

## ネオテームを添加物として定めることに係る 食品健康影響評価について（案）

### 1．はじめに

ネオテームは、高甘味度甘味料として開発され、既存の甘味料のアスパルテームを N-アルキル化して得られるもので、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 7,000～13,000 倍、アスパルテームの約 30～60 倍である<sup>4-1), 7-1-5)</sup>。また、アスパルテームに比べ安定性に優れ、通常の保存条件下ではフェニルアラニンを遊離しないとされている。

米国では、2002 年に甘味料及びフレーバー増強剤として一般食品分野への使用が許可されている<sup>2-3)</sup>。2004 年 6 月現在、オーストラリア及びニュージーランドを始め 19 ヶ国で使用が許可され、飲料を中心とした食品に甘味料及びフレーバー増強剤として使用されている。

ネオテームは、2003 年に開催された第 61 回 FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議（JECFA）において ADI は 0-2 mg/kg 体重/日と評価されている<sup>2-10)</sup>。

### 2．背景等

今般、ネオテームの添加物指定等について、事業者から厚生労働省に指定要請がなされたことから、厚生労働省が指定等の検討を開始するに当たり、食品安全基本法に基づき、食品安全委員会に対し、ネオテームに係る食品健康影響評価が依頼されたものである（平成 17 年 1 月 31 日、関係書類を接受）。

### 3．添加物指定の概要

今般、ネオテームについて、甘味料及び香料として、新たに添加物として指定しようとするものである。

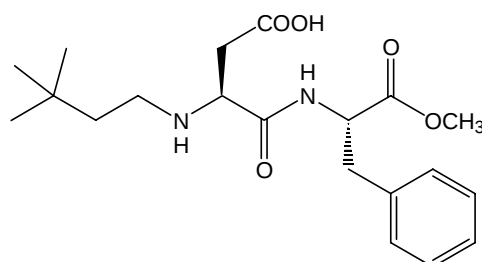
### 4 名称等

名 称：ネオテーム

英 名：Neotame

化学名：N-[N-(3,3-dimethylbutyl)-L-α-aspartyl]-L-phenylalanine 1-methyl ester

構造式：



化学式：C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

分子量：378.46

CAS 番号：165450-17-9

性状等：白色～灰白色の粉末で、においはなく、強い甘味があり、アルコール類には溶けやすく、水にやや溶けにくい。0.5%水溶液は弱酸性（pH 5.8）を示す。

## 5．安全性

### （１）体内動態

#### 非臨床データ

#### ア．吸収

##### （ア）ラットにおける <sup>14</sup>C 標識ネオテーム単回投与試験

雌雄 SD ラットにネオテームを <sup>14</sup>C で標識したものを単回強制経口投与（15 mg/kg 体重（低用量）又は 120 mg/kg **体重**（高用量））及び静脈内投与（**15 mg/kg 体重低用量**）し、血漿中の総放射能及び濃度推移を検討した<sup>5-2-7)</sup>。

血漿中濃度は、静脈内投与では 0.1 時間、経口投与では 0.25～0.75 時間に最大となり、最高血漿中濃度（C<sub>max</sub>）及び AUC<sub>24</sub> は、投与量にほぼ対応して増加し、両パラメータ共に雄の方が雌より大きい値を示した。

ネオテームは、経口投与（高用量）において投与後 0.25 時間後に半数のラットにおいて検出限界をわずかに上回る程度が検出されたが、経口（低用量）及び静脈内投与では検出されなかった。また、ネオテームは投与後速やかに NC-00751（総放射能の 80～90%）に変換され、静脈内投与では 0.1 時間、経口投与後では 0.5～0.75 時間に血漿中濃度が最大となった。NC-00751 の見かけ上の半減期（T<sub>1/2</sub>）は、静脈内投与では 0.3～0.6 時間、経口投与では 0.8～1.3 時間であった。NC-00751 の C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量にほぼ対応して増加し、両パラメータ共に雄の方が雌より大きい値を示した。

経口投与後の吸収率を <sup>14</sup>C 標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、24～30%であった<sup>5-2-13)</sup>。

生物学的利用率は、経口投与後に血漿中に未変化体がほとんど認められていないことから極めて低く、これはラット体内において脱エステル化を極めて受けやすいためと考えられる。

##### （イ）イヌにおける <sup>14</sup>C 標識ネオテーム単回投与試験<sup>5-2-8)</sup>

雌雄ビーグル犬に <sup>14</sup>C 標識ネオテームを単回強制経口投与（15 mg/kg 体重（低用量）又は 120 mg/kg **体重**（高用量））及び静脈内投与（**15 mg/kg 体重低用量**）し、血漿中の総放射能及び濃度推移を検討した。

血漿中濃度は、静脈内投与では 0.03 時間、経口投与では 0.25～0.5 時間に最大となり、C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量の増加率をやや上回って増加した。<sup>14</sup>C 標識

ネオテームを経口投与後、ネオテームは  $T_{1/2}$  0.2 ~ 0.3 時間 (低用量) 又は 0.4 時間 (高用量) で減少した。

ネオテームは、投与後速やかに NC-00751 に変換され、静脈内投与では 0.25 時間、経口投与後では 0.75 ~ 1 時間に血漿中濃度が最大となった。NC-00751 の見かけ上の半減期 ( $T_{1/2}$ ) は、静脈内投与では 2.3 時間、経口投与では 3.4 時間 (高用量) であった。NC-00751 の  $C_{max}$  及び  $AUC_{24}$  は、投与量の増加率を上回って増加する傾向にあった。

静脈内投与後、ネオテームの全身クリアランスは 26 ~ 32 mL/min/kg、分布容積は約 1 L/kg であった。全身クリアランスが肝血漿流量 (18 mL/min/kg) を上回ることから肝臓以外での代謝が示唆され、また分布容積の値から組織内へも一部分布することが示唆された。

経口投与後の吸収率を  $^{14}\text{C}$  標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、低用量で 32 ~ 34%、高用量で約 47% であった。

生物学的利用率は、低用量で約 8%、高用量で 19 ~ 32% と推定された。

## イ．分布

### (ア) 器官内及び組織内濃度 <sup>5-2-9)</sup>

有色の雄ラットに  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、投与 48 時間後までの組織中濃度を測定した。

ラットの消化管、リンパ節、前立腺及び副腎を除く各組織中放射能濃度は、経口投与 1 時間後に最大となり、肝臓、腎臓及び膀胱では、血漿中の放射能濃度よりも高濃度であった。その他の組織では、放射能濃度は血漿中の濃度を大きく下回った。消化管を除いて組織内の放射能濃度は、その後速やかに減少した。

### (イ) 胎盤及び胎児への移行性 <sup>5-2-11)</sup>

妊娠 15 日目の雌ラットに  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、胎児移行を全身オートラジオグラフィーにより検討した。

投与後 0.5 及び 2 時間では、胎盤において他の末梢組織や血管内における濃度と同程度の低濃度の放射能が検出されたが、胎児への放射能の移行は認められなかった。

投与後 24 時間では、胎児、胎盤及びその他の組織においても放射能は検出されず、特異的に蓄積した組織は認められなかった。

### (ウ) 血漿中のタンパクとの結合 <sup>5-2-12)</sup>

イヌ及びヒト血漿中におけるタンパク結合率を  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (イヌ 1 ~ 100 µg/mL、ヒト 10 ~ 1,000 ng/mL) を用いて *in vitro* 遠心限外ろ過法により検討した。

ネオテームのタンパクへの結合は速く、10 分以内に平衡状態に達した。

イヌの血漿中におけるタンパク結合率は、ネオテーム濃度 1 ~ 10 µg/mL で 84 ~ 92%、100 µg/mL で 68 ~ 75%であった。

ヒトの血漿中では、タンパク結合率は 94 ~ 98%であり、ヒトアルブミンとの結合率は 80 ~ 81%、 $\alpha_1$ -酸性糖タンパク質との結合率は 8 ~ 14%であった。

#### (エ) 血球への分配 <sup>5-2-8), 5-2-9)</sup>

<sup>14</sup>C 標識ネオテームを用い、ラット及びビーグル犬における血球中放射能濃度を測定した。

イヌでは、静脈内投与 (15 mg/kg 体重) 後では血漿中放射能の 50%強、経口投与 (15、120 mg/kg 体重) 後では血漿中放射能の約 27%、約 40%であった。

ラットでは、赤血球中濃度は、全般的に低かった。

#### ウ．代謝

以下の (ア) ~ (エ) より、本物質の代謝経路は、主として脱エステル化により、メタノールと NC-00751 に代謝され、また NC-00751 は、その一部がペプチド又はアミド結合の加水分解により NC-00754 へと代謝されると共に、一部は酸化された後、グルクロン酸又はカルニチンによる抱合を受けると推定される <sup>5-1-8), 5-1-9), 5-2-8), 5-2-13), 5-2-14), 5-2-19), 5-2-22)</sup>。

#### (ア) ラットにおける代謝 (<sup>14</sup>C 標識ネオテーム)

血漿中では、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与後では未変化体はほとんど認められなかった <sup>5-2-7)</sup>。

尿中では、未変化体はほとんど検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与において投与量の 5.0 ~ 7.0%、静脈内投与では雄で投与量の 31.1%、雌で 26.4%であった <sup>5-2-13)</sup>。その他、NC-00754 を含め、4 種以上の代謝物 (G2 (グルクロン酸抱合体)、NC-00754 等) が尿中に検出されたが、いずれも投与量の 1.6%以下であった。また、15 mg/kg 体重を 8 時間間隔で 2 回経口投与したラットの雌の尿中から、NC-00784 (カルニチン抱合体) が検出された <sup>5-2-14)</sup>。

糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与において投与量の約 70 ~ 78%、静脈内投与では投与量の約 51 ~ 52%であった <sup>5-2-13)</sup>。その他、NC-00754 と Component 4 が検出され、それぞれ投与量の 0.8 ~ 2.5%、0.7 ~ 1.2%であった <sup>5-2-13)</sup>。

胆汁中では、主要代謝物は NC-00751 であり、胆汁中放射能の 92.9% (投与量の 4.7%) を占めた <sup>5-2-15)</sup>。

#### (イ) イヌにおける代謝 (<sup>14</sup>C 標識ネオテーム) <sup>5-2-8)</sup>

血漿中では、経口投与後、未変化体及び NC-00751 が認められた。

尿中では、未変化体はわずかであり、主要代謝物は NC-00751 で、経口投与に

において投与量の約 6～9%、静脈内投与では投与量の約 19～20%であった。その他、G2（投与量の約 5%）、NC-00754（投与量の 0.4～2%）等が検出された。

糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物である NC-00751 は経口投与において投与量の約 62～74%、静脈内投与では投与量の約 42～43%であった。

#### （ウ）ラット肝における生体異物代謝酵素活性等<sup>5-2-16)</sup>

雌雄ラットにネオテーム（0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を 14 日間強制経口投与した。陽性対照としてフェノバルビタール（75 mg/kg 体重/日）を用いた。

1,000 mg/kg 体重投与群の雄において、p-ニトロフェノール UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ（p-ニトロフェノール UDP-GT）活性が低下したが、過去の対照群における背景データの範囲内であった。その他、ミクロゾームタンパク質含量、チトクローム P450 含量、細胞質非タンパク性チオール含量及び各種酵素活性等については、投与による影響は認められなかった。

以上から、本物質は生体異物代謝酵素系に特段重要な影響を及ぼすものではないと考えられた。

#### （エ）人工胃液及び人工腸液における安定性<sup>5-2-17)</sup>

ネオテーム（50 µg/mL）を人工胃液（+/- ペプシン）及び人工腸液（+/- パンクレアチン）に添加し、37℃、120 分間インキュベーションした時の安定性を調べた。

ネオテームはペプシンの有無にかかわらず安定であったが、パンクレアチンを含む人工腸液中では 15 分以内に完全に NC-00751 に加水分解された。パンクレアチンを含まない人工腸液中では比較的安定で、NC-00751 に加水分解された量は極わずか（120 分後における総放射能の 1～2%）であった。

### エ．排泄

#### （ア）ラットにおける排泄

雌雄ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテームを経口投与（15、120 mg/kg 体重）後、または静脈内投与（15 mg/kg 体重）後の尿中及び糞中排泄率等について調べた<sup>5-2-13)</sup>。

投与後 72 時間までの尿中排泄率は、経口投与で 8.5～10.8%、静脈内投与で 34.6 及び 35.9%であり、糞中排泄率は、経口投与で 84.5～87.2%、静脈内投与で 58.1 及び 59.2%であった。投与量の 90%以上が投与後 48 時間以内に速やかに排泄され、性差は認められなかった。

胆管カニュレーションを施した雄ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテーム（15 mg/kg 体重）を経口投与したところ、投与後 48 時間までに投与量の約 6%が胆汁中に、5～9%が尿中に、82～87%が糞中に排泄された<sup>5-2-15)</sup>。

#### （イ）イヌにおける排泄<sup>5-2-8)</sup>

雌雄イヌに  $^{14}\text{C}$  標識ネオテームを経口投与 (15、120 mg/kg 体重) 後、または静脈内投与 (15 mg/kg 体重) 後の尿中及び糞中排泄率等について調べた。

投与後 72 時間までの尿中排泄率は、経口投与で 13 ~ 20%、静脈内投与で 40 ~ 43% であり、糞中排泄率は、経口投与で 72 ~ 83%、静脈内投与で 53 ~ 54% であった。投与量の 80% 以上が投与後 48 時間以内に尿中及び糞中に排泄された。

#### オ．その他

ネオテームの主要代謝物である NC-00751 の体内動態は以下のとおり。

##### (ア) ラットにおける $^{14}\text{C}$ 標識 NC-00751 単回経口投与試験

雌雄ラット及び胆管カニュレーションを施した雄ラットに  $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751 (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識体を用いた吸収・分布・代謝・排泄試験が実施された<sup>5-2-18)</sup>。

血漿中の放射能濃度は低く、最高で約 0.1  $\mu\text{g}$  当量 (NC-00751) /mL であり、4 ~ 8 時間後に、検出限界 (約 0.03  $\mu\text{g}$  当量/mL) 以下に低下した。

投与後 0.5 及び 2 時間における血漿中の主放射性成分は、NC-00751 であり、総放射能の 59 ~ 78% を占めた。胆汁、尿及び糞中においても主放射性成分は NC-00751 であり、それぞれ投与量の 1 ~ 2%、0.8 ~ 0.9% 及び 75 ~ 82% に相当した。なお、少量の未同定の代謝物が血漿、尿及び糞中に検出されたが、尿中排泄物に NC-00784 が存在することが確認されている<sup>5-2-19), 5-2-22)</sup>。

投与後 72 時間までの尿及び糞中への排泄は、雌雄ラットにおいて、それぞれ投与量の 1 ~ 2% 及び 99 ~ 101% であった。投与後 48 時間以内に投与量のほぼ全量 (100 ~ 103%) が尿及び糞に排泄された。

胆管カニュレーションを施した雄ラットにおいて放射能の胆汁、尿及び糞中への排泄率は、それぞれ、約 2%、約 2% 及び約 92% であった。

##### (イ) 血漿中のタンパクとの結合<sup>5-2-12)</sup>

イヌ及びヒト血漿中におけるタンパク結合率を  $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751 (ラット 100 ~ 10,000 ng/mL、イヌ 1 ~ 100  $\mu\text{g}$ /mL 及びヒト 50 ~ 5,000 ng/mL) を用いて *in vitro* 遠心限外ろ過法により検討した。

血漿中タンパク結合率は、ラットでは 72 ~ 76%、イヌでは 46 ~ 54% であった。また、ヒトの血漿中では、タンパク結合率は 85 ~ 91% であり、ヒトアルブミンとの結合率は 29 ~ 37%、 $\alpha_1$ -酸性糖タンパク質との結合率は 0.2 ~ 9% であった。

##### (ウ) 人工胃液及び人工腸液における安定性<sup>5-2-17)</sup>

NC-00751 (25  $\mu\text{g}$ /mL) を人工胃液 (+/- ペプシン) 及び人工腸液 (+/- パンクレアチン) に添加し、37、120 分間インキュベーションした時の安定性を調べた。

その結果、NC-00751 は酵素の有無にかかわらず、人工胃液中及び人工腸液中で

安定であった。

## 臨床データ

### ア．血漿中濃度

#### (ア) 単回経口投与

健常成人男性に  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を単回経口投与後、血漿中の総放射能、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討した<sup>5-2-19)</sup>。

ネオテームは速やかに吸収され、投与後約 0.4 時間で  $C_{\max}$  95.7 ng/mL に達し、 $T_{1/2}$  0.6 時間で消失した。NC-00751 の血漿中濃度は投与後 1 時間で  $C_{\max}$  236 ng/mL に達し、 $T_{1/2}$  は 1.5 時間であった。

血漿中放射能の大部分は NC-00751 及びネオテームで占め、総放射能の  $AUC_{(0-t)}$  値のそれぞれ約 80% 及び約 8% に達した。全血中の総放射能濃度は、血漿中の総放射能濃度より低く、これらの濃度とヘマトクリットより、血液中放射能の大部分が細胞成分より、むしろ血漿中に存在することが明らかになった。

また、健常成人男性に非標識ネオテーム (0.1、0.25、0.50 mg/kg 体重) を単回経口投与し、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討したところ、ネオテーム及び NC-00751 の  $C_{\max}$  及び  $AUC$  は、検討した濃度範囲内で投与量に対しほぼ線形性を示した<sup>5-2-20)</sup>。

#### (イ) 8 回反復経口投与<sup>5-2-21)</sup>

健常成人男性にネオテーム (0.25 mg/kg 体重) を 1 時間おきに 8 回反復経口投与し、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討した。

最終投与後、ネオテームの血漿中濃度は 0.35 時間で  $C_{\max}$  67.36 ng/mL に達した後、半減期 0.88 時間で低下した。NC-00751 については、0.69 時間で  $C_{\max}$  875.94 ng/mL に達した後、二相性で低下し、消失相半減期は 12.88 時間であった。

#### (ウ) 14 日間反復経口投与<sup>5-1-37)</sup>

健常成人男女にネオテーム (0.5、1.5 mg/kg 体重/日) をカプセルとして 1 日 3 回 14 日間反復経口投与した。

トラフ時の血漿中では、ネオテームは検出できなかった。一方、NC-00751 の血漿中濃度は測定可能であり、投与量に対する線形性が認められた。

### イ．代謝

ヒトにおけるネオテームの代謝は、脱エステル化が主経路で実験動物と同様の代謝物が認められた。健常成人男性にネオテームを経口投与した後の血漿中には、主要代謝物として NC-00751 が認められたほか、未変化体が検出された。

健常成人男性に  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を単回経口投与したとき、尿中の主要代謝物は NC-00751 であり、投与後 72 時間において投与量の

23.81%に達した<sup>5-2-19)</sup>。未変化体は、投与量の 3.32%が検出された。その他、NC-00754、NC-00784 等も少量検出された。

糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、投与後 96 時間で投与量の 52.5%を占めていた。また、NC-00754 は 4.9%であった。

## ウ．排泄

### (ア) 単回経口投与

健常成人男性に <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を経口投与後、168 時間までに投与放射能の 34.3%が尿中に、63.7%が糞中に排泄された<sup>5-2-19)</sup>。

非標識ネオテーム (0.1、0.25、0.50 mg/kg 体重) を単回経口投与したとき、尿中には、投与後 84 時間までに投与量の約 1%が未変化体として、約 20%が NC-00751 として尿中に排泄された<sup>5-2-20)</sup>。尿中排泄率及び腎クリアランスは投与量にかかわらず一定であった。

### (イ) 8 回反復経口投与<sup>5-2-21)</sup>

健常成人男性にネオテーム (0.25 mg/kg 体重) を 1 時間おきに 8 回反復経口投与したとき、初回投与後 168 時間までに総投与量の約 3%が未変化体として、約 23%が NC-00751 として尿中に排泄された。

### (ウ) 製剤の生物学的同等性<sup>5-2-23)</sup>

ヒトにネオテームを 10 mg×2 カプセル投与と 20 mg 溶液投与したときの血漿中濃度の薬物動態パラメータを調べた。

カプセル投与した場合のネオテーム及び NC-00751 の生物学的利用率は、溶液投与と同等かそれ以上であった。

## (2) 毒性

### 反復投与毒性試験

#### ア．マウス 13 週間混餌投与試験<sup>5-1-1)</sup>

雌雄 ICR マウス (各群 20 匹) にネオテーム (0、100、1,000、4,000、8,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間混餌投与した。

4,000 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で平均赤血球容積 (MCV) の有意な低下が認められた。変動の程度は小さく、他の赤血球パラメータに影響がみられなかったことから、投与による影響ではないと考えられた。

4,000 mg/kg 体重/日投与群以上の雌雄で肝比重量の増加、8,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄投与群で肝重量の増加が認められた。変動の程度は小さく、背景データの範囲内であり、他に関連する異常が認められなかったことから、投与による影響ではないと考えられた。

以上から、本試験における無毒性量 (NOAEL) は 8,016 mg/kg 体重/日と考えられ

る。

イ．ラット 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験<sup>5-1-2)</sup>

雌雄 SD ラット(各群 20 又は 25 匹)にネオテーム(0、100、300、1,000、3,000 mg/kg 体重/日)を 13 週間混餌投与し、その後、0、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群(各群 5 匹)については 4 週間回復性試験を行った。

3,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。体重及び体重増加量の減少は摂餌量の減少に伴うものであり、それらは本物質の高濃度添加によるラットの嗜好性の低下によるものと考えられる。

100、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で MCV の低下、3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で赤血球数(RBC)の上昇が認められた。また、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で総コレステロール(CHO)の減少、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄でアルカリホスファターゼ(ALP)の上昇、3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄でグロブリン(Glb)の減少が認められた。血液学的及び血液生化学的検査において認められたこれらの変化は、いずれも対照群の背景データの範囲内であり、毒性学的な意義は乏しいものと考えられる。

3,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で臓器重量(肝、腎、副腎、心、脾、胸腺及び前立腺)の減少、脾比重量の減少、脳及び精巣比重量の増加が認められたが、それらの変動は体重減少に付随するものと考えられる。

1,000、3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で腎の皮髄境界部石灰化が認められたが、これは性成熟と関連して雌ラットで頻繁に観察される病変であり、4 週間回復期間終了時には認められなかった。

以上から、本試験における NOAEL は 2,925 mg/kg 体重/日と考えられる。

ウ．イヌ 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験<sup>5-1-3)</sup>

雌雄ビーグル犬(各群 4 又は 6 匹)にネオテーム(0、60、200、600、2,000/1,200 mg/kg 体重/日(2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群：14 日まで 2,000 mg/kg 体重/日))を 13 週間混餌投与し、その後 4 週間回復性試験を行った。

2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重減少及び摂餌量の低下が認められた。体重減少は摂餌量の減少に伴うものであり、摂餌量の低下は高濃度のネオテームを含む餌を忌避したことに起因していると考えられる。

2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で RBC 数、ヘモグロビン濃度(Hb)及びヘマトクリット値(Hct)の低下が認められた。また、200 及び 600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で ALP 増加が認められた。血液学的及び血液生化学的検査におけるこれらの変化については、規則性がないことから、投与による影響ではないものと考えられる。ALP の変動については別途検討されている(「イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験<sup>5-1-5)</sup>」参照)。

600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝比

重量の増加、2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雄で副腎比重量の増加、肺及び精巢上体重量の減少が認められたが、これらの変化は摂餌量の低下に伴う体重の変化によるものと考えられる。また、600 及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝細胞グリコーゲン増加が認められたが、毒性学的意義に乏しいと考えられる。

本試験の結果、申請者は、2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で認められた摂餌量の明らかな低下や血液学的な変動は、高濃度のネオテームが添加された餌に対するイヌの忌避行動が生じた結果であり、2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群はネオテームの毒性を評価するには不適切な用量であると考え、本試験における NOAEL は 597 mg/kg 体重/日と考えられるとしている。

#### エ．*in utero* 暴露による F<sub>1</sub> ラット 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験<sup>5-1-4)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 25 匹）にネオテーム（0、10、30、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 4 週間と交配期間中、さらに雌には妊娠期間、授乳期間及び出産後 21 日目の離乳時まで混餌投与し、その児（F<sub>1</sub>）（各群 20 匹）に同用量のネオテームを離乳時から 26～28 日目から 52 週間混餌投与し、その後各群 10 匹について 4 週間回復性試験（0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を行った。

300 mg/kg 体重/日投与群以上の雄で対照群と比べ興奮がやや高い頻度で認められたが、本所見は高齢の雄ラットで一般的に観察される所見であり、さらに長期の発がん性試験（104 週間）において同様の所見がみられなかったことから、投与に起因する影響ではないと考えられる。

100 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で体重減少及び摂餌量の低下、300 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で体重増加量の減少が認められたが、これらの変化には嗜好性の低下を裏付けるものと考えられたが起因している。

100 mg/kg 体重/日投与群以上の雌では心重量の低値を示したが、これは体重の変動に由来するものと考えられる。

病理組織学的検査では、30 mg/kg 体重/日投与群の雌で下垂体腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性はみられず、その頻度は背景データの範囲内であった。

以上から、本試験において毒性を示唆する所見は認められず、本試験における NOAEL は 1,006 mg/kg 体重/日と考えられる。

#### オ．イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験<sup>5-1-5)</sup>

雌雄ビーグル犬（各群 4 又は 6 匹）にネオテーム（0、20、60、200、800 mg/kg 体重/日）を 52 週間混餌投与し、その後各群 2 匹について 4 週間回復性試験（0、200、800 mg/kg 体重/日）を行った。

800 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、摂餌量の低下、投与期間中いずれの検査時期においても ALP の有意な上昇が認められた。ALP アイソザイムは肝由来の ALP であり、ALP の増加は、回復期間中に正常値に復す可逆的な変化であった。また、肝

重量、肝の病理解剖学的又は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。

以上から、本試験において毒性を示唆する所見は認められず、NOAEL は 742 mg/kg 体重/日と考えられる。

#### 繁殖試験<sup>5-1-6)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 28 匹）にネオテーム（0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を F<sub>0</sub> の雄に交配前 10 週間と F<sub>1</sub> 出生までの 14 週間、雌に交配前 4 週間と F<sub>1</sub> 離乳までの 10～11 週間、F<sub>1</sub> の雄に離乳から F<sub>2</sub> 出生までの 15～16 週間、雌に離乳から F<sub>2</sub> 離乳までの 17～20 週間混餌投与し、二世世代繁殖試験を行った。

親動物（F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>）では、~~100 mg/kg 体重/日投与群の雄（F<sub>0</sub>のみ）及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄（雌は F<sub>0</sub>のみ）で摂餌量の低下、~~1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で~~交~~摂餌効率の低下が交配前期間に認められた。

交配前期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、交配前及び妊娠期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で、体重及び体重増加量の減少が認められた。

主に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の各種臓器の絶対重量の減少と相対重量の増加が認められたが、それらは親動物の体重低下に伴うものと考えられた。

その他、発情性周期、交尾能、受胎能、妊娠期間、出産率、妊娠率等について、投与による影響は認められなかった。

児動物（F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>）では、F<sub>1</sub> の 300 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の生後 1 日の体重、並びに F<sub>1</sub> の 300 mg/kg 体重/日投与群以上の雌雄及び F<sub>2</sub> の 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の生後 21 日の体重が減少した。~~これらの変化は離乳 1 週間前に限られていることから、固形物摂取開始が影響していると考えられる。~~

F<sub>1</sub> の学習能を水迷路で検査した結果、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意な水泳時間の延長が認められたが、変動は小さく、背景データの範囲内であった。

その他、一般状態、出産児数、胎児生存率、性比、身体的、機能的発達等について、投与による影響は認められなかった。

以上から、本試験において繁殖能力に影響は認められず、本試験における NOAEL は ~~1,007~~100 mg/kg 体重/日と考えられる。

（本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対しての NOAEL は 300 mg/kg bw/day、生殖発生毒性に対しての NOAEL は 100 mg/kg bw/day と考えられた。繁殖指標に対する影響はみられなかった。）

#### 催奇形性試験

##### ア．ラット催奇形性試験<sup>5-1-7)</sup>

SD 雌ラット（各群 24 匹）にネオテーム（0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 28 日間、交配期間及び交配後妊娠 20 日まで間混餌投与し、妊娠 20 日に妊

娠ラットを帝王切開し、胎児を調べた。を行った。

母動物について、1,000 mg/kg 体重/日投与群で投与開始 1 週間の総摂餌量、体重及び体重増加量の減少が認められた。が、交配前投与期間を通して対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。

また、妊娠率、黄体数、出産胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率について、投与の影響対照群との差はみられなかった。

胎盤重量、生存胎児の体重、胎盤重量、外表・骨格・内部器官の形態的所見等について、投与による影響はみられなかった。

以上から、母動物の妊娠経過及び胎児の発生に影響は認められず、本試験における母動物に対する NOAEL は 964 300 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 1000 mg/kg bw-体重/day と考えられる。催奇形性は認められなかった。

#### イ．ウサギ催奇形性試験<sup>5-1-8)</sup>

ニュージーランド白色雌種妊娠ウサギ（各群 20～25 匹）に、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、にネオテーム（0、50、150、500 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間強制経口投与し、妊娠 29 日に妊娠ウサギを帝王切開し、胎児を調べた。を行った。

全胚/胎児死亡が対照群及び 500 mg/kg 体重/日投与群の各 1 母体に例に全胎児死亡がみられたが、500 mg/kg 体重/日投与群の例は 1 個の胚のみが着床した1 個の胚が死亡していた例ものであり、胎児死亡は検体投与に関連するとは考えられなかった。その他、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に死亡、2 例に流産がみられたが、いずれも摂餌の著減及びそれに引き続く体重減少によるものと考えられた。群平均の摂餌量及び体重増加量に対照群との有意差はなかった。母動物の体重増加に投与の影響はみられなかった。

母動物について、投与開始 2 週目で 500 mg/kg 体重/日投与群に摂餌量及び体重増加量の減少が認められたが、全投与期間を通して対照群との間に差はみられなかった。

また、妊娠率、黄体数、出産胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率に投与の影響について、対照群との差はみられなかった。

胎盤重量、生存胎児の体重、外表・骨格・内部器官の形態的所見に投与による影響はみられなかった。

以上から、本試験における NOAEL は、母動物に対して 150 mg/kg 体重/日、及び胎児に対してする NOAEL は 500 mg/kg 体重/日と考えられる。催奇形性は認められなかった。

生存胎児では、体重、胎盤重量、骨格等について、投与による影響はみられなかった。

以上から、母動物の妊娠経過及び胎児の発生に影響は認められず、本試験におけ

るNOAELは500mg/kg体重/日と考えられる。

#### 発がん性試験

##### ア．マウス 104 週間発がん性試験<sup>5-1-9)</sup>

雌雄 ICR マウス(対照群：雌雄各 140 匹、投与群：各群 70 匹)にネオテーム(0、50、400、2,000、4,000 mg/kg 体重/日)を 104 週間混餌投与した。

400 mg/kg 体重/日投与群以上の雌雄で体重が対照群に比べて低く推移し、摂餌量が低下した。

4,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で心重量が減少したが、病理解剖学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。

4,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞腺腫の、雌で細気管支/肺胞腺がんの発生頻度が高値を示した。その値は、背景データの範囲内であり、有意差はなく、投与の影響はないと考えられる。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

##### イ．ラット *in utero* 曝露 / 104 週間発がん性試験<sup>5-1-10)</sup>

雌雄 SD ラット (F<sub>0</sub>) (対照群：各群 170 匹、投与群：各群 85 匹)にネオテーム(0、50、500、1,000 mg/kg 体重/日)を交配前 4 週間と交配期間中、雌にはさらに出産後 21 日目まで混餌投与し、得られた児 (F<sub>1</sub>) (対照群：各群 147 匹、投与群：各群 73 ~ 75 匹)に同用量のネオテームを 104 週間混餌投与した。

F<sub>1</sub> の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。

500 mg/kg 体重/日投与群以上の雄で有意な死亡率の低下が認められたが、体重増加抑制に付随したものと考えられた。

病理組織学的検査において、50 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性及び前腫瘍病変が見られないことから、偶発的なものと考えられた。非腫瘍性病変として、いくつかの投与群で肺胞タンパク症、うっ血、肺血管周囲水腫、腎皮髄境界部鉍質沈着等の発生頻度の有意な変動が認められたが、いずれも投与に関連がないものと考えられ、毒性学的に意義のある所見は認められなかった。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

##### 抗原性試験<sup>5-1-11)</sup>

モルモット皮膚感作性の有無について、雌雄 CrI:(HA)BR モルモット(対照群：各群 5 匹、投与群：各群 10 匹)にネオテーム(0.4 g/匹)を接着パッチにのせ、週 1 回 6 時間を 3 週間(計 3 回)にわたり貼付し感作暴露した後、2 週間後に誘発暴露を行った。

その結果、両群ともに皮膚反応は認められなかった。

なお、各種動物試験及びヒトにおける臨床試験において、アレルギーを示唆する

所見は認められていない。

#### 遺伝毒性試験

##### ア．細菌を用いた復帰突然変異試験<sup>5-1-12)</sup>

細菌を用いた復帰突然変異試験（TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、WP2*uvrA*：312～10,000 µg/プレート）が実施された。

その結果、S9mixの有無にかかわらず、陰性であった。

##### イ．L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験<sup>5-1-13)</sup>

L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験（100～1,000 µg/mL）において、チミジンキナーゼ遺伝子座（tk）の変異誘発について検討した。

その結果、S9mixの有無にかかわらず、変異誘発は認められなかった。

##### ウ．チャイニーズハムスター卵巣（CHO）由来細胞を用いた染色体異常試験<sup>5-1-14)</sup>

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）由来細胞を用いた染色体異常試験（S9mix存在下：250～1,000 µg/mL、S9mix非存在下：62.5～250 µg/mL）が実施された。

その結果、S9mixの有無にかかわらず、染色体異常の誘発は認められなかった。

##### エ．雌雄 ICR マウスを用いた小核試験<sup>5-1-15)</sup>

雌雄 ICR マウス（各群 10 匹）を用いた強制経口投与による小核試験（500、1,000、2,000 mg/kg 体重）が実施された。

その結果、小核の誘発は認められなかった。

#### 一般薬理試験

##### ア．一般症状及び行動に及ぼす影響（ラット、イヌ）<sup>5-1-2), 5-1-3)</sup>

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験において、投与に起因する一般症状及び行動に及ぼす影響はみられなかった。

##### イ．中枢神経系に及ぼす影響（ラット、イヌ）

###### （ア）自発運動量に及ぼす影響<sup>5-1-6)</sup>

ラットを用いた繁殖試験において、自発運動量に及ぼす影響を検討した。

その結果、自発運動量に及ぼす影響は認められなかった。なお、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄に低下傾向が観察されたが、体重の減少によるものと考えられた。

###### （イ）麻酔作用に及ぼす影響<sup>5-1-16)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 5 匹）にネオテーム（5、15 mg/kg 体重）を経口投与し、30 分後にヘキシバルピツール（雄：150 mg/kg 体重、雌：100 mg/kg 体重）を腹腔内投与した。

その結果、ヘキソバルビツール誘発睡眠時間への影響はみられなかった。

(ウ) その他

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験<sup>5-1-2), 5-1-3)</sup>において、中枢神経系に及ぼす影響は認められなかった。

イヌを用いた 13 週間混餌投与試験<sup>5-1-3)</sup>において、体温に及ぼす影響は認められなかった。

ウ．自律神経系に及ぼす影響（モルモット摘出回腸）<sup>5-1-17)</sup>

雄 Dunkin-Hartley モルモットの摘出回腸をネオテーム（0、20、60、200 ng/mL）及び NC-00751（60、200、600 ng/mL）に暴露し、アセチルコリン、ヒスタミン等の収縮薬の反応に対する作用を検討した。

その結果、各種収縮薬誘発収縮及び回腸の緊張レベルに影響はみられず、また、試験した受容体系に対して活性化作用、協同的及び拮抗的作用を示さなかった。

エ．呼吸・循環器系及び腎機能に及ぼす影響（イヌ）<sup>5-1-18)</sup>

雄ビーグル犬（各群 6 匹）にネオテーム（5、15 mg/kg 体重）を十二指腸内投与し、血圧、心拍数、呼吸数、一回呼吸量、尿中ナトリウム及びタンパク質等を測定した。

その結果、いずれも投与による影響は認められなかった。

オ．消化器系に及ぼす影響（ラット）<sup>5-1-19)</sup>

雄 SD ラット（各群 10 匹）にネオテーム（5、15 mg/kg 体重）を経口投与し、約 30 分後に炭末の 5%（w/v）水懸濁液を経口投与した。

その結果、幽門括約筋と盲腸間における炭末の移動距離に影響は認められなかった。

ラット嗜好性試験<sup>5-1-20)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 14 匹）にネオテームを 0、50、150、500、1,500、5,000、15,000 ppm の濃度で混合した餌を自由に摂取させて餌の嗜好性を検討した。

その結果、50 ppm の雄を除く全ての投与群でネオテームを混合した餌に対する嗜好性の低下がみられ、5,000 ppm 以上の濃度では完全に忌避行動を示した。

ネオテーム分解物の安全性試験

ア．単回投与毒性試験<sup>5-1-21), 5-1-22), 5-1-23)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 10 匹）に NC-00764（0、0.6、2.0、6.0 mg/kg 体重）、NC-00777（0、0.6、2.0、6.0 mg/kg 体重）又は NC-00779（0、0.3、1.0、3.0 mg/kg 体重）を強制経口投与し、14 日間観察した。

その結果、投与による影響は認められなかった。

#### イ．反復投与毒性試験<sup>5-1-24)</sup>

雌雄 SD ラット（各群 15 匹）に NC-00764、NC-00777 及び NC-00779 の混合物（NC-00764/NC-00777/NC-00779 がそれぞれ 0.2/0.2/0.1、0.6/0.6/0.3、2.0/2.0/1.0、6.0/6.0/3.0 mg/kg 体重/日）を 4 週間混餌投与した。

その結果、投与による影響は認められなかった。

#### ウ．遺伝毒性試験

##### （ア）細菌を用いた復帰突然変異試験

NC-00751 又は NC-00764 の細菌を用いた復帰突然変異試験（TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537：50～5,000 µg/プレート）が実施された<sup>5-1-25), 5-1-27)</sup>。

その結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった。

NC-00777 又は NC-00779 の細菌を用いた復帰突然変異試験（TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535：10～5,000 µg/プレート）が実施された<sup>5-1-30), 5-1-33)</sup>。

その結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった。

##### （イ）ほ乳類培養細胞（AS52/XPRT 細胞）を用いた遺伝子突然変異試験

NC-00751 又は NC-00764 のほ乳類培養細胞（AS52/XPRT 細胞）を用いた遺伝子突然変異試験（625～5,000 µg/mL）が実施された<sup>5-1-26), 5-1-28)</sup>。

その結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった。

NC-00777 又は NC-00779 のほ乳類培養細胞（AS52/XPRT 細胞）を用いた遺伝子突然変異試験（NC-00777：100～390、NC-00779：313～5,000 µg/mL）が実施された<sup>5-1-31), 5-1-34)</sup>。

その結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった。

##### （ウ）雌雄 ICR マウスを用いた小核試験

NC-00764（500、1,000、2,000 mg/kg 体重）の雌雄 ICR マウス（各群 10 匹）を用いた小核試験が実施された<sup>5-1-29)</sup>。

その結果、小核の誘発は認められなかった。

NC-00777 又は NC-00779（500、1,000、2,000 mg/kg 体重）の雌雄 ICR マウス（各群 10 匹）を用いた小核試験が実施された<sup>5-1-32), 5-1-35)</sup>。

その結果、小核の誘発は認められなかった。

#### ヒトにおける知見

##### ア．単回投与試験<sup>5-1-36)</sup>

健常成人男子（各群 6 名）にネオテーム（0.1、0.25、0.5 mg/kg 体重）をミネラル水に溶解したものを単回経口投与した。

その結果、ネオテーム投与に起因した異常は認められなかった。

#### イ．2 週間投与試験<sup>5-1-37)</sup>

健常成人男女（各群 12 名）にネオテーム（0、0.5、1.5 mg/kg 体重/日）を 1 日 3 回 2 週間反復経口投与した。

その結果、ネオテーム投与に起因した異常は認められなかった。

#### ウ．13 週間投与試験<sup>5-1-38)</sup>

健常成人男女（各群 24 名、ただし、最高用量群は各群 23 名）にネオテーム（0、0.5、1.5 mg/kg 体重/日）を 1 日 3 回 13 週間反復経口投与した。

その結果、ネオテーム投与に起因した異常は認められなかった。

#### エ．インスリン非依存性糖尿病（NIDDM）患者の 2 週間三期クロスオーバー試験<sup>5-1-39)</sup>

インスリン非依存性糖尿病（NIDDM）患者（男性 17 名、女性 17 名）にネオテーム（0、0.5、1.5 mg/kg 体重/日）を 1 日 3 回 2 週間反復経口投与する三期クロスオーバー試験を実施した。

その結果、ネオテーム投与に起因した異常は認められず、血漿中グルコース及びインスリン濃度に影響を及ぼさなかった。

### 6．国際機関等における評価

#### （１）オーストラリア／ニュージーランド（ANZFA）における評価（2001）<sup>2-2)</sup>

ネオテームにおいて実施された種々の毒性試験及び臨床試験を評価した。

ネオテームは、実施した試験の全ての投与量において良好な忍容性を示した。高用量において体重増加抑制がみられたが、この所見は、ネオテームを混合した食餌の嗜好性低下に起因する食餌摂取量の減少に伴うものであり、毒性を示唆するものではなかった。唯一の所見は、イヌ 52 週間反復投与毒性試験における血清アルカリホスファターゼ（ALP）値の上昇であった。

毒性学的意義は不明であるが、イヌ 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇が認められた用量を影響量とし、NOEL を 200 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として、ADI を 2.0 mg/kg 体重/日と設定した。

#### （２）米国食品医薬品局（FDA）における評価（2002）<sup>2-3)</sup>

ネオテームにおいて実施された種々の毒性試験及び臨床試験を評価した。

実施された試験において、毒性学的所見は認められなかった。

ラットを用いた 52 週間反復投与毒性試験において体重増加量抑制がみられた用量を影響量とし、NOEL を 30 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として、ADI を 0.3 mg/kg 体重/日と設定した。

( 3 ) フランス食品衛生安全局 ( AFSSA ) における評価 ( 2004 ) <sup>2-8)</sup>

ネオテームにおいて実施された種々の毒性試験及び臨床試験を評価した。

実施された試験において、ネオテームは何ら毒性を惹起しなかった。

イヌの 13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇がみられた用量を影響量とし、NOEL を 60 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として、暫定 ADI を 0.6 mg/kg 体重/日と設定した。

( 4 ) JECFA における評価 ( 2003 ) <sup>2-9), 2-10), 2-11)</sup>

ネオテームにおいて実施された種々の毒性試験及び臨床試験を評価した。

実施された試験において、ネオテームは何ら毒性を惹起しなかった。

唯一の所見はイヌの 13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験における血清 ALP 値の上昇であった。ALP の上昇は緩やかで可逆性であり、肝毒性を示唆するものではなかったが、再現性、統計学的有意差及び用量依存性が認められたことから、イヌの 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇が認められた用量を影響量とし、NOEL を 200 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として、ADI を 0-2 mg/kg 体重/日と設定した。

## 7 . 一日摂取量の推計等

ネオテームは、甘味料として様々な食品に使用されることが推定される。

平成 13 年国民栄養調査成績の食品群別摂取量 ( 総数 ) <sup>5-4-1)</sup> をもとに、食品中の砂糖をすべてネオテームに置き換えた場合を仮定し、食品摂取量とネオテームの添加量から算出すると、ネオテームの推定摂取量は 3.84 mg/ヒト/日 ( 体重 50kg として 0.0769 mg/kg 体重/日 ) となる。同様に、年齢別の食品群別摂取量より、1 ~ 6 歳は 3.54 mg/ヒト/日 ( 0.225 mg/kg 体重/日 ) 、7 ~ 14 歳は 4.45 mg/ヒト/日 ( 0.118 mg/kg 体重/日 ) と推定される。

また、ネオテームの分解物 NC-00777、NC-00764 及び NC-00779 の一日推定摂取量は、それぞれ、0.042 µg/kg 体重/日、0.136 µg/kg 体重/日及び 0.021 µg/kg 体重/日と推定される <sup>3-6), 4-20) ~ 4-32)</sup>。

一方、平成 14 年度マーケットバスケット方式による 8 種甘味料の摂取量調査 <sup>5-4-2)</sup> をもとに、アスパルテームをすべてネオテームで置き換えた場合を仮定し、摂取量をアスパルテームに対するネオテームの甘味度比 40 倍で除すると、ネオテームの推定摂取量は 0.146 mg/ヒト/日 ( 0.00292 mg/kg 体重/日 ) となる。同様に、英国 <sup>5-4-4)</sup> 及び米国 <sup>5-4-5)</sup> のアスパルテームの平均及び 90 パーセンタイル摂取量をもとに、甘味度比を

イヌにおける 13 週および 52 週間毒性試験において観察された血清アルカリフォスファターゼ値の上昇の無影響量 ( NOEL ) 60 mg/kg 体重/日 day に安全係数 100 を適用し、ADI 0.6mg/kg 体重/日 day と設定されたが、追加試験を実施することによって、血清アルカリフォスファターゼ活性の上昇から示唆される肝臓への影響の懸念を払拭できる可能性があることから、追加試験が提出されることを期待して 2 年間の期限付きの暫定 ADI とされた。

31 として算出すると、ネオテームの平均及び 90 パーセンタイル推定摂取量は、英国で 0.01 及び 0.05 mg/kg 体重/日、米国で 0.04 及び 0.10 mg/kg 体重/日となる。

なお、ネオテームは、フレーバー増強剤（香料）として、様々な食品に甘味の発現しない低濃度（閾値（4.1 ppm）以下）で使用されることが推定されるが、香料として使用される量は、甘味料として使用する量と比較して著しく少ないと推定され、また、既に甘味料としてネオテームが使用されている食品においては、香料として使用することはないと考えられることから、上記の一日推定摂取量には、香料としての一日推定摂取量が包括されると考えられる。

## 8．フェニルアラニン摂取量に関する考察

ネオテームは、通常の保存条件下ではフェニルアラニンを遊離しない<sup>3-6)</sup>ことから、ネオテーム摂取によってフェニルアラニンの摂取量が増加するリスクは無視できると考えられる。

仮に、ネオテームがすべてフェニルアラニンに変換されると想定した場合、国民栄養調査<sup>5-4-1)</sup>をもとにした一日推定摂取量から、わが国におけるフェニルアラニンの推定摂取量を算出すると、成人で 1.68 mg/ヒト/日 (0.034 mg/kg 体重/日)、1～6 歳で 1.55 mg/ヒト/日 (0.098 mg/kg 体重/日) となり、フェニルケトン尿症患者の摂取目安量<sup>5-4-6)</sup> (1～3 歳で 40～20 mg/kg 体重/日、3 歳以上で 35～15 mg/kg 体重/日) の 0.7%以下に相当する。

同様に、米国におけるネオテーム摂取によるフェニルアラニンの推定摂取量を算出すると、成人で 2.64 mg/ヒト/日、体重 20 kg 児で 1.50 mg/ヒト/日となり、体重 20 kg のフェニルケトン尿症児のフェニルアラニン一日摂取量 (0.4～0.6 g/日) の 0.4%以下に相当する<sup>2-3)</sup>。また、米国において健常人が食事から摂取するフェニルアラニンの量は 2.5～10 g/日であり、ネオテーム摂取から推定される暴露量はごく微量であると考えられる。この比較に基づき、米国 FDA はネオテームに由来するフェニルアラニンの潜在的摂取量は、安全性上何ら問題ないと結論している。

## 【引用文献】

- 2-2 )ANZFA. Inquiry report and regulatory impact statement. Permission for use of neotame. (2001)
- 2-3 ) U.S. FDA. Food additives permitted for direct addition to food for human consumption; neotame. Federal Register Vol.67, No.131 (2002) 45300-45310
- 2-8 ) フランス食品衛生安全局 199-SA-0059 ( 2004 )
- 2-9 ) 第 61 回 JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical report series 922 (2004) 30-35
- 2-10 ) 第 61 回 JECFA. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series 52 (2004) 85-135

- 2-11 ) Codex Circular Letter CL 2004/44-FAC, Appendix I ( 2004 ) 42-44
- 3-6 )Lui PY. Twenty-six week stability study of NC-00723 in mock beverages. (1999) Study number (NP96-001). Unpublished report from The NutraSweet Kelco Company, Mt. Prospect, IL, U.S.A.
- 4-1 ) Ziegler J, Study of sweetness potency of NC-00723 compared to aspartame in water and flavor profile of NC-00723. (1997) Study number (NP 97-019). Unpublished report from Duke University, Durham, NC, U.S.A.
- 5-1-1 ) Thomford PJ, Carter JL. Thirteen week dietary range-finding study of NC-00723 in mice. (1995) Study number (PCR 0989). Unpublished report from Hazleton Wisconsin Inc., Madison, WI, U.S.A.
- 5-1-2 ) Mitchell DJ, Brown MP. NC-00723: toxicity study by dietary administration to CD rats for 13-weeks followed by a 4-week reversibility period. (1995) Study number (PCR 0988). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-3 ) Thomford PJ, Saunders WJ. 13 week dietary toxicity study of NC-00723 in dogs followed by a 4 week reversibility period. (1995) Study number (PCR 0990). Unpublished report from Hazleton Wisconsin Inc., Madison, WI, U.S.A.
- 5-1-4 ) Mitchell DJ, Brown MP. NC-00723: 52-week toxicity study by dietary administration to CD rats with exposure *in utero* and followed by a 4-week reversibility period. (1997) Study number (PCR 1011). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-5 ) Thomford PJ, Carter JL. 52-week dietary toxicity study of NC-00723 in dogs followed by a 4-week reversibility period. (1997) Study number (PCR 1017). Unpublished report from Covance Laboratories Inc., Madison, WI, U.S.A.
- 5-1-6 ) Willoughby CR. NC-00723: two generation reproductive study by dietary administration to CD rats. (1997) Study number (PCR 1001). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-7 ) Willoughby CR. NC-00723: dietary teratology study in the rat. (1996) Study number (PCR 0999). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-8 ) Willoughby CR. NC-00723: teratology study in the rabbit by gavage. (1996) Study number (PCR 1023). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-9 ) Thomford PJ, Carter JL. 104-week dietary carcinogenicity study with NC-00723 in CD-1 mice. (1997) Study number (PCR 1014). Unpublished report from Covance Laboratories Inc., Madison, WI, U.S.A.
- 5-1-10 ) Mitchell DJ, Brown MP. NC-00723 oncogenicity study by dietary administration to CD rats with exposure *in utero*. (1997) Study number (PCR 1000). Unpublished

- report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-11 ) Sorenson SR. Dermal sensitization study of NC-00723 in guinea pigs - closed patch technique. (1999) Study number (PCR1213). Unpublished report from Covance Laboratories Inc., Madison, WI, U.S.A.
- 5-1-12 ) Riccio ES. *Salmonella-escherichia coli*/microsome plate incorporation assay of NC-00723. (1994) Study number (PCR 0963). Unpublished report from SRI International, Menlo Park, CA, U.S.A.
- 5-1-13 ) Rudd CJ. L5178Y mouse lymphoma (MOLY) cell *tk*+/-→*tk*-/- gene mutation assay with NC-00723. (1994) Study number (PCR 0965). Unpublished report from SRI International, Menlo Park, CA, U.S.A.
- 5-1-14 ) Winegar RA. Measurement of chromosomal damage in Chinese hamster ovary (CHO) cells treated with NC-00723. (1994) Study number (PCR 0964). Unpublished report from SRI International, Menlo Park, CA, U.S.A.
- 5-1-15 ) Garrett SL, Kier LD, Carbone LA, McAdams JG. Mouse bone marrow micronucleus assay of NC-00723. (1997) Study number (PCR 1026). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-16 ) Atterson PR. NC-00723: assessment of hexobarbital sleeping time in rats (oral administration). (1997) Study number (PCR 1168). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-1-17 ) Atterson PR. NC-00723 and NC-00751: effects on the isolated guinea-pig ileum. (1997) Study number (PCR 1170). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-1-18 ) Algate CM. NC-00723: cardiovascular, respiratory and renal evaluation in the anaesthetized dog following intraduodenal administration. (1997) Study number (PCR 1167). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-1-19 ) Atterson PR. NC-00723: charcoal propulsion test in rats (oral administration). (1997) Study number (PCR 1169). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-1-20 ) Nicholls IM. NC-00723: dietary preference feasibility study. (1997) Study number (PCR 1132). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Eye, Suffolk, England, U.K.
- 5-1-21 ) Bechtel CL. Single gavage dose study in rats with NC-00764. (1998) Study number (PCR 1134). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-22 ) Bechtel CL. Single gavage dose study in rats with NC-00777. (1998) Study number (PCR 1189). Unpublished report from Environmental Health Laboratory,

- Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-23 ) Bechtel CL. Single gavage dose study in rats with NC-00779. (1998) Study number (PCR 1199). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-24 ) Lemen JK. Four week dietary study of NC-00764/NC-00777/NC-00779 mixture in rats. (1998) Study number (PCR 1186). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Newstead, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-25 ) Curtiss SW, McAdams JG, Kier LD. Ames/*salmonella* assay of NC-00751. (1997) Study number (PCR 1137). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-26 ) Cabonce MA, Asbury KJ, McAdams JG, Wagner CA, Kier LD. AS52/XPRT gene mutation assay of NC-00751. (1997) Study number (PCR 1138). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-27 ) Curtiss SW, McAdams JG, Kier LD. Ames/*salmonella* assay of NC-00764. (1998) Study number (PCR 1086). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-28 ) Cabonce M, Asbury JK, McAdams JG, Wagner CA, Kier LD. AS52/XPRT gene mutation assay with NC-00764. (1998) Study number (PCR 1087). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-29 ) Garrett SL, Kier LD, Carbone LA, McAdams JG. Mouse bone marrow micronucleus assay of NC-00764. (1998) Study number (PCR 1090). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-30 ) Balwierz PS, Bunch RT. Evaluation of the mutagenic potential of NC-00777 in the Ames *salmonella*/microsome assay. (1998) Study number (PCR 1191). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Parkway, Skokie, IL, U.S.A.
- 5-1-31 ) Cabonce M, Asbury K, McAdams JG, Wagner CA, Kier LD. AS52/XPRT gene mutation assay with NC-00777. (1998) Study number (PCR 1192). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Newstead, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-32 ) Soelter SG, Bunch RT, Nicolette J. An evaluation of the potential of NC-00777 to induce micronucleated polychromatic erythrocytes in the bone marrow of mice (micronucleus test). (1998) Study number (PCR 1196). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Parkway, Skokie, IL, U.S.A.
- 5-1-33 ) Balwierz PS, Bunch RT. Evaluation of the mutagenic potential of NC-00779 in the Ames *salmonella*/microsome assay. (1998) Study number (PCR 1201). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Parkway, Skokie, IL, U.S.A.

U.S.A.

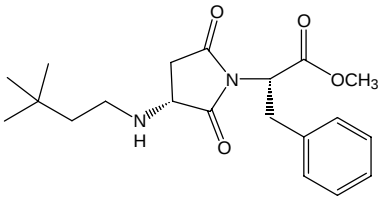
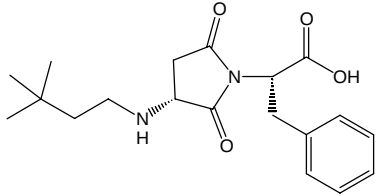
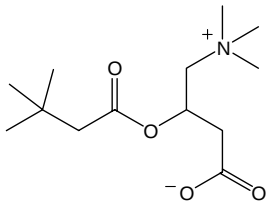
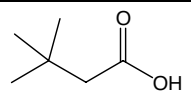
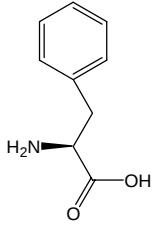
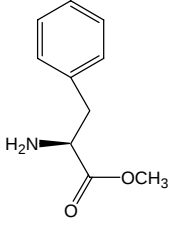
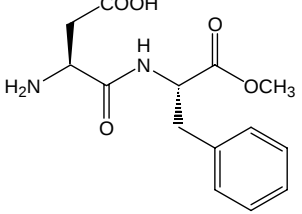
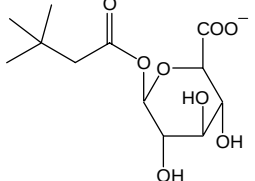
- 5-1-34 ) Cabonce M, Asbury K, McAdams JG, Wagner CA. AS52/XPRT gene mutation assay with NC-00779. (1998) Study number (PCR 1202). Unpublished report from Environmental Health Laboratory, Monsanto Company, St. Louis, MO, U.S.A.
- 5-1-35 ) Nicolette JJ, Bunch RT. An evaluation of the potential of NC-00779 to induce micronucleated polychromatic erythrocytes in the bone marrow of mice (micronucleus test). (1998) Study number (PCR 1206). Unpublished report from Monsanto Safety Evaluation-Parkway, Skokie, IL, U.S.A.
- 5-1-36 ) Kisicki JC, Azzam SM, Gao X. Single dose tolerance of NC-00723 in healthy male subjects. (1997) Study number (PCR 1035). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-1-37 ) Kisicki JC, Combs ML, Gao X. Two-week tolerance study of NC-00723 administered to healthy male and female subjects. (1998) Study number (PCR 1113). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-1-38 ) Kisicki JC, Weston IE, Combs ML. Thirteen week tolerance study of NC-00723 administered to healthy adult male and female subjects. (1998) Study number (PCR 1114). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-1-39 ) Morrison DN, Combs ML, Lu M. Effect of multiple doses of NC-00723 compared to placebo on plasma glucose and insulin concentrations in non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) subjects. (1998) Study number (PCR 1115). Unpublished report from Bio-Kinetic Clinical Applications, Inc., Springfield, MO, U.S.A.
- 5-2-7 ) Hawkins DR, Kirkpatrick D, Aikens PJ, Saxton JE. NC-00723: pharmacokinetics of single doses in the rat after oral and intravenous administration. (1997) Study number (PCR 1028). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-8 ) Kirkpatrick D, Aikens PJ, Nicholson J, Saxton JE, Harris K. <sup>14</sup>C-NC-00723: metabolism and pharmacokinetics in the dog. (1997) Study number (PCR 1029). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-9 ) Hawkins DR, Kirkpatrick D, Aikens PJ, Saxton JE. <sup>14</sup>C-NC-00723: tissue distribution in the rat. (1995) Study number (PCR 0959). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-11 ) Hawkins DR, Kirkpatrick D, Aikens PJ, Beeby TL. <sup>14</sup>C-NC-00723 determination distribution in pregnant and non-pregnant rats by whole-body autoradiography. (1996) Study number (PCR 1031). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.

- 5-2-12 ) Kirkpatrick D, Aikens PJ, Saxton JE.  $^{14}\text{C}$ -NC-00723 and  $^{14}\text{C}$ -NC-00751: Studies of plasma protein binding *in vitro* (Rat, Dog and Human). (1997) Study number (PCR 1208). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-13 ) Kirkpatrick D, Aikens PJ, Nicholson J, Saxton JE.  $^{14}\text{C}$ -NC-00723: metabolism in the rat. (1997) Study number (PCR 1027). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-14 ) Kirkpatrick D, Aikens PJ, Harris KE.  $^{14}\text{C}$ -NC-00723: metabolite isolation from the rat. (1998) Study number (PCR 1214). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-15 ) Hawkins DR, Kirkpatrick D, Aikens PJ, Saxton JE.  $^{14}\text{C}$ -NC-00723: Metabolism in the rat pilot investigation. (1995) Study number (PCR 0957). Unpublished report from Huntingdon Research Centre Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-16 ) Hall M. NC-00723: effect on hepatic xenobiotic metabolising enzyme activities in rats by dietary administration for 14 days. (1997) Study number (PCR 1032). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-17 ) Kirkpatrick DK, Aikens PJ, Hobbs GR. NC-00723 and NC-00751: stability in simulated gastric and intestinal fluid. (1998) Study number (PCR 1218). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-18 ) Hawkins DR, Kirkpatrick D, Shaw D, Bennett S.  $^{14}\text{C}$ -NC-00751: metabolism in the rat. (1996) Study number (PCR 1119). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-19 ) Holt PR, Kirkpatrick D. A pharmacokinetic study of [ $^{14}\text{C}$ ] NC-00723 in healthy male subjects. (1997) Study number (PCR 1039). Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-20 ) Weston IE, Azzam SM, Gao X. Assessment of the dose-related pharmacokinetic profile of NC-00723 in solution administered to healthy male subjects. (1997) Study number (PCR 1111). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-2-21 ) Kisicki JC, Combs ML, Gao X. Effect of repeated ingestion of NC-00723 in solution administered in healthy male subjects. (1998) Study number (PCR 1145). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-2-22 ) Harry J, Aikens PJ. An investigation of a urinary metabolite in healthy male subjects after administration of [ $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$ ]-NC-00723. (1998) Study number (PCR 1215).

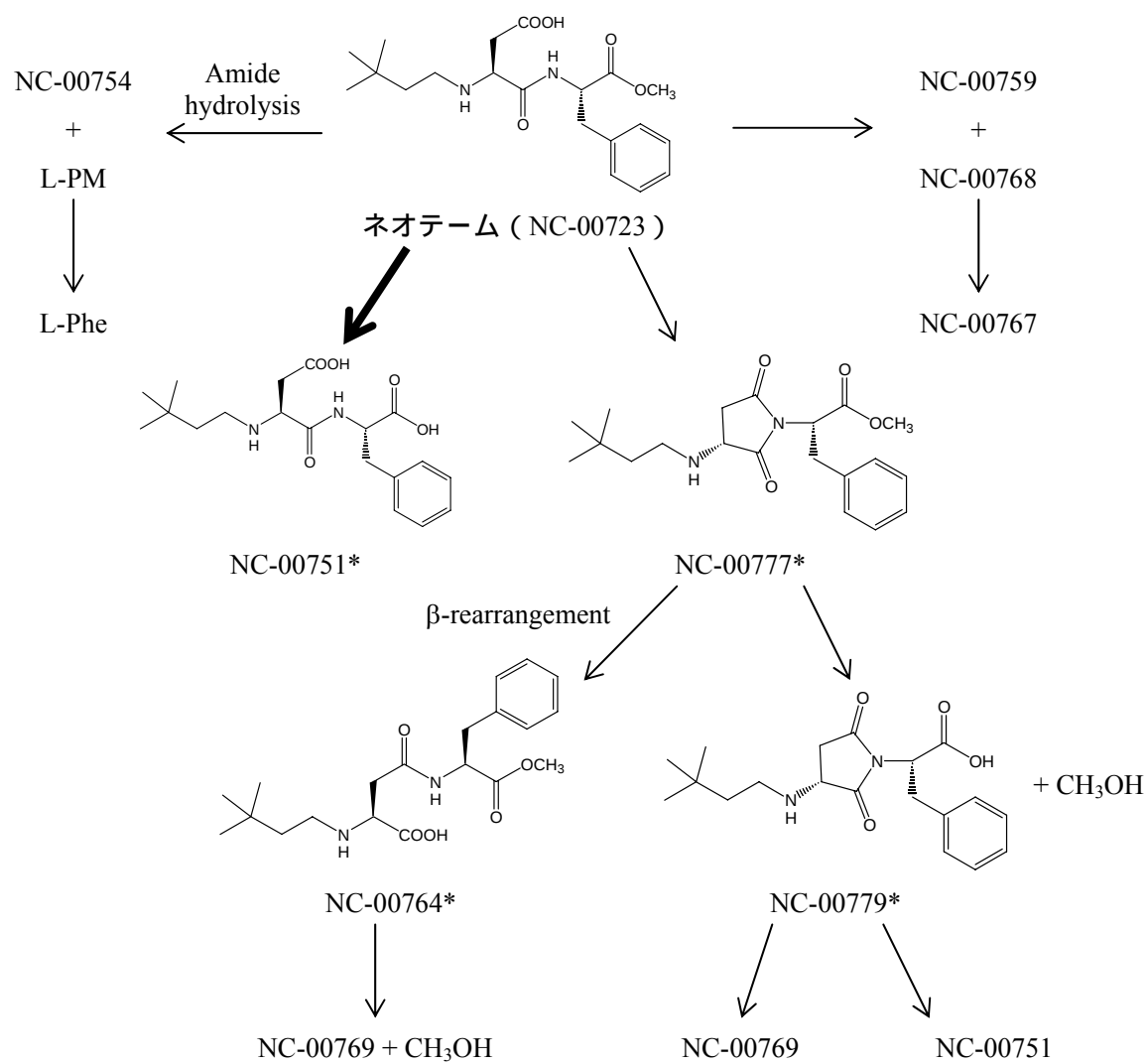
- Unpublished report from Huntingdon Life Sciences Ltd., Huntingdon, Cambridgeshire, England, U.K.
- 5-2-23 ) Weston IE, Combs ML, Gao X. A comparison of the pharmacokinetic profile of NC-00723 in solution and capsules administered to healthy subjects. (1998) Study number (PCR 1112). Unpublished report from Harris Laboratories, Inc., Lincoln, NE, U.S.A.
- 5-4-1 ) 国民栄養の現状 平成 13 年厚生労働省国民栄養調査結果 健康・栄養情報研究会編 第一出版株式会社 (2003)
- 5-4-2 ) 四方田千佳子、大西有希子、棚元健一、相澤博、大澤テイ子、宮崎奉之、毛利孝明、大和康博、玉那覇康二 平成 14 年度マーケットバスケット方式による 8 種甘味料の摂取量調査 日本食品化学学会 第 9 回総会・学術大会 一般講演 35 (2002) 62.
- 5-4-4 ) Hinson AL, Nicol WM. Monitoring sweetener consumption in Great Britain. *Food Additives and Contaminants*. (1992) 9: 669-681.
- 5-4-5 ) MRCA Information Services. Frequency distributions of the 14-day average daily intake of aspartame. (1993)
- 5-4-6 ) 北川照男、多田啓也、大浦敏明、松田一郎、青木菊麿、大和田操 フェニルケトン尿症 (高フェニルアラニン血症の一部を含む) 治療指針の改訂について 日本小児科学会雑誌 (1995) 99: 1535-1539.
- 7-1-5 ) Parkash I, Corliss G, Ponakala R, Ishikawa G. Neotame: the next-generation sweetener. *Food Technology* (2002) 56:36-40

【ネオテーム関連化合物一覧】

| 名 称                 | 化学名（一般名）                                                                                                                                                           | 構 造 式 |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ネオテーム<br>(NC-00723) | Neoteme<br>N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L- $\alpha$ -aspartyl]-<br>L-phenylalanine 1-methyl ester<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L- $\alpha$ -アスパルチル]-<br>L-フェニルアラニン 1-メチルエステル |       |
| NC-00751            | N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L- $\alpha$ -aspartyl]-<br>L-phenylalanine<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L- $\alpha$ -アスパルチル]-<br>L-フェニルアラニン                                     |       |
| NC-00754            | N-(3,3,-dimethylbutyl)-L- $\alpha$ -aspartic acid<br>N-(3,3-ジメチルブチル)-L-アスパラギン酸                                                                                     |       |
| NC-00759            | 3,3,-dimethylbutylamine<br>3,3-ジメチルブチルアミン                                                                                                                          |       |
| NC-00764            | N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L- $\beta$ -aspartyl]-<br>L-phenylalanine 1-methyl ester<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L- $\beta$ -アスパルチル]-<br>L-フェニルアラニン 1-メチルエステル              |       |
| NC-00767            | N-fumaryl-L-phenylalanine<br>N-フマリル-L-フェニルアラニン                                                                                                                     |       |
| NC-00768            | N-fumaryl-L-phenylalanine 1-methyl ester<br>N-フマリル-L-フェニルアラニン 1-メチルエ<br>ステル                                                                                        |       |
| NC-00769            | N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L- $\beta$ -aspartyl]-<br>L-phenylalanine<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L- $\beta$ -アスパルチル]-<br>L-フェニルアラニン                                       |       |

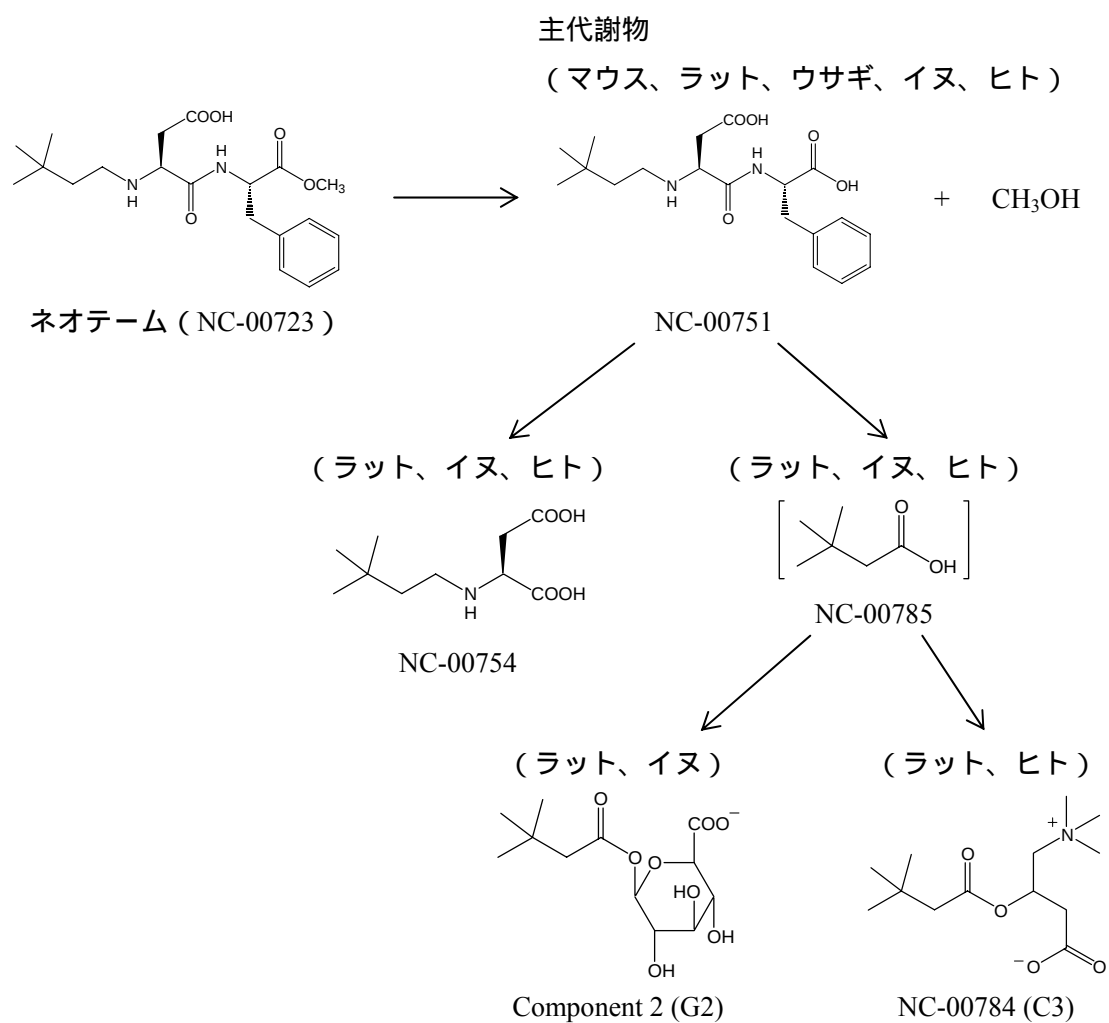
| 名 称                 | 化学名（一般名）                                                                                                                             | 構 造 式                                                                                 |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| NC-00777            | N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L-aspartimide]-<br>L-phenylalanine 1-methyl ester<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L-アスパルチミド-<br>L-フェニルアラニン 1-メチルエステル |    |
| NC-00779            | N-[N-(3,3,-dimethylbutyl)-L-aspartimide]-<br>L-phenylalanine<br>N-[N-(3,3-ジメチルブチル)-L-アスパルチミド-<br>L-フェニルアラニン                          |    |
| NC-00784<br>(C3)    | 3,3-dimethylbutanoyl-L-carnitine<br>3,3-ジメチルブタノイル-L-カルニチン                                                                            |    |
| NC-00785            | 3,3-dimethylbutanoic acid<br>3,3-ジメチルブタン酸                                                                                            |   |
| L-Phe               | L-phenylalanine<br>L-フェニルアラニン                                                                                                        |  |
| L-PM                | L-phenylalanine methyl ester<br>L-フェニルアラニンメチルエステル                                                                                    |  |
| アスパルテーム<br>(APM)    | Aspartame<br>$\alpha$ -L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester<br>$\alpha$ -L-アスパルチル-L-フェニルアラニンメチル<br>エステル                           |  |
| Component 2<br>(G2) | $\beta$ -glucuronide 3,3-dimethylbutanoic acid<br>(グルクロン酸抱合体)                                                                        |  |

【ネオテームの分解経路（苛酷条件下）】



\* 現実的な保存条件下（pH3.2, 20℃, 8 h）における分解物

# 【ネオテームの推定代謝経路】



ネオテーム及び関連化合物の安全性試験結果

| 試験種類   | 動物種             | 試験                                              | 投与方法                                            | 動物数/群                                                                                                                 | 被験物質                                                       | 投与量                                          | 試験結果<br>NOAEL                               | 文献     |
|--------|-----------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------|--------|
| 反復投与毒性 | マウス             | 13 週間混餌投与試験                                     | 混餌                                              | 雌雄各 20                                                                                                                | ネオテーム                                                      | 0、100、1,000、4,000、8,000<br>(mg/kg 体重/日)      | 影響なし。<br>8,016 mg/kg 体重/日                   | 5-1-1  |
|        | ラット             | 13 週間混餌投与<br>及び 4 週間回復試験                        | 混餌                                              | 雌雄各 20or25                                                                                                            | ネオテーム                                                      | 0、100、300、1,000、3,000<br>(mg/kg 体重/日)        | 影響なし。<br>2,925 mg/kg 体重/日                   | 5-1-2  |
|        | イヌ              | 13 週間混餌投与<br>及び 4 週間回復試験                        | 混餌                                              | 雌雄各 4 or 6                                                                                                            | ネオテーム                                                      | 0、60、200、600、<br>2,000/1,200<br>(mg/kg 体重/日) | 影響なし。<br>597 mg/kg 体重/日                     | 5-1-3  |
|        | ラット             | <i>in utero</i> 暴露<br>/52 週間混餌投与<br>及び 4 週間回復試験 | <i>in utero</i> /混餌                             | 親:雌雄各 25<br>F <sub>1</sub> :雌雄各 20                                                                                    | ネオテーム                                                      | 0、10、30、100、300、1,000<br>(mg/kg 体重/日)        | 影響なし。<br>1,006 mg/kg 体重/日                   | 5-1-4  |
|        | イヌ              | 52 週間混餌投与<br>及び 4 週間回復試験                        | 混餌                                              | 雌雄各 4 or 6                                                                                                            | ネオテーム                                                      | 0、20、60、200、800<br>(mg/kg 体重/日)              | 影響なし。<br>742 mg/kg 体重/日                     | 5-1-5  |
| 繁殖     | ラット             | 繁殖試験 <sup>1</sup>                               | 混餌                                              | 雌雄各 28                                                                                                                | ネオテーム                                                      | 0、100、300、1,000<br>(mg/kg 体重/日)              | 影響なし。<br><del>1004,007</del> mg/kg 体重/<br>日 | 5-1-6  |
| 催奇形性   | ラット             | 催奇形性試験 <sup>2</sup>                             | 混餌                                              | 雌 24                                                                                                                  | ネオテーム                                                      | 0、100、300、1,000<br>(mg/kg 体重/日)              | 影響なし。<br><del>300964</del> mg/kg 体重/<br>日   | 5-1-7  |
|        | ウサギ<br>(妊娠)     | 催奇形性試験 <sup>3</sup>                             | 強制経口                                            | 20～25                                                                                                                 | ネオテーム                                                      | 0、50、150、500<br>(mg/kg 体重/日)                 | 影響なし。<br>500 mg/kg 体重/日                     | 5-1-8  |
| 発がん性   | マウス             | 104 週間発がん性試験                                    | 混餌                                              | 対照群:<br>雌雄各 140<br>投与群:<br>雌雄各 70                                                                                     | ネオテーム                                                      | 0、50、400、2,000、4,000<br>(mg/kg 体重/日)         | 発がん性は認められない。                                | 5-1-9  |
|        | ラット             | <i>in utero</i> 暴露<br>/104 週間発がん性試験             | <i>In utero</i> /混餌                             | (F <sub>0</sub> )<br>対照群:<br>雌雄各 170、<br>投与群:<br>雌雄各 85<br>(F <sub>1</sub> )<br>対照群:<br>雌雄各 147、<br>投与群:<br>雌雄各 73～75 | ネオテーム                                                      | 0、50、500、1,000<br>(mg/kg 体重/日)               | 発がん性は認められない                                 | 5-1-10 |
| 抗原性    | モルモット           | 皮膚感作性試験                                         | 閉塞貼付                                            | 対照群:<br>雌雄各 5<br>投与群:<br>雌雄各 10                                                                                       | ネオテーム                                                      | 0.4 (g/匹)                                    | アレルギーを示唆する<br>所見は認められない。                    | 5-1-11 |
| 遺伝毒性   | <i>in vitro</i> | 復帰突然変異試験<br>(+/- S9mix)                         | TA98、TA100、TA1535、<br>TA1537、TA1538、<br>WP2uvrA | ネオテーム                                                                                                                 | 312～10,000 (μg/プレート)                                       | 陰性                                           | 5-1-12                                      |        |
|        |                 | 遺伝子突然変異試験<br>(+/- S9mix)                        | L5178Y マウスリンパ腫細胞                                | ネオテーム                                                                                                                 | 100～1,000 (μg/mL)                                          | 陰性                                           | 5-1-13                                      |        |
|        |                 | 染色体異常試験<br>(+/- S9mix)                          | チャイニーズハムスター<br>卵巣(CHO)由来細胞                      | ネオテーム                                                                                                                 | S9mix 存在下:<br>250～1,000(μg/mL)<br>非存在下:<br>62.5～500(μg/mL) | 陰性                                           | 5-1-14                                      |        |

<sup>1</sup> F<sub>0</sub>: 雄; 交配前～F<sub>1</sub> 出生まで 14 週間、雌; 交配前～F<sub>1</sub> 離乳まで 10～11 週間  
F<sub>1</sub>: 雄; 離乳～F<sub>2</sub> 出生まで 15～16 週間、雌; 離乳～F<sub>2</sub> 離乳まで 17～20 週間

<sup>2</sup> 交配前 28 日～交配後 20 日

<sup>3</sup> 妊娠 6～19 日の 14 日間

| 試験種類                     | 動物種               | 試験                       | 投与方法                               | 動物数/群      | 被験物質                                        | 投与量                                                                                                   | 試験結果<br>NOAEL                                                          | 文献     |
|--------------------------|-------------------|--------------------------|------------------------------------|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------|
|                          | <i>in vivo</i>    | マウス小核試験                  | 強制経口                               | 雌雄各 10     | ネオテーム                                       | 500, 1,000, 2,000<br>(mg/kg 体重)                                                                       | 小核の誘発は認められない。                                                          | 5-1-15 |
| 一般薬理                     | ラット               | 一般症状及び行動<br>中枢神経系        | 混餌                                 | 雌雄各 20or25 | ネオテーム                                       | 0, 100, 300, 1,000, 3,000<br>(mg/kg 体重/日)                                                             | 影響なし。                                                                  | 5-1-2  |
|                          | イヌ                | 一般症状及び行動<br>中枢神経系        | 混餌                                 | 雌雄各 4 or 6 | ネオテーム                                       | 0, 60, 200, 600、<br>2,000/1,200<br>(mg/kg 体重/日)                                                       | 影響なし。                                                                  | 5-1-3  |
|                          | ラット               | 中枢神経系<br>(自発運動量)         | 混餌                                 | 雌雄各 28     | ネオテーム                                       | 0, 100, 300, 1,000<br>(mg/kg 体重/日)                                                                    | 影響なし。                                                                  | 5-1-6  |
|                          | ラット               | 中枢神経系<br>(麻酔作用)          | 経口                                 | 雌雄各 5      | ネオテーム                                       | 5, 15 (mg/kg 体重)                                                                                      | 影響なし。                                                                  | 5-1-16 |
|                          | 雄モルモット<br>摘出回腸    | 自律神経系                    | 暴露                                 |            | ネオテーム                                       | 0, 20, 60, 200 (ng/mL)                                                                                | 影響なし。                                                                  | 5-1-17 |
|                          |                   |                          |                                    |            | NC -00751                                   | 60, 200, 600 (ng/mL)                                                                                  |                                                                        |        |
|                          | イヌ                | 呼吸・循環器系及び<br>腎機能         | 十二指腸内                              | 雄 6        | ネオテーム                                       | 5, 15 (mg/kg 体重)                                                                                      | 影響なし。                                                                  | 5-1-18 |
| ラット                      | 消化器系<br>(小腸炭末輸送能) | 経口                       | 雄 10                               | ネオテーム      | 5, 15 (mg/kg 体重)                            | 影響なし。                                                                                                 | 5-1-19                                                                 |        |
| 嗜好性                      | ラット               | 嗜好性試験                    | 混餌                                 | 雌雄各 14     | ネオテーム                                       | 0, 50, 150, 500, 1,500、<br>5000, 15,000 (ppm)                                                         | 50 ppm 投与群の雄を除く投与群でネオテームを混合した餌に対する嗜好性の低下。<br>5,000 ppm 以上の濃度で忌避行動を呈した。 | 5-1-20 |
| 単回投与<br>毒性               | ラット               | 単回投与毒性試験                 | 強制経口                               | 雌雄各 10     | NC- 00764                                   | 0, 0.6, 2.0, 6.0<br>(mg/kg 体重)                                                                        | 影響なし。                                                                  | 5-1-21 |
|                          | ラット               | 単回投与毒性試験                 | 強制経口                               | 雌雄各 10     | NC- 00777                                   | 0, 0.6, 2.0, 6.0<br>(mg/kg 体重)                                                                        | 影響なし。                                                                  | 5-1-22 |
|                          | ラット               | 単回投与毒性試験                 | 強制経口                               | 雌雄各 10     | NC- 00779                                   | 0, 0.3, 1.0, 3.0<br>(mg/kg 体重)                                                                        | 影響なし。                                                                  | 5-1-23 |
| 反復投与<br>毒性               | ラット               | 4 週間混餌投与                 | 混餌                                 | 雌雄各 15     | NC- 00764、<br>NC- 00777、<br>NC- 00779<br>混合 | NC-00764/NC-00777/NC-00779<br>: 0.2/0.2/0.1, 0.6/0.6/0.3、<br>2.0/2.0/1.0, 6.0/6.0/3.0<br>(mg/kg 体重/日) | 影響なし。                                                                  | 5-1-24 |
| 遺伝毒性                     | <i>in vitro</i>   | 復帰突然変異試験<br>(+/- S9mix)  | TA98、TA100、TA102、<br>TA1535、TA1537 |            | NC- 00751                                   | 50 ~ 5,000<br>( $\mu$ g/プレート)                                                                         | 陰性                                                                     | 5-1-25 |
|                          |                   | 遺伝子突然変異試験<br>(+/- S9mix) | AS52/XPRT 細胞                       |            |                                             | 625 ~ 5,000 ( $\mu$ g/mL)                                                                             | 陰性                                                                     | 5-1-26 |
|                          |                   | 復帰突然変異試験<br>(+/- S9mix)  | TA98、TA100、TA102、<br>TA1535、TA1537 |            | NC- 00764                                   | 50 ~ 5,000<br>( $\mu$ g/プレート)                                                                         | 陰性                                                                     | 5-1-27 |
|                          |                   | 遺伝子突然変異試験<br>(+/- S9mix) | AS52/XPRT 細胞                       |            |                                             | 625 ~ 5,000 ( $\mu$ g/mL)                                                                             | 陰性                                                                     | 5-1-28 |
|                          | <i>in vivo</i>    | マウス小核試験                  | 経口                                 | 雌雄各 10     |                                             | 500, 1,000, 2,000<br>(mg/kg 体重)                                                                       | 小核の誘発は認められない。                                                          | 5-1-29 |
|                          | <i>in vitro</i>   | 復帰突然変異試験<br>(+/- S9mix)  | TA97a、TA98、TA100、<br>TA102、TA1535  |            | NC- 00777                                   | 10 ~ 5,000 ( $\mu$ g/プレート)                                                                            | 陰性                                                                     | 5-1-30 |
|                          |                   | 遺伝子突然変異試験<br>(+/- S9mix) | AS52/XPRT 細胞                       |            |                                             | 100 ~ 390( $\mu$ g/mL)                                                                                | 陰性                                                                     | 5-1-31 |
|                          | <i>in vivo</i>    | マウス/小核試験                 | 経口                                 | 雌雄各 10     |                                             | 500, 1,000, 2,000 (mg/kg 体重)                                                                          | 小核の誘発は認められない。                                                          | 5-1-32 |
|                          | <i>in vitro</i>   | 復帰突然変異試験<br>(+/- S9mix)  | TA97a、TA98、TA100、<br>TA102、TA1535  |            | NC- 00777                                   | 10 ~ 5,000( $\mu$ g/プレート)                                                                             | 陰性                                                                     | 5-1-33 |
| 遺伝子突然変異試験<br>(+/- S9mix) | AS52/XPRT 細胞      |                          | 313 ~ 5,000 ( $\mu$ g/mL)          | 陰性         |                                             | 5-1-34                                                                                                |                                                                        |        |

| 試験<br>種類 | 動物種            | 試験              | 投与<br>方法 | 動物数<br>/群                                                               | 被験物質  | 投 与 量                        | 試験結果<br>NOAEL | 文献     |
|----------|----------------|-----------------|----------|-------------------------------------------------------------------------|-------|------------------------------|---------------|--------|
|          | <i>in vivo</i> | マウス小核試験         | 経口       | 雌雄各 10                                                                  |       | 500, 1,000, 2,000 (mg/kg 体重) | 小核の誘発は認められない。 | 5-1-35 |
| ヒトにおける知見 | 健 常 成 人<br>男子  | 単回投与試験          | 経口       | 各 6                                                                     | ネオテーム | 0.1, 0.25, 0.5(mg/kg 体重)     | 影響なし          | 5-1-36 |
|          | 健常成人           | 2 週間投与試験        | 経口       | 男女各 12                                                                  | ネオテーム | 0.5, 1.5(mg/kg 体重/日)         | 影響なし          | 5-1-37 |
|          | 健常成人           | 13 週間投与試験       | 経口       | プラセボ、0.5<br>mg/kg 体重/<br>日投与群男<br>女各 24<br>1.5 mg/kg 体重<br>/日投与群各<br>23 | ネオテーム | 0.5, 1.5(mg/kg 体重/日)         | 影響なし          | 5-1-38 |
|          | NIDDM<br>患者    | 2 週間三期クロスオーバー試験 | 経口       | 各 17                                                                    | ネオテーム | 0.5, 1.5(mg/kg 体重/日)         | 影響なし          | 5-1-39 |