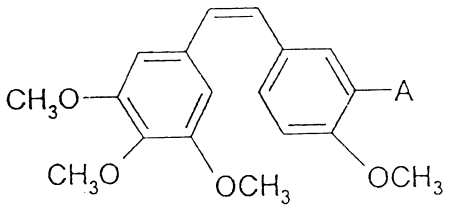
五、發明說明（1）

本發明係有關一種坎伯達丁類（combretastatins）之新穎製法及彼等之衍生物

術語“坎伯達丁類”或“二苯乙烯衍生物”應瞭解意表下述通式之衍生物：



(I)

其中A代表一羥基或一胺基，及彼等醫藥上可接受之鹽類。

鹽類中可述及者為氫氯酸鹽、乙酸鹽、磷酸鹽或甲烷磺酸鹽。當化合物中之A為胺基時，其亦可被偶合至胺基酸以形成醯胺，及彼等醫藥上可接受之鹽類。

二苯乙烯衍生物或坎伯達丁類（彼等可為醫藥上可接受鹽類形式）之合成及包含彼等之醫藥組成物被揭示於US 4 996 237、US 5 525 632、US 5 731 353及US 5 674 906中。此等專利案揭示坎伯達丁類及彼等之代謝物，並揭示彼等之體外腫瘤活性。

根據此等專利案，坎伯達丁類係由(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基-鏻鹽所製備，彼等在氫化鈉或鋰衍生物之存在下與3-硝基或3-羥基-4-甲氧基苯甲醛（其之羥基受到保護）縮合，隨後所獲得之衍生物（當其被硝化時）在鋅之存在下被還原。

隨後藉光之作用或藉混合物之層析分離製備帶有順式

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4規格（210 x 297公釐）

五、發明說明（2）

構型之異構物。

本發明係有關坎伯達丁類或彼等衍生物之新穎製法，以及對現有製法之改良。

首先揭示式(I)（其中 A 代表一胺基）之衍生物之製備法的第一製程路徑 V0 1，該方法為揭示於上述專利案中之方法的改良，其係在溴化或氯化(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基-鏻及 3-硝基-4-甲氧基苯甲醛之存在下進行韋提格(Wittig)縮合反應之後，於鐵（取代習知公開案中所使用之鋅）之存在下進行還原反應，此可達成相對於所載入之醛有 60%之整體反應產率（於專利案 US 5 525 632 中之相對於所載入醛之產率為介於 21%和 33%之間）。

第一製程路徑 V0 2 在於將 3,4,5-三甲氧基苯甲醛與溴化或氯化(4-甲氧基-3-硝基苄基)三苯基鏻縮合。就此兩種製程路徑 V0 1 及 V0 2 而言，反應係在特別選自第三丁氧化鉀、第三-戊氧化鈉、氫化鈉、丁基鋰、LDA（二異丙基醯胺鋰）、甲氧化鈉、碳酸鉀或六甲基二矽烷之鹼性衍生物之鹼的存在下進行。

此反應係在各種溶劑，如醚類（THF）、極性非質子溶劑（乙腈、NMP、DMF、DMSO 等）、醇類、芳香族溶劑或水中，於可為熟悉該項技術之人調整至所使用之鹼及所使用之溶劑的溫度下進行。

此反應，有關第一製程路徑 V0 2，尤其被描述於 K.G. Piney 於 Bioorg. Med. Chem., 8 (2000), 2417-2425 所發表之公開刊物中。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（3）

2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)-乙烯基]硝基苯係根據本發明之製法藉鐵之作用予以還原。若期望原料有完全的轉換率，有利地可使用過量之鐵。此種有利地為對每1莫耳起始硝基衍生物大於2當量。

業經證明，相同的階段，即在於乙酸（一種供藉鋅還原之傳統溶劑）中之鋅的存在下所進行者，不可能獲得完全之反應（於專利案US 5 525 632中，對純Z異構物所實施之還原之產率係在46和66%之間變動），而且，所使用之鋅量很大，結果會導致相當量的工業廢料。再者，該製程產生大量之"偶氮"化合物，這是由所形成之胺基和還原中之亞硝基中間物之間的偶合所致。

利用在傳統催化劑（如鈀或鉑）之存在下藉甲酸銨所產生之新生態氫氣之還原，導致雙鍵高度異構化成非期望之E異構物且導致雙鍵之部分飽和。

上述Piney公開案描述藉純硝基Z異構物（於再結晶及層析後所獲得者）之亞硫酸氫鈉還原，形成產率僅37%之胺基Z異構物。

以分子氫，藉鉑或鈀催化之氫化很難完全，且特別會導致乙烯型雙鍵之飽和。

亦已發現一種第二製程，其可避免當由硝基衍生物起始時所必須之中間體還原階段。這是因為其更經濟地將溴化或氯化(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基鏻與3-胺基-4-甲氧基苯甲醛（根據實施此第二製程之第一種方法）縮合，或將3,4,5-三甲氧基苯甲醛與（3-胺基-4-甲氧基苄基）三苯

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4規格（210 x 297公釐）

五、發明說明（4）

基鏻鹽（根據實施此第二製程之第二種方法）縮合。

此第二製程，根據其之兩種替代形式，需要一階段，其中相較於第一製程路徑 V0 1 及 V0 2 有較少之關於 CMR（致癌性、致突變性或再生毒性）的產物被發散，由安全性及製造成本之觀點，這在工業層面上是相當有利的。

根據實施本發明之第二製程路徑 V0 3，係將(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基鏻鹽與 3-胺基-4-甲氧基苯甲醛混合並進行反應，較佳在特別選自第三-丁氧化鉀、第三-戊氧化鈉、氫化鈉、丁基鋰、LDA、甲氧化鈉、碳酸鉀或六甲基二矽烷之鹼性衍生物之鹼的存在下進行。較佳為使用甲氧化鈉。

此反應係在各種溶劑，如醚類（THF）、極性非質子溶劑（乙腈、NMP、DMF、DMSO 等）、醇類、芳香族溶劑或水中，於可為熟悉該項技術之人調整至所使用之鹼及所使用之溶劑的溫度下進行。

反應溫度可藉熟悉該項技術者調整至所使用之鹼的溫度。當使用甲氧化物時，較佳介於 0 和 10℃之間，於反應後，以水溶液之酸中和所使用之鹼，將有機相水洗及濃縮，並在層析粗濃縮物之後，獲得預期之產物。

根據實施本發明之第二製程路徑 V0 4，將(3-胺基-4-甲氧基苄基)三苯基鏻鹽及 3,4,5-三甲氧基苯甲醛混合並進行反應，較佳在特別選自第三丁氧化鉀、第三-戊氧化鈉、氫化鈉、丁基鋰、LDA、甲氧化鈉、碳酸鉀或六甲基二矽

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

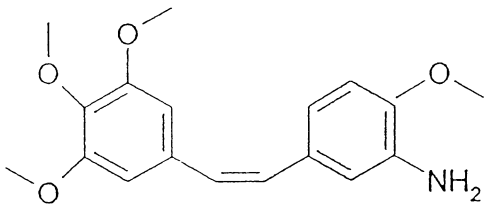
五、發明說明（5）

烷之鹼性衍生物之鹼的存在下進行。較佳為使用甲氧化鈉。

此反應係在各種溶劑，如醚類（THF）、極性非質子溶劑（乙腈、NMP、DMF、DMSO 等）、醇類、芳香族溶劑或水中，於可為熟悉該項技術之人調整至所使用之鹼及所使用之溶劑的溫度下進行。

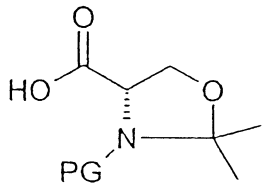
反應溫度可藉熟悉該項技術者調整至所使用之鹼的溫度。當使用甲氧化物時，較佳介於 0 和 10℃之間，於反應後，以水溶液之酸中和所使用之鹼，將有機相水洗及濃縮，並在層析粗濃縮物之後，獲得預期之產物。

根據第二製程路徑 V0 3 或 V0 4 或於第一製程路徑 V0 1 或 V0 2 之第二階段期間所獲得之衍生物具有下式：



(IIa)

當期望偶合絲胺酸與式(IIa)化合物時，有利的可使用在絲胺酸之氮上及在通式(IIb)之羥基官能基上



(IIb)

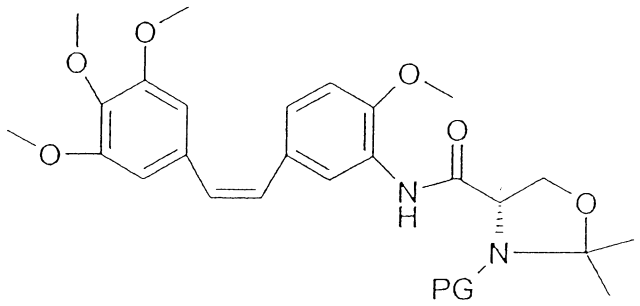
（其中 PG 代表熟悉此項技術之任何人所熟知之胺基官能基之保護基）雙重受保護之 L-絲胺酸，以獲得下述通式之新穎中間體：

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

裝 訂 線

五、發明說明（6）



(III)

其隨後根據熟悉此項技術之任何人所熟知之去保護反應，藉酸水解予以斷裂，較佳同時伴隨著開環。式(IIb)或(III)之 PG 基團代表一保護基，選自下列基團：第三-丁氧羰基、苄氧基羰基(CBZ)或 9-芴基甲基氧基羰基(FMOC)。

上述式(III)化合物為新穎，因而被請求於申請專利範圍中。

縮合反應有利地可在 EDC1（1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二醯亞胺氯化氫）的存在下或在 DCC（二環己基碳化二醯亞胺及 HOBT（羥基苯並三唑）的存在下或在 DCC（二環己基碳化二醯亞胺和 HOSU（N-羥基琥珀醯亞胺）的存在下或最後在 TOTU（O-[(乙氧基羰基)氰基亞甲基胺基]-N,N,N',N'-四甲基鎓四氟硼酸鹽或 HBTU（O-苯並三唑-1-基-N,N,N',N'-四甲基鎓六氟磷酸鹽）或-N,N-羰基二咪唑的存在下進行。反應較佳在相對於反應為惰性之溶劑中進行，該溶劑特別係選自極性非質子溶劑，諸如乙腈、二甲基甲醯胺、四氫呋喃，或氯化脂族溶劑，諸如二

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（7）

氯乙烷或最後是酯類。

偶合至式(IIa)之衍生物之反應亦當然可藉混合酸酐的作用來進行，於在相對於反應為惰性之各種溶劑、酯類、醚類、氯化溶劑、乙腈等中之 NMM （N-甲基嗎啉）型之第三鹼的存在下，於氯甲酸鹽或羧酸氯化物（例如三甲基乙醯基氯化物）和雙重受保護之式(IIb)之 L-絲胺酸之間原位合成。混合酸酐較佳在介於 0 和 10℃之溫度下製備，然後使反應在室溫下進行。於反應後，以水溶液將反應混合物水解，然後藉沉降分離混合物並將所獲得之有機相以羥基化之鹼予以清洗。

式(III)之化合物之雙重保護係藉有機或無機酸之作用進行。較佳為使用濃縮之含於醇性介質中之水性氫氯酸。根據實施本發明之較佳方式，反應溫度介於 50 和 70℃之間。

本發明將藉助下述實施例予以更詳細完整地說明，惟該等實施例絕不能被視為限制本發明。

混合物之組成、監控及反應之進展、未分離產物／中間體之產率及彼等之檢測都藉 HPLC（高效液相層析）分析來測定。

實施例 1-根據本發明之第一製程路徑 V0 2

(Z)-N-[2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]-苯基]-L-絲胺醯胺氯化氫

合成之一般流程

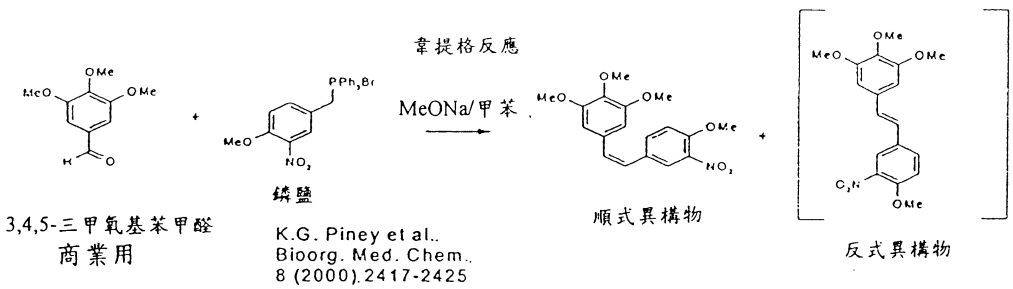
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

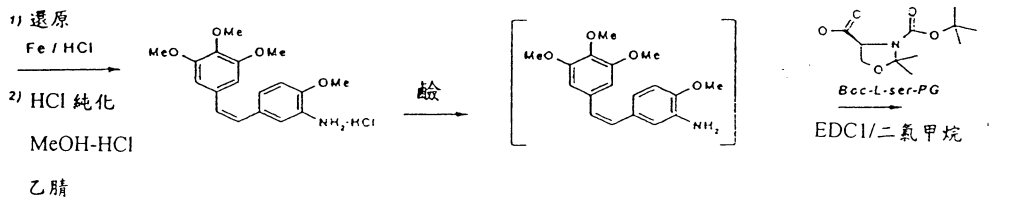
裝 訂 線

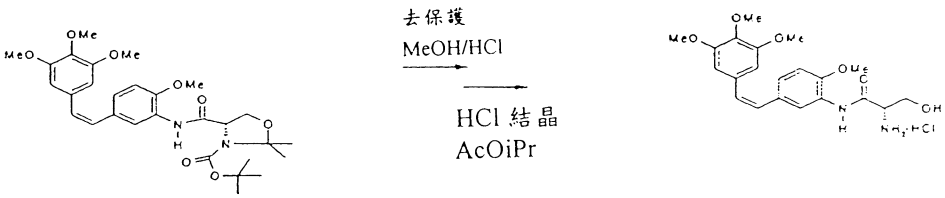
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（8）

新穎之"反向韋提格"法，係由溴化(4-甲氧基-3-硝基苄基)三苯基鏻及 3,4,5-三甲氧基苯甲醛起始，可獲得 2-甲氧基-5-[2-(3,4,5,-三甲氧基苯基)乙烯基]-硝基苯之 Z 與 E 異構物之混合物，Z/E 之比例為 75/25。

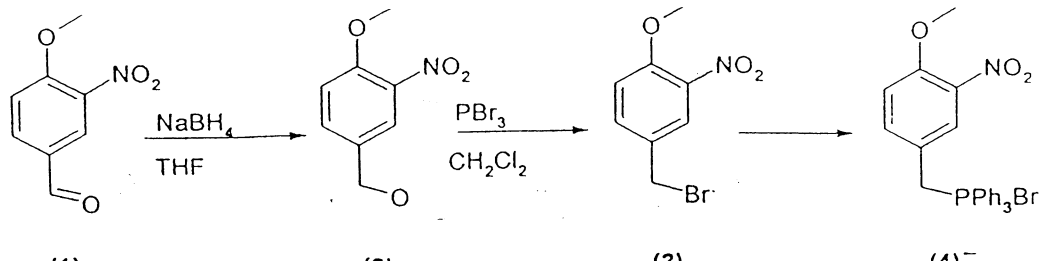






此比例應有充分高比例之 Z 硝基異構物，使能直接於還原中使用 Z/E 混合物，及藉氯化氫之結晶獲得以 HPLC 檢測達 97%IS（內部標準）之 Z 胺基異構物。

溴化(4-甲氧基-3-硝基苄基)三苯基鏻(4)係根據下列實施例予以製備：



經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（9）

3-硝基-4-甲氧基苄醇(2)：

將 90.5 克之 3-硝基-4-甲氧基苯甲醛(1)，接著是 450 毫升之 THF 和 90 毫升之乙醇裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器之 2 公升三頸燒瓶中。將所獲得之淡黃色溶液冷卻至 10℃，然後在 10/15℃下裝入 10 克之氫化硼鈉，歷時 40 分鐘（反應為極度放熱的，故溫度必須以冰／丙酮浴予以維持），於添加結束時，棕色溶液變成深藍色。於 10℃下攪拌溶液 30 分鐘，藉 TLC（薄層層析）監控反應結束，在 10℃下再攪拌溶液 1 小時，然後使溫度回復至室溫。

以 500 毫升壓力-平衡之滴液漏斗置換添加漏斗，經由該漏斗逐滴滴入 300 毫升蒸餾水，歷時 30 分鐘，同時維持混合物於 20℃。當水開始滴入時，觀察到氣體產生出來。

將混合物於一旋轉蒸發器（50℃／20 毫米汞柱）上濃縮至 2/3，在水性濃縮物中結晶出一種團塊狀之白色產物。

以 250 毫升，然後 150 毫升之二氯甲烷萃取冷卻之水相，將合併之有機相以 250 毫升蒸餾水清洗，然後通過硫酸鎂乾燥。

於過濾後，使用二氯甲烷於下列之溴化反應中。

此階段之產率被認為是 100%。

N.B.：醇(2)為商業上可得者，但很難保存。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（10）

3-硝基-4-甲氧基苄基溴(3)：

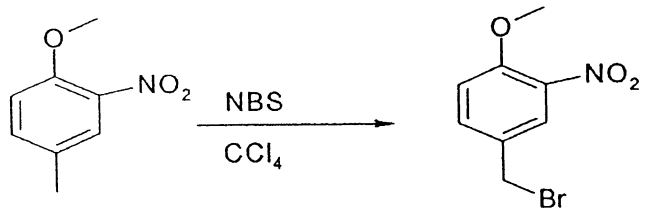
將 3-硝基-4-甲氧基苄醇(2)之二氯甲烷溶液裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一滴液漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器之 1 公升三頸燒瓶中，添加 100 毫升二氯甲烷。將攪拌後溶液冷卻至 5℃，然後逐滴滴入 135.4 克之三溴化磷，同時維持溫度在 5℃。

於 5℃下攪拌溶液 1 小時 30 分鐘，藉 TLC 監控反應結束，然後逐滴滴入 2 50 毫升之飽和碳酸氫鈉溶液，同時維持溫度在 15℃。當三溴化磷滴入時，稍微延遲後有極強烈之氣體產生。

連續以 250 毫升蒸餾水和 200 毫升飽和碳酸氫鈉溶液清洗藉於分液漏斗中沉降而分離之有機相。通過硫酸鎂乾燥有機相、過濾並於一旋轉蒸發器（50℃/20 毫米汞柱）上濃縮。

獲得 119 克似毛氈針狀綠黃色之固體，經過兩階段之化學產率為 97%。

N.B.：此產物(3)亦可根據下列流程予以製備，其被描述於公開文獻 K.G. Piney 等人，Bioorg. Med. Chem., 8 (2000), 2417-2425 中。



溴化(3-硝基-4-甲氧基苄基)三苯鏻(4)：

將 119 克之 3-硝基-4-甲氧基苄基溴(3)裝入一內有 1000

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（11）

毫升甲苯之配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器之 2 公升三頸燒瓶之攪拌底部中，加溫至 25℃之混合物逐漸變成溶液。然後添加 126.5 克之三苯膦，將所獲得之溶液逐漸加熱至 60℃，由 30℃開始形成沉澱。維持混合物在 60/65℃下 4 小時，然後冷卻至 30℃並通過燒結玻璃過濾器予以過濾。以 2 次之 300 毫升甲苯於過濾器上清洗過濾器殘餘物，倒乾水並於烘箱中乾燥（35℃/20 毫米汞柱/20 小時）。

獲得 217 克之溴化(3-硝基-4-甲氧基苄基)三苯鏻，化學產率 88%。

合成法被描述於公開文獻：K.G. Piney 等人之 Bioorg. Med. Chem., 8 (2000), 2417-2425 中（所使用之溶劑：二氯甲烷）。

光譜編號=4 865-V

^{1H} N.M.R.光譜 (300 MHz, $(CD_3)_2SO$, δ 以 ppm 計)：3.90 (s, 3H), 5.26 (d, J = 15 Hz, 2H), 7.33 (mt, 2H), 7.41 (mt, 1H),由 7.65 至 8.05 (mt, 15H)。

質譜編號 212217, m = 428

EI　m/z = 262 $[PPh_3]^+$ 基峰

DCI m/z = 445 MNH_3^+

m/z = 428 M^+

m/z = 263 $[PPh_3H]^+$ 基峰

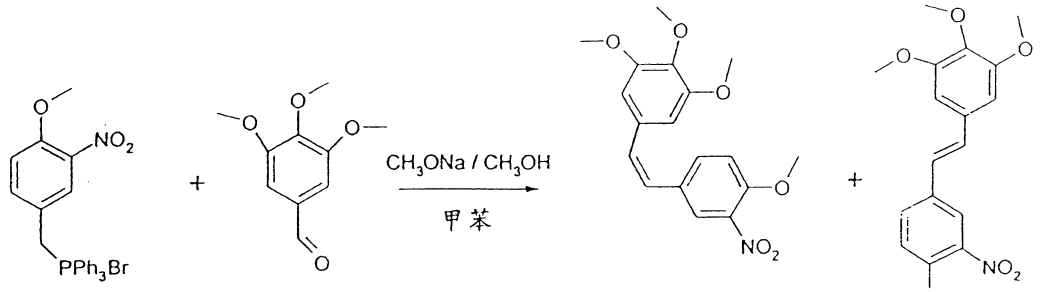
IR 光譜 426469 KBr

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（12）

2869, 2843, 2776, 1619, 1527, 1438, 1362, 1287, 1270, 1111, 752, 692 及 502 公分$^{-1}$

2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基-苯基)乙烯基]硝基苯之 Z 和 E 混合物(6)及(7)：



(4) (5) (6) (7)

於 20℃及氮氣下，將 54.7 克 3,4,5-三甲氧基苯甲醛(5)、148.6 克溴化(4-甲氧基-3-硝基苄基)三苯鏻(4)和 1300 毫升之甲苯裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一滴液漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器之 2 公升三頸燒瓶中。利用冰浴將攪拌之懸浮液冷卻至 5℃，然後在 5℃下滴入 63.2 克 25%重量／重量之甲氧化鈉於甲醇中之溶液，歷時 40 分鐘。

隨著添加之進行，懸浮液由偏白轉變成黃色，然後變成棕色。

於 5℃下攪拌混合物 1 小時，藉 HPLC 監控反應結束（完全消耗掉醛），然後添加 3 克（0.05 莫耳）乙酸。

將懸浮液加熱至 40℃並維持在 40℃下 30 分鐘。在此溫度下，僅有鹽類仍為不溶的。在 40℃下將混合物通過 3 號燒結玻璃過濾器予以過濾，以 3 次之 100 毫升甲苯於過濾器上清洗鹽類。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（13）

以 250 毫升蒸餾水回收過濾物至圓底燒瓶中，於 40℃下攪拌兩相混合物 20 分鐘，然後藉於分液漏斗中沉降予以分離。以 2 次之 250 毫升蒸餾水再次清洗甲苯相，然後於一旋轉蒸發器上濃縮至乾燥。

於 40℃下將 600 毫升異丙醇和 12 毫升甲苯倒至殘餘物上，預期之產物開始結晶，在緩慢攪拌下過夜，使溫度回到室溫。

將經攪拌之懸浮液冷卻至 5℃並維持 1 小時，然後通過燒結玻璃過濾器予以過濾，以 2 次之 125 毫升之異丙醇清洗濾餅，倒乾並於真空之烘箱中乾燥（35℃/30 毫米汞柱/18 小時）。

獲得 91.7 克之 Z 和 E 異構物(6)及(7)之混合物，Z/E 比例 75/25（IS HPLC）及 95%之產率。

合成法被描述於公開文獻：K.G. Piney 等人之 Bioorg. Med. Chem., 8 (2000), 2417-2425 中（所使用之溶劑：二氯甲烷，所使用之鹼：NaH）。

N.B.：試驗多種操作條件，諸如：

溶劑：THF、乙腈、甲醇及其他醇類、二氯甲烷、NMP、DMF、DMSO 等。

鹼：第三-丁氧化鉀、第三-戊氧化鈉、氫氧化鈉、NaH、BuLi/LDA、碳酸鉀等。

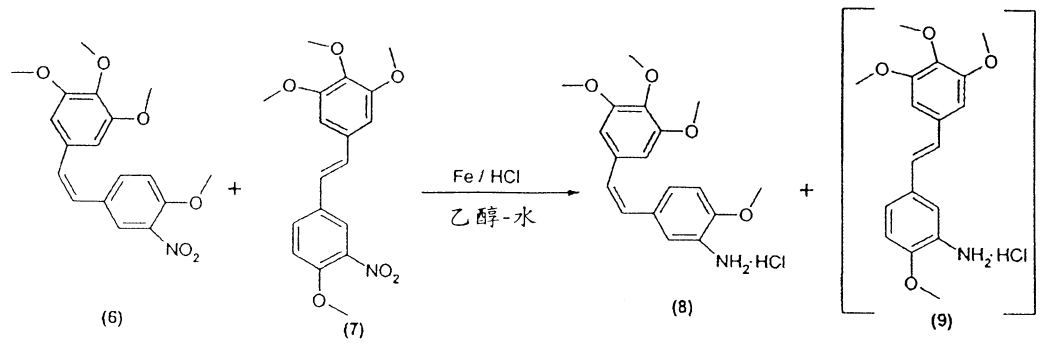
溫度：由-10℃至某些溶劑之迴流溫度。

Z-2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]苯胺氯化氫(8)：

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（14）



於20℃及氮氣下，將80克之2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]硝基苯之75/25 Z和E混合物(6)及(7)、640毫升之絕對乙醇和160毫升蒸餾水裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及一加熱浴之2公升三頸燒瓶中。

快速攪拌混合物並於油浴上加熱，在50℃下添加7.8毫升之6N氫氯酸至懸浮液中，然後使混合物升溫至77±2℃之溫度。混合物為實質上可溶的。

分批添加52克鐵粉，歷時5分鐘。第一次添加時，混合物逐漸變成溶液，然後於圓底燒瓶之壁上形成一種黑色沉積物。

維持混合物於77±2℃下2小時，藉HPLC監視起始硝基化合物(6)和(7)之消失。

使混合物通過覆蓋有Clarcel之燒結玻璃過濾器予以過濾，以2次之160毫升之80/20乙醇／水混合物清洗濾餅。

於一旋轉蒸發器上濃縮過濾物、含水母液及水洗液。一當共沸混合物蒸發掉時，油開始沉澱於殘餘之水相中。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4規格（210 x 297公釐）

裝 訂 線

五、發明說明（15）

於分液漏斗中，以 2 次 300 毫升二氯甲烷萃取水相，然後以 2 次 300 毫升之半飽和氯化鈉溶液及以 300 毫升蒸餾水清洗有機相。

於一旋轉蒸發器上濃縮有機相至乾，獲得 76 克油，該油依 HPLC 測定具有 80/20 之 Z/E 比。將此油溶解於 591 毫升之甲醇中並轉移至一附攪拌之 1 公升圓底燒瓶中，然後添加 100 毫升 2.32N 之甲醇性氫氯酸，沉澱開始，使混合物於攪拌中過夜，使其沉澱。

醇+甲醇性氫氯酸之量為可使 Z 異構物（依 HPLC 測定）之最終濃度等於 8.8%重量／體積。

在早上時，使混合物通過燒結玻璃過濾器予以過濾。乾燥濾餅重 8.2 克且僅由 E 異構物（HPLC）所組成。

過濾物（693 克），比例 Z/E = 86/14 （IS HPLC）於一旋轉蒸發器上被濃縮至一半，添加 400 毫升乙腈至 347 克濃縮物中並將混合物再濃縮直至再次獲得 347 克之濃縮物。然後添加 1000 毫升之乙腈，並將混合物濃縮直到結晶開始。然後將濃縮物轉移至一 60℃之包含 1500 毫升乙腈之經攪拌 4 公升圓底燒瓶內。混合物大量沉澱。

於 60℃持續攪拌混合物 2.5 小時，並使其冷卻至 30℃，歷時約 1 小時。使料漿通過燒結玻璃過濾器予以過濾（E 異構物(9)可溶於過濾器中）。以 2 次 200 毫升乙腈清洗濾餅，並於烘箱中乾燥（35℃/30 毫米汞柱/18 小時）。

獲得 45.7 克之 Z-2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（16）

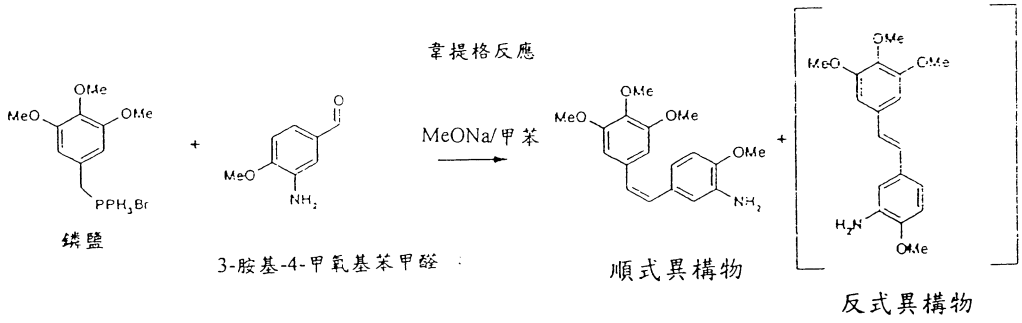
烯基]苯胺(8)，具有 97%之 IS HPLC 檢驗值，產率 56%，亦即所獲得之 Z 異構物相對於所裝入之 Z 異構物之產率為 72%。

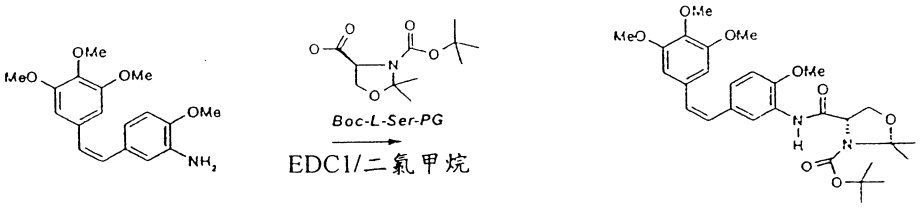
實施例 2-根據本發明之第二製程路徑 V0 3 之合成

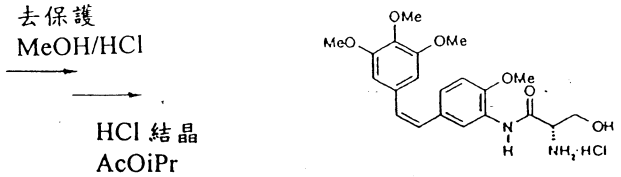
第二製程路徑 V0 3 相對於第一"反向韋提格"法路徑 V0 2 之優點為在介於已被還原之產物，即胺基醛（1a）和鏻（2a）之間實施韋提格反應，可因此省略發散 CMR 產物之化學階段。

(Z)-N-[2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]-苯基]-L-絲胺醯胺氯化氫

合成之一般流程







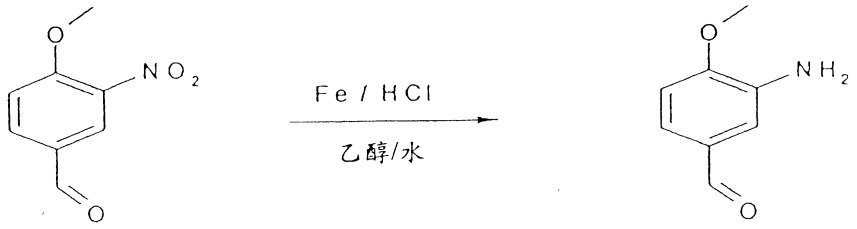
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

裝 訂 線

五、發明說明（17）

3-胺基-4-甲氧基苯甲醛(1a)：



(1)　　(1a)

將 20 克 3-硝基-4-甲氧基苯甲醛(1)及 350 毫升絕對乙醇裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及加熱浴，並以氬氣使其為惰性之 2 公升三頸燒瓶中，攪拌混合物並加熱至 60℃。混合物逐漸變成溶液。

在 60℃下逐滴添加 115 毫升之蒸餾水，接著添加 14 毫升 2N 之氫氯酸。然後分批地加入 24.7 克之鐵粉。

使混合物之溫度回復至室溫，歷經 2 小時。反應為完全的（TLC）。

將混合物通過矽藻土過濾並於真空下濃縮，以二氯甲烷浸滿殘餘物，並以蒸餾水清洗有機溶液 2 次，然後通過硫酸鎂乾燥、過濾並於真空下濃縮至乾。

獲得 16 克粗製之(1a)並於藉二氯甲烷溶離之矽膠管柱上層析。

獲得 2 部分，其包含乾淨預期產物，該等部分於濃縮後，提供 11.5 克之純(1a)，亦即 69%之產率。

^{1}H N.M.R.光譜編號 2810-V (300 MHz, $(CD_3)_2SO$, δ 以 ppm 計)：3.88 (s, 3H), 5.11 (未解析峰, 2H), 7.01 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 2 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 8 Hz, 1H), 9.53

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝　訂　線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（18）

(s, 1H)。

質譜編號 210112, m = 151

EI m/z = 151 M^+ 基峰

m/z = 136 $[M-CH_3]^+$

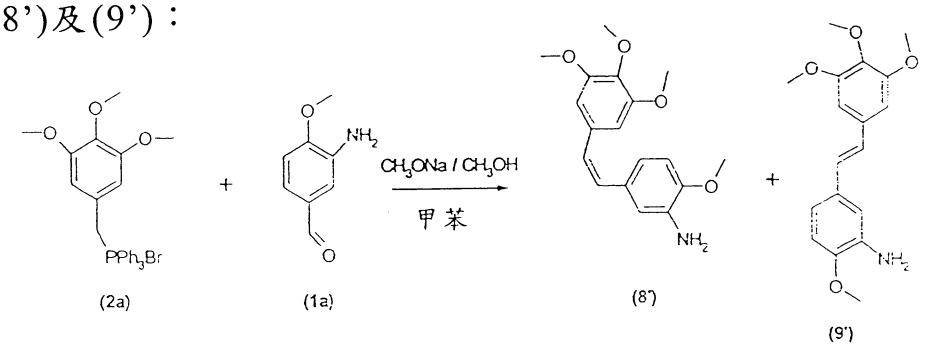
m/z = 108 $[136-CO]^+$

m/z = 80 $[108-CO]^+$

IR 光譜：425135 KBr

3464, 3437, 3367, 3349, 1675, 1655, 1582, 1513, 1293, 1241, 1139, 1023, 803 及 640 公分$^{-1}$

Z-及 E-2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]苯胺(8')及(9')：



(2a) (1a) (8') (9')

N.B.：鏻鹽(2a)為起始物質，已被揭示於原始專利案，Ajinomoto Co. Ltd, US 5 525 632 及 WO 01/12579 A2 中。

將 8.0 克之鏻鹽(2a)、接著是 2.20 克之胺基苯甲醛(1a)及 100 毫升甲苯裝入一配設有磁力攪拌器、溫度計、T 型管、一滴液漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及一冷卻浴之 250 毫升三頸燒瓶中並以氮氣使其為惰性。使攪拌之懸浮液冷卻至 5℃，並滴入 3.51 毫升之 25%重量／重量之甲醇性甲氧化鈉溶液，歷時 15 分鐘。於 5℃下經 2.5 小時之後，反應仍為不完全的(DC:45%)但沒有進一步變

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（19）

化，Z/E 比為 61/39。然後滴入 0.2 毫升被稀釋於 50 毫升水中之乙酸，溫度上升至 13℃，攪拌混合物 30 分鐘，然後藉於分液漏斗中沉降予以分離。於旋轉蒸發器上於真空下濃縮有機相，獲得 8 克之黃色油。

依據 HPLC，此油包含起始之醛、氧化膦及預期之 Z/E 混合物，比例 61/39。

於藉環己烷／乙酸乙酯／三乙胺（50/50/2）溶離之矽膠管柱（40 份重量／重量）上層析此油。

將 2 系列之合併部分濃縮至乾：360 毫克之第一乾燥萃取物包含 93%之 Z 異構物+未鑑定之不純物；第二乾燥萃取物為 2.09 克，包含原料醛及 Z/E 混合物，代表 39 和 37.5%之 IS HPLC。

Z 異構物(8')之餘量（以重量計），依 IS HPLC 測定，相對於 2.20 克之醛荷量為 1.15 克，亦即 24%之產率。

實施例 3-根據本發明之第二製程路徑 V0 3 之合成

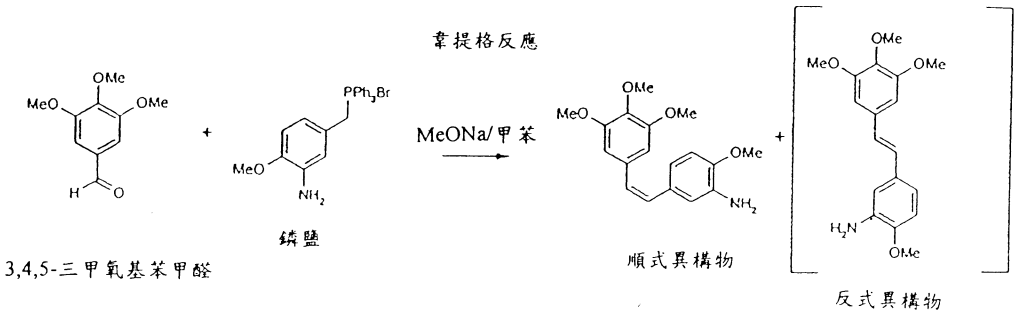
至於路徑 V0 2，路徑 V 03 相對於第一"反向韋提格"法路徑 V0 2 之優點為在介於已被還原之產物，即溴化(3-胺基-4-甲氧基苄基)三苯鏻(1b)和 3,4,5-三甲氧基苯甲醛(5)之間實施韋提格反應，可因此省略發散 CMR 產物之化學階段。

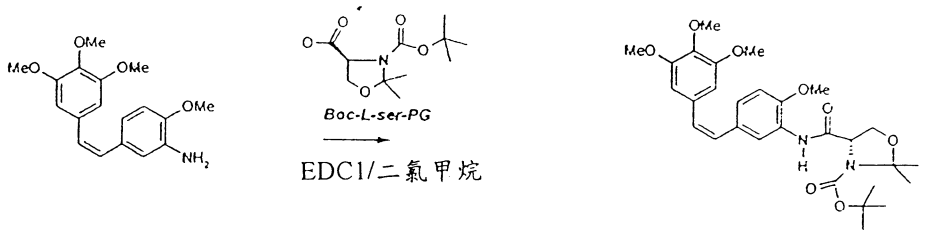
(Z)-N-[2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]-苯基]-L-絲胺醯胺氯化氫

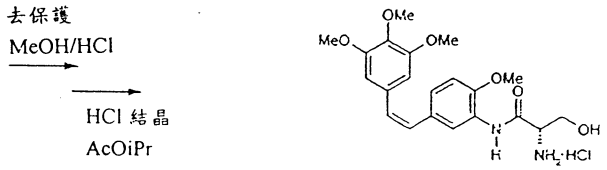
合成之一般流程

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

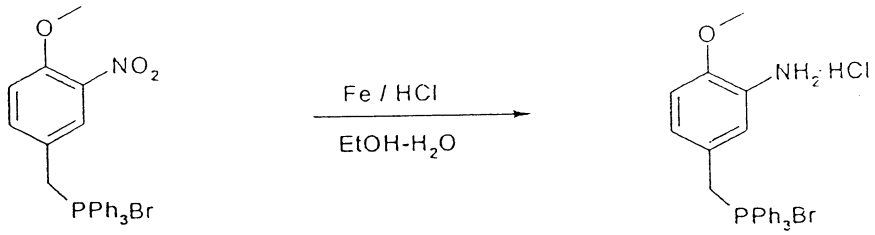
五、發明說明（20）







溴化(3-胺基-4-甲氧基苄基)三苯鏻(1b)



(4)　　(1b)

將 30 克(4)、240 毫升乙醇和 60 毫升之蒸餾水裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及加熱浴之 1 公升三頸燒瓶中。

添加 1.76 毫升 6N 之氫氯酸至經攪拌且被加熱至 70℃之懸浮液中。

然後分批地加入 9.9 克之鐵粉，歷時 15 分鐘；混合物

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝　訂　線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（21）

仍為不溶的。維持混合物在 75℃下 2 小時；有機物質緩慢變成溶液，同時形成鐵和氧化鐵之棕色沉積物。

於藉 HPLC 監測後，仍留有 5%之起始材料；再次添加 2 克之鐵並持續加熱 1 小時；DC 為完全的。

冷卻混合物至 40℃並通過 Clarcel 過濾，以 1000 毫升之乙醇（包含 20%水）清洗過濾器殘餘物，並將濾物於一旋轉蒸發器上於真空下濃縮至乾。

以 300 毫升異丙醇浸滿殘餘物，並由混合物中結晶，其經攪拌及被加熱至 50℃而逐漸變回溶液。然後滴入 14 毫升 5N 於異丙醇中之氫氯酸溶液，混合物發生沉澱，將其維持在 50℃下 1 小時，然後使其回復至室溫。

使料漿通過燒結玻璃過濾器予以過濾，以 50 毫升異丙醇清洗濾餅，澈底倒乾並於真空烘箱中乾燥。

獲得 27.3 克之(1b)，產率 89.9%。

^{1}H N.M.R.光譜編號 4584-V (300 MHz, $(CD_3)_2SO$, δ 以 ppm 計)：3.78 (s, 3H), 5.03 (寬 d, J = 15 Hz, 2H), 6.43 (未解析峰, 1H), 6.62 (寬 s, 1H), 6.82 (寬 d, J = 8 Hz, 1H), 由 7.60 至 8.00 (mt, 15H)。

質譜編號 211915, m = 397

EI　m/z = 397 M^+

m/z = 382 $[M-CH_3]^+$

m/z = 262 $[PPh_3]^+$ 基峰

DCI m/z = 398 MNH_4^+

m/z = 263$[PPh_3H]^+$ 基峰

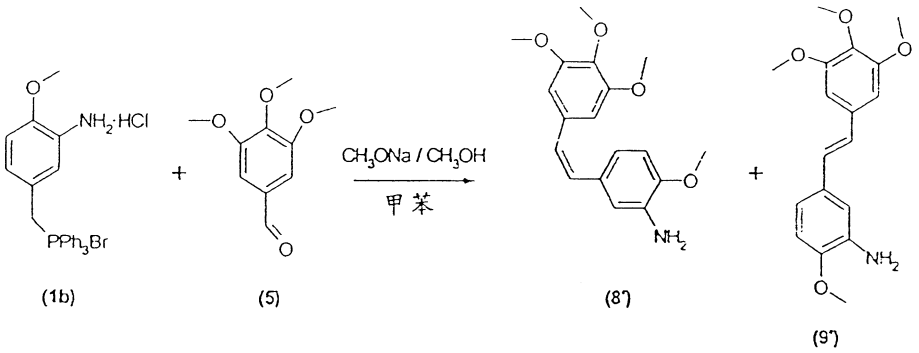
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製
裝 訂 線
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（22）

IR 光譜：426386 KBr

3254, 2474, 1920, 1628, 1520, 1439, 1433, 1279, 1110, 736, 690, 527 及 511 公分$^{-1}$

Z-及 E-2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]苯胺(8')及(9')：



(1b) (5) (8') (9')

將 11.02 克(1b)、4 克(5)和 70 毫升甲苯裝入一配設有磁力攪拌器、溫度計、T 型管、一滴液漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及一冷卻浴之 250 毫升三頸燒瓶中。

將攪拌之懸浮液冷卻至 5℃並滴入 4.92 毫升之 25%重量／重量之甲醇性甲氧化鈉溶液，歷時 15 分鐘。於 5℃下攪拌懸浮液 2.5 小時，然後滴入 0.2 毫升被稀釋於 50 毫升水中之乙酸，溫度上升至 14℃，混合物變得非常稠。將其以 10 毫升甲苯和 10 毫升水稀釋。仍為棕色不溶之物質。

通過 clarcel 過濾混合物，以 3 次 50 毫升之甲苯清洗濾餅（洗液實質上僅包含原料醛且未被添加至兩相過濾物中）。藉於分液漏斗中沉降予以分離透明之過濾物（pH 12），並將有機相於 40℃之真空下濃縮至乾。依據 IS HPLC 之測量，Z/E 比例為 43/57。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

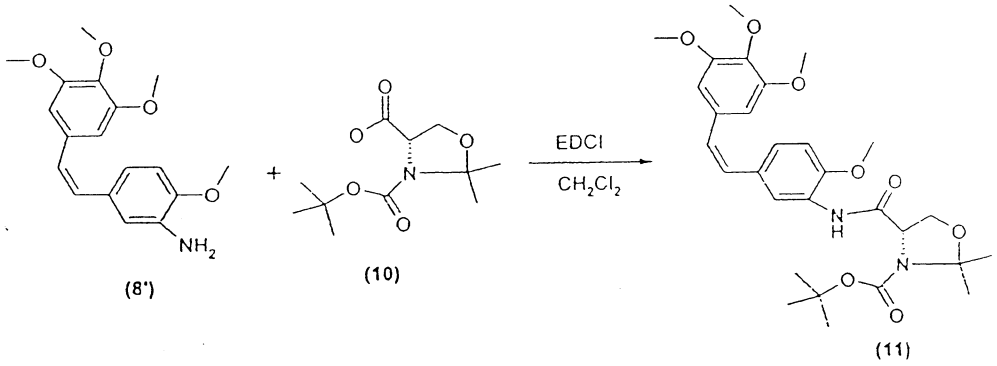
五、發明說明（23）

於藉環己烷/乙酸乙酯/三乙胺（50/50/2）溶離之矽膠管柱（100份重量／重量）上層析所獲得之棕色油。

將2系列之合併部分濃縮至乾：1.1克之第一乾燥萃取物包含14%之E異構物和59%之Z異構物；第二乾燥萃取物重1.08克且包含86%之E異構物和7%之Z異構物。

Z異構物(8')之餘量（以重量計），依IS HPLC測定，相對於4克所載入之醛為0.725克，亦即產率為11.3%。。

Z-4-{2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]苯基胺甲醯基}-2,2-二甲基噁唑啶基-3-羧酸第三丁酯(11)：



(8')　(10)　(11)

<u>鹼(8')由氫氯酸之釋出：</u>

將44克之(8)、16克碳酸氫鈉，然後是200毫升之蒸餾水及375毫升之二氯甲烷裝入一1公升之Erlenmeyer燒瓶中。於室溫下攪拌混合物20分鐘，獲得兩透明相。

藉沉降分離有機相，通過硫酸鈉乾燥，然後過濾。

獲得約400毫升之包含(8')之二氯甲烷溶液。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝　訂　線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4規格（210 x 297公釐）

五、發明說明（24）

2,2-二甲基噁唑啶基-3,4-二羧酸-3-第三丁酯(10)之製備

雖然可於商業上取得，但此產品很難以保存。因此，根據：J. Org. Chem., 63 (12), p. 3983 (1998)，藉以其酯之氫氧化鈉皂化來製備。

^{1}H N.M.R.光譜 (300 MHz, $(CD_3)_2SO$, δ 以 ppm 計)：1.38 (s, 3H), 1.45 (s, 9H), 1.55 (s, 3H), 3.95 (mt, 1H), 4.16 (mt, 1H), 4.31 (mt, 1H), 由 12.50 至 13.10 (寬廣未解析峰, 1H)。

質譜編號 213135, m = 245

DCI m/z = 263 MNH_4^+

m/z = 246 MH^+

m/z = 207 $[MNH_4\text{-t-Bu}]^+$ 基峰

m/z = 146 $[MH\text{-BOC}]^+$

IR 光譜：426759 KBr

1744, 1704, 1638, 1407, 1368, 1164, 1104, 856, 836 及 623 公分$^{-1}$。

偶合：

將(8')之溶液裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一用以添加固體之漏斗及一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及一冷卻浴之 2 公升三頸燒瓶中，添加 600 毫升二氯甲烷並於攪拌中冷卻混合物。

在 5℃下添加 42.9 克之 2,2-二甲基噁唑啶基-3,4-二羧酸-3-第三丁酯(10)並逐漸變成溶液，然後在 5 和 10℃下

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（25）

分批添加 1-(3-二甲基胺基丙基)-3-乙基碳化二醯亞胺氯化氫(EDC1)。

藉使浴中之冰溶解過夜而使混合物緩慢回復至室溫。

於早上，添加 330 毫升蒸餾水，劇烈攪拌混合物。混合物於 30 分鐘後變混濁（EDC1 之水解）。持續攪拌 30 分鐘。

藉於分液漏斗中沉降來分離混合物，連續以 2 次之 280 毫升之 0.55N 氫氧化鈉溶液，然後是 300 毫升之蒸餾水清洗有機相。

於一旋轉蒸發器上濃縮有機相至乾（50℃/50 毫米汞柱）。

獲得 79.4 克之黏稠油(11)，該油在 20℃變硬，相對於所裝入之(8)的重量產率為 117%。

光譜編號=5 578-V

^{1}H N.M.R.光譜 (400 MHz, $(CD_3)_2SO$，溫度 373 K，δ 以 ppm 計)：1.41 (s, 9H), 1.53 (s, 3H), 1.64 (s, 3H), 3.64 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.99 (dd, J = 7 及 3 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 6.58 (s, 2H), 7.02 (mt, 2H), 8.13 (寬 s, 1H), 8.82 (寬 s, 1H)。

質譜編號 213565, m = 542

DCI m/z = 560 MNH_4^+ 基峰

m/z = 543 MH^+

m/z = 504 $[MNH_4\text{-t-Bu}]^+$

m/z = 443 $[MH\text{-BOC}]^+$

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（26）

IR 光譜 425857 KBr

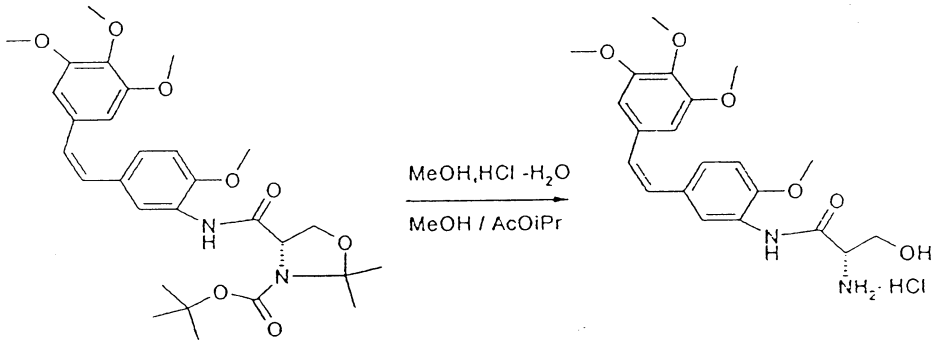
3409, 2982, 2938, 2837, 1712, 1698, 1534, 1363, 1249, 1133, 1092 及 851 公分$^{-1}$。

使用其他偶合條件，諸如：

- 混合酸酐（三甲基乙醯氯化物/(10)）
- DCC/HOBT，DCC/HOSU，TOTU，N,N-羰基二咪唑等
- 於乙腈、DMF、THF、二氯甲烷、酯等中

EDC1·HCl 於二氯甲烷中提供最佳結果。

Z-N-[2-甲氧基-5-[2-(3,4,5-三甲氧基苯基)乙烯基]苯基]-L-絲胺醯胺氯化氫



(11) (12)

在 20℃下，將 61.8 克之(11)（於 54 毫升之甲醇中）裝入一配設有機械攪拌器、溫度計、T 型管、一頂上裝有計泡器之迴流冷凝器及加熱浴之 1 公升三頸燒瓶中，添加 150 毫升之乙酸異丙酯、99 毫升之 2.3N 氫氯酸於甲醇中之溶液及 8.2 毫升之蒸餾水。攪拌混合物並在 60℃加熱 3 小時。藉通過一經 40 毫升甲醇沖洗之 4 號燒結玻璃過濾器，將冷卻至 40℃之溶液澄清。使過濾物回到三頸燒瓶

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

五、發明說明（27）

中並添加 194 毫升之乙酸異丙酯，將混合物再加熱至 40℃，以 0.2 克之(12)引發溶液，然後逐滴滴入 194 毫升之乙酸異丙酯，歷時 1 小時。當乙酸異丙酯滴入中，混合物緩慢結晶。

使混回復至室溫，然後冷卻並維持在 5℃過夜。

早上時，使料漿通過燒結玻璃過濾器予以過濾，倒乾，以 4 次之 50 毫升乙酸異丙酯清洗濾餅，澈底倒乾，然後於烘箱中乾燥至恆重（35℃/10 毫米汞柱）。

經過 2 階段（偶合隨後去保護操作）獲得 28 克之(12)，產率為 56%，IS HPLC 檢驗>98%，亦即，根據第一製程路徑 V0 2 進行合成，整體產率為 30%[所獲得之(12)相對於所裝入之(5)]。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

A5
B5

四、中文發明摘要（發明之名稱：坎伯達丁類（Combretastatins）化合物之製法　）

本發明係有關一種坎伯達丁類（combretastatins）之新穎製法，其係藉於硝基甲氧基苯甲醛和三甲氧基苄基鏻鹽之間，或相反地，在硝基甲氧基苄基鏻鹽和三甲氧基苯甲醛之間進行韋提格縮合，或對其之硝基官能基已被還原成胺基之相同衍生物進行韋提格反應而成。

英文發明摘要（發明之名稱：　Process for the preparation of combretastatins　）

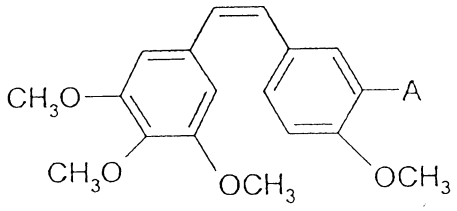
The present invention relates to novel processes for the preparation of combretastatins by a Wittig condensation between the nitromthoxybenzaldehyde and a trimethoxybenzyl phosphonium salt or, the reverse, a nitromethoxybenzyl phosphonium salt with the trimethoxybenzaldehyde, or a Wittig reaction on the same derivatives, the nitro functional group of which has been reduced to an amino group.

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

六、申請專利範圍

1. 一種製備下述通式(I)之坎伯達丁類之方法：



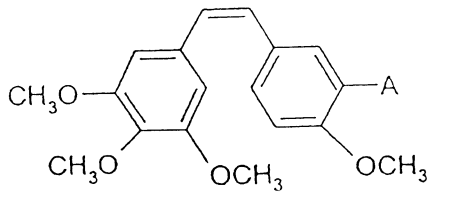
(I)

其中 A 代表一胺基，其特徵在於，其係在溴化或氯化(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基-鏻及 3-硝基-4-甲氧基苯甲醛或 3,4,5-三甲氧基苯甲醛之存在下與(4-甲氧基-3-硝基苄基)三苯鏻鹽進行韋提格縮合反應之後，於鐵的存在下還原硝基而成。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之方法，其特徵在於所使用之鐵量為過量。

3. 根據申請專利範圍第 2 項之方法，其特徵在於此過量為對每 1 莫耳起始硝基衍生物大於 2 當量。

4. 一種製備下述通式(I)之坎伯達丁類之方法：



(I)

其中 A 代表一胺基，其特徵在於，根據第二種實施製程，(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基鏻鹽係與 3-胺基-4-甲氧基苯甲醛縮合，或(3-胺基-4-甲氧基苄基)三苯基鏻鹽係與 3,4,5-三甲氧基苯甲醛縮合。

5. 根據申請專利範圍第 4 項之方法，其特徵在於(3,4,5-三甲氧基苄基)三苯基鏻鹽係與 3-胺基-4-甲氧基苯甲醛縮合。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

六、申請專利範圍

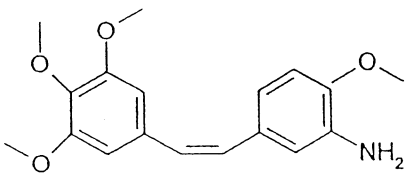
6. 根據申請專利範圍第 4 或 5 項之方法，其特徵在於反應較佳係在選自第三丁氧化鉀、第三-戊氧化鈉、氫化鈉、丁基鋰、LDA（二異丙基醯胺鋰）、甲氧化鈉、碳酸鉀或六甲基二矽烷之鹼性衍生物之鹼的存在下進行。

7. 根據申請專利範圍第 6 項之方法，其特徵在於使用甲氧化鈉。

8. 根據申請專利範圍第 4 或 5 項之方法，其特徵在於反應溶劑（其相對於反應為惰性者）係選自醚類（THF）、極性非質子溶劑（乙腈、NMP、DMF、DMSO 等）、醇類、芳香族溶劑或水。

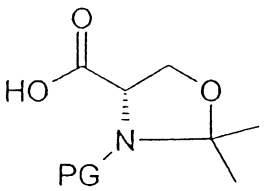
9. 根據申請專利範圍第 7 項之方法，其特徵在於反應溫度較佳介於 0 和 10℃之間。

10. 一種製備式(I)化合物（其中 A 代表呈絲胺酸鹽形式之胺基）之方法，係將式(IIa)之衍生物：



(IIa)

與式(IIb)之環狀保護之絲胺酸衍生物偶合



(IIb)

（其中 PG 代表胺基官能基之保護基），以獲得下述通式

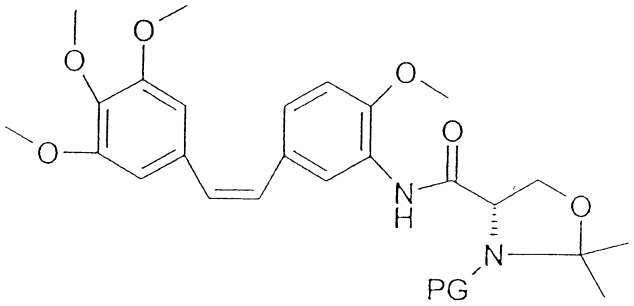
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

裝 訂 線

本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

六、申請專利範圍

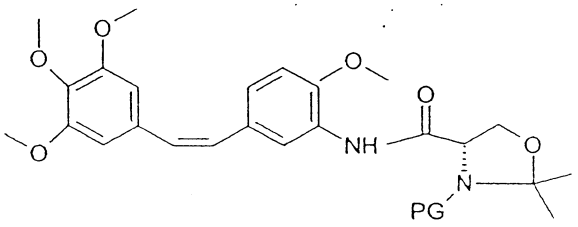
之新穎中間體：



(III)

隨後將其去保護。

11.一種供在胺基坎伯達丁類和環狀保護之絲胺酸衍生物之間偶合之中間體，其特徵在於其係對應於下式：



(III)

其中 PG 為一保護基。

12.根據申請專利範圍第 11 項之中間體，其特徵在於 PG 代表一保護基，選自下列組群：第三-丁氧羰基、苄氧基羰基(CBZ)或 9-芴基甲基氧基羰基(FMOC)。

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

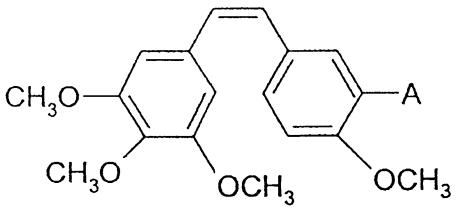
本紙張尺度適用中國國家標準(CNS)A4 規格（210 x 297 公釐）

(一)、本案指定代表圖爲：第____圖 無

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：

無

本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



(I)

正本

I262179
年 月 日修(更)正替換頁
95.2.10

發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：92108184 C07C 317/14 ;

※ 申請日期：92、4、10 ※IPC 分類：C07D 263/06

一、發明名稱：（中文/英文）

坎伯達丁類(combretastatins)化合物之製法

PROCESSES FOR THE PREPARATION OF COMBRETASTATINS

二、申請人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

阿凡提斯藥品法國公司

AVENTIS PHARMA S.A.

代表人：（中文/英文）

馬迦烈/LE PENNEC, MAGALI

住居所或營業所地址：（中文/英文）

法國安東尼市雷蒙德亞諾街 20 號

20 Avenue Raymond Aron, 92160 Antony, France

國　籍：（中文/英文）

法國/France

三、發明人：（共 4 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 慕提/MUTTI, STEPHANE
2. 賴維恩/LAVIGNE, MICHEL
3. 馬理克/MALEJONOCK, IRINA
4. 柯塞莫/CASIMIR, JEAN-PAUL

國　籍：（中文/英文）

1.-4.均為法國/France

日修(更)正替換頁

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

法國；西元 2002 年 4 月 11 日；0204499

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。