

## PŘEHLEDY A ODBORNÁ SDĚLENÍ

## Účinnost fytotherapie v podpůrné léčbě diabetes mellitus typu 2 III. Momordika (*Momordica charantia*)

### Effectiveness of phytotherapy in supportive treatment of type 2 diabetes mellitus

#### III. Momordica (*Momordica charantia*)

Jana Rudá-Kučerová • Hana Kotolová • David Koupý

Došlo 14. února 2015 / Přijato 7. července 2015

#### Souhrn

*Momordica charantia* (česky hořká okurka, anglicky bitter melon) je teplomilná popínavá rostlina přirozeně se vyskytující v tropické a subtropické Asii, Africe a Karibiku, u nás roste ve sklenících. Zralé plody připomínající okurku nebo dýni se používají jako zelenina, nezralé plody jsou za syrova velmi hořké a osvěžující. Po staletí jsou v čínské lidové medicíně drogy z celé rostliny užívány k léčbě diabetu, rakoviny a proti infekcím způsobené červy, viry a malárií. Antidiabeticky působí především triterpenoidy cucurbitanového typu, charantin, p-insulin a 9cis-11trans-13trans konjugovaná kyselina linolenová. Tyto obsahové látky obsažené v přípravcích z momordiky v klinických studiích vykazují antidiabetické účinky mechanismem zvýšení sekrece insulinu, snížení insulinové rezistence a snížení resorpce glukosy GIT. Dále působí na úpravu lipidového spektra (především 9cis-11trans-13trans konjugovaná kyselina linolenová), neuroprotektivně, antioxidačně a ovlivňují sekreci adipokinů ve smyslu omezení příznaků metabolického syndromu. Antidiabetické účinky extraktu z momordiky byly srovnávány i s aktivní léčbou

několika perorálními antidiabetiky a vykazovaly srovnatelné účinky. Klinických studií je však nedostatek a některé vykazují nízkou metodologickou kvalitu, proto je zatím obtížné objektivně zhodnotit léčebný potenciál rostliny.

**Klíčová slova:** momordika • *Momordica charantia* • diabetes mellitus • fytotherapie

#### Summary

*Momordica charantia* is a thermophilic voluble plant from the tropical and subtropical regions of Asia, Africa and the Caribbean. In central Europe, momordica requires greenhouse plantations. Mature fruits resemble a cucumber or a pumpkin and can be used as other similar vegetables. Crude fruits are very bitter and refreshing. For centuries the plant has been known in Chinese traditional medicine for its antidiabetic effects as well as for the treatment of cancer or infections caused by worms, viruses and malaria. Antidiabetic effects are attributed namely to cucurbitane type triterpenoids, charantin, p-insulin and 9cis-11trans-13trans-conjugated linolenic acid. These substances in momordica preparations show antidiabetic effectiveness in clinical studies by increasing insulin secretion and decreasing insulin resistance or glucose absorption from the gut. Beside this main effect the extract possesses certain neuroprotective and antioxidant effects (especially p9cis-11trans-13trans-conjugated linolenic acid) and contributes to normalize blood lipid and adipokine levels which results in the normalization of metabolic syndrome. Antidiabetic effectiveness of momordica was compared to active treatment with several oral antidiabetic drugs and proved comparable effects. However, the number of studies is limited and their methodological approach variable. Therefore, the evidence is so far inconclusive.

**Key words:** momordica • *Momordica charantia* • diabetes mellitus • phytotherapy

PharmDr. Jana Rudá-Kučerová, Ph.D. (✉)  
Masarykova Univerzita, Lékařská fakulta, Farmakologický ústav  
Kamenice 5, 625 00 Brno  
e-mail: jkucer@med.muni.cz  
Masarykova Univerzita, CEITEC – Středoevropský technologický institut, Brno, Česká republika

H. Kotolová  
Veterinární a Farmaceutická Univerzita Brno, Farmaceutická fakulta,  
Ústav humánní farmakologie a toxikologie, Brno, Česká republika

D. Koupý  
Vojenská nemocnice Brno, Interní oddělení, Brno, Česká republika

## Úvod, botanické zařazení, krátce charakteristika rostliny

Momordika z taxonomického hlediska patří mezi rostliny do podříše: vyšší rostliny (*Cormobionta*), oddělení: krytosemenné (*Magnoliophyta*), třída: vyšší dvouděložné rostliny (*Rosopsida*), řád: tykvoťvaré (*Cucurbitales*), čeleď: tykvoťvitě (*Cucurbitaceae*), rod: momordika (*Momordica*). Je to jednoletá popínavá bylina s bohatě rozvětvenými výhony dlouhými až 5 metrů. Úponky jsou jednoduché až 20 cm dlouhé. Listy jsou střídavé, dlaniťe pěti až sedmilaločné. Laloky listů peřenolaločné, opakvejitě s úzkou bází. Květy jsou jednopohlavné a vykvétají jednotlivě na dlouhé stopce z paždí listů s okrouhlým listenem u stopky. Samčí květy mají pětičetné žluté korunní plátky se zřetelnými žilkami a jsou větší než květy samičí. Momordika je jednodomá bylina, semeník samičích květů je spodní, vřetenovitý a bradavičnatý. Po oplození z něj vznikají mnohotvárné, bradavičnaté, na koncích zašpičatělé, až 30 cm dlouhé a až 8 cm tlusté plody s osmi a deseti podélnými žebry. Nezralé plody jsou zelené a při dozrání získávají oranžovou barvu. Zralé plody se otevírají třemi chlopněmi, z nichž visí ven červená semena. Ke kvetení a dozrání plodů dochází od května do října<sup>1)</sup>.

Momordika je teplomilná, na vzdušnou vlhkost náročná rostlina, rozšířená v tropické a subtropické Asii, Africe a Karibiku jako užitková nebo planá rostlina. Má mnoho českých synonym: momordika, momordika hořká, momordika hořká okurka, hořký okurek, karela<sup>2)</sup>. Plody se používají jako zelenina a nezralé plody jsou velmi hořké. Farmakologické účinky vykazuje celá rostlina. Momordika původně pochází z Indie, odkud byla přivezena do Číny a v čínské medicíně je po staletí užívána pro široké spektrum účinků. Popisovaný je antikarcinogenní, antihelmintický, antimalarický, antivirotický a antidiabetický účinek<sup>1, 3)</sup>.

## Obsahové látky, charakteristika, chemie

Pravděpodobně nejvýznamnější obsahové látky jsou triterpenoidy kukurbitanového typu a jejich glykosidy, které se vyskytují prakticky v celé rostlině (používá se stonek a plody) a existuje jich velká řada subtypů, které se označují jako momordikosidy, karavilosidy, momordiciny a další<sup>4)</sup>. Tyto látky obecně vykazují protizánětlivé a cytotoxické (potenciálně protinádorové) účinky<sup>5)</sup>. Antidiabetické účinky prokazoval především momordikosid Q, R, S a T a karavilosid XI<sup>3, 6)</sup>. Tato skupina je poměrně heterogenní a stále jsou objevovány další struktury, u nichž se postupně popisují jejich přesné účinky<sup>7, 8)</sup>. Další významnou obsahovou látkou přítomnou především v semenech momordiky je skupina polypeptidů s molekulovou hmotností do 11 kDa<sup>9)</sup>, u nichž byly prokázány antidiabetické účinky zprostředkované několika mechanismy<sup>10)</sup>. Tyto peptidy patrně zodpovídají za hypoglykemizující účinky již dříve izolovaného bílkovinného extraktu z momordiky, tzv. extrakt-p neboli p-insulin<sup>11, 12)</sup>. Steroidní obsahové látky typu  $\beta$ -sitosterolu se označují jako charantin, který rovněž navozuje hypoglykemické účinky několika mechanismy<sup>9, 10, 13)</sup>. Semena tvoří až ze 45 % olej, který obsahuje především kyselinu

eleostearovou a stearovou<sup>1)</sup>. Další skupinou obsahových látek jsou fenolické a flavonoidní sloučeniny jako kyseľina gallová, katechin, kyselina kávová, *p*-kumarová, gentisová, chlorogenová a epikatechin<sup>14)</sup>.

## Prokázané účinky obsahových látek

### Preklinické studie

S extrakty či přímo obsahovými látkami momordiky byla provedena řada preklinických studií *in vitro* i na laboratorních zvířatech s diabetem navozeným různými mechanismy, které zaznamenaly **hypoglykemizující účinky a omezení insulinové rezistence**. V *in vitro* studii na potkaních svalových buňkách lyofilizovaný prášek z momordiky působil insulinomimeticky a navíc stimuloval vychytávání glukosy a aminokyselin do svalových buněk<sup>15)</sup>. V další studii na streptozotocinem (STZ, alkylující látka, která selektivně ničí B-buňky)<sup>16)</sup> indukovaných diabetických potkaních alkoholový extrakt z momordiky v dávce 200 mg/kg působil hypoglykemicky snížením glukoneogeneze v játrech. To bylo potvrzeno i *in vitro* na hepatocytech<sup>17)</sup>. Dále inhiboval klíčové enzymy glukoneogeneze glukoso-6-fosfatasu a fruktoso-1,6-bisfosfatasu a zvyšoval oxidaci glukosy prostřednictvím aktivace glukoso-6-fosfát dehydrogenasy<sup>18)</sup>. Obdobně v transgenním modelu KK-Ay diabetických myších vodný extrakt z momordiky vedl k poklesu insulinové rezistence zvýšením koncentrace glukosového transportéru GLUT4 na plazmatické membráně svalových buněk, a tím zvyšoval metabolismus glukosy v buňkách<sup>19)</sup>. V dalším diabetickém modelu na alloxanem (syntetický analog glukosy, který je toxický pro B-buňky pankreatu)<sup>16)</sup> indukovaných potkaních a na STZ indukovaných myších alkoholový a vodný extrakt z momordiky zlepšil činnost klíčových enzymů glykolytické cesty. U myší navíc obnovoval hladiny jaterního a svalového glykogenu, jaterní glukokinasy, hexokinasy, glukosa-6-fosfasy a fosfofruktokinasy<sup>20)</sup>. Analogické výsledky byly zaznamenány ve studii s alloxanem indukovanými králíky<sup>21)</sup>. V dalších experimentech na STZ indukovaných diabetických potkaních krměných šťávou z momordiky byla navíc prokázána normalizace strukturálních abnormalit periferních nervů a snížení insulinové rezistence pomocí regulace vychytávání glukosy v kartáčovém lemu jejunu a stimulace vychytávání glukosy do buněk kosterního svalstva<sup>22)</sup> a snížení resorpce glukosy v GIT<sup>23)</sup>.

**Systémový zánět** je průvodním jevem obezity a významným způsobem přispívá k rozvoji insulinové rezistence<sup>24, 25)</sup>. Prášek z plodů momordiky prokázal významnou protizánětlivou účinnost v potkaním modelu Otsuka-Long-Evans-Tokushima Fatty (OLETF), který je charakteristický obezitou a rozvojem diabetu 2. typu<sup>26)</sup>, když v tomto modelu snižoval hladiny prozánětlivých cytokinů, konkrétně tumor nekrotizujícího faktoru alfa a interleukinu-6<sup>27)</sup>. Momordika kromě toho prokázala i méně specifický antipyretický účinek<sup>28)</sup>. Tyto účinky momordiky by v budoucnu mohly přispět k prevenci rozvoje či léčbě insulinové rezistence.

Pozdní komplikací diabetu jsou **fibrotické změny srdce** v důsledku dlouhodobě vyšších glykemií. V STZ potkaním modelu bylo v důsledku podávání extraktů

z momordiky zaznamenáno omezení depozice kolagenických fibril v srdečním svalu<sup>29</sup>). Další pozdní komplikací diabetu je špatné hojení ran. TGF- $\beta$  (z angl. transforming growth factor beta) je skupina cytokinů, která reguluje buněčné dělení a hraje roli právě v hojení ran. Topická aplikace prášku z momordiky u STZ indukovaných potkanů urychlila hojení rány, patrně prostřednictvím zvýšení exprese TGF- $\beta$ <sup>30</sup>).

Je zřejmé, že extrakty z momordiky mají výraznou antidiabetickou aktivitu v mnoha různých modelech diabetu u několika živočišných druhů, což do budoucna naznačuje možnost translace těchto poznatků na člověka. Tento směr výzkumu se velice rychle rozvíjí a hlavní snahou je **identifikovat obsahové látky** zodpovědné za antidiabetické účinky. V *in vivo* studii na normálních a STZ indukovaných diabetických potkanech subkutánní podání extraktu bílkovin z momordiky v dávce 5 a 10 mg/kg výrazně snížilo glykémii s nástupem účinku po 4–6 hodinách a zvýšilo sekreci insulinu po dobu 30 minut po podání a studie uzavírá, že bílkovinné extrakty z momordiky působí jako sekretagoga insulinu a insulinomimetika<sup>31</sup>). V momordice byl nedávno identifikován **peptid**, který je schopen vazby na insulinový receptor a jeho aktivace prostřednictvím jiného vazebného místa než insulin<sup>32</sup>). Na základě těchto látek obsažených v momordice byla nedávno syntetizována peptidová analoga s antidiabetickou a antioxidační účinností<sup>33</sup>). To by mohl být začátek vývoje zcela nové skupiny antidiabetik. Výzkum ovšem může komplikovat získávání účinných struktur z rostliny, neboť bylo zjištěno, že jejich obsah výrazně ovlivňuje doba sběru, přičemž detekovaná množství mohou být i nulová (při sběru v září a říjnu)<sup>34</sup>). To může výrazně limitovat interpretaci výsledků studií prováděných s extrakty či práškovou drogou.

Kromě peptidů byla popsána i účinnost **kurkubitanových triterpenoidů** obsažených v momordice. Především bylo prokázáno, že tyto látky se vstřebávají ze střeva, a mohou být tedy zodpovědné za některé antidiabetické účinky extraktů z momordiky<sup>35</sup>). Studie na alloxanem indukovaných myších prokázala antidiabetické účinky kurkubitanových sloučenin<sup>36</sup>) a hypoglykemický účinek byl prokázán i u pískomilů, hulmanů (kočkodanovitý primát) a člověka<sup>37</sup>). Mechanismus účinku pomohla částečně objasnit *in vitro* studie na buněčné linii myších jater, kde extrakt z momordiky aktivoval PPAR- $\alpha$  a PPAR- $\gamma$ , které kontrolují homeostasu lipidů a glukosy. Z extraktu byla navíc izolována **9cis-11trans-13trans konjugovaná kyselina linolenová**, která působí jako PPAR- $\alpha$  aktivátor zlepšující metabolismus lipidů v játrech<sup>1, 38</sup>). Dalším mechanismem účinku kurkubitanů může být inhibice proteinové tyrosin fosfatasy 1B<sup>39</sup>), což je enzym náležející k negativní regulaci insulinové signalizace, který se v současné době intenzivně zkoumá jako potenciální cíl pro vývoj nových léčiv diabetu a obezity<sup>40</sup>). Na buněčné linii svalových a tukových buněk působily **momordikosidy Q, R, S a T a karavilosid XI** aktivaci translokace GLUT4 do buněčné membrány, a tím vstup glukosy do buněk. To bylo asociováno se zvýšenou aktivitou AMPK (AMP aktivovaná proteinkinasa), klíčovou dráhou zprostředkávající vychytávání glukosy a oxidaci mastných kyselin. Kromě toho momordikosidy zvyšovaly oxidaci mastných

kyselin a glukosy v průběhu orálního glukosového testu jak u insulin-citlivých, tak i insulin-rezistentních myší<sup>41</sup>).

Účinky steroidních saponinů typu **charantinu** byly sledovány ve studii u myší s diabetickým fenotypem indukovaným vysokotučnou dietou za použití extraktu bohatého na charantin. Byly prokázány hypoglykemizující účinky, snížení insulinové rezistence zvýšením exprese GLUT-4 (glukosový transportér typu 4) v kosterní svalovině. *In vitro* byly navíc zaznamenány protektivní účinky na B-buňky<sup>10</sup>) a v *in silico* „dokovací“ studii charantin prokázal vysokou pravděpodobnost vazby na GSK-3 (glycogen synthase kinase-3), což je enzym regulující nitrobuněčné pochody včetně buněčné proliferace, migrace, zánětu, imunitní odpovědi, apoptosy a regulace glykémie<sup>42</sup>).

Preklinické studie odhalily kromě antidiabetických účinků rovněž **pozitivní vliv na lipidové spektrum** a projevy **metabolického syndromu**. U potkanů krmených vysokotučnou dietou a současně lyofilizovaným práškem z momordiky bylo zaznamenáno snížení insulinové rezistence, sérového insulinu a leptinu, ale současně zvýšení sérové koncentrace volných mastných kyselin<sup>43</sup>). Podobného výsledku bylo dosaženo u myší krmených dietou s vysokým obsahem tuku<sup>44</sup>). Zdá se tedy, že momordika redukuje obezitu svým vlivem na glukosový a lipidový metabolismus, čímž zmenšuje negativní účinky vysokotučné diety. Navrženým mechanismem účinku je zvýšení jaterního obsahu AMP-aktivované proteinové kinasy a snížení glykoneogeneze<sup>44, 45</sup>). Ve studii na STZ indukovaných potkanech krmených extraktem z momordiky po dobu 10 týdnů bylo potvrzeno zlepšení dyslipidémie úpravou zvýšené hladiny cholesterolu, TAG a fosfolipidů téměř k normálním hodnotám. Kromě toho extrakt z momordiky vykazoval inhibiční účinek na membránovou lipoproteinoxidasu v podmínkách *in vitro*<sup>46</sup>). Další *in vitro* studie na primárních lidských preadipocytech prokázala, že šťáva z momordiky je účinná ve snížení hromadění lipidů v adipocytech pomocí regulace adipogenních transkripčních faktorů PPAR- $\gamma$  a při regulaci genové exprese adipocytokinů např. resistinu<sup>47</sup>). Lze tedy shrnout, že momordika může být účinná v léčbě metabolického syndromu snížením abdominální obezity, zvýšením lipolysy, úpravou lipidového spektra, pozitivním vlivem na expresi adipokinů a ovlivněním glykémie. Je ale nutné rovněž uvést, že všechny tyto mechanismy byly sledovány pouze preklinicky v animálních nebo *in vitro* studiích<sup>14</sup>). Rostlina se v této indikaci ale využívá v rámci tradiční čínské medicíny<sup>48</sup>) a za tyto účinky patrně spoluzodpovídají polyfenoly obsažené v rostlině<sup>49</sup>).

#### Klinické studie

Šťáva z plodů momordiky se využívá v tradiční léčbě diabetu 2. typu již velmi dlouho a existují i poměrně staré klinické práce potvrzující antidiabetickou aktivitu rostliny<sup>50–54</sup>). Tyto práce jsou však prováděny většinou na velmi malém počtu pacientů a jedná se spíše o série případů než klinické studie a uvádějí pouze zjištění o snížení glykémie. V posledních letech se ale začaly objevovat i větší klinické studie vyšší kvality a s větším počtem subjektů, které začínají uvádět i jiné než akutní hypoglykemizující účinky. Ve studii na 100 pacientech

(bez kontroly placebem) bylo prokázáno, že šťáva z momordiky způsobila v 86 případech výrazné snížení glykémie nalačno i po jídle a v pěti případech pouze ke snížení lačné glykémie<sup>55</sup>). První randomizovaná, dvojitě slepá, placebem kontrolovaná klinická studie byla provedena v roce 2007. Vzhledem k malému počtu pacientů (celkem 40) studie nebyla schopna poskytnout přesvědčivé údaje o účinnosti, ale zaznamenala 1% snížení glykovaného hemoglobinu<sup>56</sup>). Nezaslepená, ale randomizovaná studie typu cross-over poskytla i údaje o snížení hladiny glykovaného hemoglobinu o 63 % u skupiny 27 špatně kompenzovaných diabetiků<sup>57</sup>). Další otevřená klinická studie se zaměřila na příznaky rozvoje metabolického syndromu u diabetiků a zaznamenala zlepšení jeho ukazatelů, a to zvláště insulinové rezistence<sup>58</sup>). Co se týká souvisejícího potenciálu momordiky léčit obezitu, dosud byla provedena pouze jedna pilotní klinická studie na pěti nediatetických obézních mužích s negativním výsledkem. V této studii rovněž nebyl zaznamenán vliv na glykémii, která byla u pacientů ve fyziologické normě<sup>59</sup>).

Klinických studií s přípravky z momordiky přibývá a bylo již publikováno i několik metaanalýz a přehledových prací. Zdá se, že různě upravené přípravky z momordiky mají přesvědčivé hypoglykemické účinky, žádné klinické hodnocení zatím neposkytlo v tomto smyslu dostatečně robustní data. Hlavním problémem je metodologie studií (nedostatek randomizovaných, dvojitě slepých, placebem kontrolovaných) a velikost zkoumané populace<sup>60</sup>). Kromě toho pro sledování klinicky relevantních ukazatelů, např. glykovaného hemoglobinu je nutné delší trvání léčby. Vzhledem ke krátké době podávání přípravků z momordiky v mnoha studiích tak tento indikátor není možné hodnotit, ačkoliv na něj obsahové látky rostliny mohou mít silný vliv<sup>61</sup>).

### Porovnání účinnosti s terapií perorálními antidiabetiky

#### Preklinické studie

Existuje řada studií, které srovnávaly účinek přípravků z momordiky s **deriváty sulfonylurey**. V preklinické studii na STZ indukovaných diabetických potkanech extrakt z momordiky podávaný potkanům v dávce 500 mg/kg snižoval plazmatickou hladinu glukosy o 10–15 % za 1 hodinu. Za stejných podmínek způsobil tolbutamid v dávce 100 mg/kg přibližně 40% snížení glykémie za 1–2 hodiny. Mechanismus účinku extraktu z momordiky lze připsat spíše zvýšenému využití glukosy v játrech než zvýšené sekreci insulinu. Během orálního glukosového tolerančního testu momordika snížila glykémii o 26 % za 3,5 hodiny, zatímco metformin způsobil 40–50% snížení glykémie za 1, 2 nebo 3,5 hodiny<sup>62</sup>). V jiné studii na alloxanem indukovaných diabetických potkanech byl podáván vodný extrakt z čerstvých nezralých celých plodů momordiky v dávce 20 mg/kg tělesné hmotnosti a bylo zjištěno, že snižuje glykémii nalačno o 48 %, což je účinek srovnatelný s glibenklamidem. Vodný extrakt dále nevykazoval dle histologických a biochemických měřítek žádné známky nefrotoxicity ani hepatotoxicity<sup>63</sup>). Podobná studie u STZ indukovaných potkanů dokonce zaznamenala, že extrakt

z momordiky normalizuje zvýšený oxidační stres lépe než glibenklamid<sup>64</sup>). Podobně byl ve stejném potkaním modelu srovnáván vodný extrakt v dávce 50–800 mg/kg s 250 mg/kg chlorpropamidu. Rostlina vykazovala na dávce závislý hypoglykemizující účinek jak u hyperglykemických, tak u normoglykemických (kontrolních) potkanů. To nasvědčuje tomu, že látky obsažené v extraktu z momordiky fungují jako sekretagoga insulinu podobně jako deriváty sulfonylurey. V této studii byly kromě hypoglykemizujících účinků odhaleny také na dávce závislé účinky hypotenzní<sup>65</sup>).

Další skupina, s níž byl účinek momordiky srovnáván, jsou **thiazolidindiony**. Pro zhodnocení vlivu obsahových látek momordiky na úpravu lipidového spektra byly porovnávány tři skupiny potkanů: potkani krmení tučnou stravou, krmení kombinací tučné diety s 5% lyofilizovaným práškem momordiky a krmení kombinací tučné diety s 0,01% pioglitazonem. Výsledky ukázaly, že momordika může snížit insulinovou rezistenci stejně účinně jako pioglitazon. Kromě toho momordika potlačuje hromadění viscerálního tuku a inhibuje hypertrofii adipocytů, což může být spojeno s výrazně sníženou expresí lipogenních genů v tukové tkáni<sup>66</sup>). Další studie zaměřená již čistě na glykemické výsledky prokázala kromě hypoglykemizujícího účinku momordiky i synergický efekt při kombinaci s rosiglitazone<sup>67</sup>).

#### Klinické studie

Dostupné klinické studie uvádějící porovnání účinku přípravků z momordiky poskytují zatím údaje o srovnání s metforminem, deriváty sulfonylurey a thiazolidindiony. V klinické studii u 15 indických pacientů trpících diabetem 2. typu obojího pohlaví ve věku 52–65 let byly testovány hypoglykemizující účinky extraktu z momordiky obsahující převážně směs glykosidů, aglykonů a v menší míře alkaloidů, taninu, sterolů, fenolů, bílkovin a sacharidů. Extrakt byl aplikován perorálně v dávce 200 mg 2krát denně po dobu 7 dnů. Extrakt byl srovnáván spolu se dvěma různě působícími perorálními antidiabetiky: **metforminem** 2krát denně v dávce 500 mg a **glibenklamidem** 2krát denně v dávce 5 mg. Extrakt z momordiky v kombinaci s poloviční dávkou metforminu, glibenklamidu nebo jejich kombinací způsobil hypoglykémii větší, než je způsobena plnou dávkou samotných antidiabetik. Extrakt z momordiky působí tedy synergicky s metforminem a glibenklamidem a zesiluje jejich hypoglykemizující účinky<sup>68</sup>). Srovnatelná hypoglykemizující účinnost momordiky jako glibenklamidu byla zaznamenána v další studii na poměrně velké populaci 260 diabetiků 2. typu z Filipín<sup>69</sup>). Čtyřtýdenní multicentrická randomizovaná dvojitě zaslepená studie s kontrolní skupinou léčenou metforminem u 120 pacientů s nově diagnostikovaným diabetem 2. typu zaznamenala na dávce závislý efekt rostliny. Pacienti byli rozděleni do čtyř skupin přijímajících přípravek z momordiky v dávce 500 mg/den, 1000 mg/den, 2000 mg/den nebo metformin v dávce 1000 mg/den. Momordika v maximální dávce 2000 mg/den však prokazovala ve srovnání s metforminem v dávce 1000 mg/den menší hypoglykemický účinek a signifikantní, ale nižší efekt na snížení hladiny fruktosaminu<sup>70</sup>). Další zajímavá klinická studie byla provedena v Indii

a kombinovala prášek z momordiky, jambulu (*Syzygium cumini*) a pískavice, které jsou rovněž známy svou anti-diabetickou aktivitou<sup>71, 72</sup>). Tato práce získala navzdory nezaslepenému uspořádání poměrně přesvědčivé výsledky ve smyslu výrazného snížení glykémie nalačno i po jídle a podávání práškových rostlin umožnilo snížení medikace perorálními antidiabetiky<sup>69</sup>).

## Závěr

Antidiabetické účinky momordiky jsou ve vědeckých databázích popsány bohatě, ale nedostatky velkého množství studií spočívají v tom, že bylo provedeno málo studií přímo na pacientech s diabetem, studie nejsou randomizované a zaslepené, chybí kontrolní skupina, trvání léčby je krátké apod. Ve studiích je také často studován pouze extrakt z momordiky nebo prášková droga, jejíž účinky mohou být v závislosti na způsobu pěstování nebo sběru významně odlišné<sup>34</sup>). Nicméně mnohé obsahové látky z momordiky v klinických i preklinických studiích vykazují jisté antidiabetické účinky<sup>1, 37, 73</sup>), a to mechanismem zvýšení sekrece insulinu, snížení insulinové rezistence a snížení resorpce glukosy ze střeva. Dále zlepšují lipidové spektrum (především 9cis-11trans-13trans konjugovaná kyselina linolenová)<sup>38</sup>), působí antioxidantně a ovlivňují pozitivně sekreci adipocytokinů<sup>47</sup>). Antidiabetické účinky extraktu z momordiky byly srovnávány i s registrovanými perorálními antidiabetiky různých mechanismů účinku a zdá se, že rostlina sama o sobě nemá výrazný potenciál zlepšit léčbu, ale mohla by přispět k efektivnímu zvládnutí hyperglykémie spíše svým synergickým účinkem s existujícími léčivými, jak bylo prokázáno např. u rosiglitazonu<sup>67</sup>).

U momordiky bylo ale zaznamenáno ve vysokých dávkách i cytotoxické působení, za které zodpovídají kurkubitanové sloučeniny<sup>5</sup>). Momordika tedy může mít do budoucna i potenciál poskytnout nová léčiva s protinádorovou aktivitou<sup>5, 74</sup>), ale i vykazovat významnou nežádoucí toxicitu. Z reprodukčních studií na potkanech vyplývá i negativní vliv na samčí<sup>75</sup>) i samičí<sup>76</sup>) fertilitu, což může dále komplikovat budoucí použití obsahových látek momordiky jako léčiv. Momordika si ale jistě zaslouží další zkoumání, ať už na poli diabetologie, onkologie nebo infektologie<sup>77</sup>).

**Střet zájmů:** žádný.

Podpořeno projektem specifického výzkumu na Masarykově univerzitě MUNI/A/1116/2014.

## Literatura

1. **Leung L., Birtwhistle R., Kotecha J., Hannah S., Cuthbertson S.** Anti-diabetic and hypoglycaemic effects of *Momordica charantia* (bitter melon): a mini review. *Br. J. Nutr.* 2009; 102, 1703–1708.
2. **Biggs M.** Zelenina. Velká kniha zeleninových druhů. Praha: Volvox Globator 1997.
3. **Tan M. J., Ye J. M., Turner N., Hohnen-Behrens C., Ke C. Q., Tang C. P., Chen T., Weiss H. C., Gesing E. R., Rowland A., James D. E., Ye Y.** Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. *Chem. Biol.* 2008; 15, 263–273.

4. **Zhao G. T., Liu J. Q., Deng Y. Y., Li H. Z., Chen J. C., Zhang Z. R., Zhou L., Qiu M. H.** Cucurbitane-type triterpenoids from the stems and leaves of *Momordica charantia*. *Fitoterapia* 2014; 95, 75–82.
5. **Liaw C. C., Huang H. C., Hsiao P. C., Zhang L. J., Lin Z. H., Hwang S. Y., Hsu F. L., Kuo Y. H.** 5beta,19-epoxycucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* and their anti-inflammatory and cytotoxic activity. *Planta Med.* 2015; 81, 62–70.
6. **Jayaprakasha G. K., Rao L. J.** Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2011; 51, 547–562.
7. **Ma L., Yu A. H., Sun L. L., Gao W., Zhang M. M., Su Y. L., Liu H., Ji T. F., Li D. Z.** Two new cucurbitane triterpenoids from the seeds of *Momordica charantia*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2014; 16, 476–482.
8. **Yen P. H., Dung D. T., Nhiem N. X., Anh Hle T., Hang D. T., Yen D. T., Cuc N. T., Ban N. K., Van Minh C., Van Kiem P.** Cucurbitane-type triterpene glycosides from the fruits of *Momordica charantia*. *Nat. Prod. Commun.* 2014; 9, 383–386.
9. **Parkash A., Ng T. B., Tso W. W.** Purification and characterization of charantin, a napin-like ribosome-inactivating peptide from bitter melon (*Momordica charantia* seeds). *J. Pept. Res.* 2002; 59, 197–202.
10. **Wang H. Y., Kan W. C., Cheng T. J., Yu S. H., Chang L. H., Chuu J. J.** Differential anti-diabetic effects and mechanism of action of charantin-rich extract of Taiwanese *Momordica charantia* between type 1 and type 2 diabetic mice. *Food Chem. Toxicol.* 2014; 69, 347–356.
11. **Khanna P., Jain S. C., Panagariya A., Dixit V. P.** Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source. *J. Nat. Prod.* 1981; 44, 648–655.
12. **Raman A., Lau C.** Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytochemistry* 1996; 2, 349–362.
13. **Ahamad J., Amin S., Mir S. R.** Simultaneous quantification of gymnemic acid as gymnemagenin and charantin as beta-sitosterol using validated HPTLC densitometric method. *J. Chromatogr. Sci.* 2015; 53, 1203–1209.
14. **Alam M. A., Uddin R., Subhan N., Rahman M. M., Jain P., Reza H. M.** Beneficial role of bitter melon supplementation in obesity and related complications in metabolic syndrome. *J. Lipids* 2015; 2015, 496169.
15. **Cummings E., Hundal H. S., Wackerhage H., Hope M., Belle M., Adeghate E., Singh J.** *Momordica charantia* fruit juice stimulates glucose and amino acid uptakes in L6 myotubes. *Mol. Cell. Biochem.* 2004; 261, 99–104.
16. **Szkudelski T.** The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 2001; 50, 537–546.
17. **Chen J. C., Lau C. B., Chan J. Y., Fung K. P., Leung P. C., Liu J. Q., Zhou L., Xie M. J., Qiu M. H.** The antigluconeogenic activity of cucurbitacins from *Momordica charantia*. *Planta Med.* 2015; 81, 327–332.
18. **Shibib B. A., Khan L. A., Rahman R.** Hypoglycaemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. J.* 1993; 292, 267–270.
19. **Miura T., Itoh C., Iwamoto N., Kato M., Kawai M., Park S. R., Suzuki I.** Hypoglycemic activity of the fruit of the *Momordica charantia* in type 2 diabetic mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 2001; 47, 340–344.
20. **Rathi S. S., Grover J. K., Vats V.** The effect of *Momordica charantia* and *Mucuna pruriens* in experimental diabetes and their effect on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. *Phytother. Res.* 2002; 16, 236–243.
21. **Tahira S., Hussain F.** Antidiabetic Evaluation of *Momordica charantia* L Fruit Extracts. *West. Indian Med. J.* 2014; 63, 294–299.
22. **Ahmed I., Adeghate E., Cummings E., Sharma A. K., Singh J.** Beneficial effects and mechanism of action of *Momordica charantia* juice in the treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in rat. *Mol. Cell. Biochem.* 2004; 261, 63–70.

23. **Ahmed I., Adeghate E., Sharma A. K., Pallot D. J., Singh J.** Effects of *Momordica charantia* fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1998; 40, 145–151.
24. **Horska K., Kucerova J., Suchy P., Kotolova H.** Metabolic syndrome – dysregulation of adipose tissue endocrine function. *Ces. slov. Farm.* 2014; 63, 152–159.
25. **Kucerova J., Babinska Z., Horska K., Kotolova H.** The common pathophysiology underlying the metabolic syndrome, schizophrenia and depression. A review. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Republic* 2014; 159, 208–214.
26. **Yamada T., Kose H., Ohta T., Matsumoto K.** Genetic dissection of complex genetic factor involved in NIDDM of OLETF rat. *Exp. Diabetes Res.* 2012; 2012, 582546.
27. **Yang S. J., Choi J. M., Park S. E., Rhee E. J., Lee W. Y., Oh K. W., Park S. W., Park C. Y.** Preventive effects of bitter melon (*Momordica charantia*) against insulin resistance and diabetes are associated with the inhibition of NF-kappaB and JNK pathways in high-fat-fed OLETF rats. *J. Nutr. Biochem.* 2015; 26, 234–240.
28. **Patel R., Mahobia N., Upwar N., Waseem N., Talaviya H., Patel Z.** Analgesic and antipyretic activities of *Momordica charantia* Linn. fruits. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2010; 1, 415–418.
29. **Abas R., Othman F., Thent Z. C.** Protective effect of *Momordica charantia* fruit extract on hyperglycaemia-induced cardiac fibrosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014; 2014, 429060.
30. **Hussan F., Teoh S. L., Muhamad N., Mazlan M., Latiff A. A.** *Momordica charantia* ointment accelerates diabetic wound healing and enhances transforming growth factor-beta expression. *J. Wound Care* 2014; 23, 400, 402, 404–407.
31. **Yibchok-Anun S., Adisakwattana S., Yao C. Y., Sangvanich P., Roengsumran S., Hsu W. H.** Slow acting protein extract from fruit pulp of *Momordica charantia* with insulin secretagogue and insulinomimetic activities. *Biol. Pharm. Bull.* 2006; 29, 1126–1131.
32. **Lo H. Y., Ho T. Y., Li C. C., Chen J. C., Liu J. J., Hsiang C. Y.** A novel insulin receptor-binding protein from *Momordica charantia* enhances glucose uptake and glucose clearance in vitro and in vivo through triggering insulin receptor signaling pathway. *J. Agric. Food Chem.* 2014; 62, 8952–8961.
33. **Yang B., Li X., Zhang C., Yan S., Wei W., Wang X., Deng X., Qian H., Lin H., Huang W.** Design, synthesis and biological evaluation of novel peptide MC2 analogues from *Momordica charantia* as potential anti-diabetic agents. *Org. Biomol. Chem.* 2015; 13, 4551–4561.
34. **Tian M., Zeng X. Q., Song H. L., Hu S. X., Wang F. J., Zhao J., Hu Z. B.** Molecular diversity and hypoglycemic polypeptide-P content of *Momordica charantia* in different accessions and different seasons. *J. Sci. Food Agric.* 2015; 95, 1328–1335.
35. **Wu S. B., Yue G. G., To M. H., Keller A. C., Lau C. B., Kennelly E. J.** Transport in Caco-2 cell monolayers of antidiabetic cucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* fruits. *Planta Med.* 2014; 80, 907–911.
36. **Harinantenaina L., Tanaka M., Takaoka S., Oda M., Mogami O., Uchida M., Asakawa Y.** *Momordica charantia* constituents and antidiabetic screening of the isolated major compounds. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 2006; 54, 1017–1021.
37. **Basch E., Gabardi S., Ulbricht C.** Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 2003; 60, 356–359.
38. **Chuang C. Y., Hsu C., Chao C. Y., Wein Y. S., Kuo Y. H., Huang C. J.** Fractionation and identification of 9c-, 11t-, 13t-conjugated linolenic acid as an activator of PPARalpha in bitter melon (*Momordica charantia* L.). *J. Biomed. Sci.* 2006; 13, 763–772.
39. **Zeng K., He Y. N., Yang D., Cao J. Q., Xia X. C., Zhang S. J., Bi X. L., Zhao Y. Q.** New compounds from acid hydrolyzed products of the fruits of *Momordica charantia* L. and their inhibitory activity against protein tyrosine phosphatase 1B. *Eur. J. Med. Chem.* 2014; 81, 176–180.
40. **Bakke J., Haj F. G.** Protein-tyrosine phosphatase 1B substrates and metabolic regulation. *Semin. Cell. Dev. Biol.* 2015; 37, 58–65.
41. **Tan M. J., Ye J. M., Turner N., Hohnen-Behrens C., Ke C. Q., Tang C. P., Chen T., Weiss H. C., Gesing E. R., Rowland A., James D. E., Ye Y.** Antidiabetic activities of triterpenoids isolated from bitter melon associated with activation of the AMPK pathway. *Chem. Biol.* 2008; 15, 263–273.
42. **Hazarika R., Parida P., Neog B., Yadav R. N.** Binding Energy calculation of GSK-3 protein of Human against some anti-diabetic compounds of *Momordica charantia* linn (Bitter melon). *Bioinform. 2012*; 8, 251–254.
43. **Chen Q., Chan L. L., Li E. T.** Bitter melon (*Momordica charantia*) reduces adiposity, lowers serum insulin and normalizes glucose tolerance in rats fed a high fat diet. *J. Nutr.* 2003; 133, 1088–1093.
44. **Shih C. C., Shlau M. T., Lin C. H., Wu J. B.** *Momordica charantia* ameliorates insulin resistance and dyslipidemia with altered hepatic glucose production and fatty acid synthesis and AMPK phosphorylation in high-fat-fed mice. *Phytother. Res.* 2014; 28, 363–371.
45. **Wu J. B., Kuo Y. H., Lin C. H., Ho H. Y., Shih C. C.** Tormentone acid, a major component of suspension cells of *Eriobotrya japonica*, suppresses high-fat diet-induced diabetes and hyperlipidemia by glucose transporter 4 and AMP-activated protein kinase phosphorylation. *J. Agric. Food Chem.* 2014; 62, 10717–10726.
46. **Ahmed I., Lakhani M. S., Gillett M., John A., Raza H.** Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2001; 51, 155–161.
47. **Nerurkar P. V., Lee Y. K., Nerurkar V. R.** *Momordica charantia* (bitter melon) inhibits primary human adipocyte differentiation by modulating adipogenic genes. *BMC Complement. Altern. Med.* 2010; 10, 34.
48. **Yin J., Zhang H., Ye J.** Traditional chinese medicine in treatment of metabolic syndrome. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets* 2008; 8, 99–111.
49. **Cherniack E. P.** Polyphenols: planting the seeds of treatment for the metabolic syndrome. *Nutrition* 2011; 27, 617–623.
50. **Akhtar M. S.** Trial of *Momordica charantia* Linn (Karela) powder in patients with maturity-onset diabetes. *J. Pak. Med. Assoc.* 1982; 32, 106–107.
51. **Baldwa V. S., Bhandari C. M., Pangaria A., Goyal R. K.** Clinical trial in patients with diabetes mellitus of an insulin-like compound obtained from plant source. *Ups. J. Med. Sci.* 1977; 82, 39–41.
52. **Khanna P., Jain S. C., Panagariya A., Dixit V. P.** Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source. *J. Nat. Prod.* 1981; 44, 648–655.
53. **Leatherdale B. A., Panesar R. K., Singh G., Atkins T. W., Bailey C. J., Bignell A. H.** Improvement in glucose tolerance due to *Momordica charantia* (karela). *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 1981; 282, 1823–1824.
54. **Welihinda J., Karunanayake E. H., Sheriff M. H., Jayasinghe K. S.** Effect of *Momordica charantia* on the glucose tolerance in maturity onset diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 1986; 17, 277–282.
55. **Ahmad N., Hassan M. R., Halder H., Bennoor K. S.** Effect of *Momordica charantia* (Karolla) extracts on fasting and postprandial serum glucose levels in NIDDM patients. *Bangladesh Med. Res. Counc. Bull.* 1999; 25, 11–13.
56. **Dans A. M., Villarruz M. V., Jimeno C. A., Javelosa M. A., Chua J., Bautista R., Velez G. G.** The effect of *Momordica charantia* capsule preparation on glycemic control in type 2 diabetes mellitus needs further studies. *J. Clin. Epidemiol.* 2007; 60, 554–559.
57. **Rosales R., Fernando R.** An inquiry to the hypoglycemic action of *Momordica charantia* among type 2 diabetic patients. *Phil. J. Inter. Med.* 2001; 39, 4.
58. **Tsai C. H., Chen E. C., Tsay H. S., Huang C. J.** Wild bitter melon improves metabolic syndrome: a preliminary dietary supplementation trial. *Nutr. J.* 2012; 11, 4.
59. **Kasbia G. S., Arnason J. T., Imbeault P.** No effect of acute, single dose oral administration of *Momordica charantia* Linn., on glycemia, energy expenditure and appetite: a pilot study in non-diabetic overweight men. *J. Ethnopharmacol.* 2009; 126, 127–133.

60. **Efird J. T., Choi Y. M., Davies S. W., Mehra S., Anderson E. J., Katunga L. A.** Potential for improved glycaemic control with dietary *Momordica charantia* in patients with insulin resistance and pre-diabetes. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2014; 11, 2328–2345.
61. **Yin R. V., Lee N. C., Hirpara H., Phung O. J.** The effect of bitter melon (*Momordica charantia*) in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Diabetes* 2014; 4, e145.
62. **Sarkar S., Pranava M., Marita R.** Demonstration of the hypoglycemic action of *Momordica charantia* in a validated animal model of diabetes. *Pharmacol. Res.* 1996; 33, 1–4.
63. **Virdi J., Sivakami S., Shahani S., Suthar A. C., Banavalikar M. M., Biyani M. K.** Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J. Ethnopharmacol.* 2003; 88, 107–111.
64. **Sathishsekar D., Subramanian S.** Beneficial effects of *Momordica charantia* seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2005; 28, 978–983.
65. **Ojewole J. A., Adewole S. O., Olayiwola G.** Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Momordica charantia* Linn (Cucurbitaceae) whole-plant aqueous extract in rats. *Cardiovasc. J. S. Afr.* 2006; 17, 227–232.
66. **Huang H. L., Hong Y. W., Wong Y. H., Chen Y. N., Chyuan J. H., Huang C. J., Chao P. M.** Bitter melon (*Momordica charantia* L.) inhibits adipocyte hypertrophy and down regulates lipogenic gene expression in adipose tissue of diet-induced obese rats. *Br. J. Nutr.* 2008; 99, 230–239.
67. **Nivitashekam S. N., Asad M., Prasad V. S.** Pharmacodynamic interaction of *Momordica charantia* with rosiglitazone in rats. *Chem. Biol. Interact.* 2009; 177, 247–253.
68. **Tongia A., Tongia S. K., Dave M.** Phytochemical determination and extraction of *Momordica charantia* fruit and its hypoglycemic potentiation of oral hypoglycemic drugs in diabetes mellitus (NIDDM). *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2004; 48, 241–244.
69. **Kochhar A., Nagi M.** Effect of supplementation of traditional medicinal plants on blood glucose in non-insulin-dependent diabetics: a pilot study. *J. Med. Food* 2005; 8, 545–549.
70. **Fuangchan A., Sonthisombat P., Seubnukarn T., Chanouan R., Chotchaisuwat P., Sirigulsatien V., Ingkaninan K., Plianbangchang P., Haines S. T.** Hypoglycemic effect of bitter melon compared with metformin in newly diagnosed type 2 diabetes patients. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 134, 422–428.
71. **Koupy D., Kotolová H., Rudá-Kučerová J.** Účinnost fytotherapie v podpůrné léčbě diabetes mellitus typu 2. II. Pískavice řecké seno. *Ces. slov. Farm.* 2015; 64, 67–71.
72. **Ayyanar M., Subash-Babu P., Ignacimuthu S.** *Syzygium cumini* (L.) Skeels., a novel therapeutic agent for diabetes: folk medicinal and pharmacological evidences. *Complement Ther. Med.* 2013; 21, 232–243.
73. **Krawinkel M. B., Keding G. B.** Bitter melon (*Momordica charantia*): a dietary approach to hyperglycemia. *Nutr. Rev.* 2006; 64, 331–337.
74. **Kabir S. R., Nabi M. M., Nurujjaman M., Abu Reza M., Alam A. H., Uz Zaman R., Khalid-Bin-Ferdaus K. M., Amin R., Khan M. M., Hossain M. A., Uddin M. S., Mahmud Z. H.** *Momordica charantia* seed lectin: toxicity, bacterial agglutination and antitumor properties. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015; 175, 2616–2628.
75. **Tumkiratiwong P., Ployattarapinyo R., Pongchairerk U., Thong-Asa W.** Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iran. J. Reprod. Med.* 2014; 12, 695–704.
76. **Adewale O. O., Oduyemi O. I., Ayokunle O.** Oral administration of leaf extracts of *Momordica charantia* affect reproductive hormones of adult female Wistar rats. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2014; 4, S521–524.
77. **Fang E. F., Ng T. B.** Bitter melon (*Momordica charantia*) is a cornucopia of health: a review of its credited antidiabetic, anti-HIV, and antitumor properties. *Curr. Mol. Med.* 2011; 11, 417–436.