

Effect of Geranium Essential Oil on Food Intake via Olfactory Stimulus

Seung-Jae Choi¹, Sang Baik Ye¹, Hyung Gyun Na¹, Gui Ok Kim¹, Chang Hoon Bae¹,
Si-Youn Song¹, Yong Woon Kim², So Young Park² and Yong-Dae Kim^{1,3}

¹Departments of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, ²Physiology, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu; and

³Center for Respiratory Disease, Yeungnam University Medical Center, Daegu, Korea

제라늄 에센셜 오일이 후각자극을 통해 식이섭취의 조절에 미치는 효과

최승재¹ · 예상백¹ · 나형균¹ · 김귀옥¹ · 배창훈¹ · 송시연¹ · 김용운² · 박소영² · 김용대^{1,3}

영남대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실, ¹ 생리학교실, ² 영남대학교병원 호흡기전문질환센터³

Received August 2, 2011
Revised September 20, 2011
Accepted October 6, 2011
Address for correspondence
Yong-Dae Kim, MD, PhD
Department of Otorhinolaryngology-
Head and Neck Surgery,
College of Medicine,
Yeungnam University, 317-1
Daemyeong-dong, Nam-gu,
Daegu 705-717, Korea
Tel +82-53-620-3781
Fax +82-53-628-7884
E-mail ydkim@med.yu.ac.kr

Background and Objectives Recently, obesity has become one of the major health problems in our society. To overcome this problem, keeping a balance between food intake and energy expenditure is very important. Many natural substances including essential oils have been suggested for their potential effect on reducing weight. This study was performed to evaluate whether aroma inhalation of essential oil has a role in appetite regulation and works on the central nervous system through the olfactory stimulus.

Materials and Method Food intake was measured after 30 minutes of treatment with essential oil in overnight fasted Sprague-Dawley rats. In the control group, saline was used instead of essential oil. Changes in pro-opiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) mRNA expression levels in the hypothalamus were measured following 30 minutes of treatment with geranium essential oil using real-time polymerase chain reaction.

Results Of the seven essential oils, geranium significantly decreased the amount of food intake compared to the control group. Geranium essential oil significantly increased POMC mRNA expression in the hypothalamus, but did not change the NPY mRNA expression. The increased POMC mRNA expression was reversed by treatment with xylocaine, which blocks the olfactory perception.

Conclusion These results suggest that geranium essential oil has anorexic effect through the activation of POMC neurons in the hypothalamus via olfactory stimulus.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2011;54:766-70

Key Words Geranium · Appetite regulation · Olfactory perception · Hypothalamus · Pro-opiomelanocortin.

서론

에센셜 오일은 식물의 꽃이나 잎, 줄기, 뿌리 및 과실의 껍질에서 추출한 것으로 페놀유도 방향족 화합물(phenol-derived aromatic components) 등의 휘발성 성분들을 함유하고 있는 방향성 오일이다. 에센셜 오일은 중세부터 사용되어 왔으며, 항균 효과와 항진균 효과, 항산화 효과, 항염증 효과 등의 의

학적 효능 및 피부노화방지나 스트레스 해소 등의 효능이 알려져 있다.¹⁻⁴⁾

근래에 우리나라도 서구화된 사회에서 공통적으로 나타나는 영양과잉에 따른 비만이라는 사회적인 문제에 직면해 있다.⁵⁾ 비만을 해결하기 위해서는 에너지의 섭취를 줄이고 소비를 증가시키는 전략이 필요하다.^{6,7)} 따라서 식이섭취를 조절하는 중추인 시상하부를 목표로 하여 식욕을 감소시키면서

장기간의 처치에도 부작용이 나타나지 않는 천연물을 이용하면 효율적으로 체중을 조절할 수 있을 것으로 기대가 된다. 이러한 이유로 식욕을 조절할 수 있는 차 또는 에센셜 오일에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다.

비만에 대한 에센셜 오일의 연구들로는 실험쥐에 에센셜 오일을 처치한 후 기능적 자기공명영상을 이용하여 이들이 변연계나 시상하부에 영향을 주며, 진통효과 및 항비만 효과를 나타낸다는 보고들이 있다.⁸⁻¹³⁾ 그러나 에센셜 오일이 식욕과 관련된 시상하부에 특이적으로 작용하여 항비만 효과를 나타내는 것에 대해서는 아직까지 명확하게 규명되지 않은 실정이다.

이 연구에서는 다양한 에센셜 오일 중에서 기분이나 중추신경계에 영향을 주는 것으로 알려진 항목들을^{14,15)} 실험쥐에 처치하여 식이섭취량을 확인하는 방법으로 식이섭취 억제를 유도하는 에센셜 오일을 알아보고, 또한 식이섭취 억제를 유도하는 에센셜 오일이 후각자극을 통해 시상하부를 통하여 식이섭취를 조절하는지를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

각 군마다 체중 250 g 가량의 Sprague-Dawley 수컷 쥐 8마리를 사용하였고 Sprague-Dawley 수컷 쥐는 청정사육사의 관리지침에 따라 사육되었으며, 도착 후 1주일간의 적응기간을 거친 후에 실험에 사용되었다. Sprague-Dawley 수컷 쥐는 오전 7시부터 12시간은 밝게 유지하고 이후 12시간은 소등하였다.

에센셜 오일의 처치

에센셜 오일들(Tisserand, Brighton, England)(Table 1)을 페트리 접시에 놓인 거즈에 2 mL 분주하여 깔집 밑에 30분간 숨겨둔 후 제거한 다음 4시간 동안 각 군의 식이섭취량을 측정하였다. 동일량의 생리식염수를 같은 방법으로 처치한 군을 대조군으로 하였으며, 실험마다 새로 마련한 사육용 케이지를 사용하였으며, 깔집을 두텁게 깔아 육안적으로 시료를 처치한 것이 보이지 않게 하였다. 실험동물은 실험 전날 오후

6시부터 금식 후 실험일 오전 10시경에 실험을 시행하였다.

제라늄 에센셜 오일(1 : 100배 희석)을 위와 동일한 방법으로 실험동물에 30분간 노출한 다음 제거하고 30분이 지난 시점에 Tiletamine과 Zolazepam(각각 25 mg/kg, Zoletil R, Virbac, Carros, France) 그리고 xylazine hydrochloride(8 mg/kg)를 복강내 주사하여 마취시킨 후 시상하부를 채취하여 pro-opiomelanocortin(POMC)과 neuropeptide Y(NPY)의 mRNA 발현을 측정하였다. 시상하부는 뇌의 기저부에 시신경관을 따라 형성된 경계부위와 깊이 3 mm를 기준으로 하여 채취하였다. 채취한 시상하부는 즉시 액체 질소에 담근 후 deep freezer(-80℃)에 보관한 후 POMC와 NPY의 유전자 발현과 단백질 분석에 사용하였다. 에센셜 오일의 신호전달이 에센셜 오일에 의한 후각 자극임을 확인하기 위하여 에센셜 오일을 처치할 때 xylocaine을 실험동물의 코에 분무하여 후각 신경을 마비시킨 다음 에센셜 오일을 처치하여 그 효과를 관찰하였다.

Real-time PCR

시상하부의 유전자 발현은 real-time polymerase chain reaction(PCR)으로 분석하였다. 먼저 RNA를 추출하는 과정을 요약하면, 1 mL TRI-reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)에 시상하부 조직을 넣고 초음파를 이용하여 균질화시켰다. 여기에 200 μ L의 chloroform을 넣고 15초간 격렬하게 흔든 뒤 실온에서 5분간 반응시킨 다음 4℃, 13,200 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 상청액에 같은 부피의 isopropanol을 넣고 10분간 상온에서 반응을 거친 다음 다시 4℃, 13,200 rpm으로 10분간 원심분리하여 RNA를 침전시켰다. 침전시킨 RNA를 차가운 75% ethanol 1 mL로 세척하고 4℃, 13,200 rpm에서 5분간 원심분리하여 침전물을 실온에서 건조시켰다. 마지막으로 남은 RNA를 Rnase가 제거된 물 30 μ L에 녹여 -70℃에서 보관하였다. RNA 농도는 Nano-drop(Thermo, Wilmington, DE, USA)을 이용하여 260 및 280 nm 파장에서 측정하였다.

RNA를 증폭시키는 과정을 요약하면, 분리한 RNA 1 μ g을 70℃에서 5분 반응시킨 뒤 Primer RT Premix(inNtRON, Seongnam, Korea)에 oligo(dT) primer를 넣어 42℃에서 60분, 70℃에서 10분 반응시켜 cDNA를 만들었다. 이후 FastStart Taq DNA polymerase(LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I, Roche, Germany)와 3 mM MgCl₂, 0.4 μ M primer를 첨가하여 LightCycler 1.5 Instrument에서 증폭시켰다. 그 과정은 95℃에서 10분의 전반응을 거친 다음, 변성(denaturation, 95℃, 10초), 결합(annealing, 54~60℃, 5초) 및 연장(extension, 72℃, 4~9초)의 과정을 45회 반복하는 것

Table 1. Essential oils

Essential oil	Scientific name
Geranium	Pelargonium graveolens
Grapefruit	Citrus $\times$ paradisi
Lavender	Lavandula angustifolia
Lemon	Citrus $\times$ limon
Mandarin	Citrus reticulata
Peppermint	Menthe piperita
Ylang-ylang	Cananga odorata

이었다. 반응이 끝난 뒤 증폭의 특이도를 확인하기 위하여 온도를 65℃까지 내린 후 점차적으로 0.2℃/초의 속도로 95℃까지 온도를 높여 형성된 PCR 산물의 동일성 여부를 분석하였다. 내부표준으로는 glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase를 사용하였으며 primer 서열은 Table 2에 나타내었다.

통계분석

통계분석을 위하여 SPSS 12.0(SPSS, Version 12.0, Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하였으며, 실험군과 대조군 간의 차이는 Student's t-test를 사용하여 평가하였고 p -value 0.05 미만을 통계적 유의성의 기준으로 하였다.

결 과

에센셜 오일에 의한 식이섭취의 변화

연구에 사용한 7가지 에센셜 오일(Table 1) 중에서 30분간 실험동물에 노출하여 대조군에 비해 식이섭취를 유의하게 감소시킨 것은 제라늄 에센셜 오일이었고, 라벤다 에센셜 오일도 식이섭취를 감소시키는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다(Table 3).

제라늄 에센셜 오일의 농도에 따른 식이섭취의 변화

제라늄 에센셜 오일의 식이섭취 억제 효과에 대한 농도의존

성을 확인하기 위해 제라늄 에센셜 오일의 농도를 다르게 하여 실험한 결과 1 : 1,000배와 1 : 100배로 희석한 경우에는 유의한 식이섭취 감소가 나타났으나, 1 : 10배의 고농도의 노출에는 오히려 식이섭취가 증가하는 경향을 나타내었다(Table 4).

식이조절과 관련된 Neuropeptide에 대한 영향

에센셜 오일이 시상하부의 식이조절과 관련된 neuropeptide에 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 시상하부의 POMC와 NPY의 mRNA 발현을 분석하였다. 1 : 100배로 희석한 제라늄 에센셜 오일을 처치한 군에서 POMC mRNA의 발현이 유의하게 증가하였으며, 이 증가는 xylocaine을 코에 분무하여 후각을 차단한 군에서 사라졌다(Fig. 1A). 동일한 방법으로 NPY mRNA의 발현을 분석한 결과 1 : 100배로 희석한 제라늄 에센셜 오일을 처치한 군과 대조군의 NPY mRNA의 발현은 실험군에서 증가하는 경향을 나타내었으나 통계학적으로 유의한 변화를 나타내지는 않았다(Fig. 1B).

고 찰

근래에 에센셜 오일은 통증이나 긴장, 스트레스를 완화하는 목적 또는 비만의 조절 등 다양한 목적으로 사용되고 있는데 이에 대한 명확한 작용 기전이나 효능에 대해 활발한 연구가 진행되고 있는 상황이다.¹⁴⁻¹⁶⁾ 그러나 에센셜 오일이 후각 자극을 통해 식이섭취를 조절하는 시상하부에 대한 영향에 관한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다.

에너지대사의 중추인 시상하부는 시상상의 아래쪽에 있으며

Table 2. Real-time PCR primer sequences

Sequences		
POMC	Sense	ACC TCA CCA CGG AAA GCA A
	Anti-sense	CGG GGA TTT TCA GTC AAG G
NPY	Sense	TGC GAC ACT ACA TCA ATC TCA T
	Anti-sense	CAT TTT CTG TGC TTT CTC TCA TTA
GAPDH	Sense	GTT ACC AGG GCT GCC TTC TC
	Anti-sense	TTC TCA GCC TTG ACT GTG CC

PCR: polymerase chain reaction, POMC: pro-opiomelanocortin, NPY: neuropeptide Y, GAPDH: glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase

Table 4. Food intake for 4 hours following various dosage of geranium essential oil treatment for 30 minutes in overnight fasting rats

Dilution ratio	Control group (%) (mean $\pm$ SE)	Experimental group (%) (mean $\pm$ SE)
1 : 10	100 $\pm$ 20.9	105.0 $\pm$ 24.4
1 : 100	100 $\pm$ 26.6	79.4 $\pm$ 14.8*
1 : 1,000	100 $\pm$ 10.0	82.5 $\pm$ 23.1*

Student's t-test. * p < 0.05. SE: standard error

Table 3. Food intake for 4 hours following 30 minutes treatment of essential oil in overnight fasting rats

Essential oil	Dilution ratio	Control group (%) (mean $\pm$ SE)	Experimental group (%) (mean $\pm$ SE)
Geranium	1 : 100	100 $\pm$ 26.6	79 $\pm$ 14.8*
Grapefruit	1 : 100	100 $\pm$ 23.6	101 $\pm$ 20.0
Lavender	1 : 100	100 $\pm$ 16.1	91 $\pm$ 24.0
Lemon	1 : 1,000	100 $\pm$ 15.9	103 $\pm$ 16.9
Mandarin	1 : 10,000	100 $\pm$ 21.6	103 $\pm$ 13.7
Peppermint	1 : 10,000	100 $\pm$ 10.9	99 $\pm$ 4.1
Ylang ylang	1 : 100	100 $\pm$ 22.0	97 $\pm$ 20.3

Student's t-test. * p < 0.05. SE: standard error

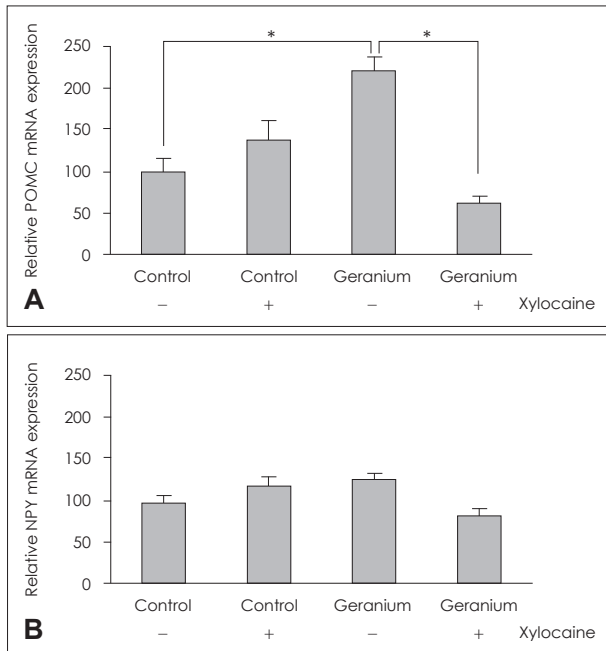


Fig. 1. The changes of pro-opiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) mRNA expression in the hypothalamus 30 minutes after treatment of diluted geranium essential oil (1 : 100 dilution ratio). POMC mRNA expression was significantly increased (A). NPY mRNA expression was not increased (B). Student's t-test. * $p < 0.05$.

뇌하수체 바로 위에 위치하며 제3뇌실을 싸고 있는 여러 개의 밀집도가 높은 신경핵들로 구성되어 있다. 시상하부가 관여하는 부분으로는 식이섭취 이외에도 뇌하수체를 통한 내분비조절, 체액균형, 전해질균형, 각성, 자율신경계 조절(혈압, 맥박 등) 및 분노나 공포와 같은 정서와 관련된 기능들이 있다. 이러한 기능을 수행하기 위하여 시상하부는 우리 몸의 여러 곳으로부터 정보를 받아들이는 장치를 가지고 있고, 이들 정보를 분석하는 특정 신경핵들이 있으며, 내분비와 자율신경계 및 섭식과 갈증을 직접 통제하는 기능을 가지고 있다. 시상하부의 기능과 밀접한 관련을 가지며 지원하는 부분으로 변연계가 있으며 변연계로 들어가는 정보 중에는 후각정보가 중요한 부분을 차지한다.^{17,18)}

시상하부에서 식이섭취와 관련된 핵으로는 궁상핵(arcuate nucleus)과 뇌실주위핵(paraventricular nucleus, PVN)이 있다. 궁상핵에는 POMC와 cocaine and amphetamine related transcript의 발현을 증가시키는 신경군과, NPY와 agouti related peptide를 증가시키는 신경군이 있다. POMC의 발현 증가는 α -melanocyte stimulating hormone를 생성하여 PVN의 제3/4형 melanocortin 수용체에 작용하고 melanocortin system을 활성화시켜 식욕을 감소시키고 에너지소비를 증가시키게 된다. 반대로 NPY의 증가는 PVN의 Y 수용체를 자극하여 식욕을 증가시키고 에너지소비를 감소시키게 된다.¹⁹⁻²²⁾

이 연구에는 쥐의 성별에 따른 후각계의 이형성(dimorphism)에 의한 영향을 배제하기 위해 체중 250 g 가량의 수컷 쥐들을 사용하였으며,¹¹⁾ 뇌하수체 적출시 마취제에 의한 후각자극을 배제하기 위해 마취약물의 복강 내 투여를 통해 마취를 시행하였다.

제라늄 에센셜 오일을 밤새 금식시킨 실험쥐에 노출한 결과 4시간 동안의 식이섭취가 감소하였으며, 노출 1시간 후에 적출한 시상하부에서 식이섭취를 억제하는 것으로 알려진 POMC의 mRNA의 발현이 증가됨을 확인할 수 있었다. 또한 이러한 POMC mRNA의 발현증가가 xylocaine 처리로 후각을 차단한 실험군에서는 나타나지 않는 것을 관찰할 수 있었다. 하지만 NPY mRNA의 발현은 대조군과 실험군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 제라늄 에센셜 오일의 희석배율에 따른 식이섭취는 1 : 1,000배와 1 : 100배로 희석한 경우에는 식이섭취가 유의하게 감소하였지만 1 : 10배로 희석한 경우에는 오히려 식이섭취가 증가하는 경향을 보였는데 이는 고농도의 제라늄 에센셜 오일 처리시 나타난 실험쥐의 혐오반응으로 보아 중추신경계의 다른 조절기전이 작용할 것으로 생각되나 이와 관련해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 제라늄 에센셜 오일에 의한 식이섭취의 억제는 후각자극을 통해 시상하부의 POMC 신경군의 활성화를 거쳐 이루어짐을 알 수 있었다. 에센셜 오일의 후각자극을 통한 시상하부 조절기전이 명확히 밝혀지면, 임상적으로 비만 환자에서는 식욕을 억제하고, 반대로 암 등으로 식욕이 억제된 환자에서는 식욕을 증가시키는 데 에센셜 오일을 이용할 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

- Scholz Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia* 2006;77(4):279-85.
- Maruyama N, Takizawa T, Ishibashi H, Hisajima T, Inouye S, Yamaguchi H, et al. Protective activity of geranium oil and its component, geraniol, in combination with vaginal washing against vaginal candidiasis in mice. *Biol Pharm Bull* 2008;31(8):1501-6.
- Maldonado PD, Rivero-Cruz I, Mata R, Pedraza-Chaverri J. Antioxidant activity of A-type proanthocyanidins from geranium niveum (Geraniaceae). *J Agric Food Chem* 2005;53(6):1996-2001.
- Barclay J, Vestey J, Lambert A, Balmer C. Reducing the symptoms of lymphoedema: is there a role for aromatherapy? *Eur J Oncol Nurs* 2006;10(2):140-9.
- Wang Y, Beydoun MA. The obesity epidemic in the United States--gender, age, socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: a systematic review and meta-regression analysis. *Epidemiol Rev* 2007;29(1):6-28.
- Jeffery RW, Drewnowski A, Epstein LH, Stunkard AJ, Wilson GT, Wing RR, et al. Long-term maintenance of weight loss: current status. *Health Psychol* 2000;19(1 Suppl):5-16.
- Wadden T, Crerand CE, Brock J. Behavioral treatment of obesity. *Psychiatric Clin North Am* 2005;28(1):151-70, ix.
- Ye MK, Shin SH, Park KP, Lee SH, Cho TH, Lee JE, et al. The effects of essential aroma oils on brain activation: olfactory function-

- al MRI and c-Fos expression. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2003;46(5):401-8.
- 9) Kondoh T, Yamada S, Shioda S, Torii K. Central olfactory pathway in response to olfactory stimulation in rats detected by magnetic resonance imaging. *Chem Senses* 2005;30 Suppl 1:i172-3.
- 10) Ceccarelli I, Lariviere WR, Fiorenzani P, Sacerdote P, Aloisi AM. Effects of long-term exposure of lemon essential oil odor on behavioral, hormonal and neuronal parameters in male and female rats. *Brain Res* 2004;1001(1-2):78-86.
- 11) Ceccarelli I, Masi F, Fiorenzani P, Aloisi AM. Sex differences in the citrus lemon essential oil-induced increase of hippocampal acetylcholine release in rats exposed to a persistent painful stimulation. *Neurosci Lett* 2002;330(1):25-8.
- 12) Asnaashari S, Delazar A, Habibi B, Vasfi R, Nahar L, Hamedeyazdan S, et al. Essential oil from *Citrus aurantifolia* prevents ketotifen-induced weight-gain in mice. *Phytother Res* 2010;24(12):1893-7.
- 13) Hur MH, Kim C, Kim CH, Ahn HC, Ahn HY. The effects of inhalation of essential oils on the body weight, food efficiency rate and serum leptin of growing SD rats. *J Korean Acad Nurs* 2006;36(2):236-43.
- 14) Worwood VA. *The complete book of essential oils and aromatherapy*. 1st ed. London, UK: New world library;1991. p.19-22.
- 15) Daniele R. *Aromatherapy in your diet*. 1st ed. London, UK: Judy Pitkus;1996. p.142-7.
- 16) Yim VW, Ng AK, Tsang HW, Leung AY. A review on the effects of aromatherapy for patients with depressive symptoms. *J Altern Complement Med* 2009;15(2):187-95.
- 17) Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Toyoda T, Sekine T, Honjo S, et al. Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int J Cardiol* 2008;129(2):193-7.
- 18) Lim EJ, Lee KY. Effects of aroma inhalation therapy on pain in patients following a tonsillectomy. *J Korean Acad Fundam Nurs* 2011;18(1):63-70.
- 19) Ellacott KL, Cone RD. The central melanocortin system and the integration of short- and long-term regulators of energy homeostasis. *Recent Prog Horm Res* 2004;59:395-408.
- 20) Abizaïd A, Horvath TL. Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regul Pept* 2008;149(1-3):3-10.
- 21) Shek EW, Scarpace PJ. Resistance to the anorexic and thermogenic effects of centrally administered leptin in obese aged rats. *Regul Pept* 2000;92(1-3):65-71.
- 22) Coppola A, Diano S. Hormonal regulation of the arcuate nucleus melanocortin system. *Front Biosci* 2007;12:3519-30.