

去氢表雄酮结构修饰物的合成 及其抗菌活性评价

陶洪文¹, 王江伟¹, 彭可睿², 李筱芳¹, 于贤勇¹, 陈建¹, 易平贵¹

(1. 湖南科技大学 化学化工学院, 理论化学与分子模拟省部共建教育部重点实验室,
分子构效关系湖南省普通高等学校重点实验室, 湖南 湘潭 411201;

2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 210009)

摘要:以去氢表雄酮为原料, 通过环氧化、环氧开环、内酯化和酯化等化学反应, 合成了9个结构修饰物, 产物经核磁共振、质谱和红外光谱等进行表征, 并进一步进行了初步的抗菌活性测试, 结果显示2个化合物对金黄色葡萄球菌具有中等抑制活性, 6个化合物对枯草芽孢杆菌具有中等抑制活性, 4个化合物对白色念珠菌具有弱抑制活性。

关键词:去氢表雄酮; 结构修饰; 合成; 抗菌

中图分类号: R914 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9102(2015)01-0104-06

Synthesis and antimicrobial activity evaluation of modified compounds from dehydroepiandrosterone

Tao Hongwen¹, Wang Jiangwei¹, Peng Kerui², Li Xiaofang¹, Yu Xianyong¹, Chen Jian¹, Yi Pinggui¹

(1. Key Laboratory of Theoretical Chemistry and Molecular Simulation of Ministry of Education, Hunan Province College Key Laboratory of QSAR/QSPR, School of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China;

2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Nine modified compounds were synthesized by epoxidation, epoxide ring opening, lactonization and esterification reactions using dehydroepiandrosterone (DHEA) as starting material. The products were identified by NMR, MS and IR analysis. Furtherly, the preliminary antimicrobial activities of these compounds were evaluated. Two compounds exhibited moderate inhibition against *Staphylococcus aureus*. Six compounds showed moderate inhibition against *Bacillus subtilis*. Four compounds exhibited weak inhibition against *Candida albicans*.

Keywords: dehydroepiandrosterone; chemical modification; synthesis; antimicrobial

甾体化学是一门不断发展创新的分支学科, 以甾体为基础的药物开发多年来一直受到广泛关注, 即使甾体的环戊烷骈多氢菲结构骨架上发生细微的改变, 就可能引起其生物活性的显著改变. 目前对于活性甾体的相关研究工作主要包括甾环的杂化^[1-3]、甾环的芳构化^[4-5]、甾环的内酯化^[6]、卤原子修饰^[7-9]、C-17侧链改性^[10-13]和糖苷化的甾醇^[14-15]等, 另外还有多羟基甾醇^[16-19]以及在此基础上衍生的硫酸酯、磷酸酯和糖苷类甾醇^[20-21], 非常引人注目, 结构和活性类型多样. 以去氢表雄酮为起始的药物研究, 目前已有科研工作者做了一定工作^[3], 但针对抗菌活性研究很少^[22], 值得进行进一步探索.

本文主要研究去氢表雄酮经3-位酰基化、5,6-位环氧化、5,6-位双羟基化和D-环内酯化结构修

收稿日期: 2014-05-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21172066); 湖南科技大学理论化学与分子模拟省部共建教育部重点实验室开放基金(E21203)

通信作者: 易平贵(1961-), 男, 湖南邵阳人, 博士, 教授, 主要从事分子构效与计算化学研究. E-mail: pgyi@hnust.cn

饰后的抗菌活性,并总结其结构类型与生物活性的关系规律,以期为从甾体类化合物开发抗菌药物提供设计思路和实验依据;本文通过环氧化、环氧酸性开环、内酯化和酯化等化学反应,合成了9个去氢表雄酮结构修饰物,并以产气肠杆菌、埃希氏大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和白色念珠菌为模型,对所合成的化合物进行抗菌活性评价,结果表明所合成的这类化合物对埃希氏大肠杆菌和产气肠杆菌没有生长抑制活性,而对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和白色念珠菌表现不同程度的抑制活性。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

反应试剂为分析纯,并根据反应要求做相应处理,分离试剂为化学纯,抗菌活性测试试剂为分析纯或医用试剂;检测用薄层硅胶板(TLC)为上海上邦实业有限公司生产,层析柱硅胶为青岛谱科分离材料公司生产;NMR采用BRUKER AC-P 500核磁共振仪测试(TMS内标),IR采用Nicolet 5-DX红外光谱仪测试(KBr压片),MS数据采用Waters XEVO Q-TOF UPLC-MS液质联用仪测试。

1.2 目标化合物的合成

以去氢表雄酮(DHEA)为原料,经过如图1所示的3条途径,合成了9个结构修饰化合物。

1.2.1 去氢表雄酮-3- β -乙酸酯(1)

在50 mL圆底烧瓶中,将1.0 g (3.47 mmol) DHEA溶于10 mL无水吡啶中,加入5 mg 4-二甲氨基吡啶(DMAP),冰浴,滴加1.0 mL (10.6 mmol) 乙酸酐,逐渐升至室温,反应1 h后,TLC检测反应完全,将反应体系倒入冰水中,析出大量白色固体,抽滤,水洗^[23]。干燥后得到1.13 g白色粉末,收率99%。

compound 1 m. p. 168 ~ 170 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.88 (s, 3H, H-18), 1.04 (s, 3H, H-19), 2.03 (s, 3H, CH₃CO-), 4.60 (m, 1H, H-3), 5.40 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H, H-6); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ : 220.6, 170.5, 139.9, 121.8, 73.7, 51.6, 50.1, 47.5, 38.0, 36.9, 36.7, 35.8, 31.4, 31.4, 30.7, 27.7, 21.8, 21.40, 20.3, 19.3, 13.5; IR (KBr) ν (cm⁻¹): 2 946, 2 861, 1 736, 1 456, 1 371, 1 029; ESI-MS 353.2 [M + Na]⁺。

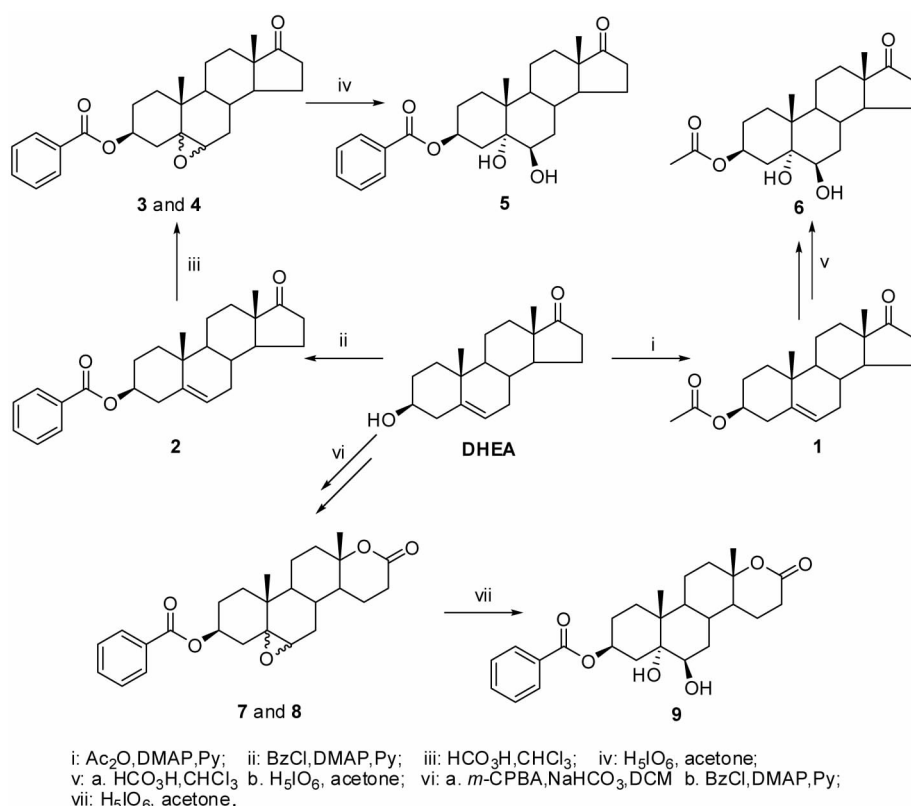


图1 化合物1~9的合成路线

1.2.2 去氢表雄酮-3- β -苯甲酸酯(2)

在50 mL圆底烧瓶中,将1.0 g (3.47 mmol) DHEA溶于10 mL无水吡啶,加入5 mg DMAP,冰浴,滴

加 0.8 mL (6.93 mmol) 苯甲酰氯, 逐渐升至室温, 继续反应 0.5 h 后, TLC 检测反应完全^[24], 将反应体系倒入冰水中, 析出大量白色固体, 抽滤, 依次用饱和 NaHCO_3 溶液和水洗涤, 干燥后得到 1.32 g 白色粉末, 收率 97%.

compound 2 m. p. 241 ~ 243 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (s, 3H, H-18), 1.10 (s, 3H, H-19), 4.87 (m, 1H, H-3), 5.46 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, H-6), 7.44 (td, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 2H, H-Ar), 7.55 (ddd, $J = 7.1, 2.5, 1.3$ Hz, 1H, H-Ar), 8.04 (dd, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 2H, H-Ar); $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ : 220.6, 165.9, 139.9, 132.8, 130.7, 129.5, 128.2, 122.0, 74.3, 51.7, 50.1, 47.5, 38.1, 36.9, 36.8, 35.8, 31.4, 31.4, 30.8, 27.8, 21.9, 20.3, 19.4, 13.5; IR (KBr) ν (cm^{-1}): 2 940, 2 897, 2 863, 1 722, 1 454, 1 274, 1 111, 714; ESI-MS 415.2 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

1.2.3 表雄酮-5 β ,6 β -环氧-3- β -苯甲酸酯(3)和表雄酮-5 α ,6 α -环氧-3- β -苯甲酸酯(4)

在 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 80% 的甲酸水溶液 10 mL 和 30% 的过氧化氢水溶液 40 mL, 室温下过夜搅拌, 制得过氧甲酸溶液备用. 另取一个 100 mL 圆底烧瓶, 将 1.0 g (2.55 mmol) 化合物 2 溶于 8 mL 氯仿中, 充分搅拌下, 慢慢滴加上述备用溶液, 室温下反应 3 h 后, TLC 检测反应完全, 分液, 有机相依次用饱和 NaHCO_3 溶液、 Na_2SO_3 溶液和水洗涤, 无水 MgSO_4 干燥后, 减压蒸馏去除溶剂, 得白色固体. 硅胶柱层析(石油醚: 乙酯 = 5:1)得到 0.23 g 化合物 3 和 0.70 g 化合物 4^[25-27], 收率分别为 22% 和 67%.

compound 3 m. p. 220 ~ 222 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 (s, 3H, H-18), 1.09 (s, 3H, H-19), 3.20 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-6), 5.04 (m, 1H, H-3), 7.44 (dd, $J = 8.4, 7.4$ Hz, 2H, H-Ar), 7.56 (tt, $J = 7.4, 1.3$ Hz, 1H, H-Ar), 8.03 (dd, $J = 8.4, 1.3$ Hz, 2H, H-Ar); $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ : 220.6, 165.9, 132.9, 130.3, 129.5, 128.3, 71.7, 63.2, 62.6, 51.1, 47.4, 37.9, 36.7, 35.7, 35.3, 31.4, 31.3, 29.7, 29.4, 27.2, 21.7, 21.2, 17.1, 13.4; IR (KBr) ν (cm^{-1}): 2 942, 2 860, 1 712, 1 279, 1 116, 713; API-MS 431.4 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

compound 4 m. p. 221 ~ 223 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.82 (s, 3H, H-18), 1.15 (s, 3H, H-19), 2.97 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, H-6), 5.22 (m, 1H, H-3), 7.42 (dd, $J = 8.2, 7.4$ Hz, 2H, H-Ar), 7.54 (tt, $J = 7.4, 1.1$ Hz, 1H, H-Ar), 8.02 (dd, $J = 8.2, 1.1$ Hz, 2H, H-Ar); $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ : 220.5, 165.7, 132.8, 130.5, 129.5, 128.2, 71.7, 65.2, 58.6, 51.7, 47.6, 42.6, 36.1, 35.7, 35.2, 32.1, 31.0, 29.4, 27.6, 27.2, 21.6, 19.9, 15.9, 13.5; IR (KBr) ν (cm^{-1}): 2 955, 2 917, 2 858, 1 737, 1 716, 1 274, 1 113, 716; API-MS 431.4 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

1.2.4 表雄酮-5 α ,6 β -二羟基-3- β -苯甲酸酯(5)

在 100 mL 圆底烧瓶中, 将 200 mg (0.66 mmol) 化合物 4 溶于 8 mL 丙酮, 室温下滴加 2 mL 高碘酸的水溶液(180 mg, 0.79 mmol). 升至 65 °C 反应 0.5 h, TLC 检测反应完全, 减压蒸馏去除大部分丙酮, 剩余物倒入冰水中, 析出白色固体, 抽滤, 依次用饱和 NaHCO_3 溶液和水洗涤, 得到 203 mg 化合物 5^[25-27], 收率 97%.

compound 5 m. p. 262 ~ 264 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (s, 3H, H-18), 1.26 (s, 3H, H-19), 3.65 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H-6), 5.41 (m, 1H, H-3), 7.41 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, H-Ar), 7.55 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H-Ar), 8.02 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H-Ar); $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ : 221.3, 166.4, 132.9, 130.4, 129.5, 128.3, 75.9, 75.7, 71.7, 50.8, 47.9, 45.4, 38.5, 37.1, 35.8, 33.4, 32.1, 31.4, 29.9, 26.7, 21.7, 20.3, 16.6, 13.9; IR (KBr) ν (cm^{-1}): 3 448, 2 937, 2 864, 1 732, 1 707, 1 455, 1 278, 1 119, 713; ESI-MS 449.2 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

1.2.5 表雄酮-5 α ,6 β -二羟基-3- β -乙酸酯(6)

同 1.2.3 法制备过氧甲酸水溶液备用. 另取一个 100 mL 圆底烧瓶, 将 200 mg (0.6 mmol) 化合物 1 溶于 3 mL 氯仿, 慢慢滴加上述加备用溶液, 室温下反应 3 h, TLC 检测反应完全, 分液, 有机相依次用饱和 NaHCO_3 溶液、 Na_2SO_3 溶液和水洗涤, 无水 MgSO_4 干燥后, 减压蒸去溶剂, 加入 6 mL 丙酮, 室温下滴加含 2 mL 高碘酸的水溶液(152 mg, 0.66 mmol), 升至 65 °C 反应 2 h, TLC 检测反应完全, 减压除去大部分丙酮后, 将其倒入冰水中, 析出白色固体, 抽滤, 固体依次用饱和 NaHCO_3 溶液和水洗涤, 得到 174 mg 化合物 6^[27-28], 收率 79%.

compound 6 m. p. 232 ~ 235 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 (s, 3H, H-18), 1.19 (s, 3H,

H-19), 2.02 (s, 3H, CH₃CO), 3.58 (s, 1H, H-6), 5.12 (m, 1H, H-3); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 220.1, 171.1, 75.8, 75.6, 71.2, 50.8, 47.9, 45.4, 38.4, 36.9, 35.8, 33.4, 32.0, 31.4, 29.9, 26.6, 21.7, 21.4, 20.3, 16.5, 13.8; IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3 448, 2 941, 2 869, 1 707; API-MS 387.4 [M + Na]⁺.

1.2.6 3 β -benzoyloxy-5 β ,6 β -epoxy-17-oxa-androstan-16-one (7) 和 3 β -benzoyloxy-5 α ,6 α -epoxy-17-oxa-androstan-16-one (8)

在 100 mL 圆底烧瓶中,将 1.0 g (3.47 mmol) DHEA 溶于 10 mL 二氯甲烷,体系中加入 870 mg (10.4 mmol) NaHCO₃,室温下分批滴加 10 mL *m*-CPBA 的二氯甲烷溶液(1.8 g, 10.4 mmol),反应 24 h 后, TLC 检测反应完全,有机相分别用饱和 NaHCO₃, Na₂SO₃ 溶液溶液和水洗涤,无水 MgSO₄ 干燥,减压除去溶剂得到 1.03 g 干燥白色固体,将产物溶于 10 mL 无水吡啶中,加入 5 mg DMAP,冰浴下滴加 0.65 mL (4.58 mmol) 苯甲酰氯,升至室温,反应 0.5 h, TLC 检测反应完全,将其倒入冰水中,析出白色固体,抽滤,固体依次用饱和 NaHCO₃ 溶液和水洗涤,干燥后柱层析(石油醚:乙酯 = 5:1)得到 0.21 g 化合物 7 和 0.63 g 化合物 8,收率分别为 14% 和 43%.

compound 7 m. p. 232 ~ 234 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.05 (s, 3H, H-18), 1.30 (s, 3H, H-19), 3.21 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-6), 5.04 (m, 1H, H-3), 7.44 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-Ar), 7.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-Ar), 8.03 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-Ar); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 171.3, 165.9, 133.0, 130.2, 129.5, 128.3, 82.8, 71.5, 63.2, 62.4, 49.8, 45.8, 38.9, 36.5, 35.2, 32.5, 31.3, 29.6, 28.5, 27.1, 22.6, 19.9, 19.7, 17.0; IR (KBr) ν (cm⁻¹): 2 950, 2 861, 1 710, 1 272, 721; HRAPI-MS 425.133 0 [M + H]⁺ (calcd. for C₂₆H₃₃O₅⁺; 425.232 3).

compound 8 m. p. 235 ~ 238 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.10 (s, 3H, H-18), 1.27 (s, 3H, H-19), 2.98 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H, H-6), 5.21 (m, 1H, H-3), 7.43 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-Ar), 7.55 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-Ar), 8.03 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, H-Ar); ¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ: 171.2, 165.6, 132.8, 130.4, 129.4, 128.2, 82.6, 71.5, 64.9, 58.3, 46.8, 41.5, 38.5, 35.8, 35.1, 32.3, 31.8, 29.1, 28.7, 27.08, 21.3, 20.0, 19.6, 17.6; IR (KBr) ν (cm⁻¹): 2 945, 2 867, 1 715, 1 277, 715; HRESI-MS 447.214 6 [M + Na]⁺ (calcd. for C₂₆H₃₂O₅Na⁺; 447.214 2).

1.2.7 3 β -benzoyloxy-5 α ,6 β -dihydroxy-17-oxa-androstan-16-one(9)

以化合物 8 为原料,参考化合物 6 的合成方法,收率 85%.

compound 9 m. p. 256 ~ 259 °C; ¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ: 1.08 (s, 3H, H-18), 1.24 (s, 3H, H-19), 3.43 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, H-6), 4.22 (s, 1H, 5-OH), 4.68 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H, 6-OH), 5.34 (m, 1H, H-3), 7.52 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, H-Ar), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, H-Ar), 7.96 (dd, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 2H, H-Ar); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ: 170.8, 165.3, 133.2, 130.3, 129.1, 128.7, 82.8, 73.9, 73.4, 72.0, 45.3, 43.6, 37.8, 36.8, 33.0, 32.8, 31.5, 31.7, 28.3, 26.6, 21.5, 19.9, 19.4, 16.2; IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3 448, 2 941, 2 869, 1 707, 1 278, 1 116, 712; HRAPI-MS 443.243 0 [M + H]⁺ (calcd. for C₂₆H₃₅O₆⁺; 443.242 8).

1.3 目标化合物的抗菌活性评价

抗菌活性评价采用琼脂平板贴片法进行^[29],试验菌种为白色念珠菌、埃希氏大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和产气肠杆菌,白色念珠菌采用 YPD 培养基培养,其余用 LB 培养基培养,载样使用直径 6 mm 灭菌滤纸片,分别以盐酸氧氟沙星和氟康唑为抗细菌和抗真菌测试阳性对照,供试化合物和阳性对照均用 DMSO 溶解和稀释,采用二倍稀释法配置待测各化合物样品和阳性对照浓度梯度,每个测试梯度平行 3 份,并设溶剂空白,测试样品起始浓度为 512 μg/mL,阳性对照物起始浓度为 100 μg/mL,以开始出现无抑菌圈滤纸片的载样浓度为被评价对象的最小抑菌浓度(MIC).

经测试,阳性对照盐酸氧氟沙星对埃希氏大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和产气肠杆菌的 MIC 值分别为 6.25, 12.5, 6.25 和 3.12 μg/mL,氟康唑对白色念珠菌的 MIC 值为 12.5 μg/mL,试剂对 4 种菌株都无抑制;化合物 5 和 8 对金黄色葡萄球菌 MIC 值为 64 μg/mL,化合物 2,3,4 和 5 对枯草芽孢杆菌 MIC 值为 32 μg/mL,而 6 和 9 对其吡啶(b) MIC 值为 64 μg/mL,另外,1,5,6 和 9 对白色念珠菌有微弱的生长抑制,其 MIC 值为 128 μg/mL,其它化合物未表现抑菌活性(见表 1).

2 结果与讨论

成功开发了一条以 DHEA 为原料,高效合成去氢表雄酮结构修饰物的实验路线,并对所合成的化合物进行了抗菌活性测试.从活性测试结果分析,DHEA 结构修饰物对于枯草芽孢杆菌具有相对较普遍的抑制活性,且抑制作用较强,对金黄色葡萄球菌和白色念珠菌抑制活性次之,对埃希氏大肠杆菌和产气肠杆菌无生长抑制.从化合物结构分析,双羟基类化合物抗菌谱相对较广,其中双羟基化合物 5 对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌都有抑制活性,双羟基化合物 6 和 9 对病菌枯草芽孢杆菌和白色念珠菌有抑制活性,可见,多羟基的引入可拓展 DHEA 衍生物的抗菌谱和抗菌活性.

表 1 化合物 1~9 的抗菌活性

(MIC: $\mu\text{g/mL}$)

化合物	测试菌种				
	产气肠杆菌	埃希氏大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	白色念珠菌
1	—	—	—	—	128.0
2	—	—	—	32.00	—
3	—	—	—	32.00	—
4	—	—	—	32.00	—
5	—	—	64.0	32.00	128.0
6	—	—	—	64.00	128.0
7	—	—	—	—	—
8	—	—	64.0	—	—
9	—	—	—	64.00	128.0
盐酸氧氟沙星	3.12	6.25	12.5	6.25	—
氟康唑	—	—	—	—	12.5

注:“—”表示在 256 $\mu\text{g/mL}$ 浓度以上未表现生长抑制.

3 结论

以去氢表雄酮为原料,通过其 3-位酰基化、5,6-位环氧化、5,6-位双羟基化和 D-环内酯化,合成了 9 个去氢表雄酮结构修饰物,活性测试表明多羟基的引入对于改善 DHEA 的抗菌活性有积极意义.

致谢:中国海洋大学朱伟明教授提供测试菌种,特此感谢.

参考文献:

- [1] Rasmusson G H, Reynolds G F, Steinberg N G, et al. Azasteroids: structure - activity relationship for inhibition of 5 - reductase and of androgen acceptor binding[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1986,29(11): 2298 - 2315.
- [2] Andriole G L, Kirby R. Safety and tolerability of the dual 5 α - reductase inhibitor dutasteride in the treatment of benign prostatic hyperplasia[J]. European Urology, 2003, 44(1): 82 - 88.
- [3] Huang L H, Zheng Y F, Lu Y Z, et al. Synthesis and biological evaluation of novel steroidal[17,16 - d][1,2,4]triazolo[1,5 - a]pyrimidines[J]. Steroids, 2012, 77: 710 - 715.
- [4] Robertson J F, Come S E, Jones S E, et al. Endocrine treatment options for advanced breast cancer; the role of fulvestrant[J]. European Journal of Cancer, 2005, 41(3): 346 - 356.
- [5] Miller T A, Bulman A L, Thompson C D, et al. Synthesis and structure - activity profiles of A - homoestranses, the estratropones[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1997, 40(23): 3836 - 3841.
- [6] Cepa M M, Tavares D, Silva E J, et al. Structure - activity relationships of new A,D - ring modified steroids as aromatase inhibitors; design, synthesis, and biological activity evaluation[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2005, 48(20): 6379 - 6385.
- [7] Shue H J, Green M J, Berkenkoph J, et al. Synthesis and structure - activity studies in a series of 7 alpha - halogeno corticosteroids[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1980, 23(4): 430 - 437.
- [8] He Y, Li P, Yalkowsky S H. Solubilization of fluasterone in cosolvent/cyclodextrin combinations[J]. International Journal of

Pharmaceutics, 2003, 264(1): 25 - 34.

- [9] Wren D L, Siddall J B, Edwards J A. Steroids CCCI(1). Radiochemical syntheses. Part I. Preparation of tritiated $6\alpha,9\alpha$ -difluoro cortical hormones[J]. Journal of Labelled Compounds, 1967, 3(2): 104 - 111.
- [10] Leese M P, Jourdan F L, Gaukroger K, et al. Structure - activity relationships of C - 17 cyano - substituted estratrienes as anticancer agents [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2008, 51(5): 1295 - 1308.
- [11] Nickisch K, Bittler D, Laurent H, et al. Aldosterone antagonists. 3. Synthesis and activities of steroidal 7α - (alkoxycarbonyl) - 15,16 - methylene spirolactones[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 1990,33(2): 509 - 513.
- [12] Rivera D G, Peseke K, Jomarrón I, et al. Synthesis of new pyrazole and pyrimidine steroidal derivatives[J]. Molecules, 2003, 8(5): 444 - 452.
- [13] Amr A G, Abdulla M M. Synthesis and anti - inflammatory activities of new cyanopyrane derivatives fused with steroidal nuclei[J]. Archiv der Pharmazie, 2006, 339(2): 88 - 95.
- [14] Kicha A A, Kalinovsky A, Ivanchina N V. New steroid glycosides from the deep - water starfish *Mediaster murrayi*[J]. Journal of Natural Products, 1999, 62(2): 279 - 282.
- [15] Shimoyamada M, Suzuki M, Maruyama M, et al. An antifungal saponin from white asparagus (*asparagus officinalis* L) bottoms[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1996, 72(4): 430 - 434.
- [16] Shen J H, Huang S Y, Duh C Y. Study on cytotoxic oxygenated desmosterols isolated from the red alga *Galaxaura marginata* [J]. Journal of Natural Products, 1997, 60(9): 900 - 903.
- [17] Zeng L, Li X, Su J, et al. A new cytotoxic dihydroxy sterol from the soft coral *Alcyonium patagonicum*[J]. Journal of Natural Products, 1995, 58(2): 296 - 298.
- [18] 季菲, 周涛, 林静容, 等. 由孕甾 - 3S,5R,6R,16S,20S - 五醇合成黄体酮[J]. 应用化学, 2010, 68(22): 2331 - 2337.
- [19] 林啟福, 崔建国, 甘春芳, 等. 海洋生物中具有生理活性的多羟基甾醇[J]. 有机化学, 2012, 32: 2214 - 2222.
- [20] Sun H H, Cross S S, Gunasekera M, et al. Weinbersterol disulfates A and B, antiviral steroid sulfates from the sponge *Petrosia weinbergi*[J]. Tetrahedron, 1991 (47): 1185 - 1190.
- [21] Polette M, Birembaut P. Membrane - type metalloproteinases in tumor invasion[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 1998, 30(11): 1195 - 1202.
- [22] 田光辉. 醋酸去氢表雄酮肟的合成及其抗菌活性研究[J]. 陕西理工学院学报(自然科学版), 2012, 28(1): 63 - 67.
- [23] Bazin M A, Kihel L E, Rault S, et al. First synthesis of 7α - and 7β - amino - DHEA, dehydroepiandrosterone (DHEA) analogues and preliminary evaluation of their cytotoxicity on Leydig cells and TM4 Sertoli cells[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2007, 15: 3152 - 3160.
- [24] Bratoeff E, Cortes F, Garrido M, et al. Cytotoxic effect of novel dehydroepiandrosterone derivatives on different cancer cell lines[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 68: 301 - 311.
- [25] Kasal A, Podlaha J, Zajicek J. A - homo - B,19 - dinorandrostanes from 6β - methanesulfonyloxy - 5 - methyl - 19 - nor - 5β - androst - 9 - ene derivatives[J]. Collection of Czechoslovak Chemical Communications, 1991, 56: 1070 - 1086.
- [26] Ruzicka L, Grob L, Raschka S. Über steroide und sexualhormone. (65. mitteilung). herstellung des Δ^4 - androsten - 6, 17 - dions[J]. Helvetica Chimica Acta, 1940, 23: 1518 - 1527.
- [27] 江敏, 崔鹏, 于涛, 等. 3β - 羟基雄甾 - 4 - 烯 - 6,17 - 二酮的合成[J]. 应用化学, 2006, 23(12): 1422 - 1424.
- [28] Reese P B, Ruddock P L, Williams D J. The reactions of palladium(II), thallium(III) and lead(IV) trifluoroacetates with 3β - acetoxyandrost - 5 - en - 17 - one; crystal structure of the first trifluoroacetate bridged 5,6,7 - π - allyl steroid palladium dimer[J]. Steroids, 2004, 69: 193 - 199.
- [29] Laura L Z. Spices and herbs; their antimicrobial activity and its determination[J]. Journal of Food Safety, 1988, 9: 97 - 118.