



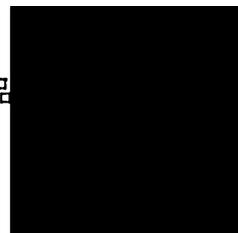
1993年11月22日

ピグメントグリーン7 の
細菌を用いる
復帰突然変異試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品

秦野研





試験委託者 : 厚生省生活衛生局

試験計画番号 : M-92-293

試験系識別番号 : GM-054

被験物質名 : ピグメントグリーン7

試験項目 : 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験期間 : 1992年10月19日 ~ 1993年 6月24日

資料保管場所 : 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所資料保管室

資料保管期間 : 試験終了後10年間

試験施設 : 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所
(所在地) (神奈川県秦野市落合729-5)

運営管理者 : 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所
所長



993年 6月25日



試験責任者
(報告書作成者)

:



1993年6月24日

試験担当主任者

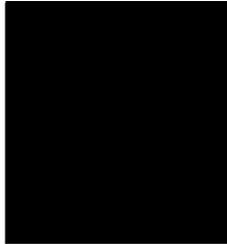
:



1993年6月24日

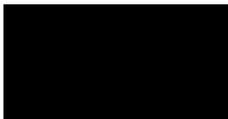
試験担当者

:



化学分析担当者

:



(化学分析担当責任者)



陳 述 書

試験の表題 : ピグメントグリーン7の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験計画番号 : M-92-293

上記の試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号）およびOECD化学品試験法ガイドライン：471，472 に準拠し、化学物質GLP（昭和59年3月31日，環保業第39号，薬発第229号，59基局第85号，改訂昭和63年11月18日，環企研第233号，衛生第38号，63基局第823号）に基づいて実施したものであります。

1993年 6月25日

財団法人食品薬品安全センター
秦野研究所 所長（運営管理者）

氏 名



信頼性保証証明

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所信頼性保証部門は、試験計画番号 M-92-293 に関する試験の管理状況について次のとおり査察を行った。

査 察 日	査 察 項 目	運営管理者および試験責任者への報告日
1992年10月12日	試験計画書点検査察	1992年10月12日
1993年 2月17日	含量試験・ 試験実施状況(1)査察	1993年 2月17日
1993年 2月19日	試験実施状況(2)査察	1993年 2月19日
1993年 5月27日	報告書案点検査察	1993年 5月27日
1993年 6月24日	最終報告書点検査察	1993年 6月24日

この報告書は、試験に使用された方法および手順を正確に記述し、報告結果は、生データを正確に反映していることを証明する。

1993年 6月24日

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所 信頼性保証責任者



【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	2
材料および試験方法	3
試験結果および考察	6
参 考 文 献	7
Tables 1～3	
Appendixes 1、2	

【要 約】

ピグメントグリーン7の変異原性の有無について、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施することにより検討した。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用い、直接法および代謝活性化法のいずれも、用量設定試験は 50~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、本試験では 312.5~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で試験を実施した。

その結果、2回の本試験とも、用いた5種類の検定菌について、いずれの用量でも復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、ピグメントグリーン7は、用いた試験系において変異原性を有しない（陰性）と判定された。

【緒 言】

既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、難分解性既存化学物質の1つである、ピグメントグリーン7について、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレート法により実施した。

この試験は、サルモネラ（ネズミチフス菌）におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰変異⁽¹⁾、ならびに大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰変異⁽²⁾を指標とした変異原の検出系である。

試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる直接法と、哺乳動物のもつ薬物代謝酵素（S9 混液）によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する代謝活性化法とからなっている。

本試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号）およびOECD化学品試験法ガイドライン：471、472に準拠し、化学物質GLP（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に基づいて実施した。

【材料および試験方法】

〔検定菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

S. typhimurium の4菌株は1975年10月31日にアメリカ合衆国、カリフォルニア大学の [REDACTED] 博士から分与を受けた。

E. coli WP2 *uvrA* 株は1979年5月9日に国立遺伝学研究所の [REDACTED] 博士から分与を受けた。

検定菌は、 -80°C 以下で凍結保存した。

試験に際して、ニュートリエントブロスNo.2 (OXOID, ロット番号: B-1674/1 および B-1674/2) を入れたL字型試験管に種菌を接種し、 37°C 、約10~12時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被験物質〕

ピグメントグリーン7 (CAS No. 1328-53-6、以下PG7と略) は、分子量 1092~1127 の緑色の粉末である。純度 99.04%のもの (不純物として塩素化フタル酸誘導体等を含む、ロット番号: [REDACTED]) を [REDACTED] から供与された。被験物質は、使用時まで室温に遮光して保管した。被験物質は、この状態で安定あることが製造者によって確認されている。

PG7は、ジメチルスルホキシド (以下DMSOと略: ロット番号: TWP 5445 および APQ 5928、和光純薬工業(株)) を用いて 50 mg/ml になるように調製した後、同溶媒で更に公比2ないし3で希釈したものを、速やかに試験に用いた。なお、調製にあたって、純度換算は行わなかった。

秦野研究所においてPG7のDMSO溶液中での安定性試験を、本試験における最高濃度 (50 mg/ml) および最低濃度 (3 mg/ml) の2濃度について、室温遮光条件下で実施した。その結果、調製後4時間における各3サンプルの平均含量は、それぞれ初期値 (0時間) の平均に対して、99.8%および100%であった。これらの値は、当研究所の基準を満たしていた (Appendix 1)。

また、本試験に用いた調製検体について、含量測定試験を行った結果、50 mg/ml 溶液の含量は既定濃度に対し、95.1~100%、3.125 mg/ml 溶液は、95.9~97.4%であった。これらの値も当研究所の基準を満たしていた (Appendix 2)。

以上の結果から、PG7 は DMSO 溶液中では安定であり、また調製液中の被験物質の含量は所定の値の範囲内にあることが確認された。

〔陽性対照物質〕

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF-2 : フリルファミド	(上野製薬(株))	ロット番号 46,	純度99.9%
SA : アジ化ナトリウム	(和光純薬工業(株))	ロット番号 TWR3330,	純度>90%
9-AA : 9-アミノアクリジン	(Sigma Chem. Co.)	ロット番号 96F05641,	純度>98%
2-AA : 2-アミノアントラセン	(和光純薬工業(株))	ロット番号 DSF2950,	純度>90%

AF-2, 2-AA は DMSO (和光純薬工業(株)) に溶解したものを、-20℃で凍結保存し、用時解凍した。9-AA は DMSO に、SA は蒸留水に溶解して速やかに試験に用いた。

〔培地および S9 混液の組成〕

1) トップアガー (TA菌株用)

下記の水溶液 (A) および (B) を容量比 10:1 の割合で混合した。

(A) バクアガー (Difco)	0.6%	(B) L-ヒスチジン	0.5 mM
塩化ナトリウム	0.5%	ピオチン	0.5 mM

* : WP2 用には、0.5 mM L-トリプトファン水溶液を用いた。

2) 合成培地

培地は、日清製粉株式会社製の最少寒天培地 (用量設定試験においてはロット番号 : DJ040IH, 1992年9月4日製造および DJ060KH, 1992年11月10日製造、本試験においては、ロット番号 : DJ050JH, 1992年10月12日製造および DJ060KH, 1992年11月10日製造) を用いた。なお、培地 1 l あたりの組成は下記のとおりである。

硫酸マグネシウム・7水和物	0.2 g	リン酸水素アンモニウムナトリウム・4水和物	3.5 g
クエン酸・1水和物	2 g	グルコース	20 g
リン酸水素二カルシウム	10 g	バクアガー (Difco)	15 g

径 90 mm のシャーレ 1 枚あたり 30 ml を流して固めてある。

3) S9 混液 (1 ml 中下記の成分を含む)

**			
S9	0.1 ml	NADH	4 μ mol
塩化マグネシウム	8 μ mol	NADPH	4 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol	0.2M リン酸緩衝液 (pH 7.4)	0.5 ml
グルコース・6リン酸	5 μ mol		

** : 7週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および5、6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製した S9 (キッコーマン株、ロット番号 RAA-280、1992年7月24日製造 RAA-285、1992年11月20日製造および RAA-291、1993年4月1日製造) を -80°C で凍結保存し、用時に解凍した。PBおよびBFの投与量は1日目 PB 30 mg/kg、2日目 PB 60 mg/kg、3日目 PB 60 mg/kg および BF 80 mg/kg、4日目 PB 60 mg/kgであり、いずれも腹腔内投与したものである。

[試験方法]

プレート法を用いて、直接法および代謝活性化法によって試験を行った。

小試験管中にトッパアガー 2 ml、被験物質調製液 0.1 ml、リン酸緩衝液 0.5 ml (代謝活性化試験においては S9 混液 0.5 ml)、検定菌液 0.1 ml を混合したのち合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに DMSO、または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとの陽性対照物質の名称および用量は表中に示した。培養は 37°C で48時間行い、生じた変異コロニー数を算定した。抗菌性の有無については、肉眼的あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌膜の状態から判断した。用いた平板は用量設定試験においては、陰性および陽性対照群では3枚ずつ、各用量については1枚ずつとした。また、本試験においては両対照群および各用量につき、3枚ずつを用い、それぞれその平均値と標準偏差を求めた。用量設定試験は1回、本試験は同一用量について2回実施し、再現性の確認を行った。

[判定基準]

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の直接法あるいは代謝活性化法において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数が、陰性対照のそれに比べて2倍以上に増加し、かつ、その増加に再現性あるいは用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有する(陽性)と判定することとした。

【試験結果および考察】

試験の全過程を通して、信頼性に悪影響を及ぼすおそれのある予期し得なかった事態および試験計画書からの逸脱はなかった。

〔用量設定試験〕

結果を Table 1 に示した。P G 7 について、50～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で、公比を約 3 とし、試験を実施したところ、すべての検定菌の直接法あるいは代謝活性化法のいずれにおいても、抗菌性は認められなかった。また、被験物質に由来する寒天平板上の沈殿物は、直接法および代謝活性化法ともに、500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で認められた。

以上の結果から、本試験における最高用量を直接法、代謝活性化法ともに、すべての検定菌において、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とし、公比 2 で 5 用量を設定することとした。

〔本試験〕

結果を Tables 2、3 に示した。P G 7 について 312.5～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量範囲で試験を実施した。2 回の試験を通して、用いた 5 種類の検定菌の直接法、代謝活性化法のいずれにおいても、陰性対照の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。

なお、直接法および代謝活性化法ともに、すべての用量で被験物質に由来する沈殿物が寒天平板上に認められた。

P G 7 について実施した試験において、陽性対照群では、いずれの検定菌においても変異コロニー数の増加が認められ、陰性対照群とともに、計測された変異コロニー数はヒストリカルコントロール値の範囲内であったことから、本試験に用いた各検定菌の感受性および各陽性対照物質の変異原活性についての安定性が確認された。

以上の結果に基づき、P G 7 は、用いた試験系において変異原性を有しないもの（陰性）と判定した。

【参 考 文 献】

- (1) Maron, D.M. and Ames, B.N. : Mutation Research. 113: 173-215 (1983)
- (2) Green, M.H.L. : in "Handbook of Mutagenicity Test Procedures." Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (eds.) Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford. (1984) pp.161-187.

Table 1. Results of preliminary cytotoxicity test in bacterial reverse mutation assay with pigment green 7

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μg / plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean \pm S.D.)															
		Base - pair substitution type									Frameshift type						
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537			
S9Mix (-)	0	135	135	143	10	12	9	11	9	21	16	23	21	4	7	7	
		(138 \pm 4.6)			(10 \pm 1.5)			(14 \pm 6.4)			(20 \pm 3.6)			(6 \pm 1.7)			
	50	125			26			12			25			9			
	150	137			11			17			13			6			
	500 #	104			13			12			12			9			
	1500 #	146			13			15			14			5			
	5000 #	122			16			11			8			8			
S9Mix (+)	0	133	123	135	13	14	16	11	12	13	31	30	35	17	17	12	
		(130 \pm 6.4)			(14 \pm 1.5)			(12 \pm 1.0)			(32 \pm 2.6)			(15 \pm 2.9)			
	50	149			16			12			35			18			
	150	155			15			21			27			13			
	500 #	135			26			13			31			10			
	1500 #	150			10			22			25			10			
	5000 #	127			20			18			28			9			
Positive control S9 Mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA			
	Dose (μg / plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80			
Positive control S9 Mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA			
	Dose (μg / plate)	1			2			10			0.5			2			
Positive control S9 Mix (+)	Number of colonies / plate	563	548	568	228	222	207	143	141	158	611	656	629	2197	2105	2191	
		(560 \pm 10.4)			(219 \pm 10.8)			(147 \pm 9.3)			(632 \pm 22.6)			(2164 \pm 51.5)			
Positive control S9 Mix (+)	Number of colonies / plate	705	764	802	180	193	174	471	406	447	283	314	301	190	173	156	
		(757 \pm 48.9)			(182 \pm 9.7)			(441 \pm 32.9)			(299 \pm 15.6)			(173 \pm 17.0)			

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

#: Precipitant was observed on the surface of agar plates.

Table 2. Results of bacterial reverse mutation assay (I) with pigment green 7

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (µg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate , Mean ± S.D.)																				
		Base - pair substitution type									Frameshift type											
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537								
S9Mix (-)	0	122	99	110	9	19	11	21	19	26	33	44	39	11	9	8	(110± 11.5)	(13± 5.3)	(22± 3.6)	(39± 5.5)	(9± 1.5)	
	312.5 #	98	114	120	17	15	18	22	15	21	25	31	33	8	8	7	(111± 11.4)	(17± 1.5)	(19± 3.8)	(30± 4.2)	(8± 0.6)	
	625 #	101	118	110	18	11	19	15	19	19	31	29	36	13	7	5	(110± 8.5)	(16± 4.4)	(18± 2.3)	(32± 3.6)	(8± 4.2)	
	1250 #	108	86	92	12	14	13	22	14	26	19	27	22	5	5	10	(95± 11.4)	(13± 1.0)	(21± 6.1)	(23± 4.0)	(7± 2.9)	
	2500 #	116	120	103	16	9	7	18	25	25	24	27	22	11	12	6	(113± 8.9)	(11± 4.7)	(23± 4.0)	(24± 2.5)	(10± 3.2)	
	5000 #	122	90	98	9	17	14	17	12	23	35	28	22	9	6	5	(103± 16.7)	(13± 4.0)	(17± 5.5)	(28± 6.5)	(7± 2.1)	
S9Mix (+)	0	116	136	138	12	12	22	25	29	22	53	36	45	13	13	14	(130± 12.2)	(15± 5.8)	(25± 3.5)	(45± 8.5)	(13± 0.6)	
	312.5 #	132	133	116	13	15	20	26	21	15	58	49	38	13	19	18	(127± 9.5)	(16± 3.6)	(21± 5.5)	(48± 10.0)	(17± 3.2)	
	625 #	119	108	108	20	16	19	27	26	24	43	39	37	13	24	22	(112± 6.4)	(18± 2.1)	(26± 1.5)	(40± 3.1)	(20± 5.9)	
	1250 #	103	115	110	15	21	14	35	17	22	43	40	48	18	17	9	(109± 6.0)	(17± 3.8)	(25± 9.3)	(44± 4.0)	(15± 4.9)	
	2500 #	123	129	120	15	13	13	32	23	25	42	34	36	13	15	13	(124± 4.6)	(14± 1.2)	(27± 4.7)	(37± 4.2)	(14± 1.2)	
	5000 #	130	112	115	14	18	11	23	30	24	31	26	35	12	16	9	(119± 9.6)	(14± 3.5)	(26± 3.8)	(31± 4.5)	(12± 3.5)	
Positive control S9 Mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA								
	Dose (µg /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80								
Positive control S9 Mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA								
	Dose (µg /plate)	1			2			10			0.5			2								
	Number of colonies / plate	410	373	394	122	126	106	168	134	154	545	502	555	1818	1698	1982	(392± 18.6)	(118± 10.6)	(152± 17.1)	(534± 28.2)	(1833± 142.6)	
	Number of colonies / plate	439	599	620	211	181	192	860	829	726	235	277	222	171	175	155	(553± 99.0)	(195± 15.2)	(805± 70.1)	(245± 28.7)	(167± 10.6)	

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide , SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene
 #: Precipitant was observed on the surface of agar plates.

Table 3. Results of bacterial reverse mutation assay (II) with pigment green 7

With (+) or without (-) S9 Mix	Test substance dose (μg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate , Mean \pm S.D.)															
		Base - pair substitution type									Frameshift type						
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537			
S9Mix (-)	0	117	122	123	10	15	14	31	24	25	21	29	22	8	9	9	
		(121 \pm 3.2)			(13 \pm 2.6)			(27 \pm 3.8)			(24 \pm 4.4)			(9 \pm 0.6)			
	312.5 #	112	110	102	15	17	13	30	20	15	24	28	21	7	4	12	
		(108 \pm 5.3)			(15 \pm 2.0)			(22 \pm 7.6)			(24 \pm 3.5)			(8 \pm 4.0)			
	625 #	122	113	118	9	9	14	19	18	35	21	29	23	7	5	7	
		(118 \pm 4.5)			(11 \pm 2.9)			(24 \pm 9.5)			(24 \pm 4.2)			(6 \pm 1.2)			
	1250 #	106	101	104	19	16	9	19	22	25	21	30	18	5	7	4	
	(104 \pm 2.5)			(15 \pm 5.1)			(22 \pm 3.0)			(23 \pm 6.2)			(5 \pm 1.5)				
2500 #	96	106	101	9	12	23	11	29	21	18	25	19	4	4	6		
	(101 \pm 5.0)			(15 \pm 7.4)			(20 \pm 9.0)			(21 \pm 3.8)			(5 \pm 1.2)				
5000 #	127	90	102	24	14	12	18	25	19	25	25	24	5	5	5		
	(106 \pm 18.9)			(17 \pm 6.4)			(21 \pm 3.8)			(25 \pm 0.6)			(5 \pm 0.0)				
S9Mix (+)	0	124	111	135	17	9	18	23	22	24	37	48	40	7	12	12	
		(123 \pm 12.0)			(15 \pm 4.9)			(23 \pm 1.0)			(42 \pm 5.7)			(10 \pm 2.9)			
	312.5 #	119	135	141	18	13	11	26	25	21	40	38	40	10	14	7	
		(132 \pm 11.4)			(14 \pm 3.6)			(24 \pm 2.6)			(39 \pm 1.2)			(10 \pm 3.5)			
	625 #	134	122	124	14	26	10	34	26	28	26	37	32	15	12	9	
		(127 \pm 6.4)			(17 \pm 8.3)			(29 \pm 4.2)			(32 \pm 5.5)			(12 \pm 3.0)			
	1250 #	133	128	122	15	19	9	15	12	22	43	33	35	4	10	4	
	(128 \pm 5.5)			(14 \pm 5.0)			(16 \pm 5.1)			(37 \pm 5.3)			(6 \pm 3.5)				
2500 #	93	151	132	14	11	17	26	31	21	36	27	33	8	7	5		
	(125 \pm 29.6)			(14 \pm 3.0)			(26 \pm 5.0)			(32 \pm 4.6)			(7 \pm 1.5)				
5000 #	129	122	128	14	6	16	37	24	20	23	30	20	5	4	2		
	(126 \pm 3.8)			(12 \pm 5.3)			(27 \pm 8.9)			(24 \pm 5.1)			(4 \pm 1.5)				
Positive control S9 Mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA			
	Dose (μg /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80			
Positive control S9 Mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA			
	Dose (μg /plate)	1			2			10			0.5			2			
	Number of colonies / plate	441	413	419	127	147	161	122	128	144	495	500	501	2499	2225	2310	
		(424 \pm 14.7)			(145 \pm 17.1)			(131 \pm 11.4)			(499 \pm 3.2)			(2345 \pm 140.3)			
	Number of colonies / plate	724	674	713	217	226	229	864	856	888	286	253	282	241	240	260	
		(704 \pm 26.3)			(224 \pm 6.2)			(869 \pm 16.7)			(274 \pm 18.0)			(247 \pm 11.3)			

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide , SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

#: Precipitant was observed on the surface of agar plates.

Stability of the test article in the preparation

Date of preparation: Feb. 16, 1993

Date of determination

A : Feb. 16, 1993

B : Feb. 16, 1993

Condition for storage :
ambient temp., shading

Test article : pigment green 7

Carrier : DMSO

Indicated formulation (mg/ml)	A (0 hr)			B (4 hr)		
	Sample No.	Found-1 (mg/ml)	Content (%) ^{a)}	Sample No.	Found-2 (mg/ml)	Content (%) ^{b)}
3	1	2.975	99.2	4	3.071	103
"	2	2.993	99.8	5	2.959	98.8
"	3	3.021	101	6	2.948	98.4
	mean	2.996	100	mean		100
50	7	49.96	99.9	10	50.71	101
"	8	49.82	99.6	11	50.94	102
"	9	50.49	101	12	48.28	96.4
	mean	50.09	100	mean		99.8

a) : Found-1/Indicated Formulation \times 100b) : Found-2/mean Found-1 \times 100

Investigator

Director, Chemistry Dept.

Appendix 2.

Content of the test article in the preparation

Test article : pigment green 7

Date of preparation : Feb. 17, 1993

████████████████████

Date of determination : Feb. 17, 1993

Carrier : DMSO

Sample No.	Indicated Formulation (A) (mg/ml)	Found (B) (mg/ml)	B/A×100 (%)	Mean (%)
1	3.125	3.045	97.4	96.6
2	"	2.997	95.9	
3	"	3.011	96.4	
4	50	47.72	95.4	96.8
5	"	50.02	100	
6	"	47.53	95.1	

Investigator

██

Director, Chemistry Dept.

██