



## FRONT OFFICE VOEDSEL- EN PRODUCTVEILIGHEID

### Beoordeling van 6-methylnicotinegehalte in nicotinezakjes

---

Beoordeling aangevraagd door:	BuRO
Beoordeling opgesteld door:	RIVM
Datum aanvraag:	22-04-2024
Datum beoordeling:	24-05-2024 (concept) 07-06-2024 (definitief)
Coördinator:	RIVM
Opstellers:	RIVM
Toetsers:	RIVM
Projectnummer:	V/093130

---

#### Onderwerp

Sinds 2021 zijn er zogenaamde nicotinezakjes in Nederland in de handel. Nicotinezakjes zijn kleine zakjes waarin een poeder met nicotine zit. Er zit geen tabak in. Gebruikers stoppen een nicotinezakje onder de bovenlip. Ze krijgen nicotine binnen via het slijmvlies en speeksel. Nicotinezakjes zijn nog niet gereguleerd onder de Tabaks- en rookwarenwet en vallen onder de Warenwet. In 2021 is door het RIVM een risicobeoordeling gedaan voor nicotine (RIVM, 2021).

Sinds 2024 zijn er nicotinezakjes op de markt zonder nicotine, maar met 6-methylnicotine. Deze worden steeds vaker gesignaleerd door NVWA-inspecteurs in de detailhandel. Om te voorkomen dat deze zakjes met een nicotinevariant bij jongeren/consumenten terecht komen, wil de NVWA graag handhavend kunnen optreden. Hiervoor is een deskundigenverklaring nodig die onderbouwing geeft vanaf welke dosis 6-methylnicotine in de zakjes schadelijk is, vergelijkbaar met de deskundigenverklaring van nicotine.

Nicotinezakjes vallen op dit moment onder de warenwet en worden beschouwd als levensmiddel. Het is verboden om onveilige levensmiddelen op de markt te brengen.

- Artikel 14, eerste lid, van de Verordening (EG) Nr. 178/2002
- Artikel 14, tweede lid, onder a, van de Verordening (EG) Nr. 178/2002
- Artikel 2, tiende lid, van het Warenwetbesluit Bereiding en behandeling van levensmiddelen



## Vraagstelling

Bureau Risicobeoordeling & onderzoek (BuRO) heeft het Front Office Voedsel- en Productveiligheid (FO) gevraagd vanaf welke dosis 6-methylnicotine in een nicotinezakje (mg 6-methylnicotine per zakje) er sprake van een onveilig levensmiddel is. Er is sprake van een onveilig levensmiddel indien het levensmiddel schadelijk is voor de gezondheid.

Elementen die in het antwoord moeten worden meegenomen:

- Acute Reference Dose (ARfD) voor 6-methylnicotine
- Extractie van 6-methylnicotine uit zakje bij gebruik
- Blootstelling aan 6-methylnicotine uit het nicotinezakje uitgaande van een persoon van 60 kg

### Conclusie

Voor 6-methylnicotine zijn zeer beperkte toxiciteitsgegevens beschikbaar. Op basis van deze toxiciteitsgegevens en gegevens over receptorbinding en uit functionele testen wordt verwacht dat 6-methylnicotine minstens even potent, en mogelijk potenter is dan nicotine in het veroorzaken van schadelijke effecten. Er zijn echter onvoldoende data beschikbaar om het verschil in potentie te kwantificeren en een acute referentiedosis (ARfD) voor 6-methylnicotine af te leiden.

Op basis van de vergelijkbare fysisch chemische eigenschappen van 6-methylnicotine en nicotine wordt aangenomen dat de mate van vrijkomen van 6-methylnicotine en nicotine uit nicotinezakjes vergelijkbaar zal zijn en dat de orale opname van 6-methylnicotine en nicotine vergelijkbaar zal zijn.

Wanneer ervan uitgegaan wordt dat 6-methylnicotine even potent is als nicotine, worden er geen schadelijke effecten verwacht bij een dosis van **38 µg 6-methylnicotine per zakje**. Indien 6-methylnicotine potenter is dan nicotine dan wordt deze dosis kleiner.

## Inleiding

Nicotinezakjes zijn cellulosezakjes met een nicotinehoudend poeder waaruit nicotine vrijkomt na plaatsing onder de (boven)lip in de mond. Nicotine is verslavend en schadelijk voor de gezondheid. Zeker bij hoge doseringen is het schadelijk voor het zenuwstelsel en kan het hartritmestoornissen veroorzaken (EFSA, 2009).

In 2021 is er door het RIVM een beoordeling uitgevoerd waarin het nicotinegehalte in nicotinezakjes is vastgesteld waarbij de Acute Reference Dose (ARfD) voor nicotine niet overschreden wordt (RIVM, 2021). Sinds 2024 zijn er in Nederland nicotinezakjes op de markt zonder nicotine, maar met 6-methylnicotine. Voor deze stof is geen ARfD of andere gezondheidkundige grenswaarde afgeleid door EFSA of andere internationale gremia.

Voor deze beoordeling is literatuur over de toxiciteit van 6-methylnicotine verzameld. Hieruit werd geconcludeerd dat er te weinig toxiciteitsgegevens beschikbaar zijn voor een gedegen risicoanalyse. Om deze reden is gezocht naar een analoge stof waarop de risicobeoordeling kan worden gebaseerd. Gezien de structurele overeenkomsten met nicotine - waarvoor 6-methylnicotine als alternatief in het product wordt gebruikt, en waarvoor wel een ARfD is afgeleid - wordt in deze beoordeling een read-across aanpak



toegepast met nicotine om te schatten tot welke dosering 6-methylnicotine geen schadelijke effecten worden verwacht.

### **Toxiciteitsgegevens 6-methylnicotine**

Een literatuuronderzoek is uitgevoerd naar toxiciteitsgegevens over 6-methylnicotine.

#### In vivo studies

Voor 6-methylnicotine zijn niet veel *in vivo* gegevens over toxiciteit beschikbaar. Er zijn wel aanwijzingen dat 6-methylnicotine mogelijk toxischer is dan nicotine. In studies in ratten zijn voor 6-methylnicotine letale dosissen gevonden die 1,5 tot 3 keer lager zijn dan voor nicotine (Rylander, 1982; Jordt *et al.*, 2024).

#### In vitro studies

In een studie met BEAS-2B cellen (humane cellijn van epitheelcellen uit de bronchiën) zijn de cytotoxiciteit en het transcriptoom van 6-methylnicotine vergeleken met die van nicotine (Qi, 2023). De IC<sub>50</sub> waardes waren  $5,05 \pm 1,021$  mM en  $12,267 \pm 1,171$  mM voor 6-methylnicotine en nicotine, respectievelijk. 6-Methylnicotine heeft dus een hogere cytotoxiciteit dan nicotine. Voor het experiment op het transcriptoom zijn concentraties gebruikt waarbij geen effect op overleving van de cellen was gevonden. Voor 6-methylnicotine is 2,837 mM gebruikt en voor nicotine 3,082 mM. Verschillen in transcriptoom tussen 6-methylnicotine en nicotine geven een indicatie dat 6-methylnicotine mogelijk een grotere onderdrukkende werking heeft op kankergerelateerde genen en eiwitten dan nicotine. Wat de relevantie voor deze resultaten *in vivo* is, is onbekend.

Daarnaast zijn er tijdens een posterpresentatie op de *CORESTA Smoke Science and Product Technology (SSPT) Conferentie* initiële gegevens gepresenteerd over cytotoxiciteit (neutral red uptake assay), mutageniteit (Ames test) en genotoxiciteit (micronucleus test) van 6-methylnicotine en nicotine (Cheetham *et al.*, 2023). Deze studies lieten zien dat er geen verschil is tussen de onderzochte eindpunten voor 6-methylnicotine en nicotine. Deze resultaten zijn echter niet gepubliceerd in een peer-reviewed tijdschrift en daarom niet verder gebruikt in de beoordeling. Daarnaast is het betreffende onderzoek gefinancierd door de tabaksindustrie en moet deze met zorg worden geïnterpreteerd.

De beschikbare toxiciteitsgegevens zijn niet voldoende om een ARfD te bepalen voor 6-methylnicotine. Daarom wordt een read-across aanpak toegepast voor de beoordeling van 6-methylnicotine.



### Read-across

Gezien de structurele overeenkomsten met nicotine - waarvoor 6-methylnicotine als alternatief in het product wordt gebruikt, en waarvoor wel een ARfD is afgeleid - wordt in deze beoordeling een read-across aanpak toegepast met nicotine om te schatten vanaf welke dosering 6-methylnicotine schadelijk kan zijn.

De read-across aanpak bestaat uit drie onderdelen:

- 1) Vergelijking van relevante fysisch-chemische eigenschappen van 6-methylnicotine en nicotine om:
  - a. Verschil of overeenkomst tussen 6-methylnicotine en nicotine voor het vrijkomen uit nicotinezakjes in te schatten;
  - b. Verschil of overeenkomst tussen 6-methylnicotine en nicotine voor wat betreft de orale opname in te schatten
- 2) Vergelijking van werkingsmechanisme
- 3) Overwegingen voor de afleiding van een ARfD van 6-methylnicotine op basis van de ARfD van nicotine.

### Fysisch-chemische eigenschappen

In afwezigheid van stof specifieke informatie voor 6-methylnicotine zijn de fysisch-chemische eigenschappen van 6-methylnicotine en nicotine geschat door de Quantitative Structure–Activity Relationship (QSAR) modellen EPISUITE<sup>1</sup> en ChemAxon<sup>2</sup>. De QSARs zijn uitgevoerd voor het neutraal geladen molecuul gezien dit de meest relevante toestand van het molecuul is voor de risicobeoordeling. De resultaten zijn opgenomen in Tabel 1. Voor nicotine zijn experimentele data gevonden voor log  $K_{ow}$ , kookpunt, smeltpunt, dampspanning en wateroplosbaarheid. Voor 6-methylnicotine zijn geen experimentele data beschikbaar.

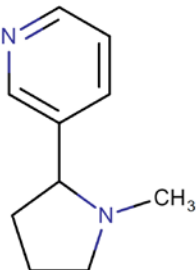
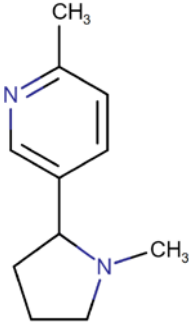
---

<sup>1</sup> EPISuite v.4.11 (Nov 2012), including EPISuite updated files v.2017, US EPA

<sup>2</sup> ChemAxon, online version 2024.



Tabel 1. Fysisch-chemische eigenschappen

NEUTRAAL	L-Nicotine	L-6-methylnicotine	
			
CAS nummer	54-11-5	13270-56-9	
Moleculair gewicht	162,24	176,26	
Log K <sub>ow</sub>	EXP. 1,17 <sup>(3)</sup> EST. 1,00	EXP. - EST. 1,55	Model KowWIN v1.68
pK <sub>b</sub>	- 8,58	- 8,50	ChemAxon
%geladen (pH 5,5)	- 99,8%	- 99,9%	ChemAxon
%geladen (pH 7)	- 97,3%	- 96,8%	ChemAxon
%geladen (pH 10)	- 3,5%	- 3%	ChemAxon
Kookpunt	247 <sup>(4)</sup> 247°C	- 264,7 Celsius	MPBPVPWin v.1.43
Smeltpunt	-79 <sup>(4)</sup> 57°C	- 64,2 Celsius	MPBPVPWin v.1.43
Dampspanning	5,07 <sup>(4)</sup> 4,26 Pa (25°C)	- 0,715 Pa (25°C)	MPBPVPWin v.1.43
Wateroplosbaarheid	1E6 <sup>(4)</sup> 1E6 mg/L	- 5,6E5 mg/L	WSKowWIN v1.42

EXP.: experimenteel bepaald; EST.: modelbepaling

De geschatte fysisch-chemische eigenschappen van beide stoffen zijn vergelijkbaar. Beide stoffen hebben een hoge wateroplosbaarheid en een vergelijkbare Log K<sub>ow</sub>. Op basis van deze gegevens wordt er geen verschil verwacht tussen het vrijkomen van 6-methylnicotine en nicotine uit de nicotinezakjes. Mogelijk kunnen andere ingrediënten in de nicotinezakjes, e.g. pH-regulatoren, stabilisatoren en/of vulstoffen, invloed hebben op het vrijkomen van de stof uit de zakjes. Er zijn hierover geen experimentele gegevens beschikbaar en gegevens over de bestanddelen in de nicotinezakjes met 6-methylnicotine ontbreken. Wel is de verwachting dat pH-regulatoren dezelfde invloed zullen hebben op nicotine en 6-methylnicotine, omdat de pK<sub>b</sub> van beide stoffen dicht bij elkaar ligt.

Er zijn geen experimentele data over de opname van 6-methylnicotine over biologische membranen beschikbaar. De opname hangt in grote mate af van de pH. In de ongeladen, 'vrije', vorm zullen de stoffen direct worden opgenomen. 6-Methylnicotine en nicotine hebben gelijke pK<sub>b</sub> waarden, 8,50 en 8,58 respectievelijk en hebben daarom vergelijkbare percentages ladingdragende stof bij verschillende pH-waarden. Daarom zijn bij lokaal gecreëerde basische pH, zoals verwacht wanneer een basische stof als nicotine, of 6-methylnicotine in oplossing wordt gebracht vanuit een nicotinezakje onder de lip, 6-methylnicotine en nicotine in ongeladen, 'vrije', vorm aanwezig. Hierdoor zullen beide stoffen direct worden opgenomen door het mondslimvlies (Pauwels *et al.*, 2020). De pH

<sup>3</sup> Hansch. C., A. Leo, and D. Hoekman. 1995. Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. ACS Professional Reference Book. Washington, DC: American Chemical Society.

<sup>4</sup> SRC's PHYSPROP Database, US EPA, included in the MPBPVPWin software and the EPISuite (US EPA) software.



is zeer bepalend voor de snelheid van opname van nicotine, en 6-methylnicotine. Als we ervan uitgaan dat de andere ingrediënten in de (6-methyl)nicotinezakjes gelijk zijn, dan is de verwachting dat de opname van nicotine en methylnicotine over biologische membranen ook zeer vergelijkbaar is, en op dezelfde manier afhankelijk van de pH.

De geschatte dampspanning van 6-methylnicotine is lager dan van nicotine, maar gezien de hoge wateroplosbaarheid zal dit weinig tot geen invloed hebben op de opname van 6-methylnicotine ten opzichte van nicotine.

Er is een opmerkelijk verschil tussen de experimentele waarde van het smeltpunt voor nicotine ( $-79^{\circ}\text{C}$ ) en de door de QSAR geschatte waarde ( $58^{\circ}\text{C}$ ). Nicotine is een kleurloze tot lichtgele vloeistof bij kamertemperatuur, dus het geschatte smeltpunt van  $58^{\circ}\text{C}$  is niet in overeenstemming met de werkelijk aggregatietoestand. Voor de vergelijking tussen nicotine en 6-methylnicotine is het relevant dat de QSAR voorspellingen een vergelijkbaar smeltpunt geven.

Op basis van de vergelijkbare fysisch-chemische eigenschappen relevant voor het vrijkomen uit zakjes in de mondholte, en opname in de mond van 6-methylnicotine en nicotine wordt aangenomen dat:

- 1) de mate van vrijkomen van 6-methylnicotine en nicotine uit de nicotinezakjes vergelijkbaar is;
- 2) de orale opname van 6-methylnicotine en nicotine vergelijkbaar is.

Hierbij geldt wel de aanname dat er vergelijkbare additionele ingrediënten (met name pH-regulatoren) in de zakjes voor nicotine en voor 6-methylnicotine zitten.

Yildiz, 2004 stelt in een review dat het metabolisme van nicotine in de lever plaatsvindt en dat er veel metabolieten gevormd worden, zoals nicotine N'-oxide en cotinine N'-oxide en andere stoffen gevormd via het oxidase systeem. Alle metabole stappen beschreven in het artikel vinden plaats op de pyridazole ring (5-ring) die precies hetzelfde substitutiepatroon heeft bij nicotine en 6-methylnicotine. Er vindt geen metabolisme (oxidering) plaats op koolstofatomen van de aromatische pyridine (6-)ring, waardoor substitutie op die posities (zoals de methyl-groep op de 6-positie in 6-methylnicotine) weinig verschil zal maken als het geen grote volumineuze substituent betreft. Op grond daarvan is het zeer aannemelijk dat 6-methylnicotine een vergelijkbaar metabolisme (kwalitatief, binnen zekere grenzen ook kwantitatief) zal laten zien als nicotine.

### Werkingsmechanisme

Het farmacologisch mechanisme van nicotine is onder andere beschreven door Benowitz (Benowitz, 2008; Benowitz, 2010). Via de bloedstroom komt nicotine in de hersenen terecht. Daar verspreidt het zich en bindt het aan nicotine-acetylcholinereceptoren (nAChR's). De belangrijkste acute effecten na opname zijn op het perifere en centrale zenuwstelsel, wat zich uit in bijvoorbeeld duizeligheid, sterke speekselvorming, toename in de hartslag en onregelmatige hartslag (tachycardie), en verhoging van de bloeddruk.

In deze beoordeling is onderzocht of gegevens over bindingspotentie van 6-methylnicotine en nicotine op de nAChR kan worden gebruikt om het verschil in potentie van beide stoffen te kwantificeren.



Er zijn verschillende studies uitgevoerd waarin de bindingspotenties van 6-methylnicotine en nicotine zijn onderzocht. In de studies van Dukat (1996, 2002) is de affiniteit voor de [<sup>3</sup>H]nicotine-gelabelde nAChR bepaald ( $K_i$ ) en zijn functionele studies in muizen uitgevoerd, een staartbewegingstest en een meting van de spontane activiteit. In de staartbewegingstest wordt de reactietijd na het toedienen van een pijnprikkel aan de staart gemeten. In de meting van spontane activiteit wordt gekeken naar veranderingen in gedrag en locomotoractiviteit. Deze resultaten zijn opgenomen in Tabel 2.

Tabel 2. Nicotinereceptor bindingspotentiaal en functionele studies in muizen.

	$K_i$ (nM) (SEM)	Staartbewegingstest		Spontane activiteit		Bron	
		RP	ED <sub>50</sub> (mg/kg)	RP	ED <sub>50</sub> (mg/kg)		
Nicotine	1,26 ( $\pm 0,02$ )	1,0	1,64 (1,23-2,38)	1,0	0,78 (0,59-1,02)	1,0	Dukat <i>et al.</i> , 1996
6-Methylnicotine	1,80 ( $\pm 0,15$ )	0,7	0,89 (0,79-1,52)	2,0	0,26 (0,19-0,42)	3,3	
Nicotine	1,3 ( $\pm 0,1$ )	1,0	1,6 (0,9-2,5)	1,0	0,7 (0,5-1,2)	1,0	Dukat <i>et al.</i> , 2002*
6-Methylnicotine	1,8	0,7	0,61 (0,40-0,82)	2,8	0,17 (0,03-0,88)	4,9	

RP: Relatieve potentie, uitgerekend als ( $\mu\text{mol/kg}$  nicotine)/( $\mu\text{mol/kg}$  6-methylnicotine)

\* Waardes omgerekend van moleculairgewicht nicotine: 162,24; 6-methylnicotine: 176,26

6-Methylnicotine heeft een lagere bindingspotentiaal voor de nicotinereceptor ten opzichte van nicotine,  $K_i=1,8$  versus  $K_i=1,26-1,3$ . Echter, functionele studies laten zien dat 6-methylnicotine 2,0 tot 2,8 keer meer potent is in de staartbewegingstest en 3,3 tot 4,9 keer zo potent in de functionele *in vivo* studies.

In de staartbewegingstest heeft nicotine een pijn onderdrukkende werking na binding aan de nAChR en verhoogt de reactietijd na het toedienen van een pijnprikkel aan de staart (Marubio *et al.*, 1999). Daarnaast veroorzaakt het ook hypolocomotion via deze receptoren (Salas *et al.*, 2004).

Een mogelijke verklaring voor het verschil in de bindingspotentie aan de nAChR en de resultaten uit de *in vivo* studies is dat de extra methyl-groep het molecuul lipofieler (hogere log  $K_{ow}$ ) maakt en voor een betere verspreiding in het lichaam zorgt (Dukat *et al.*, 2002). De log  $K_{ow}$  van 6-methylnicotine is 1,55 (geschat, EPISUITE) ten opzichte van een log  $K_{ow}$  van 1,17 (experimenteel bepaald) of 1,00 (geschat, EPISUITE) van nicotine. Een andere mogelijke verklaring is dat de extra methyl-groep de intrinsieke eigenschap van het molecuul verandert (Dukat *et al.*, 2002).

Wang *et al.* (1998) heeft het bindingspotentiaal van 6-methylnicotine en nicotine aan de nAChR op verschillende membranen (rattenbrein en Torpedo, een veel toegepast model voor receptor testen) bepaald. Daarnaast is het vermogen om uitputting bij ratten te veroorzaken na toediening van de stoffen in de laterale ventrikels van de rat onderzocht. Dit is gemeten aan de hand van uitputting in alle vier de ledematen. De resultaten zijn opgenomen in Tabel 3.



Tabel 3. Receptorbindingsdata en uitputtingsdata in ratten

	Brein K <sub>i</sub> (nM)		Torpedo K <sub>i</sub> (nM)		Relatieve uitputting*	Bron
		RP		RP		
(S)-Nicotine	1	1	1	1	1	Wang <i>et al.</i> ,
6-Methylnicotine	0,3	3,3	0,5	2	0,2	1998

RP: Relatieve potentie, uitgerekend als (nM nicotine)/(nM 6-methylnicotine)

\* De ED<sub>50</sub> van (S)-nicotine was 20 nmols. Minimaal 6 dieren zijn gebruikt voor deze afleiding.

6-Methylnicotine heeft respectievelijk een 3,33 en 2 keer hogere affiniteit voor nAChRs op de brein- en Torpedomembranen ten opzichte van nicotine. Daarnaast blijkt uit de functionele uitputtingstest met ratten dat 6-methylnicotine 5 keer potenter is ten opzichte van nicotine na toediening in de laterale ventrikels.

In een andere studie is de affiniteit van 6-methylnicotine en nicotine voor de ACR-16 nAChR van een nematode bepaald (Zheng *et al.*, 2017). Deze receptor lijkt veel op de α7 nAChRs van gewervelden (Mongan *et al.*, 2002). De resultaten zijn opgenomen in Tabel 4. De affiniteit voor de receptor is niet significant verschillend tussen beiden stoffen.

Tabel 4. ACR-16 nAChR bindingsdata

	EC <sub>50</sub> (μM) (SEM)	RP	n <sub>H</sub>	I <sub>max</sub> (%)	N <sub>agonist</sub>	Bron
Nicotine	6,21 (±0,56)	1,0	3,25 (±0,36)	82,39 (±2,52)	5	Zheng <i>et al.</i> , 2017
6-Methylnicotine	6,13 (±0,53)	1,0	3,25 (±0,24)	69,74 (±1,56)	5	

n<sub>H</sub>: hill slope; I<sub>max</sub>: maximale response; N<sub>agonist</sub>: aantal uitgevoerde testen voor elk agonist experiment

RP: Relatieve potentie, uitgerekend als (μM nicotine)/(μM 6-methylnicotine)

De relatieve potentiefactoren gevonden in de *in vitro* receptorbindingsstudies en de functionele *in vivo* studies zijn opgenomen in Tabel 5.

Tabel 5. Overzichtstabel relatieve potentie voor receptorbinding en functionele *in vivo* studies van 6-methylnicotine ten opzichte van nicotine

Eindpunt	Relatieve potentiefactor ten opzichte van nicotine	Bron
<b><i>In vitro</i> receptorbinding aan de nAChR</b>		
nAChR	0,7	Dukat <i>et al.</i> , 1996
nAChR	0,7	Dukat <i>et al.</i> , 2002
nAChR (brein)	3,3	Wang <i>et al.</i> , 1998
nAChR (Torpedo)	2,0	Wang <i>et al.</i> , 1998
ACR-16 nAChR	1,0	Zheng <i>et al.</i> , 2017
<b><i>In vivo</i> functionele studies</b>		
Staartbewegingstest	2,0	Dukat <i>et al.</i> , 1996
Staartbewegingstest	2,8	Dukat <i>et al.</i> , 2002
Spontane activiteit test	3,3	Dukat <i>et al.</i> , 1996
Spontane activiteit test	4,9	Dukat <i>et al.</i> , 2002
Relatieve uitputtingstest	5	Wang <i>et al.</i> , 1998





De resultaten uit de *in vitro* receptorbindingstudies variëren tussen een factor 0,7 en 3,3 en geven geen eenduidig beeld over het bindingspotentiaal van 6-methylnicotine aan de nAChR ten opzichte van nicotine. De *in vivo* resultaten duiden wel op een hogere potentie van 6-methylnicotine variërend van een factor 2,0 tot 5.

De producent geeft in de catalogus van het product aan dat 0,3 mg 6-methylnicotine hetzelfde effect in ervaring en smaak geeft als 1,0 mg nicotine.<sup>5</sup> Deze informatie suggereert dat 6-methylnicotine 3,3 keer potenter is dan nicotine in het veroorzaken van een effect. De uitspraak van de producent is waarschijnlijk gebaseerd op patentinformatie van de Chinese producent<sup>6</sup>: *"Another patent, assigned to Shanghai Lingnuo Biotech Co Ltd includes human studies in which e-cigarette users were asked to rate the "throat hit" and other psychophysical qualities of e-vapor containing 6-methyl nicotine. 1 mg/mL 6-methyl nicotine was found to be as satisfying and producing a similar "throat hit" as 3 mg/mL nicotine, concluding that "6-methyl nicotine can be used for replacing nicotine in electronic aerosolization".*

Het RIVM kan vanwege de wisselende resultaten geen exacte waarde afleiden voor het verschil in de potentie voor de nAChR. In deze beoordeling wordt daarom aangenomen dat 6-methylnicotine minstens even potent, dan wel potenter dan nicotine is. De studies geven wel aan dat beide stoffen aan de nAChR kunnen binden en effecten *in vivo* laten zien in de functionele testen. Daarom wordt ervan uitgegaan dat 6-methylnicotine hetzelfde werkingsmechanisme heeft als nicotine.

#### Overweging afleiding ARfD voor 6-methylnicotine

Voor nicotine heeft EFSA een ARfD van 0,0008 mg/kg lg afgeleid op basis van een licht verhoogde hartslag na een eenmalige intraveneuze toediening in humane vrijwilligers (zie bijlage 1 voor meer details). Voor 6-methylnicotine zijn dergelijke data niet beschikbaar. Het is bekend dat nicotine via nAChR een effect heeft op het cardiovasculair systeem in de mens, echter is een kwantitatieve dosis-response curve over de binding aan de nAChR en hartslag niet bekend. De receptorbindingstudies en functionele studies laten zien dat 6-methylnicotine kan binden aan de nAChR en een fysiologisch effect *in vivo* veroorzaakt. Omdat het verschil in potentie voor de nAChR niet kan worden gekwantificeerd, wordt er in de beoordeling vanuit gegaan dat 6-methylnicotine minstens even, dan wel potenter is dan nicotine. De ARfD van nicotine wordt daarom niet gecorrigeerd voor potentie, maar alleen voor molecuulgewicht.

#### **Blootstelling**

Voor de beoordeling van de blootstelling wordt uitgegaan van een volwassen persoon (60 kg) die één nicotinezakje gebruikt. Een nicotinezakje wordt geconsumeerd door het te plaatsen onder de (boven)lip in de mond. De 6-methylnicotine wordt vervolgens in het lichaam opgenomen via het mondslijmvlies en via het maagdarmkanaal na ingestie van 6-methylnicotinehoudend speeksel.

---

<sup>5</sup> [Understanding Nonic, the nicotine pouch alternative - by aroma king – MKPodPlug](#)

<sup>6</sup> *Racemic 6-methyl nicotine and preparation method and application thereof China*: Shanghai Lingnuo Biotechnology Co Ltd; 2023. <https://patents.google.com/patent/CN114437025B/en>



Voor 6-methylnicotine zijn er geen experimentele data beschikbaar over het percentage dat vrijkomt uit nicotinezakjes. Voor nicotine zijn hierover wel gegevens gepubliceerd. Lunell *et al.* (2020) bepaalden het percentage vrijgekomen nicotine uit nicotinezakjes met 3, 6 en 8 mg nicotine (zonder tabak) na een uur gebruik. Uit de nicotinezakjes met 3 en 6 mg nicotine kwam respectievelijk 55,9 en 59,1% nicotine vrij in de mond. Voor het nicotinezakje met 8 mg nicotine was dit 50,4%. Gezien het feit dat beide stoffen vergelijkbare fysisch-chemische eigenschappen hebben, wordt aangenomen dat het percentage 6-methylnicotine dat vrijkomt uit nicotinezakjes vergelijkbaar is aan het vrijkomen van nicotine.

Daarom wordt op basis van de studie van Lunell *et al.* ervan uitgegaan dat afgerond 60% van 6-methylnicotine vrijkomt na een uur gebruik. De gebruiksduur van één uur kan gezien worden als *worst-case*. Op websites van nicotinezakjes wordt een gebruikersduur van 10-40 minuten of max. 60 minuten aanbevolen<sup>7</sup>.

Er zijn geen orale absorptiewaardes voor 6-methylnicotine beschikbaar. Voor de analoge stof nicotine is door EFSA (2009) aangenomen dat de orale absorptie vanuit het maag-darmstelsel 44% bedraagt. Voor de opname via het mondslijmvlies wordt in de RIVM-beoordeling van nicotine uitgegaan van 100% opname (RIVM, 2021). Het mondslijmvlies is namelijk permeabel en opname in de mond wordt verder bevorderd door de basische pH van een nicotinezakje. Daarom wordt aangenomen dat opname in de mond bijna volledig is.

Een deel van de vrijgekomen nicotine uit het zakje zal ingeslikt worden, waarvoor een absorptiepercentage van 44% geldt. Echter, de ingeslikte fractie kan niet worden gekwantificeerd, maar wordt niet groot geacht. Daarom wordt, als *worst-case* aanname, uitgegaan dat de gehele vrijgekomen fractie nicotine wordt opgenomen door het mondslijmvlies. Hiervoor geldt een absorptiepercentage van 100%. Gezien de overeenkomende fysisch-chemische eigenschappen van 6-methylnicotine en nicotine wordt aangenomen dat alle 6-methylnicotine die vrijkomt uit het zakje wordt opgenomen door het mondslijmvlies én dat de absorptie door het mondslijmvlies 100% is.

### Beoordeling

Wanneer ervan uitgegaan wordt dat 6-methylnicotine even potent is als nicotine, zou de ARfD van beide stoffen gelijk zijn. Door EFSA (2009) is een ARfD van 0,8 µg nicotine/kg lg bepaald. Deze waarde moet worden gecorrigeerd voor molecuulgewicht voor de omrekening naar een waarde voor 6-methylnicotine:

$$0,8 \mu\text{g nicotine/kg lg} * (176,26 / 162,24) = 0,87 \mu\text{g 6-methylnicotine/kg lg}$$

Deze waarde is een externe waarde voor de orale opname. De corresponderende interne blootstelling kan worden berekend op basis van de absorptie via het maag-darmstelsel die op 44% bepaald is:

$$0,87 \mu\text{g/kg lg} * 44\% = 0,38 \mu\text{g/kg lg}$$

Deze waarde is een interne blootstelling waarbij er geen schadelijke effecten te verwachten zijn – indien 6-methylnicotine even potent is als nicotine. Er wordt aangenomen dat 6-methylnicotine die vrijkomt uit een nicotinezakje volledig wordt opgenomen via het mondslijmvlies. Dit betekent dat het 6-methylnicotinegehalte dat

---

<sup>7</sup> <https://snusalert.com/faq-nicotinezakjes> of <https://www.snussie.com/nl/service/qanda/>



vrijkomt uit en nicotinezakje niet hoger mag zijn dan de interne blootstellingswaarde waarbij er geen schadelijke effecten te verwachten zijn:

$$0,38 \mu\text{g}/\text{kg lg} * 100\% = 0,38 \mu\text{g}/\text{kg lg}$$

Er mag dus maximaal 0,38  $\mu\text{g}$  6-methylnicotine/kg lg vrijkomen uit een nicotinezakje. Voor een volwassen persoon van 60 kg komt dit overeen met:

$$0,38 \mu\text{g}/\text{kg lg} * 60 \text{ kg} = 22,9 \mu\text{g} \text{ 6-methylnicotine dat vrijkomt per nicotinezakje}$$

Er mag dus 22,9  $\mu\text{g}$  6-methylnicotine vrijkomen uit een nicotinezakje. Bij gebruik van een nicotinezakje gedurende een uur komt 60% van de 6-methylnicotine vrij uit het nicotinezakje. Hiervoor moet gecorrigeerd worden om het 6-methylnicotinegehalte in een nicotinezakje te bepalen:

$$22,9 \mu\text{g} / 60\% = 38,2 \mu\text{g} \text{ per nicotinezakje}$$

Dit betekent dat bij een dosis van **38  $\mu\text{g}$  6-methylnicotine per zakje** geen schadelijke effecten te verwachten zijn. In deze afleiding is verondersteld dat 6-methylnicotine even potent is als nicotine. Indien 6-methylnicotine potenter is dan nicotine dan wordt deze dosis kleiner.

### Onzekerheden

- Er zijn weinig toxiciteitsgegevens en gegevens over fysisch-chemische eigenschappen van 6-methylnicotine beschikbaar. In deze beoordeling is read-across naar nicotine gebruikt. Deze is gebaseerd op gelijkens in chemische structuur en verder onderbouwd met gelijke geschatte fysisch-chemische eigenschappen. Op basis van overeenkomende geschatte fysisch-chemische eigenschappen wordt aangenomen dat:
  - o de mate van vrijkomen van 6-methylnicotine en nicotine uit de nicotinezakjes vergelijkbaar is;
  - o de orale opname van 6-methylnicotine en nicotine vergelijkbaar is.Hierbij wordt aangenomen dat er vergelijkbare additionele ingrediënten (met name pH-regulators) in de zakjes voor nicotine en voor 6-methylnicotine zitten.
- De ARfD van nicotine is gebaseerd op effecten op hartslag in humane vrijwilligers. Voor 6-methylnicotine zijn dergelijke data niet beschikbaar. Het is bekend dat nicotine via nAChR een effect heeft op het cardiovasculair systeem in de mens, echter een kwantitatieve relatie tussen de binding aan de nAChR en hartslag niet bekend. De receptorbindingstudies en functionele studies tonen aan dat 6-methylnicotine kan binden aan de nAChR en een fysiologisch effect *in vivo* veroorzaakt. Daarom wordt aangenomen dat 6-methylnicotine hetzelfde werkingsmechanisme heeft als nicotine. Er is onvoldoende informatie om het verschil in potentie tussen 6-methylnicotine en nicotine te kwantificeren. Op basis van de beschikbare informatie gaat RIVM er in deze beoordeling vanuit dat 6-methylnicotine minstens even, dan wel potenter, is dan nicotine. Dit geeft mogelijk een onderschatting van de schadelijkheid.

### Conclusie

Voor 6-methylnicotine zijn zeer beperkte toxiciteitsgegevens beschikbaar. Op basis van deze toxiciteitsgegevens en gegevens over receptorbinding en uit functionele testen wordt verwacht dat 6-methylnicotine minstens even potent, en mogelijk potenter is dan nicotine in het veroorzaken van schadelijke effecten. Er zijn echter onvoldoende data beschikbaar om het verschil in potentie te kwantificeren en een acute referentiedosis (ARfD) voor 6-methylnicotine af te leiden.



Op basis van de vergelijkbare fysisch chemische eigenschappen van 6-methylnicotine en nicotine wordt aangenomen dat de mate van vrijkomen van 6-methylnicotine en nicotine uit nicotinezakjes vergelijkbaar zal zijn en dat de orale opname van 6-methylnicotine en nicotine vergelijkbaar zal zijn.

Wanneer ervan uitgegaan wordt dat 6-methylnicotine even potent is als nicotine, worden er geen schadelijke effecten verwacht bij een dosis van **38 µg 6-methylnicotine per zakje**. Indien 6-methylnicotine potenter is dan nicotine dan wordt deze dosis kleiner.



## Referenties

- Benowitz N. (2008). Clinical Pharmacology of Nicotine: Implications for Understanding, Preventing, and Treating Tobacco Addiction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(4), 531-541. <https://doi.org/10.1038/clpt.2008.3>
- Benowitz NL. (2010). Nicotine Addiction. *New England Journal of Medicine*, 362(24), 2295-2303. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0809890>
- Cheetham A, Plunkett S, McFadden L, Scian M, Marking S, Coffa B, Campbell P, Gilliland S. (2023). Chemical, Pharmacological and Toxicological Assessment of 6-Methylnicotine. *Coresta Smoke Science and Product Technology (SSPT) Conference 2023, October 8-12, 2023, Cancun, Mexico*
- Dukat M, Fiedler W, Dumas D, Damaj I, Martin BR, Rosecrans JA, James JR, Glennon RA. (1996). Pyrrolidine-modified and 6-substituted analogs of nicotine: a structure-affinity investigation. *Eur J Med Chem* 31, 875-888. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(97\)89850-9](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(97)89850-9)
- Dukat M, El-Zahabi M, Ferretti G, Damaj I, Martin BR, Young R, Glennon RA. (2002). (-)-6-n-Propylnicotine Antagonizes the Antinociceptive Effects of (-) Nicotine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12, 3005–3007. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)00614-5](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00614-5)
- EFSA. (2009). Potential risks for public health due to the presence of nicotine in wild mushrooms. *EFSA Journal* 7(5):286r. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.286r>
- Hansch CA, Hoekman L, Hoekman D. (1995). Exploring QSAR. Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. *ACS Professional Reference Book*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Jordt SE, Jabba SV, Zettler PJ, Berman ML. (2024). Spree Bar, a vaping system delivering a synthetic nicotine analogue, marketed in the USA as 'PMTA exempt'. *Tob Control*; 0: 1–5. <https://doi.org/10.1136/tc-2023-058469>
- Lindgren M, Molander L, Verbaan C, Lunell E, Rosén I. (1999). Electroencephalographic effects of intravenous nicotine—a dose-response study. *Psychopharmacology* 145(3):342-350. <https://doi.org/10.1007/s002130051067>
- Lunell E, Fagerstrom K, Hughes J, Pendrill R. (2020). Pharmacokinetic comparison of a novel non-tobacco-based nicotine pouch (ZYN(R)) with conventional, tobacco-based Swedish snus and American moist snuff. *Nicotine & Tobacco Research*, Volume 22, Issue 10, October 2020, Pages 1757–1763. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntaa068>
- [Marubio LM, del Mar Arroyo-Jimenez M, Cordero-Erausquin M, Léna C, Le Novère N, de Kerchove d'Exaerde A, Huchet M, Damaj MI, Changeux JP. \(1999\). Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits. \*Nature\* 398,805-810](https://doi.org/10.1038/398805a0)
- Mongan NP, Jones AK, Smith GR, Sansom MS, Sattelle DB. (2002). Novel alpha7-like nicotinic acetylcholine receptor subunits in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Protein science* 11, 1162-1171. <https://doi.org/10.1110/ps.3040102>
- Pauwels CGGM, Hart IMEBT, Hegger I, Bil W, Bos PMJ, Talhout R. (2020) Nicotineproducten zonder tabak voor recreatief gebruik. *RIVM Briefrapport 2020-0152*. <https://doi.org/10.21945/rivm-2020-0152>
- Qi H, Chang X, Wang K, Xu Q, Liu M, Han B. (2023). Comparative analyses of transcriptome sequencing and carcinogenic exposure toxicity of nicotine and 6-methyl nicotine in human bronchial epithelial cells. *Toxicology in Vitro* 93. 105661. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2023.105661>
- RIVM (2021) Beoordeling van het nicotinegehalte in nicotinezakjes waarbij de Acute Reference Dose niet overschreden. Front Office Voedsel- en Productveiligheid, 01-



11-2021. [Beoordeling van het nicotinegehalte in nicotinezakjes waarbij de Acute reference Dose niet overschreden wordt \(rivm.nl\)](#)

Rylander R. (1982). REPORT A 0500/3050. Nicotine Derivatives (Synthetic Compounds) Survey of Results. INBIFO Institut fur biologische Forschung, Koln.

Salas R, Cook KD, Bassetto L, De Biasi M (2004). The  $\alpha 3$  and  $\beta 4$  nicotinic acetylcholine receptor subunits are necessary for nicotine-induced seizures and hypolocomotion in mice. *Neuropharmacology* 47, 401-407

SRC's PHYSPROP Database, US EPA, included in the MPBPVPWin software and the EPISuite (US EPA) software.

Wang DX, Booth H, Lerner-Marmarosh N, Osdene TS, Abood LG. (1998). Structure–Activity Relationships for Nicotine Analogs Comparing Competition for [ $^3\text{H}$ ]Nicotine Binding and Psychotropic Potency. *DRUG DEVELOPMENT RESEARCH* 45: 10–16. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2299\(199809\)45:1%3C10::AID-DDR2%3E3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2299(199809)45:1%3C10::AID-DDR2%3E3.0.CO;2-G)

Yildiz, D (2004) Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects, *Toxicol*, 43(6):619-632. <https://doi.org/10.1016/j.toxicol.2004.01.017>.

Zheng F, Du X, Chou TH, Robertson AP, Yu EW, VanVeller B, Martin RJ. (2017). (S)-5-ethynyl-anabasine, a novel compound, is a more potent agonist than other nicotine alkaloids on the nematode Asu-ACR-16 receptor. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 7 (2017) 12-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2016.12.001>



### **Bijlage I – Afleiding ARfD voor nicotine door EFSA (uit RIVM, 2021)**

EFSA leidde een Acceptable Daily Intake (ADI) en een Acute Reference Dose (ARfD) af voor nicotine (EFSA, 2009). De basis voor beide waarden is een studie van Lindgren *et al.* (1999). Lindgren *et al.* (1999) dienden 14 vrijwilligers intraveneus in 10 minuten 0, 3,5, 7,0, 14,0 of 28,0 µg nicotine per kg lichaamsgewicht toe. Vrijwilligers waren ervaren rokers die 12 uur voorafgaande aan de test geen nicotine hadden ingenomen en plasma nicotinegehalten onder 4 ng/mL hadden bij aanvang van de studie. Er was een doses gerelateerde toename in plasma nicotinegehalten tijdens de 10 minuten intraveneuze toediening; de hoogste plasmaconcentratie was 20 ng/mL bij de hoogste dosis van 28 µg/kg. Bij de laagste twee doseringen nam de hartslagfrequentie met ongeveer 10% toe, terwijl de toename bij de hoogste dosis ongeveer 25% bedroeg. De hartslagfrequentie was na ongeveer 2 uur weer vergelijkbaar met die in de controlegroep. Met name bij de twee hoogste doseringen werd het opwekkende effect van nicotine waargenomen, gereflecteerd in veranderingen in het EEG (elektro-encefalogram).

De laagste dosis van 3,5 µg/kg uit de studie van Lindgren *et al.* (1999) werd door EFSA als een lowest-observed-adverse-effect level (LOAEL) gezien, op basis van de licht verhoogde hartslag van ongeveer 10%. Gezien de lichte mate van dit effect concludeerde EFSA dat de no-observed-adverse-effect level (NOAEL) dicht bij de LOAEL zou liggen en dat daarom een totale onzekerheidsfactor van 10 voor intraspecies verschillen en extrapolatie van LOAEL naar NOAEL voldoende was voor het afleiden van een ARfD (EFSA, 2009). Naast deze onzekerheidsfactor werd een correctie voor orale absorptie toegepast (0,44 voor orale opname versus 1 voor intraveneuze toediening), zodat een ARfD van 0,8 µg/kg lg werd afgeleid. Omdat nicotine niet accumuleert in het lichaam en de farmacologische effecten op het cardiovasculaire systeem als het meest gevoelige effect beschouwd wordt, werd door EFSA de ADI van 0,8 µg/kg lg/dag gelijkgesteld aan de ARfD van 0,8 µg/kg lg.