5.0	15.16 ± 0.71	16.38 ± 0.64	17.34 ± 0.62	17.88 ± 0.66	17.74 ± 0.49
FEMALE	■■■■■	5	0	13.46 ± 0.95	13.68 ± 1.00	13.98 ± 2.23	14.02 ± 0.64	14.72 ± 0.85
		6	0.5	13.14 ± 0.53	13.82 ± 0.88	14.08 ± 0.41	13.86 ± 0.85	13.54 ± 1.31
		7	1.5	13.10 ± 0.42	13.88 ± 0.58	13.72 ± 0.59	13.82 ± 0.93	12.84 ± 0.51 **
		8	5.0	13.26 ± 0.77	13.52 ± 0.64	12.96 ± 0.90	13.76 ± 1.08	13.46 ± 0.88

** : Significantly different from control group at P<0.01.

TABLE 6
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 WATER CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	WEEKS				
				5	6	7	8	9
MALE		1	0	18.64 ± 1.23	18.68 ± 0.50	17.78 ± 0.40	17.78 ± 1.87	17.88 ± 1.62
		2	0.5	19.56 ± 1.11	21.96 ± 3.99 *	20.02 ± 1.03 **	18.68 ± 1.39	17.74 ± 0.61
		3	1.5	18.54 ± 1.50	19.18 ± 0.99	18.56 ± 0.94	17.80 ± 0.91	17.16 ± 0.55
		4	5.0	18.26 ± 0.37	18.98 ± 1.06	19.78 ± 0.87 **	18.78 ± 0.75	17.60 ± 0.65
FEMALE		5	0	14.08 ± 0.52	14.52 ± 0.76	14.06 ± 1.18	15.36 ± 1.86	13.78 ± 1.14
		6	0.5	14.28 ± 1.03	14.08 ± 1.12	13.58 ± 0.88	13.92 ± 0.58	13.42 ± 0.40
		7	1.5	13.62 ± 0.85	13.58 ± 1.32	13.18 ± 1.39	13.22 ± 1.67 *	13.58 ± 1.05
		8	5.0	13.48 ± 0.75	14.18 ± 1.46	13.74 ± 0.38	13.84 ± 0.98	13.82 ± 1.10

*, ** : Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 6
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 WATER CONSUMPTION DATA (G/ANIMAL/DAY)

STUDY NO.	SEX	GROUP	LEVEL (%)	WEEKS			
				10	11	12	13
MALE		1	0	18.00 ± 0.57	17.76 ± 1.08	16.38 ± 0.68	15.86 ± 0.69
		2	0.5	17.82 ± 0.77	17.56 ± 1.47	17.22 ± 0.80	16.08 ± 0.80
		3	1.5	16.68 ± 0.96 *	16.54 ± 0.62	16.68 ± 0.99	16.12 ± 0.91
		4	5.0	17.22 ± 1.25	16.98 ± 1.06	16.32 ± 1.21	15.22 ± 1.05
FEMALE		5	0	14.22 ± 0.97	13.54 ± 0.93	13.62 ± 0.82	12.72 ± 0.93
		6	0.5	13.14 ± 0.50	12.68 ± 0.48	12.56 ± 0.26 *	12.66 ± 1.51
		7	1.5	13.70 ± 1.43	13.32 ± 0.89	12.92 ± 0.86	12.58 ± 0.67
		8	5.0	13.48 ± 0.66	13.68 ± 0.55	13.22 ± 0.47	12.26 ± 0.51

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 7
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 URINALYSIS DATA

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	GLUCOSE			BILIRUBIN			KETONE BODIES			OCCULT BLOOD							
					-	±	3+	-	1+	2+	3+	-	±	3+	-	±	3+				
	MALE	1	0	6	6	0	0	0	6	0	0	0	0	1	5	0	0	6	0	0	0
		2	0.5	6	6	0	0	0	6	0	0	0	0	1	4	1	0	6	0	0	0
		3	1.5	6	6	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0
		4	5.0	6	6	0	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0
	FEMALE	5	0	6	6	0	0	0	6	0	0	0	5	1	0	0	0	6	0	0	0
		6	0.5	6	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0
		7	1.5	6	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0
		8	5.0	6	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0

TABLE 7
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 URINALYSIS DATA

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	PROTEIN			UROBILINOGEN				pH	SPECIFIC GRAVITY	
					-	±	+	0.1	1	2	4			8
	MALE	1	0	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6.378 ± 0.339	1.0650 ± 0.0110
		2	0.5	6	0	0	1	6	0	0	0	0	6.548 ± 0.327	1.0690 ± 0.0068
		3	1.5	6	0	0	0	6	0	0	0	0	6.587 ± 0.330	1.0645 ± 0.0041
		4	5.0	6	0	0	2	6	0	0	0	0	6.618 ± 0.499	1.0690 ± 0.0057
	FEMALE	5	0	6	0	3	3	6	0	0	0	0	6.938 ± 0.309	1.0582 ± 0.0110
		6	0.5	6	0	1	5	6	0	0	0	0	6.692 ± 0.518	1.0645 ± 0.0053
		7	1.5	6	1	2	3	6	0	0	0	0	6.727 ± 0.509	1.0588 ± 0.0138
		8	5.0	6	1	3	2	6	0	0	0	0	7.075 ± 0.300	1.0580 ± 0.0138

TABLE 7
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 URINALYSIS DATA

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	APPEARANCE			MICROSCOPIC EXAMINATION																		
					N	Y	B	R	C	EPITHELIAL CELLS				CRYSTALS				CASTS								
											-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	-	±	1+	2+	3+	
	MALE	1	0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	6	0	0	0	0
		2	0.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	6	0	0	0	0
		3	1.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	6	0	0	0	0
		4	5.0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0
	FEMALE	5	0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1	0	0	0	1	4	6	0	0	0	0
		6	0.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0
		7	1.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1	0	2	2	0	3	6	0	0	0	0
		8	5.0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1	0	1	0	4	6	0	0	0	0	0

N : Normal (Pale yellow), Y : Yellow, B : Brown, R : Red, C : Cloudy

TABLE 7
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 URINALYSIS DATA

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	MICROSCOPIC EXAMINATION							URINE VOLUME (IN GRAMS)				
					-	±	1+	2+	3+	-	±		1+	2+	3+	
MALE		1	0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1.10 ± 0.58
		2	0.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.93 ± 0.53
		3	1.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.97 ± 0.61
		4	5.0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	1.07 ± 0.43
FEMALE		5	0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.72 ± 0.15
		6	0.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.63 ± 0.23
		7	1.5	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.58 ± 0.31
		8	5.0	6	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.72 ± 0.48

TABLE 7
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
URINALYSIS DATA

STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CL (mEq/l)
MALE	1	0	6	112.13 ± 31.54	316.240 ± 66.137	118.07 ± 42.93
	2	0.5	6	141.13 ± 20.17	342.187 ± 47.231	137.33 ± 47.07
	3	1.5	6	175.53 ± 54.19 **	279.393 ± 61.383	118.60 ± 57.67
	4	5.0	6	130.87 ± 32.86	344.287 ± 47.197	119.60 ± 29.95
FEMALE	5	0	6	107.07 ± 36.71	252.333 ± 61.819	79.27 ± 29.31
	6	0.5	6	134.13 ± 56.88	305.013 ± 54.753	115.67 ± 51.22
	7	1.5	6	110.67 ± 61.33	238.527 ± 80.544	84.35 ± 57.21
	8	5.0	6	116.33 ± 33.43	203.047 ± 79.450	70.12 ± 34.76

** : Significantly different from control group at P<0.01.

TABLE 8
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 OPHTHALMOSCOPIC FINDING DATA

STUDY NO.	SEX	MALE				FEMALE			
		1	2	3	4	5	6	7	8
STRUCTURE ^a	GROUP NO.	0	0.5	1.5	5.0	0	0.5	1.5	5.0
FINDINGS	LEVEL(%)								
	No. of examined	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)
Normal		6	6	6	6	6	6	6	6

^a : Anterior chamber, Optic media, Ocular fundus and others were examined.

TABLE 9
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 HEMATOLOGY DATA

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	WBC ($\times 10^2/\mu\text{l}$)	RBC ($\times 10^4/\mu\text{l}$)	HGB (g/dl)	HCT (%)
MALE		1	0	10	48.64 \pm 3.99	944.5 \pm 16.5	15.65 \pm 0.31	43.68 \pm 0.69
		2	0.5	10	50.89 \pm 2.83	950.7 \pm 19.4	15.68 \pm 0.26	44.16 \pm 0.83
		3	1.5	10	50.00 \pm 4.83	940.1 \pm 16.9	15.50 \pm 0.24	43.73 \pm 0.63
		4	5.0	10	46.66 \pm 6.09	940.7 \pm 15.5	15.53 \pm 0.23	43.73 \pm 0.65
FEMALE		5	0	10	35.72 \pm 3.02	904.0 \pm 14.7	16.04 \pm 0.26	45.03 \pm 0.71
		6	0.5	10	36.52 \pm 6.85	909.8 \pm 15.1	16.13 \pm 0.18	45.33 \pm 0.69
		7	1.5	10	32.61 \pm 4.69	898.1 \pm 20.0	15.95 \pm 0.41	45.22 \pm 1.21
		8	5.0	10	36.30 \pm 5.19	908.2 \pm 15.3	16.10 \pm 0.25	45.25 \pm 0.71

TABLE 9.
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
HEMATOLOGY DATA

SEX	STUDY NO. [REDACTED]	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	PLT ($\times 10^4/\mu$ l)
MALE		1	0	10	46.25 \pm 0.47	16.56 \pm 0.17	35.83 \pm 0.37	75.33 \pm 4.12
		2	0.5	10	46.46 \pm 0.41	16.49 \pm 0.24	35.50 \pm 0.32 *	75.65 \pm 2.23
		3	1.5	10	46.53 \pm 0.35	16.49 \pm 0.14	35.45 \pm 0.20 **	74.70 \pm 5.61
		4	5.0	10	46.47 \pm 0.30	16.51 \pm 0.14	35.53 \pm 0.21 *	73.79 \pm 4.12
FEMALE		5	0	10	49.80 \pm 0.19	17.75 \pm 0.15	35.63 \pm 0.28	70.87 \pm 2.55
		6	0.5	10	49.82 \pm 0.12	17.73 \pm 0.16	35.58 \pm 0.25	72.22 \pm 4.73
		7	1.5	10	50.37 \pm 1.04	17.77 \pm 0.20	35.29 \pm 0.39 *	69.18 \pm 3.07
		8	5.0	10	49.82 \pm 0.24	17.72 \pm 0.11	35.58 \pm 0.18	69.48 \pm 3.70

*, ** : Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 9
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 HEMATOLOGY DATA

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	DIFFERENTIAL COUNT OF WBC (%)				
					NEUT	LYMPH	MONO	EO	BASO
MALE	[REDACTED]	1	0	10	20.02 ± 1.31	76.09 ± 1.64	2.40 ± 0.68	1.45 ± 0.39	0.04 ± 0.08
		2	0.5	10	20.34 ± 1.66	75.87 ± 2.26	2.49 ± 0.64	1.24 ± 0.28	0.06 ± 0.10
		3	1.5	10	20.36 ± 3.48	75.77 ± 4.14	2.53 ± 0.53	1.32 ± 0.39	0.02 ± 0.06
		4	5.0	10	22.19 ± 3.03	74.10 ± 3.12	2.54 ± 0.40	1.13 ± 0.30	0.04 ± 0.08
FEMALE	[REDACTED]	5	0	10	17.18 ± 2.73	79.41 ± 2.67	1.89 ± 0.32	1.52 ± 0.45	0.00 ± 0.00
		6	0.5	10	17.22 ± 3.85	79.30 ± 4.41	2.12 ± 0.70	1.36 ± 0.20	0.00 ± 0.00
		7	1.5	10	17.35 ± 3.35	79.12 ± 3.78	1.99 ± 0.52	1.51 ± 0.27	0.03 ± 0.09
		8	5.0	10	17.49 ± 3.42	79.22 ± 3.87	1.92 ± 0.49	1.37 ± 0.23	0.00 ± 0.00

TABLE 9
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 HEMATOLOGY DATA

SEX	GROUP	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	RETICULOCYTE (%)	COAGULATION TIME	
					PT(SEC)	APTT(SEC)
MALE	1	0	10	2.629 ± 0.280	14.90 ± 0.60	16.26 ± 1.34
	2	0.5	10	2.479 ± 0.201	15.10 ± 0.70	16.11 ± 1.76
	3	1.5	10	2.601 ± 0.192	15.13 ± 0.73	17.39 ± 2.02
	4	5.0	10	2.506 ± 0.187	15.06 ± 0.43	17.29 ± 1.45
FEMALE	5	0	10	2.408 ± 0.424	13.95 ± 0.62	14.63 ± 3.08
	6	0.5	10	2.356 ± 0.194	13.98 ± 0.24	15.60 ± 1.64
	7	1.5	10	2.403 ± 0.315	14.28 ± 0.44	15.07 ± 1.70
	8	5.0	10	2.416 ± 0.175	14.02 ± 0.53	15.78 ± 1.67

TABLE 10
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
CLINICAL CHEMISTRY DATA

STUDY NO.	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	AST (U/l)	ALT (U/l)	ALP (IU/l)	γ -GTP (IU/l)	T-BIL (mg/dl)
MALE	1	0	10	99.0 \pm 11.4	57.4 \pm 4.6	280.4 \pm 9.2	0.19 \pm 0.21	0.032 \pm 0.006
	2	0.5	10	95.9 \pm 12.9	59.3 \pm 6.5	273.0 \pm 17.2	0.19 \pm 0.13	0.033 \pm 0.007
	3	1.5	10	92.9 \pm 12.7	55.3 \pm 6.6	277.6 \pm 21.4	0.21 \pm 0.26	0.032 \pm 0.008
	4	5.0	10	97.4 \pm 21.1	62.3 \pm 3.5	270.4 \pm 18.2	0.15 \pm 0.12	0.035 \pm 0.008
FEMALE	5	0	10	88.8 \pm 8.1	38.6 \pm 3.0	206.5 \pm 14.7	0.38 \pm 0.18	0.043 \pm 0.007
	6	0.5	10	86.7 \pm 8.7	40.0 \pm 6.0	207.3 \pm 28.1	0.34 \pm 0.28	0.039 \pm 0.003
	7	1.5	10	84.6 \pm 9.2	40.3 \pm 3.9	211.4 \pm 25.2	0.36 \pm 0.23	0.040 \pm 0.012
	8	5.0	10	83.6 \pm 9.8	42.8 \pm 3.1 *	216.2 \pm 16.2	0.60 \pm 0.25	0.045 \pm 0.005

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 10
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
CLINICAL CHEMISTRY DATA

STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	BUN (mg/dl)	CRE (mg/dl)	GLU (mg/dl)	T-CHO (mg/dl)	PL (mg/dl)
MALE	1	0	10	16.82 ± 1.31	0.516 ± 0.033	140.1 ± 7.7	57.5 ± 3.3	110.9 ± 6.8
	2	0.5	10	16.89 ± 1.79	0.525 ± 0.029	144.6 ± 9.0	58.5 ± 5.8	112.3 ± 10.3
	3	1.5	10	16.23 ± 1.54	0.511 ± 0.038	145.8 ± 12.8	55.5 ± 4.3	108.9 ± 8.5
	4	5.0	10	16.95 ± 1.53	0.528 ± 0.038	140.1 ± 5.7	52.3 ± 3.4 *	102.7 ± 8.2 *
FEMALE	5	0	10	17.47 ± 1.37	0.547 ± 0.032	120.0 ± 13.5	87.0 ± 5.8	170.2 ± 13.8
	6	0.5	10	17.84 ± 0.84	0.537 ± 0.036	120.9 ± 9.9	86.4 ± 7.1	168.1 ± 11.1
	7	1.5	10	18.57 ± 1.75	0.524 ± 0.033	129.7 ± 9.9	84.6 ± 5.3	161.8 ± 9.4
	8	5.0	10	17.82 ± 1.13	0.519 ± 0.033	125.0 ± 14.7	88.0 ± 6.8	167.4 ± 10.7

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 10
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
CLINICAL CHEMISTRY DATA

STUDY NO.	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	TG (mg/dl)	TP (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	IP (mg/dl)
MALE	1	0	10	91.7 ± 25.0	5.99 ± 0.14	2.69 ± 0.06	0.815 ± 0.019	5.77 ± 0.36
	2	0.5	10	99.4 ± 32.3	6.05 ± 0.13	2.70 ± 0.05	0.806 ± 0.021	5.70 ± 0.45
	3	1.5	10	86.9 ± 22.1	5.96 ± 0.11	2.67 ± 0.05	0.812 ± 0.023	5.75 ± 0.31
	4	5.0	10	71.1 ± 22.3	5.92 ± 0.13	2.66 ± 0.05	0.816 ± 0.028	5.68 ± 0.45
FEMALE	5	0	10	31.5 ± 23.5	5.89 ± 0.19	2.75 ± 0.07	0.877 ± 0.029	5.02 ± 0.90
	6	0.5	10	37.1 ± 17.5	5.87 ± 0.12	2.75 ± 0.08	0.882 ± 0.030	5.12 ± 0.78
	7	1.5	10	29.7 ± 15.2	5.68 ± 0.17 **	2.67 ± 0.07 *	0.889 ± 0.028	4.95 ± 0.83
	8	5.0	10	28.5 ± 12.9	5.69 ± 0.12 **	2.68 ± 0.06 *	0.891 ± 0.028	4.65 ± 1.00

*, **: Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 10
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
CLINICAL CHEMISTRY DATA

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	GROUP LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	CA (mg/dl)	MG (mg/dl)	NA (mEq/l)	K (mEq/l)	CL (mEq/l)
	MALE	1	0	10	10.01 ± 0.13	2.06 ± 0.15	142.18 ± 0.79	4.527 ± 0.229	102.61 ± 0.80
		2	0.5	10	10.09 ± 0.13	2.04 ± 0.14	142.51 ± 0.73	4.359 ± 0.235	102.54 ± 0.85
		3	1.5	10	10.03 ± 0.13	2.01 ± 0.09	142.61 ± 0.60	4.302 ± 0.201 *	102.57 ± 0.63
		4	5.0	10	10.07 ± 0.21	2.07 ± 0.13	142.86 ± 0.60 *	4.210 ± 0.250 **	103.26 ± 0.81
	FEMALE	5	0	10	9.50 ± 0.23	2.16 ± 0.13	140.44 ± 0.48	4.152 ± 0.239	102.77 ± 0.53
		6	0.5	10	9.72 ± 0.12 *	2.17 ± 0.12	140.71 ± 0.94	3.997 ± 0.259	102.58 ± 0.91
		7	1.5	10	9.43 ± 0.24	2.17 ± 0.22	140.64 ± 1.44	4.219 ± 0.274	102.66 ± 0.91
		8	5.0	10	9.54 ± 0.21	2.15 ± 0.10	140.75 ± 1.03	3.995 ± 0.260	103.05 ± 0.82

*, **: Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 11
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 GROSS PATHOLOGY DATA

STUDY NO. [REDACTED] ORGAN AND FINDINGS	SEX		MALE				FEMALE			
	GROUP NO.	LEVEL(%)	1	2	3	4	5	6	7	8
No. of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Not remarkable	9	8	10	10	10	10	8	8	6	8
Liver : Diaphragmatic nodule	1	2	0	0	0	0	1	1	2	0
Uterus, horn : Dilatation	0	0	0	0	0	0	0	1	4*	2
Abdominal cavity : Nodule, yellow	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 12
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Body ^a weight	Brain	Pituitary	Thyroids	Lungs
	MALE	1	0	10	307.7 \pm 12.4	1.9558 \pm 0.0443	0.0088 \pm 0.0010	0.0165 \pm 0.0023	0.9461 \pm 0.0425
		2	0.5	10	313.3 \pm 12.8	1.9596 \pm 0.0231	0.0084 \pm 0.0007	0.0171 \pm 0.0012	0.9258 \pm 0.0417
		3	1.5	10	306.3 \pm 11.9	1.9583 \pm 0.0509	0.0079 \pm 0.0007 *	0.0173 \pm 0.0019	0.9188 \pm 0.0558
		4	5.0	10	299.8 \pm 17.1	1.9405 \pm 0.0441	0.0075 \pm 0.0007 **	0.0161 \pm 0.0018	0.9088 \pm 0.0482
	FEMALE	5	0	10	167.6 \pm 8.3	1.7820 \pm 0.0303	0.0101 \pm 0.0012	0.0117 \pm 0.0020	0.6720 \pm 0.0346
		6	0.5	10	166.2 \pm 5.1	1.8005 \pm 0.0454	0.0100 \pm 0.0012	0.0118 \pm 0.0021	0.6683 \pm 0.0325
		7	1.5	10	164.6 \pm 11.3	1.7953 \pm 0.0387	0.0110 \pm 0.0009	0.0124 \pm 0.0016	0.6650 \pm 0.0346
		8	5.0	10	165.8 \pm 4.7	1.7910 \pm 0.0187	0.0098 \pm 0.0015	0.0120 \pm 0.0014	0.6790 \pm 0.0397

*, ** : Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

a : The values presented were obtained after the animals were fasted overnight.

TABLE 12
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Organ Weights (g)			
					Heart	Thymus	Liver	Kidneys
MALE	[REDACTED]	1	0	10	0.8819 \pm 0.0406	0.1613 \pm 0.0231	7.1578 \pm 0.4790	1.8565 \pm 0.0776
		2	0.5	10	0.8885 \pm 0.0220	0.1589 \pm 0.0132	7.3204 \pm 0.4768	1.8988 \pm 0.1011
		3	1.5	10	0.8711 \pm 0.0418	0.1607 \pm 0.0203	6.9749 \pm 0.4899	1.8108 \pm 0.1031
		4	5.0	10	0.8393 \pm 0.0388 *	0.1528 \pm 0.0175	6.7011 \pm 0.4277 *	1.7579 \pm 0.0837 *
FEMALE	[REDACTED]	5	0	10	0.5491 \pm 0.0369	0.1452 \pm 0.0148	3.7163 \pm 0.1816	1.0874 \pm 0.0393
		6	0.5	10	0.5477 \pm 0.0263	0.1396 \pm 0.0102	3.6252 \pm 0.1276	1.0915 \pm 0.0429
		7	1.5	10	0.5601 \pm 0.0579	0.1450 \pm 0.0135	3.6919 \pm 0.2526	1.1109 \pm 0.0778
		8	5.0	10	0.5501 \pm 0.0304	0.1488 \pm 0.0148	3.6567 \pm 0.1450	1.0983 \pm 0.0593

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 12
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

SEX	STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Spleen		Adrenals		Salivary glands		Testes /Ovaries	
					Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
MALE	1	1	0	10	0.6051	\pm 0.0338	0.0397	\pm 0.0038	0.4480	\pm 0.0262	3.0731	\pm 0.1518
					0.5823	\pm 0.0292	0.0374	\pm 0.0033	0.4359	\pm 0.0167	3.0975	\pm 0.0688
					0.5809	\pm 0.0348	0.0385	\pm 0.0040	0.4233	\pm 0.0248 *	3.0613	\pm 0.1600
					0.5716	\pm 0.0450	0.0376	\pm 0.0042	0.4142	\pm 0.0198 **	3.0274	\pm 0.1416
FEMALE	2	1	0	10	0.3711	\pm 0.0240	0.0424	\pm 0.0056	0.2886	\pm 0.0149	0.0864	\pm 0.0095
					0.3593	\pm 0.0185	0.0398	\pm 0.0052	0.2818	\pm 0.0185	0.0762	\pm 0.0098
					0.3715	\pm 0.0351	0.0391	\pm 0.0021	0.2790	\pm 0.0132	0.0818	\pm 0.0143
					0.3609	\pm 0.0151	0.0423	\pm 0.0032	0.2850	\pm 0.0139	0.0796	\pm 0.0090

*, ** : Significantly different from control group at $P < 0.05$, 0.01 , respectively.

TABLE 12
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN WEIGHT DATA (G, MEAN \pm S.D.)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Seminal vesicles	Prostate	Uterus
	MALE	1	0	10	0.7246 \pm 0.0901	0.8742 \pm 0.0987	
		2	0.5	10	0.7494 \pm 0.0858	0.8371 \pm 0.0949	
		3	1.5	10	0.6948 \pm 0.0841	0.7926 \pm 0.0953	
		4	5.0	10	0.6844 \pm 0.1088	0.7652 \pm 0.0773 *	
	FEMALE	5	0	10			0.3957 \pm 0.0693
		6	0.5	10			0.4724 \pm 0.1643
		7	1.5	10			0.5577 \pm 0.2290
		8	5.0	10			0.4857 \pm 0.1700

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 13
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN TO BODY WEIGHT RATIO DATA (G/100G BW, MEAN \pm S.D.)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Brain	Pituitary	Thyroids	Lungs
	MALE	1	0	10	0.6360 \pm 0.0213	0.0030 \pm 0.0005	0.0054 \pm 0.0007	0.3074 \pm 0.0113
		2	0.5	10	0.6264 \pm 0.0279	0.0028 \pm 0.0004	0.0054 \pm 0.0005	0.2956 \pm 0.0091
		3	1.5	10	0.6400 \pm 0.0231	0.0027 \pm 0.0005	0.0055 \pm 0.0005	0.3002 \pm 0.0168
		4	5.0	10	0.6488 \pm 0.0339	0.0025 \pm 0.0005 *	0.0055 \pm 0.0007	0.3033 \pm 0.0110
	FEMALE	5	0	10	1.0653 \pm 0.0485	0.0059 \pm 0.0007	0.0071 \pm 0.0014	0.4011 \pm 0.0113
		6	0.5	10	1.0841 \pm 0.0385	0.0060 \pm 0.0007	0.0071 \pm 0.0013	0.4023 \pm 0.0209
		7	1.5	10	1.0951 \pm 0.0745	0.0067 \pm 0.0008 *	0.0076 \pm 0.0010	0.4049 \pm 0.0193
		8	5.0	10	1.0810 \pm 0.0350	0.0058 \pm 0.0009	0.0073 \pm 0.0008	0.4097 \pm 0.0227

* : Significantly different from control group at $P < 0.05$.

TABLE 13
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN TO BODY WEIGHT RATIO DATA (G/100G BW, MEAN \pm S.D.)

STUDY NO.	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Heart	Thymus	Liver	Kidneys
MALE	1	0	10	0.2868 \pm 0.0094	0.0523 \pm 0.0070	2.3246 \pm 0.0851	0.6033 \pm 0.0086
	2	0.5	10	0.2840 \pm 0.0076	0.0508 \pm 0.0048	2.3351 \pm 0.0797	0.6060 \pm 0.0211
	3	1.5	10	0.2843 \pm 0.0066	0.0524 \pm 0.0066	2.2753 \pm 0.0922	0.5910 \pm 0.0179
	4	5.0	10	0.2804 \pm 0.0135	0.0510 \pm 0.0050	2.2355 \pm 0.0788 *	0.5871 \pm 0.0238
FEMALE	5	0	10	0.3274 \pm 0.0114	0.0865 \pm 0.0071	2.2184 \pm 0.0755	0.6495 \pm 0.0234
	6	0.5	10	0.3298 \pm 0.0166	0.0839 \pm 0.0049	2.1822 \pm 0.0819	0.6574 \pm 0.0334
	7	1.5	10	0.3404 \pm 0.0290	0.0884 \pm 0.0072	2.2465 \pm 0.1257	0.6757 \pm 0.0340
	8	5.0	10	0.3318 \pm 0.0184	0.0899 \pm 0.0097	2.2060 \pm 0.0799	0.6624 \pm 0.0276

* : Significantly different from control group at P<0.05.

TABLE 13
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN TO BODY WEIGHT RATIO DATA (G/100G BW, MEAN \pm S.D.)

STUDY NO.	SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Spleen	Adrenals	Salivary glands	Testes /Ovaries
	MALE	1	0	10	0.1969 \pm 0.0109	0.0130 \pm 0.0016	0.1458 \pm 0.0097	0.9992 \pm 0.0461
		2	0.5	10	0.1860 \pm 0.0041 **	0.0120 \pm 0.0012	0.1392 \pm 0.0060	0.9896 \pm 0.0351
		3	1.5	10	0.1897 \pm 0.0095	0.0125 \pm 0.0013	0.1382 \pm 0.0067 *	0.9994 \pm 0.0370
		4	5.0	10	0.1906 \pm 0.0075	0.0126 \pm 0.0016	0.1384 \pm 0.0083	1.0116 \pm 0.0504
	FEMALE	5	0	10	0.2214 \pm 0.0094	0.0251 \pm 0.0032	0.1724 \pm 0.0094	0.0515 \pm 0.0055
		6	0.5	10	0.2162 \pm 0.0117	0.0238 \pm 0.0030	0.1698 \pm 0.0128	0.0459 \pm 0.0060
		7	1.5	10	0.2257 \pm 0.0162	0.0238 \pm 0.0018	0.1700 \pm 0.0095	0.0497 \pm 0.0072
		8	5.0	10	0.2176 \pm 0.0099	0.0254 \pm 0.0018	0.1721 \pm 0.0082	0.0481 \pm 0.0052

*, ** : Significantly different from control group at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 13
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 ORGAN TO BODY WEIGHT RATIO DATA (G/100G BW, MEAN ± S.D.)

SEX	GROUP NO.	LEVEL (%)	NO. OF EXAMINED	Seminal vesicles	Prostate	Uterus
MALE	1	0	10	0.2356 ± 0.0291	0.2847 ± 0.0350	
	2	0.5	10	0.2390 ± 0.0250	0.2669 ± 0.0259	
	3	1.5	10	0.2269 ± 0.0262	0.2590 ± 0.0318	
	4	5.0	10	0.2287 ± 0.0371	0.2559 ± 0.0279	
FEMALE	5	0	10			0.2366 ± 0.0430
	6	0.5	10			0.2837 ± 0.0946
	7	1.5	10			0.3389 ± 0.1389
	8	5.0	10			0.2921 ± 0.1006

TABLE 14
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY NO. ■■■■■	ORGAN AND FINDINGS	No. of animals/group	SEX					8	5.0	10
			MALE		FEMALE					
			GROUP NO. -----	1	2	3	4	5	6	7
			LEVEL(%) -----	0	0.5	1.5	5.0	0	0.5	1.5
				10	10	10	10	10	10	10
Heart	Normal			10			9	10		
	Cellular infiltration, mononuclear cell/(1)a			0			1	0		
Aorta	Normal			10			10	10		10
Mandibular lymph node	Normal			10			9	10		10
	Cellular infiltration, plasma cell/(1)a			0			1	0		0
Mesenteric lymph node	Normal			7			9	7		8
	Dilatation, sinus/(1)a			2			1	3		2
	Hyperplasia, lymphocyte			1			0	0		0
Spleen	Normal			10			9	10		10
	Atrophy of white pulp/(1)a			0			1	0		0
Bone marrow	Normal			10			10	9		10
	Granulomatous inflammation/(1)a			0			0	1		0
Thymus	Normal			10			10	9		10
	Cyst/(1)a			0			0	1		0
Pituitary	Normal			10			10	10		9
	Tubular structure/(1)a			0			0	0		1
Thyroid	Normal			7			6	5		7
	Ectopic thymic tissue			3			4	5		3
Parathyroid	Normal			10			10	10		10

a : Numbers in parenthesis indicate the grades of lesion : (1) Minimal (2) Slight (3) Moderate (4) Marked (5) Severe

b : Numbers in square bracket are for animals examined microscopically.

*, ** : Significantly different from control group 1 at P<0.05, 0.01, respectively.

#, ## : Significantly different from control group 5 at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 14
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY NO. AND ORGAN AND FINDINGS	SEX									
	MALE					FEMALE				
No. of animals/group	GROUP NO.	2	3	4	5	6	7	8	LEVEL (%)	
	1	0.5	1.5	5.0	10	0.5	1.5	5.0	10	10
Adrenal	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Nasal cavity	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Trachea	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Lung/bronchial	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Tongue	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Salivary gland	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Esophagus	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Stomach	9	0	0	0	9	0	0	0	0	0
Duodenum	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Jejunum	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ileum	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cecum	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Colon	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

a : Numbers in parenthesis indicate the grades of lesion : (1) Minimal (2) Slight (3) Moderate (4) Marked (5) Severe

b : Numbers in square bracket are for animals examined microscopically.

* , ** : Significantly different from control group 1 at P<0.05, 0.01, respectively.

#, ## : Significantly different from control group 5 at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 14
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY NO. AND FINDINGS	SEX									
	MALE					FEMALE				
No. of animals/group	GROUP NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	
	LEVEL(%)	0	0.5	1.5	5.0	0	0.5	1.5	5.0	
Rectum	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Pancreas	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver	10	[2]b	10	10	10	10	[1]b	[2]b	10	10
Kidney	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinary bladder	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Testis	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
Prostate	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Epididymis	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Seminal vesicle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mammary gland	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ovary	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

a : Numbers in parenthesis indicate the grades of lesion : (1) Minimal (2) Slight (3) Moderate (4) Marked (5) Severe

b : Numbers in square bracket are for animals examined microscopically.

* : Significantly different from control group 1 at P<0.05, 0.01, respectively.

#, ## : Significantly different from control group 5 at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 14
90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY NO. ■■■■■ ORGAN AND FINDINGS	SEX									
	MALE					FEMALE				
	GROUP NO. ■■■■■	2	3	4	5	6	7	8	LEVEL(%) ■■■■■	10
No. of animals/group	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Oviduct	Normal				10					10
Uterus	Normal				9				[1]b	[4]b
	Dilatation, lumen/(1)a				1				0	0
	Dilatation, lumen/(2)a				0				0	0
	Dilatation, lumen/(3)a				0				1	4
Vagina	Normal				10					10
Femur	Normal		10							10
Sternum	Normal		10							10
Musculature	Normal		10							10
Skin/subcutis	Normal		10							10
Zymbal's gland	Normal		9							10
	Not examined		1							0
Eye	Normal		10							10
Harderian gland	Normal		9							8
	Cellular infiltration, lymphocyte/(1)a		1							1
	Inflammation/(1)a		0							1
Brain	Normal		10							10

a : Numbers in parenthesis indicate the grades of lesion : (1) Minimal (2) Slight (3) Moderate (4) Marked (5) Severe

b : Numbers in square bracket are for animals examined microscopically.

*, ** : Significantly different from control group 1 at P<0.05, 0.01, respectively.

#, ## : Significantly different from control group 5 at P<0.05, 0.01, respectively.

TABLE 14
 90-DAY REPEATED DOSE TOXICITY STUDY OF TOROROAOI (ABELMOSCHUS MANIHOT) IN RATS
 SUMMARY OF HISTOPATHOLOGICAL FINDINGS

STUDY NO. ■■■■■	ORGAN AND FINDINGS	SEX		MALE		FEMALE						
		GROUP NO.	LEVEL(%)	1	2	3	4	5	6	7	8	
	No. of animals/group	10	10	0	0.5	1.5	5.0	10	10	10	10	10
Spinal cord	Normal	10					10					10
Sciatic nerve	Normal	10					10					10
Fat	Necrosis(2)a											1

a : Numbers in parenthesis indicate the grades of lesion : (1) Minimal (2) Slight (3) Moderate (4) Marked (5) Severe

b : Numbers in square bracket are for animals examined microscopically.

*, ** : Significantly different from control group 1 at P<0.05, 0.01, respectively.

#, ## : Significantly different from control group 5 at P<0.05, 0.01, respectively.