

烟草添加剂薄荷醇和桉叶素影响尼古丁依赖的动物实验研究^{*}

何 韬¹, 马扩彦², 吕笑丽³, 杜向东³, 胡安然¹, 姚 霞¹, 邓 伟^{1△}

1. 四川大学华西医院 心理卫生中心(成都 610041); 2. 烟草资源科学利用重庆市重点实验室(重庆 400060);

3. 苏州市广济医院 精神科(苏州 215137)

【摘要】目的 建立大鼠尼古丁静脉自身给药模型,并用该模型探索两种芳香添加剂——薄荷醇和桉叶素对尼古丁依赖性的影响。**方法** 纳入30只雄性SD(Sprague-Dawley)大鼠,行颈静脉插管术后进行尼古丁固定浓度自身给药训练以建立大鼠尼古丁自身给药模型;建模成功后,将所有大鼠随机分成3组分别经腹腔注射薄荷醇、桉叶素、二甲亚砜(溶剂对照),分别采用固定比率程序(fixed-ratio schedule, FR),即FR1(大鼠每进行1次有效鼻触,得到1次尼古丁注射)、FR2(大鼠每进行2次有效鼻触,得到1次尼古丁注射)、FR5(大鼠每进行5次有效鼻触,得到1次尼古丁注射)测试获得不同程序下大鼠有效鼻触反应数、无效鼻触反应数及尼古丁注射针数。**结果** 经尼古丁自身给药训练10 d后,30只大鼠有效鼻触反应数和注射针数明显升高并稳定在较高水平,有效鼻触反应数高于无效鼻触反应数($P<0.001$),成功建立大鼠尼古丁静脉自身给药模型。测试阶段,FR2程序下,薄荷醇组有效鼻触反应数降低($P=0.020$),FR5程序下,组别与时间水平的有效鼻触反应数指标存在明显交互作用($P<0.001$),薄荷醇组有效鼻触数在第3天降低($P=0.011$),桉叶素组则在第3天升高($P=0.003$),溶剂对照组无明显变化。**结论** 薄荷醇及桉叶素均对尼古丁依赖有影响,在尼古丁较难获取时,薄荷醇抑制尼古丁依赖性,桉叶素则增加尼古丁依赖性。

【关键词】 尼古丁依赖 薄荷醇 桉叶素 自身给药

Animal Experimental Study of the Role of Menthol and Cineole, Two Tobacco Additives, on Nicotine Dependence
HE Tao¹, MA Kuo-yan², LÜ Xiao-li³, DU Xiang-dong³, HU An-ran¹, YAO Xia¹, DENG Wei^{1△}. 1. Mental Health Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Chongqing Municipal Key Laboratory of Scientific Utilization of Tobacco Resources, Chongqing 400060, China; 3. Department of Psychiatry, Suzhou Psychiatric Hospital, Suzhou 215137, China

△ Corresponding author, E-mail: mrdengwei@163.com

【Abstract】 Objective To establish a nicotine intravenous self-administration rat model, and to examine, with this model, the effects of two flavoring additives, menthol and cineole, on nicotine dependence. **Methods** Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were included in the study. After jugular venous catheterization was performed, fixed concentration of nicotine was administered in order to train the rats and establish the rat model of intravenous self-administration groups, receiving intraperitoneal injection of menthol, cineole, and dimethyl sulfoxide (DMSO), the vehicle that was used for the control group. The rats were tested with different fixed-ratio (FR) schedules, including FR1 schedule, in which the rat received one nicotine infusion for every active nose poke, FR2 schedule, in which the rat received one nicotine infusion for every two active nose pokes, and FR5 schedule, in which the rat received one nicotine infusion for every five active nose pokes. The number of active and inactive poke responses and the number of nicotine infusion were documented accordingly. **Results** After 10 days of training in nicotine self-administration, the 30 rats demonstrated significant increase in the number of active poke responses and the number of nicotine infusion, which were maintained at a stable and relatively high level. The number of active poke responses was significantly higher than that of inactive poke responses ($P<0.001$). The rat model of intravenous nicotine self-administration was successfully established. In the testing phase, under the FR2 schedule, the menthol group showed a reduced number of active poke responses ($P=0.020$). Under the FR5 schedule, the groups showed obvious interaction between time and the number of active poke responses ($P<0.011$), with the menthol group showing reduced number of active poke responses on day three ($P=0.011$) and the cineole group showing rising number of active poke responses on day three ($P=0.003$). The DMSO control group did not show any significant change. **Conclusions** Menthol and cineole are shown to have an effect on nicotine dependence. When there is relative difficulty involved in obtaining nicotine, menthol suppresses nicotine dependence, whereas cineole enhances nicotine dependence.

【Key words】 Nicotine dependence Menthol Cineole Self-administration

^{*} 四川省科技计划应用基础研究(No. 2019YJ0080)、四川大学华西医院学科卓越发展135工程临床研究孵化项目(No. 2018HXXFH035)和苏州市临床医学专家团队引进项目(No. SZYJTD201715)资助

△ 通信作者, E-mail: mrdengwei@163.com

当前烟草产品形式多样,为增加产品的不同风味,提升感官品质,制造商在烟草产品中会添加不同成分,其中芳香剂添加最广泛,超过400种^[1]。但有研究报道烟草中添加的芳香剂具有依赖性潜力,可能进一步促进烟草依赖^[2],

需要更多的研究进一步探索芳香剂对烟草依赖的影响。

薄荷醇在芳香剂中使用最广泛,在美国市场,薄荷烟占比约1/4^[3]。随着薄荷烟的流行,研究者们将视线聚焦在薄荷醇对吸烟的影响,有研究报道,薄荷醇可能会增加烟草依赖性,缩短醒后吸第一支烟的时间^[4],增加戒烟难度^[5],但也有研究在吸薄荷烟和非薄荷烟的人群中未观察到上述差异^[6-7]。目前薄荷醇是否对形成烟草依赖及戒烟等过程有影响尚存争议。

桉叶素作为另一种芳香剂,与薄荷醇同属于萜类化合物,都可作用于瞬时受体电位离子通道(TRPM)⁸^[8],产生清凉的感觉,因此在烟草中也被用于增加清凉风味。有研究报道含有桉叶素的精油可减少小鼠的运动,增加戊巴比妥和乙醚诱导的睡眠时间^[9-10],最近有研究报道桉叶素具有抗焦虑、抗抑郁作用^[11]。上述研究表明桉叶素具有中枢神经系统活性,可能具有依赖性潜力,但目前尚没有研究探索桉叶素对烟草依赖性的影响。

既往探索薄荷醇对烟草依赖影响的研究主要集中在对薄荷烟的临床调查,仅有少量研究试图通过动物模型直接探索其影响^[12-14],而桉叶素对烟草依赖的影响尚缺乏探索。因此,本研究着眼于烟草中芳香添加剂对烟草依赖的影响,选取具有依赖性潜力的薄荷醇及桉叶素,通过大鼠尼古丁静脉自身给药实验,直接探索这两种物质对尼古丁依赖的影响,进一步推导其在烟草依赖中的作用。

1 对象和方法

1.1 实验动物

清洁级SD雄性大鼠30只(体质量250~300 g),购于浙江省实验动物中心(杭州,中国),生产许可证号:SCXK(浙)2014-0001,使用许可证号:SYXK(浙)2013-0192。饲养于12 h光照/12 h黑暗翻转交替,温度22~25 ℃,湿度40%~70%的清洁级动物房中。实验前大鼠饲养1周左右以适应环境,自由饮水饮食。动物实验按照我国《实验动物福利伦理审查指南(GB/T 35892-2018)》要求,规范落实实验动物福利伦理。

1.2 实验试剂与仪器

1.2.1 实验试剂 尼古丁: $C_{10}H_{14}N_2$,相对分子质量为162.23,分析纯,淡黄色油状液体,可与水混溶,重庆中烟工业有限责任公司实验室提供;建模前用生理盐水溶解尼古丁制备成尼古丁溶液。

薄荷醇: $C_{10}H_{20}O$,相对分子质量156.27,纯度99%,无色透明晶体,微溶于水,易溶于有机溶剂,重庆中烟工业有限责任公司实验室提供;测试前用二甲基亚砜溶液(dimethyl sulfoxide, DMSO, 体积分数5%)溶解薄荷醇。

桉叶素: $C_{10}H_{18}O$,相对分子质量154.25,分析纯,无色透明油状液体,微溶于水,易溶于有机溶剂,购于美国Sigma公司;测试前用DMSO溶液(体积分数5%)溶解桉叶素。

1.2.2 实验仪器 大鼠自身给药训练笼,购自浙江宁波安来软件科技有限公司,每个训练笼均配备1个有效鼻触器(内含黄色LED灯),1个无效鼻触器,1枚白色LED笼灯。训练笼连接的注射系统由注射泵,注射器,旋转接头,注射导管PE管组成。训练笼的笼灯、鼻触器、注射泵以及旋转接头均为美国Med Associates公司产品。所有训练笼由IBM兼容计算机控制,自身给药程序为宁波市微循环与莨菪类药研究所自主编写^[15-16]。

1.3 手术

大鼠经戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后,于右侧颈静脉行插管手术。术后每天经静脉予以0.3 mL青霉素钠溶液(15×10^4 U)抗感染3 d,每天给予0.1 mL肝素钠溶液(50 000 U/L)抗凝。

1.4 建立大鼠尼古丁自身给药模型

大鼠术后休息1周开始自身给药训练,将所有大鼠独立放置于自身给药训练笼,选用0.03 mg/kg/infusion为尼古丁训练浓度^[17],尼古丁经大鼠颈静脉插管注射,采用固定比率1程序(fixed-ratio1 schedule, FR1),每天训练4 h,每日记录有效鼻触反应数(active poke responses)、注射针数(number of infusions)、无效鼻触反应数(inactive poke responses),连续10 d,以最后3 d有效鼻触反应数变化不超过10%视为建模成功。

1.5 测试不同固定比率程序下薄荷醇、桉叶素对大鼠尼古丁自身给药行为的影响

1.5.1 测试一 测试一延用了训练时采用的FR1程序,且在模型稳定后开始测试。建模成功后,将大鼠随机分为3组(薄荷醇组、桉叶素组、溶剂对照组),每组10只,采用FR1(大鼠每进行1次有效鼻触,得到1次尼古丁注射)程序进行连续3 d的测试(具体测试方法见1.5.4)。

1.5.2 测试二 测试一完成后,将程序调至固定比率2(FR2,大鼠每进行2次有效鼻触,得到1次尼古丁注射),所有大鼠在FR2下进行连续3 d的尼古丁自身给药训练。训练目的:①使大鼠适应新的自身给药程序;②对前测试中大鼠摄入的薄荷醇(消除半衰期2.5 h)^[18]、桉叶素(负鼠中消除半衰期约7 h)^[19]进行洗脱,训练时尼古丁浓度为0.03 mg/kg/infusion,训练时间4 h/d。训练3 d后剔除不能完成训练的大鼠(有效鼻触反应数平均值低于建模最后3 d平均值或漏管),剩余大鼠随机分为3组(薄荷醇组、桉叶素组、溶剂对照组),进行连续3 d的测试(具体测试方法见1.5.4)。

1.5.3 测试三 测试二完成后,将程序调整至固定比率5(FR5,大鼠每进行5次有效鼻触,得到1次尼古丁注射)进行尼古丁自身给药训练,尼古丁浓度及每次训练时间均不变。训练3 d后剔除不能完成训练的大鼠(有效鼻触反应数平均值低于FR2训练期平均值或漏管),剩余大鼠随机分为3组(薄荷醇组、桉叶素组、溶剂对照组),进行连续3 d的测试(具体测试方法见1.5.4)。

1.5.4 测试方法 测试前15 min,分别经腹腔向薄荷醇组大鼠注射薄荷醇(5 mg/kg),桉叶素组大鼠注射桉叶素(5 mg/kg),溶剂对照组大鼠注射5%的DMSO溶液(约0.4~0.5 mL/只)。注射后15 min,将大鼠放入训练笼中,根据测试一、测试二、测试三,分别采用FR1、FR2、FR5程序(图1),以固定的尼古丁浓度0.03 mg/kg/infusion进行测试,4 h/d,记录有效鼻触反应数、无效鼻触反应数及注射针数。

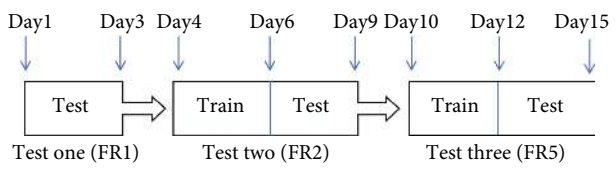


图1 测试阶段时间轴
Fig 1 Timeline of the test phases

1.6 统计学方法

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用重复测量方差分析比较组间差异,交互作用显著则进一步行简单效应检验比较相同测试时间每两组之间的差异以及各组不同测试时间点的差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 建立大鼠尼古丁自身给药稳定模型

受训大鼠的有效鼻触反应数在训练第5天上升并逐渐保持稳定,无效鼻触反应数逐渐下降,并在3 d后保持

稳定,经重复测量方差分析,有效鼻触反应数高于无效鼻触反应数($F = 87.42, P < 0.001$)。在训练最后3 d,有效鼻触反应数、无效鼻触反应数及注射针数的变化率稳定在10%以内,说明大鼠尼古丁自身给药模型成功建立。如图2所示。

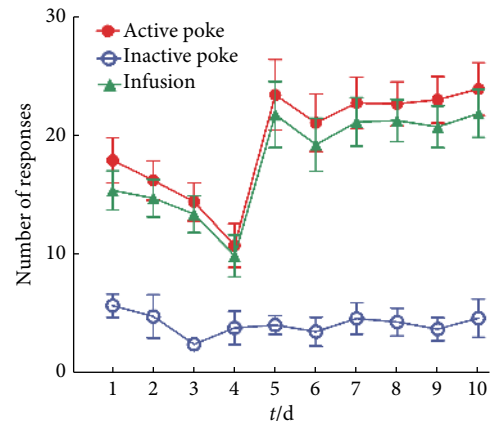


图2 大鼠尼古丁自身给药训练 (n=30)
Fig 2 Rats were trained in nicotine self-administration for 10 days with fixed-ratio 1 schedule (n=30)

2.2 不同获取难度下薄荷醇、桉叶素对大鼠尼古丁自身给药行为的影响

采用重复测量方差分析分别对3个测试阶段3组大鼠的多时间点(以测试前一天为每个测试的day 0,包括day 0及day 1~day 3共4 d)行为学数据进行统计分析,结果如下。

2.2.1 测试一 (FR1) 成功建立大鼠尼古丁自身给药模型后,按上述方法分别对薄荷醇组(n=9)、桉叶素组(n=9)、溶剂对照组(n=9)大鼠进行测试(测试过程中3组各有1只大鼠发生静脉置管漏管,未纳入统计分析),采用重复测量方差分析对3组大鼠的有效鼻触反应数进行统计分析,各组间、各时间点之间以及各组随测试时间的变化趋势均没有差异(表1)。

表1 不同固定比率程序下3组大鼠有效鼻触反应数
Table 1 Active poke responses in three groups with different fixed-ratio (FR) schedules

Schedule	Group	Active poke responses				Time		Time×group		Group	
		Day 0	Day 1	Day 2	Day 3	F	P	F	P	F	P
FR1	Menthol (n=9)	26.22±11.74	27.33±10.85	26.78±4.92	24.56±5.03	0.586	0.580	0.423	0.813	1.442	0.256
	Cineole (n=9)	22.89±11.63	20.11±6.43	19.33±9.79	19.67±8.46						
	Vehicle (n=9)	25.11±11.75	26.67±13.31	27.56±7.20	24.22±10.70						
FR2	Menthol (n=9)	42.00±17.57	50.00±23.03**	37.78±13.19	31.33±10.51	3.721	0.015	1.585	0.165	0.914	0.415
	Cineole (n=9)	42.11±20.17	51.11±13.74	55.78±22.10	46.56±15.70						
	Vehicle (n=8)	38.88±13.12	48.38±12.94	39.63±23.36	40.63±21.02						
FR5	Menthol (n=5)	100.80±29.35*	111.20±7.19***	100.20±20.19*	69.00±18.38	0.657	0.585	9.355	<0.001	0.023	0.977
	Cineole (n=5)	87.80±34.34**	74.00±14.61***	87.40±17.56**	127.20±19.56						
	Vehicle (n=4)	105.50±11.12	84.00±26.60	94.75±30.90	86.75±23.34						

FR: Fixed-ratio schedule; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. Day 3.

2.2.2 测试二 (FR2) 对薄荷醇组($n=9$)、桉叶素组($n=9$)、溶剂对照组($n=8$, 1只发生静脉置管漏管, 未纳入统计分析)的有效鼻触反应数行重复测量方差分析发现, 有效鼻触反应数在不同测试时间之间有差异($P=0.015$) (表1), 但各组间无明显差异。分别对3组行重复测量方差分析, 发现薄荷醇组大鼠有效鼻触反应数降低($P=0.020$), 进一步两两比较(post-hoc)发现有效鼻触反应数day 3比day 1低($P=0.005$) (图3)。桉叶素组及溶剂对照组的有效鼻触反应数随测试时间无明显变化。

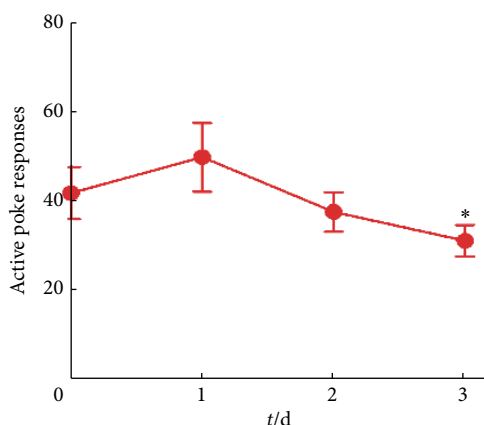


图3 固定比率2程序下薄荷醇组有效鼻触反应数

Fig 3 Active poke responses on different test days of the menthol group on fixed-ratio 2 schedule

Active poke responses decreased across time in the menthol group, while no changes were observed in the cineole group or vehicle control group. For the sake of clarity, the figure does not show the results of the cineole group or the vehicle group. * $P<0.05$, vs. Day 1.

2.2.3 测试三 (FR5) 进行FR5测试期间, 12只大鼠发生静脉置管漏管, 未纳入统计分析, 对薄荷醇组($n=5$)、桉叶素组($n=5$)、溶剂对照组($n=4$)的有效鼻触反应数进行重复测量方差分析, 发现大鼠有效鼻触反应数分别在时间、组别上未表现出统计学差异, 但组别与时间交互作用显著($P<0.001$, 表1), 表明不同组别的有效鼻触反应数与测试时间并非呈单调变化的趋势, 这一点从图4中亦可看出。抛开单调变化趋势, 进一步行简单效应检验发现, 薄荷醇组有效鼻触反应数在第3天减少($P<0.05$), 桉叶素组有效鼻触反应数在第3天增加($P<0.05$), 溶剂对照组有效鼻触反应数随测试时间无明显变化。

3 讨论

烟草中的芳香剂被认为可能促进烟草依赖^[2], 但目前的研究尚未得出一致结论。本研究建立大鼠尼古丁静脉自身给药模型后, 通过该模型进行测试, 发现薄荷醇可抑制尼古丁依赖性, 而桉叶素则会增加尼古丁依赖性。

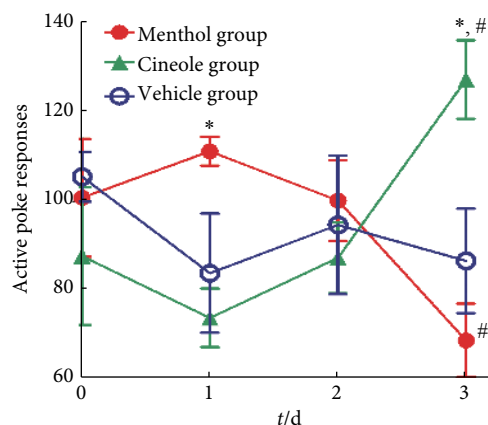


图4 固定比率5程序下3组有效鼻触反应数

Fig 4 Active poke responses on different test days of three groups on fixed-ratio 5 schedule

* $P<0.05$, vs. vehicle group; # $P<0.05$, vs. day 0.

本研究采用5 mg/kg的薄荷醇, 相当于一名成年男性每天吸食一包薄荷烟所摄入的薄荷醇含量^[3], 分别在FR1、FR2、FR5程序下测试薄荷醇对尼古丁依赖的作用。固定比率程序(fixed-ratio schedule)是自身给药实验中常用的自动控制程序^[20], 当比率值越高, 实验动物获得1次奖赏药物所需要付出的操作行为越多, 例如: 在FR1下, 大鼠获得1次奖赏药物, 需付出1次操作行为; 在FR5下, 大鼠获得1次奖赏药物, 需付出5次操作行为。从FR1到FR5, 大鼠觅药的难度逐渐增大。不顾后果地强迫性用药是物质依赖的核心特征^[21], 本研究发现注射薄荷醇后, 大鼠在FR2及FR5程序下的有效鼻触反应数在第3天降低, 而对照组无此变化。说明薄荷醇对尼古丁依赖性有抑制作用, 在需要付出更多努力去获取尼古丁时, 薄荷醇抑制了大鼠觅药行为, 这种抑制作用可能较弱, 在尼古丁较易获得时(即FR1程序下), 对大鼠觅药行为不产生明显影响。

BISWAS等^[12]发现5 mg/kg的薄荷醇可以减少大鼠在FR5程序下对浓度为0.03 mg/kg/infusion的尼古丁的摄取行为, 该研究继续探索了薄荷醇对浓度为0.015 mg/kg/infusion的尼古丁的影响, 得出相反结论。本研究的发现验证了BISWAS的部分结论, 并进一步探索了薄荷醇的作用随时间的变化, 发现薄荷醇对尼古丁依赖性的抑制并不会在使用初期即呈现, 而是经累积到一定程度突然涌现, 这也许能用ENDERSON等^[14]的研究予以解释, 该研究发现, 长期单独使用薄荷醇, 可上调小鼠中脑系统多巴胺能神经元中低敏感的烟碱型乙酰胆碱受体, 并通过稳定这类低敏感受体, 部分抵消尼古丁暴露时引起的爆发样多巴胺释放, 抑制尼古丁奖赏行为。另一研究结论与

本研究相反,报道薄荷醇能促进大鼠的尼古丁自身给药行为^[13]。该研究采用青春期雌性大鼠,口服薄荷醇,而本研究采用成年雄性大鼠,腹腔注射薄荷醇,不同的研究方法可能是导致不同结论的原因。既往流行病学调查也报道了性别、年龄对薄荷烟选择的影响,在青少年及女性中薄荷烟更受偏好^[22-23]。本研究与既往研究的不同结论提示我们薄荷醇的作用在不同性别、年龄以及薄荷醇浓度间存在差异,在后续研究中需加以考虑,进一步探索。

桉叶素是具有多种生物活性的萜类化合物,和薄荷醇具有相似的清凉风味,被广泛应用于药品、食品及化妆品等领域,也作为芳香剂被添加至香烟中^[2],但其在烟草中的添加量尚无可获得的具体数据。既往动物实验研究中采用的桉叶素浓度从1~100 mg/kg不等^[9, 24-25]。本研究采用和薄荷醇相同的浓度5 mg/kg进行探索,发现在FR5程序下,注射桉叶素后,使大鼠有效鼻触反应数在第3天增加,说明桉叶素增强尼古丁依赖性,在获取尼古丁较困难的条件下,促进大鼠觅药行为,而该作用可能也相对较弱,在获取尼古丁较容易时不能得以体现。

有研究报告,直接暴露于桉叶素可增加大鼠脑切片中纹状体的多巴胺释放^[26]。而我们知道,尼古丁的作用与其改变纹状体和中脑边缘系统其他结构中的多巴胺水平密切相关^[27]。新的研究发现,桉叶素可作用于 γ -氨基丁酸_A受体产生抗焦虑、抗抑郁作用^[11]。因此我们猜测桉叶素在中枢神经系统中可能作用于多种受体,直接或间接地影响尼古丁对多巴胺水平的调节,从而改变尼古丁的依赖性。但目前尚没有研究进行这方面的报道,桉叶素的作用机制需要运用神经影像和分子生物学等手段进一步探索。

本研究通过大鼠尼古丁静脉自身给药模型,首次探索桉叶素对尼古丁依赖性的作用,发现桉叶素增强尼古丁依赖性,薄荷醇抑制尼古丁依赖性。虽然这两种芳香剂的作用均较弱,且需要时间积累逐渐呈现,但考虑到使用烟草产品的人大部分会持续使用,在烟草产品中仍有许多其他非尼古丁物质作用尚不明确,本研究发现的薄荷醇及桉叶素的作用仍不容忽视。然而本研究仍存在以下不足:首先本研究后期大鼠静脉置管维护难度加大,样本量逐渐减少,薄荷醇、桉叶素测试时间不够长,难以观察到两种物质对尼古丁依赖的长期作用规律,接下来的研究中需进一步细化实验,扩大样本量,探索薄荷醇、桉叶素长期作用下,尼古丁依赖性的变化;其次本研究缺乏对薄荷醇、桉叶素不同浓度范围对尼古丁依赖的作用探索,还需后续在不同浓度下更深入探索薄荷醇、桉叶素与尼古丁的剂量效应关系;最后,薄荷醇、桉叶素的作用机

制仍不明确,在接下来的研究中我们拟运用神经影像及分子生物学等手段更全面地阐释薄荷醇、桉叶素的作用机制及相关靶点,为规范烟草中的添加剂提供参考依据。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] BAKER R R, PEREIRA DA SILVA J R, SMITH G. The effect of tobacco ingredients on smoke chemistry. Part I : Flavourings and additives. *Food Chem Toxicol*, 2004, 42(Suppl): S3-S37.
- [2] VAN DE NOBELEN S, KIENHUIS ASTALHOUT R. An inventory of methods for the assessment of additive increased addictiveness of tobacco products. *Nicotine Tob Res*, 2016, 18(7): 1546-1555.
- [3] GIOVINO G A, SIDNEY S, GFROERER J C, *et al.* Epidemiology of menthol cigarette use. *Nicotine Tob Res*, 2004, 6(Suppl 1): S67-S81.
- [4] HOFFMAN ACSIMMONS D. Menthol cigarette smoking and nicotine dependence. *Tob Induc Dis*, 2011, 9(Suppl 1): S5[2020-05-04]. <https://doi.org/10.1186/1617-9625-9-S1-S5>.
- [5] PLETCHER M J, HULLEY B J, HOUSTON T, *et al.* Menthol cigarettes, smoking cessation, atherosclerosis, and pulmonary function: The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. *JAMA Internal Medicine*, 2006, 166(17): 1915-1922.
- [6] WERLEY M S, COGGINS C P. Possible effects on smokers of cigarette mentholation: a review of the evidence relating to key research questions. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2007, 47(2): 189-203.
- [7] HOFFMAN ACMICELI D. Menthol cigarettes and smoking cessation behavior. *Tob Induc Dis*, 2011, 9(Suppl 1): S6[2020-05-04]. <https://doi.org/10.1186/1617-9625-9-S1-S5>.
- [8] TAKAISHI M, FUJITA F, UCHIDA K, *et al.* 1, 8-cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1. *Mol Pain*, 2012, 8: 86[2020-05-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3567430/pdf/1744-8069-8-86.pdf>. doi: 10.1186/1744-8069-8-86.
- [9] FIGUÉIREDO F, MONTEIRO Á, MENEZES I R, *et al.* Effects of the *Hyptis martiusii* Benth. leaf essential oil and 1, 8-cineole (eucalyptol) on the central nervous system of mice. *Food Chem Toxicol*, 2019, 133: 110802[2020-02-03]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278-6915\(19\)30592-7](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278-6915(19)30592-7). doi: 10.1016/j.fct.2019.110802.
- [10] DE ARAUJO F Y, SILVA M I, MOURA B A, *et al.* Central nervous system effects of the essential oil of the leaves of *Alpinia zerumbet* in mice. *J Pharm Pharmacol*, 2009, 61(11): 1521-1527.
- [11] DOUGNON GITO M. Inhalation administration of the bicyclic ethers 1, 8- and 1, 4-cineole prevent anxiety and depressive-like behaviours in mice. *Molecules*, 2020, 25(8): 1884[2020-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7221571/pdf/molecules-25-01884.pdf>. doi: 10.3390/molecules25081884.
- [12] BISWAS L, HARRISON E, GONG Y, *et al.* Enhancing effect of menthol on nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*,

- 2016, 233(18): 3417–3427.
- [13] WANG T, WANG B, CHEN H. Menthol facilitates the intravenous self-administration of nicotine in rats. *Front Behav Neurosci*, 2014, 8: 437[2020-05-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4267270/pdf/fnbeh-08-00437.pdf>. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00437.
- [14] HENDERSON B J, WALL T R, HENLEY B M, *et al*. Menthol alone upregulates midbrain nAChRs, alters nAChR subtype stoichiometry, alters dopamine neuron firing frequency, and prevents nicotine reward. *J Neurosci*, 2016, 36(10): 2957–2974.
- [15] ZHANG F, ZHOU W, TANG S, *et al*. Motivation of heroin-seeking elicited by drug-associated cues is related to total amount of heroin exposure during self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 2004, 79(2): 291–298.
- [16] 张登科, 郝伟, 谌红献. 自身给药模型在物质成瘾中的应用. *中国药物依赖性杂志*, 2005, 14(6): 402–405.
- [17] ROSE JECORRIGALL W A. Nicotine self-administration in animals and humans: Similarities and differences. *Psychopharmacology (Berl)*, 1997, 130(1): 28–40.
- [18] GRIGOLEIT H G, GRIGOLEIT P. Pharmacology and preclinical pharmacokinetics of peppermint oil. *Phytomedicine*, 2005, 12(8): 612–616.
- [19] 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. *Xenobiotica*, 2007, 37(9): 903–922.
- [20] 王桂林, 郑继旺. 自身给药实验. *中国药理学通报*, 1995, 11(5): 424–428.
- [21] REID A G, LINGFORD-HUGHES A R, CANCELA L M, *et al*. Substance abuse disorders. *Handb Clin Neurol*, 2012, 106: 419–431[2020-05-29]. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52002-9.00024-3>.
- [22] TRINIDAD D R, PEREZ-STABLE E J, MESSER K, *et al*. Menthol cigarettes and smoking cessation among racial/ethnic groups in the United States. *Addiction*, 2010, 105(Suppl 1): 84–94.
- [23] CUBBIN C, SOOBADER M J, LECLERE F B. The intersection of gender and race/ethnicity in smoking behaviors among menthol and non-menthol smokers in the United States. *Addiction*, 2010, 105(Suppl 1): 32–38.
- [24] UMEZU T. Evaluation of the effects of plant-derived essential oils on central nervous system function using discrete shuttle-type conditioned avoidance response in mice. *Phytother Res*, 2012, 26(6): 884–891.
- [25] MOON H K, KANG P, LEE H S, *et al*. Effects of 1, 8-cineole on hypertension induced by chronic exposure to nicotine in rats. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66(5): 688–693.
- [26] KAKO H, FUKUMOTO S, KOBAYASHI Y, *et al*. Effects of direct exposure of green odour components on dopamine release from rat brain striatal slices and PC12 cells. *Brain Res Bull*, 2008, 75(5): 706–712.
- [27] BENOWITZ N L. Pharmacology of nicotine: addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2009, 49: 57–71[2020-05-29]. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094742>.

(2020-06-15收稿, 2021-03-30修回)

编辑 吕 熙