

여주(*Momordica charantia*) 추출물이 생쥐의 지구력 운동수행능력 향상 효과에 미치는 영향

김인보^{*,**} · 박춘호^{**} · 정희윤^{***} · 정주성^{*} · 홍환웅^{****} · †김종배^{*,**}

^{*}한동대학교 생명과학부, ^{**}(주)미슬바이오텍, ^{***}(주)노브메타파마, ^{****}우진비앤지(주)

Bitter Melon (*Momordica charantia*) Extract Enhances Exercise Capacity in Mouse Model

Inbo Kim^{*,**}, Choon-Ho Park^{**}, Hoe-Yune Jung^{***}, Juseong Jeong^{*},
Hwan-Ung Hong^{****} and †Jong Bae Kim^{*,**}

^{*}School of Life Science, Handong Global University, Pohang 37554, Korea

^{**}Mistle Biotech Co., Ltd., Pohang 37668, Korea

^{***}R&D Center, NovMetaPharma Co., Ltd., Pohang 37668, Korea

^{****}Woogene B&G Co., Ltd., Seoul 07299, Korea

Abstract

Bitter melon (*Momordica charantia*) is used in traditional herbal medicine in many Asian countries for the treatment of several diseases such as diabetes, eczema, night blindness, psoriasis, and rheumatism. Especially, most reports concerning the biological activities of bitter melon have focused on its effects on diabetes and hyperglycemia. Also, bitter melon is regarded as a longevity food, suggesting that it has several beneficial effects on anti-aging and the maintenance of a healthy state. Thus, we investigated whether bitter melon could increase the capacity of exercise in this study. Interestingly, bitter melon fruit extract activated AMP-activated protein kinase (AMPK), which is important for regulating glucose homeostasis, mitochondrial content and exercise capacity. In addition, bitter melon extract increased the expression of enzymes involved in fatty acid oxidation such as mitochondrial uncoupling protein 3 (UCP3), carnitine palmitoyl transferase 1b (CPT1b), and pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 4 (PDK4). Moreover, exercise tolerance was much more enhanced in bitter melon treated animals compared to the non-treated control group. These results suggest that bitter melon is a promising candidate for the development of functional foods beneficial for physical strength and the enhancement of exercise capacity.

Key words: bitter melon, exercise capacity, AMPK, fatty acid oxidation, functional food

서 론

여주(Bitter Melon)는 박과의 덩굴식물로, 오래 전부터 단순한 과일이 아닌 약재로서 활용되어 왔다(Beloin 등 2005). 중국이나 인도 등 아시아에서는 전통의학에서 여주는 주요한 약재로 사용되었으며 남아메리카, 카리브해, 동아프리카

지역에서도 당뇨 치유의 목적으로 사용되어 왔다(Grover & Yadov 2004; Abascal & Yarnell 2005; Lans CA 2006; Cefalu 등 2008). 중국에서는 정장 등의 목적으로 여주의 열매나 씨를 민간약으로 이용하고 있고, 미국과 한국에서 혈당 강하를 위한 차와 음료 등이 판매되고 있다(Lee 등 2012).

여주는 과일 중 가장 많은 비타민 C를 함유하고 있는 것으

† Corresponding author: Jong Bae Kim, School of Life Science, Handong Global University, Pohang 37554, Korea. Tel: +82-54-223-2533, Fax: +82-54-261-6705, E-mail: i1948@naver.com

로 알려져 있으며 당분의 연소를 촉진하고 췌장 기능을 활성화시켜 식물 인슐린으로 불리고 있다(Chen 등 2003). 지용성 물질인 charantin은 췌장의 β 세포에 작용하여 인슐린의 분비를 촉진함으로써 혈당을 낮추는 역할을 하며(Parkash 등 2002; Rathi 등 2002; Schmourlo 등 2005; Nerurkar 등 2008), β -carotene 등의 항산화 성분이 많이 함유되어 있어(Kubola & Siriamorpun 2008; Lee 등 2012; Divya 등 2013), 당뇨병의 합병증인 망막증이나 심근경색, 뇌졸중과 같은 혈관 질환에 대한 예방 효과도 기대할 수 있다. 특히 미성숙 여주 열매에는 비타민 C 및 A가 풍부하며 철, 인의 주요한 공급원이 된다(Grover & Yadov 2004). 여주 열매는 항암과 항콜레스테롤 효과를 가지고 있으며(Ali 등 1993; Srivastava 등 1993), 옌은 항바이러스, 항박테리아 효과가 보고되었다(Zhang 등 2003; Cheng 등 2004; Hu 등 2004). 최근 세포 주기 조절 유전자의 조절과 세포자멸사(apoptosis)를 촉진하여 유방암 세포의 증식을 저해한다는 연구결과도 발표되었다(Ray 등 2010).

근력이란 근육이나 근조직이 발휘할 수 있는 최대의 힘이며 운동수행능력은 이러한 근력을 이용하여 운동을 수행할 수 있는 능력을 말한다. 운동을 통해 신체의 건강을 유지할 수 있는데 이 때 각자의 운동수행능력에 따라 운동의 결과는 다르다. 선천적으로 신체에 장애가 있거나 병원에 장기간 누워있는 등의 후천적인 이유로 근육이 소실되었을 경우에 근력이 감소하며 운동수행능력 역시 줄어들게 된다. 이를 해결할 수 있는 운동대체효과(exercise mimetic effect)를 가지는 물질에 대한 연구가 다양하게 수행되고 있다. 포도껍질에서 추출한 resveratrol이 운동수행능력을 현저히 증가시킨다는 사실이 보고된 후(Baur 등 2006; Lagouge 등 2006; Park 등 2007), 운동대체물질에 대한 연구가 가속화 되었다. Narkar 등(2008)은 4주간 운동훈련과 병행하여 peroxisome proliferator-activated receptor δ (PPAR δ) agonist인 GW1516을 경구투여 시 70%의 운동수행 거리의 증가를 보임을 발표하였고, 같은 기간 동안 AMP-activated protein kinase(AMPK) agonist인 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide(AICAR)를 복강주사 시 운동훈련 없이도 운동수행 거리를 44% 증가시킨다는 보고를 하여 운동대체물질의 제약화로의 가능성을 열었다. Jung 등(2012)은 한국산 겨우살이 추출물이 근육세포에서 미토콘드리아 활성을 증가시키며 마우스 모델의 트레이드밀 실험 시 150%의 운동수행 거리의 증가를 보고하였다. 현재 대한민국 식품의약품안전처가 운동수행 능력 향상에 도움을 줄 수 있는 물질로 개별 인정한 원료는 크레아틴, 헛개나무과병 추출분말, 마카 젤라틴화 분말, 동충하초 발효추출물 뿐이다. 따라서 운동수행능력을 증진할 수 있는 새로운 소재의 필요성이 대두된다.

본 연구에서는 기존에 알려져 있는 여주의 항당뇨 효과를 기반으로 운동수행능력 역시 동일한 AMPK pathway를 포함

을 *in vitro* test를 통해 밝히고 이와 관련한 지방산 산화 관련 유전자들을 확인하고자 하였다. 또한 rota-rod, grip strength, treadmill 등의 행동약리 실험을 수행함으로써 동물모델에서의 운동수행능력의 증가를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 세포주 및 세포 배양 조건

본 실험에 사용한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), horse serum, penicillin-streptomycin 용액은 각각 HyClone(UT, USA) 사에서 구매하였다. 실험에 사용된 C2C12 세포주(ATCC, CRL-1772)는 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin 용액이 포함된 DMEM 배지에서 80~90%의 confluence까지 배양한 후 분화를 위하여 2% horse serum과 1% penicillin-streptomycin 용액이 포함된 DMEM 배지로 바꾸어 배양하였다. 37°C, 5% CO₂의 항온항습 세포배양기(Sanyo, Japan)에서 세포를 배양하였다.

2. 여주 추출물 제조 조건

본 연구에 사용한 여주는 충남 금산군에서 채취하여 건조한 여주(*Momordica charantia*) 열매를 갑당약초(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 건조된 여주 열매 20 g을 분쇄한 후 10배 부피(w/v)의 phosphate buffered saline (PBS)를 첨가하여 4°C에서 16시간 교반하였다. 원심분리(10,000 × g, 20 min, 4°C)를 실시하여 얻은 상등액을 0.22 μ m 여과지(Whatman, US)에 통과시킨 후, 72시간 동안 PBS에서 격렬하게 투석하였다. 투석한 시료를 동결건조기(Freeze dryer, Ilshin, Korea)를 이용하여 -50°C에서 48시간 동안 동결 건조한 후 PBS로 용해시켜 저장 용액(10 mg/mL)을 제조하였고, 실험에 사용할 때까지 -20°C에 보관하였다.

3. Immunoblot analysis

여주 추출물 투여에 따른 마우스 근아 세포에서의 활성을 조사하기 위하여 AMPK의 인산화를 immunoblot을 통해 확인하였다. Keppler 등(1996)의 방법을 수정하여 실험하였고 이를 간략히 소개하면 다음과 같다. 5×10^4 cells/well의 C2C12 세포를 6 well plate (Nunc, USA)에서 80~90%의 confluency까지 성장배지에서 배양한 후 분화 배지로 바꾸어 실험에 사용하였다(Yoon 등 2012; Kim 등 2013). 여주 추출물 50 μ g/mL를 각 well에 처리 후 시간 별로 lysis buffer를 이용하여 세포를 회수하였고 각 세포 용해물은 원심 분리하여 상등액만 취한 후 BCA 키트(Thermo Fisher Scientific, MA, USA)를 통해 단백질 정량을 실시하였다. 정량한 시료를 각각 20 μ g/well씩 gel에 loading하고 145 V의 전압으로 1시간 20분간 SDS-PAGE를

실시하였고 그 gel을 이용하여 200 mA에서 2시간 동안 transfer 하였다. 5% skim milk(Wako, USA)으로 4°C에서 밤새 blocking 하였다. Cell Signaling Technology(MA, USA)에서 구입한 phospho-AMPK α (Thr172) 항체를 각 1:1,000의 농도로 희석하여 상온에서 2시간 반응 후 goat anti-mouse IgG HRP conjugate 항체(Cell Signaling Technology, MA, USA)를 1:5,000의 농도로 희석하여 1시간 반응하였다. Enhanced chemiluminescent(ECL) 용액(Thermo Fisher Scientific, MA, USA)을 이용하여 X-ray film에 노출한 후 TM-300E 현상기(Taeahn machinery, Incheon, Korea)로 현상하였다.

4. Real-time PCR analysis

여주 추출물의 마우스 근아 세포에 대한 세포 내 활성은 mitochondrial uncoupling protein 3(UCP3), carnitine palmitoyl transferase 1b(CPT1b), pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 4(PDK4)를 각각 확인하였다. Narkar 등(2008)의 방법을 수정하여 실험하였고 이를 간략히 소개하면 다음과 같다. 5×10^4 cells/well의 C2C12 세포를 6 well plate에서 80~90%의 confluency까지 성장배지에서 배양한 후 분화 배지로 바꾸어 실험에 사용하였다. 여주 추출물 10 μ g/mL를 각 well에 처리 후 6시간 동안 배양하여 RNA extraction 키트(iNtRON Biotechnology, Korea)의 매뉴얼대로 RNA를 추출하였다. 각각의 시료를 정량한 후 M-MLV Reverse Transcriptase(Invitrogen, MA, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하여 AB 7500 Real-time PCR System (Applied Biosystems, MA, USA)를 이용하여 real-time PCR을 2회 반복 실시하였다. 목적으로 한 유전자의 primer sequence는 다음과 같다. UCP3는 forward: 5'-GGGAAGCTGGAGAGAGAG GAAA-3', reverse: 5'-CCCTGGCGATGGTTCTGT-3', CPT1b는 forward: 5'-CCAGATGGAGAGGATGTTGAACA-3', reverse: 5'-AGAAGCGACCTTTGTGGTAGACA-3', PDK4는 forward: 5'-TTTCTCGTCTCTACGCCAAG-3', reverse: 5'-GATACACCAG TCATCAGCTTCG-3', β -actin은 forward: 5'-CCATCCTGCGTC TGGACTTG-3', reverse: 5'-TTCCCTCTCAGCTGTGGTGG-3'. 분석을 위한 항존 유전자로 β -actin을 사용하였다.

5. 행동약리 동물실험

본 연구에 사용한 6주령의 ICR 수컷 마우스는 코아텍(Korea)에서 구입하였으며, 일주일 간의 순화과정을 거친 후 사용되었다. 실험동물은 5마리씩 난괴법(randomized block design)에 여주추출물 100 mg/kg/day 투여군과 동일한 양의 PBS를 투여하는 음성대조군으로 나누어 5주간 매일 경구로 시료를 투여하였다. 동물실험실의 사육환경은 온도(22~24°C), 습도(40~60%), 12시간 간격의 dark-light cycle로 일정한 조건을 유지하였으며 무균 음수와 실험동물사료(Harlan Laboratories, USA)가 자

유롭게 공급되는 환경에서 사육하였다. Panlab Harvard Apparatus (Spain) 사의 accelerating rota-rod를 이용하여 실험동물이 막대 위에서 버티는 시간을 측정하였으며 회전 막대는 4에서 40 rpm으로 5분간 천천히 증가하도록 설정하였다. 실험의 결과는 각 실험동물 별로 4번씩 실험을 하여 떨어지기까지의 시간을 기록하였다. BIO-GS3 grip strength meter(Bioseb, France)는 마우스 앞발의 근육이 당기는 힘을 측정하기 위하여 사용되었다. 실험동물의 직접 운동수행 시간 및 거리를 측정하기 위하여 LE872 5-lane treadmill(Panlab Harvard Apparatus, Spain) 장비를 이용하였다. 실험 전날 달리기에 적응하기 위해 10분간 운동을 수행한 뒤 실험 당일 운동을 수행하여 포기할 때까지의 거리와 시간을 기록하였다(동물실험 윤리위원회 POCEB-033).

6. 통계분석

본 연구에서 얻어진 실험 결과의 통계분석은 unpaired student *t* test를 이용하여 대조군에 대한 통계학적 유의차를 통해 분석하였다. *p* 값이 < 0.05인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. AMPK 활성화에 미치는 영향

AMPK는 체내에서 일어나는 대부분의 대사와 관련이 있으며 대사활동의 중요한 조절자이다(Hardie DG 2007). 포유동물에서 AMPK는 혈당의 항상성 유지와 식욕에 관여하며

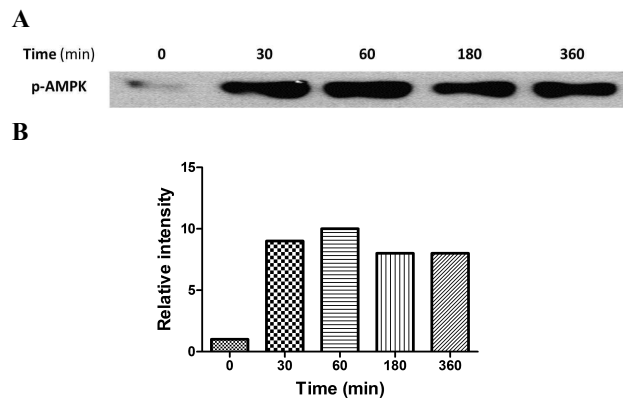


Fig. 1. Activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) by bitter melon extract. Immunoblot for phospho-AMPK α (Thr 172) in C2C12 myocytes. 5×10^4 C2C12 cells/well were plated until 90% confluency and differentiated for 3 days. Cells incubated with vehicle or 50 μ g/mL bitter melon extract for the indicated times. Phospho-AMPK α antibody and goat anti-mouse IgG HRP conjugate antibody was used for immunoblotting.

운동에 의한 생리적 변화와 밀접한 관련을 가진다. 이를 통해 AMPK의 활성화는 운동수행능력과 직접적인 관련을 가진다고 볼 수 있다(Mu 등 2001; Andersson 등 2004; Minokoshi 등 2004; Hardie DG 2007; Kubota 등 2007; Thomson 등 2007). 여주 추출물이 운동수행능력에 영향을 주는지 확인하기 위해 분화시킨 C2C12 세포에서의 AMPK 활성을 확인하였다. 여주 추출물을 50 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 PBS만 처리한 음성대조군에 비해 AMPK의 활성이 증가함을 확인하였다(Fig. 1). 이는 기존에 운동력 증진 효과가 있는 것으로 알려진 겨우살이나 resveratrol과 같은 경향을 보인다(Baur 등 2006; Jung 등 2012). Narkar 등(2008)은 마우스 모델에서 합성물질 AICAR와 GW1516가 AMPK의 활성화에 따라 세포핵 내에서 PGC-1 α 를 활성화시켜 운동력을 증가시키는 효과가 있다고 밝혔다. 따라서 AMPK를 활성화시킬 수 있는 agonist는 운동력을 증진시키는 요인이 될 가능성이 있다. 이를 통해 여주 추출물이 AMPK를 활성화하여 운동력 증진효과를 가져 올 수 있는 후보물질로 추정이 가능하였다.

2. 여주 추출물의 지방산 산화 관련 유전자 발현에 미치는 영향

근육세포에서 지방산은 글리세롤과 재합성되어 근육 내부에 중성지방의 형태로 다시 저장되거나 근육 내의 단백질과 합성되어 미토콘드리아가 에너지 생성을 하는데 사용된다. 이 과정의 경우 미토콘드리아에서 지방산은 β -oxidation 과정을 거쳐 에너지 생성을 위해 연소되는데 이와 관련되는 uncoupling protein 3(UCP3) 유전자는 근육세포의 미토콘드리아에서 내연기관과 같은 기능을 하는 것으로 알려진 지방산 산화를 유도하고, carnitine palmitoyl transferase 1b(CPT1b)의 경우, 앞서 확인한 AMPK의 활성화에 의해 acetyl-CoA carboxylase(ACC)가 불활성화되어 malonyl CoA의 농도가 감소됨으로 CPT1b의 억제 효과가 감소되며, pyruvate dehydrogenase lipoamide kinase isozyme 4(PDK4)는 미토콘드리아에 위치하여 pyruvate의 acetyl-CoA로의 변화를 감소시켜 당 대사를 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 해당 유전자들의 변화를 관찰하였다. C2C12 세포에 여주 추출물을 10 µg/mL의 농도로 처리하여 6시간 후 지방산 산화 관련 유전자인 UCP3와 CPT1b 그리고 PDK4의 변화를 확인한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 여주 추출물 처리에 따른 유전자 발현량은 대조군에 비해 각각 UCP3가 2.2배, CPT1b가 1.5배, PDK4가 1.9배 증가하였다. 이 결과는 운동력 증진 효과를 나타내는 겨우살이 추출물(Jung 등 2012)이나 포도껍질의 resveratrol(Baur 등 2006) 그리고 약물 AICAR나 GW1516(Narkar 등 2008)과도 유사한 경향을 보이고 있다. 이 결과를 통해 여주 추출물이 지방산 산화에도 영향을 미쳐 미토콘드리아가 에너지

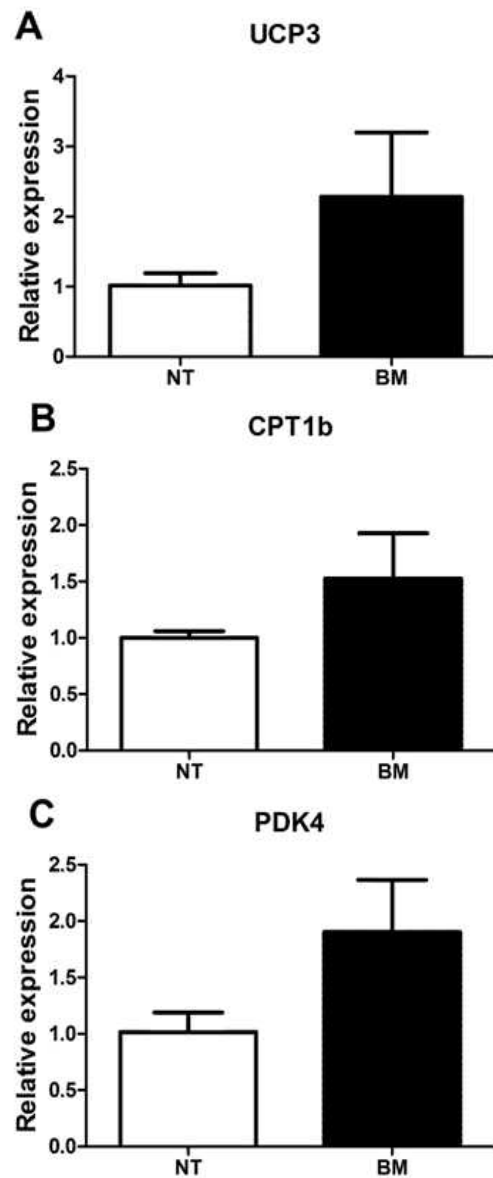


Fig. 2. Up-regulation of genes involved in relative gene expression levels of UCP3(A), CPT1b(B), and PDK4(C) against β -actin in C2C12 cells. 5×10^4 C2C12 cells/well were plated until 90% confluency and differentiated for 3 days. Cells incubated with 10 µg/mL bitter melon extract (BM) or vehicle (NT) for 6 hours. mRNA levels were measured using real-time quantitative PCR. Data are represented as mean \pm SD of two experiments. NT: none-treated, BM: bitter melon treated.

를 생산함에 있어서 도움을 주는 것으로 사료된다.

3. 여주 추출물의 운동력 증진 효과

여주 추출물의 운동력 수행 능력 증진 효과를 확인하기 위

하여 실험동물을 이용하여 직접적인 운동 수행 실험을 실시하였다(Fig. 3). 100 mg/kg/day 농도의 여주 추출물 혹은 PBS를 각각 5주간 먹인 후 rota-rod를 이용한 실험하였다. 그 결과 PBS를 투여한 대조군에 비해 여주 추출물을 투여한 실험군이 회전 막대 위에서 23% 오래 버티는 결과를 확인하였다(Fig. 3A). 또한, 직접적인 근육의 힘을 측정하는 grip strength test에서는 대조군에 비해 7%의 악력 증가를 확인하였다(Fig. 3B). 100 mg/kg/day의 여주추출물을 급여한 실험군과 PBS를 급여한 대조군을 각각 treadmill을 이용하여 지칠 때까지 운동수행 시간과 거리를 측정하였다. 그 결과, 여주추출물을 급여한 실험군이 대조군에 비하여 유의하게 증가함을 확인하였다. 대조군과 비교 시 운동시간이 56% 증가하였고 운동거리는 66% 증가하였다(Fig. 3C & 3D). 기존에 알려진 GW1516은 단독 투여 시 운동수행능력에 큰 차이가 보이지 않았고 운동 훈련과 병행하여야만 70%의 운동거리 증가를 기록하였다(Narkar 등 2008). AICAR는 운동 훈련 없이 단독으로 44%의 운동거리 증가를 유도하지만 경구투여가 아닌 복강에 직접 주사하

였다. 이에 따라 운동 훈련 없이 경구 투여만으로 운동수행능력이 증가함으로써 여주가 운동력을 증진시키는 후보물질로서의 충분한 자격을 갖추고 있음을 알 수 있었다.

요약 및 결론

여주는 다양한 효능을 가진 약용 식물로 알려져 있으며 재배가 용이하고 원료의 공급이 원활하여 식재료로도 활용가능하다는 점에서 유용하다. 이에 많은 사람들이 여주를 이용한 여러 연구를 수행하였으나 대부분 항당뇨 효능에 대한 것이었고 본 연구에서 보고한 체력증진 효과에 관한 보고는 거의 없었다. 이에 본 연구에서는 여주가 체력증진에 미치는 효과를 알아보기 위한 실험들을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 건조한 여주를 물로 추출하여 마우스 근육세포에 투여하였을 때 전신 대사의 열쇠가 되는 요소인 AMPK의 활성화를 확인할 수 있었고 이를 뒷받침하는 지방산 산화와 관련한 유전자들의 증가를 real-time PCR로 확인하였다. ICR 마우

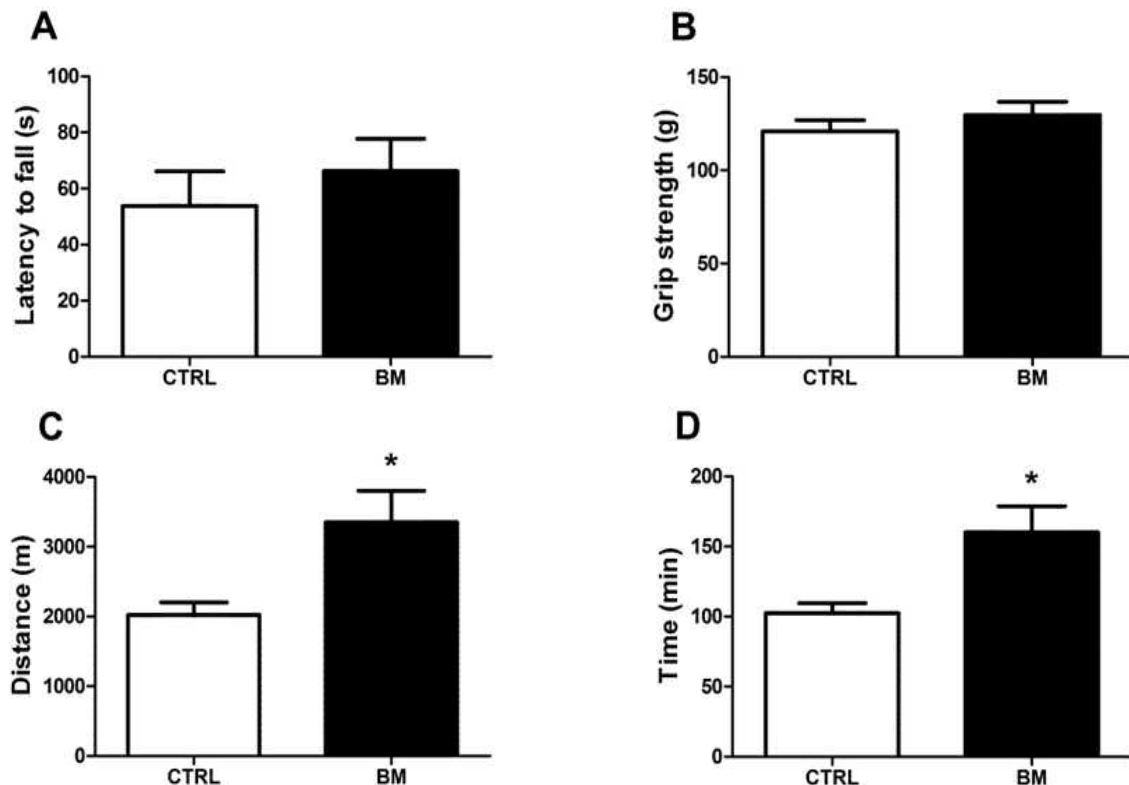


Fig. 3. Effect of bitter melon extract on treadmill exercise tolerance test. After acclimatization, 100 mg/kg/day bitter melon extract or PBS (negative control) was orally treated to ICR mice daily for 5 weeks. Control (CTRL) and bitter melon treated (BM) mice were measured latency time to fall (A) and grip strength of forelimb (B). Two groups were run on a treadmill with a 10% slope and increasing speed to exhaustion. Maximum distance and time were monitored (C) Running distance; (D) Running time. Data are represented as mean \pm S.D. An unpaired student *t*-test was used for the comparison between treatment or control group. **p*<0.05 versus control (n=5).

스 실험모델에 5주간 경구로 투여하였을 때 rota-rod 상의 균형감각과 버티는 능력이 향상되었으며 앞다리의 grip strength 역시 증가함을 확인하였다. 직접적인 운동 수행 능력을 확인하기 위한 treadmill test에서는 대조군에 비해 66% 이상 운동 거리가 증가되었다. 이상의 결과들을 통해 여주 추출물의 운동수행 능력을 증가시키는 제품으로 활용 가능성을 확인할 수 있었다. 향후 여주 추출물의 항당뇨 외의 다양한 효능에 대한 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청의 기술혁신개발사업의 일환으로 수행하였음[SA114125, 국내산 자생식물을 이용한 체력증진용 기능성 제품 개발 및 산업화, 한국산 겨우살이를 이용한 기능성 음료 개발].

References

- Abascal K, Yarnell E. 2005. Using bitter melon to treat diabetes. *J Altern Complement Med* 11:179-184
- Ali L, Khan AKA, Mamun MIR, Mosihuzzaman M, Nahar N, Alam MN, Rokeya B. 1993. Studies on hypoglycemic effects of fruit pulp, seed, and whole plant of *Momordica charantia* on normal and diabetic model rats. *Planta Med* 59:408-412
- Andersson U, Filipsson K, Abbott CR, Woods A, Smith K, Bloom SR, Carling D, Small CJ. 2004. AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *J Biol Chem* 279:12005-12008
- Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 444: 337-342
- Beloin N, Gbeassor M, Akpagana K, Hudson J, De Souza K, Koumaglo K, Arnason JT. 2005. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *J Ethnopharmacol* 96:49-55
- Cefalu WT, Ye J, Wang ZQ. 2008. Efficacy of dietary supplementation with botanicals on carbohydrate metabolism in humans. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 8:78-81
- Chen Q, Chan LLY, Li ETS. 2003. Bitter melon (*Momordica charantia*) reduces adiposity, lowers serum insulin and normalizes glucose tolerance in rats fed a high fat diet. *J Nutr* 133:1088-1093
- Cheng LY, Tang L, Yan F, Wang S, Chen F. 2004 The effects of the total saponin extract from the shoots of *Momordica charantia* L. on anti-virus HSV-II activity. *J Sichuan Univ (Nat Sci Ed)* 41:641-643
- Kepler D, Sameni M, Moin K, Sloane BF, Mikkelsen T, Diglio CA. 1996. Tumor progression and angiogenesis: cathepsin B & Co. *Biochem Cell Biol* 74:799-810
- Divya D, Hettiarachchy NS, Ganesh V, Kanna A, Rayaprolu S. 2013. Phenolic extracts from leaves of bitter melon (*Momordica charantia*) with antioxidant properties. *JASA* 2:28-34
- Grover JK, Yadav SP. 2004. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *J Ethnopharmacol* 93:123-132
- Hardie DG. 2007. AMP-activated/SNF1 protein kinases: Conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 774-785
- Hu QS, Yang YC, Xia H. 2004. Studies on inhibiting-bacteria of nature substance extracted from leaves and rattan of *Momordica charantia* Linn. *Jiangxi Chemical Industry* 2:017
- Jung HY, Lee AN, Song TJ, An HS, Kim YH, Kim KD, Kim IB, Kim KS, Han BS, Kim CH, Kim KS, Kim JB. 2012. Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract improves endurance capacity in mice by stimulating mitochondrial activity. *J Med Food* 15:621-628
- Kim SM, Lee YM, Kim mj, Nam SY, Kim SH, Jang HH. 2013. Effects of *Agrimonia pilosa* Ledeb. water extract on α -glucosidase inhibition and glucose uptake in C2C12 skeletal muscle cells. *Korean J Food and Nutr* 26:806-813
- Kubola J, Siriamorpun S. 2008. Phenolic contents and antioxidant activities of bitter ground (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chem* 110: 881-890
- Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T. 2007. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab*

6:55-68

- Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, Messadeq N, Milne J, Lambert P, Elliott P, Geny B, Laakso M, Puigserver P, Auwerx J. 2006. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell* 127: 1109-1122
- Lans CA. 2006. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *J Ethnobiol Ethnomed* 2:45
- Lee HJ, Moon JH, Lee WM, Lee SG, Kim AK, Woo YH, Park DK. 2012. Charantin contents and fruit characteristics of bitter melon (*Momordica charantia* L.) accessions. *J Bio-Environ Control* 21:379-384
- Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, Mu J, Fofelle F, Ferré P, Birnbaum MJ, Stuck BJ, Kahn BB. 2004. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature* 428:569-574
- Mu J, Brozinick JT Jr., Valladares O, Bucan M, Birnbaum MJ. 2001. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. *Mol Cell* 7:1085-1094
- Narkar VA, Downes M, Yu RT, Emblar E, Wang YX, Banayo E, Mihaylova MM, Nelson MC, Zou Y, Juguilon H, Kang H, Shaw RJ, Evans RM. 2008. AMPK and PPAR δ agonists are exercise mimetics. *Cell* 134:405-415
- Nerurkar PV, Lee YK, Motosue M, Adeli K, Nerurkar VR. 2008. *Momordica charantia* (bitter melon) reduces plasma apolipoprotein B-100 and increases hepatic insulin receptor substrate and phosphoinositide-3 kinase interactions. *Br J Nutr* 100: 751-759
- Park CE, Kim MJ, Lee JH, Min BI, Bae H, Choe W, Kim SS, Ha J. 2007. Resveratrol stimulates glucose transport in C2C12 myotubes by activating AMP-activated protein kinase. *Exp Mol Med* 39:222-229
- Parkash A, Ng TB, Tso WW. 2002. Purification and characterization of charantin, a napin-like ribosome-inactivating peptide from bitter melon (*Momordica charantia*) seeds. *J Pept Res* 59:197-202
- Rathi SS, Grover JK, Vats V. 2002. The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Phytother Res* 16:236-243
- Ray RB, Raychoudhuri A, Steele R, Nerurkar P. 2010. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis. *Cancer Res* 70:1925-1931
- Schmourlo G, Mendonca-Filho RR, Alviano CS, Costa SS. 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J Ethnopharmacol* 96:563-568
- Srivastava Y, Venkatadrishna-Bhatt H, Verma Y, Venkaiah K, Raval BH. 1993. Antidiabetic and adaptogenic properties of *Momordica charantia* extract: and experimental and clinical evaluation. *Phytother Res* 7:285-289
- Thomson DM, Porter BB, Tall JH, Kim HJ, Barrow JR, Winder WW. 2007. Skeletal muscle and heart LKB1 deficiency causes decreased voluntary running and reduced muscle mitochondrial marker enzyme expression in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292:E196-E202
- Yoon BR, Lee YJ, Hong HD, Lee YC, Kim YC, Rhee YK, Kim KT, Lee OH. 2012. Inhibitory effects of *Panax ginseng* C. A. Mayer treated with high temperature and high pressure on oxidative stress. *Korean J Food and Nutr* 25:800-806
- Zhang RQ, Ma LL, Lu JH, Hu YQ, Yu JF. 2003. A bacteriostatic test of leaf of *Momordica charantia* L. *J Gannan Med Coll* 23:272-273

Received 29 February, 2016

Revised 17 June, 2016

Accepted 17 August, 2016