

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

Mehtap ÇELİK^{1*}, Metin YILDIRIM²

¹Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Hitit Üniversitesi, Çorum, Türkiye

²Gıda Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Ömer Halisdemir Üniversitesi, Niğde, Türkiye

Geliş / Received: 07.09.2016

Düzeltilmelerin gelişi / Received in revised form: 16.11.2016

Kabul / Accepted: 17.11.2016

ÖZ

Doğada en çok karşılaşılan siyanojenik glikozit olan amigdalin kayısı, badem, kiraz, elma, erik, armut ve şeftali gibi meyvelerin çekirdeklerinde bulunur. Amigdalin, D(-)-mandelonitril-β-D-gentiobiyozit, D(-)-amigdalin, R-amigdalin, laetril ve vitamin B₁₇ gibi isimlerle de anılmaktadır. Amigdalinin parçalanması enzimatik aktivite, ısıtma işlemi, mineral asitler ve yüksek askorbik asit konsantrasyonları ile gerçekleştirilebilir ve parçalanma sonucunda zehirli hidrojen siyanür oluşur. Amigdalin, alyuvar üretiminin kaybı ile karakterize edilen kansızlık, astım, yüksek tansiyon, damar sertliği, şeker hastalığı, migren ve özellikle de kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Laboratuvar koşullarında yapılan bazı çalışmalarda tümör gelişiminin engellenmesine dair olumlu sonuçlar elde edilmiş olmasına karşın özellikle hastalığı ilerletmiş kişilerde amigdalinin tümör gelişimini önlediğine ilişkin ikna edici veriler bulunmamaktadır. Bu nedenle amigdalinin anti-kanserojen etkisinin olup olmadığı konusunun biran önce açıklığa kavuşturulması için ayrıntılı bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu derlemede, amigdalinin kimyasal özellikleri, bulunduğu gıdalar, parçalanması, sağlık üzerine etkisi ve analiz yöntemlerine ilişkin bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Amigdalin, kimyasal özellikleri, parçalanması, sağlık üzerine etkileri

AMYGDALIN AND ITS PROPERTIES

ABSTRACT

Amygdalin is the most common cyanogenic glycoside in nature, and it is found in fruit kernels, such as apricot, almond, cherry, apple, plum, pear and peach. Amygdalin is also called D(-)-mandelonitrile-β-D-gentiobioside, D(-)-amygdalin, R-amygdalin, laetrile and vitamin B₁₇. Amygdalin can be degraded by enzymatic activity, heat treatment, mineral acids or high concentrations of ascorbic acid, and after its degradation, toxic hydrogen cyanide is formed. Amygdalin has been used to treat aplastic anaemia, asthma, hypertension, atherosclerosis, diabetes, migraine, and most important of all, cancer. Although tumour-inhibiting effects of amygdalin have been observed from some *in vitro* studies, there is no substantial evidence showing that amygdalin induces discrete tumour regression in cancer patients, particularly in those with late-stage disease. Therefore, further investigation is necessary to clarify whether amygdalin has an anti-carcinogenic effect as soon as possible. This paper aims to provide current knowledge about amygdalin regarding its chemical properties, presence in foods, degradation, possible health effects, and analysis methods.

Keywords: Amygdalin, chemical properties, degradation, possible health effects

*Corresponding author / Sorumlu yazar. Tel.: +90 364 227 4533; e-mail/e-posta: mehtapcelik22@gmail.com

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

1. GİRİŞ

Bitkilerde çok yaygın olarak bulunan siyanojenik glikozitler 2500'den fazla tür tarafından azot metabolizmasının ikincil metaboliti şeklinde üretilmektedir [1]. Toksik hidrojen siyanür (HCN) oluşturma potansiyelleri nedeniyle siyanojenik glikozitler bitkilerin parazit ve otoburlara karşı savunmalarında önemli bir kimyasal silah konumundadır [2, 3]. Alfa-hidroksinitrillerin glikozitleri olarak tanımlanan siyanojenik glikozitlere amigdalin, prunasin, linamarin, lotaustralin, lucumin, vicianin, sambunigrin ve dhuririn örnek olarak gösterilebilir. Siyanojenik glikozitlerin üretiminde başlangıç maddesi olarak çeşitli aminoasitler rol oynamaktadır. Linamarin ve lotaustralin, valin, izolösin ve lösendin; prunasin, amigdalin ve sambunigrin fenilalaninden üretilmektedir. Aminoasitler nitrillere, nitriller hidroksillenerek α -hidroksinitrillere, α -hidroksinitriller de glikoz eklenerek siyanojenik glikozitlere dönüştürülmektedir [4].

Siyanojenik glikozitlerin parçalanması, β -glikozidaz enzimlerinin aktivitesi sonucu karbonhidrat ve α -hidroksinitrile dönüşümle başlar. Oluşan α -hidroksinitril ya kendi kendine ya da hidroksinitril liyaz enzimi ile toksik HCN ve aldehit veya keton oluşacak şekilde parçalanır. Siyanojenik glikozitler ile parçalayıcı enzimlerin bitkilerde ayrı ayrı bölmelerde bulunmaları fiziksel bir hasar oluşmaksızın HCN üretimini engeller [4, 5].

Gıdalarla alınan siyanür miktarı 0,5-3,5 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde ise siyanür zehirlenmesi gelişebilir [6]. Ortam havasındaki HCN konsantrasyonu 50-60 mg/m³ olması durumunda 20-60 dakika süreyle herhangi bir olumsuz etki gözlenmeksizin tolere edilebilmektedir. 120-150 mg/m³ düzeylerine 30-60 dakika ve 200 mg/m³ düzeyine ise 10 dakika maruz kalma ölümle sonuçlanmaktadır. 300 mg/m³ düzeyi ise anında ölüme yol açmaktadır [7, 8].

İnsan ve hayvanlar tarafından vücuda alınan siyanojenik glikozitler, bağırsak mikroorganizmaları veya bitkisel besin kaynaklı enzimlerin etkisiyle HCN oluşturabilirler [9]. Siyanojenik glikozit içeren ekonomik öneme sahip bitkisel ürünler arasında manyok (cassava), fasulye, badem, kayısı, sorgum, keten ve beyaz yonca sayılabilir [1, 10]. Yaklaşık 25 çeşidi bulunan siyanojenik glikozitlerden bazıları Tablo 1'de verilmiştir [1, 4]. Bu makalede amigdalin ve özellikleri ile ilgili literatür bilgileri derlenmiştir.

Tablo 1. Bazı siyanojenik glikozit çeşitleri [4]

Siyanojenik Glikozit	Karbonhidrat	Kaynak Bitki Cinsleri
Prunasin	D-Glikoz	<i>Prunus</i> spp.
Amigdalin	Gentiobiyo	<i>Prunus</i> spp.
Lucumin	Primeveroz	<i>Lucuma</i> spp.
Vicianin	Vicianoz	<i>Vicia</i> spp.
Sambunigrin	D-Glikoz	<i>Sambucus</i> spp.
Dhuririn	D-Glikoz	<i>Sorghum</i> spp.
Taxiphyllin	D-Glikoz	<i>Taxus</i> spp.
Zierin	D-Glikoz	<i>Zieria</i> spp.
Proteacin	D-Glikoz	<i>Macadamia</i> spp.
Linamarin	D-Glikoz	<i>Linum</i> spp.; <i>Trifolium</i> spp.
Lotaustralin	D-Glikoz	<i>Loyus</i> spp.; <i>Maniholt</i> spp.
Acaciapetalin	D-Glikoz	<i>Acacia</i> spp.
Triglochinin	D-Glikoz	<i>Triglochin</i> spp.
Deidaclin	D-Glikoz	<i>Deidamia</i> spp.
Tetraphyllin A	D-Glikoz	<i>Tetraphathaea</i> spp.
Tetraphyllin B	D-Glikoz	<i>Tetraphathaea</i> spp.
Gynocardin	D-Glikoz	<i>Gynocardia</i> spp.; <i>Pangium</i> spp.

2. AMİGDALİN

Amigdalin (D(-)-mandelonitril- β -D-gentiobiyo), genellikle *Rosaceae* ailesinin *Prunus* cinsine ait bitkilerde bulunan ve en çok karşılaşılan siyanojenik di-glikozitlerden birisidir. Kayısı, badem, kiraz, elma, erik, armut ve şeftali gibi meyvelerin çekirdeklerinde bulunur [4, 10]. Amigdalin ilk olarak 1830 yılında Fransız biyokimyacılar Pierre-Jean Robiquet ve Antoine Boutron-Charlard tarafından acı bademden izole edilmiştir. Acı bademde

olduğu gibi çekirdek içi acılığının nedeni olması ve alternatif tedavi amacıyla kullanılıyor olması yüzünden amigdalin büyük ilgi toplamıştır [11].

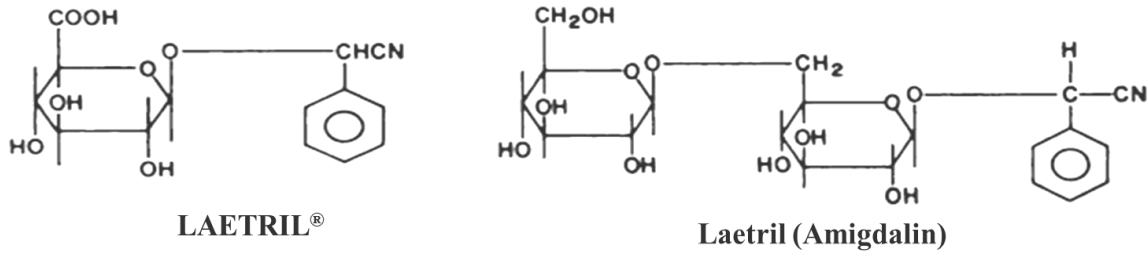
2.1. Kimyasal Özellikleri

Kapalı formülü $C_{20}H_{27}O_{11}N$ olup molekül ağırlığı 457,43 gramdır. Erime noktası 223-226°C ve 25°C’de sudaki çözünürlüğü 83 g/L’dir. Amigdalin, mandelonitril ve bir disakkarit olan gentiobiyoze içeren α -hidroksibenzilnitril yapısındadır. Sistematik ismi (2R)-2-fenil-2-[(2R, 3R, 4S, 5S, 6R)-3,4,5-trihidroksi-6-[[[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) oksan-2-yl] oksimetil] oksan-2-yl] oksiasetonitrildir. Ayrıca {[6-O-(β -D-glikopiranozil)- β -D-glikopiranozil] oksi} (fenil) asetonitril, α -[(6-O- β -D-glikopiranozil- β -D-glikopiranozil) oksi]-(α R)-benzenasetonitril, D(-) -mandelonitril- β -D-gentiobiyoze, D-mandelonitril- β -D-glikozido-6- β -D-glikozit, D(-)-amigdalin, R-amigdalin, laetril ve vitamin B₁₇ gibi isimlerle de anılmaktadır [12-21].

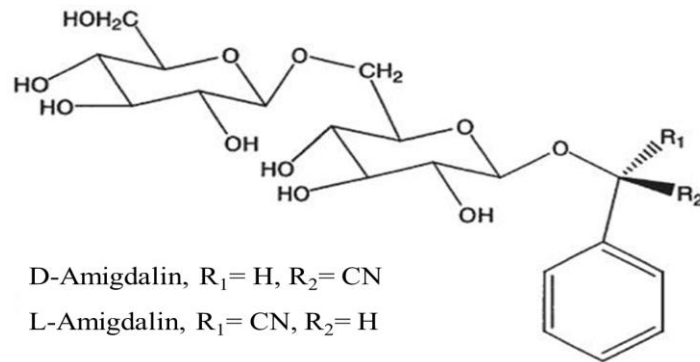
Amigdalin, vitamin B₁₇ olarak da adlandırılmakla birlikte bu adlandırma bilimsel olarak doğru değildir. Vitaminlerin temel özelliklerinden birisi diğer herhangi bir grup molekül tarafından yerine getirilemeyen özgün fizyolojik bir fonksiyona sahip olmalarıdır. Amigdalinin bu şekilde bir fonksiyona sahip olmadığı ve bu nedenle de vitamin olarak adlandırılmasının doğru olmayacağı belirtilmiştir [22-24].

Amigdalin yerine kullanılan laetril ismi de karışıklığa neden olmaktadır. Ticari olarak satışı yapılan ve LAETRIL® olarak adlandırılan ürünün gluküronik asit içermesi nedeniyle amigdalininden farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 1). Bu nedenle küçük harflerle yazılan laetrilin amigdalin ile aynı anlama geldiği ancak LAETRIL® şeklinde yazılan ürünün iki glikoz ünitesi yerine bir adet üronik asit formunda glikoz içermesi nedeniyle amigdalin olmadığı belirtilmiştir [12, 25].

Sulu çözeltisinde D-amigdalin (R-amigdalin, D-mandelonitril- β -D-gentiobiyoze), L-amigdalin (neoamigdalin, S-amigdalin, L-mandelonitril- β -D-gentiobiyoze) olarak adlandırılan epimeri ile denge halinde bulunur (Şekil 2). Cairns ve ark. [25] tarafından yapılan çalışmada dengeye ulaşmış amigdalin çözeltisinde %42 D ve %52 L epimerik formlarının bulunduğu tespit edilmiştir.



Şekil 1. LAETRIL® ve amigdalinin kimyasal yapısı



Şekil 2. Amigdalinin D ve L izomerleri (epimerleri)

2.2. Analiz Yöntemleri

Amigdalinin analizinde spektrofotometre [61], ince tabaka kromatografisi [62], yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi, enzim bağlı immünoabsorben analizi (ELISA) [63], miktarsal proton nükleer manyetik rezonans (1H -NMR) tekniği [64] kullanılabilmektedir. HPLC tekniği, çoğunlukla ters fazlı kolon ve 215 nm dalga boyunda belirleme şeklinde uygulanmaktadır [4]. Değişik gıdaların

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

amigdalin içeriğini belirlemek için geliştirilmiş HPLC yöntemleri bulunmaktadır [27, 61, 65]. Ayrıca amigdalinin izomer düzeyinde analizini sağlayacak HPLC yöntemi de geliştirilmiştir [11].

Amigdalin miktarı ile bunun parçalanması sonucunda oluşan hidrojen siyanür miktarı arasında doğrusal bir ilişki bulunduğundan hidrojen siyanür miktarını belirlemek dolaylı olarak amigdalin miktarını belirlemek anlamına gelmektedir. Amigdalinin parçalanması sonucunda oluşan hidrojen siyanür miktarı titrimetrik, spektrofotometrik, elektrokimyasal, kromatografik ve elektroforetik (kılcal elektroforez) teknikler kullanılarak belirlenebilmektedir [4, 8].

2.3. Amigdalin İçeren Gıdalar

En yaygın siyanojenik glikozitlerden birisi olan amigdalin badem, kayısı, şeftali, elma ve erik gibi meyvelerin çekirdek içlerinde bulunmaktadır. Amigdalin düzeyi mevsimsel farklılıklar, bitki çeşidi, bitki bölümü ve işleme şekline bağlı olarak önemli düzeyde değişkenlik göstermektedir [1, 4, 14, 26, 27]. Bazı gıdaların amigdalin düzeyi Tablo 2’de verilmiştir [27].

Tablo 2. Bazı gıda maddelerinin amigdalin içerikleri [27]

Çekirdek içi	Amigdalin İçeriği (mg/g)	İşlem Görmüş Gıdalar	Amigdalin İçeriği (mg/g)
Kayısı	14,37	Kavrulmuş badem	0,12
Vişne	2,68	Badem Sütü	0,05
Kiraz	3,89	Badem Unu	0,03
Nektarin	0,12	Elma Suyu (%100 sıkma)	0,09
Şeftali	6,81	UHT Elma Suyu	0,004
Yeşil Erik	17,49	Elma Püresi	0,02
Siyah Erik	10,00	Şeftali içeceği	0,04
Mor Erik	2,16	Kavrulmuş kabak çekirdeği	Tespit edilmemiş
Sarı Erik	1,54		
Kırmızı Erik	0,44		
Elma	2,96		
Armut	1,29		
Dolmalık Kabak	0,21		
Salatalık	0,07		
Sakız Kabağı	0,06		
Kavun	0,12		

Acı badem türlerinin, tatlı badem türlerine göre daha fazla amigdalin içeriğine sahip oldukları tespit edilmiştir [28]. Acı, yarı acı ve tatlı kayısı çeşitleri üzerinde yapılan incelemelerde ortalama amigdalin içeriği sırasıyla 40,06 mg/g, 0,99 mg/g ve 0,06 mg/g olarak saptanmıştır [29]. Conn [30] kayısı çekirdeğinin 9-37 mg/g (20-80 µmol/g), acıbadem çekirdeğinin ise 46 mg/g (100 µmol/g) düzeyinde amigdalin içerdiğini belirtmiştir. Ancak Hosseini ve ark. [31] kayısı çekirdeği ve badem için daha düşük değerler tespit etmiştir. Şeftali çekirdeğinin 0,020 mg/g, kayısı çekirdeğinin 0,022 mg/g, kiraz çekirdeğinin 0,051 mg/g, yabani bademin 0,176-0,370 mg/g, tatlı badem yağının 0,047 mg/g ve acı badem yağının 0,092 mg/g düzeyinde amigdalin içerdiği saptanmıştır [31]. Elma çekirdeklerinin amigdalin içeriğinin incelendiği çalışmada toplam 15 çeşit elma çekirdeğinin 1-4 mg/g arasında değişen miktarlarda amigdalin içerdiği saptanmıştır [32].

İşlenmiş ürünlerin amigdalin içeriğinin daha düşük olduğu, işleme sırasında değişik nedenlerle amigdalinin azaldığı tespit edilmiştir. İşlenmiş gıdalarda saptanan amigdalin düzeyinin 0,004-0,120 mg/g arasında değişmesi nedeniyle bu gıdalarda herhangi bir toksik etkinin söz konusu olmadığı belirtilmiştir [27].

2.4. Amigdalinin Parçalanması

Amigdalinin parçalanması enzimatik aktivite, ısıl işlem, mineral asitler ve yüksek askorbik asit konsantrasyonları ile gerçekleşebilmektedir [6, 23, 33]. Amigdalinin parçalanmasını sağlayan β-glikozidaz aktivitesinin bitkisel kaynaklarda ve bazı bağırsak bakterilerinde bulunduğu bildirilmiştir [4]. Ayrıca *Mucor circinelloides* LU M40 ve *Penicillium aurantiogriseum* P 35 küflerinin de amigdalinin parçalanmasını sağlayan hücre dışı β-glikozidazlar ürettiği tespit edilmiştir [3].

Amigdalinin enzimatik hidrolizi ilk kez 1837 yılında Wohler ve Liebig tarafından gerçekleştirilmiştir [34]. Enzimatik hidroliz kademeli bir şekilde gerçekleştiğinden (Şekil 3) ilk aşamada amigdalin bir β -glikozidaz olan amigdalin hidrolaz enzimi (EC 3.2.1.117) ile glikoz ve prunasine parçalanır. Prunasin ise prunasin hidrolaz enzimi (EC 3.2.1.21) ile mandelonitril (α -hidroksinitril) ve glikoza hidrolize edilir. Son aşamada mandelonitril, β -mandelonitril liyaz [(R)-mandelonitril liyaz veya D- α -hidroksinitril liyaz] enzimi (EC 4.1.2.10) ile benzaldehit ve hidrojen siyanüre dönüştürülür [4, 29].

Amigdalinin insanlar tarafından nasıl metabolize edildiğini belirlemek için insan yapay sindirim sıvısı ve incebağırsak hücrelerinin (caco-2) kullanıldığı bir çalışmada, amigdalinin prunasin ve glikoza sindirim sistemi enzimleri tarafından parçalanabildiği, prunasinin β -glikozidaz içeren ince bağırsakta, mandelonitril ve glikoza dönüştürüldüğü ve mandelonitrilin ise hidroksil grubu eklenerek hidroksimandelonitril şekline dönüştürülüp emildiği saptanmıştır. Emilim sırasında benzaldehit veya hidrojen siyanür oluşumu gözlenmemiştir. Bu sonuç, amigdalin sindiriminden sonra zehirlenme görülmesinin temel nedeninin ince bağırsağın kalın bağırsağa yakın bölgelerindeki mikroorganizmalar tarafından amigdalinin parçalanması sonucu açığa çıkan hidrojen siyanürün emiliminden kaynaklandığını göstermektedir [35]. Ayrıca amigdalin içeren gıdadan veya bağırsakta bulunan diğer besinlerden kaynaklanan enzimler de hidrojen siyanür oluşumuna yol açabilmektedirler. Barceloux (4) insan bağırsaklarındaki bazı bakterilerin, amigdalinin hidrolizasyonunu sağlayan enzimlere sahip oldukları için bitkisel kaynaklı enzimlerin yokluğunda bile amigdalinden toksik HCN üretiminin söz konusu olduğunu belirtmiştir. Antibiyotik uygulamasıyla bağırsak florasının önemli ölçüde imha edilmesi durumunda amigdalinin benzaldehit ve siyanüre parçalanmasının önemli ölçüde engellenmesi nedeniyle amigdalinin metabolize edilmesinde bağırsak bakterilerinden ileri gelen enzimlerin önemli rol oynadığı belirtilmiştir [36].

Amigdalinin mandelonitrile hidrolizi genellikle hafif asidik koşullarda (pH 5,0-5,8) gerçekleşirken mandelonitrilin, benzaldehit ve HCN'e parçalanması alkali koşullarda (pH 10) daha hızlı gerçekleşir. Bu aşamaların katalizini sağlayan enzimler genellikle 20-40°C'de aktivite gösterirken daha yüksek sıcaklıklarda imha olurlar [37].

Amigdalinin parçalanmasını sağlayan enzimlerin amigdalinin epimeri olan neoamigdalin (S-amigdalin) üzerinde etkili olmadıkları bildirilmiştir [38]. Amigdalinin sulu çözeltilerindeki epimerizasyonunun, ortama % 3-5 oranında sitrik asit ilavesiyle önlenemediği saptanmıştır [39].

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar amigdalinin vücuttan atılımının hızlı olduğunu, emilen miktarın %62-96'sının sindirimden sonra ilk 24 saat içerisinde idrarla atıldığını göstermiştir. Karaciğer vasıtasıyla amigdalin atımı, böbrekler ile atıma oranla oldukça düşük düzeydedir. Kanser hastalarına damar yoluyla verilen 500 mg amigdalinin yarı ömrünün yaklaşık 2 saat olduğu görülmüştür [4].

Amigdalinin gıda maddelerinden uzaklaştırılması, amigdalinin parçalanmasıyla mümkün olabilmektedir. Tuncel ve ark. [40] *Rhizopus oligosporus* küfü ile gerçekleştirdikleri fermentasyon işlemi sonrasında kayısı çekirdeklerinden hidrojen siyanür oluşma potansiyelini %70 oranında azaltmışlardır. Bu düzeyin toksikolojik açıdan yetersiz kaldığını belirten araştırmacılar partikül boyutunun sınırlayıcı bir faktör olması nedeniyle yaklaşık 2 mm boyutuna kadar yapılan parçalama işleminin amigdalinin uzaklaştırılma etkinliğini artırdığını saptamışlardır. Ayrıca farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtma işlemi ile 100°C'de farklı sürelerde pişirme işleminin de amigdalinin uzaklaştırılmasında yararlı olduğu görülmüştür [37].

2.5. Amigdalinin Sağlık Üzerindeki Etkileri

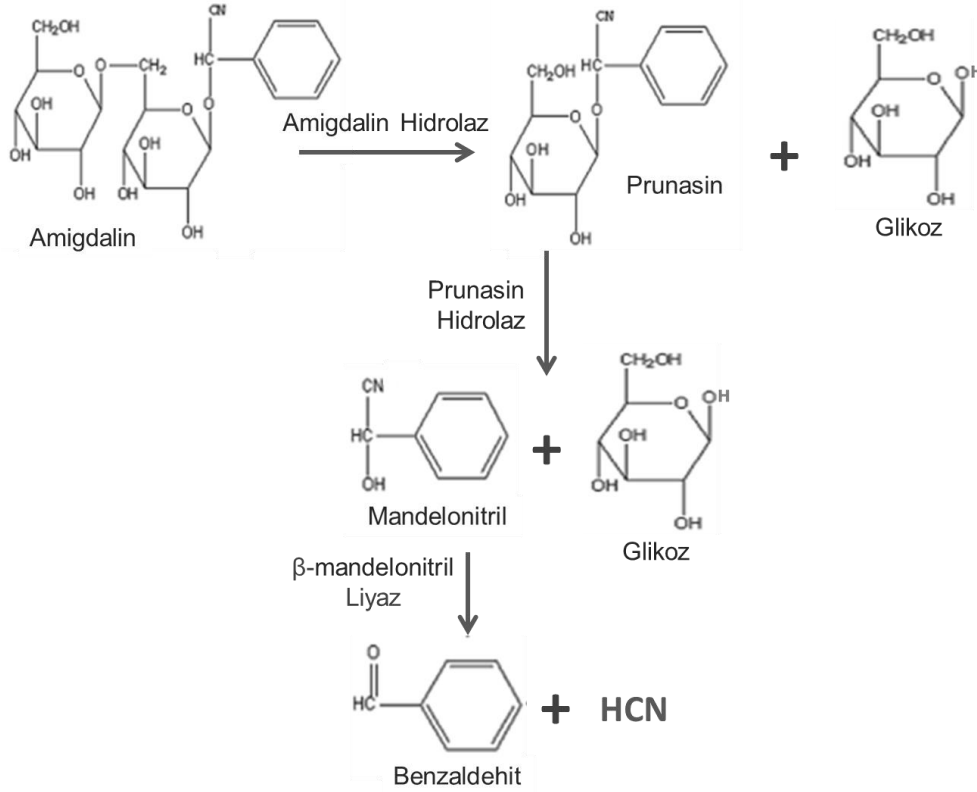
2.5.1. Zehirleyici Etkisi

Kayısı, badem, elma, vişne, şeftali, manyok (cassava), erik gibi meyvelerin çekirdeklerinde bulunan siyanojenik glikozit amigdalinin parçalanması sonucunda oluşan siyanür zehirlenmeye yol açmaktadır [5, 41, 42]. Parçalanmamış formdaki amigdalin zehirleyici etki göstermemektedir. Amigdalinin parçalanması sonucu oluşan hidrojen siyanür zayıf asidik (pK_a : 9,22) özellikte olup bağırsak sistemi tarafından hızlı bir şekilde emilir. Emilime uğrayan hidrojen siyanür kan yoluyla bütün vücuda yayılır ve ölümle sonuçlanabilen zehirlenmelere yol açar [23]. Kan veya dokularda siyanür birikmesi söz konusu değildir [8]. Hidrojen siyanür 25,7°C gibi düşük bir kaynama sıcaklığına sahip olduğundan oda koşullarında hızla gaz formuna geçer. Suda çözülmüş haldeki hidrojen siyanürden 300 mg tüketen insanların 2 dakika içerisinde öldükleri belirlenmiştir [23]. Siyanür için güvenli üst sınırın 18 mg/gün olduğu tahmin edilmektedir [43].

Amigdalinin insanlardaki toksik dozu kg vücut ağırlığı başına 0,5-3,5 mg arasında değişmektedir [4, 7, 13, 19, 41, 44]. Ağız yoluyla sıçanlara verilen amigdalinin LD₅₀ (deney koşullarında hayvanların %50'sinin ölümüne yol açan doz) değerinin 0,88 g/kg vücut ağırlığı olduğu belirtilmiştir. Farelerde, amigdalinin damar içine enjekte edilmesi durumunda LD₅₀ değerinin 25 g/kg, vücut boşluğuna enjekte edilmesi durumunda ise 8 g/kg olduğu

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

saptanmıştır. Amigdalinin damar içi uygulamasında maksimum tolerans limiti fare, tavşan ve köpeklerde 3 g/kg, insanlarda ise 0,07 g/kg olarak belirlenmiştir [45].



Şekil 3. Amigdalinin enzimatik hidrolizi

Chaouali ve ark. [46] tek seferde 50 adet acı badem tüketiminin yetişkinler, 5-10 adet tüketiminin ise çocuklar için ölümcül olduğunu belirtmişlerdir (bir kg acı bademin ortalama 1062 mg HCN açığa çıkardığı dikkate alınarak). Yüz mililitre kan serumunda 20 μ g HCN bulunmasının zehirleyici, 300 μ g bulunmasının ise ölümcül olduğu görülmüştür [47].

Siyanürün temel hedefi hücrelerin enerji kaynağı olan adenozin trifosfat (ATP) üretiminin yapıldığı oksidatif fosforilasyon sistemidir [7]. Bu sistemdeki enzimler ile siyanür arasındaki etkileşim sonucunda sitokrom oksidaz-siyanür kompleksleri oluşur ve hızlı bir şekilde sitokrom oksidaz enziminin aktivitesi durdurulur. Sonuçta oksidatif fosforilasyon sistemi elektron taşıma görevini yerine getiremez hale gelir. Oksidatif fosforilasyon sisteminin durması Krebs çevriminde pirüvatın kullanımını da engeller. Bu koşullarda pirüvat anaerobik solunum yoluyla laktik aside dönüştürüldüğünden laktik asit birikimi ve metabolik asidoz gerçekleşir [8,43].

Siyanür zehirlenmesinin belirtileri doza bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Düşük ve orta düzeydeki siyanür zehirlenmelerinde baş ağrısı, metalik tat, mide bulantısı, kusma, karın krampları, baş dönmesi, halsizlik, sersemlik, çırpınma, düşük tansiyon, kalp ritim bozukluğu gibi belirtiler, şiddetli zehirlenmelerde ise koma, kalp ve solunum durması ve ölüm görülebilir. Nefeste acıbadem kokusu siyanür zehirlenmesini akla getiren bir bulgudur. Belirtilerin gelişmesi doza bağlı olarak çok hızlı olabilir ve 20 dakika veya daha kısa süre içerisinde solunum yetersizliği ile ölüm gelişebilir [7, 48, 49].

Siyanür kaynaklı orta düzeyde zehirlenmelerde hastaya destek verilmesi yeterlidir. Bilinç kaybı, yüksek asidoz ve düşük tansiyon gibi belirtilerin olduğu şiddetli zehirlenmelerde antidot tedavisi uygulanır. Hastaya solunum yoluyla 4-5 kez amil nitrit verilip kandaki methemoglobin oranı artırılır. Böylece siyanürün siyano-methemoglobin kompleksi şeklinde bağlanması sağlanır. Daha sonra hastaya tiyosülfat verilerek siyano-methemoglobin kompleksinden ayrılan serbest siyanürün tiyosiyonata dönüşmesi sağlanır. Daha çabuk etki gösterdiği belirtilen hidroksikobalamin ve kobalt-EDTA gibi bileşiklerin tek başlarına veya diğer bileşikler ile birlikte kullanımı önerilmektedir. Piyasada, antidot olarak hidroksikobalamin ve sodyum tiyosülfat içeren ampuller bulunmaktadır [4, 43, 49].

İnsanlarda siyanürün metabolize edilmesinde birkaç yol söz konusudur. Vücuda alınan siyanürün yaklaşık %80'i karaciğerdeki rodanaz (tiyosülfat sülfür transferaz) enzimi aktivitesi ile tiyosülfat varlığında sülfürlenerek tiyosiyonata (SCN⁻) dönüştürülür ve tiyosiyonat da idrarla dışarı atılır [8, 43]. Ayrıca 3-merkaptopirüvat sülfür transferaz enzimi de siyanürün tiyosiyonata dönüşümünü sağlamaktadır [2]. Siyanürün tiyosiyonata dönüşümünü sağlayan enzimlerin konsantrasyonu dokulara göre değişkenlik göstermekle birlikte en yüksek miktarın karaciğer ve böbreklerde gözlemlendiği bildirilmiştir [50]. Siyanür, sistein aminoasidi ile reaksiyona girerek aminotiyazolidinkarboksilik asit ve iminotiyazolidinkarboksilik aside dönüşür. Diğer bir mekanizmada ise hidroksikobalamin siyanürü zararsız siyano-kobalamine ve sonra da tiyosiyonata dönüştürür. Bu yan ürünler de idrarla dışarı atılır [8, 43].

Birçok tohum ve meyvenin yapısında bulunan ve enzimatik ürün olarak hidrojen siyanür oluşturan amigdalin beslenme yoluyla vücudumuza almamıza rağmen toksik etki oluşmamaktadır. Bunun nedeni tüketilen amigdalinin toksik etki oluşturacak miktarda siyanür açığa çıkmamasıdır [43]. Bununla birlikte β -glikozidaz ve hidroksinitril liyaz enzimlerini ve amigdalinin birlikte içeren kayısı çekirdeği içi, vişne çekirdeği içi veya elma çekirdeği içi tüketen insanların amigdalinin zehirlendiğine dair çok sayıda örnek mevcuttur [13]. Bitkisel kaynaklı gıdalardaki amigdalinin enzimatik hidrolizi gıdanın parçalanma ve çiğnenme düzeyine bağlı olarak 30-360 dakika arasında gerçekleşmektedir [37].

Siyanür zehirlenmesinden korunmak amacıyla yüzyıllardır gıdalar soyma, parçalama, öğütme, ıslatma, fermentasyon ve kurutma gibi işlemlere tabi tutulmaktadır. Bu uygulamaların amacı suda çözünür glikozitlerin su ile uzaklaştırılması ya da mikrobiyal veya bitkisel enzimlerin aktivitesiyle maksimum düzeyde hidrojen siyanür üretilip bunun atmosfer aracılığıyla uzaklaştırılmasıdır [27].

Amigdalinin izomerizasyona uğraması onun zehirleyici etkisini ortadan kaldırmaktadır. Bu durum, parçalanmada etkili olan enzimlerin amigdalinin sadece D-amigdalin izomerine karşı aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır. Hwang ve ark. [38] su içerisinde 3 dakika kaynatılan D-amigdalinin önemli ölçüde neoamigdaline (S-amigdalin, amigdalin epimeri) dönüşerek toksik etkisini yitirdiğini bildirmiştir.

2.5.2. Tedavi Edici Etkisi

Acıbadem, kayısı çekirdeği, şeftali çekirdeği vb. amigdalin içeren ürünler Mısır, Çin ve Hindistan gibi çeşitli ülkelerde binlerce yıldır tedavi amacıyla kullanılmaktadır [19]. Amigdalin, alyuvar üretiminin kaybı ile karakterize edilen kansızlık, astım, yüksek tansiyon, damar sertliği, şeker hastalığı, migren ve tümörlerin tedavisi amacıyla alternatif tıpta kullanılan ilaçların aktif bileşenidir [17, 20, 51, 52]. 1950'li yıllarda amigdalinin yarı-sentetik formu olan Leatril Ernst T. Krebs tarafından geliştirilmiş ve patenti alınmıştır [22]. Amigdalinin Rusya'da anti-kanserojen olarak kullanılması 1845 yılına kadar uzanır [53]. Ancak 1953 yılında Kaliforniya Tıp Birliği komisyonu amigdalinin kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili iddiaları incelemiş ve 1953 yılında bu iddiaların doğru olmadığına karar vermiştir. Aynı şekilde 1959 yılında Kaliforniya eyaletinde kabul edilen bir kanun ile amigdalin kullanımı yasaklanmıştır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi başta olmak üzere birçok ülkenin ilgili kuruluşları tarafından yasaklanmış olmasına karşın amigdalin kullanımı hala devam etmektedir [22, 54]. Amigdalinin 1970'li yılların en gözde alternatif tıp ilacı olduğu ve bu yıllarda yetmiş bin kadar Amerikalı kanser hastasının tedavi amacıyla amigdalin kullandığı belirtilmiştir [45, 55].

Amigdalinin insan prostat kanser hücrelerinde (DU145 ve LNCap) programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) teşvik ettiği saptanmıştır [56]. Park ve ark. [57] tarafından yapılan çalışmada, amigdalinin insan kolon kanseri hücrelerinin döngüsünde rol alan DNA'ya zarar vererek anti-kanserojen etki gösterdiği ve bu nedenle kanser ilacı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Ayrıca Makarević ve ark. [58] tarafından gerçekleştirilen çalışmada da amigdalinin prostat kanser hücreleri üzerinde önemli düzeyde anti-tümör aktivite gösterdiği saptanmış ve bu nedenle de tedavi amacıyla kullanımı üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Aghadavod [52] yaptığı literatür incelemesinde, amigdalinin damar sertliği ve şeker hastalığının tedavisinde ve kanser oluşumunun önlenmesinde pozitif etkiye sahip olduğu sonucuna ulaşmıştır. Diğer taraftan amigdalinin anti-kanserojen etki göstermediği, parçalanma ürünlerinden bazılarının böyle bir aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [59]. Song ve Xu [19] tarafından amigdalinin tümör hücreleri üzerine etkili olduğu ancak etki mekanizması üzerinde yeterli çalışmanın bulunmadığı ifade edilmiştir. Amigdalinin kullanılan doza bağlı olarak boğa sperma hücrelerine zarar verdiği saptanmıştır [60]. Amigdalinin özellikle hastalığı ilerlemiş kişilerde hızlı ve belirgin bir şekilde tümör gelişimini engellediğine dair ikna edici verilerin bulunmadığı, ancak amigdalinin tedavi edici etkisinin olup olmadığı konusunun açıklığa kavuşturulmaya ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir [54].

Literatür bilgilerden de anlaşılacağı üzere amigdalinin tedavi edici özelliklere sahip olup olmadığı konusu henüz yeterince açıklığa kavuşturulmamıştır. Konu üzerindeki tartışmalar ve araştırmalar devam etmektedir. Konunun netlik kazanmamış olmasına rağmen amigdalin tabletlerinin hala ticari olarak "laetril" veya vitamin "B17" adlarıyla doğal diyet takviyesi şeklinde satışa sunulduğu görülmektedir [11]. Günümüzde birçok internet sitesi amigdalin satışı yapmakta ve birçok doktor da tedavi amacıyla amigdalin kullanmaktadır [54].

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

3. SONUÇLAR

Bitkilerde çok yaygın olarak bulunan siyanojenik glikozitler parazit ve otoburlara karşı savunmada önemli bir kimyasal silah konumundadır. Genellikle *Rosaceae* ailesinin *Prunus* cinsine ait bitkilerde bulunan ve en çok karşılaşılan siyanojenik glikozit amigdalinidir. Kayısı, badem, kiraz, elma, erik, armut ve şeftali gibi meyvelerin çekirdeklerinde bulunur. D-mandelonitril-β-D-gentiobiyozit, D(-)-amigdalin, R-amigdalin, laetril ve vitamin B₁₇ gibi isimlerle de anılmaktadır. Amigdalinin hidrolizi enzimatik aktivite, ısı işlem, mineral asitler ve yüksek askorbik asit konsantrasyonları ile gerçekleşebilmektedir. Amigdalinin parçalanmasını sağlayan enzimlerin amigdalinin epimeri olan neoamigdalin (S-amigdalin) üzerinde etkili olmadıkları görülmüştür. Parçalanması sonucunda oluşan siyanür zehirlenmeye yol açmaktadır. Amigdalinin insanlardaki zehirleyici dozu kg vücut ağırlığı başına 0,5-3,5 mg arasında değişmektedir. Siyanürün temel hedefi hücrelerin enerji kaynağı olan adenozin trifosfat (ATP) üretiminin yapıldığı oksidatif fosforilizasyon sistemidir. Siyanür zehirlenmesinden korunmak amacıyla yüzyıllardır gıdalar soyma, parçalama, öğütme, ıslatma, fermentasyon ve kurutma gibi işlemlere tabi tutulmaktadır. Amigdalin, alyuvar üretiminin kaybı ile karakterize edilen kansızlık, astım, damar sertliği, şeker hastalığı ve özellikle de kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde birçok internet sitesi amigdalin satışı yapmakta ve birçok doktor da tedavi amacıyla amigdalin kullanmaktadır. Laboratuvar koşullarında yapılan bazı çalışmalarda tümör gelişiminin engellenmesine dair olumlu sonuçlar elde edilmiş olmasına karşın özellikle hastalığı ilerlemiş kişilerde amigdalinin tümör gelişimini önlediğine ilişkin ikna edici veriler bulunmamaktadır. Bu nedenle amigdalinin anti-kanserojen etkisinin olup olmadığı konusunun biran önce açıklığa kavuşturulması için ayrıntılı bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] VETTER, J., “Plant Cyanogenic Glycosides”, *Toxicon*, 38, 11-36, 2000.
- [2] ZAGROBELNY, M., BAK, S., RASMUSSEN, A.N., JØRGENSEN, B., NAUMANN, C.M., MØLLER, B.L., “Cyanogenic Glycosides and Plant-Insect Interactions”, *Phytochemistry*, 65, 293-306, 2004.
- [3] BRIMER, L., CICALINI, A.R., FEDERICI, F., PETRUCCIOLI, M., “Amygdalin Degradation by *Mucor Circinelloides* and *Penicillium Aurantiogriseum*: Mechanisms of Hydrolysis”, *Arch Microbiol*, 169, 106-112, 1998.
- [4] BARCELOUX, D.G., “Cyanogenic Foods (Cassava, Fruit Kernels and Cycad Seeds)”, *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Toxic Plants, and Venomous Animals*, 55, 336-352, 2009.
- [5] POULTON, J.E., “Cyanogenesis in Plants”, *Plant Physiol.*, 94, 401-405, 1990.
- [6] <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je18.htm> (erişim tarihi 20.08.2016).
- [7] BEASLEY, D.M.G., GLASS, W.I., “Cyanide Poisoning: Pathophysiology and Treatment Recommendations”, *Occupational Medicine*, 48(7), 427-431, 1998.
- [8] WORLD HEALTH ORGANIZATION, “Hydrogen Cyanide and Cyanides: Human Health Aspects”. Concise International Chemical Assessment Document 61, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2004.
- [9] CARTER, J.H., MCLAFFERTY, M.A., GOLDMAN, P., “Role of the Gastrointestinal Microflora in Amygdalin (Laetrile)-Induced Cyanide Toxicity”, *Biochemical Pharmacology*, 29, 301-304, 1980.
- [10] BARCELOUX, D.G., “Cyanogenic Foods (Cassava, Fruit Kernels, and Cycad Seeds)”, *Medical Toxicology of Natural Substances*, 55, 336-352, 2009.
- [11] WAHAB, M.F., BREITBACH, Z.S., ARMSTRONG, D.W., STRATTAN, R., BERTHOD, A. (2015). “Problems and Pitfalls in the Analysis of Amygdalin and its Epimer”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(40), 8966-8973, 2015.
- [12] HILL, G.J., SHINE, T.E., HILL, H.Z., MILLER, C., “Failure of Amygdalin to Arrest B16 Melanoma and BW5147 AKR Leukemia”, *Cancer Research*, 36, 2102-2107, 1976.
- [13] LEWIS, J., “Latrile”, *The Western Journal of Medicine*, 127, 55-62, 1977.
- [14] MOERTEL, C.G., AMES, M.M., KOVACH, J.S., MOYER, T.P., RUBIN, J.R., TINKER, J.H., “A Pharmacologic and Toxicological Study of Amygdalin”, *Jama*, 245, 591-594, 1981.
- [15] NEWMARK, J., BRADY, R.O., GRIMLEY, P.M., GAL, A.E., WALLER, S.G., THISTLETHWAITE, R., “Amygdalin (Laetrile) and Prunasin (3-Glucosidases: Distribution in Germ-Free Rat and in Human Tumor Tissue”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 78(10), 6513-6516, 1981.
- [16] CHANG, H.K., YANG, H.Y., LEE, T.H., SHIN, M.C., LEE, M.H., SHIN, M.S., KIM, C.J., KIM, O.J., HONG, S.P., CHO, S. “*Armeniacae semen* Extract Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Expressions of

- Cyclooxygenase-2 and Inducible Nitric Oxide Synthase in Mouse BV2” Microglial Cells. Biol. Pharm. Bull., 28(3), 449-454, 2005.
- [17] YAN, J., TONG, S., LI, J., LOU, J., “Preparative Isolation and Purification of Amygdalin from *Prunus armeniaca* L. With High Recovery by High-Speed Countercurrent Chromatography”, Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 29, 1271-1279, 2006.
- [18] ERDOĞAN-ORHAN, I., KARTAL, M., “Insights into Research on Phytochemistry and Biological Activities of *Prunus armeniaca* L. (apricot)”, Food Research International, 44, 1238-1243, 2011.
- [19] SONG, Z., Xu, X., “Advanced Research on Anti-tumor Effects of Amygdalin”, Journal of Cancer Research and Therapeutics, 10,3-7, 2014.
- [20] WANG, T., LU, S., XIA, Q., FANG, Z., JOHNSON, S., “Separation and Purification of Amygdalin from Thinned Bayberry Kernels by Macroporous Adsorption Resins”, Journal of Chromatography B, 975, 52-58, 2015.
- [21] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.31979.html> (erişim tarihi: 17.08.2016)
- [22] GREENBERG, D. M., “The Vitamin Fraud in Cancer Quackery”, The Western Journal of Medicine, 122, 345-348, 1975.
- [23] HERBERT, V., “Laetrile: The Cult of Cyanide Promoting Poison for Profit, Nutrition Education, 32, 1121-1158, 1979.
- [24] JUKES, T.H., “Laetrile for Cancer”, JAMA, 236(11), 1284-1286, 1976.
- [25] CAIRNS, T., FROBERG, J. E., GONZALES, S., LANGHAM, W. S., STAMP, J. J., HOWIE, J. K., SAWYER, D.T., “Analytical Chemistry of Amygdalin”, American Chemical Society, 50, 317- 322, 1978.
- [26] CHANG, J., ZHANG, Y., “Catalytic Degradation of Amygdalin by Extracellular Enzymes from *Aspergillus niger*” Process Biochemistry, 47, 195-200, 2012.
- [27] BOLARINWA, I.F., ORFILA, C., MORGAN, M.R.A., “Amygdalin Content of Seeds, Kernels and Food Products Commercially-available in the UK, Food Chemistry, 152, 133-139, 2014.
- [28] YILDIRIM, F.A., ASKIN, M.A., “Variability of Amygdalin Content in Seeds of Sweet and Bitter Apricot Cultivars in Turkey, African Journal of Biotechnology, 9(39), 6522-6524, 2010.
- [29] LEE, J., ZHANG, G., WOOD, E., CASTILLO, C.R., MITCHELL, A.E., “Quantification of Amygdalin in Nonbitter, Semibitter, and Bitter Almonds (*Prunus dulcis*) by UHPLC-(ESI)QqQ MS/MS”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 7754–7759, 2013.
- [30] CONN, E.E., “Biosynthesis of Cyanogenic Glycosides” Naturwissenschaften, 66, 28-34, 1979.
- [31] HOSSEINI, M., HEYDARI, R., ALIMORADI, M., “Reversed-phase vortex-assisted liquid–liquid Microextraction: A New Sample Preparation Method for the Determination of Amygdalin in oil and Kernel samples”, Journal of separation science, 38(4), 663-669, 2015.
- [32] BOLARINWA, I.F., ORFILA, C., MORGAN, M.R., “Determination of Amygdalin in Apple Seeds, Fresh Apples and Processed Apple Juices” Food chemistry, 170, 437-442, 2015.
- [33] BROMLEY, J., HUGHES, B. GM., LEONG, D.C.S., BUCKLEY, N.A., “Life Threatening Interaction Between Complementary Medicines: Cyanide Toxicity Following Ingestion of Amygdalin and Vitamin C”, The Annals of Pharmacotherapy, 39, 1566-1569, 2005.
- [34] HAISMAN, D.R., KNIGHT, D.J. “The Enzymic Hydrolysis of Amygdalin”, Biochem. J., 108, 528-534, 1967.
- [35] SHIM, S.M., KWON, H., “Metabolites of Amygdalin Under Simulated Human Digestive Fluids”, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 61(8), 770-779, 2010.
- [36] STRUGALA, G.J., RAUWS, A.G., ELBERS, R., “Intestinal First Pass Metabolism of Amygdalin in the Rat in vitro, Biochemical Pharmacology, 35, 2123–2128, 1986.
- [37] TUNÇEL, G., NOUT, M.J.R., BRIMER, L., “The effects of grinding, soaking and cooking on the degradation of amygdalin of bitter apricot seeds”, Food Chemistry, 53, 447-451, 1995.
- [38] HWANG, E.Y., LEE, J.H., LEE, Y.M., HONG, S.P., “Reverse-phase HPLC Separation of D-Amygdalin and Neoamygdalin and Optimum Conditions for Inhibition of Racemization of Amygdalin”, Chem. Pharm. Bull., 50(10), 1373-1375, 2002.
- [39] KOO, J.Y., HWANG, E.Y., CHO, S., LEE, J. H., LEE, Y.M., HONG, S.P., “Quantitative Determination of Amygdalin Epimers from Armeniaceae Semen by Liquid Chromatography”, Journal of Chromatography B, 814, 69-73, 2005.
- [40] TUNÇEL, G., NOUT, M.J.R., BRIMER, L., GOKTAN, D., “Toxicological, Nutritional and Microbiological Evaluation of Tempe Fermentation with *Rhizopus oligosporus* of Bitter and Sweet Apricot Seeds”, International Journal of Food Microbiology, 11, 337-344, 1990.
- [41] MOSS, M., KHALIL, N., GRAY, J., “Deliberate self-poisoning with Laetrile”, CMA Journal, 125, 1126-1127, 1981.
- [42] VALE, A., “Cyanide”, Medicine, 40(3), 121, 2011.

AMİGDALİN VE ÖZELLİKLERİ

- [43] ÇABUK, A., KOLANKAYA, N., “Siyanürün Toksisitesi Ve Biyolojik Yıkımı”, Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi-Sigma 30, 20-38, 2012.
- [44] SADOFF, L., FUCHS, K., HOLLANDER, J., “Rapid Death Associated with Laetrile Ingestion”, JAMA, 239(15), 1532, 1978.
- [45] KOLESÁR, E., HALENÁR, M., KOLESÁROVÁ, A., MASSÁNYI, P., “Natural Plant Toxicant-Cyanogenic Glycoside Amygdalin: Characteristic, Metabolism and the Effect on Animal Reproduction”, Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 4, 49, 2015.
- [46] CHAOUALI, N., GANA, I., DORRA, A., KHELIFI, F., NOUIOUI, A., MASRI, W., BELWAER, I., GHORBEL, H., HEDHILI, A., “Potential Toxic Levels of Cyanide in Almonds (*Prunus amygdalus*), Apricot Kernels (*Prunus armeniaca*), and Almond Syrup”. ISRN Toxicology, 610648, 1-6, 2013.
- [47] SAUER, H., WOLLNY, C., OSTER, I., TUTDIBI, E., GORTNER, L., GOTTSCHLING, S., MEYER, S., “Severe Cyanide Poisoning from an Alternative Medicine Treatment with Amygdalin and Apricot Kernels in a 4-year-old Child”, Wien. Med. Wochenschr, 165, 185-188, 2015.
- [48] GELLER, R.J., BARTHOLD, C., SAIERS, J.A., Hall, A.H., “Pediatric Cyanide Poisoning: Causes, Manifestations, Management, and Unmet Needs”, Pediatrics, 118, 2146-2158, 2006.
- [49] ÖZKAN, G., KARCI, İ., ATEŞ, A.G., ANIL, M., İLHAN, Ö., ATEŞLİ, R., YAPRAK, I., “İki Kardeşle Kayısı Çekirdeği Yenmesiyle Oluşan Akut Siyanür Zehirlenmesi”, Smyrna Tıp Dergisi, 48, 47-49, 2013.
- [50] SYLVESTER, M., SANDER, C., “Immunohistochemical Localization of Rhodanese”, Histochemical Journal, 22, 197-200, 1990.
- [51] CHEN, J., YAN, X., KIM, T.J., KIM, S.H., KIM, K.T., LEE, Y.K., CHO, C.W., BAEK, J., PARK, Y.K., KIM, Y.H., LEE, W., KANG, J.S., “Metabolic Pharmacokinetics in Rats: Differences between Pure Amygdalin and Amygdalin in a Decoction of Peach Seeds”, Bull. Korean Chem. Soc., 33(5), 1470-1474, 2012.
- [52] AGHADAVOD, E., “Amygdalin; Is It an Anticancer and Antitumor Agent?”, Immunopathologia Persa, 2(2), 22, 2016.
- [53] MOSS, R.W., “The laetrile controversy”, The Cancer Industry: The Classic Expose on the Cancer Establishment, 131-152, 1996.
- [54] BLAHETA, R.A., NELSON, K., HAFERKAMP, A., JUENGEL, E., “Amygdalin, Quackery or Cure?”, Phytomedicine, 23(4), 367-376, 2016.
- [55] MOSS, R.W., “Tijuana Cancer Clinics in the Post-NAFTA ERA”, Integrative Cancer Therapies, 4(1), 65-86, 2005.
- [56] CHANG, H.K., SHIN, M.S., YANG, H.Y., LEE, J.W., KIM, Y.S., LEE, M.H., KIM, J., KIM, K.H., KIM, C.J. “Amygdalin Induces Apoptosis through Regulation of Bax and Bcl-2 Expressions in Human DU145 and LNCaP Prostate Cancer Cells”, Biol. Pharm. Bull., 29(8): 1597-1602, 2006.
- [57] PARK, H.J., YOON, S.H., HAN, L.S., ZHENG, L.T., JUNG, K.H., UHM, Y.K., LEE, J.H., JEONG, J.S., JOO, W.S., YIM, S.V., CHUNG, J.H., HONG, S.P., “Amygdalin Inhibits Genes Related to Cell Cycle in SNU-C4 Human Colon Cancer Cells”, World J Gastroenterol, 11(33), 5156-5161, 2005.
- [58] MAKAREVIĆ, J., TSAUR, I., JUENGEL, E., BORGMANN, H., NELSON, K., THOMAS, C., BARTSCH, G., HAFERKAMPA, A., BLAHETA, R. A., “Amygdalin Delays Cell Cycle Progression and Blocks Growth of Prostate Cancer Cells in vitro”, Life sciences, 147, 137-142, 2016.
- [59] CHEN, Y., MA, J., WANG, F., HU, J., CUI, A., WEI, C., YANG, Q., LI, F., “Amygdalin Induces Apoptosis in Human Cervical Cancer Cell Line HeLa Cells”, Immunopharmacology and Immunotoxicology, 35(1), 43-51, 2013.
- [60] TANYILDIZI, S., BOZKURT, T., “In vitro Effects of Linamarin, Amygdalin and Gossypol Acetic Acid on Hyaluronidase Activity, Sperm Motility and Morphological Abnormality in Bull Sperm”, Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28(5), 819-824, 2004.
- [61] MIAO, X., ZHAO, Z., ZHU, H., LI, M., ZHAO, Q., “Comparison of Second-Derivative Spectrophotometry and HPLC for Determination of Amygdalin in Wild Apricot Kernels”. ScienceAsia, 39, 444-447, 2013.
- [62] BADR, J.M., TAWFIK, M.K., “Analytical and Pharmacological Investigation of Amygdalin in *Prunus armeniaca* L. Kernels”, Journal of Pharmacy Research, 3(9), 2134-2137, 2010.
- [63] BOLARINWA, I.F., ORFILA, C., MORGAN, M.R.A., “Development and Application of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the Quantification of Amygdalin, a Cyanogenic Glycoside, in Food”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62, 6299-6305, 2014.
- [64] TANAKA, R., NITTA, A., NAGATSU, A., “Application of a Quantitative ¹H-NMR Method for the Determination of Amygdalin in Persicae semen, Armeniaca semen, and Mume fructus”. J Nat Med, 68, 225-230, 2014.
- [65] LV, W.F., DING, M.Y., ZHENG, R., “Isolation and Quantification of Amygdalin in Apricot-kernel and *Prunus Tomentosa* Thunb. by HPLC with Solid-Phase Extraction”, Journal of Chromatographic Science, 43, 383-387, 2005.