

文章编号:1671-6833(2013)01-0062-04

# 去氢表雄酮的生物转化、衍生物合成及细胞毒活性研究

单丽红<sup>1,2</sup>, 乔星<sup>1,2</sup>, 李央<sup>1,2</sup>, 张璐珈<sup>1,2</sup>, 焦凯<sup>1,2</sup>, 刘宏民<sup>1,2</sup>

(1. 郑州大学药学院, 河南郑州 450001; 2. 郑州大学新药研发中心, 河南郑州 450001)

**摘要:** 去氢表雄酮是一种重要的生物活性物质,也是甾体药物的重要中间体.研究了卷枝毛霉对去氢表雄酮的生物转化,从其发酵液中分离得到两种产物,7 $\alpha$ -和7 $\beta$ -羟基去氢表雄酮.并利用 Claisen-Schmidt 缩合反应制备了7 $\alpha$ -羟基去氢表雄酮的16-苯亚甲基衍生物,活性测试表明,在16位引入带有不同取代基的苯亚甲基结构可增强此类化合物的细胞毒活性.

**关键词:** 去氢表雄酮; 卷枝毛霉; 7-羟基化; 16-苯亚甲基衍生物; 细胞毒活性

**中图分类号:** R914.5 **文献标志码:** A **doi:**10.3969/j.issn.1671-6833.2013.01.015

## 0 引言

甾体化合物广泛分布于自然界及生物体内,是一类重要的生物活性分子,被誉为药学领域的“Golden Egg”<sup>[1]</sup>.近年来,去氢表雄酮(Dihydroepiandrosterone, DHEA)及其在肝脏中的主要代谢产物7-羟基DHEA表现出非常好的生物活性,如提高试验动物的免疫能力<sup>[2-3]</sup>,阻止体外神经元缺氧细胞死亡<sup>[4]</sup>,并且对治疗阿尔茨海默病和降低体重也有一定作用<sup>[5]</sup>.这些重要的研究成果引起了众多学者对甾体7-羟基衍生物的研究兴趣.

虽然甾体7位的羟基化用化学方法相对其它位置比较容易进行,但是这些方法路线长,所用试剂昂贵或有毒,不利于进行大规模生产.利用微生物转化法可以很好的克服化学合成法的不足,还具有高效、低耗、污染少等明显优势,符合现代“绿色化学”的要求.

据文献报道在甾环16位引入芳亚甲基结构,可使其产生细胞毒作用<sup>[6-7]</sup>.因此本课题组利用 Claisen-Schmidt 缩合反应在7 $\alpha$ -羟基DHEA的16位引入系列取代苯亚甲基基团,合成得到8个未见文献报道的新化合物,并测试了这些化合物对人食管癌EC109细胞株的细胞毒作用.

## 1 实验部分

### 1.1 主要试剂与仪器

**试剂:**去氢表雄酮(99%,汉江振华生物科技有限公司);葡萄糖(分析纯,汕头市西陇化工厂),蛋白胨和酵母膏(生化试剂,北京奥博星生物技术责任有限公司);磷酸二氢钾(分析纯,汕头金沙化工厂);琼脂(Slandand International Inc);薄层层析和柱层析硅胶(化学纯,青岛海液硅胶干燥剂厂),所用工业溶剂均经重蒸. **仪器:**WC-1型显微熔点仪;BIO-RAD公司FTS-40型红外分光光度计(KBr压片);瑞士Bruker DPX-400型超导核磁共振仪;HZQ-Q全温振荡器;HVE-50高压蒸汽灭菌锅. **菌种:**卷枝毛霉(*Mucor circinelloides lusitanicus*,自筛),由中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏,保藏编号为CGMCC2256. **斜面培养基:**PDA培养基; **发酵培养基:**葡萄糖30g,蛋白胨12g,酵母膏1.0g,磷酸二氢钾0.9g,蒸馏水1000mL,pH 4.5.

### 1.2 制备和表征

#### 1.2.1 生物转化

按照1.1节中发酵培养基的组成配置1000mL发酵培养基,分装至10个厄伦美厄烧瓶,高压灭菌锅121℃灭菌20min,待培养基冷却后在安全柜中接种,接种后的培养基放置恒温振荡器中,培养48h(28℃,220r/min)后,将1.0g DHEA溶

收稿日期:2012-10-20;修订日期:2012-12-20

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81172937)

作者简介:单丽红(1976-),女,河南安阳人,郑州大学讲师,博士,主要从事药物化学、生物制药研究,E-mail:shlh@zzu.edu.cn.

解于 10 mL 丙酮后加入上述培养基,继续培养转化 4 d. 转化结束后,过滤除去菌丝体,发酵液用乙酸乙酯萃取 3 次,萃取液浓缩后用饱和  $\text{NaHCO}_3$ 、饱和食盐水及水各洗 3 次,无水硫酸钠干燥后减压蒸干溶剂,得到白色固体,柱层析( $V$  乙酸乙酯: $V$  石油醚 = 1:3) 分离得到化合物 1 和 2, 结构如图 1 所示.

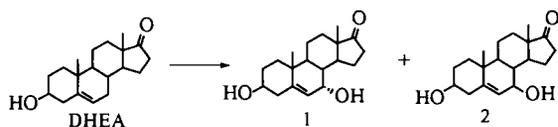


图 1 卷枝毛霉转化 DHEA

Fig. 1 Biotransformation of DHEA by *Mucor circinelloides*

化合物 1: 白色固体粉末, 收率为 31.56%; mp 179.3 ~ 181.2°C (literature 181.5 ~ 183.5°C<sup>[8]</sup>);  $[\alpha]_D^{20} - 71^\circ$  (c. 0.21, MeOH); IR (KBr)  $\nu$ : 3 431, 2 933, 1 730, 1 657, 1 621, 1 375, 1 057  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 8.89 (3H, s, H-18), 1.02 (3H, s, H-19), 3.46 (1H, m, H-3), 3.89 (1H, t, H-7,  $J = 7.6$  Hz), 5.57 (1H, d, H-6,  $J = 5.2$  Hz);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 223.9, 146.8, 124.6, 71.9, 64.9, 49.6, 46.4, 43.8, 42.9, 38.6, 38.6, 38.0, 36.6, 32.4, 32.1, 22.7, 21.2, 18.6, 13.7; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  305.2112 (calcd. 305.2117).

化合物 2: 白色固体粉末, 收率为 12.59%; mp 208.6 ~ 209.8°C (literature 215 ~ 216°C<sup>[8]</sup>);  $[\alpha]_D^{20} - 93^\circ$  (c. 0.29, MeOH); IR (KBr)  $\nu$ : 3 364, 2 930, 1 730, 1 660, 1 629, 1 380, 1 056  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 8.78 (3H, s, H-18), 0.98 (3H, s, H-19), 3.26 (1H, m, H-3), 3.70 (1H, d, H-7,  $J = 8.0$  Hz), 5.18 (1H, s, H-6);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 220.5, 141.6, 127.1, 71.3, 70.0, 50.9, 48.2, 47.3, 41.9, 39.3, 36.8, 36.3, 35.7, 31.7, 31.3, 24.2, 20.2, 19.0, 13.4; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  305.2115 (calcd. 305.2117).

1.2.2 3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -二羟基-16-苯亚甲基雄甾-5-烯-17-酮衍生物 1a-h 的合成

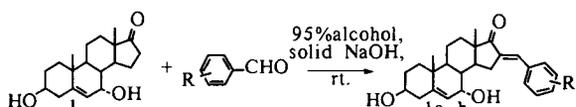


图 2 化合物 1a-h 的合成

Fig. 2 Synthesis of compound 1a-h

化合物 1 100 mg (0.33 mmol) 溶于 10 ~ 20 ml 95% 乙醇, 加入固体氢氧化钠 0.2 ~ 0.3 g, 室温搅拌 10 min, 加入苯甲醛 (0.05 ml) 或各种取代苯甲醛 (0.4 mmol), 继续室温搅拌, TLC 检测反应完全后, 减压蒸干乙醇, 加入 20 ~ 30 mL 乙酸乙酯使瓶内固体溶解, 继而用饱和食盐水 15 mL 分三次洗涤, 至有机相呈中性, 再将有机相用水洗 1-2 次, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干乙酸乙酯, 所得固体混合物可用柱层析 ( $V$  乙酸乙酯: $V$  氯仿 = 2:1) 的方法分离纯化.

化合物 1a: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 187.3 ~ 188.2°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.55 (2H, d,  $J = 7.18$  Hz), 7.37 (2H, d,  $J = 7.39$  Hz), 7.35 (1H, d,  $J = 5.9$  Hz), 7.26 (1H, s), 5.65 (1H, d,  $J = 5.5$  Hz), 4.06 (1H, s), 3.57 (1H, m), 1.05 (3H, s), 0.98 (3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  210.4, 147.4, 136.6, 136.6, 134.0, 131.2, 131.2, 130.0, 129.3, 129.4, 124.4, 71.9, 65.2, 47.6, 43.9, 43.5, 42.7, 38.3, 37.5, 37.6, 32.0, 31.9, 30.1, 20.9, 19.0, 14.8; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  393.2416 (calcd. 393.2429).

表 1 化合物 1a-h 的结构和收率

Tab. 1 Structure and yield of comp. 1a-h

序号	取代基	反应时间/h	产物	产率/%
1	H	8	1a	89
2	3-NO <sub>2</sub>	8	1b	84
3	3-Cl	8	1c	86
4	4-Cl	8	1d	87
5	4-F	8	1e	87
6	4-OCH <sub>3</sub>	12	1f	80
7	2-OCH <sub>3</sub>	12	1g	74
8	4-OH	24	1h	74

化合物 1b: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 161.7 ~ 163.4°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.26 (2H, d,  $J = 8.36$  Hz), 7.68 (2H, d,  $J = 8.36$  Hz), 7.45 (1H, s), 5.67 (1H, d,  $J = 4.56$  Hz), 4.06 (1H, s), 3.59 (1H, m), 1.00 (3H, s), 0.87 (3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  208.8, 147.4, 146.8, 142.0, 139.9, 130.7, 130.7, 130.3, 123.8, 123.9, 123.4, 71.1, 64.4, 47.0, 43.1, 42.8, 41.9, 37.6, 36.8, 36.8, 31.3, 31.1, 29.4, 20.1, 18.3, 13.9; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  437.2198 (calcd. 437.2202).

化合物 1c: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp:

172.5 ~ 173.6°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.39(1H, s), 8.21(1H, d,  $J=8.93$  Hz), 7.83(1H, d,  $J=7.76$  Hz), 7.59(1H, t,  $J=15.94$  Hz), 7.46(1H, s), 5.67(1H, d,  $J=5.14$  Hz), 4.08(1H, s), 3.59(1H, m), 1.07(3H, s), 1.01(3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  209.3, 146.7, 136.3, 135.1, 134.1, 131.8, 131.5, 131.5, 128.9, 128.9, 123.5, 71.2, 64.4, 46.9, 43.2, 42.8, 41.9, 37.6, 36.8, 36.9, 31.3, 31.2, 29.3, 20.1, 18.3, 14.0; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  427.2035 (calcd. 427.2040).

化合物 1d: 淡黄色固体粉末, 收率见表 1, mp: 168.2 ~ 169.8°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.53(2H, d,  $J=8.50$  Hz), 7.38(1H, s), 7.08(2H, t,  $J=17.2$  Hz), 5.63(1H, d,  $J=5.03$  Hz), 4.04(1H, s), 3.54(1H, m), 1.04(3H, s), 0.96(3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  209.6, 164.3, 161.8, 146.6, 135.4, 132.3, 132.2, 132.0, 123.5, 115.9, 115.7, 71.1, 64.4, 46.9, 43.2, 42.8, 41.9, 37.6, 36.9, 36.9, 31.2, 31.2, 29.2, 20.1, 18.3, 14.0; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  411.2336 (calcd. 411.2335).

化合物 1e: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 179.3 ~ 180.8°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7.61(1H, s), 7.57(1H, d,  $J=7.72$  Hz), 7.40(1H, m), 7.08(1H, d,  $J=8.2$  Hz), 7.04(1H, t,  $J=14.96$  Hz), 5.45(1H, d,  $J=5$  Hz), 3.84(3H, s), 3.30(1H, m), 0.96(3H, s), 0.88(3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  208.8, 158.4, 144.0, 136.5, 131.2, 129.6, 126.1, 124.4, 123.8, 120.6, 111.5, 69.9, 62.7, 55.8, 46.6, 43.3, 42.3, 42.1, 37.1, 36.7, 31.5, 31.4, 28.9, 19.9, 18.1, 13.9; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  422.2451 (calcd. 422.2457).

化合物 1f: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 185.1 ~ 186.3°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.36(1H, s), 6.77(2H, s), 5.65(1H, d,  $J=4.84$  Hz), 4.03(1H, s), 3.88(9H, s), 3.58(1H, s), 1.05(3H, s), 0.98(3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  209.5, 153.1, 146.7, 139.3, 135.0, 133.4, 131.1, 123.4, 107.7, 107.7, 71.2, 64.4, 61.0, 56.1, 56.2, 46.9, 43.2, 42.7, 41.9, 37.6, 36.9, 31.3, 31.2, 29.1, 20.1, 18.3, 14.0; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$

483.2740 (calcd. 483.2746).

化合物 1g: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 174.2 ~ 176.1°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.668(1H, d,  $J=7.61$  Hz), 7.51(1H, s), 7.43(1H, t,  $J=7.90$  Hz), 7.108(1H, d,  $J=8.41$  Hz), 7.01(1H, d,  $J=7.48$  Hz), 5.45(1H, d,  $J=5.40$ ), 3.60(1H, d,  $H-7, J=2.58$  Hz), 3.33(1H, m,  $H-3$ ), 2.86(1H, t,  $H-17, J=8.7$  Hz), 1.05(1H, s,  $H-19$ ), 0.97(1H, s,  $H-18$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  208.4, 157.7, 145.1, 135.5, 131.2, 128.9, 126.0, 124.7, 122.3, 120.2, 111.7, 69.0, 62.5, 56.8, 46.2, 43.0, 42.5, 42.1, 37.3, 36.5, 36.0, 33.5, 31.4, 28.6, 19.7, 18.3, 13.5; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  422.2455 (calcd. 422.2457).

化合物 1h: 白色固体粉末, 收率见表 1, mp: 180.1 ~ 182.4°C;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  87.67(1H, s), 7.53(1H, d,  $J=7.72$  Hz), 7.38(1H, m), 7.02(1H, d,  $J=8.1$  Hz), 7.04(1H, t,  $J=14.90$  Hz), 5.45(1H, d,  $J=5.2$  Hz), 3.78(3H, s), 3.35(1H, m), 1.04(3H, s), 0.86(3H, s);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  208.8, 159.2, 143.7, 144.0, 135.6, 128.9, 127.8, 125.1, 120.8, 114.7, 71.6, 65.3, 53.1, 56.2, 51.0, 42.3, 41.7, 39.8, 38.0, 37.2, 34.1, 31.3, 25.9, 20.6, 19.3, 19.0; HR-MS  $m/z$ :  $[\text{M} + \text{H}]^+$  408.2297 (calcd. 408.2301).

### 1.2.3 $3\beta, 7\alpha$ -二羟基-16-苯亚甲基雄甾-5-烯-17-酮衍生物 1a~h 的细胞毒活性研究

采用 MTT 法, 考察了化合物 1a~h 对人食管癌上皮细胞株 EC109 的抑制活性。结果如表 2 所示。考虑到化合物 1a~h 的结构中均形成了  $\alpha, \beta$  不饱和酮的结构, 根据文献报道, 从中药冬凌草中提取的冬凌草甲素 (Oridonin, 图 3) 普遍用于治疗消化道肿瘤, 其抗肿瘤活性中心就是结构中的  $\alpha$ -环外亚甲基环戊酮单元<sup>[9]</sup>, 因此我们选择冬凌草甲素作为阳性对照品。

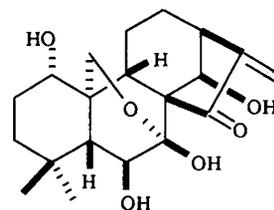


图 3 Oridonin 的结构

Fig. 3 Structure of Oridonin

表 2 化合物 1a ~ h 对 EC109 细胞株的抑制率 (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Tab. 2 Inhibition rate of EC109 cells by comp. 1a ~ h

化合物	1a	1b	1c	1d	1e	1f	1g	1h	NC <sup>a</sup>	冬凌草甲素
抑制率	41.16	53.29	59.73	76.84	70.71	61.35	52.43	57.67	7.5E-5	76.82

注:a 为阴性对照

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物转化

从卷枝毛霉转化 DHEA 的发酵液中经柱层析分离得到两个纯的化合物 1、2, 经 IR、NMR 及 HRMS 等多种方法确证, 并与文献[8]对照, 分别确定为 DHEA 的 7 $\alpha$ -和 7 $\beta$ -羟基衍生物. 其中 7 $\alpha$ -羟基 DHEA 的收率 (31.56%) 较 7 $\beta$ -羟基 DHEA (12.59%) 为高, 是主要转化产物.

### 2.2 3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -二羟基-16-苯亚甲基雄甾-5-烯-17-酮衍生物 1a ~ h 的合成

以 7 $\alpha$ -羟基 DHEA (1) 为原料, 利用 Claisen-Schmidt 缩合反应, 使其分别与苯甲醛及多种取代苯甲醛进行反应, 在其 16 位引入系列取代苯亚甲基基团, 共得到 8 种衍生物 1a ~ h, 均为未见文献报道的新化合物. 以化合物 1a 为例, 在 <sup>1</sup>H NMR 谱中, 7.26 处出现一个单峰, 判断为苄位氢的信号, 同时在  $\delta$  7.55-7.35 处也出现了单取代苯的质子信号. <sup>13</sup>C NMR 谱中苯环碳的信号则为 147.4 (C-1'), 126.6 (C-2', 6'), 131.2 (C-3', 5'), 134.0 (C-4'). 由以上分析可以判断 1a 的结构为 3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -二羟基-16-苯亚甲基雄甾-5-烯-17-酮.

### 2.3 3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -二羟基-16-苯亚甲基雄甾-5-烯-17-酮衍生物 1a ~ h 的细胞毒活性研究

甾体化合物在抗肿瘤领域的应用已得到广泛证实<sup>[10]</sup>, 因此, 笔者对所合成的甾体化合物进行了体外细胞毒活性筛选. 表 2 列出了化合物 1a-h 对人食管癌上皮细胞株 EC109 的抑制活性. 从表中所显示的结果可以看出经过转化后得到的羟基化衍生物 1、2 的抑制活性相应比其原料 DHEA 有所提高, 说明引入羟基可增强其抗肿瘤作用. 而以 1 为母体进行改造的苯亚甲基衍生物 1a ~ h 均比其母体化合物 1 的活性有明显提高. 这说明在甾体结构中引入苯亚甲基结构可显著增强其细胞毒活性, 而且这种体外抑制活性和苯环上的取代基也有一定关系, 吸电子基团比斥电子基团的活性好, 但与取代基的位置关系不大.

## 3 结论

笔者利用卷枝毛霉对去氢表雄酮进行了生物

转化研究, 从发酵液中分离得到其 7 $\alpha$ -和 7 $\beta$ -羟基化产物, 并利用 Claisen-Schmidt 缩合反应在 7 $\alpha$ -羟基去氢表雄酮的 16 位引入带有不同取代基的苯亚甲基结构, 得到 8 个新化合物, 细胞毒实验表明引入苯亚甲基结构的衍生物对人食管癌上皮细胞株 EC109 有较强的抑制活性.

## 参考文献:

- [1] ALEXANDER K, ZDENA K, MILOŠ B. Neurosteroids: 7-aza-allopregnanolone-a poor substitute for allopregnanolone [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63: 11355 - 11362.
- [2] MORFIN R, COURCHAY G. Pregnenolone and dehydroepiandrosterone as precursors of native 7-hydroxylated metabolites which increase the immune response in mice [J]. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1994, 50 (1-2): 91 - 100.
- [3] CAROLINA G L, MARIA E S, VALERIA S, et al. Effects of dehydroepiandrosterone on ovarian cystogenesis and immune function [J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 2004, 64 (1-2): 59 - 66.
- [4] DANENBERG H D, BEN-YEHUDA A, ZAKAY-RONES Z, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA) treatment reverses the impaired immune response of old mice to influenza vaccination and protects from influenza infection [J]. *Vaccine*, 1995, 13: 1445 - 1448.
- [5] BAULIEU E E, ROBEL P, FELLOUS A, et al. MA-PREG: Toward a novel approach of neuroprotection and treatment of Alzheimer's disease [J]. *J. Mol. Neurosci.*, 2004, 24 (1): 63 - 65.
- [6] CHATTOPADHAYA R, JINDAL D P, MINU M, et al. Synthesis and cytotoxic studies of Hydroximino derivatives of some 16E-arylidene steroids [J]. *Arzneimittel Forschung*, 2004, 54 (9): 551 - 556.
- [7] DUBEY S, PIPLANI P, JINDAL D P. Synthesis and evaluation of some 16-benzylidene substituted 3,17-dioximino androstene derivatives as anticancer agents [J]. *Letters in Drug Design & Discovery*, 2005, 2 (7): 537 - 545.

(下转第 69 页)

[16] 赵正敏,吴乐南.余弦窗 DFT 递推算法[J].通信学

报 2001,22(11):124-127.

## Study on High-precision Frequency Measurement Method Based on the 4-term Nuttall Windowed Recursive DFT Interpolation Algorithm

XU Min<sup>1</sup>, LIU Xiao-hui<sup>1</sup>, WANG Xi<sup>2</sup>, XU Hui<sup>3</sup>, WANG Yi<sup>3</sup>, CAO Yuan-qian<sup>4</sup>

(1. College of Electrical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China; 2. Shangqiu Electric Power Bureau, Shangqiu 476000, China; 3. CPI Kaifeng Power Branch Company, Kaifeng 475000, China; 4. College of Information Science and Technology, Donghua University, Shanghai 201620, China)

**Abstract:** In order to improve the accuracy of calculation of the power system frequency, a high-precision frequency measurement method based on the 4-term Nuttall windowed recursive DFT interpolation algorithm has been put forward. Energy of four cosine window is more concentrated in the main lobe, very small in the side lobe, so the 4-term Nuttall windowed recursive FFT interpolation algorithm can greatly reduce the effects of spectral leakage, and spectral interference is very small, which can reduce the frequency measurement interference caused by spectrum leakage and harmonic, and the frequency offset formula of the method is simple. In order to reduce the amount of plus four cosine windowed FFT calculation, this paper introduces the plus four cosine window recursive DFT method which improves the traditional method, these improvements effectively reduce the 4-term Nuttall windowed recursive DFT interpolation algorithm and improves the calculation accuracy of the frequency. Simulation results verify the calculation accuracy of the proposed algorithm.

**Key words:** recursive DFT algorithm; Nuttall window; spectrum leakage; frequency; interpolation FFT algorithm

(上接第 65 页)

[8] CRABB T A, DAWSON P J, WILLIAMS R O. Micro-bio-logical transformations. Part3. The oxidation of androstene derivatives with the fungus Cunninghamella Elegans[J]. J. Chem. Soc. Perkin, 1980, 11: 2535-2541.

activity of acylated oridonin [J]. Chem. Pharm. Bull., 1981, 29(11): 3208-3213.

[10] VOGEL C L. Update on the current use of hormonal as therapy in advanced breast cancer[J]. Anticancer Drugs, 2003, 14 (4): 265-273.

[9] FUJITA E, NAGAO Y, KOHNO T, et al. Antitumor

## Biotransformation of Dihydroepiandrosterone and the Synthesis and Cytotoxic Activities of the 16-Benzylidene Derivatives

SHAN Li-hong<sup>1,2</sup>, QIAO Xing<sup>1,2</sup>, LI Yang<sup>1,2</sup>, ZHANG Lu-jia<sup>1,2</sup>, JIAO Kai<sup>1,2</sup>, LIU Hong-min<sup>1,2</sup>

(1. School of Pharmaceutical Science, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. New Drug Research and Development Center, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** Dihydroepiandrosterone (DHEA) is one important bioactivity compound and one important intermediate of steroid drugs. It is for the first time to report the biotransformation of DHEA by *Mucor circinelloides* and two products was obtained. Furthermore, the 16-benzylidene derivatives were synthesized by Claisen-Schmidt reaction. The cytotoxic evaluation showed that these derivatives had better activity than the parent compound.

**Key words:** dihydroepiandrosterone; *Mucor circinelloides*; 7-hydroxylation; 16-benzylidene derivatives; cytotoxic activity