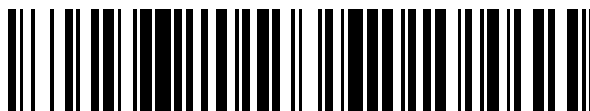


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 679**

51 Int. Cl.:

**C07H 23/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2002 E 02733293 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 1394174**

54 Título: **Procedimiento para producir metilcobalamina**

30 Prioridad:

**05.06.2001 JP 2001169107**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**08.02.2016**

73 Titular/es:

**EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (100.0%)  
6-10, Koishikawa 4-chome Bunkyo-ku  
Tokyo 112-8088, JP**

72 Inventor/es:

**HISATAKE, YOSHIHIKO;  
TANAKA, TAKUO;  
TSURUGI, TOMIO y  
KURODA, HIROSHI**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

**ES 2 558 679 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para producir metilcobalamina

## 5 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a un procedimiento excelente desde el punto de vista industrial para producir metilcobalamina. De forma específica, se refiere también a un nuevo procedimiento de producción que está exento de la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor y es ecológico, y a un procedimiento para inhibir la formación de dicha sustancia nociva que exhala mal olor en un procedimiento de producción de metilcobalamina (V).

## TÉCNICA ANTERIOR

La metilcobalamina es una vitamina B12 coenzimática presente en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo. Esta puede migrar de forma más satisfactoria a los tejidos nerviosos que los demás homólogos de B12 y se usa para profilaxis, tratamiento y alivio de neuropatía diabética, neuritis múltiple y otras neuropatías periféricas, en especial de entumecimiento, dolor y parálisis y para anemia megaloblástica causada por deficiencia de vitamina B12.

La metilcobalamina se ha producido convencionalmente por los siguientes procedimientos de preparación:

- (1) un procedimiento de reacción de hidroxicobalamina con un éster monometílico de ácido dicarboxílico en presencia de un metal en polvo (documento JP-A 49-47899);
- (2) un procedimiento de reacción de cianocobalamina con oxalato de monometilo en metanol hidratado en presencia de un metal en polvo (documento JP-A 50-41900);
- (3) un procedimiento de reacción de hidroxicobalamina con yoduro de metilmercurio o metilhexafluorosilicato de amonio (documento JP-A 50-38120); y
- (4) un procedimiento de reacción de cianocobalamina con yoduro de metilo en presencia de borohidruro de sodio (documento JP-A 45-38059).

Sin embargo, los ésteres monometílicos de ácido dicarboxílico tales como oxalato de monometilo usados en los procedimientos (1) y (2) no están disponibles de forma comercial, deben prepararse antes de usar y no pueden usarse en producción comercial. Además, el polvo de cinc usado como metal en polvo es un metal pesado, es indispensable adoptar medidas para prevenir su contaminación en productos y proteger el medio ambiente, y no es deseable industrialmente.

En el procedimiento (3), el yoduro de metilmercurio usado es contaminante y no puede usarse industrialmente. Además, el metilhexafluorosilicato de amonio no está disponible de forma comercial, debe prepararse antes de usar y no puede usarse industrialmente.

Por el contrario, el procedimiento de producción (4) es excelente a la vista del rendimiento y pureza del producto. Sin embargo, el yoduro de metilo tiene una temperatura de ebullición muy baja (41 °C a 43 °C) y por ello es difícil de manipular. Por consiguiente, este procedimiento no es suficiente como procedimiento industrial para la producción comercial. Además, desde el punto de vista de proteger el ambiente de trabajo o el medio ambiente, el uso de yoduro de metilo que se ha indicado como una sustancia química específica y que tiene toxicidad tal como posible carcinogenicidad de ninguna manera es preferible desde el punto de vista de la salud industrial de los trabajadores de la fábrica. Para obtener metilcobalamina altamente pura por el procedimiento que usa yoduro de metilo, son generalmente necesarios uno o más procedimientos de purificación por cromatografía en columna, sugiriendo así un serio problema en la operación y coste de producción. Además, la purificación en columna requiere una gran cantidad de un disolvente orgánico y una enorme cantidad de un líquido residual.

Así, hasta ahora no se ha establecido un procedimiento industrialmente excelente para producir metilcobalamina y, por ello, se ha deseado un nuevo procedimiento excelente.

Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento industrialmente excelente para producir metilcobalamina, en especial un nuevo procedimiento para producir metilcobalamina, procedimiento que no requiera yoduro de metilo y purificación por cromatografía en columna y sea ecológico. Otro objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo procedimiento de producción que no provoque la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor y sea ecológico, y un procedimiento que inhiba la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor en un procedimiento de producción de metilcobalamina (V).

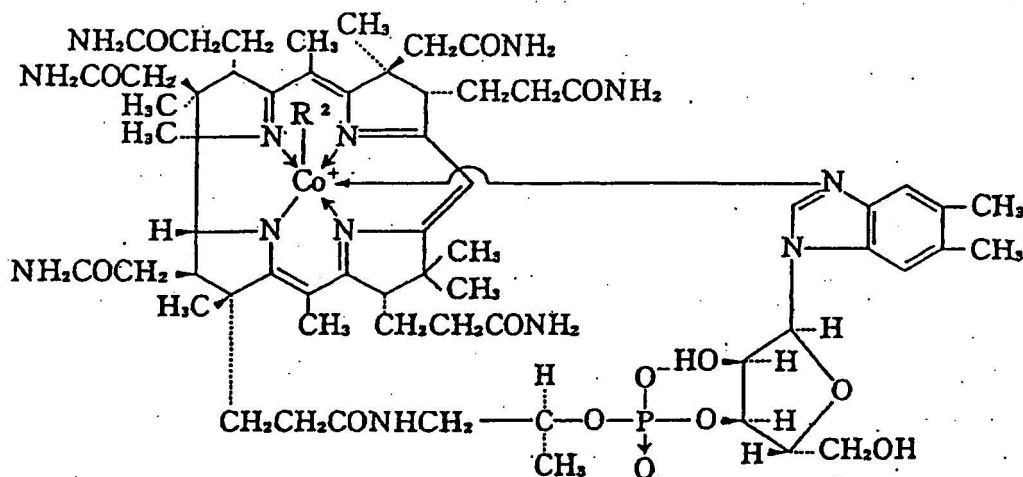
## 60 Divulgación de la invención

La presente invención proporciona, en un aspecto, un procedimiento para producir metilcobalamina (V) que está representada por la siguiente fórmula de reacción que incluye un proceso de reducción y un proceso de metilación.

65 Proceso de reducción: Cobalamina-CN o Cobalamina-OH → Cobalamina

Proceso de metilación: Cobalamina → Cobalamina-CH<sub>3</sub>

- 5 De forma específica, la presente invención proporciona un procedimiento para producir metilcobalamina (V), que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) representada por la fórmula siguiente en presencia de borohidruro de sodio como un agente reductor (III), y, a continuación, metilar el reductor añadiendo un derivado de trimetilazufre (VI) como un agente metilante soluble en agua.



- 10 R<sup>2</sup>=CN: Cianocobalamina (I)  
 R<sup>2</sup>=OH: Hidroxicobalamina (II)  
 R<sup>2</sup>=CH<sub>3</sub>: Metilcobalamina (V)

- 15 En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para producir metilcobalamina, la presente invención proporciona un procedimiento para producir metilcobalamina (V), que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia de borohidruro de sodio como un agente reductor (III); y, a continuación, metilar el reductor añadiendo un derivado de trimetilazufre (VI).

- 20 La presente invención proporciona además un procedimiento para producir metilcobalamina (V), que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia de borohidruro de sodio como un agente reductor (III); metilar el reductor añadiendo un derivado de trimetilazufre (VI); y, a continuación, precipitar el producto de reacción como cristales o precipitados.

- 25 La presente invención proporciona, en otro aspecto más, un procedimiento para producir metilcobalamina (V), que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia de un aceptor de iones cianuro y borohidruro de sodio como un agente reductor (III); metilar el reductor añadiendo un derivado de trimetilazufre; y, a continuación, precipitar el producto de reacción como cristales o precipitados.

- 30 Además, la presente invención proporciona un procedimiento para inhibir la formación de sulfuro de dimetilo que exhala mal olor en un procedimiento de producción de metilcobalamina (V) usando un derivado de trimetilazufre (VI) como agente metilante, que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en presencia de un agente reductor (III); y, a continuación, metilar el reductor añadiendo yoduro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfoxonio y/o cloruro de trimetilsulfoxonio.

- 35 De acuerdo con la presente invención, el agente reductor y el agente metilante soluble en agua se añaden por separado en diferentes momentos al sistema de reacción. Específicamente, en el procedimiento de producción, el agente reductor se añade al sistema de reacción para convertir de este modo cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en un reductor. Después del proceso de reducción, el agente metilante soluble en agua se añade al sistema de reacción para proporcionar de este modo metilcobalamina. En el proceso de reducción, si se convierte cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en un reductor puede verificarse generalmente si cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) desaparece en un análisis de separación, por ejemplo, por cromatografía líquida de alta resolución. La finalización de la generación de hidrógeno por acción del agente reductor demuestra que el proceso de reducción se ha completado.

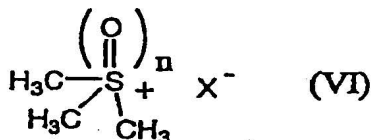
Cianocobalamina (I), hidroxicobalamina (II) y metilcobalamina (V) relacionados con la presente invención son compuestos naturales conocidos.

Cianocobalamina (Número de registro CAS: 68-19-9)

Hidroxocobalamina (Número de registro CAS: 13422-51-0)

Metilcobalamina (Número de registro CAS: 13422-55-4)

5 Los derivados de derivados de trimetilazufre (VI) están representados por la fórmula siguiente. En la fórmula, X es un átomo de halógeno o un grupo o un grupo metoxisulfonilo; y n es 0 o 1.



10 Ejemplos de los derivados de trimetilazufre (VI) incluyen, aunque sin quedar limitados a, los siguientes compuestos.

(1) Yoduro de trimetilsulfoxonio (Número de registro CAS: 1774-47-6)

15 (2) Yoduro de trimetilsulfonio (Número de registro CAS: 2181-42-2)

(3) Cloruro de trimetilsulfoxonio (Número de registro CAS: 5034-06-0)

20 (4) Cloruro de trimetilsulfonio (Número de registro CAS: 3086-29-1)

(5) Bromuro de trimetilsulfoxonio (Número de registro CAS: 3084-53-5)

(6) Bromuro de trimetilsulfonio (Número de registro CAS: 25596-24-1)

25 (7) Metilsulfato de trimetilsulfonio (Número de registro CAS: 2181-44-4)

30 Todos estos compuestos son sustancias conocidas. Entre ellas, yoduro de trimetilsulfoxonio, yoduro de trimetilsulfonio, cloruro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfoxonio y bromuro de trimetilsulfonio están disponibles a bajo coste como reaccionantes o materiales de partida industriales. El cloruro de trimetilsulfonio puede obtenerse fácilmente por síntesis de acuerdo con el procedimiento descrito por B. Byrne *et al.*, en *Tetrahedron Lett.*, 27, 1233, (1986).

35 Entre los derivados de trimetilazufre (VI), bromuro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfonio, cloruro de trimetilsulfoxonio y cloruro de de trimetilsulfonio presentan particularmente una elevada solubilidad en agua y tienen una característica que el uso en una menor cantidad proporciona metilcobalamina altamente pura con un alto rendimiento.

40 La cantidad del derivado de trimetilazufre (VI) no está específicamente limitada y es generalmente de 1,0 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1,1 a 4,5 equivalentes, y más preferiblemente de 1,2 a 4 equivalentes respecto a cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II).

45 La cantidad del agente reductor (III) no está específicamente limitada y es generalmente de 5 a 30 equivalentes, preferiblemente de 8 a 25 equivalentes, y más preferiblemente de 10 a 20 equivalentes respecto a cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II).

50 Una de las características de la presente invención es que puede obtenerse convenientemente con un alto rendimiento metilcobalamina que tiene una alta pureza equivalente a, o mayor que los productos purificados por cromatografía en columna en la producción de metilcobalamina (V) usando cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II), llevando a cabo secuencialmente un proceso de reducción y un proceso de metilación subsiguiente etapa a etapa en este orden, cuando sea necesario precipitar un producto de reacción apenas soluble en agua como cristales o precipitados, y separar y tratar la sustancia resultante. En el proceso de reducción, se reduce cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) generalmente en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia del agente reductor (III). En el proceso de metilación, el agente metilante soluble en agua (VI) se añade después de reducción para metilar de este modo el reductor.

55 El agente reductor y el agente metilante soluble en agua se añaden al sistema de reacción en diferentes procesos, respectivamente. De forma más específica, en el proceso de reducción, el agente reductor se añade para convertir de este modo cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) completamente en un reductor. Después del proceso de reducción, el agente metilante soluble en agua se añade al sistema de reacción para proporcionar de este modo metilcobalamina.

60

Otra característica significativa de la presente invención es que la formación de sulfuro de dimetilo puede inhibirse llevando a cabo secuencialmente el proceso de reducción y el subsiguiente proceso de metilación etapa a etapa en este orden cuando se usa yoduro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfoxonio y/o cloruro de trimetilsulfoxonio entre los derivados de trimetilazufre como agente metilante soluble en agua. En el proceso de reducción, se reduce generalmente cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia del agente reductor (III). En el proceso de metilación, el agente metilante soluble en agua (VI) se añade después de reducción para metilar de este modo el reductor.

El sulfuro de dimetilo es una sustancia nociva que exhala mal olor y afecta de forma adversa a trabajadores de la fábrica y a los alrededores. Por tanto, su emisión está estrictamente controlada de acuerdo con la Ley de Control de los Olores Ofensivos.

Cuando el derivado de trimetilazufre que sirve como el agente metilante soluble en agua coexiste con el agente reductor en el sistema de reacción, el derivado de trimetilazufre se reduce y de este modo proporciona sulfuro de dimetilo que imparte cargas al ambiente atmosférico. De acuerdo con la presente invención, inicialmente, se reduce cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) con el agente reductor y se convierte en un reductor. Después de completarse este proceso, el yoduro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfoxonio y/o cloruro de trimetilsulfoxonio entre los derivados de trimetilazufre que sirven como el agente metilante soluble en agua se añade para metilar de este modo el reductor. Así, puede prevenirse una reducción excesiva y sustancialmente puede inhibirse completamente la formación de sulfuro de dimetilo.

Cuando el yoduro de trimetilsulfonio, bromuro de trimetilsulfonio y/o cloruro de trimetilsulfonio se usa como el agente metilante soluble en agua, se forma sulfuro de dimetilo pero su cantidad es menor que la de un "procedimiento para producir metilcobalamina en el que el agente metilante y el agente reductor coexisten en el sistema de reacción" llevando a cabo secuencialmente el proceso de reducción, en el que se reduce generalmente cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado en presencia del agente reductor (III), y el subsiguiente proceso de metilación, en el que el agente metilante soluble en agua (VI) se añade a un reductor después de la reducción para metilar de este modo el reductor, etapa a etapa en este orden. Cuando el agente metilante y el agente reductor coexisten en el sistema de reacción, el agente metilante debe añadirse en una cantidad en exceso para estabilizar la reacción y de este modo proporcionar sulfuro de dimetilo en una cantidad que corresponde al agente metilante en exceso. Por el contrario, "llevando a cabo secuencialmente y de forma separada el proceso de reducción y el subsiguiente proceso de metilación" de acuerdo con la presente invención, no se forma sulfuro de dimetilo derivado del exceso de agente metilante, así, la cantidad de sulfuro de dimetilo formada disminuye.

En general, el sulfuro de dimetilo formado en un proceso de reacción se atrapa con frecuencia y se elimina por 1) un agente oxidante tal como una solución acuosa de un hipoclorito o 2) un disolvente orgánico tal como una solución acuosa de dimetilformamida. Sin embargo, la técnica 1) es una reacción de oxidación que usa el agente oxidante y requiere un complicado control de acciones complejas cuando están coexistiendo otros componentes tales como hidrógeno y cianuro de hidrógeno en el gas de escape. La técnica 2) genera una mayor cantidad de líquido residual del disolvente orgánico, generando de este modo problemas medioambientales y un mayor coste provocado por el tratamiento del líquido residual.

Por el contrario, el procedimiento para producir metilcobalamina y el procedimiento para inhibir la formación de sulfuro de dimetilo de acuerdo con la presente invención controla la formación del propio sulfuro de dimetilo, no requiere otras instalaciones y tratamientos adicionales y son procedimientos muy convenientes y útiles.

El procedimiento de producción de acuerdo con la presente invención permite la producción de metilcobalamina altamente pura con un alto rendimiento sin el uso de ión metálico o usando únicamente una pequeña cantidad del mismo como aceptor de iones cianuro, y el procedimiento presenta un efecto extremadamente excelente en vista de que no surgen problemas en la eliminación de productos de iones metálicos, que son difíciles de filtrar, del sistema.

Cuando se usa yoduro de metilo como agente metilante, generalmente se usa con frecuencia sulfato ferroso como un aceptor de iones cianuro en combinación con yoduro de metilo. La cantidad de sulfato ferroso en este caso debe ser de un 30 % en peso o más relativo a cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II).

Sin embargo, la presente invención permite la producción de metilcobalamina altamente pura con altos rendimientos debido a que la metilación transcurre incluso cuando no se usa sulfato ferroso como un aceptor de iones cianuro.

Cuando se usa una pequeña cantidad de sulfato ferroso como un aceptor de iones cianuro, la reacción transcurre a una mayor velocidad, y puede obtenerse metilcobalamina altamente pura con un alto rendimiento incluso por el mismo procedimiento de postratamiento que en el caso en que no se use sulfato ferroso. Igualmente, usando una pequeña cantidad de cloruro de cobalto, la reacción de metilación transcurre con alta selectividad para inhibir de este modo la formación de impurezas, y también puede obtenerse metilcobalamina altamente pura con un alto rendimiento.

Como ejemplos de los aceptores de iones cianuro para su uso en la presente invención, pueden proponerse metales y sales metálicas tales como sulfato ferroso, polvo de hierro, sal de Mohr, cloruro ferroso, cloruro de cobalto, cloruro de

níquel o cloruro de cinc. Entre ellos, es particularmente preferido el sulfato ferroso y/o el cloruro de cobalto. Cada uno de estos metales y sales metálicas puede usarse solo o en combinación.

5 La cantidad del aceptor de iones cianuro puede ser pequeña y es generalmente de 1 a 30 % en peso y preferiblemente de 1 a 10 % en peso relativo a cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II).

10 El uso de un disolvente de reacción no está específicamente limitado, y el disolvente de reacción, si se usa, no está específicamente limitado siempre que sea inerte a cianocobalamina (I), hidroxicobalamina (II), derivado de trimetilazufre (VI) y metilcobalamina (V). El disolvente de reacción es en general una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado. El disolvente orgánico es preferiblemente uno soluble en agua, alcoholes inferiores tales como metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, isobutanol, sec-butanol o t-butanol; ésteres tales como formiato de metilo, formiato de etilo, acetato de metilo, acetato de etilo o acetato de isopropilo; cetonas tales como acetona, 2-butanona o 3-metil-2-butanona; éteres cíclicos tales como THF o dioxano; así como acetonitrilo, DMF, DMSO, piridina, y mezclas de estos disolventes orgánicos.

15 La temperatura de reacción en el proceso de reducción y el proceso de metilación en la presente invención no está específicamente limitada y es generalmente de 0 °C a 90 °C, preferiblemente de 10 °C a 70 °C, y más preferiblemente de 15 °C a 50 °C.

20 Las reacciones en el proceso de reducción y el proceso de metilación en la presente invención se llevan a cabo preferiblemente bajo el flujo de un gas inerte tal como nitrógeno gas y/o en la oscuridad (bajo luz roja). Sin embargo, los procedimientos de reacción no quedan limitados a estos.

25 La presente invención puede proporcionar un procedimiento industrialmente excelente para producir metilcobalamina. Esta también puede proporcionar un nuevo procedimiento industrialmente excelente para producir metilcobalamina, procedimiento que no genera la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor y es ecológico, y un procedimiento para inhibir la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor en un procedimiento de producción de metilcobalamina (V). Ejemplos de las ventajas de la presente invención se describirán a continuación.

30 Efecto inhibitorio de la presente invención de la formación de sustancia nociva que exhala mal olor.

El procedimiento de la presente invención comprende llevar a cabo reacciones de un proceso de reducción y de un proceso de metilación subsiguiente etapa a etapa en este orden.

35 En los Ejemplos 1 a 3 (agente metilante: bromuro de trimetilsulfoxonio) de acuerdo con la presente invención, se midió la concentración de sulfuro de dimetilo en un recipiente de reacción del siguiente modo cada hora desde inmediatamente después de completarse la adición gota a gota de una solución acuosa de borohidruro de sodio. Específicamente, se introdujo sulfuro de dimetilo del recipiente de reacción a través de un tubo de vidrio en una solución de DMF al 50 % como absorbente, se sometió a una absorción de gas por burbujeo gas-líquido, y la concentración del sulfuro de dimetilo recogido en el absorbente se determinó por cromatografía de gases capilar. (La cromatografía de gases capilar se llevó a cabo usando un CG HP 6890 fabricado por Agilent, y una columna DB-624. Después de mantenerse a 50 °C durante 10 minutos, la temperatura se elevó hasta 200 °C a una velocidad de 15 °C por minuto. La temperatura de absorción de gas fue 100 °C, la temperatura de detección fue 215 °C, y la cantidad inyectada fue 1 ml. Al mismo tiempo, se llevó a cabo una prueba sensorial de olor.

40 Como experimento control, se repitió el mismo procedimiento cada hora desde inmediatamente después de completarse la adición gota a gota de una solución acuosa de borohidruro de sodio en el siguiente "procedimiento para producir metilcobalamina en el que un derivado de trimetilazufre como un agente metilante soluble en agua coexiste con un agente reductor en el sistema de reacción".

50 Experimento control

A 260 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 20 g de cianocobalamina, 7,66 g de bromuro de trimetilsulfoxonio, 1,4 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 15 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera del sistema con nitrógeno gas, se calentó la mezcla en un baño de agua, a la que se añadió, gota a gota a la temperatura interna de 40 °C durante 90 minutos bajo agitación una solución acuosa de borohidruro de sodio (8 g/40 ml). Después de agitar durante otras 3 horas así, la mezcla se agitó a una temperatura de baño de 15 °C durante una noche. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron, dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió solución acuosa de acetona al 50 %, la mezcla se calentó a 35 °C, se ajustó hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado, seguido de la adición gota a gota de acetona y agitación durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron.

60 Las concentraciones de sulfuro de dimetilo formado en cada Ejemplo se muestran en la Tabla 1.

los intervalos después de la adición gota a gota de borohidruro de sodio	inmediatamente después de la adición gota a gota	1 hora	2 horas	5 horas
Ejemplo 1	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor
Ejemplo 2	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor
Ejemplo 3	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor	0 ppm sin olor
Ejemplo control 1	62,4 ppm mal olor	1250 ppm mal olor	697 ppm mal olor	

la línea superior: concentración de sulfuro de dimetilo  
la línea inferior: resultado de la prueba sensorial de olor

En los Ejemplos 1 a 3 (agente metilante: bromuro de trimetilsulfoxonio), no se percibió mal olor en la prueba sensorial y no se detectó sulfuro de dimetilo en la cromatografía de gases 1 h, 2 h, 3 h y 5 h después de la adición de borohidruro de sodio. Por el contrario, en el ejemplo control, en el que el agente metilante soluble en agua y el agente reductor coexistían, se percibió mal olor, y se detectó sulfuro de dimetilo en una alta concentración al menos 3 horas después de la adición.

Estos resultados muestran que el procedimiento de producción de metilcobalamina de acuerdo con la presente invención, en especial, el procedimiento de producción "en el que cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) se reduce en presencia del agente reductor (III), y después de la reducción se añade yoduro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfoxonio y/o cloruro de trimetilsulfoxonio para metilar de este modo el reductor", no genera y puede inhibir de forma eficaz la formación de una sustancia nociva que exhala mal olor.

#### EJEMPLOS

La presente invención se ilustrará con más detalle con referencia a los Ejemplos siguientes, que no pretenden limitar el ámbito de la invención.

##### Ejemplo 1 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 65 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 5 g de cianocobalamina, 0,35 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 3,75 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (2 g/10 ml) gota a gota bajo agitación a una temperatura de baño de 38 °C durante 60 minutos. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (1,9 g/10 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 85%. Propiedades físicas de la metilcobalamina resultante:

En un tampón ácido clorhídrico (pH 2,0), se detectó UVmáx a 264-266, 303-307 y 459-462 nm.

En un tampón fosfato (pH 7,0), se detectó UVmáx a 266-269, 341-344 y 520-524 nm.

Valores de referencia de UVmáx (Merck Index, 12ª edición) (0,1 N-HCl): 264, 304 y 462 nm (pH 7): 266, 342 y 522 nm

##### Ejemplo 2 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 260 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 20 g de cianocobalamina, 1,4 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 15 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (8 g/40 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 40 °C durante 70 minutos. Después de agitar durante otros 30

minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (7,66 g/40 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 85%.

#### Ejemplo 3 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 40 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 88%.

#### Ejemplo 4 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 40 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 87%.

#### Ejemplo 5 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 50 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 88%.

#### Ejemplo 6 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 50 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación



durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 87%.

#### Ejemplo 7 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 30 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 85%.

#### Ejemplo 8 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 390 ml de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 30 g de cianocobalamina, 2,1 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 22,5 ml de 2-butanona. Mientras se insuflaba nitrógeno gas a un caudal de 15 ml/minutos en el sistema, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (12 g/60 ml) gota a gota bajo agitación a la temperatura interna de 30 °C durante 2 horas. Después de agitar durante otros 30 minutos tal como estaba, se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (11,5 g/60 ml). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 86%.

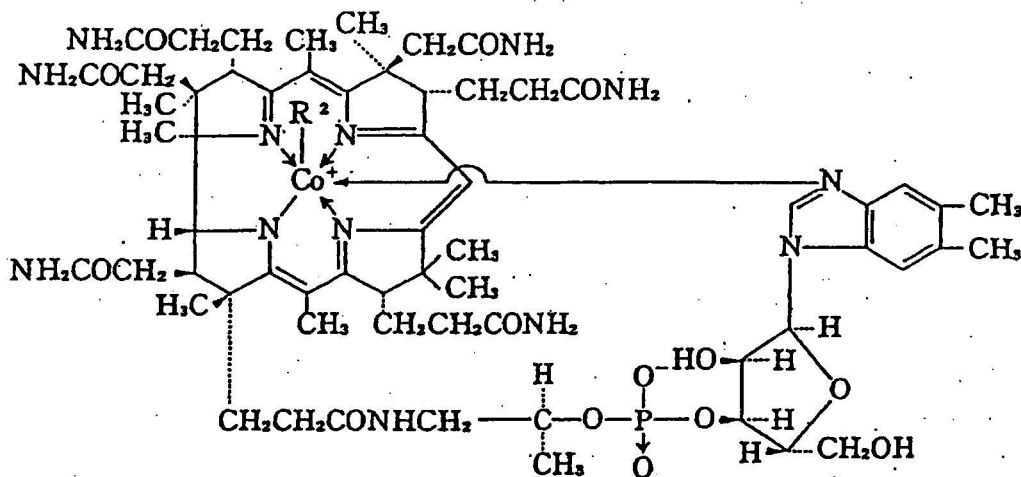
#### Ejemplo 9 Síntesis de Metilcobalamina

Todos los procedimientos en el presente ejemplo se llevaron a cabo en la oscuridad (bajo luz roja).

A 13 l de agua procedente de intercambio iónico se añadieron 1 kg de cianocobalamina, 70 g de cloruro de cobalto hexahidratado y 750 ml de 2-butanona. Después de reemplazar la atmósfera interna del sistema con nitrógeno gas, la mezcla se calentó en un baño de agua, a la cual se añadió una solución acuosa de borohidruro de sodio (400 g/2 l) gota a gota mientras se mantenía y agitaba a la temperatura interna de 35 °C ± 65 °C durante 120 minutos. Se añadió seguidamente a la misma durante 30 minutos una solución acuosa de bromuro de trimetilsulfoxonio (383 g/2 l). La mezcla se agitó durante otras 3 horas tal como estaba, seguido de agitación durante una noche a una temperatura de baño de 15 °C. Los precipitados resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando un producto bruto del compuesto del epígrafe. Al producto bruto se añadió una solución acuosa de acetona al 50 %. Después de calentar a 35 °C, se ajustó la mezcla hasta pH 7,0 con ácido clorhídrico concentrado. A continuación, se añadió acetona a la misma gota a gota y la mezcla se agitó durante una noche. Los cristales precipitados se recogieron por filtración y se secaron, dando el compuesto del epígrafe en un rendimiento de 87%.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir metilcobalamina (V), que comprende las etapas de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) representada por la fórmula siguiente:



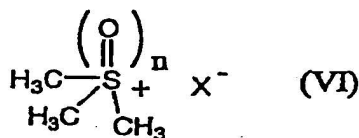
5

R<sup>2</sup>=CN: Cianocobalamina (I)

R<sup>2</sup>=OH: Hidroxocobalamina (II)

10 R<sup>2</sup>=CH<sub>3</sub>: Metilcobalamina (V)

en presencia de borohidruro de sodio como un agente reductor; y, a continuación, metilar el reductor añadiendo un derivado de trimetilazufre (VI) representado por la fórmula siguiente:



15

en la que X es un átomo de halógeno o un grupo metoxisulfoniloxi, y n es 0 o 1.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa de reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) se lleva a cabo en una solución acuosa o un disolvente orgánico hidratado.

20

3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el producto de reacción de la etapa de metilación es precipitado como cristales o precipitados.

25

4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la etapa reducir cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II) se lleva a cabo en presencia de un aceptor de iones cianuro.

30

5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el derivado de trimetilazufre (VI) es yoduro de trimetilsulfoxonio, yoduro de trimetilsulfonio, bromuro de trimetilsulfoxonio, bromuro de trimetilsulfonio, cloruro de trimetilsulfoxonio y/o cloruro de trimetilsulfonio.

35

6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en el que el aceptor de iones cianuro es sulfato ferroso y/o cloruro de cobalto.

7. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en el que la cantidad de aceptor de iones cianuro varía de 1 a 30 % en peso relativa a cianocobalamina (I) o hidroxicobalamina (II).

35