

1,8-桉叶油素对小鼠的 经口急性毒性和蓄积毒性的研究

杜永华^{1,2}, 王 川³, 周黎军¹, 张 萍¹, 魏 琴^{1,*}, 殷中琼³, 蒋勤久⁴, 蒋吉洪⁴

(1. 宜宾学院西南特色经济植物保护与利用重点实验室, 四川宜宾 644000;

2. 宜宾学院食品科学与工程研究所, 四川宜宾 644000;

3. 四川农业大学 动物医学院, 四川雅安 625014;

4. 宜宾县生产力促进中心, 四川宜宾 644000)

摘 要:采用改良寇氏法测试了1,8-桉叶油素对小鼠的急性毒性,并采用固定剂量蓄积毒性系数法测试了其蓄积毒性。结果表明,1,8-桉叶油素对小鼠经口半数致死剂量(LD_{50})为3847.34mg/kg.bw,95%置信限为3352.80~4414.82mg/kg.bw,急性中毒主要靶器官为肝脏和肾脏;小鼠蓄积性毒性实验所得蓄积系数 $K > 5$,与对照组相比,1,8-桉叶油素对小鼠饲料利用率与脏器系数无明显影响($p > 0.05$),对脏器无明显不良影响。可见1,8-桉叶油素对小鼠属于低毒化学物质,无明显蓄积毒性。

关键词:1,8-桉叶油素,急性毒性,蓄积毒性

The oral acute and accumulative toxicity of 1,8-cineole on mice

DU Yong-hua^{1,2}, WANG Chuan³, ZHOU Li-jun¹, ZHANG Ping¹, WEI Qin^{1,*},

YIN Zhong-qiong³, JIANG Qin-jiu⁴, JIANG Ji-hong⁴

(1. Key Lab of Southwest Special Economic Plant Protection & Utilization, Yibin College, Yibin 644000, China;

2. Institute of Food Science And Engineering, Yibin College, Yibin 644000, China;

3. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

4. Productivity Promote Center in Yibin county, Yibin 644000, China)

Abstract: The oral acute toxicity of 1,8-cineole on mice was tested by the modified Karber method, and the oral accumulative toxicity was carried out by a fixed dose method. The results showed that the half-lethal dose (LD_{50}) of 1,8-cineole was 3847.34 mg/kg.bw with the 95% confidence interval of 3352.80~4414.82mg/kg.bw. The liver and kidney were the key targets organ of acute poisoning of 1,8-cineole on mice. The accumulative toxicity test revealed that the accumulative coefficient K was larger than 5. No obviously influence of 1,8-cineole on the feed conversion rate and organ coefficient of mice was observed compared to the control group ($p > 0.05$). 1,8-cineole exhibited no obviously harmful effects on organ of mice. 1,8-cineole displayed low acute toxicity and no obviously accumulative toxicity.

Key words: 1,8-cineole; acute toxicity; accumulative toxicity

中图分类号: TS201.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)21-0335-04

1,8-桉叶油素(1,8-cineole, $C_{10}H_{18}O$)为无色透明油状液体,具有樟脑气息和辛辣凉味,主要存在于桉树和油樟等芳香植物的挥发油中,是我国食品添加剂-桉叶油的主要成分(GB10351-2008)。研究表明,1,8-桉叶油素具有抗氧化^[1]、抗菌^[2]、杀虫^[3]、镇痛抗炎^[4-5]和促进透皮吸收渗^[6]等作用,已广泛用于香料、食品、医药、化工和国防等领域。Santos 研究

了^[7]1,8-桉叶油素对大鼠经口急性毒性,其 LD_{50} 为 (2.85 ± 0.33) g/kg。余永莉等^[6,8-9]研究发现桉树叶挥发油对小鼠的经口 LD_{50} 为1824.01mg/kg,属低毒物品,无明显遗传毒性,无胚胎毒性和致畸作用。张笑乐等^[10]研究发现油樟叶挥发油对家兔皮肤无光毒性,对完整皮肤无刺激性,中等剂量对破损皮肤有可逆性刺激性,对眼睛有一定刺激性。而对油樟叶挥发油中1,8-桉叶油素的毒性研究未见报道。本文研究了1,8-桉叶油素对小鼠的经口急性毒性和蓄积毒性,为其安全性评价提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1,8-桉叶油素 由油樟叶挥发油中分离,纯度

收稿日期:2013-04-17 * 通讯联系人

作者简介:杜永华(1978-),男,硕士,讲师,主要从事天然产物及其生物活性的研究。

基金项目:四川省青年科技创新研究团队培育计划(2011JTD0035);四川省教育厅成果转化培育项目(11ZZ022)。

大于 99.5%, 购自宜宾市江南香料厂, 批号 20101205; 吐温-80 分析纯, 成都市科龙化工试剂厂。

清洁级昆明小鼠 体重为 18~22g, 购于成都达硕实验动物研究所, 合格证号: SCXK(川)2008-24。小鼠专用生长维持饲料, 常规方式饲养, 自然采光, 自由采食饮水。

AL204 电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 1,8-桉叶油素对小鼠的经口急性毒性实验

将 1,8-桉叶油素用 2% 吐温-80 配制成分散体系, 用蒸馏水稀释成不同浓度的溶液, 以 2% 吐温-80 为溶剂对照, 按小鼠体重灌胃。预实验结果表明小鼠经口灌胃 1,8-桉叶油素 0% 和 100% 死亡剂量估计值分别为 3000mg/kg 和 5000mg/kg。正式实验取 60 只小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 灌胃前禁食 16h, 不禁水。1~5 组为染毒剂量组, 组间剂量比为 1.14, 一次性灌胃分别为 2960.39、3374.85、3847.33、4385.96、5000mg/kg·bw, 第 6 组为溶剂对照组。灌胃染毒后连续观察 14d, 记录小鼠精神、摄食、饮水、呼吸、活动、死亡及病理学变化情况, 采用改良寇氏法计算 $LD_{50}^{[11]}$ 。

1.2.2 1,8-桉叶油素对小鼠的蓄积毒性实验 取 40 只小鼠随机分为 2 组, 每组 20 只, 雌雄各半, 采用固定剂量法染毒, 实验组小鼠每天经口染毒 $1/5LD_{50}$ (769.47mg/kg) 剂量的 1,8-桉叶油素, 连续灌胃染毒 28d, 对照组小鼠给予同剂量的溶剂。实验期内小鼠累计死亡数达 50%, 终止实验。按 $K = LD_{50(n)}/LD_{50(1)}$ 计算累积系数 (K), 以评价化合物对机体蓄积性毒性的 大小, 是判断化合物是否引起潜在慢性中毒的依据之一, 其中 $LD_{50(n)}$ 为固定剂量多次染毒引起半数小鼠死亡的总累积剂量, $LD_{50(1)}$ 为一次染毒引起半数小鼠死亡的剂量。实验期间观察记录小鼠的精神、食欲、饮水及死亡情况, 实验结束剖杀各组小鼠, 观察组织病理变化, 计算饲料利用率 (每食入 100g 饲料所增长的体重克数) 和脏器指数 (某脏器与单位体重之比) $^{[12]}$ 。

1.2.3 数据统计处理 实验数据采用 SPSS17.0 分析软件进行组间显著性分析, 数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示。

2 结果与分析

2.1 急性毒性实验

小鼠染毒后活动减少, 严重者出现呼吸急促或呼吸困难、精神萎靡、俯卧、拱背、不食等症状, 1h~4d 内先后死亡; 轻者出现反应迟钝、精神不振、食欲减弱等症状, 4d 后不再死亡, 逐步恢复正常。对照组小鼠精神、摄食、饮水、呼吸及活动未见异常, 无死亡现象。剖检死亡小鼠可见小鼠胃和小肠轻度胀气, 轻度充血, 肝肾有少量出血点, 其余组织器官未见明显异常变化。小鼠死亡情况见表 1, 采用改良寇氏法计算 1,8-桉叶油素对小鼠的经口 LD_{50} 为 3847.33mg/kg, LD_{50} 95% 置信区间为 3352.80~4414.82mg/kg。与 Santos 报道 $^{[7]}$ 的 1,8-桉叶油素对大鼠经口 LD_{50} (2.85

± 0.33) g/kg 相比, 本实验测得的小鼠经口 LD_{50} 较高, 按化学品毒理学分级标准均为低毒化学品。1,8-桉叶油素对哺乳动物的急性毒性可能与动物种属有关。Vincenzi 等 $^{[13]}$ 报道大鼠对桉叶油素的敏感性比小鼠高, 大鼠在 600mg/kg 剂量经口染毒时出现毒性反应, 小鼠在 1200mg/kg 剂量下仍未观察到毒性反应。刷尾负鼠能耐受每天食用含 3.6g/kg 1,8-桉叶油素的饲料 $^{[14]}$ 。人在误食桉叶油后可出现急性中毒反应, 主要表现为心跳加速、呼吸急促、恶心、呕吐、无力、嗜睡, 甚至昏迷等症状, 也有小孩误食 3.5~5mL 桉叶油引起死亡的报道 $^{[13]}$ 。实验结果表明, 1,8-桉叶油素急性中毒时可引起小鼠肝肾轻度损伤, 与 Vincenzi 等报道 1,8-桉叶油素可引起大鼠肝肾损伤 $^{[13]}$ 一致。Kristiansen 和 Madsen 报道 $^{[15]}$ 高剂量 1,8-桉叶油素能诱发大鼠近端肾小球上皮细胞微球蛋白升高。研究发现桉叶油可引起大鼠血液循环加快、血管扩张和血压降低等反应 $^{[16]}$, 减少大鼠心肌内钙离子的流入而降低心肌收缩能力 $^{[17]}$, 1,8-桉叶油素急性毒作用机理是否与其相关还有待进一步研究。

表 1 1,8-桉叶油素对小鼠经口急性毒性实验结果

Table 1 The result of oral acute toxicity test of 1,8-cineole on mice

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (n)	死亡数 (只)	死亡率 (%)	存活率 (%)
1	5000.00	10	9	90	10
2	4385.96	10	7	70	30
3	3847.33	10	5	50	50
4	3374.85	10	3	30	70
5	2960.39	10	1	10	90
对照	2% 吐温-80 水溶液	10	0	0	100

2.2 蓄积毒性实验

2.2.1 临床观察 实验期间全部小鼠食欲、行动、被毛光洁度与色泽、呼吸、神态等均正常, 实验组小鼠未见明显的中毒症状。经口染毒 28d 后, 对照组和实验组的 20 只小鼠均全部存活, 其蓄积毒性系数 $K > 5$, 剖杀后各组小鼠均未见明显异常病理变化。根据蓄积系数分级标准 $^{[12]}$, 本次实验未观察到 1,8-桉叶油素对实验小鼠有蓄积性毒性。余永莉等 $^{[6-7]}$ 的实验表明桉叶油对小鼠无明显的遗传毒性。美国食品香料和萃取物制造者协会 (FEMA) 规定 1,8-桉叶油素在食品中最高参考用量为: 软饮 0.13mg/kg, 冷饮 0.05mg/kg, 糖果 15mg/kg, 焙烤食品 0.5~4.0mg/kg, 口香糖 190mg/kg。本实验所选蓄积性毒性实验剂量远高于 FEMA 规定剂量, 可见如果按规定的剂量和方法使用, 1,8-桉叶油素是比较安全的。1,8-桉叶油素的蓄积毒性不明显, 可能与其经口生物利用度较低、生物代谢较快有关。McClean 等 $^{[18]}$ 报道刷尾负鼠饲喂低剂量的 1,8-桉叶油素其口服生物利用度 F 仅为 0.05, 半衰期 $T_{1/2}$ 为 70min, 肠管循环和肝微粒体代谢是导致口服生物利用度低的重要因素。研究发现 1,8-桉叶油素能增加谷胱甘肽 (GSH)、过氧化氢

表2 蓄积毒性实验中1,8-桉叶油素对小鼠饲料利用率的影响($\bar{X} \pm S$)
Table 2 The feed conversion rate of mice in each group($\bar{X} \pm S$)

组别	饲料利用率(g/100g)			
	第1周	第2周	第3周	第4周
对照组	15.68 $\pm$ 0.280	8.88 $\pm$ 0.271	4.49 $\pm$ 0.102	4.17 $\pm$ 0.188
实验组	15.04 $\pm$ 0.245	6.84 $\pm$ 0.285 **	3.72 $\pm$ 0.171	2.95 $\pm$ 0.160

注: ** 表示与对照组相比有统计学的差异($p < 0.01$)。

酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)、铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)的活性,抑制脂肪氧化酶活性,表现出较强抗氧化作用,能保护乙醇诱导的大鼠胃损伤^[19],保护氨基半乳糖/脂多糖^[20]和2,3,7,8-四氯二苯并二噁英^[21]诱导的肝损伤。1,8-桉叶油素的抗氧化作用是否与其无明显蓄积毒性相关还需进一步研究。

2.2.2 饲料利用率 1,8-桉叶油素对小鼠的饲料利用率的影响结果见表2。由表2可知,与对照组相比,1,8-桉叶油素组小鼠的饲料利用率有不同程度的降低,第二周时染毒组小鼠的饲料利用率与对照组的差异存在统计学意义($p < 0.01$),其余时间段染毒组与对照组无统计学差异($p > 0.05$),表明小鼠对1,8-桉叶油素具有一定阶段性耐受适应能力,小鼠的饲料利用率受1,8-桉叶油素的影响不大。研究发现刷尾负鼠能根据体内血中1,8-桉叶油素水平调节采食量,当刷尾负鼠血中1,8-桉叶油素浓度增加到一定水平后其采食量会下降,达到一定程度耐受后,其总体食物消耗量可逐步恢复正常,在1,8-桉叶油素摄入量增加过程中,由于肝酶的活性引起桉叶油素代谢加快和生物利用度下降,使其血中1,8-桉叶油素浓度并未增加^[22]。Boyle和McLean报道刷尾负鼠对1,8-桉叶油素的最大日摄入量可达(3.8 ± 0.2)g/kg^[23]。小鼠饲料利用率的变化是否与其血中1,8-桉叶油素水平有关需进一步研究。

2.2.3 脏器系数 1,8-桉叶油素对小鼠脏器系数的影响结果见表3,由表3可知,小鼠染毒28d后,实验组小鼠心、肝、脾、肺、肾、脑、生殖腺的脏器系数与对照组相比均无统计学差异($p > 0.05$)。表明小鼠按1/5 LD₅₀剂量连续染毒28d,1,8-桉叶油素对小鼠的脏器无明显不良影响($p > 0.05$)。小鼠饲料利用率与脏器系数的测定结果进一步证实了1,8-桉叶油素对小鼠无明显蓄积毒性的临床观察结果。

表3 1,8-桉叶油素对小鼠脏器系数的影响($\bar{X} \pm S$)

Table 3 Effect of 1,8-cineole on organ coefficient in mice($\bar{X} \pm S$)

脏器指标(g/100g)	对照组	实验组
心/体	0.50 $\pm$ 0.13	0.48 $\pm$ 0.06
肝/体	5.78 $\pm$ 0.61	6.38 $\pm$ 0.88
脾/体	0.54 $\pm$ 0.31	0.42 $\pm$ 0.18
肺/体	0.68 $\pm$ 0.23	0.71 $\pm$ 0.14
肾/体	1.23 $\pm$ 0.19	1.21 $\pm$ 0.22
脑/体	1.37 $\pm$ 0.25	1.46 $\pm$ 0.24
生殖腺/体	0.75 $\pm$ 0.25	0.74 $\pm$ 0.30

3 结论

急性毒性实验结果表明,1,8-桉叶油素对小鼠经口LD₅₀为3847.33mg/kg.bw,属低毒化学品,小鼠急性毒性主要靶器官为肝脏和肾脏。将其作为食品添加剂时需严格控制其用量,避免人中毒事件。

蓄积性毒性实验结果表明,1,8-桉叶油素对小鼠经口蓄积毒性系数K>5,未观察到蓄积性毒性,对小鼠饲料利用率影响不大,对脏器官无明显不良影响,在食品中按规定添加1,8-桉叶油素是比较安全的。

参考文献

[1] Ciftci O, Ozdemir I, Tanyildizi S, et al. Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver[J]. Toxicol Ind Health November, 2011, 27(5): 447-453.

[2] Morcia C, Malnati M, Terzi V. In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2012, 29(3): 415-422.

[3] Liška A, Rozman V, Kalinovič I, et al. Bioactivity of 1,8-cineole against red flour beetle, Tribolium Castaneum (Herbst) [J]. Pupa. Poljoprivreda, 2011, 17(1): 58-63.

[4] Bastos V P D, Gomes A S, Lima F J B, et al. Inhaled 1,8-cineole reduces inflammatory parameters in airways of ovalbumin-challenged guinea pigs [J]. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 2011, 108(1): 34-39.

[5] Takaishi M, Fujita F, Uchida K, et al. 1,8-cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1 [J]. Molecular Pain, 2012(8): 86-98.

[6] Subongkot T, Opanasopit P, Rojanarata T, et al. Effect of limonene and 1,8 cineole on the skin penetration of fluorescein sodium deformable liposomes [J]. Advanced Materials Research, 2012, 506: 449-452.

[7] Santos F A. Estudo farmacológico de 1,8-cineole, um óxido terpenico presente em óleos essenciais de plantas [D]. Fortaleza, CE, Brazil: Universidade Federal do Ceará. 1999.

[8] 余永莉, 王传铜, 冯国纹, 等. 桉叶油急性毒性与某些遗传毒性实验结果[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(6): 501-503.

[9] 张宏, 李啸红, 余永莉, 等. 桉叶油对小鼠胚胎发育影响的研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1155-1157.

[10] 张笑乐, 向楠, 殷中琼, 等. 油樟叶挥发油对兔的急性皮肤刺激、眼睛刺激和皮肤光毒性的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(23): 36-39.

(下转第342页)

菜^[4,15]。9个产地样品均含7种人体必需的氨基酸,且种类齐全、比例比较均衡,符合FAO/WHO对理想蛋白源的推荐标准,具有较高的营养价值。芡茎所含鲜味氨基酸含量较高,鲜味氨基酸与氨基酸总量平均比值为20.04%,故芡茎作为时令蔬菜食用口感清香鲜嫩。9个产地样品中还含有丰富的药效氨基酸,但其是否与芡茎本草记载的“清虚热,除烦渴”功效有关,还需要更深入的研究。

对芡茎氨基酸检测数据进行统计处理,应用主成分分析提取出2个主成分,主成分1反映了必需氨基酸、药效氨基酸和鲜味氨基酸的综合指标,Asp、Glu、Pro、Thr、Ser、Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、Lys、His可以作为芡茎的特征氨基酸。聚类分析结果基本反映了芡茎生长的水域情况,但不能很好地区分芡茎样品的来源为苏芡还是刺芡。

江苏省水域宽阔、芡种植面积大、芡茎产量丰富,且芡茎有含量丰富、比例合理的氨基酸,因此,芡茎是一种营养价值较高的水生蔬菜,具有较高的开发利用价值。

参考文献

- [1] 宋晶,吴启南.芡实的本草考证[J].现代中药研究与实践,2010,24(2):22-24.
- [2] 张然,崔竹梅.芡实及其应用研究进展[J].农技服务,2009,26(11):130-131,153.
- [3] 李时珍.本草纲目[M].北京:人民卫生出版社,1982.
- [4] 杨月换,王光亚,潘兴吕.中国食物成分表[M].北京:北京医科大学出版社,2002.
- [5] P L Pellet.Nutritional evaluation of protein foods[M].Japan:The United National University,1980.
- [6] 刘刚,王辉,周本宏.松茸氨基酸含量的测定及营养评价[J].中国食用菌,2007,26(5):51-52.
- [7] 颜孙安,林香信,钱爱萍,等.闽产柑橘果实氨基酸含量及组成分析[J].中国食物与营养,2012,18(6):66-70.
- [8] FAO/WHO.Energy and protein requirements [C].FAO Nutrition Meeting Report Series,Roma:FAO,1973:52-63.
- [9] 朱圣陶,吴坤.蛋白质营养价值评价:氨基酸比值系数法[J].营养学报,1988(10):187-190.
- [10] 尹林克,张娟.不同环境下沙冬青属植物的蛋白质氨基酸变化[J].干旱区研究,2004(3):269-274.
- [11] 李国和,杨冬生,胡庭兴.四川省不同气候类型核桃氨基酸含量研究[J].四川林业科技,2009(2):7-12.
- [12] 李焕春,高炳德,妥德宝,等.氮肥品种及施用时期对春小麦籽粒氨基酸含量的影响[J].中国土壤与肥料,2009(1):12-15.
- [13] 古丽扎.内河船舶油污污染产污规律及治污效果模式研究[D].南京:河海大学 2006.
- [14] 陈蓉,吴启南,沈蓓.不同产地芡实氨基酸组成分析与营养价值评价[J].食品科学,2011(15):239-244.
- [15] 魏光锋,李梅青,徐文娟,等.特种水生蔬菜刺苦草根状茎营养成分分析与评价[J].食品工业科技,2010,31(3):351-353.
- [16] Lahlou S, Figueiredo A F, Magalhães PJC, et al. Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats[J]. Can.J.Physiol. Pharmacol, 2002, 80(12):1125-1131.
- [17] Soares MCMS, Damiani CEN, Moreira CM, et al. Eucalyptol, an essential oil, reduces contractile activity in rat cardiac muscle[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2005, 38(3):453-461.
- [18] Mclean S, Boyle R R, Brandon S, et al. Pharmacokinetics of 1,8-cineole, a dietary toxin, in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*): Significance for feeding [J]. Xenobiotica, 2007, 37(9):903-922.
- [19] Santos F A, Rao V S N. 1,8-Cineol, a Food Flavoring Agent, Prevents Ethanol-Induced Gastric Injury in Rats [J]. Digestive Diseases and Sciences, 2001, 46(2):331-337.
- [20] Santos F A, Silva R M, Tomé A R, et al. 1,8-Cineole protects against liver failure in an *in-vivo* murine model of endotoxemic shock [J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2001, 53(4):505-511.
- [21] Ciftci O, Ozdemir I, Tanyildizi S, et al. Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induced oxidative stress in rats liver [J]. Toxicology and Industrial Health, 2011, 27(5):447-453.
- [22] McLean SR, Brandon, S, Boyle RR, et al. Development of tolerance to the dietary plant secondary metabolite 1,8-cineole by the Brushtail Possum (*Trichosurus vulpecula*) [J]. Journal of Chemical Ecology, 2008, 34(5):672-680.
- [23] Boyle RR, McLean S. Constraint of feeding by chronic ingestion of 1,8-cineole in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*) [J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30(4):757-775.

(上接第337页)

[11] 中华人民共和国卫生部.GB1593.1-15193.21 食品安全性毒理学评价程序和方法[S].2003:19-31.

[12] 李建科.食品毒理学[M].北京:中国计量出版社,2007,138-143.

[13] Vincenzi M De, Silano M, Vincenzi A De, et al. Constituents of aromatic plants: eucalyptol [J]. Fitoterapia, 2002, 73(3):269-275.

[14] Lawler IR, Stapley J, Foley WJ, et al. Ecological example of conditioned flavor aversion in plant-herbivore interactions: Effect of terpenes of Eucalyptus leaves on feeding by common ringtail and brushtail possums[J]. Journal of Chemical Ecology, 1999, 25(2):401-415.

[15] Kristiansen E, Madsen C. Induction of protein droplet ($\alpha_2\mu$ -globulin) nephropathy in male rats after short-term dosage with 1,8-cineole and 1-limonene [J]. Toxicology Letters, 1995, 80(1-3):147-152.

[16] Lahlou S, Figueiredo A F, Magalhães PJC, et al. Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oils, in normotensive rats[J]. Can.J.Physiol. Pharmacol, 2002, 80(12):1125-1131.

[17] Soares MCMS, Damiani CEN, Moreira CM, et al. Eucalyptol, an essential oil, reduces contractile activity in rat cardiac muscle [J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2005, 38(3):453-461.