



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101475552 B

(45) 授权公告日 2014.03.12

(21) 申请号 200910010319.1

(22) 申请日 2009.02.09

(73) 专利权人 沈阳药科大学

地址 110016 辽宁省沈阳市沈河区文化路  
103号

(72) 发明人 胡春 洪秀云 刘晓平 黄二芳  
宋爱华 刘洋 王世辉

(74) 专利代理机构 沈阳杰克知识产权代理有限公司 21207

代理人 李宇彤

(51) Int. Cl.

C07D 311/30(2006.01)

A61K 31/352(2006.01)

A61P 7/02(2006.01)

(56) 对比文件

WO 02/060889 A1, 2002.08.08, 说明书第  
12-13 页实施例 2, 第 16 页实施例 5.

Tran Thanh Dao et al. Synthesis and  
inhibitory activity against COX-2 catalyzed  
prostaglandin production of chrysin

derivatives. 《Bioorganic & Medicinal  
Chemistry Letters》. 2004, 第 14 卷 1165-1167.

闫炳双等. 7-乙酰水杨酰氧基黄酮衍生物的  
合成. 《中国药物化学杂志》. 1994, 第 4 卷 (第 1  
期), 36-40.

Raffaele Landolfi et al. Modification  
of platelet function and arachidonic  
acid metabolism by bioflavonoids  
structure-activity relations. 《Biochemical  
Pharmacology》. 1984, 第 33 卷 (第 9  
期), 1525-1530.

Y. B. Vibhute. Toxicity to fish of some  
halogeno-flavones and flavanones. 《Indian J.  
Exp. Biol.》. 1976, 第 14 卷 (第 4 期), 489-490.

Michael S. Y. Huen et al. Naturally  
occurring 2'-hydroxyl-substituted  
flavonoids as high-affinity  
benzodiazepine site ligands. 《Biochemical  
Pharmacology》. 2003, 第 66 卷 2397-2407.

审查员 李佳博

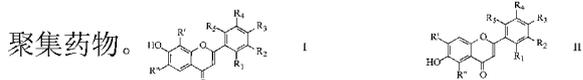
权利要求书1页 说明书12页

(54) 发明名称

羟基黄酮衍生物及其抗血小板聚集的用途

(57) 摘要

本发明属于医药技术领域, 涉及羟基黄酮衍  
生物及其抗血小板聚集的用途。其结构通式如下  
所示: 羟基黄酮衍生物及其类似物药学上适用的  
酸加成的盐作为血小板聚集抑制剂。在结构式 I  
和结构式 II 中, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> 相同或不同, 是 H,  
卤素, OH, CF<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>; R', R'' 相同或不  
同, 是 H, 卤素, CH<sub>2</sub>OH, COOH, CH<sub>2</sub>Cl。本发明的这类  
化合物的合成方法使用 Baker Venkataraman 重  
排及浓硫酸环合等方法制备。本发明的这类化合  
物的合成方法简单, 适应工业化生产, 相对于天然  
的类似物更加稳定, 生物活性测试显示此类化合  
物具有镇痛、抗炎、抗凝血活性, 是一种抗血小板



1. 羟基黄酮衍生物,选自
  - 2'-氯-5,7-二氯-6-羟基黄酮;
  - 2'-甲基-5-氯-6-羟基黄酮;
  - 2'-硝基-8-溴-7-羟基黄酮;
  - 2'-氯-8-溴-7-羟基黄酮;
  - 2'-氟-8-溴-7-羟基黄酮;
  - 4'-氯-8-氯-7-羟基黄酮。
2. 一种药物组合物,其特征在于:该组合物含有效量的权利要求1的化合物或与其药学上可接受的盐,及其药学上可接受的载体。
3. 权利要求1所述的化合物在制备抗血小板聚集药物中的应用。
4. 权利要求2所述的药物组合物在制备抗血小板聚集药物中的应用。
5. 2'-甲基-6-羟基黄酮,2'-硝基-6-羟基黄酮,4'-甲氧基-7-羟基黄酮在制备抗血小板聚集药物中的应用。

## 羟基黄酮衍生物及其抗血小板聚集的用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及羟基黄酮衍生物及其抗血小板聚集的用途。

### 背景技术

[0002] 临床研究表明,临床上常见的心脑血管疾病如高血压、糖尿病、心绞痛、心肌梗塞、脑梗塞及脑出血等疾病,均与血小板功能变化和血液流变学异常有关(天津医药,1992,20(11):684)。因此,防止血小板聚集具有重要意义。

[0003] 血小板是由骨髓中成熟的巨核细胞裂解产生的,初生成的血小板体积较大,具有合成蛋白质的能力,黏着力强,易于聚集和发生释放反应,具有止血功能。目前认为血小板的生理活动主要有粘附,聚集和释放反应三个方面。在正常的生理条件下,血小板并不会粘附在血管内皮上,但当血管受损,血流改变或受到外界化学物质刺激时,血小板则发生三种相关联的反应,即粘附,释放和聚集,而抗血小板聚集药物又分为(1)抑制血小板花生四稀酸代谢的药物;(2)增加血小板内 Camp 含量的药物;(3)TXA<sub>2</sub>受体阻断剂和合成酶抑制剂;(4)一氧化氮供体;(5)阻碍ADP介导血小板活化的药物;(6)凝血酶抑制剂;(7)具有抑制血小板聚集作用的其他药物。由于影响血小板聚集的因素很多,有些药物尚存在疗效不确切,稳定性不足,具有毒副作用等缺点,但随着人们对血小板聚集的生理过程和抗血小板聚集药物的作用机制的进一步研究,寻找疗效强,对多种诱导剂均有抑制作用的广谱血小板聚集抑制剂仍是当今研究方向。

[0004] 黄酮类化合物广泛存在于自然植物中,可分为黄酮、黄酮醇、异黄酮、黄烷、黄烷酮等及其甙类,具有抗肿瘤,抗炎和心脑血管疾病等多种生理活性。(Harborne JB Flavonoids(Chinese Edition), Beijing:Science Press,1983:322;Hogale MB, Pawar BN, Nikai BP. J Indian Chem Soc,1987,64:486)。也有文献(中国中药杂志,2003,28(5),420-422)报道,瓜蒌薤白白酒汤中的天然黄酮类化合物具有抗血小板聚集活性。但是天然黄酮类化合物含量低,我们设计并合成了一系列的黄酮类化合物,以克服天然黄酮类化合物的上述缺点。

### 发明内容

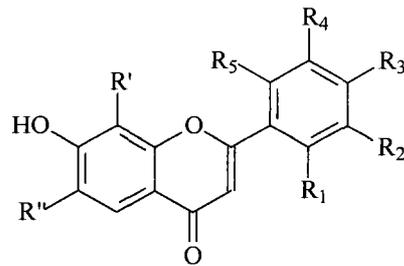
[0005] 本发明的一个目的是提供新的抗血小板聚集药物。

[0006] 本发明的另一个目的是提供一种药用组合物,该组合物包含有效量的所述新的抗血小板聚集化合物或其药学上可接受的盐及其药学上配伍可接受的载体。

[0007] 本发明的另外一个目的是提供一种在受治疗者体内产生抗血小板聚集效应的方法,该方法包括给予受治疗者足以产生所述效应量的,所述新的抗血小板聚集化合物或其药学上可接受的盐。

[0008] 本发明涉及以下通式的化合物:

[0009]



I

[0010] 其中  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5$  相同或不同, 是

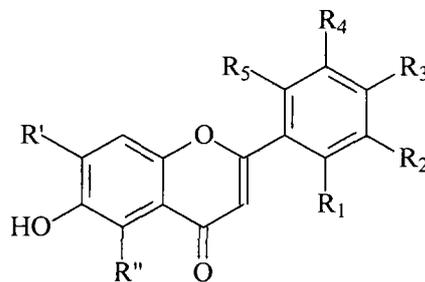
[0011] H, 卤素, OH,  $CF_3$ ,  $NO_2$ ,  $NH_2$ ,  $CH_3$ ,  $OCH_3$

[0012]  $R', R''$  相同或不同, 是

[0013] H, 卤素,  $CH_2OH$ ,  $COOH$ ,  $CH_2Cl$

[0014] 另外, 本发明还提供以下通式的化合物:

[0015]



II

[0016] 其中  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5$  相同或不同, 是

[0017] H, 卤素, OH,  $CF_3$ ,  $NO_2$ ,  $NH_2$ ,  $CH_3$ ,  $OCH_3$

[0018]  $R', R''$  相同或不同, 是

[0019] H, 卤素,  $CH_2OH$ ,  $COOH$ ,  $CH_2Cl$

[0020] 本发明的这类化合物的合成方法使用 Baker Venkataraman 重排及浓硫酸环合等方法制备这类化合物。

[0021] 本发明的这类化合物的合成方法简单, 适应工业化生产, 相对于天然的类似物更加稳定, 生物活性测试显示此类化合物具有镇痛, 抗炎, 抗凝血活性, 是一种抗血小板聚集药物。

### 具体实施方式

[0022] 通过下述实施例将有助于理解本发明, 但并不影响本发明的内容。

[0023] 实施例 1 : 2'-氟-7-羟基黄酮

[0024] 将 0.03mol 2',4'-二羟基苯乙酮, 0.22mol 无水碳酸钾, 150mL 干燥丙酮置于 250mL 圆底烧瓶中, 常温下缓慢滴加 0.06mol 邻氟苯甲酰氯。滴毕后, 加热至回流反应 12 小时。冷却, 抽滤, 滤饼用少量丙酮洗涤。将滤饼用稀盐酸酸化至 pH4-5, 抽滤, 洗涤, 干燥。用丙酮做重结晶。将重结晶后 0.022mol 1-[2-羟基-4-(2-氟苯甲酰氧基)苯基]-3-(2-氟苯基)]-1,3-丙二酮加到 100mL 锥形瓶中, 加入 36mL 浓硫酸, 冰浴, 搅拌 4 小时。停止反应, 将反应液倒入大量的冰水中, 析出淡白色固体。抽滤, 再将滤饼加入到 150mL 5% 的碳酸钾溶液中, 煮沸后冷却, 析出的固体用乙酸乙酯和乙醇重结晶, 得白色固体。收率 21.0%。MS  $m/z$  (M) : 256.23。 $^1H$ -NMR (DMSO),  $\delta$  (ppm) : 6.66 (1H, s), 6.95 (1H, s), 7.48 (2H, m), 7.66 (2H,

m), 7.98 (2H, m), 10.89 (1H, s)。

[0025] 实施例 2 :2'-甲基-7-羟基黄酮

[0026] 按照实施例 1 的方法,由 2',4'-二羟基苯乙酮、邻甲基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:38.4%。MS m/z(M):252.26。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):2.54(3H, s), 6.62(1H, s), 6.89(1H, s), 7.44(2H, m), 7.67(2H, m), 7.92(2H, m), 10.92(1H, s)。

[0027] 实施例 3 :2'-氯-7-羟基黄酮

[0028] 按照实施例 1 的方法,由 2',4'-二羟基苯乙酮、邻氯苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:27.6%。MS m/z(M):272.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.49(1H, s), 6.88(1H, s), 6.89-6.98(1H, m), 7.51-7.69(4H, m), 7.76-7.79(1H, d), 10.94(1H, s)。

[0029] 实施例 4 :2'-硝基-7-羟基黄酮

[0030] 按照实施例 1 的方法,由 2',4'-二羟基苯乙酮、邻硝基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:20.5%。MS m/z(M):283.24。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.47(1H, s), 6.83(1H, s), 6.84-6.90(1H, m), 7.49-7.66(4H, m), 7.72-7.77(1H, d), 10.91(1H, s)。

[0031] 实施例 5 :4'-甲氧基-7-羟基黄酮

[0032] 按照实施例 1 的方法,由 2',4'-二羟基苯乙酮、对甲氧基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:22.7%。MS m/z(M):268.26。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):3.82(3H, s), 6.47(1H, s), 6.87(1H, s), 7.39(2H, s), 7.62(2H, s), 7.88(2H, m), 10.90(1H, s)。

[0033] 实施例 6 :4'-氯-7-羟基黄酮

[0034] 按照实施例 1 的方法,由 2',4'-二羟基苯乙酮、对氯苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:21.6%。MS m/z(M):272.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.43(1H, s), 6.85(1H, s), 7.42(2H, s), 7.59(2H, s), 7.90(2H, m), 10.88(1H, s)。

[0035] 实施例 7 :2'-氟-8-溴-7-羟基黄酮

[0036] 3mmol 2'-氟-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 21.5%。MS m/z(M):335.12。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.76(1H, s), 7.28(1H, d), 7.48(2H, m), 7.68(1H, m), 7.91(1H, d), 8.07(1H, t), 11.66(1H, s)。

[0037] 实施例 8 :2'-甲基-8-溴-7-羟基黄酮

[0038] 3mmol 2'-甲基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 22.3%。MS m/z(M):331.16。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):2.51(3H, s), 6.48(1H, s), 7.12(1H, d), 7.40(2H, m), 7.47(1H, m), 7.63(1H, d), 7.93(1H, d), 11.59(1H, s)。

[0039] 实施例 9 :2'-氯-8-溴-7-羟基黄酮

[0040] 3mmol 2'-氯-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 28.2%。MS m/z(M):351.58。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.68(1H, s), 7.20(1H, d), 7.43(2H, m), 7.59(1H, m), 7.82(1H, d), 7.98(1H, d), 11.62(1H, s)。

[0041] 实施例 10 :2'-硝基-8-溴-7-羟基黄酮

[0042] 3mmol 2'-硝基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率

19.8%。MS m/z(M) :362.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :6.59(1H, s), 7.18(1H, d), 7.42(2H, m), 7.49(1H, m), 7.72(1H, d), 7.89(1H, d), 11.54(1H, s)。

[0043] 实施例 11 :4'-甲氧基-8-溴-7-羟基黄酮

[0044] 3mmol 4'-甲氧基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 22.8%。MS m/z(M) :347.16。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :3.87(3H, s), 6.93(1H, s), 7.08-7.17(3H, m), 7.88(1H, d), 8.10(2H, d), 11.61(1H, s)。

[0045] 实施例 12 :4'-氯-8-溴-7-羟基黄酮

[0046] 3mmol 4'-氯-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 25.5%。MS m/z(M) :351.58。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :7.06(1H, s), 7.10(2H, d, m), 7.68(2H, d), 7.88(1H, d), 8.14(2H, d), 11.67(1H, s)。

[0047] 实施例 13 :2'-氟-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0048] 4mmol 2'-氟-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 27.3%。MS m/z(M) :414.02。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :6.81(1H, s), 7.45-7.52(2H, m), 7.68(1H, m), 8.06(1H, t), 8.12(1H, s)。

[0049] 实施例 14 :2'-甲基-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0050] 4mmol 2'-甲基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 30.1%。MS m/z(M) :410.06。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :2.50(3H, s), 6.54(1H, s), 7.41(2H, m), 7.49(1H, t), 7.63(1H, d), 8.14(1H, s)。

[0051] 实施例 15 :2'-氯-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0052] 4mmol 2'-氯-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 33.4%。MS m/z(M) :430.48。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :6.67(1H, s), 7.54-7.65(2H, m), 7.69(1H, m), 7.82(1H, d), 8.15(1H, s)。

[0053] 实施例 16 :2'-硝基-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0054] 4mmol 2'-硝基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 31.5%。MS m/z(M) :441.03。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :6.79(1H, s), 7.42-7.49(2H, m), 7.63(1H, m), 7.98(1H, t), 8.09(1H, s)。

[0055] 实施例 17 :4'-甲氧基-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0056] 4mmol 4'-甲氧基-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 41.3%。MS m/z(M) :426.06。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm) :3.84(3H, s), 6.52(1H, s), 7.39(2H, m), 7.50(1H, t), 7.59(1H, d), 8.07(1H, s)。

[0057] 实施例 18 :4'-氯-6,8-二溴-7-羟基黄酮

[0058] 4mmol 4'-氯-7-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 9mmol 液溴,室温下搅拌

24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 19.8%。MS m/z(M):430.48。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):7.11(1H, s),7.69(2H, d),8.15(3H, m)。

[0059] 实施例 19:2'-氟-8-氯-7-羟基黄酮

[0060] 3mmol 2'-氟-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:23.2%。MS m/z(M):290.67。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.72(1H, s),7.19(1H, d),7.40(2H, m),7.63(1H, m),7.88(1H, d),8.02(1H, t),11.56(1H, s)。

[0061] 实施例 20:2'-甲基-8-氯-7-羟基黄酮

[0062] 3mmol 2'-甲基-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:31.3%。MS m/z(M):286.71。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):2.53(3H, s),6.41(1H, s),7.10(1H, d),7.42(2H, m),7.52(1H, m),7.66(1H, d),7.89(1H, d),11.52(1H, s)。

[0063] 实施例 21:2'-氯-8-氯-7-羟基黄酮

[0064] 3mmol 2'-氯-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:28.5%。MS m/z(M):307.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.62(1H, s),7.18(1H, d),7.39(2H, m),7.54(1H, m),7.78(1H, d),7.93(1H, d),11.53(1H, s)。

[0065] 实施例 22:2'-硝基-8-氯-7-羟基黄酮

[0066] 3mmol 2'-硝基-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:24.6%。MS m/z(M):317.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.57(1H, s),7.13(1H, d),7.30(2H, m),7.49(1H, m),7.72(1H, d),7.90(1H, d),11.49(1H, s)。

[0067] 实施例 23:4'-甲氧基-8-氯-7-羟基黄酮

[0068] 3mmol 4'-甲氧基-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:30.7%。MS m/z(M):302.71。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):3.85(3H, s),6.95(1H, s),7.12-7.19(3H, m),7.92(1H, d),8.14(2H, d),11.67(1H, s)。

[0069] 实施例 24:4'-氯-8-氯-7-羟基黄酮

[0070] 3mmol 4'-氯-7-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:33.8%。MS m/z(M):307.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):7.12(1H, s),7.20(2H, d, m),7.72(2H, d),7.90(1H, d),8.17(2H, d),11.67(1H, s)。

[0071] 实施例 25:2'-氟-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0072] 4mmol 2'-氟-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:34.2%。MS m/z(M):325.12。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.77(1H, s),7.40-7.49(2H, m),7.62(1H, m),7.98(1H, t),8.02(1H, s)。

[0073] 实施例 26:2'-甲基-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0074] 4mmol 2'-甲基-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率: 33.1%。MS m/z(M):321.15。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):2.53(3H, s),6.52(1H, s),7.39(2H, m),7.43(1H, t),7.60(1H, d),8.04(1H, s)。

[0075] 实施例 27:2'-氯-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0076] 4mmol 2'-氯-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率: 26.3%。MS m/z(M):341.57。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):6.62(1H, s),7.52-7.60(2H, m),7.63(1H, m),7.79(1H, d),8.12(1H, s)。

[0077] 实施例 28:2'-硝基-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0078] 4mmol 2'-硝基-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率: 28.5%。MS m/z(M):352.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):6.59(1H, s),7.46-7.55(2H, m),7.59(1H, m),7.72(1H, d),8.07(1H, s)。

[0079] 实施例 29:4'-甲氧基-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0080] 4mmol 4'-甲氧基-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率: 23.1%。MS m/z(M):337.15。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):3.82(3H, s),6.50(1H, s),7.32(2H, m),7.47(1H, t),7.52(1H, d),8.02(1H, s)。

[0081] 实施例 30:4'-氯-6,8-二氯-7-羟基黄酮

[0082] 4mmol 4'-氯-7-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率: 19.3%。MS m/z(M):341.57。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):7.07(1H, s),7.63(2H, d),8.07(3H, m)。

[0083] 实施例 31:2'-氟-6-羟基黄酮

[0084] 将 0.03mol 2',5'-二羟基苯乙酮,0.22mol 无水碳酸钾,150mL 干燥丙酮置于 250mL 圆底烧瓶中,常温下缓慢滴加 0.06mol 邻氟苯甲酰氯。滴毕后,加热至回流反应 12 小时。冷却,抽滤,滤饼用少量丙酮洗涤。将滤饼用稀盐酸酸化至 pH4-5,抽滤,洗涤,干燥。用丙酮做重结晶。将重结晶后 0.022mol 1-[2-羟基-4-(2-氟苯甲酰氧基)苯基]-3-(2-氟苯基)]-1,3-丙二酮加到 100mL 锥形瓶中,加入 36mL 浓硫酸,冰浴,搅拌 4 小时。停止反应,将反应液倒入大量的冰水中,析出淡白色固体。抽滤,再将滤饼加入到 150mL 5%的碳酸钾溶液中,煮沸后冷却,析出的固体用乙酸乙酯和乙醇重结晶,得白色固体。收率 21.2%。MS m/z(M):256.23。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):6.62(1H, s),6.88(1H, s),7.44(2H, m),7.61(2H, m),7.90(2H, m),10.79(1H, s)。

[0085] 实施例 32:2'-甲基-6-羟基黄酮

[0086] 按照实施例 31 的方法,由 2',5'-二羟基苯乙酮、邻甲基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:37.8%。MS m/z(M):252.26。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm):2.51(3H, s),6.67(1H, s),6.93(1H, s),7.56(2H, m),7.73(2H, m),7.98(2H, m),10.96(1H, s)。

[0087] 实施例 33:2'-氯-6-羟基黄酮

[0088] 按照实施例 31 的方法,由 2',5'-二羟基苯乙酮、邻羟基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:33.5%。MS m/z(M):272.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.42(1H,s),6.83(1H,s),6.80-6.92(1H,m),7.46-7.54(4H,m),7.67-7.72(1H,d),10.84(1H,s)。

[0089] 实施例 34:2'-硝基-6-羟基黄酮

[0090] 按照实施例 31 的方法,由 2',5'-二羟基苯乙酮、邻硝基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:35.2%。MS m/z(M):283.24。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.59(1H,s),6.78(1H,s),7.39(2H,m),7.54(2H,m),7.82(2H,m),10.68(1H,s)。

[0091] 实施例 35:4'-甲氧基-6-羟基黄酮

[0092] 按照实施例 31 的方法,由 2',5'-二羟基苯乙酮、对甲氧基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:39.8%。MS m/z(M):268.26。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):3.79(3H,s),6.43(1H,s),6.77(1H,s),7.31(2H,s),7.58(2H,s),7.80(2H,m),10.81(1H,s)。

[0093] 实施例 36:4'-氯-6-羟基黄酮

[0094] 按照实施例 31 的方法,由 2',5'-二羟基苯乙酮、对氯基苯甲酰氯反应得到白色固体。收率:33.7%。MS m/z(M):272.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.40(1H,s),6.69(1H,s),7.28(2H,s),7.51(2H,s),7.74(2H,m),10.67(1H,s)。

[0095] 实施例 37:2'-氟-5-溴-6-羟基黄酮

[0096] 3mmol 2'-氟-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 31.5%。MS m/z(M):335.12。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.68(1H,s),7.16(1H,d),7.42(2H,m),7.59(1H,m),7.88(1H,d),8.02(1H,t),11.58(1H,s)。

[0097] 实施例 38:2'-甲基-5-溴-6-羟基黄酮

[0098] 3mmol 2'-甲基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 25.6%。MS m/z(M):331.16。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):2.52(3H,s),6.68(1H,s),7.16(1H,d),7.43-7.62(4H,m),7.32(1H,d),11.49(1H,s)。

[0099] 实施例 39:2'-氯-5-溴-6-羟基黄酮

[0100] 3mmol 2'-氯-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 35.8%。MS m/z(M):351.58。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.92(1H,s),7.26(1H,d),7.52(2H,m),7.63(1H,m),7.92(1H,d),8.15(1H,t),11.73(1H,s)。

[0101] 实施例 40:2'-硝基-5-溴-6-羟基黄酮

[0102] 3mmol 2'-硝基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 41.3%。MS m/z(M):362.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):6.63(1H,s),7.16(1H,d),7.47(2H,m),7.59(1H,m),7.87(1H,d),8.07(1H,t),11.63(1H,s)。

[0103] 实施例 41:4'-甲氧基-5-溴-6-羟基黄酮

[0104] 3mmol 4'-甲氧基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中,加入 3mmol 液溴,室温下搅拌 24 小时,将反应液倒入大量水中,析出白色固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率 44.9%。MS m/z(M):347.16。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$ (ppm):3.80(3H,s),6.53(1H,s),6.72(1H,

s), 7.33(2H, s), 7.63(2H, s), 7.84(2H, m), 10.76(1H, s)。

[0105] 实施例 42 :4'-氯-5-溴-6-羟基黄酮

[0106] 3mmol 4'-氯-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 3mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 35.8%。MS m/z(M): 351.58。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 6.64(1H, s), 6.76(1H, s), 7.37(2H, s), 7.69(2H, s), 7.92(2H, m), 10.83(1H, s)。

[0107] 实施例 43 :2'-氟-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0108] 4mmol 2'-氟-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 42.6%。MS m/z(M): 414.02。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 6.92(1H, s), 7.49-7.59(2H, m), 7.68-7.93(2H, m), 8.15(1H, s)。

[0109] 实施例 44 :2'-甲基-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0110] 4mmol 2'-甲基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 28.5%。MS m/z(M): 410.06。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 2.56(3H, s), 6.58(1H, s), 7.52(2H, m), 7.43(1H, t), 7.68(1H, d), 8.12(1H, s)。

[0111] 实施例 45 :2'-氯-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0112] 4mmol 2'-氯-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 34.7%。MS m/z(M): 430.48。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 6.62(1H, s), 7.49-7.56(2H, m), 7.63(1H, m), 7.78(1H, d), 8.06(1H, s)。

[0113] 实施例 46 :2'-硝基-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0114] 4mmol 2'-硝基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 42.3%。MS m/z(M): 441.03。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 6.59(1H, s), 7.39-7.46(2H, m), 7.53(1H, m), 7.68(1H, d), 7.96(1H, s)。

[0115] 实施例 47 :4'-甲氧基-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0116] 4mmol 4'-甲氧基-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 43.6%。MS m/z(M): 426.06。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 3.85(3H, s), 6.54(1H, s), 7.42(2H, m), 7.67(1H, t), 7.62(1H, d), 8.09(1H, s)。

[0117] 实施例 48 :4'-氯-5,7-二溴-6-羟基黄酮

[0118] 4mmol 4'-氯-6-羟基黄酮溶于 200mL 冰醋酸中, 加入 9mmol 液溴, 室温下搅拌 24 小时, 将反应液倒入大量水中, 析出白色固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率 44.7%。MS m/z(M): 430.48。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO),  $\delta$  (ppm): 6.74(1H, s), 7.63(2H, m), 7.87(1H, t), 7.94(1H, d), 8.13(1H, s)。

[0119] 实施例 49 :2'-氟-5-氯-6-羟基黄酮

[0120] 3mmol 2'-氟-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中, 回流 24 小时, 抽滤, 水洗, 干燥后蒸除溶剂得到固体, 用无水乙醇重结晶, 得到白色固体, 产率:

45.8%。MS m/z(M):290.67。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.72(1H, s),7.19(1H, d),7.42(2H, m),7.60(1H, m),7.87(1H, d),8.02(1H, t),11.56(1H, s)。

[0121] 实施例 50:2'-甲基-5-氯-6-羟基黄酮

[0122] 3mmol 2'-甲基-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:26.8%。MS m/z(M):286.71。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):2.49(3H, s),6.38(1H, s),7.08(1H, d),7.38(2H, m),7.42(1H, m),7.57(1H, d),7.81(1H, d),11.49(1H, s)。

[0123] 实施例 51:2'-氯-5-氯-6-羟基黄酮

[0124] 3mmol 2'-氯-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:37.1%。MS m/z(M):307.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.53(1H, s),6.92(1H, s),6.91-7.04(1H, m),7.65-7.73(4H, m),7.82-7.88(1H, d),10.96(1H, s)。

[0125] 实施例 52:2'-硝基-5-氯-6-羟基黄酮

[0126] 3mmol 2'-硝基-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:28.8%。MS m/z(M):317.68。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.52(1H, s),7.18(1H, d),7.34(2H, m),7.57(1H, m),7.83(1H, d),7.96(1H, d),11.53(1H, s)。

[0127] 实施例 53:4'-甲氧基-5-氯-6-羟基黄酮

[0128] 3mmol 4'-甲氧基-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:35.7%。MS m/z(M):302.71。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):3.82(3H, s),6.88(1H, s),7.02-7.13(3H, m),7.86(1H, d),8.03(2H, d),11.62(1H, s)。

[0129] 实施例 54:4'-氯-5-氯-6-羟基黄酮

[0130] 3mmol 4'-氯-6-羟基黄酮和 3mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:29.1%。MS m/z(M):307.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):7.02(1H, s),7.17(2H, d, m),7.69(2H, d),7.83(1H, d),8.13(2H, d),11.60(1H, s)。

[0131] 实施例 55:2'-氟-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0132] 4mmol 2'-氟-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:33.2%。MS m/z(M):325.12。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):6.78(1H, s),7.42-7.50(2H, m),7.63(1H, m),7.98(1H, t),8.05(1H, s)。

[0133] 实施例 56:2'-甲基-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0134] 4mmol 2'-甲基-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:45.0%。MS m/z(M):321.15。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), δ (ppm):2.51(3H, s),6.67(1H, s),7.59(2H, m),7.52(1H, t),7.70(1H, d),8.10(1H, s)。

[0135] 实施例 57:2'-氯-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0136] 4mmol 2'-氯-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流

24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:40.8%。MS m/z(M):341.57。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.67(1H, s),7.52-7.60(2H, m),7.71(1H, m),7.84(1H, d),8.12(1H, s)。

[0137] 实施例 58:2'-硝基-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0138] 4mmol 2'-硝基-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:29.5%。MS m/z(M):352.13。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.68(1H, s),7.49-7.58(2H, m),7.66(1H, m),7.80(1H, d),8.06(1H, s)。

[0139] 实施例 59:4'-甲氧基-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0140] 4mmol 4'-甲氧基-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:38.6%。MS m/z(M):337.15。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):3.77(3H, s),6.58(1H, s),7.52(2H, m),7.77(1H, d),7.74(1H, d),8.15(1H, s)。

[0141] 实施例 60:4'-氯-5,7-二氯-6-羟基黄酮

[0142] 4mmol 4'-氯-6-羟基黄酮和 9mmol 氯代硫酰氯溶于 100mL 二氯甲烷中,回流 24 小时,抽滤,水洗,干燥后蒸除溶剂得到固体,用无水乙醇重结晶,得到白色固体,产率:41.3%。MS m/z(M):341.57。<sup>1</sup>H-NMR(DMSO), $\delta$  (ppm):6.91(1H, s),7.82(2H, m),7.90(1H, d),7.98(1H, d),8.07(1H, s)。

[0143] 实施例 61

[0144] 下述实验说明本发明化合物对二磷酸腺苷(ADP)诱导血小板聚集的抑制作用。

[0145] 动物:家兔,3-5kg,雌雄兼用;

[0146] 仪器:SHANDA PA-196 型血小板聚集仪;

[0147] 药品配置方法:取 40mL 甲醇,60M10.9%生理盐水混合配成标准溶液,精确称取 1mg 样品(精确至 0.01mg),用标准溶液稀释至浓度为 1mg/mL 左右的溶液备用。ADP 溶解在生理盐水(250 $\mu$ M)。

[0148] 实验方法:在 50mL 塑料试管中加入 4mL3.8%枸橼酸钠水溶液,用酒精仔细擦洗兔耳,再用二甲苯擦洗兔耳,待血管膨胀后在耳缘处涂抹凡士林,割开血管,用预备试管收集 36mL 血,使血混合均匀,以 900 转/min 离心 8-10min,分离出上清血浆 PRP(富含血小板血浆),继而以 3500 转/min 离心 8-10min,分离出上清血浆 PPP(贫血小板血浆)。精密吸取 250 $\mu$ LPRP 加入聚集管中,向聚集管中加入含有药品的 40%甲醇水溶液 20 $\mu$ L,将分别注有 250 $\mu$ L 的 PPP 和 PRP 血浆的聚集管在 37 $\pm$ 0.01 $^{\circ}$ C 预热 5min,以 PPP250 $\mu$ L 调零,再向比色杯中加入 10 $\mu$ L 二磷酸腺苷(ADP)诱导血小板聚集,于 37 $^{\circ}$ C 搅拌条件下,绘制曲线,测定血小板最大聚集率,并以空白溶剂做对照,计算血小板聚集抑制率。聚集抑制率=(空白对照聚集抑制率-样品聚集抑制率)/空白对照聚集抑制率 $\times$ 100%。

[0149] 本发明的化合物进行该实验时,表明有抑制 ADP 诱导血小板聚集的作用。部分样品抑制率列表如下:

[0150]

样品名	剂量	抑制率 (%)
2'-甲基-6-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	45.09
2'-氯-5,7-二氯-6-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	64.35
2'-甲基-5-氯-6-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	44.73
2'-硝基-6-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	60.87
4'-甲氧基-7-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	68.32
2'-硝基-8-溴-7-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	68.67
2'-氯-8-溴-7-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	72.56
2'-氟-8-溴-7-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	85.66
4'-氯-8-氯-7-羟基黄酮	$1 \times 10^{-4}$	51.97
阿斯匹林	$1 \times 10^{-4}$	38.97
空白组		25.32

[0151] 实施例 62

[0152] 下述实验说明本发明化合物对胶原诱导血小板聚集的抑制作用。

[0153] 动物：家兔，3-5kg，雌雄兼用。

[0154] 药品配置方法：取 90mL 甲醇、10mLDMSO 混合配成标准溶液 I。取 80mL 甲醇、20mLDMSO 混合配成标准溶液。精确称取样品（精确至 0.001g），用标准溶液 I 溶解，分别配成浓度为 30 $\mu$ mol/mL、10 $\mu$ mol/mL、3 $\mu$ mol/mL、1 $\mu$ mol/mL 的溶液备用，对于在标准溶液 I 中难溶的样品用标准溶液 II 溶解，配成浓度为 10 $\mu$ mol/mL、3 $\mu$ mol/mL、1 $\mu$ mol/mL 的溶液备用。阳性对照：阿司匹林也用标准溶液 I 和标准溶液 II 分别配成如上浓度。

[0155] 实验方法：在 10mL 塑料试管中加入 1mL 3.8% 枸橼酸钠水溶液，用酒精仔细擦洗兔耳，再用二甲苯擦洗兔耳，待血管膨胀后在耳缘处涂抹凡士林，割开血管，用预备试管收集 9mL 血，使血混合均匀，以 900 转/min 离心 8-10min，分离出上清血浆 PRP（富含血小板血浆），继而以 3500 转/min 离心 8-10min，分离出上清血浆 PPP（贫含血小板血浆）。以 PPP 调零，精密吸取 200 $\mu$ L PRP 加入比色杯中，向比色杯中加入样品溶液 20 $\mu$ L，在 37 $\pm$ 0.01 $^{\circ}$ C 孵育 2min 后，再向比色杯中加入 20 $\mu$ L 胶原诱导血小板聚集，于 37 $^{\circ}$ C 搅拌条件下，绘制曲线，测定血小板最大聚集率，并以空白溶剂做对照，以阿司匹林为阳性对照，计算样品抗血小板聚集活性的 IC<sub>50</sub> 值。

样品名	IC <sub>50</sub> (mol/L)
2'-甲基-6-羟基黄酮	$1.23 \times 10^{-4}$
2'-氯-5,7-二氯-6-羟基黄酮	$2.33 \times 10^{-4}$
2'-甲基-5-氯-6-羟基黄酮	$1.50 \times 10^{-4}$
2'-硝基-6-羟基黄酮	$1.67 \times 10^{-4}$
[0156] 4'-甲氧基-7-羟基黄酮	$3.55 \times 10^{-4}$
2'-硝基-8-溴-7-羟基黄酮	$2.34 \times 10^{-4}$
2'-氯-8-溴-7-羟基黄酮	$1.87 \times 10^{-4}$
2'-氟-8-溴-7-羟基黄酮	$1.66 \times 10^{-4}$
4'-氯-8-氯-7-羟基黄酮	$1.93 \times 10^{-4}$
阿斯匹林	$2.32 \times 10^{-3}$

[0157] 本发明的化合物进行该实验时,表明有抑制胶原诱导血小板聚集的作用。