

## Acute Oral Toxicity Study of Ethanol Extract of *Curcuma longa* L. in Mice

Soo-Hwan Kim<sup>1</sup> and Hyeong-Seon Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Integrated Biomedical and Life Science, Graduate School, Korea University, 1 JeongReung-Dong, Sungbuk-Gu, Seoul 136-703, Korea

<sup>2</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, Jungwon University, Goesan, Chungbuk 367-700, Korea

Received August 18, 2014 / Revised September 12, 2014 / Accepted October 14, 2014

A yellow-colored pigment is found in turmeric, or *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), a perennial herb distributed mainly throughout tropical and subtropical regions. *C. longa* has potent antiviral, anti-mutagenic, anti-inflammatory, anticancer, and antioxidant properties. However, pharmacological mechanisms of ethanol extract derived from *C. longa* remain poorly understood. The aim of this study was to investigate the potential acute toxicity of *C. longa* (*Curcuma longa* L.) extract in BALB/c mice administered a single oral dose of 0, 20, 200, and 2,000 mg/kg by gavage. After the administration of the agent, signs of toxicity were observed every hour for the first 6 hr and every day for 14 days. No mortality, abnormal clinical signs, or pathological changes were observed compared to a control group, and there were no differences in the body weights of the control and treatment groups. Biological serum activities were not significantly changed in the treatment group compared to the control group. These results indicate that a single oral administration of *C. longa* extract does not exert any toxic effects at a dose of 2,000 mg/kg body weight and that the LD<sub>50</sub> of *C. longa* extract is greater than 2,000 mg/kg body weight. Accordingly, *C. longa* appears to have potential in various functional agents or foods, without toxicity.

**Key words** : Acute toxicity, BALB/c mice, *Curcuma longa* L., LD<sub>50</sub>, single oral

### 서 론

생리활성 물질이란 생체의 기능을 증진 또는 억제 시키는 물질로써, 최근 부작용이 적은 천연물 유래의 효과적인 생리활성 물질에 대한 활성 및 약리학적 연구가 활발히 진행되고 있다[6]. 이러한 천연물 소재의 확보는 국가 경쟁력의 중요한 요인으로 부각되고, 발전적 인식에 따라 다양한 천연물 소재는 전통적인 대체 의약품 범주를 벗어나 각종 의약 소재로서 개발이 진행되고 있다[2]. 최근에는 인체에 대한 안전성 문제가 무엇보다 중요시되고 있어 안전성이 확보되지 않은 천연물 유래의 소재는 아무리 효능이 뛰어나도 그 이용가치를 인정받지 못하고 있다. 이에 OECD의 표준화된 방법을 이용하여 천연물 소재로부터 추출 및 정제된 유효성분의 독성 및 부작용을 정확히 평가하고자 한다[13, 16]. 울금(*Curcuma longa* L., turmeric)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 전통적으로 한약재, 향신료 및 식용으로 사용되어 왔다[10]. 울금의 주요 성분으로는 curcumin이 있고, 이외에 demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, cyclocurcumin, cale-

bin 등이 존재하며, 식물성 sterols 및 정유성분인  $\beta$ -sitosterol, zingiberene, campesterol, stigmasterol, mono- 및 di-enoic acid, tumerone, zingiberone, borneol, eugenol, camphor, curdion,  $\alpha$ -phellandrene, cineol 등이 포함되어 있다[1, 3, 15]. 최근 울금의 다양한 생리활성물질의 약리효과가 알려지면서 많은 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이며, 국내연구로는 curcuminoids의 항산화 작용, 울금 에탄올 추출물의 항산화 활성, 항암성, 항돌연변이성, 항염증 및 항균성 효과 등이 보고되고 있다[2, 4, 7, 10, 14]. 그러나 울금에 대한 생리활성 연구는 이미 많이 이루어져 있는 반면 울금에 대한 독성평가는 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 울금 에탄올 추출물에 대한 단회투여 독성 평가를 실시함으로써 기능성 천연물 소재로서의 안정성을 확보하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물

본 실험에서는 6주령의 수컷 BALB/c계 마우스를 효창 사이언스에서 구입하여 사용하였다. 1주간 동물 실험실에 순화시켜 그 기간 중 일반증상을 관찰하고 이상이 없는 동물만을 선택하여 실험에 사용하였다. 실험기간 중 사육실 환경조건은 실내온도 23±2°C, 상대습도는 50±10%, 조명시간 12시간(오전 8시~오후 8시) 및 조도 200-300 Lux를 유지하였다. 사육실내 공기는 HEPA filter를 통해 정화된 공기가 제공되었으며, 사육동물이 스트레스 없이 편안하게 생활할 수 있도록 소음과 자

#### \*Corresponding author

\*Tel : +82-43-830-8861, Fax : +82-43-830-8679

\*E-mail : biohslee@jwu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

극적인 냄새가 전달되지 않도록 외부와 차폐된 환경이 유지되었다. 모든 실험동물은 플라스틱 케이지에서 2마리씩 사육하였다. 사료는 마우스용 고형사료를, 물은 상수도를 자유롭게 섭취시켰다.

**시험물질의 추출 및 투여 방법**

본 실험에 사용된 시험 물질은 울금 에탄올추출물로 시중에 판매되는 울금 가루를 이용하여 추출하였다[13]. 시험물질을 칭량한 다음 콘오일에 현탁시켜 OECD (Organization for Economic Cooperation agency)의 급성독성시험 허용 한계용량인 2,000 mg/kg을 고용량군으로, 중용량군(200 mg/kg), 저용량군(20 mg/kg)의 시험 물질을 조제하였으며 콘오일만을 투여한 정상군이 있다. 투여는 임상에서의 주요 적용경로인 경구투여로 하였으며, 투여방법은 동물의 경배부피부 고정법으로 고정 후 금속제 경구투여용 존대를 이용하여 위내에 직접주입 하였다. 투여 횟수는 1일 1회, 당일 체중을 기준으로 체중 10 g 당 0.1 ml을 투여액량으로 하여 투여하였다.

**임상증상 관찰 및 체중측정**

식품의약품안전청의 독성시험기준에 따라 투여 당일에는 투여 후 6시간까지 매시간 일반상태의 변화, 중독증상, 운동성, 외관, 자율신경 및 사망 유무를 관찰하였다. 투여 후 14일 동안 1일 1회씩 일반 임상증상을 관찰하고, 2-3일에 1회씩 체중을 측정하였다.

**부검**

실험동물을 희생하기 전날 밤부터 12시간 절식 시킨 후, 에테르를 이용하여 마취시킨 후 개복하여 혈액을 채취하였다. 채혈 후 주요 내부 장기의 병변을 육안으로 관찰하고, 간, 심장, 신장, 폐, 비장, 부신, 고환, 흉선, 뇌 등을 적출하여 무게를 측정하였다.

**혈액 생화학적 검사**

혈액 생화학적 검사는 AST (aspartate amino transferase), ALT (alanine amino transferase), BUN (Blood urea nitrogen), creatinine, glucose, albumin, globulin, total cholesterol, triglyceride 등을 측정하기 위하여 자동혈액생화학분석기(200 FR, TOSIBA, Tokyo, Japan)를 사용하였다.

**통계처리**

실험결과는 SPSS package program (version 22.0)을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며 실험군간의 유의성은 student's t-test에 의하여  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

**결 과**

**체중변화**

경구 투여 후 울금 추출물 고용량군(2,000 mg/kg), 중용량군(200 mg/kg), 저용량군(20 mg/kg)과 정상군 모두 시작 체중에 비하여 체중이 점차 증가하는 경향을 보였으며, 모든 투여군 사이의 유의적인 체중변화는 관찰할 수 없었다(Fig. 1).

**임상증상 및 사망률**

실험기간 동안 모든 실험군의 동물에서 시험 물질의 투여에 기인한 특이할 만한 임상 증상은 관찰되지 않았으며, 폐사 및 반사 동물 또한 관찰되지 않았다. 따라서 마우스에서 본 추출물의 최소 치사량(minimal lethal dose)은 암·수 모두 2,000 mg/kg을 훨씬 상회하는 것으로 나타났다(Table 1).

**혈액생화학적 검사**

혈액생화학적 검사 결과는 울금 추출물 고용량군(2,000 mg/kg), 중용량군(200 mg/kg), 저용량군(20 mg/kg)과 정상군에 암·수 모두 유의성 있는 변화가 관찰되지 않았다(Table 2, 3).

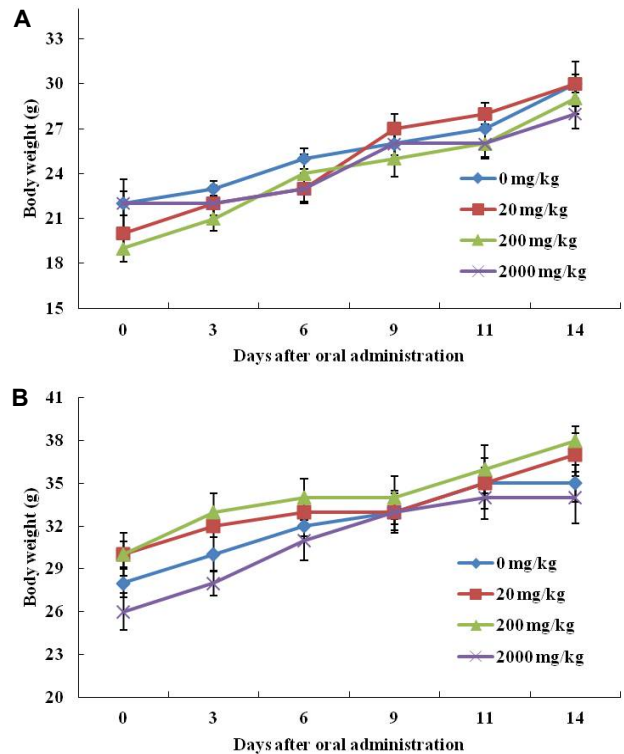


Fig. 1. Changes of body weights in female (A) and male (B) mice after single oral administration of ethanol extract of *C. longa* at dose levels of 0 (◆), 20 (■), 200 (▲), 2,000 (×) mg/kg.

Table 1. Mortality of mice orally treated with ethanol extract of *C. longa* on single dose toxicity test

Sex	Dosage (mg/kg)	Days after oral administration							Final mortality
		0	1	3	6	9	11	14	
Female	0	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	20	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	200	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	2000	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
Male	0	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	20	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	200	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6
	2000	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	0/6

Table 2. Biochemical parameters of the female mice after single oral administration of ethanol extract of *C. longa*

Parameter	Unit	Dosage (mg/kg)			
		0	20	200	2000
AST	U/L	110.8±11.7	105.1±18.1	119.7±9.4	115.1±15.7
ALT	U/L	50.2±8.9	45.1±11.2	56.9±15.4	49.7±10.9
BUN	mg/dL	27.9±3.4	30.2±4.4	32.1±5.8	31.9±8.1
Creatinine	mg/dL	0.54±0.08	0.56±0.26	0.53±0.33	0.51±0.19
Glucose	mg/dL	98.2±10.5	95.9±15.7	100.1±20.2	92.9±23.2
Albumin	g/dL	4.43±0.22	4.55±0.28	4.21±0.28	4.38±0.19
Globulin	mg/dL	1.83±0.25	1.71±0.33	1.78±0.26	1.80±0.21
Total cholesterol	mg/dL	92.5±11.4	91.9±13.1	95.1±10.1	90.9±15.9
Triglyceride	mg/dL	201.5±20.5	198.5±16.7	189.9±23.4	203.1±20.0

AST, aspartate amino transferase; ALT, alanine amino transferase; BUN, Blood urea nitrogen. Values are expressed as mean ± SD of six mice.

Table 3. Biochemical parameters of the male mice after single oral administration of ethanol extract of *C. longa*

Parameter	Unit	Dosage (mg/kg)			
		0	20	200	2000
AST	U/L	97.3±22.3	101.0±19.4	91.9±15.4	89.8±20.7
ALT	U/L	43.7±7.8	39.2±10.5	45.9±5.8	40.9±7.1
BUN	mg/dL	23.3±4.3	25.9±3.5	22.0±3.2	20.1±5.9
Creatinine	mg/dL	0.48±0.07	0.50±0.09	0.47±0.09	0.48±0.02
Glucose	mg/dL	110.2±18.2	108.7±15.9	107.8±20.7	99.4±23.9
Albumin	g/dL	5.20±0.33	5.31±0.28	5.19±0.34	5.28±0.25
Globulin	mg/dL	2.01±0.03	1.99±0.08	1.95±0.10	2.11±0.07
Total cholesterol	mg/dL	103.4±18.9	105.1±23.9	101.1±20.8	100.9±24.3
Triglyceride	mg/dL	229.1±30.4	240.3±38.9	234.1±35.0	228.9±32.8

AST, aspartate amino transferase; ALT, alanine amino transferase; BUN, Blood urea nitrogen. Values are expressed as mean ± SD of six mice.

**육안적 부검소견 및 장기무게 변화**

실험 기간이 종료된 실험동물을 12시간 동안 절식시킨 후 에테르로 마취시켜 희생시켰다. 모든 실험 동물의 주요 장기에 대한 육안적 검사와 장기 무게 변화를 측정하였다. 울금 추출물 투여군과 정상군 무도 내부 장기의 육안적 이상소견이 관찰되지 않았으며, 투여 농도에 따른 장기의 무게 변화도 관찰 되지 않았다(Table 4).

**고 찰**

연구결과 울금 에탄올추출물의 마우스 생체 내에서 나타나는 최소 치사량은 2,000mg/kg이상의 고농도인 것으로 확인되었으며, 그 이하의 농도에서도 생체 내 혈액생화학적, 또는 체내 장기의 특별한 이상소견은 전혀 발견되지 않았다. 본 연구는 후속연구에서 울금 에탄올 추출물의 생리기능활성 확인을 위해 실험동물에 투여되는 투여량에 참고가 될 수 있는 기준을 마련하기 위해서 진행되었으며, 실제로 기존 연구들의

Table 4. Organ weight of mice after oral administration of ethanol extract of *C. longa*

Sex	Dosage (mg/kg)	Organ weight (g)					
		Heart	Liver	Kidney	Lung	Spleen	Stomach
Female	0	0.102±0.013	0.899±0.094	0.287±0.032	0.148±0.020	0.072±0.020	0.167±0.036
	20	0.108±0.010	0.902±0.103	0.301±0.028	0.137±0.033	0.070±0.015	0.159±0.040
	200	0.099±0.015	0.911±0.087	0.297±0.033	0.150±0.038	0.078±0.018	0.160±0.032
	2000	0.101±0.18	0.900±0.110	0.285±0.022	0.141±0.029	0.075±0.022	0.161±0.028
male	0	0.132±0.024	0.950±0.105	0.320±0.019	0.161±0.012	0.092±0.012	0.190±0.024
	20	0.128±0.031	0.932±0.124	0.339±0.017	0.173±0.018	0.088±0.008	0.186±0.032
	200	0.138±0.028	0.953±0.118	0.328±0.020	0.168±0.020	0.095±0.021	0.195±0.022
	2000	0.125±0.030	0.921±0.121	0.331±0.015	0.170±0.015	0.091±0.018	0.191±0.037

Values are expressed as mean ± SD of six mice.

내용을 확인해보면, 주로 유기용매를 이용한 울금추출물의 독성평가가 세포주를 이용한 세포독성평가가 대부분이다[8, 9]. 그리고 동물모델을 이용한 울금 독성평가 연구를 보게 되면, 에탄올과 같은 유기용매를 이용한 추출물이 아니라 울금분말이나, 열수추출을 통해 추출한 추출물을 이용하여 생체 내 변화를 측정하는 것이 대부분이다[10, 11]. 에탄올 추출물을 이용하여 간 보호 효과를 확인한 연구에서도 비교적 저농도의 에탄올 추출물을 투여하여 연구가 진행되었으며, 연구결과를 확인해보면 농도의존적으로 간 보호효과가 증가하는 것을 보아 체내 독성이 나타나지 않는 범위 내에서 투여량을 더 높였다면 더 큰 간 보호 효과를 확인할 수 있었을 것이다[12]. 따라서 본 연구에서는 실제로 생체 내에서 나타날 수 있는 여러 가지 위해요소 또는 독성을 확인하고, 마우스를 사용하여 농도 별 울금 에탄올추출물의 투여농도에 따른 생체 치사율, 장기독성 등을 평가하였다. 본 연구결과를 토대로 울금의 에탄올 추출물을 이용한 다양한 동물실험모델에 생체 투여량 및 투여방법에 대한 참고가 되리라 생각되며, 울금 에탄올 추출물을 이용한 생리활성평가 연구가 동반 될 수 있을 것으로 기대된다.

## References

- Andrew, M. A. and Matthew, S. M. 2000. Isolation of curcuma from turmeric. *J Chem Educ* **77**, 359-362.
- Choi, H. Y. 2009. Antimicrobial activity of UIGeum (*Curcuma longa* L.) extract and its microbiological and sensory characteristic effects in processed foods. *Korean J Food Cook Sci* **25**, 350-356.
- Geoffrey, N. R., Amitabh, C. and Muraleedharan, G. N. 1998. Nobel bioactivities of *Curcuma longa* constituents. *J Nat Prod* **61**, 542-545.
- Gupta, S. K., Agarwal, R., Srivastava, S., Agarwal, P., Agarwal, S. S., Saxena, R. and Galpalli, N. 2008. The anti-inflammatory effects of *Curcuma longa* and *Berberis aristata* in endotoxin-induced uveitis in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **49**, 4036-4040.
- Han, M. H., Kim, J. W., Kim, K. Y., Kim, S. G., Yu, G. J., Cho, Y. B., Hwang, H. J., Kim, B. W., Kim, C. M. and Choi, Y. H. 2014. Single dose oral toxicity of Schisandrae semen essential oil in ICR mice. *J Life Sci* **24**, 191-195.
- Kang, E. H., Lee, I. K., Hwang, M. H., Choi, J. Y., Chang, Z. Q., Rhee, M. H., Yun, B. S., Jiang, C. Z., Kim, K. S., Rhee, M. H. and Park, S. C. 2007. Anti-obesity activity, anti-cancer activity and single oral dose toxicity of *Inonotus xeranticus* extracts. *Toxicol Res* **23**, 253-261.
- Kang, W. S., Kim, S. H., Park, E. J. and Yoon, K. R. 1998. Antioxidative property of turmeric (*Curcuma Rhizoma*) ethanol extract. *Korean J Food Sci Technol* **30**, 266-271.
- Kim, D. H. L., Park, S. Y. and Kim, J. Y. 2001. Curcuminoids from *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) that protect PC12 rat pheochromocytoma and normal human umbilical vein endothelial cells from bA (1-42) insult. *Neurosci Lett* **202**, 57-61.
- Kim, D. H. L. and Park, S. Y. 2002. Discovery of Natural Products from *Curcuma longa* that Protect Cells from Beta-Amyloid Insult: A Drug Discovery Effort against Alzheimer's Disease. *J Nat Prod* **65**, 1227-1231.
- Kim, M. S., Chun, S. S. and Choi, J. H. 2013. Effects of turmeric (*Curcuma longa* L.) on antioxidative systems and oxidative damage in rats fed a high fat and cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **42**, 570-576.
- Kim, Y. J., You, Y. H. and Jun, W. J. 2012. Hepatoprotective Activity of Fermented *Curcuma longa* L. on Galactosamine-Intoxicated Rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **41**, 790-795.
- Lee, H. S., Li, L., Kim, H. K., Bilehal, D., Li, W., Lee, D. S. and Kim, Y. H. 2010. The protective effects of *Curcuma longa* Linn. Extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats via upregulation of Nrf2. *J Microbiol Biotechnol* **20**, 1331-1338.
- OECD. 2007. OECD guideline for testing of chemicals. Acute oral toxicity-fixed dose procedure. OECD/OECD.
- Rivera-Espinoza, Y. and Muriel, P. 2009. Pharmacological action of curcumin in liver disease or damage. *Liver Int* **29**, 1457-1466.
- Ryn, G. Y., No, K. H., Ryu, S. R. and Yang, H. S. 2005. Study of separation and analysis method an effective component from UIGeum (*Curcuma longa*) and a contained curcumin as product of national and partial region cultures.

*Appl Chem* 9, 57-60.

16. Stein, U., Greyer, H. and Hentschl, H. 2001. Nutmeg (myristicin) poisoning report on a fetal case and a series

of cases recorded by a poison information centre. *Forensic Sci Int* 118, 87-90.

---

### 초록 : 마우스에서 울금 에탄올 추출물의 단회 경구투여 독성에 관한 연구

김수환<sup>1</sup> · 이형선<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>고려대학교 일반대학원 의생명융합과학과, <sup>2</sup>중원대학교 의료보건대학 임상병리학과)

울금(*Curcuma longa* L., turmeric)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 전통적으로 한약재, 향신료 및 식용으로 사용되어 왔다. 강력한 항산화 작용, 울금 에탄올 추출물의 항산화 활성, 항돌연변이성, 항염증, 항암성 및 항균성 효과 등이 보고되고 있다. 그러나 울금에 대한 생리활성 연구는 이미 많이 이루어져 있는 반면 울금에 대한 독성평가는 이루어지지 않았다. 본 연구는 울금 에탄올 추출물에 대한 안정성을 확보하기 위하여 단회경구투여 독성시험을 BALB/c 마우스를 이용하여 실시하였다. 울금 에탄올 추출물은 0, 20, 200, 2,000 mg/kg 농도로 경구 투여하였으며, 14일간 관찰 후 희생시켰다. 울금 에탄올 추출물 투여 후 운동성, 비정상적 임상증상, 부검 소견상, 체중의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 혈액 생화학적 측정과 다양한 장기의 무게에서도 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다. 이들 결과로 미루어볼 때 울금 에탄올 추출물의 단회 투여에 따른 치사량은 2,000 mg/kg 이상을 상회할 것으로 추정되며 급성독성에 어떠한 유해성이 없다는 것을 의미한다.