

食品添加物指定の要請資料
アドバンテーム

味の素株式会社

目 次

1. 資料概要	1
2. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況	10
2－（１）起源又は発見の経緯	10
2－（２）外国における使用状況	10
2－（３）国際機関における評価	10
3. 物理化学的性質及び成分規格	10
3－（１）名称	10
3－（２）構造式	11
3－（３）分子式または分子量	11
3－（４）製造方法	11
3－（５）原末の安定性	14
3－（６）食品中の食品添加物の分析法	15
3－（７）成分規格案	16
3－（８）成分規格案の設定根拠	23
4. 有効性	25
4－（１）食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較	25
4－（２）食品中での安定性	28
4－（３）アドバンテームの分解物	30
4－（４）食品中の栄養成分に及ぼす影響	32
5. 安全性	33
5－（１）体内動態試験	33
5－（２）毒性	43
5－（２）－１ 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験	43
5－（２）－２ 発がん性試験	48
5－（２）－３ １年間反復投与毒性/発がん性併合試験	53
5－（２）－４ 生殖毒性試験	60
5－（２）－５ 出生前発生毒性試験	64
5－（２）－６ 遺伝毒性試験	68
5－（２）－７ アレルゲン性試験	70
5－（２）－８ 一般薬理試験	71
5－（２）－９ その他の試験	71
5－（２）－９－（１） 急性経口毒性試験	71

5 - (2) - 9 - (2)	分解物の遺伝毒性試験	71
5 - (3)	ヒトにおける知見	73
5 - (4)	一日摂取量に関する推計	74
5 - (4) - 1	国民健康・栄養調査の食品群別摂取量に基づくアドバンテーム摂取量の推定	74
5 - (4) - 2	砂糖・異性化糖・加糖調製品の年間需要量に基づくアドバンテーム摂取量の推定	80
5 - (4) - 3	分解物の推定摂取量（フェニルアラニン・メタノール以外）	81
5 - (4) - 4	フェニルアラニンの推定摂取量	82
5 - (4) - 5	メタノールの推定摂取量	83
6.	使用基準案	84
6 - (1)	食品への使用量について	84
6 - (2)	摂取量に関して	85
6 - (3)	使用基準案について	86
7.	その他	87
7 - (1)	L-フェニルアラニン化合物である旨の注意喚起について	87
8.	引用文献	89
9.	別紙1（体内動態試験一覧）	100
	別紙2（毒性試験一覧）	101

1. 資料概要

1－（１）名称及び用途

名称： アドバンテーム(Advantame)

用途： 甘味料

アドバンテームは、清涼飲料、粉末飲料、乳製品、菓子類、卓上甘味料等、さまざまな食品に、甘味料として使用される。

1－（２）起源または発見の経緯

味の素株式会社の研究所において、既存甘味料アスパルテームの構造活性（甘味）相関研究の結果、天然甘味物質のフィロズルチン等と共通構造を持つアドバンテームが、アスパルテームの100倍以上の甘味度を有することが見出され、^{1), 2), 3)} 安定性の点でも優れていることが判明した。その甘味度は、使用する食品の種類や配合組成によって異なるが、砂糖の約 11000～45000倍である。⁴⁾

1－（３）外国における使用状況

2010年6月、米国食品香料製造者協会により、フレーバーエンハンサー用途で FEMA-GRAS 物質として認められた⁵⁾。2012年2月現在、米国において加工食品メーカーに対する販売実績がある。新規食品添加物としては、2009年4月に米国医薬品食品局（FDA）に乾燥品用途で申請、現在当局において評価中である。また2009年8月、オーストラリア・ニュージーランド食品基準局（FSANZ）に新規食品添加物として乾燥品用途で申請、2011年7月に認可報告が出され⁹⁷⁾、同9月8日付けの官報に新規甘味料として収載された⁹⁸⁾。欧州に関しては、2010年5月に欧州委員会に新規食品添加物として一般用途で申請、現在欧州食品安全機関（EFSA）において評価中である。

1－（４）国際機関における評価

新規甘味料として各国で申請、評価中であり、JECFA 等の国際機関における評価実績はない。

1－（５）物理化学的性質及び成分規格

1－（５）－１ 名称

化学名

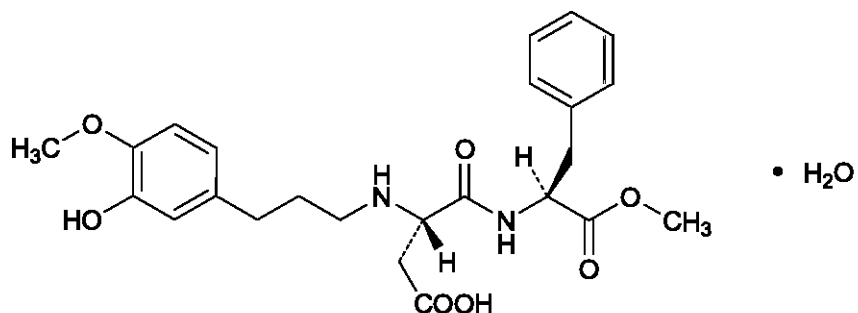
IUPAC名： Methyl *N*-[3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl-L-phenylalaninate monohydrate

CA Index名： L-Phenylalanine,
N-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl-, 2-methyl ester, hydrate (1:1)

和名：N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L-α-アスパルチル]-L-フェニル
アラニン 1-メチルエステル・1水和物

CAS No. : 714229-20-6

1－（５）－２ 構造式



1－（５）－３ 分子式及び分子量

分子式： C₂₄H₃₀N₂O₇・H₂O

分子量： 476.52 g/mol (1 水和物)

1－（５）－４ 製造方法

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]



1－（５）－５ 原末の安定性

室温での長期保存試験(25℃/相対湿度 60%、60 ヶ月)を行ったところ、アドバンテームの明らかな分解は認められず、安定であった⁷⁾。また、加速条件下での保存試験(40℃/相対湿度 75%、6 ヶ月、暗所)においては、不純物として微量含まれるアドバンテーム関連化合物の総量がわずかに増加したが、アドバンテーム含量の明らかな変化は認められず、ほぼ安定であった⁸⁾⁹⁾。

1－（５）－６ 食品中のアドバンテーム分析法

6－（３）に示す理由により、アドバンテームは GMP に基づき適正に私用される限り、使用基準を設定する必要はないと考えられることから、食品中での分析法は不要と判断した。

1－(5)－7 成分規格案

含 量 本品を無水物換算したものは、アドバンテーム 97.0～102.0%を含む。

性 状 本品は、白色～帯黄白色の粉末である。

確認試験 ¹⁰⁾ 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波長のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 (1) 比旋光度 $[\alpha]_D^{20}$: $-39^\circ \sim -46^\circ$ (0.2 g, エタノール (99.5, 100 ml, 無水物換算)

(2) 鉛 Pb として $1 \mu\text{g/g}$ 以下 ¹⁵⁾

(3) *N* [*N* [3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン(ANS9801-acid) 1.0%以下 ^{11) 12)}

(4) 他の類縁物質 1.5%以下 ^{11) 12)}

水 分 5.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

強熱残分 0.2%以下 (1g, 550℃, 3 時間)

定 量 法 ^{13) 14)} 本品約 0.04 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、安息香酸の水/アセトニトリル混液 (7:3) 溶液 (1→1250) 5 ml を正確に加え、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 50 ml とし、検液とする。別に定量用アドバンテーム約 0.04 g も同様に処理し標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μl ずつ量り、液体クロマトグラフィーを行う。安息香酸のピーク面積に対するアドバンテームのピーク面積の比から含量を求める。

1－(6) 有効性

1－(6)－1 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

アドバンテームは甘味料及びフレーバーエンハンサーとして、さまざまな食品に使用可能であり ⁵⁾、甘味倍率は、ショ糖の 14000～48000 倍、類似構造を有する既存甘味料アスパルテームの 90～120 倍である ²⁴⁾。従って、アスパルテームの 100 分の一程度の使用量で、同等の甘味度を得ることができることから、既存甘味料との併用により、個々の甘味料の使用量を減らすことが可能である。また環境影響に関しては、廃棄物、廃液、輸送といった観点で環境影響を軽減できると同時に、コストメリットも期待できる。

アドバンテームは安定性も高く、乾燥粉末は室温で 60 ヶ月間安定 ⁷⁾、加速条件下(温度 40℃、湿度 75%)でも 6 ヶ月間安定であった ⁸⁾。またケーキ焼成工程における熱安定性、及びヨーグルト発酵過程における安定性に関しては、従来の甘味料であるアスパルテームより改善されている。

アドバンテームの味質特性に関してはアスパルテームと類似しており ²⁵⁾、既存甘味料であるサッカリンナトリウム、ステビア抽出物、カンゾウ抽出物、アセスルファムカリウム等が特有の苦味、渋みを有するのに対し、アドバンテームは苦味等の異味が少ない良質な甘味を有する。また、アスパルテームと同様、苦味や酸味の刺激を和らげるマスキング効果や、低濃度でフレーバーを増強させる効果を有する。

また近年、メタボリックシンドローム・糖尿病といった生活習慣病が増加しているが、糖類を高甘味度甘味料で代替することによる摂取カロリー低減によりこれらを予防するという観点でも意義があると考えられる。特に糖尿病発症後は、糖類摂取制限が必須となることから、糖尿病患者の QOL 向上という観点でも高甘味度甘味料による甘味付与には大きな意義があると考えられる。

1－(6)－2 食品中での安定性

アドバンテームは酸性溶液中で徐々に分解し、主要分解経路は *N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン(ANS9801-acid)への加水分解である⁴⁶⁾⁴⁷⁾。酸性飲料を想定した酸性溶液中(pH2.8, 3.2, 3.8, 4.5)での 26 週間保存安定性試験(5,20,30,35℃)において、分解物の生成状況を確認したところ、pH3.2, 20℃、8 週間の保存条件下(炭酸飲料中での甘味料の安定性を調べる際に米国 FDA が定めた代表的条件)において、*N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン(ANS9801-acid)が主たる分解物として見出され、アドバンテーム含有量の初期値に対する割合が 1 %以上を占める唯一の分解物であった。その他の微量分解物としては、*N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- β -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンメチルエステル(β -ANS9801)、 β -ANS9801-acid、*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*-アスパルチミド-*L*-フェニルアラニンメチルエステル(ANS9801-imide)、*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル))-プロピル-*L*-アスパラギン酸(HF-1)、*L*-フェニルアラニンメチルエステルが検出された⁴⁷⁾。

アドバンテームを添加したコーラタイプの炭酸飲料を 26 週間保存したところ(pH3.2、25℃ $\pm$ 2℃、相対湿度 60% $\pm$ 5%)、アドバンテーム残存率は 47.8%であり、保存期間中に生じた分解物は、ANS9801-acid、 β -ANS9801、 β -ANS9801-acid であった²⁹⁾。一方、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、全保存期間を通じて甘味が維持された³⁰⁾。

卓上甘味料の 36 ヶ月保存試験(25℃ $\pm$ 2℃、相対湿度 60% $\pm$ 5%)においては、12 ヶ月後及び 36 ヶ月後のアドバンテーム残存率は、97.3%及び 84.6%であり、主要分解物は ANS9801-acid であった²⁷⁾。一方、保存期間中の甘味に関しては、卓上甘味料用途として一般的であるアイスコーヒーに卓上甘味料 3.1ppm を添加した飲料で、全保存期間を通じて甘味が維持された²⁸⁾。

1－（7）安全性

1－（7）－1 体内動態試験

人工胃液および腸液を用いた試験の結果より⁴⁸⁾、アドバンテームは消化管内で急速にANS9801-acidに変換すると考えられることから、主にANS9801-acidの状態では吸収されていると考えられる。ラット^{49) 50) 54) 55)}、イヌ^{51) 56)}およびヒト^{52) 53)}において、アドバンテームは投与後速やかに主要代謝物であるANS9801-acid（脱エステル体）に変換され、ラットおよびイヌにおける経口投与時の吸収率は、ラットで4～8%、イヌで10～20%であった。経口投与後の血漿中ANS9801-acid濃度は、ラットで投与0.25～1.0時間後、イヌで0.5～1.0時間後、ヒトで1.75時間後に最大となった。ラット、イヌおよびヒトにおけるANS9801-acidの半減期はそれぞれ1.9～3.6時間、4.2～7.1時間および5.7時間であった。

ANS9801-acidはさらにN-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル))-プロピル-L-アスパラギン酸（以下HF-1と表記）に加水分解され、HF-1はさらに3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)-1-プロピルアミン（以下HU-1と表記）に加水分解されることが考えられた。ANS9801-acidはすべての動物種の血漿、尿および糞中において検出された主要な代謝物であり、ANS9801-acidより少量であるがHF-1およびHU-1の存在も確認された。

またアドバンテーム及びANS9801-acidは、反復投与により蓄積が生じないことが確認された。

いずれの動物種においても、アドバンテームは経口摂取後、主に糞中にANS9801-acidとして排泄され、尿中への排泄は主要経路でないことが示された。排泄率に関しては、ラット及びイヌにおいて、投与量の90%以上が48時間以内に排泄され、ヒトにおいては投与後120時間までに全量が排泄された。

主な体内動態試験を別紙1に示した。

1－（7）－2 毒性

1) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

ラットを用いた13週間投与試験⁵⁸⁾、イヌを用いた13週間⁵⁹⁾及び52週間投与試験⁶⁰⁾を実施した。（混餌投与、最高添加濃度50,000ppm）

ラット13週間試験においてはアドバンテームを15,000ppmあるいは50,000ppmの濃度で飼料に添加した群においてヘマトクリット、ヘモグロビン濃度あるいは赤血球数の低値等が観察されたが、変化の程度が軽微、かつ背景データの範囲内の変化であることから、無毒性量は50,000ppm（雄で4,227mg/kg体重/日、雌で5,109mg/kg体重/日）と判断された。

イヌ13週間試験においては、雄の50,000ppm添加群において体重増加の低値が認められた。雌の15,000または50,000ppm添加群においてヘマトクリット、ヘモグロビン濃度、赤血球数の低値等が認められ、雄の50,000ppm添加群において中程度の胸腺萎縮の発生頻度増加が認められたが、いずれも実施施設の背景データの範囲内と判断されたことから、毒性を示唆するものではないと考えられた。50,000ppm添加群における体重増加の低値より、試験報告書において無毒性量は15,000ppmと判断されたが、他の毒性所見が認められなかったことから、当該変化は栄養成分を比較的高濃度で添加したことに起因すると考えられ、無毒性量は50,000ppm（雄で2,230mg/kg体重/日、雌で2,416mg/kg体重/日）と判断した。

イヌの 52 週間試験においては 13 週試験と同様の所見は観察されず、イヌの反復投与試験における無毒性量は 50,000ppm (52 週試験の雄で 2,058mg/kg 体重/日、雌で 2,139mg/kg 体重/日) と判断された。

2) 発がん性試験⁶¹⁾⁶²⁾

マウスを用いた 104 週間の発がん性試験(混餌投与、最高投与量 5,000ppm)において、投与に起因して誘発されたと考えられる腫瘍の発現および発生頻度の増加は観察されず、発がん性は認められなかった。

3) 1 年間反復投与／発がん性併合試験^{63) 64)}

胎生期から *in utero* でアドバンテームに暴露させたラットを用い、1 年間反復投与／発がん性併合試験(混餌投与、最高濃度 50000ppm)を実施した。発がん性試験は 104 週間、1 年間反復投与試験では 52 週の投与終了後 6 週間の回復期間を設けた。

1 年間反復投与試験では、雌雄の 50,000ppm 添加群において肛門の蒼白化および腫脹が観察されたが、投与終了時までには解消されたことから毒性所見ではないと判断された。雌雄の 50,000ppm 添加群において体重増加の低値、血中尿素値の低値が観察されたが、前者は変化の程度が軽微であったこと、後者は関連する病理組織学検査上の変化が認められなかったこと等から毒性所見ではないと判断された。以上の結果より、ラット 1 年間反復投与試験における無毒性量は 50,000ppm (雄で 3,199mg/kg 体重/日、雌で 4,009mg/kg 体重/日) と判断された。

発がん性試験では 1 年間反復投与試験と同様の所見が観察されたが、投与に起因すると考えられる腫瘍の発現・発生頻度の増加は観察されず、発がん性は認められなかった。

4) 生殖毒性試験⁶⁵⁾

ラットを用いた二世世代繁殖試験(混餌投与、最高濃度 50000ppm)において、親動物 (F0 および F1) の繁殖能力および児世代 (F1 および F2) の発育に影響は認められず、無毒性量は 50,000ppm (F0 の雄で 4,410mg/kg 体重/日、雌で 5,439mg/kg 体重/日、F1 の雄で 4,776mg/kg 体重/日、雌で 5,920mg/kg 体重/日) と判断された。

5) 出生前発生毒性試験

ラットを用いた催奇形性試験では、アドバンテームの混餌投与(最高濃度 50000ppm)を実施し⁶⁶⁾、ウサギでは、強制経口投与(最高投与量 2,000mg/kg 体重/日)を実施した⁶⁷⁾。

ラットでは全投与群で胎児に影響が認められなかったことから、胎児の発育に関する無毒性量は 50,000ppm(4,828mg/kg 体重/日)と判断された。母動物では 50,000ppm 添加群において体重増加の低値が認められたことから、試験報告書においては母動物に対する無毒性量は 15,000ppm(1,418mg/kg 体重/日)と判断されたが、投与初期の摂餌量の低値およびアドバンテームが非栄養成分であることに起因する変化と考えられたため、母動物に対する無毒性量も 50,000ppm (4,828mg/kg 体重/日) とするのが妥当と考えられた。

ウサギでは 1,000mg/kg 体重/日投与群の 1 例および 2,000mg/kg 体重/日投与群の 5 例が、消化管障害に起因する一般状態の悪化により安楽殺処分された。さらに 2,000mg/kg 体重/日投与群の

1 例で、一般状態の悪化に起因すると考えられる流産が認められた。これらの動物に観察された消化管障害は、投与物質の浸透圧活性に起因する非特異的变化であり、投与物質の物理化学的性質に起因するウサギ特有の変化と考えられた。

胎児の検査においては、2,000mg/kg 体重/日投与群において後期吸収胚数の軽微な増加が認められた。以上の結果より、ウサギ催奇形性試験において催奇形性は認められず、母動物の無毒性量は 500mg/kg 体重/日、胎児の発育に関する無毒性量は 1,000mg/kg 体重/日と判断された。

6) 遺伝毒性試験

サルモネラ菌、大腸菌を用いた復帰突然変異試験⁶⁹⁾、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験⁷⁰⁾、およびマウスにおける小核試験を実施した⁷¹⁾。その結果、いずれの試験も陰性を示した。

7) アレルゲン性試験⁷²⁾

マウスを用いた局所リンパ節試験(DMSO に溶解して耳介に塗布、最高濃度 50% w/v)において、50% w/v 処置群で弱い陽性反応が認められた。経口投与による動物の慢性毒性試験、及びヒトの反復投与試験では、アレルギーを示唆する所見は観察されなかった。

8) 一般薬理試験

中枢神経系⁷³⁾ 74)、呼吸・循環器系⁷⁵⁾、および消化器系⁷⁶⁾に及ぼす影響を確認するための試験を行った結果、いずれの試験においてもアドバンテームの影響は認められなかった。

9) その他の試験

急性毒性試験⁷⁷⁾

ラットを用いて、アドバンテームを 5,000mg/kg 体重の投与量で強制経口投与した。試験期間中、動物の死亡、重篤な一般状態の変化は観察されず、アドバンテームの致死量は 5,000mg/kg 体重を超えるものと判断された。

分解物の毒性試験^{78)・86)}

アドバンテームの分解物である ANS9801-acid、N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L-β-アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステル (β-ANS9801)、N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L-β-アスパルチル]-L-フェニルアラニン (β-ANS9801-acid)、HF-1 および N-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-L-アスパルチミド-L-フェニルアラニンメチルエステル(ANS9801-imide)の安全性を検討した。これらのうち、ANS9801-acid は主代謝物であることから、アドバンテームの安全性試験において同時に評価されていると判断した。その他 4 物質 (β-ANS9801、β-ANS9801-acid、HF-1 および ANS9801-imide) について、サルモネラ菌・大腸菌を用いた復帰突然変異試験、及びマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験を実施した結果、β-ANS9801、β-ANS9801-acid、HF-1 ではいずれも陰性であった。ANS9801-imide では復帰突然変異試験は陰性であったものの、遺伝子突然変異誘発試験で陽性の反応が認められたことから、マウスを用いた小核試験を実施し

た結果、陰性であった。

1－(7)－3 ヒトにおける知見

健康な成人男性による単回投与試験(8名/群、最高投与量 0.5mg/kg 体重/日)において、投与に関連した有害事象の発現は認められなかった⁵²⁾。健康な成人による 4 週間反復投与試験(男性 6 名、女性 6 名の各群 12 名、最高投与量 0.5mg/kg 体重/日)においては、2 例に有害事象(軽度の掻痒)が認められたが、そのうち投与との関連が否定できないと判断された事例は 1 例のみであった。バイタルサイン・臨床検査値の変動は認められず、血糖値・血中インスリン値への影響も認められなかった⁸⁷⁾。

インスリン非依存性糖尿病(NIDDM)患者(男性 18 名、女性 18 名の各群 36 名、最高投与量 0.5mg/kg 体重/日)による 12 週間反復投与試験(1 日 3 回投与)においては、14 名の患者において合計 19 の有害事象が観察され、このうち 1 名の患者に認められた 3 つの有害事象は、投与との関連の可能性が考えられたが、投与終了時点までには回復した。バイタルサイン、臨床検査値、血糖値および血中インスリン値への影響は認められなかった⁸⁸⁾。

1－(8) 使用基準案

1－(8)－1 アドバンテームの一日摂取量

アドバンテームは、濃度及び含まれる食品素材により甘味強度が変化する。水溶液中で砂糖等価濃度 3～14%を示す各アドバンテーム濃度の、ショ糖に対する甘味倍率は約 7000～48000 倍であり、低濃度ほど甘味倍率が高まる²⁴⁾。代表的な食品におけるアドバンテームの最適使用量^{89)・95)}は、アイスコーヒーで 3.1ppm、炭酸飲料で 4.0ppm、イエローケーキで 18.0ppm、ヨーグルトで 6.0ppm、チューンガムで 400ppm であり、国民栄養調査(平成 20 年度)の食品群別摂取量を元にした糖類推定摂取量をすべてアドバンテームに置き換えたと仮定した場合、アドバンテームの一日推定摂取量は 2.42mg/日(平均体重を 50kg として 0.0484mg/kg 体重/日)と推定された。高甘味度甘味料を好まない人もおり、また高甘味度甘味料はその味質特性から複数種類を併用することが一般的な使用法であることから、食品中の糖類すべてをアドバンテームに置き換えることは過剰な見積もりであり、本推定値はアドバンテームの一日最大摂取量に相当すると考えられる。

1－(8)－2 使用基準案について

アドバンテーム投与期間が最長であったラット 2 年間経口反復投与試験(一年反復/発がん試験併合試験)における NOAEL は約 2,600mg/kg であることから⁶⁴⁾、安全係数を 100 とすれば ADI は 26mg/kg と算出される。国民栄養調査の食品群別摂取量から推定した糖類摂取量をすべてアドバンテームで代替した場合のアドバンテームの一日推定摂取量 0.0484 (mg/kg/day)と ADI(26mg/kg)を比較すると、500 倍以上の開きがあることから、大きな安全域を確保できると考えられる。また、アドバンテームはその甘味特性や安定性により使用対象や使用量が制限されと同時に、甘味度がショ糖の 7000～48000 倍と非常に高いことから、過剰摂取の可能性は低いと考えられる。

よって GMP に基づき適正に使用される限り、使用基準を設定する必要はないと考える。

2. 起源または発見の経緯及び外国における使用状況

2- (1) 起源又は発見の経緯

アドバンテームは、味の素株式会社の研究所において、優れた高甘味度甘味料の開発を目的とした、既存甘味料アスパルテームの構造活性（甘味）相関研究の結果、発明された。アスパルテームに N-アルキル基を導入すると甘味度が増強されるという現象をもとにして、種々の N-アルキル基を持つアスパルテーム誘導体を合成し、その甘味度を調べた。その結果、天然甘味物質のフィロズルチンなどと共通性のある構造“3-ヒドロキシ-4-メトキシ-フェニルプロピル基”を、N-アルキル基として持つアドバンテームが、アスパルテームの 100 倍以上の甘味度を有することを見出し、^{1), 2), 3)} かつアドバンテームは安定性の点でも優れていることが判明した。

アドバンテームは既存甘味料アスパルテームと、バニリンから誘導される 3-ヒドロキシ-4-メトキシ-フェニルプロピオンアルデヒドとの還元アルキル化反応により合成されるジペプチドメチルエステル誘導体である。その甘味度は、使用する食品の種類や配合組成によって異なるが、砂糖の約 14000～48000 倍である。⁴⁾

2- (2) 外国における使用状況

2010 年 6 月にフレーバーエンハンサー用途で米国食品香料製造者協会 (FEMA) の専門家パネルによる評価を受け、FEMA-GRAS 物質として認められ、FEMA No.4716 を取得。⁵⁾ 2012 年 2 月現在、米国において加工食品メーカーに対する販売実績がある。新規添加物としては、米国において 2009 年 4 月に米国医薬品食品局 (FDA) に乾燥品用途で申請書を提出、現在当局において評価中である。オーストラリア・ニュージーランドに関しては、2009 年 8 月、オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) に新規食品添加物として乾燥品用途で申請書を提出、2011 年 7 月に認可報告が出され⁹⁷⁾、同 9 月 8 日付けの官報に新規甘味料として収載された⁹⁸⁾。FSANZ による評価では、ウサギ催奇形性試験における無毒性量から NOAEL は 500mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として ADI は 5mg/kg 体重/日と決定された。欧州に関しては、2010 年 5 月に欧州委員会に対し、新規食品添加物として一般用途で申請を実施、現在欧州食品安全機関 (EFSA) において評価中である。

2- (3) 国際機関における評価

新規甘味料として各国で申請、評価中であり、JECFA 等の国際機関における評価実績はない。

3. 物理化学的性質及び成分規格

3- (1) 名称

化学名

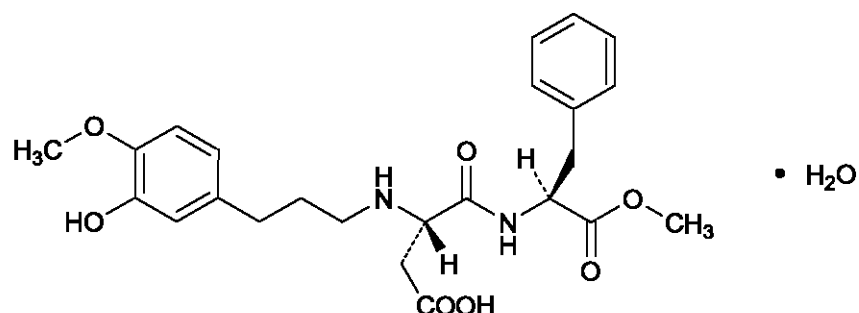
IUPAC名: Methyl *N*-[3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl-L-phenylalaninate monohydrate

CA Index名: L-Phenylalanine,
N-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl-, 2-methyl ester, hydrate (1:1)

和名：N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L-α-アスパルチル]-L-フェニル
アラニン 1-メチルエステル・1水和物

CAS No. : 714229-20-6

3－（２） 構造式



3－（３） 分子式及び分子量

分子式： C₂₄H₃₀N₂O₇・H₂O

分子量： 476.52 g/mol （1 水和物）

3－（４） 製造方法

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[Redacted text]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]



3－（5）原末の安定性

各保存条件下での各種食品中アドバンテーム含量を、HPLCにより測定した。甘味の評価に関しては、保存期間中の甘味に関して5段階評価を行い(1：甘さが弱すぎる、2：甘さがやや弱い、3：甘さがちょうど良い、4：甘さがやや強い、5：甘さが強すぎる)、下位2段階(1及び2)と評価した評価員の割合が全評価員の75%未満の場合に、十分な甘味が保たれたと判断した。

なお、食品中での安定性に関しては、4－（2）に記載した。

3－（5）－1 室温での安定性

通常条件(25℃/相対湿度 60%)において、60ヶ月間の長期保存試験を行ったところ、初期含量が99.6～100.6%、36ヶ月後が98.5～99.7%、60ヵ月後が98.7～99.4%であった。不純物として微量含まれる関連化合物の総量は、初期含量が0.44～0.51%、60ヵ月後が0.55～0.61%であった。以上の結果から、60ヶ月の保存期間中、アドバンテームの明らかな分解は認められず、安定

であった。⁷⁾

3－（5）－2 加速条件下での安定性

加速条件下(40℃/相対湿度 75%、暗所)での 6 ヶ月間保存試験において、初期含量が 99.6～100.6%、6 ヶ月後が 99.6～100.3%で、変化は認められなかった。不純物として微量含まれるアドバンテーム関連化合物の総量は、初期含量が 0.44～0.51%、60 ヶ月後が 0.60～0.67%で、わずかに増加した。^{8) 9)}

3－（6）食品中の食品添加物の分析法

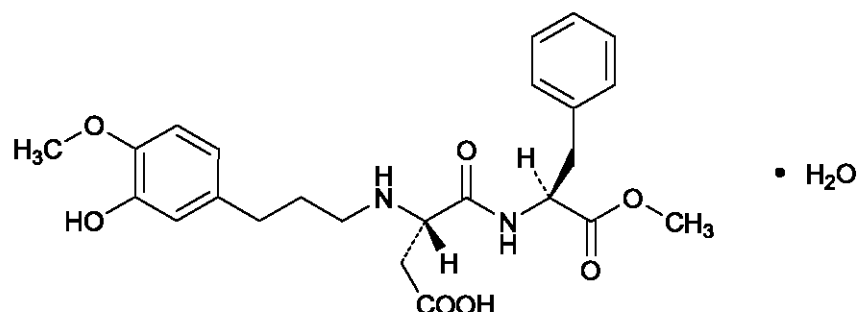
6－（3）に示す理由により、アドバンテームは GMP に基づき適正に私用される限り、使用基準を設定する必要はないと考えられることから、食品中での分析法は不要と判断した。

3－（７）成分規格案

アドバンテーム

Advantame

N-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*-α-アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン 1-メチルエステル



C₂₄H₃₀N₂O₇•H₂O

分子量 476.52

Methyl *N*-[3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)prppyl]-*L*-α-aspartyl-
L-phenylalaninate monohydrate [714229-20-6]

含 量 本品を無水物換算したものは、アドバンテーム（C₂₄H₃₀N₂O₇）97.0～102.0%を含む。

性 状 本品は、白～帯黄白色の粉末である。

確認試験 ¹⁰⁾ 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 （1）比施光度 $[\alpha]_D^{20}$ ：－39～－46°（0.2 g，エタノール（99.5，100 ml，無水物換算）

（2）鉛 Pb として 1μg/g 以下 ¹⁵⁾

本品約 1.0 g を精密に量り，ギ酸 1 ml に溶かし，硝酸（1→20）10 ml を加えて反応が収まるまで水浴上で加熱した後，過酸化水素（1→2）0.5 ml を加えて添加して溶液の色が淡褐色になるまで水浴上で加熱する。この液に過酸化水素（1→2）0.5 ml を加えて水浴上で加熱し，液の色が無色の状態を 5～10 分間持続するまでこの操作を繰り返した後，蒸発乾固する。冷後，残留物に硝酸（1→100）10 ml を加えて溶かす。この液 4 ml を正確に量り，硝酸（1→100）を加えて正確に 40 ml とし，検液とする。検液をとり，原子吸光光度法（電気加熱方式）の検量線法により次の条件で試験を行う。ただし，標準液は鉛標準液適量を正確に量り，硝酸（1→100）を加えて調製する。

操作条件

光源ランプ 鉛中空陰極ランプ

分析線波長 283.3 nm

乾燥温度 170℃

灰化温度 500℃

原子化温度 2100℃

(3) *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン (ANS9801-acid) 1.0%以下^{11) 12)}

本品約 0.1g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、検液とする。別に *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン約 0.1 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100 ml とする。この液 2 ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 20 ml とする。この液 2 ml を正確に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 20 ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し、次式により *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの含量を求める。ただし、面積測定範囲は *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの保持時間の 3 倍までとする。

N[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの含量

$$= \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times \frac{1}{100} \quad (\%)$$

W: *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの採取量

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 210 nm)

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm, 長さ 25 cm のステンレス管

カラム温度 50℃付近の一定温度

移動相 A リン酸二水素カリウム 13.61 g を水 1000 ml に溶かし、リン酸で pH を 2.8 に調整する。この液 900 ml にアセトニトリル 100 ml を加える。

移動相 B リン酸二水素カリウム 13.61 g を水 1000 ml に溶かし、リン酸で pH を 2.8 に調整する。この液 400 ml にアセトニトリル 600 ml を加える。

濃度勾配 移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて、濃度勾配制御する。

注入後からの 時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)
0 ~ 30	85	15
30 ~ 55	85 → 75	15 → 25
55 ~ 75	75 → 0	25 → 100
75 ~ 80	0	100

流量 毎分 1.0 ml

(4) 他の類縁物質 1.5%以下 ^{11) 12)}

純度試験 (3) の検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液の主ピーク及び *N*[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン以外のピークの合計面積並びに標準液の *N*[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンのピーク面積 A_{SUM} 及び A_S を測定し、次式により他の類縁物質の含量を求める。

ただし、面積測定範囲は *N*[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの保持時間の 3 倍までとする。

他の類縁物質の含量

$$= \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_{SUM}}{A_S} \times \frac{1}{100} \quad (\%)$$

W: *N*[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの採取量

操作条件 純度試験 (3) の操作条件を準用する。

水 分 5.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

強熱残分 0.2%以下 (1g, 550℃, 3 時間)

定 量 法 ^{13) 14)} 本品約 0.04 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、安息香酸の水/アセトニトリル混液 (7:3) 溶液 (1→1250) 5 ml を正確に加え、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 50 ml とし、検液とする。別に定量用アドバンテーム約 0.04 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 50 ml とする。この液 10 ml を正確に量り、安息香酸の水/アセトニトリル混液 (7:3) 溶液 (1→1250) 5 ml を正確に加え、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて正確に 50 ml とし、標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μ l ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。安息香酸のピーク面積に対するアドバンテームのピーク面積の比、 Q_T 及び Q_S を求め、次式により含量を求める。

アドバンテーム ($C_{24}H_{30}N_2O_7$) の含量

$$= \frac{\text{無水物換算したアドバンテーム標準品の採取量 (g)}}{\text{無水物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \frac{1}{100} \quad (\%)$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計 (測定波長 280 nm)

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6 mm, 長さ 25 cm のステンレス管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 A リン酸二水素カリウム 13.61 g を水 1000 ml に溶かし、リン酸で pH を 2.8 に調整する。この液 750 ml にアセトニトリル 250 ml を加える。

移動相 B リン酸二水素カリウム 13.61 g を水 1000 ml に溶かし、リン酸で pH を 2.8 に調整する。この液 500 ml にアセトニトリル 500 ml を加える。

濃度勾配 移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて、濃度勾配制御する。

注入後からの 時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)
0 ~ 20	100	0
20 ~ 50	100 → 0	0 → 100
50 ~ 55	0	100

流量 毎分 1.0 ml

試薬・試液

N-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*-α-アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン
C28H28N2O7 白色～黄色の粉末である。

含量 本品は定量するとき、*N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*-α-アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン 94%以上を含む。

純度試験 (1) 塩化物 Cl として 1.0%以下

本品約 0.01 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、検液とする。別に塩化ナトリウム約 0.016 g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100 ml とする。この 2 ml を正確に量り、水を加えて正確に 20 ml とし、標準液とする。検液並びに標準液 30 μl につき、次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。検液及び標準液の塩化物のピーク面積 A_T 及び A_S を求め、次式により含量を求める。

$$\text{塩化物の含量} = \frac{\text{塩化ナトリウムの採取量 (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 3.033 (\%)$$

操作条件

検出器 電気伝導度検出器

カラム充てん剤 6 μm の液体クロマトグラフィー用 4 級アンモニウム化親水性ポリマーゲル

カラム管 内径 4.6 mm、長さ 15 cm のポリエーテルケトン管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 炭酸水素ナトリウム 201.62 mg 及び無水炭酸ナトリウム 264.98 mg を水 1000 ml に溶かす。

流量 塩化物の保持時間が約 7 分になるように調整する。

(2) ナトリウム Na として 5.0%以下

本品約 0.01g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3)を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、検液とする。別に塩化ナトリウム約 0.006 g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、標準液 (1)とする。この 2 ml を正確に量り、水を加えて正確に 20 ml とし、標準液 (2)とする。検液並びに標準液 (1)及び (2)30 μ l につき、次の操作条件でイオンクロマトグラフィーを行う。標準液 (1)及び (2)のナトリウムのピーク面積を測定し、検量線を作成する。次に検液のナトリウムのピーク面積を測定し、検量線から検液のナトリウムの量 (g/ml) を求め、次式によりナトリウムの含量を求める。

$$\text{ナトリウムの含量} = \frac{\text{検液の塩化物の量 (g/ml)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times 10000 \quad (\%)$$

操作条件

検出器 電気伝導度検出器

カラム充てん剤 5 μ m の液体クロマトグラフィー用 4 級カルボキシル化スチレン系ゲル

カラム管 内径 4.6 mm、長さ 15 cm のポリエーテルケトン管

カラム温度 40℃付近の一定温度

移動相 ヒスチジン 77.58 mg を精密に量り、2mol/l メタンサルホン酸溶液 1.25 ml を正確に加え、水 1000 ml に溶かす。

流量 ナトリウムの保持時間が約 3.4 分になるように調整する。

(3) 類縁物質

類縁物質 本品 0.01 g をとり、水/アセトニトリル混液 (7:3)を加えて溶かし、正確に 50 ml とし、検液とする。検液 20 μ l を量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い、ピーク面積を測定するとき、検液の全ピークのピーク面積に対する主ピーク以外のピークの合計面積の割合は 1.0%以下である。ただし、面積測定範囲は *N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの保持時間の 6 倍までとする。

操作条件 「アドバンテーム」の定量法の操作条件を準用する。

水分 1.0%以下 (0.1 g, 直接滴定)

定量法 次式により求める。

N-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの含量

$$= (100 - \text{ナトリウム含量} - \text{塩化物含量} - \text{水分含量}) \times \frac{100 - \text{総類縁物質含量}}{100} \quad (\%)$$

定量用アドバンテーム $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 本品は白色～黄色の粉末である。

含量 無水物として 99.0%以上

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、
3,405 cm^{-1} , 3,320 cm^{-1} , 2,945 cm^{-1} , 1,717 cm^{-1} , 1,661 cm^{-1} , 1,582 cm^{-1} , 1,376 cm^{-1} , 1,242 cm^{-1} , 1,131 cm^{-1} 及び 703 cm^{-1} 付近に吸収を認める。

純度試験 (1) 比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $-39 \sim -46^{\circ}$ (0.2 g, エタノール (99.5, 100 ml, 無水物換算))

(2) 類縁物質 *N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンとして 1.0% 以下

本品約 0.1 g を精密に量り、水/アセトニトリル混液 (7:3) を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、検液とする。以下「アドバンテーム」の純度試験 (3) と同様に標準液を調製する。検液及び標準液をそれぞれ 20 μl ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液のアドバンテーム以外のピークの合計面積及び標準液の *N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンのピーク面積 A_{T} 及び A_{S} を測定し、次式により類縁物質の含量を求める。ただし、面積測定範囲は *N*-[*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンの保持時間の 3 倍までとする。

$$\text{類縁物質の含量} = \frac{W \text{ (g)}}{\text{試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_{\text{T}}}{A_{\text{S}}} \times \frac{1}{100} \quad (\%)$$

操作条件 「アドバンテーム」の純度試験 (3) の操作条件を準用する。

水分 5.0% 以下 (0.1 g, 直接滴定)

強熱残分 0.2% 以下

定量法 本品約 0.5 g を精密に量り、エタノール (95) 100 ml に溶かし、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム液で滴定する。別に空試験を行い補正する。

$$0.1 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム液 } 1 \text{ ml} = 45.85 \text{ mg } \text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7$$

メタンスルホン酸 $\text{CH}_4\text{O}_3\text{S}$ 本品は無色澄明～うすい黄褐色の液体である。

含量 本品は、メタンスルホン酸 98.0% 以上を含む。

定量法 本品約 2g を精密に量り、水 40 mL に溶かし、1 mol/L 水酸化ナトリウム液で滴定する (指示薬: ブロモチモールブルー試液 2 滴)。別に空試験を行い、補正する。

$$1 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム液 } 1 \text{ mL} = 96.11 \text{ } \text{CH}_4\text{O}_3\text{S}$$

L-ヒスチジン $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$ 本品は白色の結晶又は粉末である。

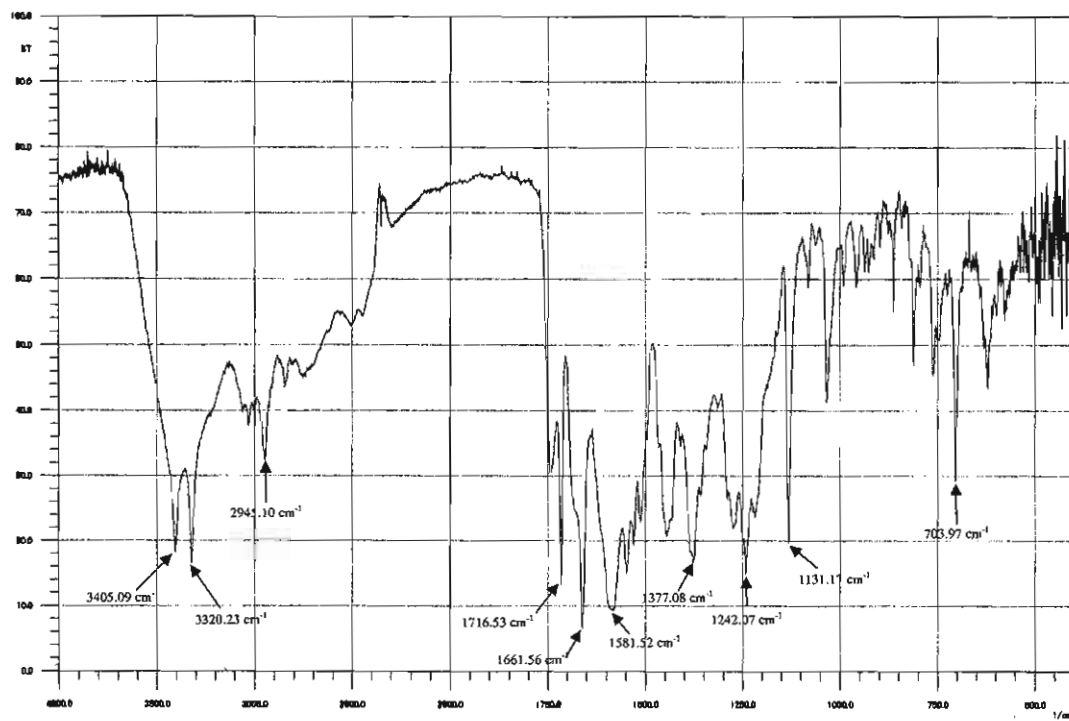
含量 本品は、L-ヒスチジン 98.0% 以上を含む。

純度試験 比旋光度 $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+12.0^{\circ} \sim +13.0^{\circ}$ (1 g, 塩酸, 10 ml)。

定量法 本品約 0.15g を精密に量り、ギ酸 2 mL に溶かし、酢酸 50 mL を加え、0.1 mol/L 過塩素酸液で滴定する。別に空試験を行い、補正する。

$$0.1 \text{ mol/L 過塩素酸 } 1 \text{ mL} = 15.52 \text{ g } \text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$$

なお、各生産ロットの規格試験結果に関しては、引用文献 15)～23) を参照のこと。



【図 2】 アドバンテームの赤外吸収スペクトル

3－（８）成分規格案の設定根拠

含量

実生産プロセスで製造した 12 ロットの含量（無水物換算）は 98.4～100.5%であり、ロット間の標準偏差と分析法バリデーションで得られたロット内の標準偏差を合わせた標準偏差を求め、平均値±3σを計算すると 98.0～101.7%であった。アドバンテームは 60 ヵ月の長期保存試験において、0.1%程度の類縁物質の増加が認められたことから、安定性試験の結果も考慮し、本規格案では「本品を無水物換算したものは、アドバンテーム(C₂₄H₃₀N₂O₇) 97.0～102.0%を含む」を採用した。

性状

実生産プロセスで製造した 12 ロットの色調及び形状は帯黄白色又は白色の粉末であった。そこで、本規格案では「本品は白色～帯黄白色の粉末である」を採用した。

確認試験

確認試験として一般的な赤外吸収スペクトル法の臭化カリウム錠剤法を採用した。ペースト法では炭化水素の吸収帯に対応する波長域が見えなくなる（2900cm⁻¹, 1490cm⁻¹, 720 cm⁻¹付近）こと、及びアドバンテームはアスパルテームやネオテームと構造の似た化合物であることから、波数規定ではなく、臭化カリウム錠剤法による赤外吸収帯全体を比較可能な参照スペクトルとの比較が適切と考える。また海外で既に認可されている方法も臭化カリウム錠剤法であることから、国際整合を取るという観点からも方法を一致させたい。実生産プロセスで製造した 12 ロットについて、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較したところ、同一波長の所に同様の強度の吸収を認められ、ロット間による赤外吸収スペクトルの差はほとんど認められなかった。そこで本規格案では、参照スペクトルとの比較による確認を採用し、「本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波長の所に同様の強度の吸収を認める」とした。

純度試験

（１） 比旋光度

本品は不斉炭素を持つ化合物であるため、立体配置を保証するための項目が必要である。

食品添加物公定書のアスパルテームにおいて、DL-及び LD-アスパルテームの規格値は 0.04% 以下と設定されているため、DD-アスパルテームの含有量はそれ以下である。

アドバンテームはアスパルテームを N-アルキル化することにより製造するため、原料のアスパルテーム及びその立体異性体の立体配置が、そのままアドバンテームにも引き継がれると考えられるが、実生産プロセスで製造した 12 ロット中に類縁物質試験で確認可能な DL-及び LD-アドバンテームは検出されなかった（0.02%未満）。

上記の通り、申請法で製造したアドバンテームへの立体異性体の混入量は極めて少ないことから、立体異性体を別に管理する必要はないと判断し、立体配置を確認する方法として比旋光度を規定した。

実生産プロセスで製造した 12 ロットの比旋光度は-41.1 ～ -44.1°であり、ロット間の標準偏差とロット内の標準偏差を合わせた標準偏差を求め、平均値±3σを計算すると、-39.9 ～ -45.9°

(平均値 -42.9°)であった。このことから、本規格案では「 $[\alpha]_D^{20}$: $-39^{\circ} \sim -46^{\circ}$ (0.2 g, エタノール (99.5, 100 ml, 無水物換算))」を採用した。

(2) 鉛

実生産プロセスで製造した 12 ロットの鉛の含量は全て 0.2 μ g/g 以下であったため、本規格案では他の公定書収載品目の規格も考慮し、「Pb として 1 μ g/g」を採用した。

(3) *N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニン及び他の類縁物質

N[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニン (ANS9801-acid) はアドバンテームの加水分解物であり、25 $^{\circ}$ C/60%RH の安定性試験では 60 ヶ月で約 0.1% から 0.18~0.19% と約 0.1% の増加が認められたことから、個別に管理をすることとした。ANS9801-acid はアドバンテームの主な代謝物の 1 つであり、アドバンテームを動物 (マウス, ラット, イヌ, ウサギ) に投与した場合に大部分が速やかに ANS9801-acid に変換され体内に暴露されることが確認されているため、ANS9801-acid の毒性はアドバンテームの安全性試験において同時に評価されている。アドバンテームの全ての安全性試験において毒性は認められなかったことから、ANS9801-acid の毒性は極めて低いと考えられ、本規格案では「*N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニンとして 1.0% 以下」とした。

安全性試験に使用したロットの他の類縁物質総量は 0.47~1.27% (ANS9801-acid 換算) であった。ラット発がん性試験の無毒性量約 2600mg/kg/day 中における他の類縁物質総量を計算すると、 $2600\text{mg/kg/day} \times 0.47\% = 12.22\text{mg/kg/day}$ となり、アドバンテームの推定 1 日摂取量から算出した類縁物質の推定 1 日摂取量 $0.0483\text{mg/kg/day} \times 1.27\% = 0.000613\text{mg/kg/day}$ に比べて大きく、十分な安全域が確保されていると考えられた。この点と含量の規格値を考慮し、他の類縁物質は総量で管理し、「*N*[*N*[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- α -アスパルチル]-L-フェニルアラニンとして 1.0% 以下」とした。

水分

アドバンテームは 1 水和物であり、理論水分量は 3.8% である。実生産プロセスで製造した 12 ロットの水分量は 3.8~4.2% であり、ロット間の標準偏差と分析法バリデーションで得られたロット内の標準偏差を合わせた標準偏差を求め、平均値 $\pm 3\sigma$ を計算すると 3.5~4.3% であった。そこで、本規格案では「5.0% 以下」を採用した。

強熱残分

実生産プロセスで製造した 12 ロットの強熱残分 0.0~0.1% であることから、本規格案では「0.2% 以下」を採用した。

定量法

液体クロマトグラフィーは、精度、特異性が高く、広く普及していることから、標準品を対照

とする定量法を採用した。

4. 有効性

4- (1) 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

アドバンテームは甘味料及びフレーバーエンハンサー⁵⁾として、さまざまな食品に使用可能であるが、その甘味強度は濃度及び含まれる食品により変化する。水溶液中で砂糖等価濃度 3~12%を示すアドバンテームの甘味倍率は、ショ糖の 14000~48000 倍、類似構造を有する既存甘味料アスパルテームの 90~120 倍であった²⁴⁾。従って、アスパルテームの 100 分の一程度の使用量で、同等の甘味度を得ることができることから、消費者及び食品製造業者により多くの選択肢を与えると同時に、既存甘味料との併用により、個々の甘味料の使用量を減らすことが可能である。既存甘味料と比較して、格段に少ない使用量で同等の甘味を食品に付与できることから、環境影響に関しては、廃棄物、廃液、輸送といった観点で環境影響を軽減できると同時に、コストメリットも期待できる。

アドバンテームは安定性も高く、乾燥粉末は室温で 60 ヶ月間安定(残存率 98.7~99.4%)⁷⁾、加速条件下(温度 40℃、湿度 75%)でも 6 ヶ月間安定(残存率 99.6~100%)であった⁸⁾。熱安定性に関しては従来の甘味料であるアスパルテームより改善されており、ケーキ中での含量は、焼成前 15.2ppm に対し、焼成後(180℃、35 分)で 11.32ppm であり、焼成後残存率は 74.5%であった。

アドバンテームの味質特性に関しては、味や香りなど官能的な特性を定量的に評価する定量的記述分析法(QDA 法)により、既存甘味料アスパルテームと比較した結果を図 3、4 に示す。²⁵⁾ 各味質及びあと味のバランスは、アドバンテーム(5ppm)とアスパルテーム(500ppm)で類似しており、既存甘味料であるサッカリンナトリウム、ステビア抽出物、カンゾウ抽出物、アセスルファミカリウム等が特有の苦味、渋みを有するのに対し、アドバンテームは苦味等の異味が少ない良質な甘味を有する。また、アスパルテームと同様、苦味や酸味の刺激を和らげるマスキング効果や、低濃度でフレーバーを増強させる効果を有する。

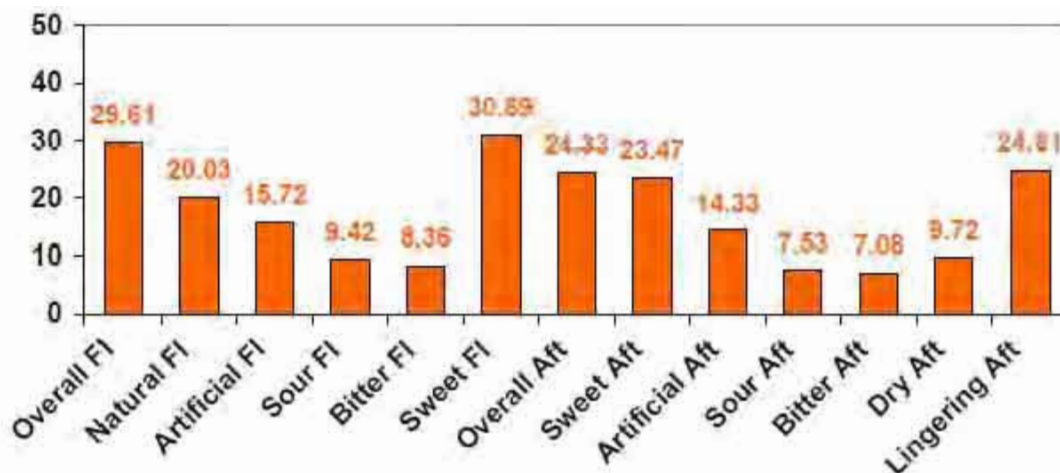
またカロリー低減の重要性に関しては、平成 19 年度国民健康・栄養調査結果によるとメタボリックシンドローム該当者が 1070 万人、予備群者数が 940 万人、併せて 2010 万人と推定されており、40~74 歳の男性の 2 人に 1 人、女性の 5 人に 1 人の割合に上る。メタボリックシンドロームとは、肥満、高血糖、高脂血症、高血圧などの危険因子が重なった状態のことで、近年小児のメタボリックシンドロームも問題になりつつある。わが国の砂糖需要量から計算した、砂糖の一人当たり一日摂取量は約 70g であるが、例えば清涼飲料の場合、糖度は天然果汁飲料・炭酸飲料で 8~12%、スポーツ飲料で 0.4~7%、コーヒー・紅茶飲料で 1.5~9%程度である。²⁶⁾ 炭酸飲料の場合、ダイエット飲料を除けば、主要な甘味成分はショ糖、果糖、ブドウ糖などの糖類であり、その含有量は 350ml 缶で約 28~42g、500ml 缶で約 40~60g となり、糖分摂取のかなりの部分が清涼飲料由来となり得る。特に昨今、わが国でも小児肥満が増加しており、その数は昭和 30 年代の約 4 倍、小児の約 10%が肥満と言われている。こういった小児はスナック菓子や清涼飲料の摂取が多いと言われており、生活習慣病の若年齢化は社会問題となりつつある。また厚生労働

省患者調査によるわが国の糖尿病患者数は、平成 2 年には 149 万人であったが、平成 20 年には 237 万人、入院患者の 16%を占めることが報告されており、近年増加している。

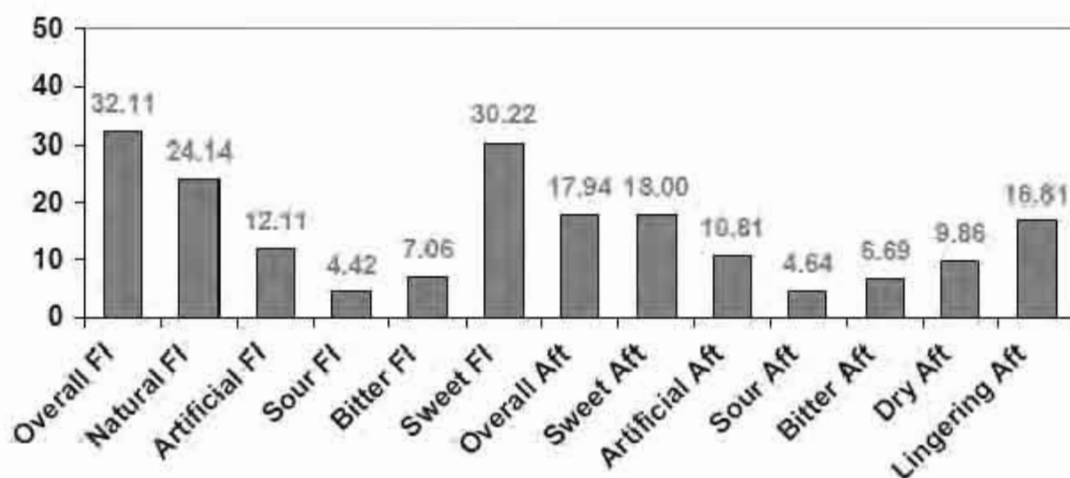
以上の状況から、近年増加しているメタボリックシンドローム・肥満・糖尿病といった生活習慣病を予防するという観点で、食品に使用される糖類を高甘味度甘味料で代替することによる摂取カロリー低減には意義があると考えられる。特に糖尿病発症後は、糖類摂取制限が必須となることから、糖尿病患者の QOL 向上という観点からも、高甘味度甘味料で食品に甘味を付与することには大きな意義があると考えられる。

【表 4-1】 アドバンテームのショ糖・アスパルテームに対する甘味倍率²⁴⁾

砂糖等価甘味度 (% Sucrose Equivalency)	アスパルテームに対する甘味倍率 (アスパルテーム/アドバンテーム)	ショ糖に対する甘味倍率 (ショ糖 / アドバンテーム)
3	120	47,778
4	119	44,074
5	118	40,370
6	116	36,667
7	114	32,963
8	112	29,259
9	109	25,556
10	105	21,852
11	100	18,148
12	94	14,444



【図3】 アドバンテーム(5ppm)の味質特性²⁵⁾



【図4】 アスパルテーム(500ppm)の味質特性²⁵⁾

Overall Fl: 風味及び味全般 Natural Fl: 砂糖のような自然な甘味

Artificial Fl: 化学物質や薬品のような人工的な味 Sour Fl: 酸味。

Bitter Fl: 苦味 Sweet Fl: 甘味

Overall Aft: 後に残る味・風味全般

Sweet Aft: 後に残る甘味

Artificial Aft: 後に残る人工的な味

Sour Aft: 後に残る酸味

Bitter Aft: 後に残る苦味

Dry Aft: 後に感じられる乾いたような感覚

Lingering Aft: あと味が残るような感覚

官能評価方法は、評価溶液 15ml を口に 10 秒間含んでから吐き出す。あと味は、更に 30 秒間待った時に感じられる味。

4－（２） 食品中での安定性

卓上甘味料の安定性と甘味の経時変化 ^{27) 28)}

卓上甘味料を 25℃±2℃、相対湿度 60%±5% で 36 ヶ月間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

保存開始時のアドバンテーム含量は 446.1ppm、アドバンテームの主要分解物である *N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- α -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン (ANS9801-acid) は検知されなかった。12 ヶ月後及び 36 ヶ月後保存検体中のアドバンテーム及び ANS9801-acid 含量は、それぞれ 434.2ppm、19.84ppm、及び 377.6ppm、53.04ppm であり、アドバンテーム残存率は、97.3% 及び 84.6% であった。

一方、保存期間中の甘味に関しては、卓上甘味料用途として一般的であるアイスコーヒーに卓上甘味料 3.1ppm を添加・溶解した飲料で 5 段階評価を行った。下位 2 段階と評価した評価員は保存開始時に 0%、36 ヶ月保存後に 23.5% と 75% 未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

炭酸飲料中の安定性と甘味の経時変化 ^{29) 30)}

アドバンテームを添加したコーラタイプの炭酸飲料を調製し(pH3.2)、これを 25℃±2℃、相対湿度 60%±5% で 26 週間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

保存開始時のアドバンテーム濃度は 8.70 μ g/ml、26 週間後の濃度は 4.16 μ g/ml で、残存率は 47.8% であった。保存期間中に生じた分解物は、ANS9801-acid, *N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- β -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンメチルエステル (β -ANS9801), *N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*- β -アスパルチル]-*L*-フェニルアラニンメチルエステル (β -ANS9801-acid) であった。

一方、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階（1 及び 2）と判定した評価員の割合は保存開始時には 12.5%、26 週後には 35.3% と 75% 未満であったことから全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

ホットパック充填したオレンジジュース中での安定性と甘味の経時変化 ^{31) 32)}

約 4 μ g/ml のアドバンテームを含有するオレンジジュース(pH3.2)を、96℃±2℃に昇温したプレート型熱交換器を通過させ、100mL ボトルに充填した。25℃±2℃、相対湿度 60%±5% で 26 週間保存し、保存期間中のアドバンテーム含量の変化を測定すると共に、官能検査により甘味の経時変化を評価した。

ホットパック充填前のアドバンテーム濃度は 3.79 μ g/ml、充填後は 3.73 μ g/ml であり、残存率は 98.4% であった。26 週間保存後のアドバンテーム濃度は 1.81 μ g/ml で、保存開始時(ホットパック充填後)からの残存率は 48.4% であった。

一方、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階（1 及び 2）と判定した評価員の割合は保存開始時には 40.0%、26 週後には 56.3% と 75% 未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

イエローケーキ焼成工程及び保存期間中の安定性と甘味の経時変化^{33) 34)}

イエローケーキの焼成工程におけるアドバンテームの安定性について検討した。焼成前のイエローケーキ生生地(pH6.0)中アドバンテーム含量は 15.20ppm、類縁化合物であるANS9801-acid 含量は 2.29ppm であったが、180℃、35 分間焼成後のアドバンテーム含量は 11.32ppm、ANS9801-acid 含量は 5.57ppm で、アドバンテーム残存率は 74.5%であった。

次に焼成後 5 日間の保存安定性試験を実施した。180℃、35 分間焼成したイエローケーキを室温になるまで約 30 分間放置し、ポリエチレン製の袋に密封した。密封されたイエローケーキを小売用ケーキボックスにいれ、25℃±2℃、相対湿度 60%±5%で保存した。保存開始時のイエローケーキ中アドバンテーム含量は、12.17ppm、ANS9801-acid 含量は 6.29ppm、5 日間保存後のアドバンテーム含量は 12.38ppm、ANS9801-acid 含量は 6.03ppm で、変化は認められなかった。

また、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階（1 及び 2）と判定した評価員の割合は保存開始時には 46.7%、5 日後には 25.0%と 75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

ヨーグルト中での安定性と甘味の経時変化^{35) 36)}



また、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階（1 及び 2）と判定した評価員は保存開始時には 6.7%、5 週後には 31.3%と 75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

チューインガム中での安定性と甘味の経時変化^{37) 38)}

約 400ppm のアドバンテームを含有するチューインガムを調製し、25℃±2℃、相対湿度 60%±5%で 27 週間保存し、経時的にアドバンテーム含量測定、及び甘味に関する 5 段階評価を行った。保存開始時のアドバンテーム含量は 377.03ppm、保存 27 週後の同含量は 350.35ppm で、残存率は 92.9%であった。

また、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階（1 及び 2）と判定した評価員の割合は保存開始時には 31.3%、23 週後には 31.3%と 75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

粉末飲料中での安定性と甘味の経時変化^{39) 44)}

調製後の飲料中においてアドバンテームが約 4ppm 含有されるように配合したレモン

フレーバーの粉末飲料を調製し、10g ずつアルミパウチに入れて熱シールし、室温条件(25℃±2℃/相対湿度 60%±5%)、中間条件(30℃±2℃/相対湿度 65%±5%)、加速条件(40℃±2℃/相対湿度 75%±5%)の 3 通りの保存条件で、それぞれ 12 ヶ月間、6 ヶ月間、6 ヶ月間保存した。保存開始時のアドバンテーム含量は、乾燥粉末中 768.4ppm、室温条件保存 12 ヶ月で 740.5ppm(残存率 96.4%)、中間条件保存 6 ヶ月で 739.8ppm(残存率 96.3%)、加速条件保存 6 ヶ月で 716.5ppm(残存率 93.2%)であった。主要類縁物質である ANS9801-acid は、保存開始時の含量が 3.29ppm、室温条件保存 12 ヶ月で 6.90ppm、中間条件保存 6 ヶ月で 8.66ppm、加速条件保存 6 ヶ月で 31.99ppm と、保存開始時より増加した。

一方、保存期間中の甘味に関して 5 段階評価を行ったところ、下位 2 段階(1 及び 2)と判定した評価員の割合は保存開始時に 13.3%、室温条件保存 12 ヶ月で 20.0%、中間条件保存 6 ヶ月で 6.7%、加速条件保存 6 ヶ月で 6.7%といずれも 75%未満であったことから、全保存期間を通じて甘味が維持されたと判断した。

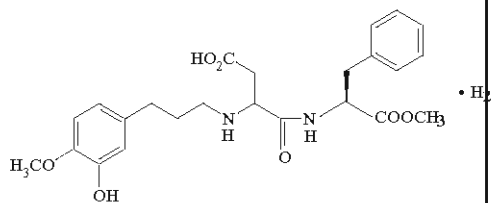
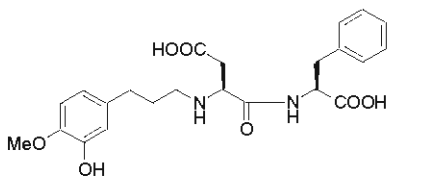
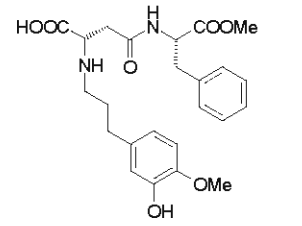
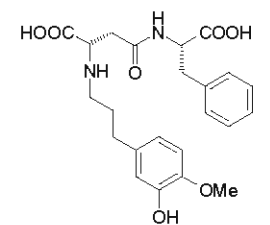
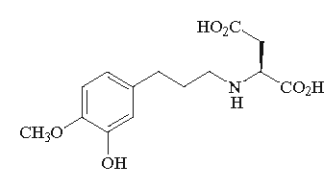
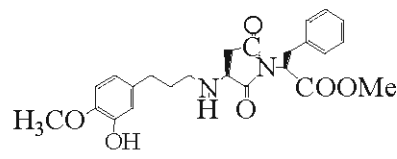
4－(3) アドバンテームの分解物^{45) 46) 47)}

飲料の例に見られるように、アドバンテームは酸性溶液中で徐々に分解する。主要分解経路として考えられるのは ANS9801-acid への加水分解であり、β 転移による分解の程度は前者と比較して小さいと考えられた。飲料での配合を想定して調製した酸性溶液中(pH2.8, 3.2, 3.8, 4.5)での 26 週間保存安定性試験(5,20,30,35℃)において、分解物の生成状況を確認したところ、pH3.2, 20℃、8 週間の保存条件下(炭酸飲料中での甘味料の安定性を調べる際に米国 FDA が定めた代表的条件)において、ANS9801-acid が主たる分解物として見出され、アドバンテーム含有量の初期値に対する割合が 1 %以上を占める唯一の分解物であった。ANS9801-acid はアドバンテームの最終製品に含まれる類縁物質であり、規格上、その含量は 1 %以下に抑えられている。

N-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-*L*-β-アスパルチル]-*L*-フェニルアラニン メチルエステル(β-ANS9801)、β-ANS9801-acid、*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-*L*-アスパルチミド-*L*-フェニルアラニンメチルエステル(ANS9801-imide)、*N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル))-プロピル-*L*-アスパラギン酸(HF-1)、*L*-フェニルアラニンメチルエステルは微量分解物として検出され、アドバンテーム含有量の初期値に対する割合は 1 %未満であった。

ANS9801-acid はアドバンテームの主要代謝物でもあり、ヒト、イヌ、ラット等代謝物の検索を行ったすべての動物の血漿、尿、糞便中に検出された。(5－(1) 参照) また、HF-1 もアドバンテームの代謝物であり、糞便及び尿中に検出された。

【表 4-3-1】アドバンテーム及びアドバンテーム分解物一覧 45) 46)

一般名	物質名	構造式
ANS9801 (アドバンテーム)	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl]-L-phenylalanine methylester monohydrate	
ANS9801-acid	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- α -aspartyl]-L-phenylalanine	
β -ANS9801	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- β -aspartyl]-L-phenylalanine methylester	
β -ANS9801-acid	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl]-L- β -aspartyl]-L-phenylalanine	
HF-1	<i>N</i> -(3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl)-L-aspartic acid	
ANS9801-imide	<i>N</i> -(3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)propyl)-L-aspartimide-L-phenylalanine methyl ester	

【表 4-3-2】 アドバンテームを酸性溶液で保存した際の分解物含有量(単位：ppm)* 47)

化合物	初期値 含有量 (ppm)	8 週保存後		26 週保存後	
		含有量 (ppm)	アドバン テーム初期 値に対する 増減割合 (%)	含有量 (ppm)	アドバン テーム初期 値に対する 増減割合 (%)
アドバンテーム	47.56	42.03	88.37	31.33	65.87
ANS9801-acid	0.57	5.96	11.33**	14.37	29.02**
β -ANS9801	ND	0.33	0.69	1.17	2.46
β -ANS9801-acid	ND	0.09	0.19	1.16	2.44
ANS9801-imide	BLQ	0.27	0.57	0.22	0.46
HF-1	ND	0.15	0.32	0.49	1.03
L-フェニルアラニン メチルエステル	ND	0.06	0.13	0.13	0.27
L-フェニルアラニン	ND	ND	—	0.10	0.21

*： 想定濃度 50ppm(=50 μ g/ml)のアドバンテーム含有溶液(pH3.2)を、20℃で保存した。

ND： 検出限界未満、BLQ： 定量下限未満

**： 初期値からの増加量が、アドバンテーム初期値に占める割合。

4－（４）食品中の栄養成分に及ぼす影響

食品の加工・貯蔵の際に生じる製品の着色、香気成分の生成等に関与するメイラード反応は、還元糖とアミノ基を有する化合物（アミノ酸、蛋白質、ペプチド等）を加熱する際に起こることが知られている。メイラード反応は、褐色物質を生成する非酵素的反応であり、過熱によって短時間で進行するが、常温でも長時間かけて進行する。アドバンテームは 2 級アミノ基を有することから、卓上甘味料に含まれるデキストロースやマルトデキストリン等とメイラード反応を起こす可能性が考えられるが、卓上甘味料の 25℃、36 ヶ月間の長期保存試験²⁷⁾において褐色は観察されず、メイラード反応生成物と考えられる化合物は検出されなかった。同様にマルトデキストリンを含む粉末飲料の保存試験^{39)・41)}においても、25℃・12 ヶ月、30℃・6 ヶ月、40℃・6 ヶ月の各保存試験後に、褐色は観察されず、メイラード反応生成物と考えられる化合物は検出されなかった。マルトデキストリンはイエローケーキにも含有され、特にイエローケーキでは過熱工程を経ることから、メイラード反応が起こりやすい条件と考えられるが、焼成後、25℃・5 日間の保存試験後にメイラード反応生成物と考えられる化合物は検出されていない³³⁾。またいずれの場合も、前章で報告したアドバンテーム関連化合物(分解物)と残存アドバンテームの総量で、ほぼ物質収支の説明が可能であった。

模擬飲料の 26 週間保存安定性試験⁴⁷⁾(pH：2.8, 3.2, 3.8, 4.5、保存温度：5, 20, 30, 35℃)においては、pH2.8, 3.2 といった低 pH 域での保存条件下、50ppm という通常では用いられない高いアドバンテーム濃度の場合に限り、微量の未知化合物が検出されたが、アドバンテーム関連化合物(分解物)と残存アドバンテームの総量で、ほぼ物質収支の説明が可能であった。

以上の結果を総合すると、通常アドバンテームが用いられる条件では、メイラード反応等、他の食品成分との相互作用は、検出限界内で生じないことが予想された。

5. 安全性に関する資料

5- (1) 体内動態試験

ラット、イヌおよびヒトにおいて、アドバンテームおよびその代謝物である ANS9801-acid の動態解析を行った。主な体内動態試験を別紙 1 に示した。

1) 吸収

人工胃液および腸液を用いた試験の結果より⁴⁸⁾、アドバンテームは消化管内で急速に ANS9801-acid に変換すると考えられることから主に ANS9801-acid の状態で吸収されるが、一部は未変化体の状態で吸収され、血漿中で ANS9801-acid に変換されたと考えられた。

①ラット^{49) 50) 100)}

雌雄の Han Wistar ラットに ¹⁴C で標識したアドバンテームを 5 および 150 mg/kg 体重の用量で強制経口投与または 5 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し血漿中の総放射能、アドバンテームおよび ANS9801-acid の濃度推移を検討した。経口投与においては、投与前および投与後 0.25、0.50、0.75、1、2、4、6、8、12、24 時間、静脈内投与においては、投与前および投与後 0.1、0.25、0.50、0.75、1、2、4、6、8、12、24 時間に採血を実施し各時点とも雌雄各 3 匹の動物を用いて評価を行った。総放射能および ANS9801-acid の最高血漿中濃度(C_{max})、最高血漿中濃度到達時間 (T_{max})、血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) および消失半減期 (T_{1/2}) の結果を表 5-1-1 に示した。

総放射能濃度は静脈内投与では投与 0.1 時間後、経口投与では投与 0.25～0.75 時間後に最大となり経口投与時の C_{max} および AUC は投与量にほぼ対応して増加した。アドバンテームは 5 mg/kg 体重の経口投与では定量下限未満であり、150 mg/kg 体重の用量では検出されたものの ANS9801-acid 濃度の 1/24～1/53 であった。ANS9801-acid は静脈内投与では投与 0.1 時間後、経口投与では投与 0.25～1.0 時間後に血漿中濃度が最大となり、経口投与時の C_{max} および AUC は投与量にほぼ対応して増加した。T_{1/2} は静脈内投与で 0.6 時間、経口投与では 1.9～3.6 時間であった。

経口投与後の吸収率を ¹⁴C 標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、4～8% であった。

【表 5-1-1】

(A) ラット単回投与後の動態パラメーター (総放射能) 49) 100)

	5 mg/kg 体重 静脈内投与		5 mg/kg 体重 経口投与		150 mg/kg 体重 経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Cmax (ng equivalanets/g)	10075	9159	105	136	2366	4066
Tmax (hours)	0.1	0.1	0.25	0.25	0.75	0.5
AUCt (ng equiv.h/g)	4010	3790	313	348	7760	9510
AUC (ng equiv.h/g)	4330	4120	334	382	8010	10100
T _{1/2} (hours)	15.7	14.7	7.2	8.1	6.0	7.3

(B) ラット単回投与後の動態パラメーター (ANS9801-acid) 49) 100)

	5 mg/kg 体重 静脈内投与		5 mg/kg 体重 経口投与		150 mg/kg 体重 経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Cmax (ng equivalanets/g)	7454.2	5843.4	7.6	8.1	226.7	412.9
Tmax (hours)	0.1	0.1	0.75	0.25	1.0	0.5
AUCt (ng equiv.h/mL)	1480	1310	13.1	23.2	875	1010
AUC (ng equiv.h/mL)	1490	1310	14.3	25.1	877	1020
T _{1/2} (hours)	0.6	0.6	1.9	2.1	3.1	3.6

②イヌ 51) 100)

雌雄ビーグル犬に ^{14}C で標識したアドバンテームを 5 および 150 mg/kg 体重の用量で強制経口投与または 5 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し血漿中の総放射能、アドバンテームおよび ANS9801-acid の濃度推移を検討した。経口投与においては投与前および投与後 0.5、1、2、4、6、8、12、24、48、72、96、120 時間、静脈内投与においては投与前および投与後 5、10、15、30、1、2、6、12、24、48、72、96、120、144 時間に採血を実施し、各時点とも雌雄各 3 匹の動物を用いて評価を行った。総放射能および ANS9801-acid の最高血漿中濃度(C_{max})、最高血漿中濃度到達時間 (T_{max})、血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) および消失半減期 ($T_{1/2}$) の結果を表 5-1-2 に示した。

総放射能濃度は静脈内投与では投与直後に、経口投与では投与 6～8 時間後に最大となり経口投与時の C_{max} および AUC は投与量にほぼ対応して増加したがその割合は投与量増加の割合と比較するとやや低値であった。アドバンテームは 5 mg/kg 体重の経口投与では定量下限未満であり、150 mg/kg 体重の用量では検出されたものの ANS9801-acid 濃度の 1/32～1/578 であった。ANS9801-acid は静脈内投与では投与直後、経口投与では投与 0.5～1.0 時間後に血漿中濃度が最大となり、経口投与時の C_{max} および AUC は投与量にほぼ対応して増加したがその割合は投与量増加の割合と比較するとやや低値であった。 $T_{1/2}$ は静脈内投与で 0.5～0.6 時間、経口投与では 4.2～7.1 時間であった。

経口投与後の吸収率を ^{14}C 標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、10～20% であった。

【表 5-1-2】

(A)イヌ単回投与後の動態パラメーター (総放射能) 51) 100)

	5 mg/kg 体重 静脈内投与		5 mg/kg 体重 経口投与		150 mg/kg 体重 経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (ug /g)	32.16	39.79	1.473	1.85	34.99	32.90
T_{max} (hours)	0	0	7	8	6	6
AUCt (ug.h/g)	942	1058	108.1	138.6	2518	2423
AUC (ug.h/g)	1266	1498	175.5	220.6	3730	3842
$T_{1/2}$ (hours)	86.3	95.0	85.6	80.6	74.0	80.9

(B)イヌ単回投与後の動態パラメーター (ANS9801-acid 濃度) 51) 100)

	5 mg/kg 体重 静脈内投与		5 mg/kg 体重 経口投与		150 mg/kg 体重 経口投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (ng /mL)	2230	2270	186	212	3320	4070
T_{max} (hours)	0	0	0.5	0.5	0.5	1
AUCt (ng.h/mL)	1700	1480	585	737	9590	11100
AUC (ng.h/mL)	1920	1600	698	843	12000	13400
$T_{1/2}$ (hours)	0.6	0.5	4.7	4.2	7.1	5.5

③ ヒト 52) 53) 100)

6名の健康な成人男性に¹⁴Cで標識したアドバンテームを0.25 mg/kg体重の用量で経口投与し血漿中の総放射能、アドバンテームおよびANS9801-acidの濃度推移を検討した。採血は投与前ならびに投与後5、10、15、30、45分および1、1.25、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7、8、10、12、24、36、48、72、96、120、168時間に実施した。また、非標識アドバンテームを0.1、0.25および0.50 mg/kg体重の用量でそれぞれ8名の健康な成人男性に単回経口投与しアドバンテームおよびANS9801-acidの濃度推移を検討した。採血は投与前ならびに投与後5、10、15、30、45分および1、1.25、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、7、8、9、10、12、24、36、48、72、96、120、144、168時間に実施した。総放射能およびANS9801-acidの最高血漿中濃度(C_{max})、最高血漿中濃度到達時間(T_{max})、血漿中濃度-時間曲線下面積(AUC)および消失半減期(T_{1/2})の結果を表5-1-3に示した。

¹⁴C標識したアドバンテームを用いた検討において⁵³⁾、総放射能濃度は投与1.25時間後に最大となりC_{max}は30.1±3.2 (ng equivalents /g)であった。ANS9801-acidの血漿中濃度は投与1.75時間後に最大となりC_{max}は22.7±5.1 (ng/mL)であった。総放射能およびANS9801-acidのT_{1/2}はそれぞれ3.9時間および5.7時間であった。アドバンテームは3例の被験者の各2時点で認められたのみであり、血漿中放射能の大部分はANS9801-acidで占められていた。総放射能のAUCに対するANS9801-acidのAUCの割合は82.1～89.2%であった。

非標識アドバンテームを用いた検討では⁵²⁾、アドバンテームは0.25および0.50 mg/kg体重を投与した場合に一時的に検出されたのみであり(被験者毎に1～4時点)、0.1 mg/kg体重の用量ではすべての時点において定量下限未満であった。ANS9801-acidのC_{max}およびAUCは投与量にほぼ比例して増加した。

【表 5-1-3】

(A) ヒト標識体 (0.25mg/kg 体重) 単回投与後の動態パラメーター^{53) 100)}

	総放射能濃度	ANS9801-acid 濃度
C _{max}	30.1 ± 3.2 ng equivalents /g	22.7 ± 5.1 ng/mL
T _{max}	1.25 hours	1.75 hours
AUC _t	194 ± 43 ng equivalents.h /g	173 ± 51 ng.h/mL
AUC ₄₈	223 ± 55 ng equivalenets.h /g	183 ± 50 ng.h/mL
AUC	208 ± 39 ng equivalents.h /g	179 ± 67 ng.h/mL
T _{1/2}	3.9 hours	5.7 hours

(B) ヒト非標識体単回投与後の ANS9801-acid 動態パラメーター^{52) 100)}

	0.1 mg/kg 体重	0.25 mg/kg 体重	0.50 mg/kg 体重
Cmax (ng /mL)	11.8±3.6	24.5±7.5	46.8±18.3
Tmax (hours)	1.625	1.375	1.625
AUCt (ng.h/mL)	73.6±33.3	237±74	459±142
AUC ₄₈ (ng.h/mL)	81.2±33.6	243±72	458±144
AUC (ng.h/mL)	81.8±37.3	262±82	546±135
T _{1/2} (hours)	3.6	6.0	10.9

2) 分布

① ラット（器官内および組織内濃度、胎盤および胎児への移行性）^{54) 55)}

有色の雄ラット (Lister Hooded ラット) に ¹⁴C で標識したアドバンテームを 5 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与し、投与 0.25、1、2、6、12、24 および 48 時間後までの組織中濃度を測定した（各時点 3 匹）。⁵⁴⁾ また雌雄（雌は妊娠動物および非妊娠動物）の Han Wistar ラットに ¹⁴C で標識したアドバンテームを 5 mg/kg 体重の用量で単回経口投与し、投与 0.25、1、2、6 および 12 時間後の全身オートラジオグラフィーを用いて分布の検討を行った（各時点とも雄、雌（妊娠・非妊娠）各 1 匹）。⁵⁵⁾

有色ラットを用いた検討⁵⁴⁾では、大部分の組織において投与後 15 分に放射能濃度が最大となった。血漿中の放射能濃度に関しても投与 15 分後に最大となり投与 6 時間後までには最大値の 10%程度に減少した。消化管以外の組織では、膀胱、肝臓、腎臓および前立腺のみで投与 15 分後の放射能濃度が血漿中の濃度よりも高値であった。消化管を除き、組織中の放射能濃度は急速に減少し、特定の組織への蓄積・滞留は認められなかった。回収された放射能の大部分は消化管内容物中に検出され、そのうちの大部分は 24 時間以内に排泄された。投与 15 分後においては最も高濃度を示していたのは胃内容物であり、その後 1 および 2 時間後には小腸内容物、投与 6 および 12 時間後には盲腸および大腸内容物で最も高い濃度を示した。

性および妊娠または非妊娠による組織分布および消失パターンの違いは認められず、放射能の胎盤あるいは胎児への移行は認められなかった。放射能レベルは投与後短時間で最大となり以降急速に減少した。投与 0.25～2 時間の時点では胃、消化管、肝臓、腎臓および膀胱の放射能レベルが高く、その他の組織では低レベルであった。投与 6 および 12 時間後では放射能は排泄器官に限定して認められた。特定の組織への放射能の蓄積は認められなかった。⁵⁵⁾

② イヌ（器官内および組織内濃度）⁵⁶⁾

雄のビーグル犬に ¹⁴C で標識したアドバンテームを 5 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与し、投与 6、72、144 および 288 時間後の 4 時点の組織中濃度を測定した（各時点 1 匹）。

各組織中の放射能濃度は概ね投与 6 時間後に最大となり、大腸および胆汁中で最も高

い濃度を示していた。投与 6 時間後の大腸および胆汁中の濃度は血漿中の放射能濃度よりも高値であったが、同時点の他の組織中または 72 時間以降の組織中濃度は血漿中の濃度よりも低い数値で推移した。大分部の組織において組織中および血漿中の放射能濃度の比率が試験期間中ほぼ一定に推移していることから、組織中の放射能濃度は組織中にかん流している循環血漿に起因するものと考えられた。脊髄、脳および眼では放射能濃度が血漿中の濃度より大幅に低値を示しており、これらの組織への放射能の移行が低いことが示唆された。

③血漿中タンパクとの結合⁵⁷⁾

イヌおよびヒト血漿中におけるアドバンテームのタンパク結合率を ¹⁴C 標識したアドバンテームを用いて（イヌ：20～20000 ng/mL、ヒト：10～1000 ng/mL）ラット、イヌおよびヒト血漿中における ANS9801-acid のタンパク結合率を ¹⁴C 標識した ANS9801-acid を用いて（ラット：10～10000 ng/mL、イヌ：100～25000 ng/mL、ヒト：10～5000 ng/mL）限外ろ過法によって検討した。ラット、イヌおよびヒトの血漿中におけるタンパク結合率を表 5-1-4 に示した。

ヒト血漿中においてアドバンテームのタンパク結合率は 10～1000 ng/mL の濃度範囲で 81～92%、ANS9801-acid のタンパク結合率は 10～5000 ng/mL の濃度範囲で 96～97%であり検討した濃度範囲において飽和現象は認められなかった。

【表 5-1-4】血漿中におけるアドバンテームおよび ANS9801acid のタンパク結合率⁵⁷⁾

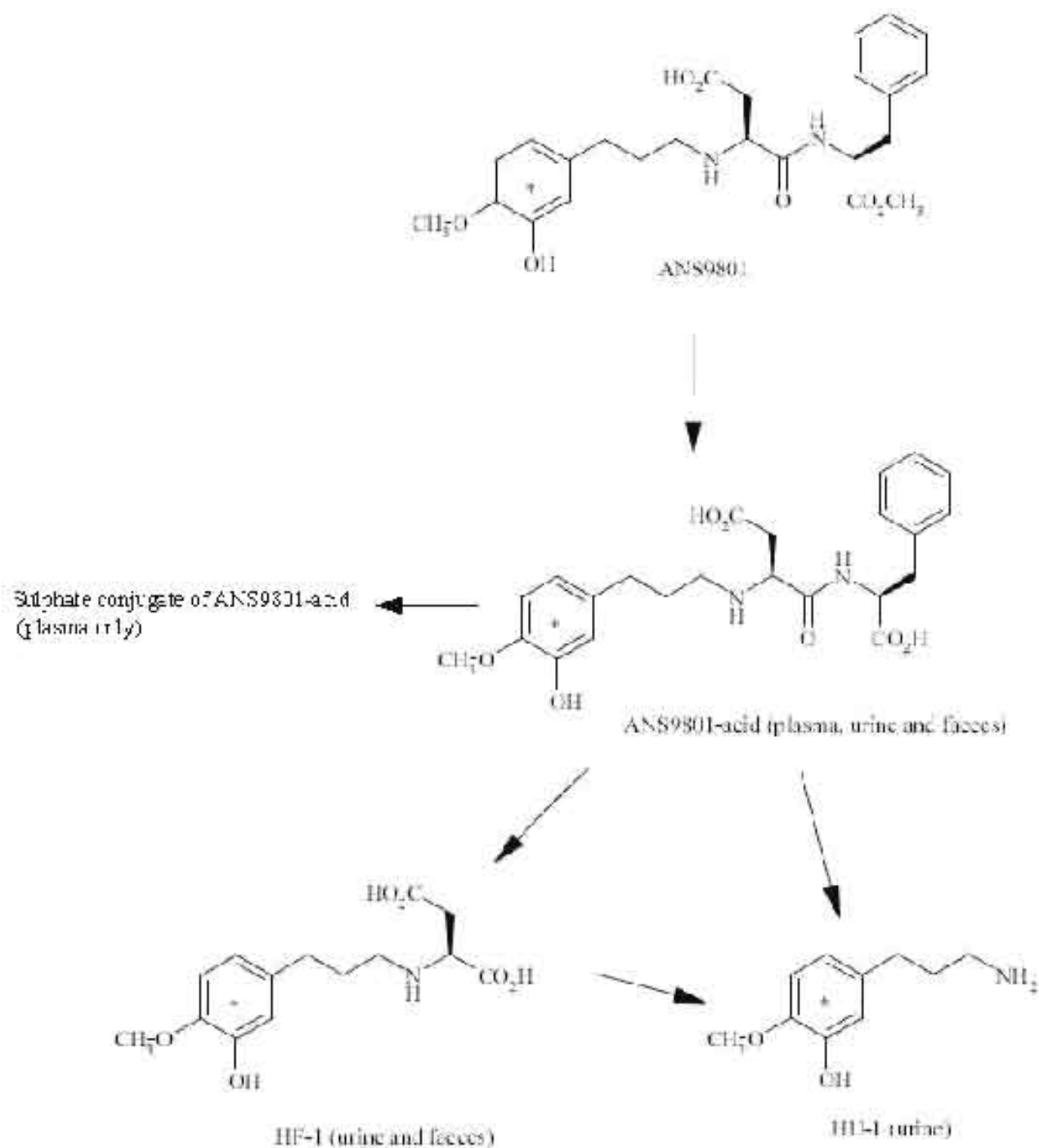
動物種および評価対象物質	処置濃度	タンパク結合率
ラット		
アドバンテーム	10～10000 ng/mL	90.5～91.8%
イヌ		
アドバンテーム	20～20000 ng/mL	63.0～64.9%
ANS9801-acid	100～25000 ng/mL	61.6～71.3%
ヒト		
アドバンテーム	10～1000 ng/mL	81.3～92.4%
ANS9801-acid	10～5000 ng/mL	96.2～96.9%

3) 代謝

ラット、イヌおよびヒトでの検討結果よりアドバンテームは主として脱エステル化により、メタノールと ANS9801-acid に代謝され、また ANS9801-acid はその一部がペプチドまたはアミド結合の加水分解により *N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル))-プロピル-L-アスパラギン酸（以下 HF-1 と表記）または 3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)-1-プロピルアミン（以下 HU-1 と表記）に代謝されると推定された。またイヌでは血漿中において代謝物として ANS9801-acid の硫酸抱合体が存在することも確認された。動物（ラットおよびイヌ）およびヒトでの検討結果から推察されるアドバンテームの主要代謝経路

を 図 5 に示した。また各動物およびヒトにおける経口投与時の主要および微量代謝物を表 5-1-5 に示した。

【図 5】動物（ラット、イヌ）及びヒトでの検討結果に基づくアドバンテームの主要代謝経路



①ラットにおける代謝 50) 100)

各投与経路および用量とも雌雄各 4 匹の動物を用いて評価を行った。

血漿中では主要代謝物は ANS9801-acid であり、経口投与後ではアドバンテームの未変化体はほとんど認められなかった。

尿中では、経口投与後ではアドバンテームの未変化体は検出されず、主要代謝物は ANS9801-acid であり、経口投与において投与量の 0.3～0.6%、静脈内投与において投与量の 19.8～22.6%であった。その他 HF-1 および HU-1 を含め 7 種の代謝物が尿中に検出されたが、経口投与時においてはいずれも投与量の 0.3%以下であった。

糞中においてもアドバンテームの未変化体は検出されず主要代謝物は ANS9801-acid およびその脱メチル体である RF-1 であった。5 mg/kg 体重においては、経口投与時の ANS9801-acid は投与量の 28.8～29.1%、RF-1 は 40.9～41.1、静脈内投与時の ANS9801-acid は投与量の 20.7～26.2%、RF-1 は投与量の 26.9～27.6%であった。150 mg/kg 体重の経口投与においては ANS9801-acid は投与量の 86.2～88.1%であり、RF-1 は検出されなかった。その他 RF-2 が 5 mg/kg 体重の経口投与時および静脈内投与時に認められ、それぞれ投与量の 11.5～11.9%、8.1～8.3%であった。

②イヌ 51) 100)

各投与経路および用量とも雌雄各 3 匹の動物を用いて評価を行った。

血漿中での主要代謝物は ANS9801-acid であり、経口投与後では 5 mg/kg 体重の用量ではアドバンテームの未変化体は検出されず、150 mg/kg 体重の用量において投与後の数時点において少量検出されるのみであった。また血漿中には ANS9801-acid の硫酸抱合体が存在することも確認された。

尿中では、経口投与後ではアドバンテームの未変化体は投与量の 0.1%未満であった。主要代謝物は ANS9801-acid であり、経口投与において投与量の 1.6～3.1%、静脈内投与において投与量の 22.9～25.1%であった。その他 HF-1、HU-1 および D3 等も認められ、経口投与時はそれぞれ投与量の 0.3～1.5%、0.2～0.3%、0.5～1.0%、静脈内投与時はそれぞれ投与量の 0.9～1.4%、0.2～0.3%、4.5～5.1%であった。尿中には硫酸抱合体は検出されなかった。

糞中ではアドバンテームの未変化体は検出されず主要代謝物は ANS9801-acid であった。経口投与時の ANS9801-acid は投与量の 70.3～78.2%、静脈内投与時の ANS9801-acid は投与量の 23.3～23.7%であった。その他の代謝物として HF-1 等が認められ経口投与時は投与量の 1.0～4.1%、静脈内投与時は投与量の 2.7～3.6%であった。糞中においても硫酸抱合体は検出されなかった。

③ヒト 53) 100)

健康な成人男性 6 名において評価を行った。

血漿中ではアドバンテームの未変化体がわずかに検出されるのみであり、主要代謝物は ANS9801-acid であった。

尿中では、アドバンテームの未変化体は検出されず、主要代謝物は ANS9801-acid で

あり、投与量の $2.3 \pm 0.6\%$ であった。その他 HF-1 および HU-1 も認められ、それぞれ投与量の $1.0 \pm 0.6\%$ 、 $1.9 \pm 1.9\%$ であった。

糞中ではアドバンテームの未変化体は検出されず、主要代謝物は ANS9801-acid および HF-1 であり、それぞれ投与量の $52.0 \pm 13.0\%$ 、 $30.0 \pm 12.0\%$ であった。

【表 5-1-5】

各動物およびヒトにおける経口投与時の主要および微量代謝物 ^{53) 100)}

動物種	血漿中	尿中	糞中
ラット	ANS9801-acid	ANS9801-acid HF-1 HU-1	ANS9801-acid RF-1 RF-2
イヌ	ANS9801-acid ANS9801-acid の硫酸抱 合体	ANS9801-acid HF-1 HU-1 D3	ANS9801-acid HF-1
ヒト	ANS9801-acid	ANS9801-acid HF-1 HU-1	ANS9801-acid HF-1

表 5-1-5 で示された通り、ヒトにおいて検出された代謝物はいずれも毒性試験に用いられたラットおよびイヌにも存在することが示されたことから、動物における安全性試験結果によりヒトでの安全性が適切に予測されることが確認された。

4) 排泄

①ラット 50) 100)

雌雄 Han Wistar ラットに ^{14}C で標識したアドバンテームを 5 および 150 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与または 5 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し尿中および糞中排泄率を検討した。各投与経路および用量とも雌雄各 4 匹の動物を用いて評価を行った。

投与後 96 時間までの尿中排泄率は経口投与で 0.97~1.94%、静脈内投与で 23.90~25.84% であり、糞中排泄率は経口投与で 95.92~99.52%、静脈内投与で 72.27~72.70% であった。投与量の 90% 以上が投与後 48 時間以内に排泄され、性差は認められなかった。

②イヌ 51) 100)

雌雄ビーグル犬に ^{14}C で標識したアドバンテームを 5 および 150 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与、または 5 mg/kg 体重の用量で静脈内投与し尿中および糞中排泄率を検討した。各投与経路および用量とも雌雄各 3 匹の動物を用いて評価を行った。

投与後 120 時間までの尿中排泄率は経口投与で 3.74~7.37%、静脈内投与で 37.11~39.10% であり、糞中排泄率は経口投与で 82.35~88.94%、静脈内投与で 41.90~47.43% であった。投与量の概ね 90% 以上が投与後 48 時間以内に排泄され、性差は認められなかった。

③ヒト 53) 100)

6 名の健康な成人男性に ^{14}C で標識したアドバンテームを 0.25 mg/kg 体重の用量で経口投与し、尿中および糞中排泄率を検討した。

投与後 168 時間までの尿中排泄率は $6.22 \pm 3.11\%$ 、糞中排泄率は $89.48 \pm 2.03\%$ であった。投与後 120 時間までにすべての被験者において投与したほぼ全量が排泄された。

5－（２） 毒性試験

5－（２）－１ 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

1) ラット 13 週間混餌投与および 4 週間回復性試験^{58) 99)}

アドバンテームを 0、1500、5000、15000、50000ppm の濃度で飼料中に添加し、雌雄 Han Wistar ラット（各群 20 又は 25 匹、投与開始時 6 週齢）に 13 週間混餌投与した。その後、0、15000 および 50000ppm 投与群（各群 5 匹）については 4 週間回復性試験を行った。各群の試験期間中の平均投与量は雄で 0、118、415、1231 および 4227 mg/kg 体重/日、雌で 0、146、481、1487 および 5109 mg/kg 体重/日であった。

結果の概略を表 5-2-1 に示した。いずれの投与群においても被験物質投与に起因する動物の死亡は認められず、一般状態、体重および摂餌量に特記すべき変化は認められなかった。血液学的検査では 15000 および 50000ppm 濃度群においてヘマトクリット、ヘモグロビン濃度あるいは赤血球数の低値等が観察されたが、変化の程度が軽微であること、試験実施施設における背景データの範囲内の変化であること、さらにその他の検査項目において関連する変動がみられないことから毒性を示唆するものではないと考えられた。また同じく 15000 および 50000ppm 濃度群において飲水量の増加も認められたが、アドバンテームの味質に起因する変化と考えられた。その他、眼科学的検査、神経毒性評価、血液化学的検査、尿検査、免疫毒性評価、器官重量、剖検および病理組織学的検査において投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、ラット 13 週間試験における無毒性量は 50,000ppm（雄で 4,227mg/kg 体重/日、雌で 5,109mg/kg 体重/日）と判断された。

【表 5-2-1】ラット 13 週間混餌投与および 4 週間回復性試験 ^{58) 99)}

動物	雌雄 Han Wisatar ラット、雌雄各 20 または 25 匹、 投与開始時週齢：6 週齢				
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、1500、5000、15000 および 50000ppm の濃度 で添加し 13 週間混餌投与。その後、0、15000 および 50000ppm 投与群（各 5 匹）について 4 週間回復性試験を実施。				
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	1500ppm 雄：118 雌：146	5000ppm 雄：415 雌：481	15000ppm 雄：1231 雌：1487	50000ppm 雄：4227 雌：5109
一般状態	—	—	—	—	—
体重	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—
摂水量 (投与 1 週時点) (mL/week)	229±27.4 235±37.7	222±25.8 235±55.6	219±27.4 219±33.3	230±26.0 281±91.3*	256±29.3** 294±62.0**
眼科学的検査	—	—	—	—	—
神経毒性評価	—	—	—	—	—
血液学的検査 (投与 13 週時点)					
ヘマトクリット(L/L)	0.479±0.0116 0.448±0.0142	0.481±0.0158 0.447±0.0155	0.474±0.0115 0.443±0.0164	0.477±0.0169 0.435±0.0223**	0.468±0.0162** 0.432±0.0170**
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	16.8±0.42 15.9±0.51	16.8±0.49 15.8±0.48	16.6±0.41 15.7±0.52	16.7±0.47 15.4±0.78**	16.5±0.53* 15.2±0.57**
赤血球数(x 10 ¹² /L)	9.02±0.265 8.24±0.340	9.08±0.280 8.16±0.413	9.09±0.306 8.16±0.376	9.06±0.481 8.01±0.364	8.93±0.307 8.03±0.347*
白血球数(x 10 ⁹ /L)	7.55±1.409 4.10±0.852	7.35±1.93 4.27±1.061	6.73±1.305 3.92±0.886	6.18±1.752** 3.61±0.983	6.07±1.466** 3.43±0.746*
血液化学的検査	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—
器官重量測定	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—
無毒性量	50000ppm (雄：4227 mg/kg 体重/日、雌：5109 mg/kg 体重/日)				

—：投与の影響なし、データ記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）、*：p<0.05、**：p<0.01

2) イヌ 13 週間混餌投与および 4 週間回復性試験^{59) 99)}

アドバンテームを 0、5000、15000、50000ppm の濃度で飼料中に添加し、雌雄のビーグル犬（各群 4 または 6 匹、投与開始時 23～26 週齢）に 13 週間混餌投与した。その後、0 および 50000ppm 投与群（各群 2 匹）については 4 週間回復性試験を行った。各群の試験期間中の平均投与量は雄で 0、205、667 および 2230 mg/kg 体重/日、雌で 0、229、703 および 2416 mg/kg 体重/日であった。

結果の概略を表 5-2-2 に示した。いずれの投与群においても動物の死亡は認められなかった。一般状態の観察では対照群を含む全投与群において軟便が認められ、その頻度はアドバンテームを投与した群において高かったが、毒性を示唆するものではないと考えられた。雄の 50,000ppm 投与群において体重増加の低値が認められた。また雌の 15,000 または 50,000ppm 投与群においてヘマトクリット、ヘモグロビン濃度あるいは赤血球数の低値等が認められたが、試験実施施設における背景データの範囲内の変化であることから毒性を示唆するものではないと考えられた。さらに雄の 50,000ppm 投与群において、胸腺重量の低値および中程度の胸腺の萎縮の発生頻度の増加が認められたが、自然発生的に起こりえる頻度・程度を超えた変化ではないことから毒性を示唆するものではないと考えられた。その他、摂餌量、眼科学的検査、心電図測定および血液化学的検査においてはアドバンテーム投与の影響は認められなかった。

50,000ppm 投与群において体重増加の低値が認められたことから、試験報告書においては本試験における無毒性量は 15,000ppm と判断されたが、50,000ppm 添加群においては他の毒性所見は認められなかったことから、当該変化は非栄養成分を比較的高濃度で添加したことに起因する変化と考えられた。したがって本試験の無毒性量は 50,000ppm（雄で 2,230mg/kg 体重/day、雌で 2,416mg/kg 体重/day）とするのが妥当であると判断した。

【表 5-2-2】 イヌ 13 週間混餌投与および 4 週間回復性試験 ^{59) 99)}

動物	雌雄ビーグル犬、雌雄各 4 または 6 匹、 投与開始時週齢：23～26 週齢			
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、5000、15000 および 50000ppm の濃度で添加し 13 週間混餌投与。その後、0 および 50000ppm 投与群（各 2 匹）について 4 週間回復性試験を実施。			
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	5000ppm 雄：205 雌：229	15000ppm 雄：667 雌：703	50000ppm 雄：2230 雌：2416
一般状態	—	軟便の発生頻度の増加		
体重				
体重増加値(kg)	1.7±1.01	1.0±0.68	1.2±0.79	0.5±0.75*
(投与開始～13 週)	1.9±0.33	1.5±0.48	1.7±0.49	1.5±0.48
摂餌量	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—
心電図測定	—	—	—	—
血液学的検査 (投与 13 週時点)				
ヘマトクリット(L/L)	0.391±0.0186 0.447±0.0073	0.382±0.0256 0.439±0.0153	0.383±0.0288 0.413±0.0094**	0.397±0.0208 0.408±0.0268**
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	13.4±0.59 15.3±0.18	13.0±0.79 14.9±0.63	13.0±0.95 14.0±0.38**	13.4±0.77 13.7±0.92**
赤血球数(x 10 ¹² /L)	5.86±0.384 6.66±0.265	5.71±0.307 6.47±0.265	5.59±0.447 6.00±0.124**	5.96±0.310 6.19±0.220**
網赤血球 (%)	0.77±0.241 0.82±0.269	0.67±0.210 0.53±0.152	0.60±0.241 0.64±0.125	0.66±0.254 0.44±0.123**
白血球数(x 10 ⁹ /L)	9.37±1.080 11.56±0.964	11.69±2.531 9.92±1.763	11.64±0.889 10.44±2.140	9.20±1.474 8.92±2.201*
血液化学的検査	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—
器官重量測定 (13 週間投与後)				
胸腺重量(g)	9.05±5.34 9.67±4.15	8.37±2.82 7.71±2.50	7.63±4.30 9.09±2.64	4.47±1.95 7.30±3.20
剖検 (13 週間投与後)				
胸腺萎縮	雄：0/4 例 雌：1/4 例	雄：0/4 例 雌：0/4 例	雄：1/4 例 雌：0/4 例	雄：3/4 例 雌：1/4 例
病理組織学的検査 (13 週間投与後)				
胸腺萎縮	雄：1/4 例 雌：0/4 例	雄：0/4 例 雌：1/4 例	雄：1/4 例 雌：0/4 例	雄：2/4 例 雌：1/4 例
無毒性量 ¹⁾	50000ppm (雄：2230 mg/kg 体重/日、雌：2416 mg/kg 体重/日)			

—：投与の影響なし、測定値記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）、*：p<0.05、**：p<0.01

1)：50000ppm 投与群において体重増加の低値が認められたことから、試験実施施設において無毒性量は 15000ppm と判断されたが、他の毒性所見が認められなかったことから当該変化は非栄養成分を比較的高濃度で添加したことに起因した変化と考えられたため無毒性量を 50000ppm とすることが妥当であると判断した。

3) イヌ 52 週間週間混餌投与および 6 週間回復性試験^{60) 103)}

アドバンテームを 0、2000、10000、50000ppm の濃度で飼料中に添加し、雌雄のビーグル犬（各群 4 または 6 匹、投与開始時 22～26 週齢）に 52 週間混餌投与した。その後、0、10000 および 50000ppm 投与群（各群 2 匹）については 6 週間回復性試験を行った。各群の試験期間中の平均投与量は、雄で 0、83、421 および 2058 mg/kg 体重/日、雌で 0、82、406 および 2139 mg/kg 体重/日であった。

結果の概略を表 5-2-3 に示した。いずれの投与群においても被験物質投与に起因する動物の死亡は認められず、一般状態、体重および摂餌量に特記すべき変化は認められなかった。アドバンテーム投与に起因する可能性のある所見として、心拍数の高値が雄の 50,000ppm 添加群において観察されたが、変化の程度が軽微であり、かつその他の心電図評価項目において投与に関連した所見が観察されなかったことから、毒性を示唆するものではないと考えられた。その他、眼科学的検査、血液学的検査、血液化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検および病理組織学的検査においては、アドバンテーム投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、イヌ 52 週間試験における無毒性量は 50,000ppm（雄で 2,058mg/kg 体重/day、雌で 2,139mg/kg 体重/day）と判断された。

【表 5-2-3】イヌ 52 週間混餌投与および 6 週間回復性試験^{60) 103)}

動物	雌雄ビーグル犬、雌雄各 4 または 6 匹、 投与開始時週齢：22～26 週齢			
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、2000、10000 および 50000ppm の濃度で添加し 52 週間混餌投与。その後、0、10000 および 50000ppm 投与群（各 2 匹）について 6 週間回復性試験を実施。			
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：83 雌：82	10000ppm 雄：421 雌：406	50000ppm 雄：2058 雌：2139
一般状態	—	—	—	—
体重	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—
心電図測定 (投与 13 週時点) 心拍数(beat/min)	113±20 103±23	123±21 112±32	104±15 110±13	130±26 90±13
血液学的検査	—	—	—	—
血液化学的検査	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—
器官重量測定	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—
無毒性量	50000ppm（雄：2058 mg/kg 体重/日、雌：2139 mg/kg 体重/日）			

—：投与の影響なし、測定値記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）

5－（２）－２ 発がん性試験^{61) 62) 99)}

マウスを用いて発がん性試験を実施した。アドバンテームを2,000、10,000および50,000ppmの濃度で飼料に添加し、雌雄の ICR マウス（各群 64 匹、投与開始時 6 週齢）に 104 週間にわたり混餌投与した。各群の試験期間中の平均投与量は、雄で 0、213、1057 および 5693 mg/kg 体重/日、雌で 0、272、1343 および 7351 mg/kg 体重/日であった。

結果の概略を表 5-2-4 に示した。また各群において認められた腫瘍性病変の総括を表 5-2-5 に示した。アドバンテーム投与による生存率への影響は認められず、特記すべき一般状態の変化も認められなかった。雌雄の 50,000ppm 添加群において体重増加の低値が認められたが、統計学的に有意な変化ではなく、関連する他の毒性所見も認められないことから、毒性を示唆する所見ではないと考えられた。アドバンテーム投与に起因して誘発されたと考えられる腫瘍の発現および発生頻度の増加は観察されず、非腫瘍性病変の発現に関してもアドバンテーム投与の影響は認められなかった。

以上の如く、アドバンテームの発がん性は認められなかった。

【表 5-2-4】 マウス発がん性試験^{61) 62)}

動物	雌雄 ICR マウス、雌雄各 64 匹 投与開始時週齢：6 週齢			
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、2000、10000 および 50000ppm の濃度で添加し 104 週間混餌投与。			
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：213 雌：272	10000ppm 雄：1057 雌：1343	50000ppm 雄：5693 雌：7351
死亡例数	雄：44／64 例 雌：38／64 例	雄：47／64 例 雌：49／64 例	雄：42／64 例 雌：43／64 例	雄：40／64 例 雌：47／64 例
生存率	雄：31% 雌：41%	雄：27% 雌：23%	雄：34% 雌：33%	雄：38% 雌：27%
一般状態	—	—	—	—
体重 体重増加値 (g) (投与開始～78 週)	27.0±10.1 20.1±8.87	27.2±8.97 21.1±10.94	28.5±8.30 21.3±10.72	24.2±7.86 17.4±6.86
摂餌量	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—
器官重量測定	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
病理組織学的検査 腫瘍性病変 非腫瘍性病変	— —	— —	— —	— —
結論	発がん性なし			

—：投与の影響なし、測定値記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）

【表 5-2-5】マウス発がん性試験－腫瘍性病変の総括（1／4） 61) 62) 99)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
副腎								
検査例数	62	63	64	62	64	64	62	64
皮質腺腫（紡錘形）	0	0	0	0	1	0	0	0
皮質腺腫（多形性）	4	3	7	3	0	0	0	0
皮質腺腫（混合型）	1	1	1	1	0	0	0	0
皮質腺腫	0	1	1	2	0	0	0	0
脳								
検査例数	64	64	64	64	64	64	63	64
髄膜腫	0	0	0	0	0	1	0	0
盲腸								
検査例数	51	58	57	53	59	57	60	56
腺癌	2	0	1	0	0	0	0	0
結腸								
検査例数	53	60	58	53	60	58	62	55
腺癌	1	0	1	0	0	0	0	0
胆嚢								
検査例数	48	57	53	49	59	57	61	55
乳頭腫	0	1	0	2	0	0	0	0
腎臓								
検査例数	64	64	64	63	64	64	63	64
尿細管腺腫	1	0	0	2	0	0	0	0
肝臓								
検査例数	63	63	64	63	63	63	63	64
肝細胞癌	5	1	5	5	1	0	1	0
肝細胞腺腫	13	16	16	10	1	1	1	0
肝芽腫	0	0	1	0	0	0	0	0
血管肉腫	0	3	4	2	0	1	1	0
血管腫	1	1	2	1	1	0	1	0
腸間膜リンパ節								
検査例数	60	63	61	60	63	60	63	61
血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0
肺および気管支								
検査例数	64	64	64	64	64	64	63	64
細気管支・肺胞腺癌	11	14	6	6	1	7	5	5
細気管支・肺胞腺腫	20	18	23	21	13	7	7	9
乳腺(通常検査部位)								
検査例数	61	64	64	64	64	64	61	64
乳腺腺癌	0	0	0	0	1	1	1	1

【表 5-2-5】マウス発がん性試験－腫瘍性病変の総括（2／4） 61) 62) 99)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
卵巣 検査例数	0	0	0	0	64	64	63	62
平滑筋肉腫					1	0	0	0
管間質腺腫					1	1	1	0
顆粒膜細胞腫					1	1	1	0
莢膜細胞腫					0	1	0	0
黄体腫					1	1	2	0
嚢胞腺腫					0	0	1	1
脾臓 検査例数	61	63	64	60	62	62	63	62
脾島細胞腺腫	0	0	0	0	1	1	0	0
上皮小体 検査例数	54	52	53	52	58	55	50	49
主細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体 検査例数	61	62	61	62	62	58	63	63
前葉腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0
前葉腺腫	0	2	1	2	1	1	2	0
中間部腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0
唾液腺 検査例数	64	63	63	64	64	64	63	62
基底細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0
精囊 検査例数	62	64	62	63	0	0	0	0
腺腫	0	2	0	0				
脊髄（腰部） 検査例数	64	64	64	64	64	64	63	64
神経鞘腫	0	0	0	1	0	0	0	0
脾臓 検査例数	62	63	59	61	64	62	62	62
血管肉腫	1	0	1	0	1	0	0	0
胃 検査例数	57	60	59	61	61	62	61	59
腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0
精巣 検査例数	61	64	64	61	0	0	0	0
嚢胞腺腫	0	0	1	1				
間細胞腺腫	1	0	0	0				

【表 5-2-5】 マウス発がん性試験－腫瘍性病変の総括 (3/4) 61) 62) 99)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
胸腺								
検査例数	56	55	55	56	63	60	63	61
胸腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
甲状腺								
検査例数	61	64	63	61	64	62	62	60
濾胞細胞腺腫	1	0	1	1	0	1	0	0
膀胱								
検査例数	63	63	61	60	63	64	61	62
間葉系腫瘍	1	0	0	0	0	0	0	0
間葉系増殖性病変	0	0	0	0	1	0	0	0
子宮頸部								
検査例数	0	0	0	0	62	63	63	63
平滑筋腫					1	1	2	1
内膜間質ポリープ					1	1	0	3
子宮								
検査例数	0	0	0	0	63	64	63	62
内膜腺癌					0	1	0	0
内膜間質肉腫					0	0	1	1
平滑筋肉腫					1	0	0	1
平滑筋腫					4	1	0	0
血管腫					1	0	0	1
内膜ポリープ					5	5	4	1
腺ポリープ					0	1	0	1
脱落膜腫					0	1	0	0
腹腔								
検査例数	1	0	3	2	2	0	1	0
肉腫 (NOS)	0		0	1	0		0	
骨								
検査例数	4	4	2	4	1	2	2	3
骨腫	1	0	0	0	0	0	0	2
造血器腫瘍								
検査例数	64	64	64	64	64	64	63	64
リンパ芽球/リンパ球性リンパ腫	5	3	0	2	1	5	5	3
多形性リンパ腫	4	3	4	4	9	6	11	11
形質細胞腫	0	0	1	0	0	1	1	0
免疫芽球性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性リンパ腫 (NOS)	3	0	0	0	2	3	1	2
骨髄球性白血病	1	2	3	1	1	3	1	1
組織球性肉腫	0	5	0	1	3	1	4	1

【表 5-2-5】 マウス発がん性試験－腫瘍性病変の総括（4／4） 61) 62) 99)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
ハーダー氏腺 検査例数	62	60	59	62	61	60	56	59
腺癌	1	1	0	0	0	0	0	0
腺腫	8	6	10	9	8	3	1	3
乳腺（肉眼異常部位） 検査例数	0	0	3	0	3	6	0	1
乳腺腺癌			0		2	5		1
乳腺細胞腫			0		0	1		0
筋 検査例数	1	2	0	0	0	0	2	1
肉腫（NOS）	0	0					1	0
皮膚／皮下組織 検査例数	23	24	21	19	11	21	12	19
癌（NOS）	0	0	0	0	0	0	0	1
平滑筋肉腫	0	1	0	0	0	0	0	1
線維肉腫	1	0	1	2	1	3	0	0
骨肉腫	1	1	0	0	0	0	0	1
血管肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
肉腫（NOS）	0	0	0	1	0	0	0	1
基底細胞癌	0	1	0	0	0	0	0	0
肛門周囲腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1
扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0
舌 検査例数	0	0	0	0	0	0	1	0
乳頭腫							1	
膺 検査例数	0	0	0	0	2	5	1	3
線維腫					0	1	0	0
平滑筋腫					0	1	0	0

5 - (2) - 3 1年間反復投与／発がん性併合試験^{63) 64) 102)}

胎生期から *in utero* でアドバンテームに暴露させたラットを用いて、1年間反復投与／発がん性併合試験を実施した。アドバンテームを 2,000、10,000 および 50,000ppm の濃度で飼料に添加し、1年間反復投与試験では雌雄の Han Wistar ラット（各群 20 または 30 匹、投与開始時 4 週齢）に 52 週間、発がん性試験では雌雄の Han Wistar ラット（各群 55 匹、投与開始時 4 週齢）に 104 週間にわたり混餌投与した。尚、1年間反復投与試験では 52 週の投与終了後 0、10000 および 50000ppm 投与群（各群 10 匹）について 6 週間の回復性試験を実施した。各群の平均投与量は 1 年間反復投与試験においては、雄で 0、117、592 および 3199 mg/kg 体重/日、雌で 0、146、740 および 4009 mg/kg 体重/日、発がん性試験においては雄で 0、97、488 および 2621 mg/kg 体重/日、雌で 0、125、630 および 3454 mg/kg 体重/日であった。

1 年間反復投与試験の結果の概略を表 5-2-6 に示した。いずれの投与群においてもアドバンテーム投与に起因する動物の死亡は認められなかった。雌雄の 50,000ppm 投与群において肛門の蒼白化および腫脹が投与 4～32 週の間観察されたが、投与終了時まで持続される所見ではなかったことから、毒性を示唆するものではないと考えられた。雌雄の 50,000ppm 投与群において体重増加の低値および摂餌量の高値が観察されたが、変化の程度が軽微であったことから毒性を示唆する所見ではないと考えられた。飲水量の高値がすべてのアドバンテーム投与群において認められたが、アドバンテームの味質に関連した変化と考えられた。血中尿素値の低値が 50,000ppm 投与群において観察されたが、関連する病理組織学検査上の変化が認められなかったことから、毒性を示唆する変化ではないと考えられた。その他眼科学的検査、血液学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検および病理組織学的検査において、アドバンテーム投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。以上の結果より、ラット 1 年間反復投与試験における無毒性量は 50,000ppm（雄で 3,199mg/kg 体重/日、雌で 4,009mg/kg 体重/日）と判断された。

発がん性試験の結果の概略を表 5-2-7 に示した。また発がん性試験の各群において認められた腫瘍性病変の総括を表 5-2-8 に示した。

発がん性試験において、アドバンテーム投与による生存率への影響は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量および血液化学的検査において 1 年間反復投与試験において認められた所見と同様の所見が観察されたが、血液化学的検査、尿検査、器官重量測定および剖検ではアドバンテーム投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。アドバンテーム投与に起因して誘発されたと考えられる腫瘍の発現および発生頻度の増加は観察されず、非腫瘍性病変の発現に関してもアドバンテーム投与の影響は認められなかった。

以上の如く、アドバンテームの発がん性は認められなかった。

【表 5-2-6】ラット 1 年間反復投与試験 (63) (64) (102)

動物	雌雄 Han Wistar ラット、雌雄各 20 または 30 匹 投与開始時週齢：4 週齢			
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、2000、10000 および 50000ppm の濃度で添加し 52 週間混餌投与。その後、0、10000 および 50000ppm 投与群（各 10 匹）について 6 週間回復性試験を実施。			
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：117 雌：146	10000ppm 雄：592 雌：740	50000ppm 雄：3199 雌：4009
一般状態	—	—	—	肛門の蒼白化および腫脹 (投与 4～32 週)
体重 体重増加値 (g) (投与開始～52 週)	454±58.8 237±35.3	467±51.1 250±40.6*	447±59.1 235±33.5	431±48.9* 230±29.5
摂餌量 (全投与期間平均値)	157 120	159 124	158 123	165 131
摂水量 (投与 11 週時点) (mL/day)	29±4.5 28±5.0	35±6.3** 33±5.9*	33±6.6** 31±5.3**	34±4.4** 33±4.0**
眼科学的検査	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—
血液化学的検査 (投与 52 週時点) 尿素(mmol/L)	5.92±0.556 6.65±1.074	5.58±0.822 7.07±1.205	5.82±0.765 6.51±1.427	5.29±0.573** 6.29±0.998
尿検査	—	—	—	—
器官重量測定	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—
無毒性量	50000ppm (雄：3199 mg/kg 体重/日、雌：4009 mg/kg 体重/日)			

—：投与の影響なし、測定値記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）、*p<0.05、**p<0.01

【表 5-2-7】ラット発がん性試験^{63) 64) 102)}

動物	雌雄 Han Wistar ラット、雌雄各 55 匹 投与開始時週齢：4 週齢			
投与方法	アドバンテームを飼料中に 0、2000、10000 および 50000ppm の濃度で添加し 104 週間混餌投与。			
平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：97 雌：125	10000ppm 雄：488 雌：630	50000ppm 雄：2621 雌：3454
死亡例数	雄：17/55 例 雌：19/55 例	雄：17/55 例 雌：22/55 例	雄：16/55 例 雌：25/55 例	雄：16/55 例 雌：26/55 例
生存率	雄：69% 雌：65%	雄：69% 雌：60%	雄：71% 雌：55%	雄：71% 雌：53%
一般状態	—	—	—	肛門の蒼白化および腫脹 (投与 4～32 週)
体重 体重増加値 (g) (投与開始～104 週)	536±81.0 322±62.8	543±83.5 332±61.2	528±64.0 325±55.7	501±52.6* 304±49.9
摂餌量 (全投与期間平均値)	157 126	159 130	158 127	163 136
血液学的検査	—	—	—	—
血液化学的検査 (投与 104 週時点) 尿素(mmol/L)	4.66±0.519 4.95±1.134	4.87±0.334 5.85±0.784	4.82±0.537 6.01±0.616	4.19±0.174* 5.40±1.408
尿検査	—	—	—	—
器官重量測定	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
病理組織学的検査 腫瘍性病変 非腫瘍性病変	— —	— —	— —	— —
結論	発がん性なし			

—：投与の影響なし、測定値記載部分：平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）、*p<0.05

【表 5-2-8】ラット発がん性試験－腫瘍性病変の総括（1／5） 63) 64) 102)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
副腎								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
皮質癌	2	0	1	0	0	0	0	0
褐色細胞腫	1	1	0	1	0	0	2	1
皮質腺腫	1	0	1	0	0	1	0	1
悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0
髄質混合腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0
胸部大動脈								
検査例数	55	55	55	55	55	53	55	54
血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0
脳								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
星状膠細胞腫	0	1	0	1	0	0	0	0
髄膜腫	0	1	1	0	0	0	0	1
十二指腸								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
平滑筋腫	0	0	0	0	1	0	0	0
精巣上体								
検査例数	55	55	55	55	0	0	0	0
中皮腫	3	0	0	0				
眼								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
メラニン欠乏性黒色腫	0	0	0	0	1	0	0	0
大腿骨								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
血管肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
心臓								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0
空腸								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
平滑筋腫	0	1	0	0	0	0	0	0
腺癌	0	1	0	0	0	0	0	0
腎臓								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
脂肪肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
脂肪腫	0	2	0	1	0	0	0	0
血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
尿細管腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0

【表 5-2-8】ラット発がん性試験－腫瘍性病変の総括（2／5） 63) 64) 102)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
肝臓								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
肝細胞癌	0	1	0	0	0	0	0	0
肝細胞腺腫	1	0	1	1	3	0	1	0
腸間膜リンパ節								
検査例数	55	55	55	55	55	54	54	55
血管腫	3	5	8	0	1	1	0	2
血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
肺・気管支								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
細気管支・肺胞腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
細気管支・肺胞腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0
乳腺（通常検査部位）								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
線維腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0
卵巢								
検査例数	0	0	0	0	55	54	55	55
黄体腫					0	1	1	0
顆粒膜細胞腫					2	2	2	1
セルトリ細胞腫					2	1	2	4
嚢胞状腺癌					1	0	0	0
性腺間質腫瘍					1	0	1	1
脾臓								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
血管肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0
島細胞癌	0	1	2	3	1	0	0	1
島細胞腺腫	2	4	2	2	0	1	3	0
腺房細胞腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
上皮小体								
検査例数	50	52	51	53	48	54	51	50
腺腫	1	0	0	2	0	0	0	0
下垂体								
検査例数	55	55	54	55	55	54	55	55
前葉腺腫	16	19	8	18	37	39	40	38
神経鞘腫	0	1	0	0	0	0	0	0
中間部腺腫	1	0	1	1	0	0	0	1
前葉腺癌	0	0	0	0	0	2	0	0
前立腺								
検査例数	55	55	54	55	0	0	0	0
腺癌	1	0	0	0				

【表 5-2-8】ラット発がん性試験－腫瘍性病変の総括（3／5） 63) 64) 102)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
精囊 検査例数	55	55	54	55	0	0	0	0
癌	0	0	0	1				
皮膚（通常検査部位） 検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
未分化型肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
頸部脊髄 検査例数	55	55	55	55	54	54	55	55
稀突起膠細胞腫	0	0	0	1	0	0	0	0
脾臓 検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1
精巣 検査例数	55	55	55	55	0	0	0	0
間細胞腫	1	1	0	0				
胸腺 検査例数	53	52	54	54	55	54	55	55
胸腺腫（上皮細胞型）	0	0	0	1	0	0	0	0
血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0
胸腺腫（リンパ球型）	0	1	0	1	2	3	5	0
扁平上皮癌	0	1	0	0	0	0	0	0
甲状腺 検査例数	55	55	55	54	55	54	55	55
C 細胞癌	2	1	0	1	1	1	0	1
C 細胞腺腫	0	3	1	2	2	1	1	2
濾胞細胞癌	0	2	0	0	0	0	0	0
濾胞細胞腺腫	2	3	6	4	1	2	1	0
膀胱 検査例数	55	55	55	55	55	53	55	55
移行上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮頸部 検査例数	0	0	0	0	55	54	55	55
悪性神経鞘腫					1	0	1	0
内膜ポリープ					0	1	0	0
顆粒細胞腫					1	0	0	0

【表 5-2-8】ラット発がん性試験－腫瘍性病変の総括（4／5） 63) 64) 102)

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
子宮								
検査例数	0	0	0	0	55	54	55	55
内膜ポリープ					6	5	4	5
内膜腺腫					0	0	1	0
内膜腺癌					1	1	2	0
悪性神経鞘腫					0	2	0	1
粘液腫					0	0	1	0
平滑筋腫					0	0	0	1
脱落膜腫					1	0	1	0
膺								
検査例数	0	0	0	0	55	54	55	55
扁平上皮癌					0	0	1	0
脂肪組織								
検査例数	14	8	6	6	6	7	9	5
脂肪腫	1		0	0	0	0	0	0
鼻腔								
検査例数	0	1	0	2	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫		0		1				
陰核腺								
検査例数	0	0	0	0	3	0	0	1
扁平上皮癌					1			0
扁平上皮乳頭腫					1			0
造血器腫瘍								
検査例数	55	55	55	55	55	54	55	55
リンパ球/リンパ芽球性リンパ腫	2	1	0	0	1	3	0	1
組織球性肉腫	1	0	0	2	0	0	0	0
多形成型リンパ腫	0	1	0	0	0	0	0	0
頭部								
検査例数	0	0	1	0	0	0	0	0
扁平上皮癌			1					

【表 5-2-8】ラット発がん性試験－腫瘍性病変の総括（5／5）^{63) 64) 102)}

器官・組織および所見	雄				雌			
	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm	0 ppm	2000 ppm	10000 ppm	50000 ppm
乳腺（肉眼異常部位） 検査例数	2	7	1	5	43	44	42	41
腺癌	0	0	0	0	3	1	3	5
肉腫（神経鞘腫）	0	1	0	0	0	0	0	0
線維腺腫	0	0	0	0	6	8	9	8
扁平上皮癌	0	0	0	1	0	0	1	0
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	4
線維肉腫	0	2	0	0	0	0	0	0
脂肪腫	0	0	0	0	1	0	0	0
線維腫	0	1	0	1	2	0	0	1
皮脂腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0
血管腫	0	0	0	0	0	1	0	0
基底細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1
悪性線維性組織球腫	0	0	0	0	1	0	0	0
角化棘細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	0
筋 検査例数	1	2	1	1	1	0	0	0
皮脂腺腫	0	1	0	0	0			
包皮腺 検査例数	0	0	1	1	0	0	0	0
扁平上皮癌			1	0				
腺腫			0	1				
皮膚／皮下組織 検査例数	14	16	17	14	12	11	7	8
基底細胞腫	0	0	1	1	0	1	0	0
角化棘細胞腫	2	1	0	2	0	0	0	0
扁平上皮癌	0	0	2	0	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫	1	0	2	2	0	1	1	0
基底細胞癌	0	0	1	1	0	0	0	0
未分化型肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
悪性線維性組織球腫	0	0	0	0	1	0	0	0
皮脂腺癌	0	0	0	1	0	0	0	0
骨肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0
胸腔 検査例数	1	0	0	1	0	0	0	0
悪性褐色脂肪腺腫	1			1				

5－（2）－4 生殖毒性試験^{65) 105)}

ラットを用いて二世世代繁殖試験を実施した。アドバンテームを 2,000、10,000 および 50,000ppm の濃度で飼料に添加し二世世代に亘って雌雄 SD ラット（F0：雌雄各 30 匹、投与開始時 6 週齢、F1 雌雄各 25 匹）に交配前 10 週間混餌投与した。雌雄ともに投与は次世代の離乳時まで継続した。交配前投与期間の平均投与量は F0 の雄で 0、164、833 および 4410 mg/kg 体重/日、雌で 0、184、907 および 4776 mg/kg 体重/日、F1 の雄で 0、204、1036 および 5431

mg/kg 体重/日、雌で 0、229、1140 および 5920 mg/kg 体重/日であった。

結果の概略を表 5-2-9 に示した。親動物では F0 および F1 のいずれにおいてもアドバンテーム投与による死亡は認められず、一般状態および体重にも特記すべき変化は認められなかった。アドバンテーム投与群で摂餌量が高値であったが、毒性を示唆する所見ではないと考えられた。その他、性周期、交尾能、受胎能、妊娠期間、出産率、剖検、器官重量測定、精子検査および病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった。出生児では F1 および F2 のいずれにおいても出生児数、生存率、性比、身体的および機能的発達に投与の影響は認められず、剖検、器官重量測定においても特記すべき変化は認められなかった。

以上の如く、親動物（F0 および F1）の繁殖能力および次世代（F1 および F2）の発育に影響は認められず、ラット二世世代繁殖試験における無毒性量は 50,000ppm（F0 の雄で 4,410mg/kg 体重/日、雌で 4,776mg/kg 体重/日、F1 の雄で 5,431mg/kg 体重/日、雌で 5,920mg/kg 体重/日）と判断された。

【表 5-2-9】ラット二世代繁殖試験 (1/2) 65) 105)

動物		雌雄 SD ラット、雌雄各 30 匹 (F0) または 25 匹 (F1) F0 の投与開始時週齢：6 週齢			
投与方法		アドバンテームを飼料中に 0、2000、10000 および 50000ppm の濃度で添加し交配 10 週前～次世代の離乳時まで投与			
親動物 F0	平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：164 雌：184	10000ppm 雄：833 雌：907	50000ppm 雄：4410 雌：4776
	一般状態	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—
	摂餌量 (g) (投与開始時～10 週 の総量の平均値)	2169 1536	2255 1528	2025 1552	2350 1578
	性周期	—	—	—	—
	交尾率 (%)	100	100	100	100
	受胎率 (%)	97	97	97	90
	出産率 (%)	100	97	93	96
	精子検査	—	—	—	—
	器官重量測定	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	病理組織学的検査	—	—	—	—
出生児 F1	平均出生児数	14.4±1.8	13.8±1.7	14.0±1.7	13.3±2.8
	性比(雄) (%)	47.9	49.3	49.6	46.0
	4 日間生存率 (%)	96.4	98.3	97.4	97.9
	離乳率 (%)	95.2	93.8	96.7	95.8
	身体的発達	—	—	—	—
	機能的発達	—	—	—	—
	器官重量測定	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—

—：投与の影響なし、数値記載部分：平均値または平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）

【表 5-2-9】ラット二世代繁殖試験 (2/2) 65) 105)

	平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	2000ppm 雄：204 雌：229	10000ppm 雄：1036 雌：1140	50000ppm 雄：5431 雌：5920
親動物 F1	一般状態	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—
	摂餌量 (g) (投与開始時～10 週 の総量の平均値)	2009 1486	1998 1516	2075 1558	2141 1615
	性周期	—	—	—	—
	交尾率 (%)	100	100	100	96
	受胎率 (%)	100	92	100	100
	出産率 (%)	96	100	100	100
	精子検査	—	—	—	—
	器官重量測定	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	病理組織学的検査	—	—	—	—
出生児 F2	平均出生児数	13.6±1.6	13.6±1.3	13.5±2.9	13.5±2.1
	性比(雄) (%)	44.6	45.5	55.1	49.5
	4 日間生存率 (%)	98.0	97.3	96.8	99.4
	離乳率 (%)	96.2	93.8	95.6	92.1
	身体的発達	—	—	—	—
	機能的発達	—	—	—	—
	器官重量測定	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
無毒性量		50000ppm F0－雄：4410 mg/kg 体重/日、雌：4776 mg/kg 体重/日 F1－雄：5431 mg/kg 体重/日、雌：5920 mg/kg 体重/日			

—：投与の影響なし、数値記載部分：平均値または平均値±標準偏差（上段：雄、下段：雌）

5－（２）－５ 出生前発生毒性試験

ラットおよびウサギを用いて催奇形性試験を実施した。

1) ラット催奇形性試験 66) 104)

アドバンテームを 0、1500、5000、15000、50000ppm の濃度で飼料中に添加し、SD 雌ラット（各群 22 匹、投与開始時 10～11 週齢）に妊娠 0～20 日まで混餌投与した。各群の試験期間中の平均投与量は 0、465、1418 および 4828 mg/kg 体重/日であった。妊娠 20 日に妊娠ラットを帝王切開し、胎児の観察等を実施した。

試験結果の概略を表 5-2-10 に示した。いずれの投与群においても動物の死亡は認められず、特記すべき一般状態の変化も認められなかった。50000ppm 投与群では体重増加の低値が認められ、投与初期の摂餌量が対照群と比較して低値であった。妊娠 3 日以降は 50000ppm 投与群の摂餌量は対照群と比較して高値であった。

妊娠子宮重量、器官重量、剖検、着床数、吸収胚数、生存胎児数、着床前後死亡率、性比、胎児体重、胎盤重量、胎児の外表・内臓・骨格検査において、アドバンテーム投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、50000ppm 投与群においても胎児の検査において影響が認められなかったことから、胎児の発育に関する無毒性量は 50000ppm（4828 mg/kg 体重/日）と判断された。母動物では 50000ppm 投与群において体重増加の低値が認められたことから、試験報告書においては母動物に対する無毒性量は 15000ppm と判断されたが、当該変化は投与初期の摂餌量の低値およびアドバンテームが非栄養成分であることに起因する変化と考えられたため、母動物に対する無毒性量も 50000ppm（4828 mg/kg 体重/日）とするのが妥当と考えられた。

【表 5-2-10】ラット催奇形性試験^{66) 104)}

動物		雌 SD ラット、各群 22 匹 投与開始時週齢：10～11 週齢			
投与方法		アドバンテームを飼料中に 0、5000、15000 および 50000ppm の濃度で添加し妊娠 0～20 日の間混餌投与			
母動物	平均投与量 (mg/kg 体重/日)	0ppm (対照群)	5000ppm 465	10000ppm 1418	50000ppm 4828
	一般状態	—	—	—	—
	体重 体重増加値 (g) (妊娠 0～20 日)	165±16	171±19	167±18	150±19**
	摂餌量 (g/day)				
	妊娠 0～2 日	26±2	27±2	27±2	23±2**
	妊娠 3～5 日	27±3	29±4	28±2	29±2**
	妊娠子宮重量	—	—	—	—
	器官重量	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	着床数	15.7±2.1	15.3±1.8	15.4±1.4	15.1±1.3
	吸収胚数	0.9	0.9	0.9	1.0
	着床前死亡率 (%)	8.6	4.2	7.8	6.0
	着床後死亡率 (%)	5.2	6.2	5.5	6.4
胎児	平均生存胎児数	14.8±1.9	14.4±2.2	14.5±1.5	14.2±1.7
	性比(雄) (%)	47.7	49.5	47.1	47.9
	胎児体重	—	—	—	—
	胎盤重量	—	—	—	—
	外表検査	—	—	—	—
	内臓検査	—	—	—	—
	骨格検査	—	—	—	—
無毒性量 ¹⁾		母動物および胎児：50000ppm (4828 mg/kg 体重/日)			

—：投与の影響なし、数値記載部分：平均値または平均値±標準偏差、**：p<0.01

1)：母動物では 50000ppm 投与群で体重増加の低値が認められたことから、試験実施施設において無毒性量は 15000ppm と判断されたが、投与初期の摂餌量の低下およびアドバンテームが非栄養成分であることに起因すると考えられたため、母動物に対する無毒性量も 50000ppm とすることが妥当と考えられた。

2) ウサギ催奇形性試験^{67) 104)}

アドバンテームを1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、500、1000 および 2000 mg/kg 体重/日の用量で、ニュージーランド白色雌ウサギ（各群 24 匹、投与開始時 19～25 週齢）に妊娠 6～28 日まで強制経口投与した。妊娠 29 日に妊娠ウサギを帝王切開し、胎児の観察等を実施した。

試験結果の概略を表 5-2-11 に示した。1000 mg/kg 体重/日投与群の 1 例、および 2000 mg/kg 体重/日投与群の 5 例が一般状態の悪化（食欲不振、体重減少、衰弱、自発運動減少等）により投与期間中（妊娠 17～27 日）に安楽殺処分された。剖検ではこれらの動物に共通して消化管障害を示唆する所見（腸官内容物の滞留等）が観察された。消化管障害による死亡例の発現は、既存の高甘味度甘味料であるスクラロースの試験においても認められており、投与物質の浸透圧活性に起因する非特異的变化であると考察されている⁶⁸⁾。本試験で使用された投与物質は高濃度の粘性の高い懸濁液であったことから、発現した消化管障害は投与物質の物理学的性質に起因するウサギ特有の変化と考えられた。さらに 2,000mg/kg 体重/日投与群の 1 例では流産が認められたが、一般状態の悪化等による二次的变化である可能性が高いと考えられた。

生存動物においては特記すべき一般状態の変化は認められなかった。2000 mg/kg 体重/日投与群では投与所期に体重増加の低値が認められたが、その後回復し、投与期間全体を通じた観察では対照群との間に差は認められなかった。その他摂餌量および剖検においてアドバンテーム投与の影響は認められなかった。

胎児の検査においては 2,000 mg/kg 体重/日投与群において後期吸収胚数の軽微な増加が認められたが、その他着床数、生存胎児数、着床前後死亡率、性比、胎児体重、胎盤重量、胎児の外表・内臓・骨格検査においてはアドバンテーム投与に起因すると考えられる変化は認められず、催奇形性は認められなかった。

以上の結果よりウサギ催奇形性試験における母動物の無毒性量は 500 mg/kg 体重/日、胎児の発育に関する無毒性量は 1,000 mg/kg 体重/日と判断された。

【表 5-2-11】 ウサギ催奇形性試験 67) 104)

動物			ニュージーランド白色雌ウサギ、各群 24 匹 投与開始時週齢：週齢 19～25			
投与方法			アドバンテームを 1%メチルセルロース溶液に懸濁させ、500、1000 および 2000 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 6～28 日の間強制経口投与			
母動物	投与量 (mg/kg 体重/日)		0 (対照群)	500	1000	2000
	中途剖検例数		1	0	1	5
	流産		1	0	0	1
	非妊娠動物数		3	6	2	6
	検査例数		19	18	21	12
	一般状態	生存動物	—	—	—	—
		中途剖検動物	痙攣様症状等		食欲不振、体重減少、衰弱、活動性低下等	
	体重					
	体重增加值 (kg)					
	妊娠 6～12 日		0.19±0.14	0.13±0.11	0.11±0.11	0.09±0.15*
	妊娠 6～29 日		0.43±0.29	0.46±0.22	0.34±0.21	0.41±0.29
	着床数		8.7±2.6	9.4±2.3	8.0±3.1	9.0±3.3
	早期吸収胚数		0.3	0.4	0.6	0.3
	後期吸収胚数		0.3	0.4	0.4	1.0
	着床前死亡率 (%)		21.5	14.2	27.2	19.5
着床後死亡率 (%)		5.6	8.0	10.5	12.3	
胎児	平均生存胎児数		8.2±2.5	8.6±2.1	6.9±2.8	7.7±2.7
	性比(雄) (%)		47.2	51.3	39.2	55.7
	胎児体重		—	—	—	—
	胎盤重量		—	—	—	—
	外表検査		—	—	—	—
	内臓検査		—	—	—	—
	骨格検査		—	—	—	—
無毒性量			母動物：500 mg/kg 体重/日 胎児：1000 mg/kg 体重/日			

—：投与の影響なし、数値記載部分：平均値または平均値±標準偏差、*：p<0.05

5－（２）－６ 遺伝毒性試験

１）細菌を用いた復帰突然変異試験^{69) 101)}

サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98、TA100、TA1535、TA1537 および大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA/pKM101 の計 5 菌株を用いて、代謝活性化系の存在下および非存在下のプレインキュベーション法により実施した。陰性対照として媒体であるジメチルスルフォキシド (DMSO) を用い、陽性対照として既知の変異原性物質を用いた。アドバンテームの用量は用量設定試験では 5～5000 μ g/plate、本試験では 50～5000 μ g/plate とした。

試験条件の概略および判定を、表 5-2-12 に示した。上記の条件で試験を実施した結果、用量設定試験および本試験ともに代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株においても陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニーの増加は認められず、陰性の判定であった。

【表 5-2-12】 細菌を用いた復帰突然変異試験^{69) 101)}

使用菌株	サルモネラ菌 (<i>Salmonella typhimurium</i>) TA98、TA100、TA1535、TA1537 大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) WP2uvrA/pKM101
試験方法	代謝活性化系 (S9mix) の存在下および非存在下のプレインキュベーション法により実施 S9 の誘導剤 : Aroclor 1254
陰性対照物質	DMSO
陽性対照物質	< S9mix 非存在下 > TA100、TA1535 : アジ化ナトリウム WP2uvrA/pKM101 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド TA98 : 2-ニトロフルオレン TA1537 : 9-アミノアクリジン < S9mix 存在下 > TA100、TA98、TA1537 : ベンゾ[a]ピレン TA1535、WP2uvrA/pKM101 : 2-アミノアントラセン
用量範囲	用量設定試験 : 5～5000 μ g/plate 本試験 : 50～50000 μ g/plate
結果	陰性

2) マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験 ^{70) 101)}

マウスリンパ腫細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座の変異を指標とするマウスリンフォーマ TK 試験を、代謝活性化系 (S9mix) の存在下・非存在下での短時間処理法 (3 時間処理)、及び S9mix の非存在下での 24 時間連続処理法の条件で実施した。陰性対照としては媒体であるジメチルスルフォキシド (DMSO) を、陽性対照としてはメタンスルホン酸メチル (S9mix 非存在下)、または 3-メチルコラントレン (S9mix の存在下) を用いた。アドバンテームの用量については、短時間処理の 1 回目の試験では 500~5000 μ g/mL、2 回目の試験では 1250~3000 μ g/mL、24 時間連続処理法の条件では 125~1500 μ g/mL とした。

試験方法の概略および判定を表 5-2-13 に示した。S9mix の有無に関わらずいずれの処置群においても遺伝子突然変異頻度の増加は認められず、陰性の判定であった。

【表 5-2-13】 マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験 ^{70) 101)}

使用細胞	L5178Y マウスリンパ腫細胞
試験方法	S9mix の存在下および非存在下での短時間処理法 (3 時間処理) および S9mix 非存在下での 24 時間連続処理法で実施 S9 の誘導剤 : Aroclor 1254
陰性対照物質	DMSO
陽性対照物質	< S9mix 非存在下 > メタンスルホン酸メチル < S9mix 存在下 > 3 - メチルコラントレン
用量範囲	短時間処理法 (1 回目) : 500~5000 μ g/mL 短時間処理法 (2 回目) : 1250~3000 μ g/mL 24 時間連続処理法 : 125~1500 μ g/mL
結果	陰性

3) マウスを用いた小核試験 ⁷¹⁾

アドバンテームの生体内での小核誘発性の有無を評価するため、ICR 雄マウス（陰性対照群およびアドバンテーム投与群 7 匹、陽性対照群 5 匹）を用いた強制経口投与による小核試験を実施した。アドバンテームは 1%メチルセルロース溶液に懸濁し、500、1000 および 2000 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与した。投与後約 24 および 48 時間後に大腿骨骨髓の小核を有する幼若赤血球の出現頻度を調べた。陰性対照として、1.0%メチルセルロース水溶液を投与する群を設定し、アドバンテーム投与群と同様に投与および観察を実施した。陽性対照としてマイトマイシン C を選択した。投与用量は 12mg/kg 体重の単回強制経口投与とし、標本の作製は投与 24 時間後のみに実施した。

試験方法の概略および判定を表 5-2-14 に示した。アドバンテーム投与群において、小核を有する幼若赤血球の出現頻度の増加は認められず、陰性の判定であった。

【表 5-2-14】 マウスを用いた小核試験 ^{71) 101)}

使用動物	ICR 雄マウス（陰性対照群およびアドバンテーム投与群 7 匹、陽性対照群 5 匹）
投与方法	アドバンテームを 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、500、1000 および 2000 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与
陰性対照物質	1%メチルセルロース水溶液
陽性対照物質	マイトマイシン C（用量：12mg/kg 体重）
標本作製時間	陰性対照群およびアドバンテーム投与群：投与 24 および 48 時間後の 2 回 陽性対照群：投与 24 時間後の 1 回
結果	陰性

5 - (2) - 7 アレルゲン性試験 ⁷²⁾

マウスを用いた局所リンパ節試験を実施した。アドバンテームをジメチルスルフォキシド（DMSO）に 10、25 および 50% w/v の濃度で溶解させ、CBA/Ca 雌マウス（各群 5 匹）の耳介に 3 日間連日塗布した。初回処置の 5 日後に耳介リンパ節を採取し測定を行った。また陰性対照として、媒体である DMSO、陽性対照として既知の感作性物質であるヘキシルシンナミックアルデヒドを用いた。

50% w/v 処置群において陽性の反応が認められたが、陽性の閾値を僅かに超えた程度であり（閾値：stimulation index (SI) = 3, アドバンテーム 50% w/v : SI = 3.3）、10 および 25% w/v 処置群の SI はいずれも 1.2 と陰性の結果であった。

本試験で観察された陽性反応は、アドバンテームが甘味料として使用される際に用いられる処置濃度をはるかに超えた濃度域で認められた弱い反応であり、また経口投与による動物の慢性毒性試験、およびヒトの反復投与試験ではアレルギー症状の発現を示唆する所見は観察されなかった。

5 - (2) - 8 一般薬理試験

中枢神経系、呼吸・循環器系および消化器系に及ぼす影響を確認するための試験を行った結果、いずれの試験においてもアドバンテームの影響は認められなかった。

1) 中枢神経系に及ぼす影響

雄の Han Wistar ラットを用い、Irwin 法による検討⁷³⁾、および自発運動量に及ぼす影響の検討を実施した。⁷⁴⁾ いずれの検討においてもアドバンテームを 1%メチルセルロース水溶液に懸濁し、10、100 および 1000mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与した。

いずれの検討においても、アドバンテーム投与による影響は認められなかった。

2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響⁷⁵⁾

1%メチルセルロース水溶液に懸濁したアドバンテームを 10、100 および 1000 mg/kg 体重の用量で、 α -クロラロース/ペントバルビタールナトリウム麻酔下、雄のビーグル犬に十二指腸内投与し、呼吸・循環器パラメーターに及ぼす影響を調べた。

上記の結果、アドバンテーム投与による影響は認められなかった。

3) 消化器系に及ぼす影響⁷⁶⁾

雄の Han Wistar ラットに 1%メチルセルロース水溶液に懸濁したアドバンテームを、10、100 および 1000 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与し、消化器系に及ぼす影響を検討した。アドバンテーム投与の 30 分後に炭末を経口投与し、幽門括約筋と盲腸間における炭末の移動距離によりその影響の評価を行った。

10 および 100 mg/kg 体重投与群では、炭末の移動距離に对照群との差は認められなかった。1000 mg/kg 体重投与群では炭末移動距離の有意な減少が認められたが、投与した物質の物理学的性質（粘性の高い懸濁液）に起因するものであり、薬理作用を示唆する変化ではないと考えられた。

上記の結果よりアドバンテーム投与による影響は認められないと判断した。

5 - (2) - 9 その他の試験

5 - (2) - 9 - (1) 急性経口毒性試験⁷⁷⁾

ラットを用いて急性毒性試験を実施した。アドバンテームを 1%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、5,000mg/kg 体重の投与量で強制経口投与した。試験期間中、動物の死亡は認められず、重篤な一般状態の変化も観察されなかった。以上の結果よりアドバンテームの概略の致死量は 5,000mg/kg 体重を超えるものと判断された。

5 - (2) - 9 - (2) 分解物の遺伝毒性試験^{78)・86)}

アドバンテームの分解物である ANS9801-acid、*N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- β -アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステル (β -ANS9801)、*N*-[*N*-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- β -アスパルチル]-L-フェニルアラ

ニン (β -ANS9801-acid)、HF-1 および *N*-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-L-アスパルチミド-L-フェニルアラニンメチルエステル (ANS9801-imide) の安全性を検討した。これらの分解物のうち、ANS9801-acid は安全性試験を実施したマウス、ラット、ウサギ、イヌおよびヒトの主代謝物であり、血漿中に検出されていることから、アドバンテームの安全性試験において ANS9801-acid の安全性も同時に評価されていると判断した。その他の 4 種の化合物 (β -ANS9801、 β -ANS9801-acid、HF-1 および ANS9801-imide) について、サルモネラ菌および大腸菌を用いた復帰突然変異試験⁷⁸⁾⁸⁰⁾⁸²⁾⁸⁴⁾、およびマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験を実施した⁷⁹⁾⁸¹⁾⁸³⁾⁸⁵⁾。

結果の総括を表 5-2-15 に示した。 β -ANS9801、 β -ANS9801-acid および HF-1 の 3 化合物では、いずれの試験とも陰性の結果であった。ANS9801-imide では復帰突然変異試験は陰性であったものの、マウスリンパ腫細胞による遺伝子突然変異誘発試験では陽性の反応が認められたことから、*in vivo* での遺伝毒性の発現を確認する目的で ANS9801-imide についてはマウスを用いた小核試験を実施した⁸⁶⁾。その結果小核試験においては陰性の判定であった。

【表 5-2-15】 アドバンテーム分解物遺伝毒性試験結果総括^{78)・86)}

評価物質	試験	判定
β -ANS9801	細菌を用いる復帰突然変異試験	陰性
	マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験	陰性
β -ANS9801-acid	細菌を用いる復帰突然変異試験	陰性
	マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験	陰性
HF-1	細菌を用いる復帰突然変異試験	陰性
	マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験	陰性
ANS9801-imide	細菌を用いる復帰突然変異試験	陰性
	マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異誘発試験	陽性
	マウスを用いた小核試験	陰性

5－(3) ヒトにおける知見^{52) 87) 88) 106)}

健常者において単回投与試験⁵²⁾、および4週間反復投与試験を実施した⁸⁷⁾。単回投与試験および反復投与試験とも、アドバンテームの最高用量は0.5mg/kg 体重/日とした。

単回投与試験では健常人男性(8名/群)に、0.1、0.25および0.5mg/kg 体重/日の用量でアドバンテームを単回投与した。その結果、投与に関連した有害事象の発現は認められず、またバイタルサインや臨床検査値への影響も認められなかった。

4週間反復投与試験では、健常成人男女(男性6名、女性6名の各群12名)にプラセボ(セルロース)、あるいはアドバンテーム10mg 含有カプセルを1日3回(アドバンテームの投与量: 30mg/day、0.375~0.5mg/kg 体重/日)、4週間反復投与した。その結果、アドバンテームを摂取した2例において有害事象(軽度な掻痒)が認められたが、そのうち投与との関連が否定できないと判断された事例は1例のみであった。アドバンテーム投与に関連したバイタルサインおよび臨床検査値の変動は認められず、血糖値および血中インスリン値への影響も認められなかった。

健常人に加えインスリン非依存性糖尿病(NIDDM)患者においても反復投与試験を実施した⁸⁸⁾。インスリン非依存性糖尿病(NIDDM)患者男女(男性18名、女性18名の各群36名)にプラセボ(セルロース)、あるいはアドバンテーム10mg 含有カプセルを1日3回(アドバンテームの投与量: 30mg/day、0.375~0.5mg/kg 体重/日)12週間投与した。14名の患者において合計19の有害事象が観察された。このうち1名の患者において認められた3つの有害事象(消化不良、鼓脹症、吐き気)はアドバンテーム投与との関連が否定できないと判断されたが、投与終了時点までには回復した。アドバンテーム投与によるバイタルサイン、臨床検査値、血糖値および血中インスリン値への影響は認められなかった。

5－（４） 一日摂取量に関する推計

5－（４）－１ 国民健康・栄養調査の食品群別摂取量に基づくアドバンテーム摂取量の推定

アドバンテームは、甘味料としてさまざまな食品に使用されることが推定される。各食品の推定糖類含量は、調味料で 2～10%、コーヒー・ココア等の飲料で 2～3%、乳酸菌飲料や炭酸飲料で 10～11% 程度である。平成 20 年度国民栄養調査の食品群別摂取量（総数）を元にした糖類推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えると仮定すると、アドバンテームの一日推定摂取量は、2.42mg/日（表 4）、日本人の平均体重を 50kg とすれば体重当りのアドバンテーム摂取量は、0.0484mg/kg 体重/日と推定された。ただし、高甘味度甘味料が使用された製品が多く流通している現在においても、糖類すべてを高甘味度甘味料で置き換えた製品は少なく、複数の高甘味度甘味料を併用することが一般的であることから、食品中の糖類をすべてアドバンテームに置き換えることは、過剰な見積もりと考えられる。

一方大量摂取をする消費者のアドバンテーム摂取量に関しては、以下の理由により推計の必要なしと判断した。

（１）H20 年度国民健康・栄養調査結果より、20 歳以上の炭水化物摂取量平均は 268.0 g/日/人、95%タイル摂取量は 404.7g/日/人であり、後者は前者の約 1.5 倍である。（標準偏差：83.1）

（２）「生産統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」（調査期間 H17～18 年度）の 1 日あたり甘味料推定摂取量から推定したショ糖換算摂取量（同等の甘味度を得るのに必要なショ糖の量）は約 3.9g/日/人であり（表 5-4-1-2 参照）、H20 年度国民健康・栄養調査から推定したショ糖摂取量 34.86g 日/人（表 5-4-1-1 参照）の約 11%である。

各人のショ糖摂取量が炭水化物摂取量にほぼ比例するものと仮定すれば、上記（１）の結果より、大量摂取を行う人のショ糖摂取量は通常レベルの摂取の人と比較して、1.5 倍程度の摂取量と推定される。上記（２）より、一人あたりが摂取する全甘味物質（ショ糖及び甘味料）のうち、甘味の 1 割程度が甘味料によると推定でき、残り 9 割はショ糖によると推定されることから、仮に大量摂取者が 1.5 倍量摂取したと仮定しても、ショ糖全量をアドバンテームに置き換えた上記の一日摂取量計算は大過剰の推定と考えられる。

【表 5-4-1-1】平成 20 年度国民健康・栄養調査結果の食品群別摂取量(総数)から推計した砂糖・アドバンテームの一日推定摂取量

食品名	食品摂取 量 (g)	ショ糖推 定摂取量 (g)	アドバンテ ーム添加量 (ppm)	アドバンテーム推定摂取量	
				(mg)	(mg/kg 体重/日)
穀類	448.8				
米・加工品	341.6				
米	336.4				
米加工品	5.2				
小麦・加工品	97.3				
小麦粉類	3.7				
パン類（菓子パン除く）	30.7	1.842	3.00	0.09	0.00184
菓子パン類	5.7	1.425	12.50	0.07	0.00143
うどん・中華麺類	38.7				
即席中華麺	4.6				
パスタ類	8.9				
その他小麦加工品	4.9				
その他の穀類・加工品	10.0				
そば・加工品	6.8				
トウモロコシ・加工品	0.4				
その他の穀類	2.8				
いも類	56.9				
いも・加工品	55.0				
さつまいも・加工品	7.5				
じゃがいも・加工品	26.4				
その他のいも・加工品	21.2				
でんぷん・加工品	1.9				
砂糖・甘味料類	6.7	6.633	49.50	0.34	0.00670
豆類	56.2				
大豆・加工品	54.8				
大豆(全粒)・加工品	1.5				
豆腐	35.2				
油揚げ類	7.7				
納豆	6.2				
その他の大豆加工品	4.2				
その他の豆・加工品	1.4				
種実類	1.8				

食品名	食品摂取 量 (g)	ショ糖推 定摂取量 (g)	アドバンテ ーム添加量 (ppm)	アドバンテーム推定摂取量	
				(mg)	(mg/kg 体重/日)
野菜類	282.8				
緑黄色野菜	93.4				
トマト	15.7				
ニンジン	19.4				
ほうれん草	18.2				
ピーマン	3.9				
その他の緑黄色野菜	36.2				
その他の野菜	166.4				
キャベツ	23.9				
きゅうり	8.8				
大根	37.6				
たまねぎ	29.4				
白菜	20.7				
その他の淡色野菜	45.9				
野菜ジュース	8.4				
漬物	14.6				
葉類漬物	5.1	0.2244	2.20	0.01	0.00022
たくあん・その他の漬物	9.5	0.855	4.50	0.04	0.00086
果実類	116.8				
生果	105.6				
いちご	0.1				
柑橘類	25.3				
バナナ	17.1				
りんご	23.4				
その他の生果	39.8				
ジャム	1.2	0.6	25.00	0.03	0.00060
果汁・果汁飲料	10.0	0.5	2.50	0.03	0.00050
きのこ類	15.3				
藻類	10.0				
魚介類	78.5				
生魚介類	48.4				
あじ・いわし類	10.6				
さけ・ます	4.3				
たい・かれい類	5.3				
まぐろ・かじき類	4.8				

食品名	食品摂取 量 (g)	シヨ糖推 定摂取量 (g)	アドバンテ ーム添加量 (ppm)	アドバンテーム推定摂取量	
				(mg)	(mg/kg 体重/日)
その他の生魚	8.8				
貝類	3.5				
いか・たこ類	5.5				
えび・かに類	5.4				
魚介加工品	30.1				
魚介（塩蔵、生干し、乾物）	17.5				
魚介（缶詰）	1.9				
魚介（佃煮）	0.3	0.03	5.00	0.00	0.00003
魚介（練り製品）	9.8	0.196	1.00	0.01	0.00020
魚肉ハム、ソーセージ	0.6	0.00996	0.83	0.00	0.00001
肉類	77.7				
畜肉	55.9				
牛肉	13.5				
豚肉	31.2				
ハム・ソーセージ類	11.0	0.11	0.50	0.01	0.00011
その他の畜肉	0.3				
鳥肉	19.4				
鶏肉	19.3				
その他の鳥肉	0.1				
肉類（内臓）	2.3				
その他の肉類	0.0				
鯨肉	0.0				
その他の肉・加工品	0.0				
卵類	33.6				
乳類	111.2				
牛乳・乳製品	111.2				
牛乳	82.7				
チーズ	2.0				
発酵乳・乳酸菌飲料	19.9	2.189	5.50	0.11	0.00219
その他の乳製品	6.6	0.132	1.00	0.01	0.00013
その他の乳類	0.0				
油脂類	9.5				
バター	0.9				
マーガリン	1.0				
植物性油脂	7.5				

食品名	食品摂取 量 (g)	シヨ糖推 定摂取量 (g)	アドバンテ ーム添加量 (ppm)	アドバンテーム推定摂取量	
				(mg)	(mg/kg 体重/日)
動物性油脂	0.1				
その他の油脂	0.0				
菓子類	26.8				
和菓子類	12.4	3.1	12.50	0.16	0.00310
ケーキ・ペストリー類	6.5	2.275	18.00	0.12	0.00234
ビスケット類	1.7	0.425	12.50	0.02	0.00043
キャンデー類	0.3	0.3	50.00	0.02	0.00030
その他の菓子類	5.8	1.45	12.50	0.07	0.00145
嗜好飲料類	597.2				
アルコール飲料	97.6				
日本酒	12.1				
ビール	56.5				
洋酒・その他	29.1				
その他の嗜好飲料	499.6				
茶	299.5				
コーヒー・ココア	118.8	3.564	3.10	0.37	0.00737
その他の嗜好飲料	81.2	5.684	9.40	0.76	0.01527
調味料・香辛料類	95.3				
調味料	95.0				
ソース	1.9	0.19	5.00	0.01	0.00019
しょうゆ	16.0				
塩	1.3				
マヨネーズ	2.8	0.056	1.00	0.00	0.00006
味噌	11.7				
その他の調味料	61.4	3.07	2.50	0.15	0.00307
香辛料・その他	0.3				
補助栄養素・特定保健用食品	13.2				
合計	5891.8	34.86		2.42	0.0484

【表 5-4-1-2】「生産統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」（調査期間 H17～18 年度）の甘味料摂取量から推計した一日当りシヨ糖換算摂取量

甘味料名	一日摂取量 (mg/日/人)	甘味度*	シヨ糖換算摂取量 (mg/日/人)
アスパルテーム	1.88	200	376
アセスルファムカリウム	2.65	200	530
キシリトール	130.5	1	131
グリチルリチン酸二ナトリウム	0.043	200	9
サッカリン	0.0017	500	1
サッカリンナトリウム	4.96	200	992
スクラロース	1.59	600	954
D-ソルビトール	1490	0.6	894
D-マンニトール	6.5	0.5	3
シヨ糖換算摂取量総計 (mg/日/人)			3889

*；シヨ糖の甘味度を 1 とする。

5－（４）－２ 砂糖・異性化糖・加糖調製品の年間需要量に基づくアドバンテーム摂取量の推定

国内における砂糖、異性化糖、加糖調製品(砂糖の量に換算)の年間需要量^{*1}を元に、これらすべてをアドバンテームに置き換えた場合を想定した。アドバンテームの甘味度を 20000(ショ糖の甘味度を 1 とする) と仮定して、アドバンテームの年間需要量、及びそれを人口^{*2} と日数で割った一人当たり一日摂取量を計算すると、3.57mg/日と推定され、体重 50kg と仮定すれば、体重当たり摂取量は 0.0714 (mg/kg 体重/日)と推定された。

アドバンテーム年間需要量 = 3,330,000(t/年) ^{*1} ÷ 20000 = 166.5 (t/年)

アドバンテームの一人当たり一日摂取量 = 166.5 (t/年) ÷ 127,771,000(人) ^{*2} ÷ 365(日) × 10⁹ = 3.57 (mg/日)

体重 50kg として、体重当りに換算すると、3.57 (mg/日) = 0.0714 (mg/kg 体重/日)

[参考]

砂糖の一人当たり一日摂取量 = 3,330,000(t/年) ^{*1} ÷ 127,771,000(人) ^{*2} ÷ 365(日) × 10⁶ = 71.40 (g/日)

^{*1}； 独立行政法人農畜産振興機構 “平成 20 年度甘味料の需要実態調査の概要” より

【平成 19 年度国内需要量(t)】

砂糖	2,197,000
異性化糖	824,000
<u>加糖調製品</u>	<u>309,000</u>
合計	3330,000

^{*2}； 総務省統計局統計データ 平成 19 年 10 月 1 日現在確定値

5 - (4) - 3 分解物の推定摂取量 (フェニルアラニン・メタノール以外)

平成 20 年度国民栄養調査の食品群別摂取量を元にした砂糖推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えた場合のアドバンテーム推定摂取量は、2.42mg/日(体重 50kg として $48\mu\text{g/kg}$ 体重/日)程度と考えられ、酸性溶液(pH3.2)中、20℃、8 週保存と同程度の分解を受けていると仮定 47)すると、ANS9801-acid 摂取量は、 $4.97\mu\text{g/kg}$ 体重/日程度と推定され、微量分解物である β -ANS9801 は $0.275\mu\text{g/kg}$ 体重/日、 β -ANS9801-acid は $0.075\mu\text{g/kg}$ 体重/日、ANS9801-imide は $0.225\mu\text{g/kg}$ 体重/日、HF-1 は $0.125\mu\text{g/kg}$ 体重/日、L-フェニルアラニンメチルエステルは、 $0.05\mu\text{g/kg}$ 体重/日程度と推定される。これらの推定摂取量は、砂糖推定摂取量全量をアドバンテームで置き換えたという仮定で推定しており、実際にはありえない過大な推定摂取量と考えられる。

【表 5-4-2】平成 20 年度国民栄養調査の食品群別摂取量から推定したアドバンテーム分解物の一日推定摂取量

食品名	アドバンテーム 推定摂取量 ($\mu\text{g/kg}$ 体重/ 日)	製造後及び保存後の推定摂取量 ($\mu\text{g/kg}$ 体重/日)							
		アドバンテーム	ANS9801-acid	β -ANS9801	β -ANS9801-acid	ANS9801-imide	HF-1	L-フェニルアラニンメチル エステル	L-フェニル アラニン
パン類 (菓子パン除く)	1.842	1.548	0.2196	0.0122	0.0033	0.0099	0.0055	0.0022	0.0000
菓子パン類	1.425	1.198	0.1899	0.0094	0.0028	0.0077	0.0043	0.0017	0.0000
砂糖・甘味料類	8.700	0.000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
菓類漬物	0.224	0.189	0.0287	0.0015	0.0004	0.0012	0.0007	0.0003	0.0000
たくあん・その他の漬物	0.855	0.719	0.1019	0.0058	0.0015	0.0048	0.0028	0.0010	0.0000
ジャム	0.800	0.504	0.0715	0.0040	0.0011	0.0032	0.0018	0.0007	0.0000
果汁・果汁飲料	0.500	0.420	0.0598	0.0033	0.0009	0.0027	0.0015	0.0008	0.0000
魚介(佃煮)	0.030	0.025	0.0038	0.0002	0.0001	0.0002	0.0001	0.0000	0.0000
魚介(練り製品)	0.196	0.165	0.0234	0.0013	0.0004	0.0011	0.0008	0.0002	0.0000
魚肉ハム、ソーセージ	0.010	0.008	0.0012	0.0001	0.0000	0.0001	0.0000	0.0000	0.0000
ハム・ソーセージ類	0.110	0.092	0.0131	0.0007	0.0002	0.0008	0.0003	0.0001	0.0000
発酵乳・乳酸菌飲料	2.189	1.840	0.2809	0.0144	0.0039	0.0118	0.0088	0.0028	0.0000
その他の乳製品	0.132	0.111	0.0157	0.0009	0.0002	0.0007	0.0004	0.0002	0.0000
和菓子類	3.100	2.608	0.3895	0.0205	0.0058	0.0167	0.0093	0.0037	0.0000
ケーキ・パストリー類	2.340	1.987	0.2789	0.0154	0.0042	0.0128	0.0070	0.0028	0.0000
ビスケット類	0.425	0.357	0.0507	0.0028	0.0008	0.0023	0.0013	0.0005	0.0000
キャンデー類	0.300	0.252	0.0358	0.0020	0.0005	0.0016	0.0009	0.0004	0.0000
その他の菓子類	1.450	1.219	0.1728	0.0098	0.0028	0.0078	0.0044	0.0017	0.0000
コーヒー・ココア	7.388	6.192	0.8780	0.0488	0.0133	0.0398	0.0221	0.0088	0.0000
その他の嗜好飲料	15.288	12.832	1.8197	0.1008	0.0275	0.0824	0.0458	0.0183	0.0000
ソース	0.190	0.160	0.0226	0.0013	0.0003	0.0010	0.0006	0.0002	0.0000
マヨネーズ	0.058	0.047	0.0087	0.0004	0.0001	0.0003	0.0002	0.0001	0.0000
その他の調味料	3.070	2.581	0.3859	0.0203	0.0055	0.0168	0.0092	0.0037	0.0000
合計	48.376	35.032	4.9677	0.2751	0.0750	0.2250	0.1250	0.0500	0.0000

5－（４）－４ フェニルアラニンの推定摂取量

フェニルアラニンの血中濃度が上昇しやすいフェニルケトン尿症患者を考慮し、フェニルアラニン摂取量を推定した。フェニルアラニンは、アドバンテームの原体中では検出されず、通常の飲料での最適使用濃度である 9.4ppm の場合には、pH3.2、20℃、8 週間保存後に検出不能なレベルであるが、更に高温かつ低い pH の条件で保存した場合、及び長期にわたり保存した場合に、分解物として検出される。

アドバンテームを摂取した場合、体内で速やかに ANS9801-acid に変換され、主な代謝物として尿や糞便中に排泄されることから、アドバンテーム摂取によってフェニルアラニン摂取量が増加するリスクは無視できると考えられる。

平成 20 年度国民栄養調査の食品群別摂取量を元にした糖類推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えた場合のアドバンテーム推定摂取量は、2.42mg/日(体重 50kg として $48\mu\text{g/kg}$ 体重/日)程度と考えられ、実際には起こりえないが、摂取されたアドバンテームがすべてフェニルアラニンに変換されると仮定する(アドバンテーム分子量：476.52、フェニルアラニン分子量：165.19 より、アドバンテーム重量の 34.67%がフェニルアラニンに変換される)と、フェニルアラニン推定摂取量は $839\mu\text{g/日}$ (体重 50kg として $16.8\mu\text{g/kg}$ 体重/日)程度と推定される。これは、健常人の一日当りフェニルアラニン推定摂取量 2.20～3.71g/日*(20 歳以上で平均 3.45 g/日、69.0mg/kg 体重/日)と比較して、十分に低い摂取量であると考えられる。

一方、日本におけるフェニルケトン尿症患者のフェニルアラニン摂取量の目安は、2 歳児で 200～220mg/日、5～14 歳で 300～600 mg/日とされていることから¹⁰⁷⁾、アドバンテーム推定摂取量から推定されたフェニルアラニン摂取量は、本摂取量目安の 0.42%以下に相当する。

上記フェニルアラニン推定摂取量は、食品中の砂糖をすべてアドバンテームに置き換え、なおかつ摂取されたアドバンテーム全量がフェニルアラニンに分解される、という実際には起こりえない状況を仮定している。従って、アドバンテーム摂取による実際のフェニルアラニン摂取量は、本推定値より大幅に少なくなると考えられる。

以上の比較に基づき、アドバンテーム使用によるフェニルアラニン摂取量は、日常の食事からの摂取量と比較し、十分少ない量と考えられ、安全上何ら問題はないと考えられる。

*；平成 17 年度国民栄養調査結果に基づき、以下の推計を行った。フェニルアラニンは、蛋白質中 5 %含まれるとして計算。

【表 5-4-3】 蛋白質摂取量から推定したフェニルアラニン摂取量

	一日当り蛋白質摂取量	フェニルアラニン推定摂取量(一人当たり)	フェニルアラニン推定摂取量(50kgとして体重当り)
年齢階級別最低値	43.9 g/日 (1～6 歳)	2.195 g/日	
年齢階級別最大値	74.1g/日 (60～69 歳)	3.705 g/日	
20 歳以上 平均値	69.0 g/日	3.450 g/日	69.0mg/kg/日

**； 食事療法ガイドブック(社団法人 恩賜財団母子愛育会)¹⁰⁷⁾より、以下の数値を参照。

【表 5-4-4】 フェニルケトン尿症のための栄養素摂取目標量の目安

	6 ヶ月	12 ヶ月	2 歳	5 歳	8 歳	11 歳	14 歳
フェニルアラニン 摂取目安量 (mg/日)	250 ～ 300	240 ～ 260	200 ～ 220	300	400	500	600

5－（４）－５ メタノールの推定摂取量

アドバンテームから分解物である ANS9801-acid が生じる際、及び微量分解物である L-フェニルアラニンメチルエステルが加水分解する際にメタノールを生じる。摂取したアドバンテームがすべてメタノールに分解された場合を想定すると、一分子のアドバンテームから一分子のメタノールが生じることになる。

平成 20 年度国民栄養調査の食品群別摂取量を元にした糖類推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えた場合のアドバンテーム推定摂取量は、2.42mg/日(48 μ g/kg 体重/日)であることから、これがすべてメタノールに分解された場合を想定すると、メタノール推定摂取量は 163 μ g/日 (3.25 μ g/kg 体重/日) (メタノール分子量：32.04、アドバンテーム分子量：476.52)となる。

同様に一般的な炭酸飲料の甘味をアドバンテームで置き換えた場合（アドバンテーム添加量 9.4ppm=9.4mg/L）、炭酸飲料中のメタノール量は理論上最大 0.632mg/L(=32.04(メタノール分子量) x9.4÷476.52(アドバンテーム分子量)x1000)となる。他の飲料のメタノール含量は、例えばトマトジュースでは約 0.02%(=200mg/L)、ワインでは 0.006%～0.02%(= 60～200mg/L)程度であることから、日々の食事から摂取されるメタノール量と比し、十分に少ない量であると考えられる。

6. 使用基準案

6－（１）食品への使用量について ^{89)・96)}

アドバンテームはショ糖の 14000～48000 倍、アスパルテームの 90～120 倍程度の甘味倍率を示す。

官能試験により求めた、代表的な食品におけるアドバンテームの最適使用量、最少使用量、最大使用量の例を以下の表にまとめた。

甘味に関して 5 段階評価を行い(1：甘さが弱すぎる、2：甘さがやや弱い、3：甘さがちょうど良い、4：甘さがやや強い、5：甘さが強すぎる)、最適使用量、最少使用量、最大使用量は、以下の基準により決定した。

最適使用量： 最も多くの官能検査員が、“3. 甘さがちょうど良い”と判断した使用量

最少使用量： 75%以上の官能検査員が、“1：甘さが弱すぎる”または“2：甘さがやや弱い”と判断した使用量

最大使用量： 75%以上の官能検査員が、“5：甘さが強すぎる”または“4：甘さがやや強い”と判断した使用量

【表 6-1】代表的な食品におけるアドバンテーム使用量^{89)・96)}

食品	評価した用量 (ppm)	最適使用量 (ppm)	最少使用量 (ppm)	最大使用量 (ppm)	試験番号
卓上用 (アイスコー ヒー中)	0.6, 1.4, 2.3, 3.1, 6.4, 10.9, 16.4	3.1	0.6	6.4	S-0002
粉末飲料	1.0, 2.0, 4.0, 5.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0* ¹	4.0	1.0	12.0	S-0005
炭酸飲料 (コーラ)	2.2, 4.4, 8.3, 9.4, 10.6, 13.3, 26.7, 33.3	9.4	2.2	33.3	S-0003
低温殺菌飲料	0.5, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, 15.0	4.0	0.5	15.0	S-0007
アイスティー	0.5, 1, 3, 5, 10	3	0* ²	8.0* ²	24705
イエローケー キ	0.01, 0.1, 1.0, 8.0, 18.0, 35.0, 70.0, 100.0, 170.0	18.0	0.01	170.0	S-0010
ヨーグルト	1.0, 2.0, 6.0, 10.0, 20.0, 40.0	6.0	2.0	40.0	S-0008
チューインガ ム	1, 10, 100, 200, 400, 800, 1000, 1500	400	<1* ³	>1500* ³	S-0009

*¹ ; 飲料溶液中での濃度

*² ; ロジスティック回帰分析による予想値

*³ ; 評価に用いた用量で、判定基準(75%以上の官能検査員が、上位 2 段階または下位 2 段階と評価した)を満足する用量が決定できなかった。

6－（２）摂取量に関して （詳細は安全性の項目“４．一日摂取量の推計等”を参照）

アドバンテームは、甘味料としてさまざまな食品に使用されることが推定される。平成 17 年度国民栄養調査の食品群別摂取量（総数）を元にした糖類推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えると仮定すると、アドバンテームの一日推定摂取量は、2.42mg/日、日本人の平均体重を 50kg とすれば、体重当りのアドバンテーム摂取量は、0.0484mg/kg 体重/日と推定された。

一方、国内における砂糖、異性化糖、加糖調製品(砂糖の量に換算)の年間需要量を元に、これらすべてをアドバンテームに置き換えた場合を想定し、アドバンテームの甘味度を 20000 と仮定し

て、アドバンテームの年間需要量、及び一人当たり一日摂取量を計算すると、3.57mg/日とななり、体重 50kg と仮定すれば、体重当り摂取量は 0.0714 (mg/kg 体重/日)となる。

ただし、高甘味度甘味料が使用された製品が多く流通している現在においても糖類をすべて高甘味度甘味料で置き換えた製品は少なく、また高甘味度甘味料自体も複数素材を併用することが一般的であることから、食品中の糖類をすべてアドバンテームに置き換える前記 2 つの推定は、いずれも過剰な見積もりと考えられる。

6－（３）使用基準案について

以下の理由により、アドバンテームに関して GMP に基づき適正に使用される限り、使用基準を設定する必要はないと考える。

- ① アドバンテーム投与期間が最長であったラットの一年間反復投与/発がん試験併合試験（2 年間混餌投与を実施）において毒性が認められなかった最大の投与量（NOAEL と仮定）は約 2,600mg/kg 体重/日（オス）であることから^{64）}、安全係数を 100 とすれば ADI は 26mg/kg 体重/日と算出される。国民栄養調査の食品群別摂取量から推定した糖類摂取量をすべてアドバンテームで代替した場合のアドバンテームの一日推定摂取量 0.0484 (mg/kg 体重/日)と ADI(26mg/kg 体重/日)を比較すると 500 倍以上の開きがあることから、大きな安全域を確保できると考えられる。
- ② アドバンテームは甘味の発現がやや遅く甘味が持続するという時間的特性を有していることから、単独で使用されるよりも、砂糖や他の高甘味度甘味料等と併用される可能性が高い。
- ③ 甘味度がショ糖の 14000～48000 倍と非常に高いことから、過剰摂取の可能性は低いと考えられる。

7. その他

7- (1) L-フェニルアラニン化合物である旨の注意喚起について

フェニルアラニン摂取量の推定

フェニルアラニンの血中濃度が上昇しやすいフェニルケトン尿症患者を考慮し、フェニルアラニン摂取量を推定した。フェニルアラニンは、アドバンテームの原体中では検出されず、通常の飲料の最適使用濃度である 9.4ppm 程度の場合には、pH3.2、20℃、8 週間保存後に検出不能なレベルであるが、更に高温かつ低い pH の条件で保存した場合、及び長期にわたり保存した場合に、分解物として検出される⁴⁷⁾。

平成 17 年度国民栄養調査の食品群別摂取量を元にした糖類推定摂取量を、すべてアドバンテームに置き換えた場合のアドバンテーム推定摂取量は、2.42mg/日(体重 50kg として 48 μ g/kg 体重/日)程度と考えられ、実際には起こりえないが、摂取されたアドバンテームがすべてフェニルアラニンに変換されると過程すると、フェニルアラニン推定摂取量は 839 μ g/日(体重 50kg として 16.8 μ g/kg 体重/日)程度と推定される。これは、健常人の一日当りフェニルアラニン推定摂取量 2.20~3.71g/日(20 歳以上で平均 3.45 g/日、平均体重 50kg として 69.0mg/kg 体重/日)と比較して十分に低い摂取量であると考えられる。

一方、日本におけるフェニルケトン尿症患者のフェニルアラニン摂取量の目安は、2 歳児で 200~220mg/日、5~14 歳で 300~600 mg/日とされていることから¹⁰⁷⁾、アドバンテーム推定摂取量から算出したフェニルアラニン摂取量は、本摂取量目安の 0.42%以下に相当する。

上記フェニルアラニン推定摂取量は、食品中の糖類をすべてアドバンテームに置き換え、かつ摂取されたアドバンテーム全量がフェニルアラニンに分解される、という実際には起こりえない状況を仮定している。従って、アドバンテーム摂取による実際のフェニルアラニン摂取量は、本推定値より大幅に少なくなると考えられる。

生体内でのアドバンテームの代謝

ヒトがアドバンテームを経口摂取した場合(0.25mg/kg)、大部分が消化管内ですみやかに加水分解され、ANS9801-acid が生成される。投与後 5 日以内に大部分が、尿及び糞便中に排泄されるが、排泄される主要代謝物は ANS9801-acid であり、主に糞便中に排泄される⁵²⁾⁵³⁾。投与後 7 日以内の ANS9801-acid の糞中排泄量は投与量の 52%、ANS9801-acid がさらに分解を受けた代謝物である HF-1 の糞中排泄量は投与量の 30%に達し、尿中排泄量は、ANS9801-acid が 2.3%、HF-1 が 1.0%、HU-1 が 1.9%であった。

以上の結果から、アドバンテームの主要代謝物は ANS9801-acid であり、大部分はそのまま排泄されることから、体内で生じるアドバンテーム由来のフェニルアラニンは極めて微量であると考えられる。

食品中でのアドバンテームの分解

アドバンテームは酸性溶液中徐々に分解を受けるが、アドバンテーム 50ppm を含有する模擬飲料(pH3.2)を、20℃で 8 週間及び 26 週間保存した際の主要分解物は ANS9801-acid であり、濃度は 8 週保存で 5.96ppm、26 週保存で 14.37ppm であり、フェニルアラニン濃度は 8 週保存では検出限界以下、26 週保存で 0.10ppm であった⁴⁷⁾。

アドバンテーム原体の保存安定性

アドバンテーム原体は長期保存試験⁷⁾、加速試験⁸⁾の結果、安定であることが確認されている。

既存類似甘味料ネオテームとの推定摂取量比較

ネオテームはアドバンテームと構造が類似したフェニルアラニン誘導体であるが、フェニルアラニン誘導体である旨の表示を義務付けられているアスパルテームと比較して甘味度が高いことから、推定摂取量が低く見積もられ、フェニルアラニン化合物である旨の表示が義務付けられていない。ショ糖濃度 3～9%の範囲に置いて、ネオテームでは甘味度が砂糖の 6600～13000 倍、アドバンテームでは 25600～47800 倍に相当し、アドバンテームはネオテームより高い甘味度を有する²⁴⁾。よってアドバンテームの推定摂取量はネオテームより更に低く、一日当りのフェニルアラニン最大摂取量は半分程度と推定される。(表 7-1)

【表 7-1】ネオテームとアドバンテームの推定摂取量比較

	一日推定摂取量*		Phe最大摂取量**	
	(mg)	(mg/kg体重/日)	(mg)	(mg/kg体重/日)
ネオテーム	3.84	0.0768	1.68	0.0336
アドバンテーム	2.42	0.0484	0.839	0.0168

*；ネオテームは平成 13 年度、アドバンテームは平成 20 年度の国民健康・栄養調査の食品群別摂取量成績に基づき、糖類がすべてこれら甘味料で代替されたという仮定で推定。

**；摂取された甘味料の全量が Phe に変換されるという仮定で計算。

総括

国民栄養調査の食品群別摂取量を元にした糖類推定摂取量をすべてアドバンテームに置き換え、更に摂取されたアドバンテームがすべてフェニルアラニンに変換されると仮定した場合、アドバンテームからのフェニルアラニン摂取量は、フェニルケトン尿症患者の摂取量目安量の 0.42%以下に相当する。

ヒトでの体内動態に関して、アドバンテームは大部分が代謝物 ANS9801-acid として主に糞便中に排泄されること、食品中でのアドバンテームの安定性に関して、過度な条件において微量分解物としてフェニルアラニンが検出されるものの、主要分解物は ANS9801-acid であることから、アドバンテームがすべてフェニルアラニンに変換されて摂取される可能性はないと考えられる。

また、アドバンテームは既存類似甘味料ネオテームより甘味度がさらに高いことから、フェニルアラニンの推定最大摂取量がネオテームの約半分と推定される。

以上のことから、アドバンテームに関してはネオテームと同様、フェニルアラニン化合物である旨の注意喚起を行う必要はないと考えられた。

8. 引用文献

2. 起源または発見の経緯及び外国における使用状況

【2－（1）起源または発見の経緯】

- 1) 網野裕右、湯沢和子、竹本正、中村良一郎 特許第 3959964 号（2007 年）（資料番号 2-1-1）
- 2) 網野裕右、アスパルテームの構造活性相関研究から生まれた超高甘味度甘味料，化学と工業 第 55 巻 第 10 号 1128－1130（2002）.
- 3) M. Goodman, J. R. Del Valle, Y. Amino, and E. Benedetti, Molecular basis of sweet taste in dipeptide taste ligands. Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 7, pp. 1109-1116, 2002.
- 4) Y. Amino, K. Mori, Y. Tomiyama, H. Sakata, and T. Fujieda, Development of New, Low Calorie Sweetener: New Aspartame Derivative; D. K. Weerasinghe, G. E. DuBois, Eds; ACS Symposium Series 979, American Chemical Society, Washington, DC, 2008; p463-p480.

【2－（2）外国における使用状況】

- 5) FEMA-GRAS letter(2010年), The Expert Panel of the Flavor and Extract Manufacturers Association of the United States （資料番号2-2-1）

3. 物理化学的性質及び成分規格

【3－（4）製造法】

- 6) HMCAの規格及び試験方法(平成17年)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書（資料番号3-4-1）

【3－（5）原末の安定性】

- 7) 加藤修司、ANS9801 原体の安定性試験（長期保存試験）（2007 年）（試験番号 AM-M9-822）、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書（資料番号 3-5-1）
- 8) 加藤修司、ANS9801 原体の安定性試験（加速試験）（2002 年）（試験番号 AM-M9-821）、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書（資料番号 3-5-2）
- 9)加藤修司、ANS9801 原体の安定性試験（加速試験）最終報告書変更書(2004 年）（試験番号 AM-M9-821）、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書（資料番号 3-5-3）

【3－（7）規格】

- 10) 永久俊司、ANS9801の赤外吸収スペクトル測定（2004年）（試験番号ANS9801-P22-R1）、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書（資料番号3-7-1-1）

- 11) 永久俊司、ANS9801原体の類縁物質試験法の分析法バリデーション及びロット分析(2004年) (試験番号ANS9801-V23-R0)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書 (資料番号3-7-1-2)
- 12) 永久俊司、ANS9801原体の類縁物質試験法の追加の分析法バリデーション(2005年) (試験番号ANS9801-V23-R1)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書 (資料番号3-7-1-3)
- 13) 永久俊司、ANS9801原体の定量法(HPLC、内標準法)の分析法バリデーション(2004年)(試験番号ANS9801-V15-R0)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書 (資料番号3-7-1-4)
- 14) 永久俊司、ANS9801原体の定量法(HPLC、内標準法)の追加の分析法バリデーション(2005年) (試験番号ANS9801-V15-R1) (資料番号3-7-1-5)
- 15) 永久俊司、ANS9801の原子吸光光度法による鉛試験 (ロット分析) (2004年)(試験番号501090371)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-1)
- 16) 加藤修司、ANS9801の規格試験(2001年) (試験番号AM-M0-200)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-2)
- 17) 加藤修司、ANS9801の規格試験(2)(2001年) (試験番号AM-M0-240)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-3)
- 18) 加藤修司、ANS9801の規格試験(3)(2001年) (試験番号AM-M0-270)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-4)
- 19) 加藤修司、ANS9801及びANS9891標準品のロット分析(2001年) (試験番号AM-M0-271)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-5)
- 20) 加藤修司、ANS9801の規格試験訂正書1(2002年) (試験番号AM-M0-271)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-6)
- 21) 加藤修司、ANS9801の規格試験訂正書2(2004年) (試験番号AM-M0-271)、株式会社応用医学研究所(札幌市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-7)
- 22) 永久俊司、ANS9801の規格試験 (ロット番号000530) (2004年)、味の素株式会社医薬カンパニー(川崎市)未発表報告書 (資料番号3-7-2-8)
- 23) 永久俊司、ANS9801の規格試験 (ロット番号: 000825) (2004年)、味の素株式会社医薬カ

4. 有効性

【4－（１）食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較】

24) Stephen Willis, Study of Sweetness Potency of ANS9801 Compared to Aspartame in Water. (2005) (Study No.13904), Tragon Corporation. (資料番号4-1-1)

25) Stephen Willis, Descriptive Analysis of ANS9801 Compared to Aspartame in Water. (2005) (Study No. 20505), Tragon Corporation (資料番号4-1-2)

26) 清涼飲料・酒類の糖度とブドウ糖含有量(2007年)、 東芝病院・糖尿病委員会 (Web発表データ)

【4－（２）食品中での安定性】

27) 木須直子. Tabletop 中の ANS9801 の安定性試験・長期保存試験 (試験番号: 1437009). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-1-1)

28) 阪田博之. Tabletop中のANS9801の機能性の試験 長期保存試験(25℃/60%RH) (試験番号: F-0003). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-1-2)

29) 木須直子. 炭酸飲料中の ANS9801 の安定性試験(25℃/60%RH) (2006) (試験番号 1455926). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-2-1)

30) 阪田博之. 炭酸飲料中のANS9801の機能性の試験(25℃/60%RH) (2009) (試験番号F-0012). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-2-2)

31) 木須直子. ホットパックオレンジジュース中の ANS9801 の安定性試験(25℃/60%RH) (2007)(試験番号 1458022). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-3-1)

32) 阪田博之. ホットパックオレンジジュース中のANS9801の機能性試験(25℃/60%RH) (2009)(試験番号F-0013). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-3-2)

33) 木須直子. ケーキ中ANS9801 保存安定性試験 (2010) (試験番号8157072) 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-4-1)

34) 阪田博之. ケーキ中ANS9801の機能性の試験(25℃/60%RH) (2010) (試験番号F-0019). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-4-2)

35) 木須直子. ヨーグルト中の ANS9801 の安定性試験(5℃) (2007) (試験番号 1471089). 株式会

社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-5-1)

36) 阪田博之. ヨーグルト中のANS9801の機能性の試験(5℃) (2009) (試験番号F-0017). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-5-2)

37) 木須直子. チューインガム中の ANS9801 の保全安定性試験(25℃/60%RH) (2009)(試験番号 8067033. 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-6-1)

38) 阪田博之. チューインガム中ANS9801の機能性の試験(25℃/60%RH) (2009)(試験番号 F-0018). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-6-2)

39) 木須直子. 粉末飲料中の ANS9801 の安定性試験 加速試験(40℃/75%RH) (2005) (試験番号 1445534). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-7-1)

40) 木須直子. 粉末飲料中の ANS9801 の安定性試験 中間的試験(30℃/65%RH) (2005) (試験番号 1445535). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-7-2)

41) 木須直子. 粉末飲料中の ANS9801 の安定性試験 長期保存試験(25℃/60%RH) (2006) (試験番号 1445536). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-2-7-3)

42) 阪田博之. 粉末飲料中の ANS9801 の機能性の試験 加速試験(40℃/75%RH) (2005) (試験番号 F-0007). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号 4-2-7-4)

43) 阪田博之. 粉末飲料中の ANS9801 の機能性の試験 中間的試験(30℃/65%RH) (2005) (試験番号 F-0008). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号 4-2-7-5)

44) 阪田博之. 粉末飲料中のANS9801の機能性の試験 長期保存試験(25℃/60%RH) (2005) (試験番号F-0009). 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号4-2-7-6)

【4-(3) アドバンテームの分解物】

45) Degradation of Advantame – Synthetic Report. 味の素株式会社(川崎市)未発表報告書 (資料番号 4-3-1)

46) 木須直子. 模擬飲料保管検体の HPLC(PDA)及び Co-Sense LC-MS 測定(2010)(試験番号なし). 株式会社住化分析センター(大阪市)未発表報告書 (資料番号 4-3-2)

47) 加藤修二. 模擬飲料中のANS9801の保存安定性試験 (2009) (試験番号AM-M9-2178). 株式会社応用医学研究所 (北海道石狩市) 未発表報告書(資料番号4-3-3)

5. 安全性

【5－（1）体内動態試験】

48) P. J. Aikens, 14C-ANS9801 and 14C-ANS9801-acid: Stability in Simulated Gastric and Intestinal Fluid. (2002). (Study No.: AJO173/013290). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-4-1)

49) P. J. Aikens, ANS9801: Pharmacokinetics of Single Dose in the Rat after Oral and Intravenous Administration. (2004). (Study No.: AJO184/034042). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-1-1)

50) P. J. Aikens, ANS9801: Metabolism in the Rat. (2005). (Study No.: AJO194/0429444). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-1-2)

51) P. J. Aikens, ANS9801: Metabolism and Pharmacokinetics in the Dog. (2005). (Study No.: AJO193/042943). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-2-1)

52) R. Yoshimoto. An Open, Dose Escalating Study to Determine the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetic Profile of ANS9801 in Healthy Male Volunteers (2004). (Study No.: ANSE-101). Unpublished report from Ajinomoto Pharmaceuticals Europe Ltd. Redhill, Surrey, U.K. (資料番号5-1-3-1)

53) R. Yoshimoto. An Open Label Study to Investigate the Absorption, Pharmacokinetics, Metabolism and Excretion of a Single Oral Dose of 14C-ANS9801 in Healthy Male Volunteers. (2005). (Study No.: ANSE-102). Unpublished report from Ajinomoto Pharmaceuticals Europe Ltd., London, U.K. (資料番号5-1-3-2)

54) P. J. Aikens, ANS9801: Tissue Distribution in the Male Rat. (2002). (Study No.: AJO181/013583). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-1-3)

55) T. J. Kane, ANS9801: Determination of the Distribution in Rats by Whole-body Autoradiography. (2004). (Study No.: AJO217/042246). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-1-4)

56) P. J. Aikens, ANS9801: Tissue Distribution in the Male Dog. (2002). (Study No.: AJO191/022818). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-2-2)

57) P. J. Aikens, 14C-ANS9801 and 14C-ANS9801-acid: Studies of Plasma Protein Binding in vitro (Rat, Dog and Human). (2004). (Study No.: AJO213/033887). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-1-4-2)

《5－(2) 毒性試験》

亜急性毒性及び慢性毒性

58) K. Chase. ANS9801: Toxicity Study by Dietary Administration to Han Wistar Rats for 13 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period. (2004). (Study No.: AJO176/014075). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-1-1)

59) L. A. J. Powell. ANS9801: Toxicity Study by Dietary Administration to Beagle Dogs for 13 Weeks Followed by a 4 Week Recovery Period. (2005). (Study No.: AJO179/014664). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-1-2)

60) L. A. J. Powell. ANS9801: Toxicity study by Oral Dietary Administration to Beagle Dogs for 52 Weeks Followed by a 6 Week Recovery Period. (2005). (Study No.: AJO196/034055). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-1-3)

発がん性試験

61) C. Horne. ANS9801: Carcinogenicity Study by Dietary Administration to CD-1 Mice for 104 Weeks. (2006). (Study No.: AJO198/033050). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-2-1)

62) C. Horne. ANS9801: Carcinogenicity Study by Dietary Administration to CD-1 Mice for 104 weeks - Additional Histopathology. (2011). (Study No.: BKB0020). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-2-2)

一年反復投与/発がん性併合試験

63) C. Horne. ANS9801: Combined Carcinogenicity and Toxicity Study by Dietary Administration to Han Wistar Rats for 104 Weeks with an in utero Exposure Phase. INTERIM REPORT (2005). (Study No.: AJO195/033047). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-3-1)

64) C. Horne. ANS9801: Combined Carcinogenicity and Toxicity Study by Dietary Administration to Han Wistar Rats for 104 Weeks with an in utero Exposure Phase. (2006).

(Study No.: AJO195/033048). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-3-2)

生殖毒性試験

65) C. R. Willoughby. ANS9801: Study of Reproductive Performance in CD Rats Treated Continuously Through Two Successive Generations by Dietary Administration. (2004). (Study No.: AJO203/033888). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-4-1)

出生前発生毒性試験

66) C. R. Willoughby. ANS9801: Study of Effects on Embryo-fetal Development in CD Rats Treated by Dietary Administration. (2002). (Study No.: AJO182/014156). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-5-1)

67) S. M. Fulcher. ANS9801: Study of Effects on Embryo-fetal Toxicity in the Rabbit by Oral Gavage Administration. (2003). (Study No.: AJO190/022479). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-5-2)

68) スクラローズに関する食品衛生調査会毒性・添加物合同部会報告 (1999) . Foods & Food Ingredients Journal of Japan No. 182, 123-126. (資料番号5-2-5-3)

遺伝毒性試験

69) K. May. ANS9801: Bacterial Mutation Assay. (2001). (Study No.: AJO154/012404). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-6-1)

70) M. G. Clare. ANS9801: Mammalian Cell Mutation Assay. (2002). (Study No.: AJO159/013035). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-6-2)

71) Z. Mehmood. ANS9801: Mouse Micronucleus Test. (2001). (Study No.: AJO160/013188). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-6-3)

アレルギー性試験

72) A. D. Bull. ANS9801: Assessment of Skin Sensitization Potential using the Local Lymph Node Assay in the Mouse (Individual Animal Approach). (2011). (Study No. BKB0011). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-7-1)

一般薬理試験

1)中枢神経に及ぼす影響

73) C. N. Williams. ANS9801: Irwin Dose-range in Rats Followed Oral Administration. (2001). (Study No.: AJO161/012397). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-8-1)

74) C. N. Williams. ANS9801: Assessment of Locomotor Activity in Rats Following Oral Administration. (2001). (Study No.: AJO162/012597). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-8-2)

2)呼吸・循環器系に及ぼす影響

75) S. M. Jordan. ANS9801: Cardiovascular and Respiratory Evaluation in the Anaesthetised Dog Following Intraduodenal Administration. (2001). (Study No.: AJO163/012426). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-8-3)

3)消化器系に及ぼす影響

76) C. N. Williams. ANS9801: Charcoal Propulsion Test in Rats Following Oral Administration. (2001). (Study No.: AJO164/012575). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-8-4)

その他の試験

1) 急性経口毒性試験

77) E. L. Blanchard. ANS9801: Acute Oral Toxicity to the Rat (Acute Toxic Class Method). (2001). (Study No.: AJO155/012600/AC). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd. Huntingdon, Cambridgeshire, U.K. (資料番号5-2-9-1)

2) 分解物の遺伝毒性試験

78) 木村 葵. β -ANS9801 の細菌を用いる復帰突然変異試験. (2009). (試験番号: SBL043-021). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-2)

79) 木村 葵. β -ANS9801 のマウスリンフォーマ TK 試験. (2009). (試験番号: SBL043-022). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-3)

80) 木村 葵. ANS9801-imide 塩酸塩の細菌を用いる復帰突然変異試験. (2009). (試験番号: SBL043-023). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-4)

81) 木村 葵. ANS9801-imide 塩酸塩のマウスリンフォーマ TK 試験. (2009). (試験番号: SBL043-024). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-5)

82) 木村 葵. β -ANS9801-acid の細菌を用いる復帰突然変異試験. (2009). (試験番号: SBL043-025). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-6)

83) 木村 葵. β -ANS9801-acid のマウスリンフォーマ TK 試験. (2009). (試験番号: SBL043-026). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-7)

84) 木村 葵. HF-1 の細菌を用いる復帰突然変異試験. (2009). (試験番号: SBL043-027). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-8)

85) 木村 葵. HF-1 のマウスリンフォーマ TK 試験. (2009). (試験番号: SBL043-028). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-9)

86) 木村 葵. ANS9801-imide 塩酸塩のマウスを用いる小核試験. (2009). (試験番号: SBL043-033). 株式会社新日本科学報告書 (資料番号 5-2-9-10)

《5 - (3) ヒトにおける知見》

87) T. Narita. Safety and Tolerability Assessment of Multiple Daily Doses of ANS9801: Part 1 4-Week Administration to Normal Healthy Human Subjects. (2006). (Study No.: ANSE-103a). Unpublished report from Ajinomoto Pharmaceuticals Europe Ltd., London, U.K. (資料番号 5-3-1)

88) Y. Ogura. Safety and Tolerability Assessment of Multiple Daily Doses of ANS9801: Part 2 12-Week Safety Study of ANS9801 Administered to Subjects with Type 2 Diabetes. (2006). (Study No.: ANSE-103b). Unpublished report from Ajinomoto Pharmaceuticals Europe Ltd., London, U.K.. (資料番号 5-3-2)

6. 使用基準案

《6 - (1) 食品への使用量について》

89) 卓上用甘味料中の ANS9801 のアイスコーヒーにおける甘味レベルの試験(試験番号 S-0002) (資料番号 6-1-1)

90) 粉末飲料中の ANS9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0005) (資料番号 6-1-2)

91) 炭酸飲料中の ANS9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0003) (資料番号 6-1-3)

92) 低温殺菌飲料中の ANS9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0007) (資料番号 6-1-4)

- 93) Study of Sweetness Levels of ANS9801 in Iced Tea. (試験番号 24705) (資料番号 6-1-5)
- 94) イエローケーキ中の ANSD9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0010) (資料番号 6-1-6)
- 95) ヨーグルト中の ANS9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0008) (資料番号 6-1-7)
- 96) チューインガム中の ANS9801 の甘味レベルの試験(試験番号 S-0009) (資料番号 6-1-8)
- 97) Application A1034, Advantame as a high intensity sweetner approval report, 6 Jul.2011, Food Standards Australia New Zealand.
- 98) Gazette No. FSC 67, 8 Sep. 2011, Commonwealth of Australia.
- 99) A. Otabe, T. Fujieda, T. Masuyama, K. Ubukata, C. Lee, Advantame – An overview of the toxicity data. Food Chem Toxicol 49, S2 – 7, 2011.
- 100) K. Ubukata, A. Nakayama, R. Mihara, Pharmacokinetics and metabolism of *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- α - aspartyl]-L- phenylalanine 1-methyl ester, monohydrate (advantame) in the rat, dog, and man. Food Chem Toxicol 49, S8 – 29, 2011.
- 101) A. Otabe, T. Fujieda, T. Masuyama, *In vitro* and *in vivo* assessment of the mutagenic activity of *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- α - aspartyl]-L- phenylalanine 1-methyl ester, monohydrate (advantame). Food Chem Toxicol 49, S30 – 34, 2011.
- 102) A. Otabe, T. Fujieda, T. Masuyama, Chronic toxicity and carcinogenicity of *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- α - aspartyl]-L- phenylalanine 1-methyl ester, monohydrate (advantame) in the rat. Food Chem Toxicol 49, S35 – 48, 2011.
- 103) A. Otabe, T. Fujieda, T. Masuyama, Chronic oral toxicity of *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- α - aspartyl]-L- phenylalanine 1-methyl ester, monohydrate (advantame) in the dog. Food Chem Toxicol 49, S49 – 59, 2011.
- 104) A. Otabe, T. Fujieda, T. Matuyama, Evaluation of the teratogenic potential of *N*-[*N*-[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- α - aspartyl]-L- phenylalanine 1-methyl ester, monohydrate (advantame) in the rat and rabbit. Food Chem Toxicol 49, S60 – 69, 2011.
- 105) A. Otabe, T. Fujieda, T. Masuyama, A two-generation reproductive toxicity study of the high-intensity sweetener Advantame in CD rats. Food Chem Toxicol 49, S70 – 76, 2011.

106) Warrington S, Lee C, Otabe A, Narita T, Polnjak O, Pirags V, Krievins D., Acute and multiple-dose studies to determine the safety, tolerability, and pharmacokinetic profile of Advantame in healthy volunteers. Food Chem Toxicol 49, S77 – 83, 2011.

107) 「改訂 2008 食事療法ガイドブック アミノ酸代謝異常症・有機酸代謝異常症のために」 平成 20 年 8 月刊行 社会福祉法人 恩賜財団母子愛育会

【別紙 1】 体内動態に関する試験一覧表

試験項目		動物種	性	被験物質	投与経路	投与量	資料番号
吸収	血漿中濃度 単回投与	ラット	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5、150 mg/kg	5-1-1-1
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO184)
		イヌ	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5、150 mg/kg	5-1-2-1
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO193)
		ヒト	男性	ANS9801	経口	0.1, 0.25, 0.5 mg/kg	5-1-3-1 (ANSE-101)
		ヒト	男性	^{14}C -ANS9801	経口	18.75 mg/man	5-1-3-2 (ANSE-102)
分布	臓器・組織内濃度 単回投与	ラット	雄	^{14}C -ANS9801	経口	5 mg/kg	5-1-1-3 (AJO181)
		イヌ	雄	^{14}C -ANS9801	経口	5 mg/kg	5-1-2-2 (AJO191)
	全身オートラジオ グラフィー 単回投与	ラット	雌雄 妊娠雌	^{14}C -ANS9801	経口	5 mg/kg	5-1-1-4 (AJO217)
	血漿たん白質 との結合	ラット	—	^{14}C -ANS9801-acid	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000, 10000 ng/mL	5-1-4-2 (AJO213)
			—	^{14}C -ANS9801	<i>in vitro</i>	20, 200, 2000, 20000 ng/mL	
		イヌ	—	^{14}C -ANS9801-acid	<i>in vitro</i>	100, 1000, 10000, 25000 ng/mL	
			—	^{14}C -ANS9801	<i>in vitro</i>	10, 100, 500, 1000 ng/mL	
		ヒト	—	^{14}C -ANS9801-acid	<i>in vitro</i>	10, 100, 1000, 5000 ng/mL	
代謝	血漿中・尿中・糞中代謝物 単回投与	ラット	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5, 150 mg/kg	5-1-1-2
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO194)
		イヌ	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5, 150 mg/kg	5-1-2-1
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO193)
	胃液、腸液中での 安定性			^{14}C -ANS9801	<i>in vitro</i>		5-1-4-1
				^{14}C -ANS9801-acid	<i>in vitro</i>		(AJO173)
排泄	尿中・糞中排泄 単回投与	ラット	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5, 150 mg/kg	5-1-1-2
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO194)
		イヌ	雌雄	^{14}C -ANS9801	経口	5, 150 mg/kg	5-1-2-1
			雌雄	^{14}C -ANS9801	静脈内	5 mg/kg	(AJO193)

【別紙 2】 毒性試験一覧

資料番号 (試験番号)	試験 (試験法ガイドライン)	動物種、試験系 投与方法等	投与量または処置濃度	成績・無毒性量	試験機関 (報告年)
5・2・1・1 (AJO/176)	13 週間反復 (FDA 1982)	雌雄 Han Wistar ラット 混餌投与	1500, 5000, 15000, 50000 ppm	(50000ppm) 雄: 4227mg/kg/日 雌: 5109mg/kg/日	HLS (2004)
5・2・1・2 (AJO/179)	13 週間反復 (FDA 1993)	雌雄ビーグル犬 混餌投与	5000, 15000, 50000 ppm	(50000ppm) ¹⁾ 雄: 2230mg/kg/日 雌: 2416mg/kg/日	HLS (2005)
5・2・1・3 (AJO/196)	52 週間反復 (FDA 2000)	雌雄ビーグル犬 混餌投与	2000, 10000, 50000 ppm	(50000ppm) 雄: 2058mg/kg/日 雌: 2139mg/kg/日	HLS (2005)
5・2・4・1 (AJO/203)	二世代繁殖 交配 10 週間前～F1 離乳 時まで投与 (F1 は離乳時より投 与開始) (FDA 2000)	雌雄 SD ラット 混餌投与	2000, 10000, 50000 ppm	F0 (50000ppm) 雄: 4410mg/kg/日 雌: 5439mg/kg/日 F1 (50000ppm) 雄: 4776mg/kg/日 雌: 5920mg/kg/日	HLS (2004)
5・2・5・1 (AJO/182)	催奇形性 妊娠 0～20 日の 21 日 間 (FDA 2000)	雌 SD ラット 混餌投与	5000, 15000, 50000 ppm	催奇形性なし 母動物 ²⁾ (50000ppm) 4828mg/kg/日 胎児 (50000ppm) 4828mg/kg/日	HLS (2002)
5・2・5・2 (AJO/190)	催奇形性 妊娠 6～28 日の 23 日 間 (FDA 2000)	雌ニュージール ランド白色ウサギ 強制経口投与	500, 1000, 2000 mg/kg/ 日	催奇形性なし 母動物 500mg/kg/日 胎児 1000mg/kg/日	HLS (2003)

試験法ガイドライン：

FDA 1982 – Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives used in Food (1982)

FDA 1993 – Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives used in Food (Redbook II) Draft July 1993

FDA 2000 – Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients (2000)

試験機関：HLS－Huntingdon Life Sciences Ltd.

1) 雄の 50000ppm 添加群において体重増加の低値が認められたことから、試験実施施設において無毒性量は 15000ppm と判断されたが、他の毒性所見が認められなかったことから当該変化は非栄養成分を比較的高濃度で添加したことに起因した変化と考えられたため無毒性量を 50000ppm とすることが妥当であると判断した。

- 2) 母動物では 50000ppm 添加群で体重増加の低値が認められたことから、試験実施施設において無毒性量は 15000ppm と判断されたが、投与初期の摂餌量の低下、及びアドバンテームが非栄養成分であることに起因すると考えられたため、母動物に対する無毒性量も 50000ppm とすることが妥当と考えられた。

毒性試験一覧

資料番号 (試験番号)	試験 (試験法ガイドライン)	動物種、試験系 投与方法等	投与量または処置濃度	成績・無毒性量	試験機関 (報告年)
5-2-2-1 (AJO/198)	発がん性 (FDA 1982)	雌雄 ICR マウス 混餌投与	2000, 10000, 50000 ppm	発がん性なし	HLS (2006)
5-2-3-1 5-2-3-2 (AJO/195)	1 年間反復投与/ 発がん性併合 (FDA 1982)	雌雄 Han Wistar ラット 混餌投与	2000, 10000, 50000 ppm	発がん性なし 1 年間反復投与の 無毒性量 (50000ppm) ♂:3199mg/kg/日 ♀:4009mg/kg/日 発がん試験の無 毒性量 (50000ppm) ♂: 2621mg/kg/日 ♀:3454mg/kg/日	HLS (2006)
5-2-6-1 (AJO154)	復帰突然変異試験 (FDA 2000)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌: WP2uvrA	5~5000 μ g/プレート	陰性	HLS (2001)
5-2-6-2 (AJO159)	遺伝子突然変異試験 (OECD No.476)	L5178Y マウス リンパ腫細胞	非代謝活性化法 125~5000 μ g/mL 代謝活性化法 500~5000 μ g/mL	陰性	HLS (2002)
5-2-6-3 (AJO160)	小核試験 (FDA 2000)	雌雄 ICR マウス 強制経口投与	500, 1000, 2000 mg/kg/ 日	陰性	HLS (2001)
5-2-8-1 (AJO/161)	一般薬理試験 中枢神経系:一般状態 および行動に及ぼす 作用	雄 Han Wistar ラット 強制経口投与	10, 100, 1000 mg/kg	薬理作用なし	HLS (2001)
5-2-8-2 (AJO/162)	一般薬理試験 中枢神経系:自発運動 量に及ぼす作用	雄 Han Wistar ラット 強制経口投与	10, 100, 1000 mg/kg	薬理作用なし	HLS (2001)
5-2-8-3 (AJO/163)	一般薬理試験 呼吸・循環器系:麻酔 下での心血管系およ び呼吸への影響の評 価	雄ビーグル犬 十二指腸内投与	10, 100, 1000 mg/kg	薬理作用なし	HLS (2001)
5-2-8-4 (AJO/164)	一般薬理試験 自律神経系:腸管内輸 送能に及ぼす作用	雄 Han Wistar ラット 強制経口投与	10, 100, 1000 mg/kg	薬理作用なし	HLS (2001)
5-2-7-1	アレルギー性	雌 CBA/Ca	10, 25, 50% w/v	陽性	HLS

(BKB0011)	局所リンパ節試験 (OECD No.429)	マウス			(2010)
5-2-9-1 (AJO/155)	単回投与試験 (FDA 2000)	雌雄 Han Wistar ラット	5000mg/kg	概略の致死量 > 5000 mg/kg	HLS (2001)

試験法ガイドライン：

FDA 1982 – Toxicological Principles for the Safety Assessment of Direct Food Additives and Color Additives used in Food (1982)

FDA 2000 – Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients (2000)

OECD No.476 – OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 476: “Genetic Toxicology : *In vitro* mammalian cell gene mutation tests.”, 1997

OECD No. 429 – OECD Guideline for Testing of Chemicals No. 429: “Skin Sensitization : Local Lymph Node Assay.”, 2010

試験機関：HLS－Huntingdon Life Sciences, Ltd. 、SNBL－株式会社新日本科学

毒性試験一覧

資料番号 (試験番号)	試験 (試験法ガイドライン)	動物種、試験系 投与方法等	投与量または処置濃度	成績・無毒性量	試験機関 (報告年)
5-2-9-2 (SBL043-021)	β -ANS9801 復帰突然変異試験 (厚生省)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌: WP2uvrA	5~5000 μ g/プレート	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-3 (SBL-043-022)	β -ANS9801 遺伝子突然変異試験 (厚生省)	L5178Y マウス リンパ腫細胞	575~4600 μ g/mL	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-4 (SBL043-023)	ANS9801-imide 復帰突然変異試験 (厚生省)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌: WP2uvrA	5~5000 μ g/プレート	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-5 (SBL-043-024)	ANS9801-imide 遺伝子突然変異試験 (厚生省)	L5178Y マウス リンパ腫細胞	非代謝活性化法 35.1~500 μ g/mL 代謝活性化法 15.6~178 μ g/mL	陽性	SNBL (2009)
5-2-9-10 (SBL043-033)	ANS9801-imide 小核試験 (厚生省)	雄 ICR マウス	500, 1000, 2000 mg/kg	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-6 (SBL043-025)	β -ANS9801-acid 復帰突然変異試験 (厚生省)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌: WP2uvrA	5~5000 μ g/プレート	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-7 (SBL-043-026)	β -ANS9801-acid 遺伝子突然変異試験 (厚生省)	L5178Y マウス リンパ腫細胞	563~4500 μ g/mL	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-8 (SBL043-027)	HF-1 復帰突然変異試験 (厚生省)	サルモネラ菌: TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌: WP2uvrA	5~5000 μ g/プレート	陰性	SNBL (2009)
5-2-9-9 (SBL-043-028)	HF-1 遺伝子突然変異試験 (厚生省)	L5178Y マウス リンパ腫細胞	125~1000 μ g/mL	陰性	SNBL (2009)

試験法ガイドライン:

厚生省 - 医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて (平成 11 年 11 月 1 日医薬審第 1604 号厚生省
医薬安全局審査管理課長)

試験機関：SNBL－株式会社新日本科学

β -ANS9801: N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- β -アスパルチル]-L-フェニルアラニンメチルエステル
ANS9801-imide: N-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル)-L-アスパルチミド-L-フェニルアラニンメチルエステル

β -ANS9801-acid: N-[N-[3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)プロピル]-L- β -アスパルチル]-L-フェニルアラニン

HF-1: N-(3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル))-プロピル-L-アスパラギン酸

毒性試験一覧

資料番号 (試験番号)	試験	動物種、試験系 投与方法等	投与量または処置濃度	成績・無毒性量	試験機関 (報告年)
5-1-3-1 ANSE- 101	単回投与試験	健常人男性 (8名/グループ)	0.1, 0.25, 0.5 mg/kg	投与に関連した 有害事象なし	HMR (2004)
5-3-1 ANSE- 103a	4週間反復投与試験	健常成人男女 (男女各6名/ グループ)	0.3~0.5 mg/kg/日	投与との関連性 が否定できな かった有害事象 例：1例 バイタルサイン、 臨床検査値、 血糖値および 血中インスリン 値への影響なし	ICR (2006)
5-3-2 ANSE- 103b	12週間反復投与試験	II型糖尿病患者 男女 (男女各18名/ グループ)	0.3~0.5 mg/kg/日	投与との関連性 が否定できな かった有害事象 例：1例 バイタルサイン、 臨床検査値、 血糖値および 血中インスリン 値への影響なし	ICR (2006)

試験機関：HMR－Hammersmith Medicines Research Ltd., ICR－ICON Clinical Research Ltd.