

羟基脲的抗瘤作用及药理研究

药理学教研组

中山医学院 肿瘤研究所药物治疗室

肿瘤医院实验室

羟基脲是100多年前(1869)合成的简单有机化合物,但仅在近10年前才发现其具有抗瘤作用⁽¹⁾,且能特异地抑制脱氧核糖核酸的合成⁽²⁻⁴⁾,有一定的特点,临床应用证明对慢性粒细胞型白血病等有肯定的疗效^(2,5)。此药由广东省医药工业研究所合成,中山医学院药理教研组及肿瘤研究所药物治疗室、肿瘤医院实验室在省医药工业研究所同志的协作下,进行了抗癌作用及药理研究工作,现将结果报告如下。该药已于1974年3月21日在广州通过技术鉴定。有关羟基脲国外资料的综述见另文⁽⁶⁾。

一、抑瘤试验:

用正常小白鼠,体重18~24克;正常大白鼠,体重60~100克,雌雄兼有。实验肿瘤包括:小白鼠肉瘤 S_{180} 及 S_{37} ,小鼠实体型肝癌,大鼠癌肉瘤 $Walker_{256}$ 。

根据1973年全国抗癌药物合成及筛选会议规定方法进行实验。在肿瘤接种24小时后给药,以羟基脲腹腔注射每日一次,连续给药5~7天。临用时药物按实验剂量以注射用生理盐水配制。末次给药后第二天处死,称鼠重和瘤重,计算抑瘤率。

结果见表1;可见对所用的4种瘤株,均有明显的抑瘤作用。据 $Steern^{(1)}$ 等引述 $Stock$ 的初筛材料,认为羟基脲对小鼠肉瘤 180

无效。本实验表明羟基脲有抑制作用,1972年 $EFrei^{(7)}$ 亦报告对 S_{180} 有效(抑瘤率31%)。对于小鼠 S_{37} 实体肝癌未见文献报告。

二、羟基脲的药理试验:

(一)小鼠急性毒性试验:

选体重18~24克正常小鼠50只,分成5个剂量组,每组10只。以羟基脲一次腹腔注射,观察毒性作用7天,记录各组死亡率,按对数机率图法($Litchfield \& Wilcoxon$ 法)⁽⁸⁾计算及其急性半数致死量(LD_{50})=6,700毫克/公斤(可信限:6,580~7,015毫克/公斤),此数值与国外资料相似⁽⁹⁾。当剂量增大到6,700毫克/公斤体重以上时,给药后15分钟左右,部分小鼠即出现烦躁不安,进而抽搐死亡。每天用1000毫克/公斤,连用4~5天以上时,动物可出现脱毛、腹泻,体重减轻的情况。

(二)兔的急性毒性试验:

用健康家兔两只,于清醒状态下,用10%羟基脲生理盐水溶液,按每分钟4~4.2毫升的速度恒速灌注,观察对兔的毒性反应。当用药量至100毫升左右出现明显兔耳血管扩张,以后渐出现发绀,后变苍白,发生抽搐,呼吸微弱。停止给药后,症状维持40分钟而死亡。两兔体重分别为1.47及1.88公

表 1： 羟基脲对动物移植性肿瘤的抑制作用

瘤 株	剂 量 毫克/公斤/天×天数	试 验 组 动 物 数		平 均 体 重 变 化 实 验 组 / 对 照 组	平 均 瘤 重 实 验 组 / 对 照 组	抑 瘤 率 %	P 值
		治 疗 前	治 疗 后				
大 鼠 W—256	1500 × 5	10	9	- 10.39/ 5.89	0.10/3.07	96.7	P<0.001
	800 × 7	10	9	- 8.80/14.5	1.52/8.15	81.3	P<0.001
	600 × 7	10	9	0.10/17.10	3.48/5.61	57.7	P<0.001
	600 × 7	10	10	- 6.10/11.0	3.09/7.50	58.8	P<0.01
	600 × 7 *	10	10	-13.0 / 7	1.20/5.33	77.4	P<0.001
小 鼠 实体型肝癌	800 × 7	10	8	- 0.39/ 1.90	0.65/1.81	64.1	P<0.01
	600 × 7 *	10	8	- 3.61/ 1.34	0.25/1.23	79.7	P<0.001
	800 × 7 *	10	9	- 3.4 / 2.29	0.57/1.65	65.5	P<0.01
小 鼠 S—37	1000 × 7 *	10	9	- 4.02/ 1.32	0.31/1.08	62.0	P<0.01
	1000 × 7	10	10	- 2.15/ - 0.15	0.46/1.17	60.7	P<0.01
小 鼠 S—180	800 × 7	10	8	- 3/0	0.41 /1.21	66.1	P<0.01
	600 × 7 *	10	8	- 4.89/ - 0.32	0.825/2.54	67.5	P<0.01
	600 × 7 *	10	8	- 5.0 / 5.7	0.19 /2.20	91.0	P<0.001

* 该组动物实验后比实验前体重减轻超过 15%，但不超过 25%。

注：平均体重变化是：（治疗后—治疗前）动物平均体重变化数，治疗后体重不包括瘤重。

斤，灌注47及49分钟后死亡，两兔的致死量分别为 13.4和11 克/公斤体重，所用的剂量很大。另两只对照兔用同样条件输入生理盐水200毫升，无特殊改变。

(三)麻醉猫的急性毒性试验：

用健康的猫 6 只，于戊巴比妥钠腹腔注射麻醉下，分离气管及颈动脉，在记纹鼓上描记呼吸、血压变化，从股静脉按每分钟 2 毫升左右速度滴注 4 %羟基脲生理盐水溶液，直到动物死亡为止。在给药后10分钟，即约滴入0.8克后，可见血压下降约达原水平的80%，以后血压继续下降。在给药后约 20分钟，即可见血液颜色变成深棕红色，表示高铁血红蛋白生成。至死亡前约10分钟，呼吸频率减慢，血压明显下降，约达原水平的50%左右。继续给药则呼吸停止，血压随而下降至零而死，过程共约40~60分钟，致死量为1.19~2.06克/公斤的范围。看来急性致死原因可能是由于高铁血红蛋白生成，影响血液运氧功能，引起各器官的缺氧，尤

其中枢抑制所致。

(四)对麻醉狗的急性毒性试验

健康狗 4 只，在戊巴比妥钠 静 脉 麻 醉下，分离颈动脉及气管，插入套管。在人工呼吸下，剖开胸廓，将心动杠杆两小枝分别缝在心尖及心底上，在记纹鼓上描记心脏收缩曲线及用水银检压计记录血压曲线。从股静脉按每分钟 2 ~ 3 毫升速度滴注 6 %羟基脲生理盐水溶液。

初时血压可见上升约10~30%。当给药量达0.6~0.8克/公斤，即约在40~60 分 钟后，血液颜色开始变成暗红色。心率开始减慢，血压缓缓下降。约在给药后100分 钟降为原水平的80%。再过约一小时，血液颜色逐步加深。约到死亡前20分 钟，用药量为 1.35~1.80克/公斤时，心跳明显变慢，出现期前收缩现象，血压明显下降，当血压降至零时，仍可见心脏有微弱的搏动。血液稀释后，用分光镜观察，可见有高铁血红蛋白的典型吸收光带。说明大量的羟基脲静脉注射

表 2:

羟基脲对麻醉猫、狗连续灌注的结果

动物种类		动物体重 (公斤)	羟基脲浓度 %	给药总时间 (分)	给药液量 (毫升)	给药总量 克/动物	致死量 克/公斤
猫	1	1.75	4	59	90.1	3.604	2.06
	2	2.0	4	40	68.8	2.752	1.38
	3	1.25	4	26	47.3	1.892	1.50
	4	2.5	4	55	74.5	2.980	1.19
	5	2.25	4	40	79.3	3.172	1.41
	6	2.25	4	50	88.0	3.52	1.56
狗	1	8.0	6	125	442.0	17.68	2.21
	2	11.5	6	131	304.0	18.24	1.60
	3	10.0	6	155	475.0	28.5	2.83
	4	10.5	6	142	359.2	21.55	2.05

可使血液中的血红蛋白变成高铁血红蛋白,不能运输氧气,引起组织缺氧。这可能是引起心脏抑制、血压下降,以及最终由于中枢抑制造成动物死亡的重要原因。据报导⁽⁹⁾,羟基脲在狗比兔与鼠更易引起高铁血红蛋白生成,本实验中清醒兔致死剂量远比麻醉猫和狗为大。

(五)对狗的亚急性毒性试验

1. 第一批试验:

选健康狗 5 只,体重 5~8 公斤,分成两组,每天口服羟基脲一次,剂量为 0.5 或 0.25 克/公斤。用药后可见胃肠道反应较明显,表现为恶心、呕吐、食欲不振、消瘦及腹泻。各狗的体重变化及存活日数见表 3,各脏器病理变化见表 4。因 1、2、4、5 号狗于停药前或刚停药时死亡,只有 3 号狗能于停药后抽血检查,此狗给药前后血象、肝、肾功能测定的变化结果见表 5。

(2)第二批试验:

选健康狗 6 只,分成两组,每天分别给予口服羟基脲一次,剂量为 0.15 或 0.10 克/公斤,共给药 2 周,给药前、后分别抽血检查血象、肝、肾功能及体重变化的指标。结果见表 5 及 6,第 3 及 6 号狗分别于给药第 13 天、17 天死亡。其余 2、4、5 号狗在停

药后二周均存活,处死后取肺、肝、肾骨髓作切片检查,均未见明显病理变化。

从上述结果看来,每日剂量 0.25—0.5 克/公斤,连用 14 天的剂量是致死剂量,全部动物在 4~16 天内先后死亡。可见白细胞减少、骨髓抑制很明显,但除有肾浊肿外其它器官未见显著病变。每日剂量 0.15 克/公斤组,3 只狗中 2 只死亡。此组动物白细胞数目明显减少,最低仅为用药前水平的 10%;血红蛋白量、红细胞数、血小板数均有一定的减低,但肝、肾功能方面无明显改变,器官组织切片检查亦无明显病变,估计动物死亡是由于白细胞缺乏,引起感染所致。0.1 克/公斤组虽有一只狗死亡,但血象变化比上一组轻,用药二周后白细胞数目最低值平均约为原水平的 30%。生存的 2 只狗在停药二周后白细胞数已恢复到原水平,看来恢复尚快。

(六)羟基脲对猫、狗血液的溶血试验

取洁净试管 12 支,分别按下表加入所列的各种浓度的溶液,使每管溶液最终容积均为 2 毫升,然后在每管中加入已加有抗凝剂的正常猫或狗血 0.2 毫升,观察有无溶血现象,结果见表 7。

从所得结果看来,羟基脲的等渗或高渗

表 3: 羟基脲对狗用药前后体重变化及用药后存活天数

编 号	剂 量 克 / 公斤	给 药 量 克 / 日	给药天数	体 重 (公斤)		存 活 日 数
				用 药 前	用 药 后	
1	0.5	2.50	10	5.0	3.8	10
2	0.5	3.38	4	6.8	3.6	4
8	0.25	1.63	14	6.5	4.3	16
4	0.25	2.00	12	8.0	6.5	12
5	0.25	1.63	14	6.5	5.0	10

表 4: 羟基脲对狗各脏器的影响

狗 编 号	1	2	3	4	5
剂 量	0.5克/公斤/日	0.5克/公斤/日	0.25克/公斤/日	0.25克/公斤/日	0.25克/公斤/日
肺	肺泡内有淡色液体、肺水肿	未见明显改变	未见明显改变	呈轻度水肿	水肿
肝	未见明显改变	未见明显改变	未见明显改变	未见明显改变	未见明显改变
肾	近端曲管呈重度浊肿，部分肾小管中有蛋白质	未见明显改变	近端曲小管呈浊肿	呈轻度浊肿	呈 浊 肿
骨 髓	骨髓中被脂肪细胞浸润、造血细胞减少	未见明显改变	造血细胞消失、骨髓腔内被脂肪细胞填充	仍见造血细胞、并有脂肪组织	造血细胞重度减少

表 5: 羟基脲对狗血象及肝、肾功能的影响

批 狗	剂 量	测 定	血 红	白 细 胞 数	红 细 胞 数	血 小 板 数	血 清 谷 丙	麝 香 草	非 蛋 白 氮	
次 号	克/公斤/日	时 间	蛋 白 %	(个/mm ³)	(万/mm ³)	(个/mm ³)	转 氨 酶 (单位/100毫 升血清)	酚 浊 度 (单位)	(毫克/100毫 升全血)	
I	3	0.25	用 药 前	78	10,100	550	165,000	25	1	35.6
			用 药 后	22	250	216	18,000	40	2	68.0
II	1	0.15	用 药 前	106	15,800	600	191,000	240	2	28.3
			用 药 2 周	60	1,700	328	161,000	60	1	25.1
	2	0.15	用 药 前	94	13,500	525	152,000	140	1	23.1
			用 药 2 周	20	1,500	119	111,000	45	1	25.1
			停 药 2 周	36	30,100	126	155,000	95	1	31.4
	4	0.10	用 药 前	90	13,200	520	149,000	150	1	22.0
			用 药 2 周	60	8,300	278	134,000	50	2	22.0
			停 药 2 周	50	13,300	430	91,000	55	1	37.6
	5	0.10	用 药 前	94	22,600	520	114,000	100	2	28.3
			用 药 2 周	70	6,300	330	210,000	20	1	18.8
			停 药 2 周	70	20,600	426	83,000	250	1	37.6
	6	0.10	用 药 前	96	19,800	560	170,000	380	1	25.1
			用 药 2 周	40	1,400	237	7,800	40	1	18.8

表 6: 羟基脲对狗给药天数及用药前后体重变化

编 号	剂 量 克/公斤/日	给 药 量 克 / 日	给药天数	体 重 （公斤）		生 存 日 数
				用 药 前	用 药 后	
1	0.15	1.50	14	10.0	9.0	生存
2	0.15	1.50	14	10.0	10.0	生存
3	0.15	2.18	12	14.5	11.0	13
4	0.10	0.68	14	6.75	5.5	生存
5	0.10	0.65	14	6.5	4.3	生存
6	0.10	1.05	14	10.5	10.0	7

表 7: 羟基脲与溶血关系试验结果

试管编号	试 管 内 药 物	8.8% 羟基脲水溶液 (毫升)	6.8% 尿素水溶液 (毫升)	10%葡萄糖溶液 (毫升)	蒸 馏 水 (毫升)	1.8% 氯化钠溶液 (毫升)	溶 血 反 应
1	阳 性 对 照 蒸 馏 水	0	0	0	2	0	+
2	阴 性 对 照 生 理 盐 水	0	0	0	1	1	-
3	等 渗 羟 基 脲 水 溶 液	0.5	0	0	1.5	0	+ 溶液呈暗红色
4	高 渗 羟 基 脲 水 溶 液	1	0	0	1	0	+ 溶液呈暗红色
5	等 渗 羟 基 脲 生 理 盐 水	0.5	0	0	0.5	1	- 棕红色混浊液
6	高 渗 羟 基 脲 生 理 盐 水	1	0	0	0	1	- 棕红色混浊液
7	高 渗 羟 基 脲 葡 萄 糖 溶 液	1	0	1	0	0	-
8	等 渗 尿 素 水 溶 液	0	0.5	0	1.5	0	+
9	高 渗 尿 素 水 溶 液	0	1	0	1	0	+
10	等 渗 尿 素 生 理 盐 水	0	0.5	0	0.5	1	-
11	高 渗 尿 素 生 理 盐 水	0	1	0	0	1	-
12	高 渗 尿 素 葡 萄 糖 溶 液	0	1	1	0	0	-

表注：1.上述实验猫血共做 4 次，狗血共做 2 次，结果均相同。
2.用等渗溶液浓度计算公式，算出羟基脲的等渗浓度为2.2%，尿素的等渗浓度为1.7%。

水溶液能溶血，但分别含有等渗氯化钠或葡萄糖溶液的等渗或高渗的羟基脲溶液则不溶血。上述结果表明羟基脲本身不具溶血作用，但用蒸馏水溶解时，因它易于通过细胞膜，渗透到红细胞中去，结果其渗透压高于周围的溶液。引起红细胞膨胀、破裂、产生溶血现象。应用尿素的结果与此相同，即尿素的水溶液能溶血，但尿素的生理盐水或葡萄

糖溶液不溶血，这种现象是由于尿素易于透过细胞膜所致⁽¹⁰⁾。这一简单的实验反映到羟基脲对细胞膜自由通透的能力，有利于它进入全身各组织，包括脑组织等，亦有人利用其易于透入脑组织，用于脑内肿瘤与放射治疗合并应用⁽¹¹⁾。
含有羟基脲溶液的各管，由于羟基脲与血液作用，均使变棕红色，这与猫、狗急性

毒性试验的血液颜色变化一致,这也证明羟基脲能使血液中的血红蛋白变成高铁血红蛋白。

三、小结:

羟基脲是结构简单的抗癌化学合成药物,本文对该药的抗癌作用及药理研究的结果报告如下:

(1)羟基脲在动物耐受剂量下,对4种移植性肿瘤有明显的抑制作用,对大鼠W—256,小鼠S—180, S—37,小鼠肝癌等瘤株的抑制率依次为:57.7~96.7%, 66.1~91.0%, 60.7~62%, 64.1~79.7%。

(2)羟基脲的急性毒性:对小鼠的腹腔注射一次致死量为6,700(6,580~7,015)毫克/公斤。对清醒兔耳静脉恒速灌注致死量为11~13.4克/公斤。对麻醉猫(6只)静脉滴注1.19~2.1克/公斤时致死,在人工呼吸下,开胸描记心脏搏动的狗(4只)静脉滴注羟基脲1.6~2.8克/公斤时致死。从所得结果分析与羟基脲大量静脉给药引起高铁血红蛋白的生成有密切关系,可能因此引起组织缺氧,发生中枢抑制致死。在体外试验亦证明羟基脲能使血红蛋白变成高铁血红蛋白。通过溶血试验又说明羟基脲有易于透过红细胞膜的作用。

(3)在狗的亚急性毒性试验中,观察到羟基脲的毒性主要表现为明显的骨髓抑制,并有胃肠道反应,而对肝肾功能等无明显的影响,因此在治疗应用中必须密切观察血象变化及胃肠道反应。

注:本试验的动物脏器病理检查由中山医学院病理学教研组进行,仅致谢。

参 考 资 料

1. Stearns B. et al., *J. Med. Chem.* 6:201, 1963.
2. Kennedy B. J. et al: *J. A. M. A.* 195: 1038, 1966.
3. Frenkel E. P. et al: *Cancer Res.* 27: 1016, 1967.
4. Young C.W. et al: *Cancer Res.* 27: 527, 1967.
5. Fishben W.N. et al: *Clin. Pharmacol. Therap* 5: 574. 1964.
6. 潘启超,新医学 5(8):400, 1974.
7. Frei E. II, *Cancer* 30(6): 1656, 1972.
8. Litchfield J. T., Wilcoxon. F. J., *J. Pharm. Exp. Therap.* 96: 99, 1949.
9. Squibb E. R. & Sons, Inc, *Clin. Pharmacol. Therap.* 10: 142, 1969.
10. Solimanm T. H., Hanzlik P.J., *Fundamentals of Exper. pharmacol.* (1938) P. 69~70
11. Lerner H.J. et al, in "Yearbook of Drug Therapy"(1971)P.78