Klinikum der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Neueste wissenschaftliche Erkenntnisse zur Wirkung von Amygdalin

Dr. Eva Jüngel

Klinik für Urologie und Kinderurologie

DAS UROLOGISCHE FORSCHUNGSLABOR

www.kgu.de/urologie

Universitätsklinikum Frankfurt, Goethe-Universität,
Klinik für Urologie und Kinderurologie
Direktion: Prof. Dr. med. A. Haferkamp

Prof. Dr. R.A. Blaheta	Laborleitung
Dr. E. Jüngel	Habilitandin, wissenschaftliche Mitarbeiterin
MS J. Rutz	biologischer Doktorand
I. Müller	Medizinisch Technische Assistentin (MTA)
S. Bangwhi	Medizinisch Technische Assistentin (MTA)

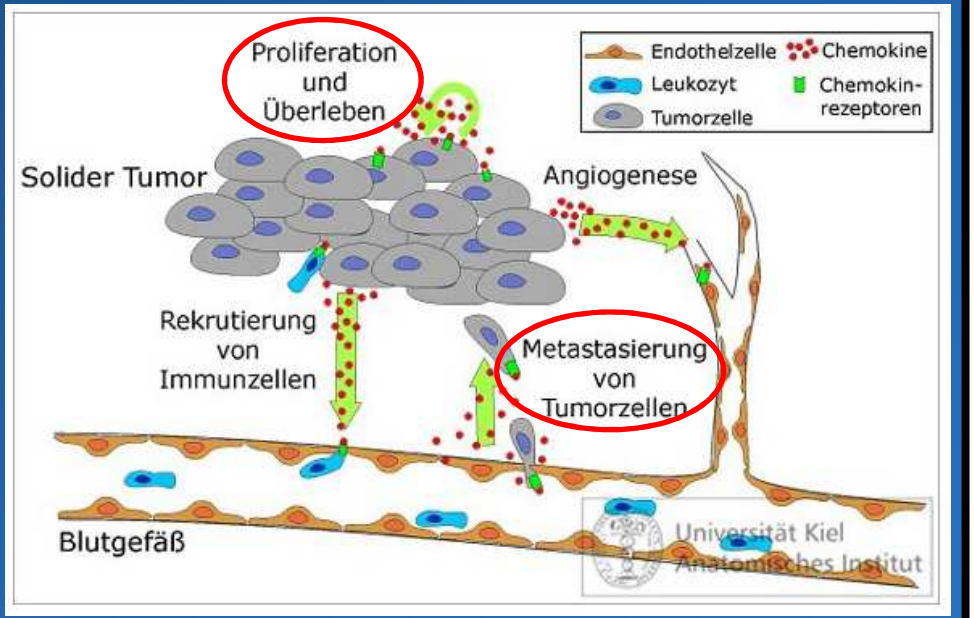
Austauschwissenschaftler (Kamerun, Jordanien, Pakistan), biologische Masterstudenten, medizinische Doktoranden, Praktikanten versch. Fachbereiche, Schülerpraktikanten

DAS UROLOGISCHE FORSCHUNGSLABOR

www.kgu.de/urologie

Schwerpunkt: Uro-Onkologische Fragestellungen

-> Wachstum
-> Metastasierung



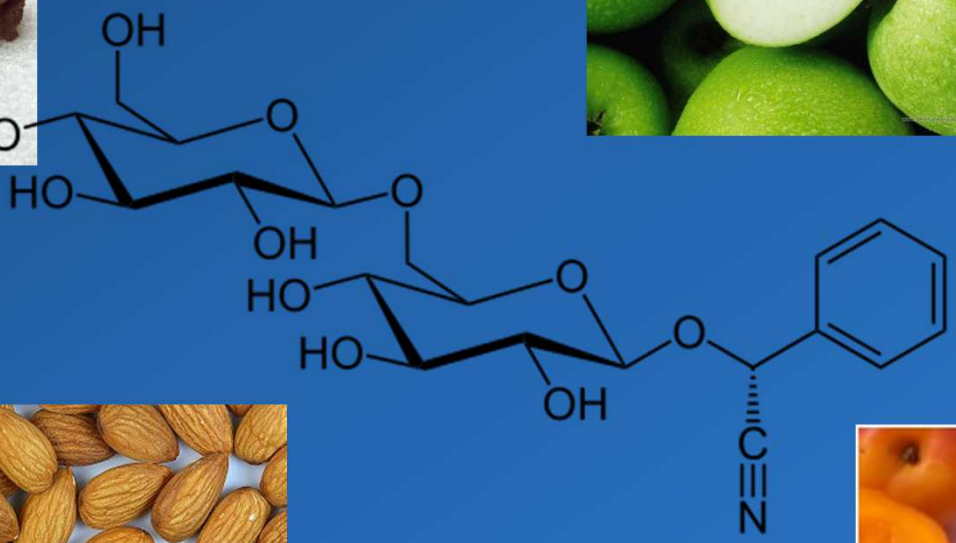
Tumorentitäten:
-Nierenzellkarzinom
-Prostatakarzinom
-Urothel-/Harnblasenkarzinom

Modellsysteme:
-> in vitro Zellkulturmodelle (konventionelle & primäre)
-> in vivo Tiermodelle (in Kooperation)
-> Gewebebank, Serum, Urin

AMYGDALIN

www.kgu.de/urologie

- cyanogenes Glykosid aus: Aprikosen-, Apfelkernen, bitteren Mandeln & Samen anderer Steinfrüchte



AMYGDALIN: STAND DER WISSENSCHAFT

www.kgu.de/urologie

- seit 1920er -> Tumorpatienten
- 1950er -> Laetril
- 70er Jahre populäre komplementärmedizinische Tumorbehandlung (Moos 2005, Integr Cancer Ther)
- tierexperimentelle Studien -> onkologische Wirksamkeit verneint (~Laetril) (Chitnis et al. 1985 J Cancer Res Clin Oncol; Koeffler et al. 1980, Cancer Treat Rep; Laster et al. 1975, Cancer Chemother Rep)
- retrospektive Analyse (n=67) -> 2 x komplettes & 4 x partielles Ansprechen (Newell & Ellison 1980, Cancer Treat Rep)
- intravenöse Gabe -> kein toxischer Cyanidspiegel
  & orale Gabe -> trotz erhöhtem Cyanidspiegel [2,1 µg/ml] (~Laetril)
  keine Intoxikation (Ames et al. 1981, Cancer Chemother Pharmacol., Moertel et al. 1981, JAMA)

AMYGDALIN: STAND DER WISSENSCHAFT

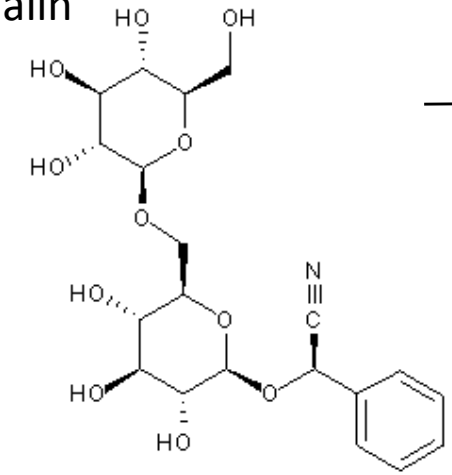
www.kgu.de/urologie

- klinische Studie: therapeutische Wirksamkeit verneint & Toxizität (Laetril) (Moertel et al. 1982, N Engl J Med.)
- multiple Fallberichte -> schwerwiegende Intoxikationen (Beamer 1983, Ann Emerg Med; Bromley et al. 2005, Ann Pharmacother)
- Übersichtsarbeit Cyanid-Intoxikationen: laborchemischer Parameter = Lactatazidose -> Koma mit Todesfolge ab 3,0 µg/ml (Huebner et al. 2014, Anticancer Res)
- experimentelle Arbeiten -> zytostatische Eigenschaften in Zellen des hepatozellulären Karzinoms, des Urothelkarzinoms , des Zervixkarzinoms und des Prostatakarzinoms (Zhou et al. 2012 Carbohydr Polym; Makarevic et al. 2014, PLoS One; Syrigos et al. 1998 Int J Cancer; Chen et al. 2013 Immunopharmacol Immunotoxicol; Chang et al. 2006, Biol Pharm Bull)

VERSTOFFWECHSELUNG

www.kgu.de/urologie

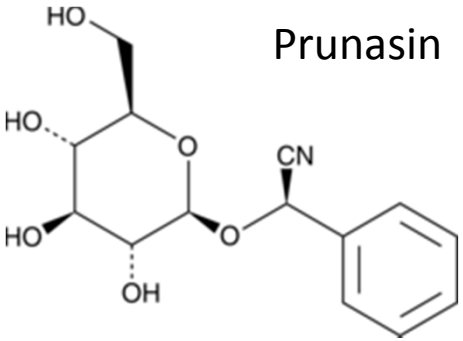
Amygdalin



D-mandelonitrile-β-D-gentiobioside

$C_{20}H_{27}NO_{11}$

β-glucosidase

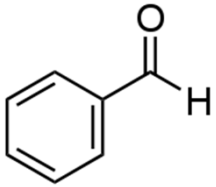


Prunasin

D-mandelontrile β-D-glucoside

$C_{14}H_{17}NO_6$

β-glucosidase



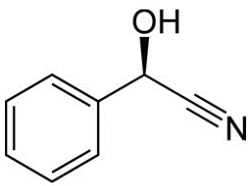
Benzaldehyde

+ Wasser & β-Glucosidase
=> HCN

Blausäure

$H-C\equiv N$

Cyanide



Mandelontrile

β-D-glucose

Rhodanese

Thiocyanate

AMYGDALIN

www.kgu.de/urologie

Diskrepanz

Wissen (toxisches & therapeutisches Potential)

<->

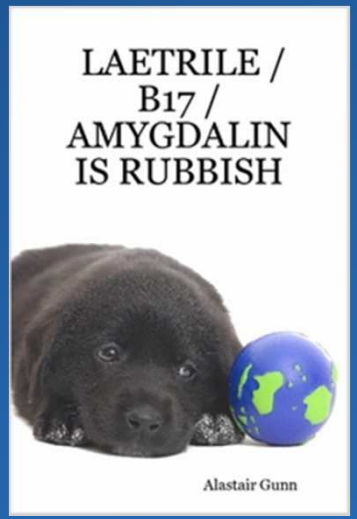
häufige Einnahme durch Karzinompatienten

=> neue Patientendaten fehlen

=> Bewertung BfArM bedenklich

AMYGDALIN

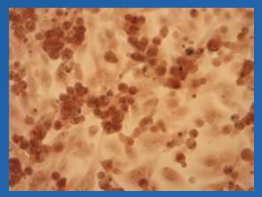
www.kgu.de/urologie



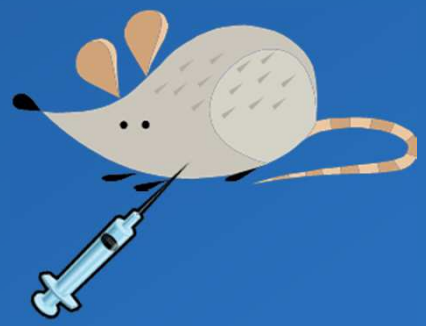
Eigene Projekte zum Amygdalin

www.kgu.de/urologie

- In vitro Zellkulturmodelle
  -> Wachstumsverhalten
  -> Metastasierungseigenschaften



- In vivo Mausmodelle
  -> Wachstumsverlauf
  -> Gewebe & Serum
  -> molekularbiologische Untersuchungen



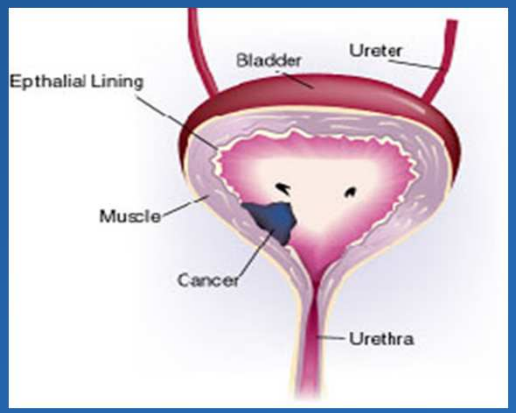
- Patienten
  -> Serum: Cyanid-, Thiocyanat-, Lactat-, K^+-, Na^+-, Cl^--, $HCO3^-$ Konzentration sowie pH-, Hb- & metHb-Wert

Wirksamkeit & Toxizität?

IN VITRO STUDIE

www.kgu.de/urologie

Harnblasenkarzinom



Zelllinien:

UMUC3, TCCSupp, RT112

-> muskelinvasive Urothelkarzinome

Behandlung:

- Amygdalin [10 mg/ml]

Kurzzeitbehandlung: 24h

Langzeitbehandlung: 2 Wochen

IN VITRO STUDIE

www.kgu.de/urologie

Evaluation:

Wachstum

- Proliferation / Wachstum (MTT / BrdU)
- Zellzyklusphasen (FACS)
- Zellzyklus- & Signalproteine (Western Blot)
- Apoptose (= programmierter Zelltod)

Metastasierung

- Adhäsion an vaskuläres Endothel
- Adhäsion an extrazelluläre Matrixproteine (EZM)
- Migration
- Adhäsionsrezeptoren (FACS & Westen Blot)

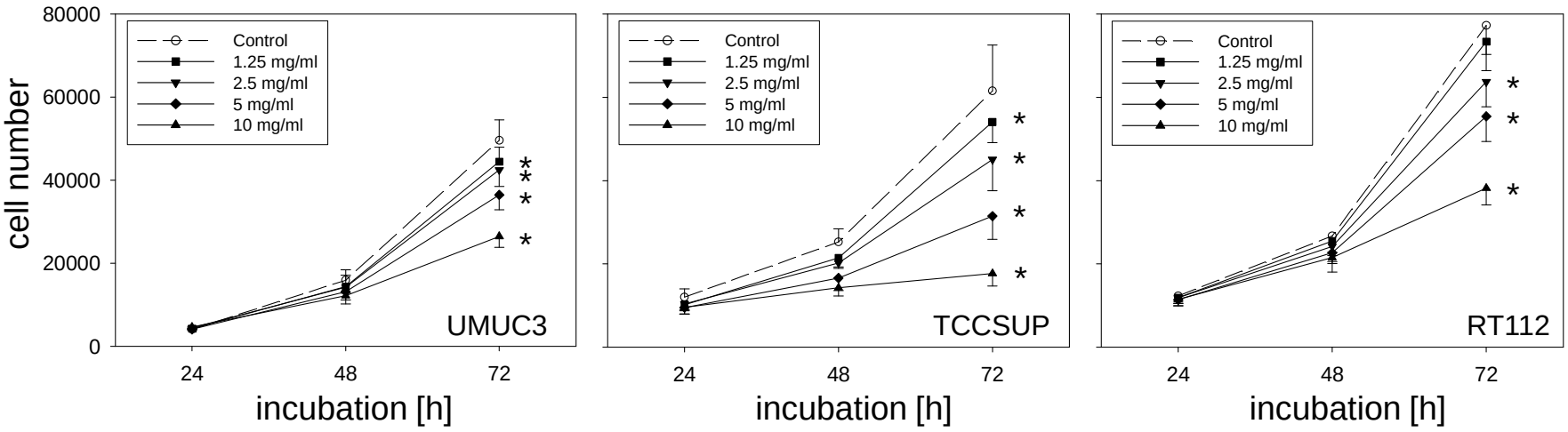
} (funktionelle Assays)

Blockadestudien -> funktionelle Relevanz Proteine

TUMORWACHSTUM

www.kgu.de/urologie

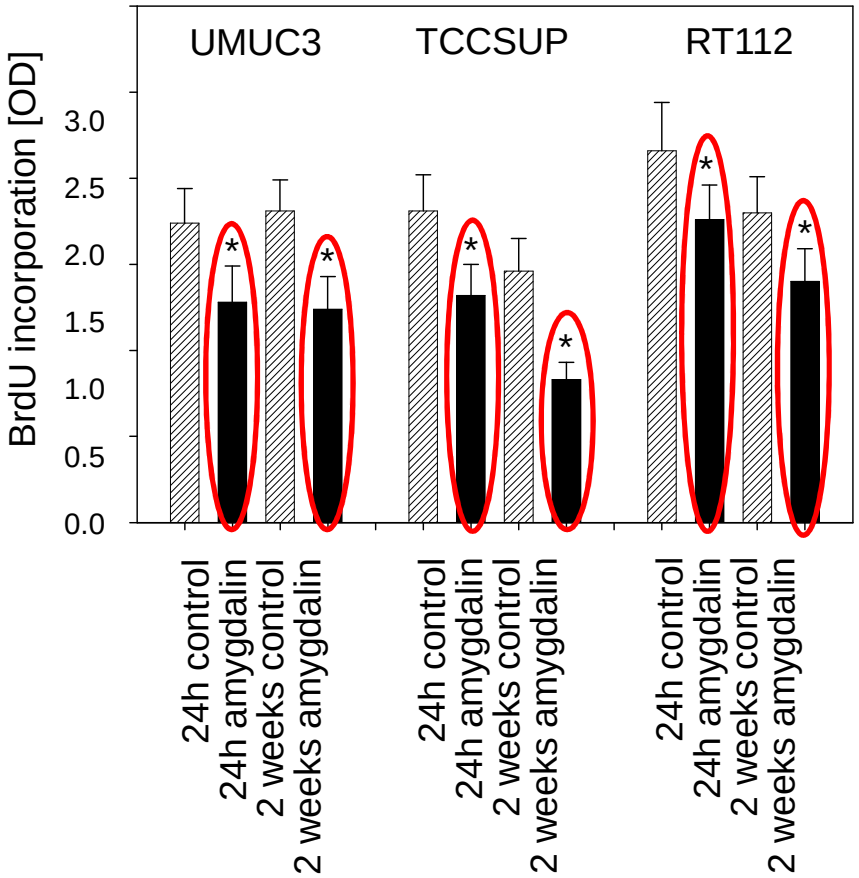
nach 24h Vorbehandlung



24h + Amygdalin => signifikante Inhibition der Proliferation
(analog 2 Wochen + Amygdalin)

Makarevic et al. 2014, PLoS One

TUMORPROLIFERATION

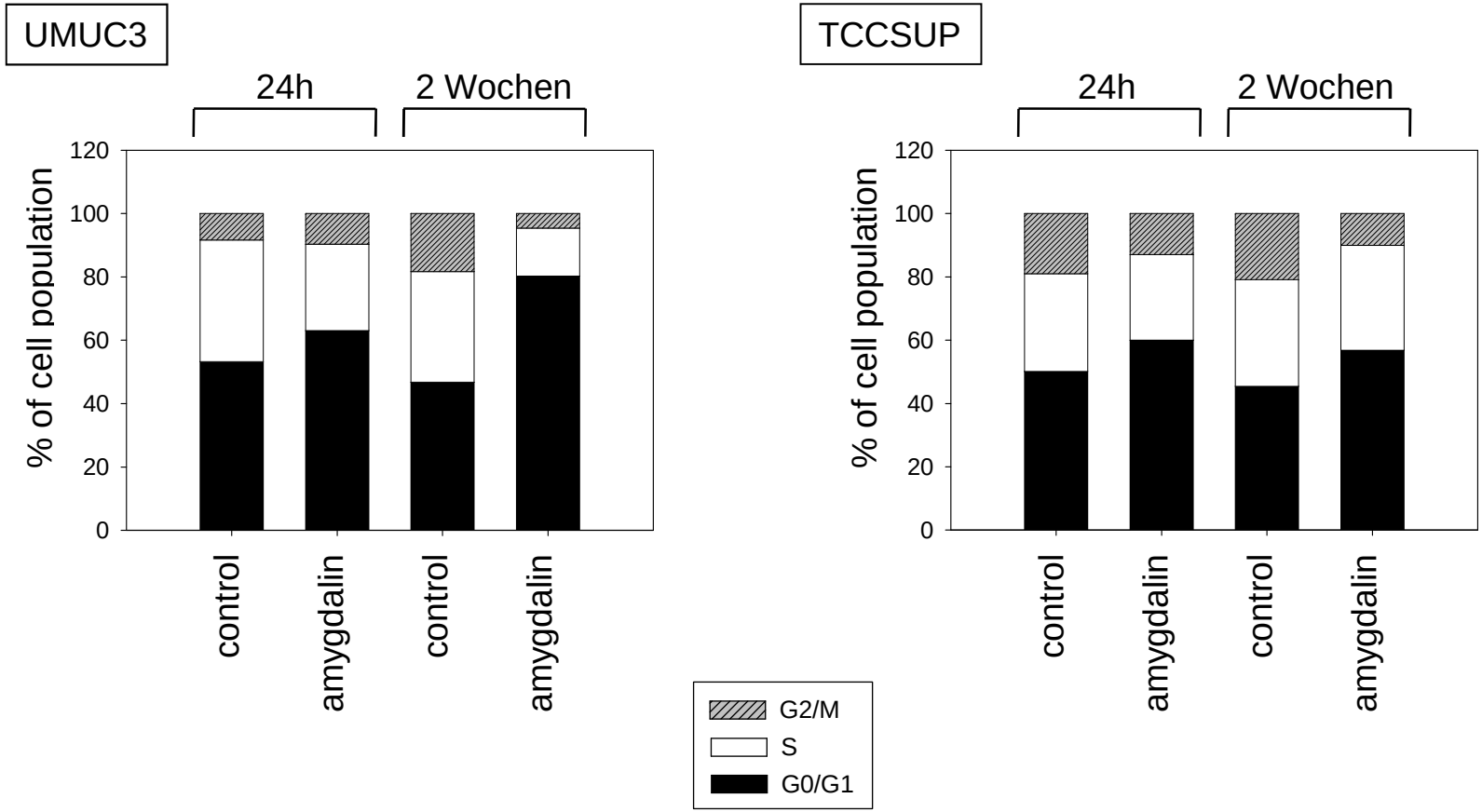


24h & 2 Wochen + Amygdalin
=> signifikante Wachstumshemmung

www.kgu.de/urologie

ZELLZYKLUS

www.kgu.de/urologie



24h & 2 Wochen + Amygdalin
=> signifikante Inhibition des Zellzyklus

PROTEINEXPRESSION

www.kgu.de/urologie

24h

UMUC3 TCCSUP RT112

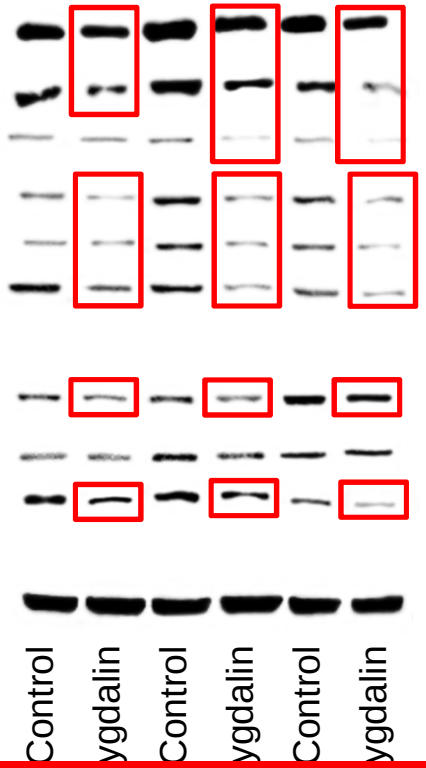
Zellzyklus

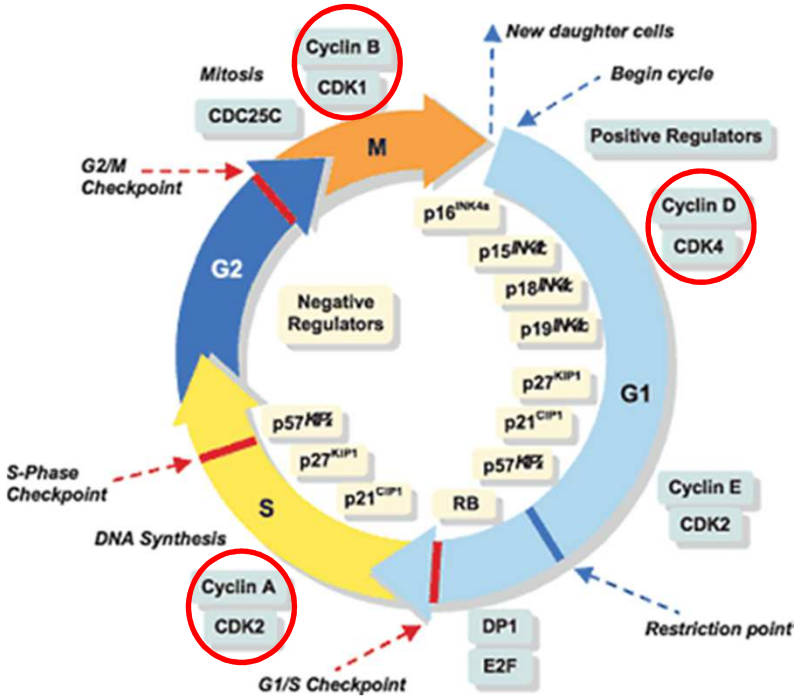
Cdk1
Cdk2
Cdk4
Cyclin A
Cyclin B
Cyclin D1

Signal

pAkt
pRaptor
pRictor

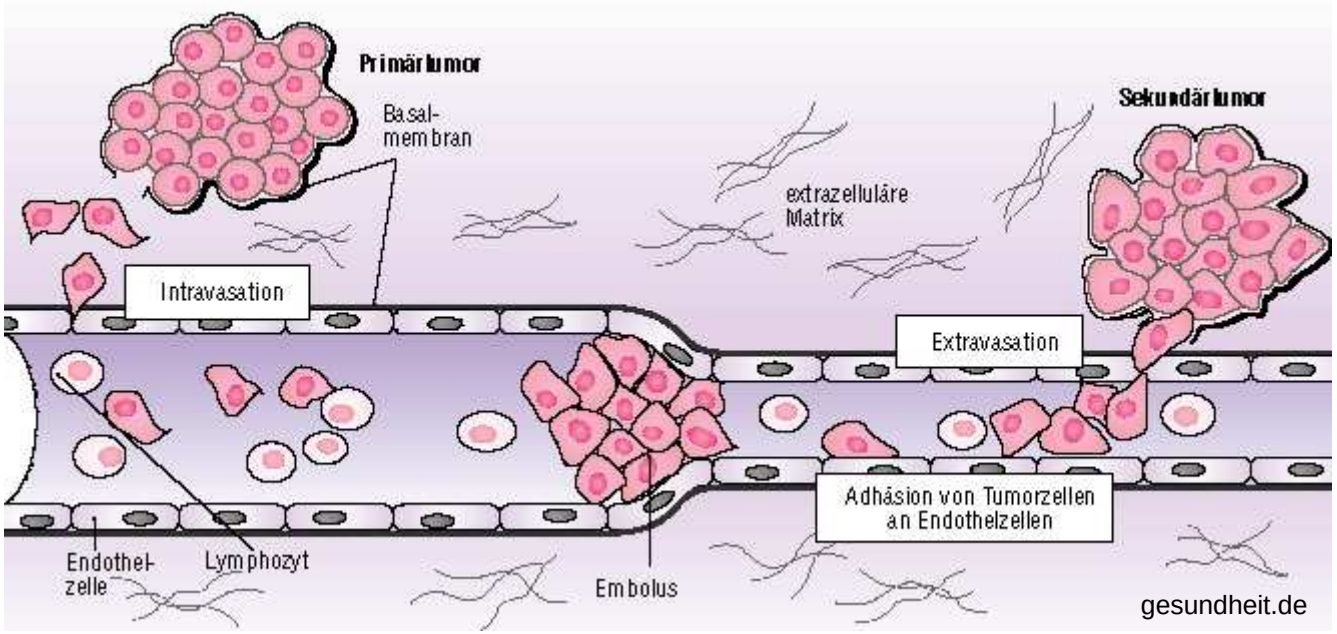
β-actin





24h & 2 Wochen + Amygdalin
⇒ Distinkte Modulationen
⇒ Zellzyklus-regulatorischer Proteine & Signalmoleküle

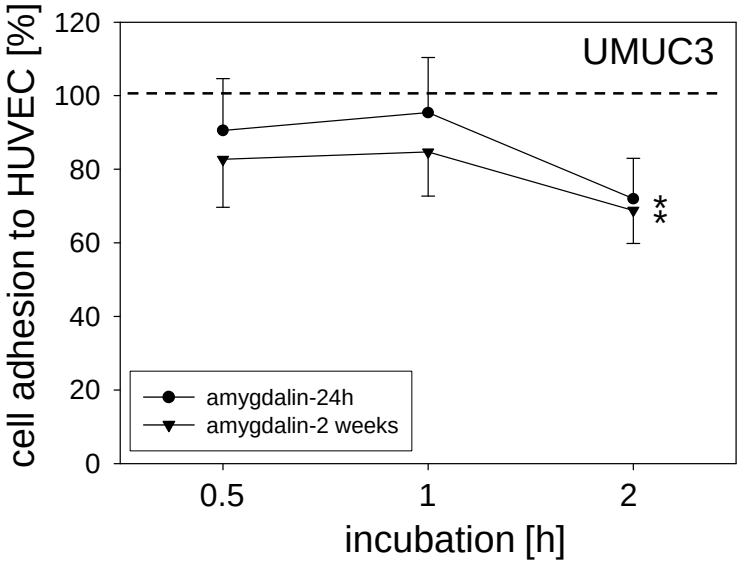
METASTASIERUNG

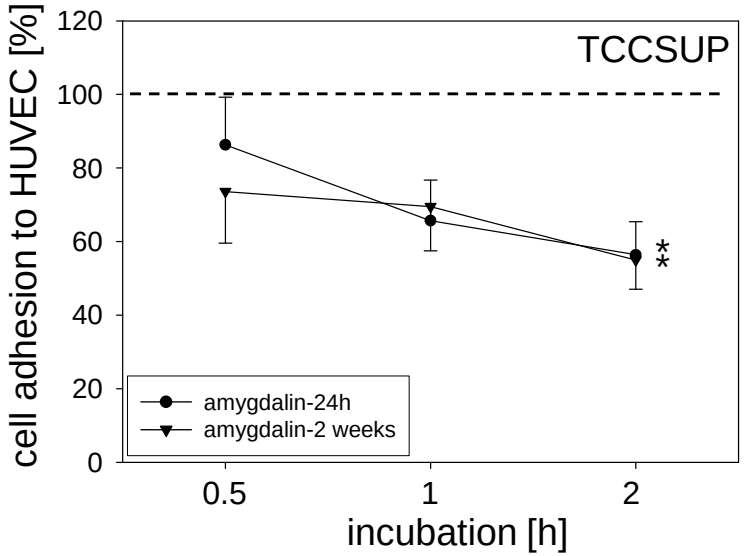


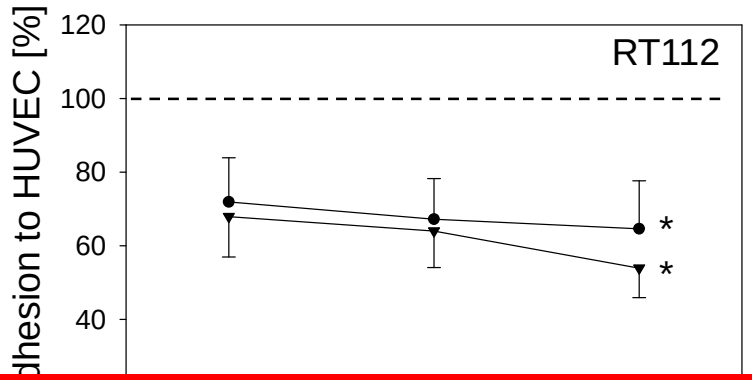
www.kgu.de/urologie

ADHÄSION AN ENDOTHEL

www.kgu.de/urologie







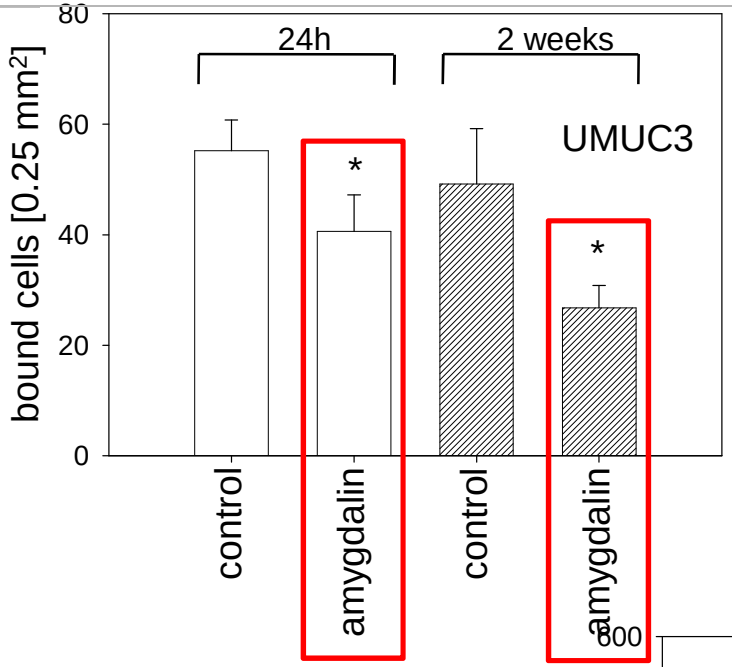
+ Amygdalin
=> signifikante Hemmung Anheftung an Endothel

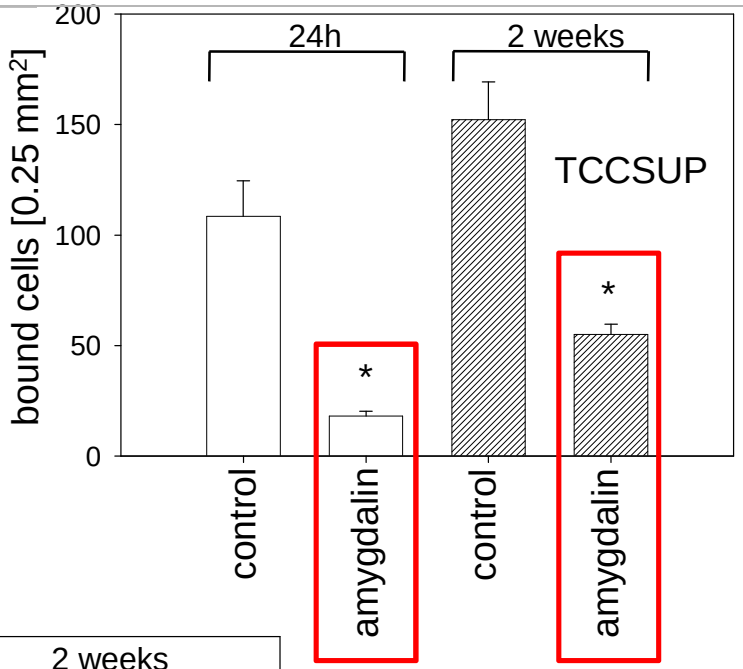
Makarevic et al. 2014, PLoS One

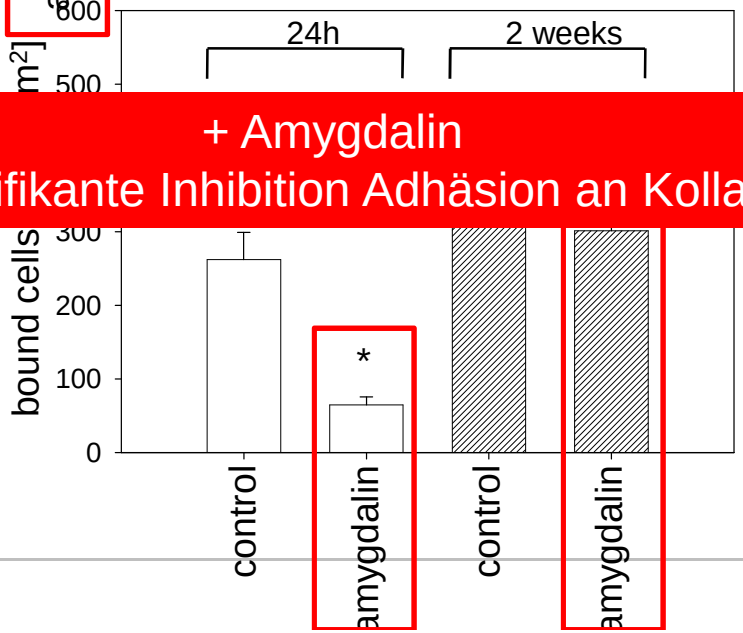
incubation [h]

ADHÄSION AN KOLLAGEN (EZM-PROTEIN)

www.kgu.de/urologie





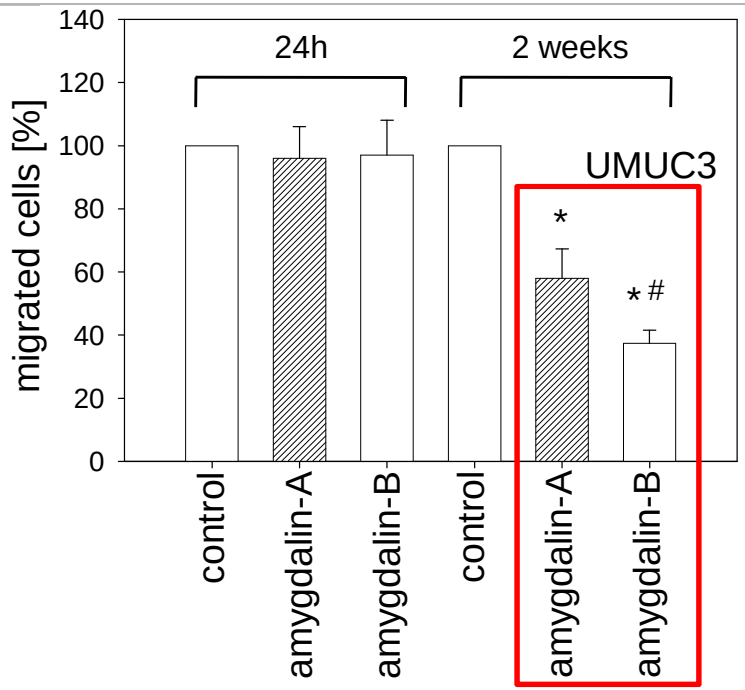


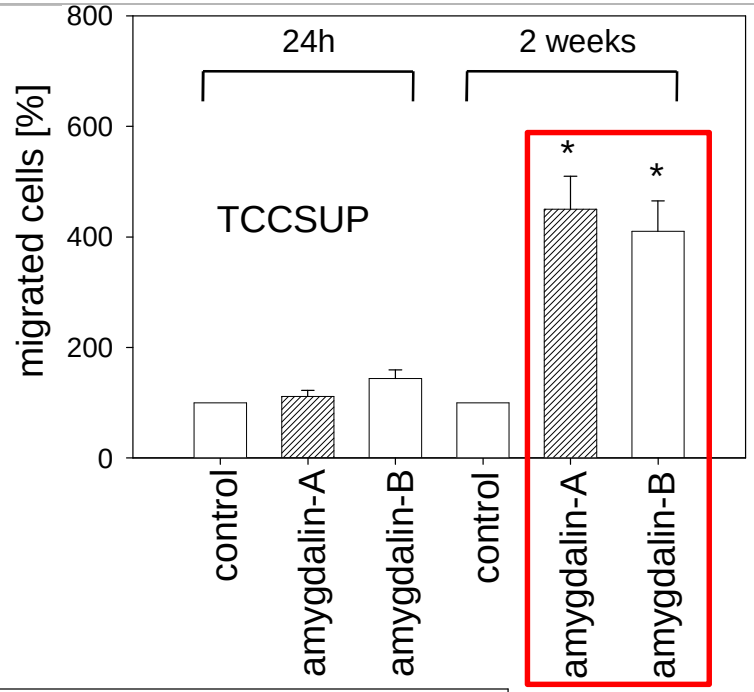
+ Amygdalin
=> signifikante Inhibition Adhäsion an Kollagen

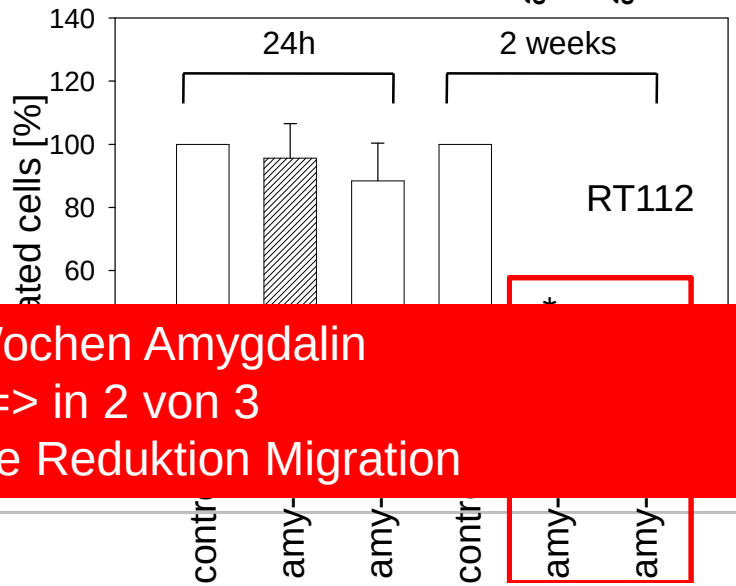
Makarevic et al. 2014, PLoS One

MIGRATION

www.kgu.de/urologie







Amygdalin A =
keine Weiterbehandlung im Versuch (24h)

A
W

M

+ 2 Wochen Amygdalin
=> in 2 von 3
signifikante Reduktion Migration

Zusammenfassung

www.kgu.de/urologie

<u>+ Amygdalin</u>

- Proliferations- & Wachstumsinhibition
- Zellzyklusarrest in G0/G1
- Reduktion zellzyklusaktivierender Proteine (Cdk2 & Zyklin A)
- Apoptose (2 Wochen)

- Inhibition der Anheftung an Endothel und Kollagen
- Hemmung der Migration (2 Wochen) in 2 von 3 Karzinomzellen
- Modulation Adhäsionsrezeptoren (Integrin ß1 & ß4)

Schlussfolgerung

www.kgu.de/urologie

Amygdalin

-> anti-tumorale Eigenschaften

beim Urothelkarzinom

in vitro

In Arbeit

www.kgu.de/urologie

- <u>In vivo Untersuchungen</u>
  Harnblasenkarzinom
  Nierenzellkarzinom
  Prostatakarzinom

- <u>Patienten</u>
  urologische Tumorentitäten
  -> Serum (Cyanid-, Thiocyanat-, Lactat-, K^+-, Na^+-, Cl^--, HCO^{3-}-
  Konzentration sowie pH-, Hb- & metHb-Wert)

-> weitere Patienten gesucht

www.kgu.de/urologie

Acknowledgments

Brigitta und Norbert Muth Stiftung

www.kgu.de/urologie

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!