

408279



408279

P.- 52.304
AA-OBE 259

MEMORIA DESCRIPTIVA

Int. Cl.: C07F // A61K

para solicitar PATENTE DE INVENCION por VEINTE años

a nombre de L'OPOCHIMIE

sociedad anónima monegasca.

con domicilio en Immeuble Industriel "L'Hercule", Rue
de l'Industrie, Fontvieille, Principado
de Mónaco.

por: "PROCEDIMIENTO DE FABRICACION DE LA METILCOBALAMINA
POR REDUCCION Y METILACION DE LA HIDROXOCOBALAMINA"
(Clase Internacional C07g)

Prioridad reivindicada: Francia, 10 de Noviembre de
1.971, N° 7140 233.

25.10.72

408279

P - 52.304

AA - OBE

259



La presente invención concierne a un procedimiento que permite fabricar industrialmente la metilcobalamina a partir de la hidroxocobalamina.

5 Se conoce la metilcobalamina, y se sabe que este producto deriva de la cianocobalamina o de la hidroxocobalamina por reemplazamiento del grupo ciano (CN) o hidroxilo (OH) por un grupo metilo (CH_3). Se sabe también que estas cobalaminas se utilizan en terapéutica para los tratamientos que justifican la administración de vitamina B 12.

10 Se conoce igualmente un procedimiento de fabricación de la metilcobalamina. En este procedimiento conocido, se reducen la cianocobalamina (vitamina B 12) o la hidroxocobalamina (vitamina B 12b) para obtener la cobalamina reducida (B 12s). Esta reducción es efectuada por medio
15 del hidruro doble de boro y de sodio en una atmósfera exenta de oxígeno, después se hace reaccionar sobre esta cobalamina reducida (B 12s), oxalato de metilo o yoduro de metilo para fijar el grupo metilo sobre el cobalto de la cobalamina reducida B 12s.

20 Se sabe que la estabilidad de la cobalamina

13.10.72

- 2 -

408279



reducida B 12s es escasa, y durante la reacción de reducción y especialmente antes de la fijación del grupo metilo, se produce una transformación parcial de la cobalamina B 12s en cobalamina B 12r que es una cobalamina menos reducida que la cobalamina B 12s y que no es susceptible ya de
5 fijar un grupo metilo.

Para evitar este importante inconveniente que afecta al rendimiento en metilcobalamina, es necesario utilizar cantidades en exceso de reductores y se tropieza entonces con otro inconveniente, puesto que se corre el riesgo en este caso de atacar de manera irreversible la molécula de cobalamina formando productos de degradación perjudiciales para la pureza y para el rendimiento del producto deseado.
10

El procedimiento de acuerdo con la presente invención, tiene por objeto remediar los inconvenientes del procedimiento anteriormente citado permitiendo realizar la transformación de la hidroxocobalamina en metilcobalamina en condiciones óptimas, limitando considerablemente el riesgo de producción de formas reducidas de cobalaminas no susceptibles de fijar un grupo metilo o de productos de degradación de la cobalamina.
15
20

Según la invención, el procedimiento de preparación de la metilcobalamina por reducción y metilación de la hidroxocobalamina se caracteriza porque esta reducción y
25

13.10.72

408279

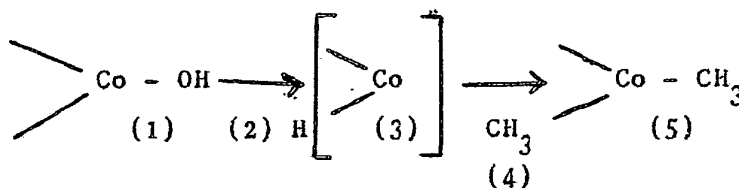


1972

esta metilación se efectúan simultáneamente en el seno de una solución hidroalcohólica de hidroxocobalamina, por acción de un monoéster metílico de un diácido carboxílico en presencia de polvo metálico.

5 Este procedimiento permite realizar al mismo tiempo y en el seno de la misma solución, la reducción y la metilación. Esta manera de proceder limita considerablemente la duración de existencia de la cobalamina reducida, puesto que ésta se metila a medida que se forma.

10 El procedimiento conforme a la invención se puede representar por el esquema siguiente:



15 donde (1) representa la hidroxocobalamina, (2) el hidrógeno naciente producido por acción de la función ácido libre del monoéster metílico del diácido carboxílico sobre el polvo metálico, (3) representa la cobalamina reducida que es metilada
 20 inmediatamente por el grupo CH₃ (4) procedente del monoéster metílico para formar la metilcobalamina (5). Se demostrará más adelante que la cobalamina reducida (3) no se identifica en el medio de reacción; por tanto, ésta tiene una duración de vida muy corta.

25 Según una versión preferida del procedimiento

408279



conforme a la invención, el monoéster metílico del diácido carboxílico utilizado es el oxalato ácido de metilo, y el polvo metálico es polvo de zinc.

5 La función ácido libre del oxalato ácido de metilo libera hidrógeno naciente por reacción con el polvo de zinc, y su grupo metilo es fácilmente liberado en medio reductor.

10 Según otra versión preferida del procedimiento conforme a la invención, la reducción y la metilación se efectúan en presencia de sales de cobalto orgánicas o inorgánicas, tales como el cloruro de cobalto, el nitrato de cobalto y el oxalato de cobalto.

15 Estas sales de cobalto catalizan la reacción y, más particularmente, regularizan el r_H del medio de reacción. De este modo se regulariza la reducción.

20 Se pueden utilizar, por ejemplo, el cloruro o el oxalato de cobalto. Preferiblemente, la solución en agua y metanol de la hidroxocobalamina contiene de 5 a 20% en volumen de agua.

 Esta presencia de agua facilita el ataque del polvo de zinc por el oxalato ácido de metilo.

25 Operando según el procedimiento conforme a la invención para soluciones que contengan aproximadamente 50 g de hidroxocobalamina por litro de metanol, se transforma casi

408279



cuantitativamente la hidroxocobalamina en metilcobalamina en menos de 20 minutos. La evolución de la reacción puede seguirse con el espectrofotómetro.

Si se deja que prosiga la reacción más allá
5 de los 20 minutos, hasta una hora y media por ejemplo, los registros espectrofotométricos no revelan ninguna modificación notable de la metilcobalamina formada. Por tanto, no hay riesgo alguno de destrucción de la molécula de metilco-

10 Se puede seguir visualmente la evolución de la reacción de reducción de la hidroxocobalamina y de su metilación. La solución, que inicialmente es de color rojo, se vuelve violácea, y más tarde de color castaño, estabilizándose en esta última coloración.

15 La coloración azul-verde anunciada en el procedimiento de fabricación anteriormente conocido de la metilcobalamina, atribuida a la formación de la cobalamina reducida B12s no aparece en este caso, lo que constituye una prueba efectiva de que este compuesto tiene, en el presente proce-
20 dimiento, una duración de vida muy corta, metilándose a medida que se forma.

Según una versión ventajosa de la invención, la metilcobalamina formada se precipita por adición de 3 a 5 volúmenes de acetona.

25 Con preferencia, el precipitado de metilco-

408279

-4



5 balamina recogido se disuelve en un mínimo de agua, se
adiciona luego una base fuerte hasta un pH igual a 9 apro-
ximadamente, se filtra, se añaden al filtrado recogido de
6 a 8 volúmenes de acetona y se deja cristalizar la solu-
ción obtenida.

La adición de esta base fuerte hace que precipi-
ten las sales de zinc o de cobalto que habrían podido quedar
en solución.

10 La metilcobalamina así obtenida puede ponerse
de nuevo en solución y hacerse pasar seguidamente a través
de una resina cambiadora de iones para eliminar las trazas
eventuales de hidroxocobalamina, de clorhidrato o de oxalato
de cobalamina que pudiera contener.

15 Después de esta purificación, la metilcobala-
mina se puede recrystalizar en acetona.

20 Se puede caracterizar la metilcobalamina pre-
parada según el procedimiento de acuerdo con la invención, com-
parando la resistividad de una suspensión concentrada de me-
tilcobalamina en agua desmineralizada con la resistividad de
esta última, lo que permite enjuiciar el contenido en iones
de la metilcobalamina preparada.

25 La metilcobalamina se puede identificar igual-
mente por espectrofotometría. El espectro de absorción de
una solución neutra o básica de metilcobalamina presenta má-
ximos a las longitudes de onda siguientes:

408279-4



267, 343 y 525 milimicras.

Las relaciones de las absorbancias a 267 milimicras y 525 milimicras referidas a la absorbancia a 343 milimicras son respectivamente iguales a 1,4 y 0,65, siendo la
5 absorbancia de una solución que contenga 100 gammas de metilcobalamina por cm^3 igual a 146-267 milimicras.

El espectro de absorción de una solución ácida de metilcobalamina es diferente. Los máximos de absorción se sitúan a 300 y 470 milimicras. Además, las soluciones neutras
10 o básicas de metilcobalamina tienen color rosado, en tanto que las soluciones ácidas son amarillas.

Se dan a continuación algunos ejemplos de modos operatorios que ilustran el procedimiento de fabricación de la metilcobalamina conforme a la invención.

15

EJEMPLO I

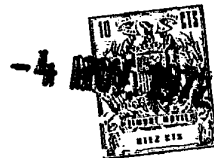
Se disuelve 1 g de hidroxocobalamina en 20 cm^3 de metanol y 2 cm^3 de agua.

Se añaden a esta solución 5 g de oxalato ácido
20 de metilo. Se agita hasta disolución completa, y se añaden luego 0,5 g de cloruro de cobalto y 4 g de zinc en polvo fino.

Se prosigue la agitación durante una hora, y se filtra luego la solución para eliminar el zinc o las sales de zinc insolubles contenidas en el medio de reacción.

25 Se añaden 80 cm^3 de acetona para precipitar la

408279 -4



metilcobalamina y se deja proseguir la precipitación durante 12 horas, en frío.

5 Se filtra sobre vidrio sinterizado y se pone nuevamente en solución el precipitado recogido en 25 cm³ de agua, añadiéndose luego 200 cm³ de acetona. Se deja cristalizar en frío esta solución, durante 12 horas. Los cristales recogidos después de filtrar se lavan con acetona y se secan luego a vacío a la temperatura ambiente.

10 Se obtienen así 0,7 g de metilcobalamina que da una solución de color rosado en medio neutro o básico, y una solución amarilla en medio ácido.

15 La figura única representa los registros espectrofotométricos obtenidos, siendo la curva 1 el espectro de absorción obtenido en medio neutro o básico, y correspondiendo la curva 2 al espectro obtenido en medio ácido. Los máximos de absorción se sitúan aproximadamente en las longitudes de onda iguales a aproximadamente 520, 343 y 267 milimicras, en el caso de una solución neutra o básica de metilcobalamina.

20 Se puede comprobar igualmente que las relaciones de las absorbancias a 267 milimicras y 525 milimicras referidas a la absorbancia a 343 milimicras son respectivamente, iguales a 1,43 y 0,63.

25 Además, se puede comprobar la ausencia de hidroxocobalamina en la solución de metilcobalamina por

408279



la inexistencia del escalón tamponado entre pH 4 y pH 9 que caracteriza una solución de hidroxocobalamina.

EJEMPLO II

5 Se disuelven 10 g de hidroxocobalamina en 200 cm³ de metanol y 15 cm³ de agua.

 Se añaden a esta solución 45 g de oxalato ácido de metilo y se agita hasta disolución completa, añadiéndose luego 4 g de cloruro de cobalto y 35 g de zinc
10 en polvo fino.

 Se prosigue la agitación durante 1 hora, y luego se filtra la solución para eliminar el zinc o las sales de zinc insolubles en el medio de reacción.

 Se añaden al filtrado 4 volúmenes de acetona
15 con agitación para precipitar la metilcobalamina, y se deja que prosiga la precipitación durante 4 horas, en frío.

 Se filtra sobre embudo Buchner y se disuelve nuevamente el precipitado recogido en una cantidad mínima de agua.

20 Se añade a esta solución, lentamente con arreglo al pH, sosa 5N hasta la obtención de un pH igual a 9,2 con objeto de precipitar en forma de hidróxidos el zinc o el cobalto que habrían podido quedar en solución.

 Se deja reposar en frío durante dos horas
25 y se filtra sobre embudo Buchner.

408279-4



Se añaden al filtrado 2 litros de acetona, y se deja que cristalice en frío esta solución durante 4 horas.

5 Los cristales recogidos después de la filtración, se lavan con acetona y éter, y luego se secan a vacío a la temperatura ambiente.

Se obtienen así 8,5 g de metilcobalamina que contiene 17% de humedad.

10 Se controla el producto obtenido midiendo la resistividad de una solución de agua desmineralizada con 5000 gammas de metilcobalamina por cm^3 .

15 La resistividad encontrada es superior a 10000 ohms/cm. Este resultado demuestra que no existen iones en solución que puedan proceder particularmente del zinc o del cobalto que se han introducido en el medio de reacción.

20 La solución arriba indicada, diluida a 50 gammas de metilcobalamina por cm^3 , presenta máximos de absorción en espectro-fotometría a 267, 343 y 520 milimicras, correspondientes a los obtenidos para la metilcobalamina pura.

Como lo atestiguan los ejemplos anteriores, el procedimiento de fabricación de la metilcobalamina conforme a la invención es de puesta en práctica particularmente sencilla.

25 La metilcobalamina pura se obtiene gracias

408279



a una reducción perfectamente controlada de la hidroxocobalamina, utilizando un reactivo, el oxalato ácido de metilo, que desempeña una doble función, siendo a la vez el ácido capaz de liberar hidrógeno naciente por reacción con el polvo de zinc, y el agente capaz de liberar el grupo metilo para ser fijado sobre la cobalamina reducida.

La cobalamina reducida se metila, así pues, a medida que se forma, lo cual evita a la vez una reducción excesiva o, por el contrario, la formación de una cobalamina menos reducida que no sea susceptible ya de fijar el grupo metilo.

El procedimiento, que se lleva a cabo por tanto en una sola etapa, es por consiguiente muy rápido y permite la obtención de un producto muy puro.

13.10.72

- 12 -

408279-4



REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento de fabricación de la metilcobalamina por reducción y metilación de la hidroxocobalamina, caracterizado por el hecho de que esta reducción y esta metilación se efectúan simultáneamente en el seno de una solución hidroalcohólica de hidroxocobalamina por acción de un monoéster metílico de un diácido carboxílico en presencia de polvo metálico.

2.- Procedimiento conforme a la reivindicación 1, caracterizado porque el monoéster metílico de un diácido dicarboxílico utilizado es el oxalato ácido de metilo, y por el hecho de que el polvo metálico es polvo de zinc.

3.- Procedimiento conforme a la reivindicación 1, caracterizado porque la reducción y la metilación se efectúan en presencia de sales orgánicas o inorgánicas de cobalto.

4.- Procedimiento conforme a la reivindicación 1, caracterizado porque la solución hidroalcohólica de hidroxocobalamina contiene metanol y de 5 a 20% en volumen de agua.

5.- Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la metilcobalamina formada se precipita por adición de 3 a 5 volúmenes de acetona.

13.10.72

- 13 -

408279-4



6.- Procedimiento conforme a la reivindicación
5, caracterizado porque el precipitado de metilcobalamina
recogido se vuelve a disolver en una cantidad mínima de
agua, y se añade luego al mismo una base fuerte hasta un
5 pH aproximadamente igual a 9, se filtra, se adicionan al
filtrado recogido de 6 a 8 volúmenes de acetona, y se de-
ja cristalizar la solución obtenida.

7.- Procedimiento de fabricación de la metilco
balamina por reducción y metilación de la hidroxocobala-
10 mina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que
antecede, representado en los dibujos que se acompañan
y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de catorce hojas escritas
15 a máquina por una sola cara.

Madrid, -4 NOV, 1972
P.A.

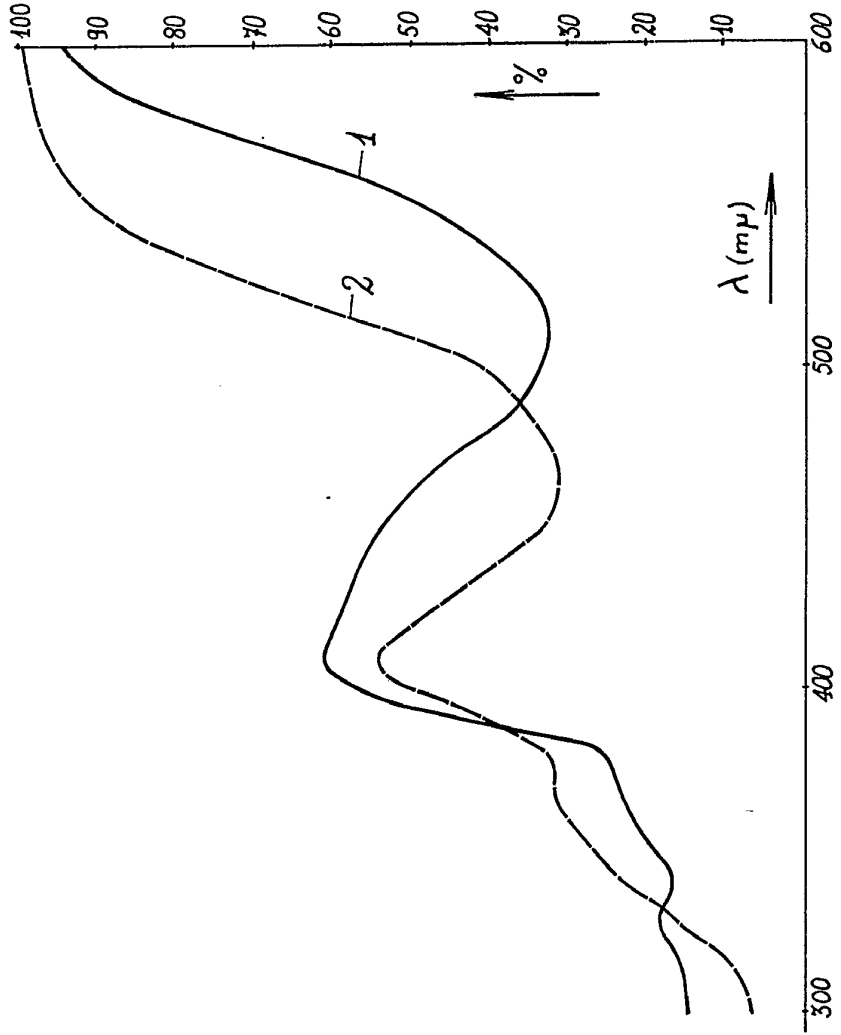
Alberio Cu...
Per Fedes

25.10.72
MCM

- 14 -

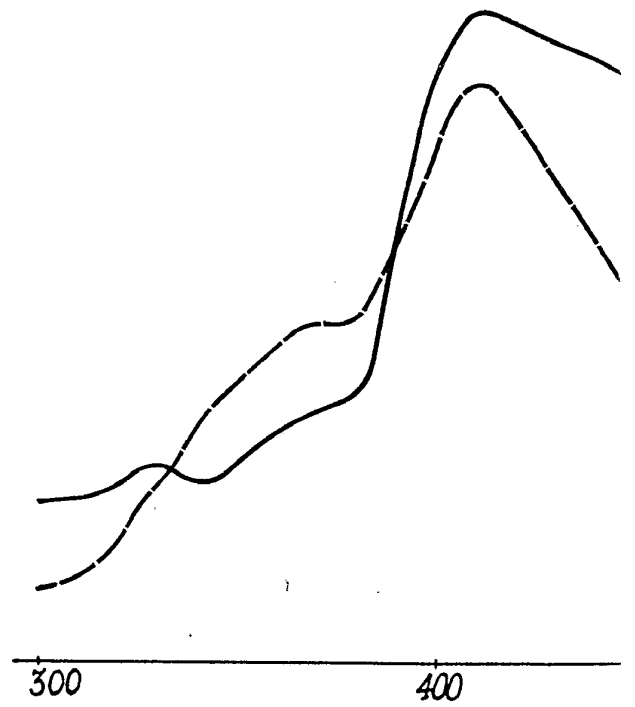
408279

408279

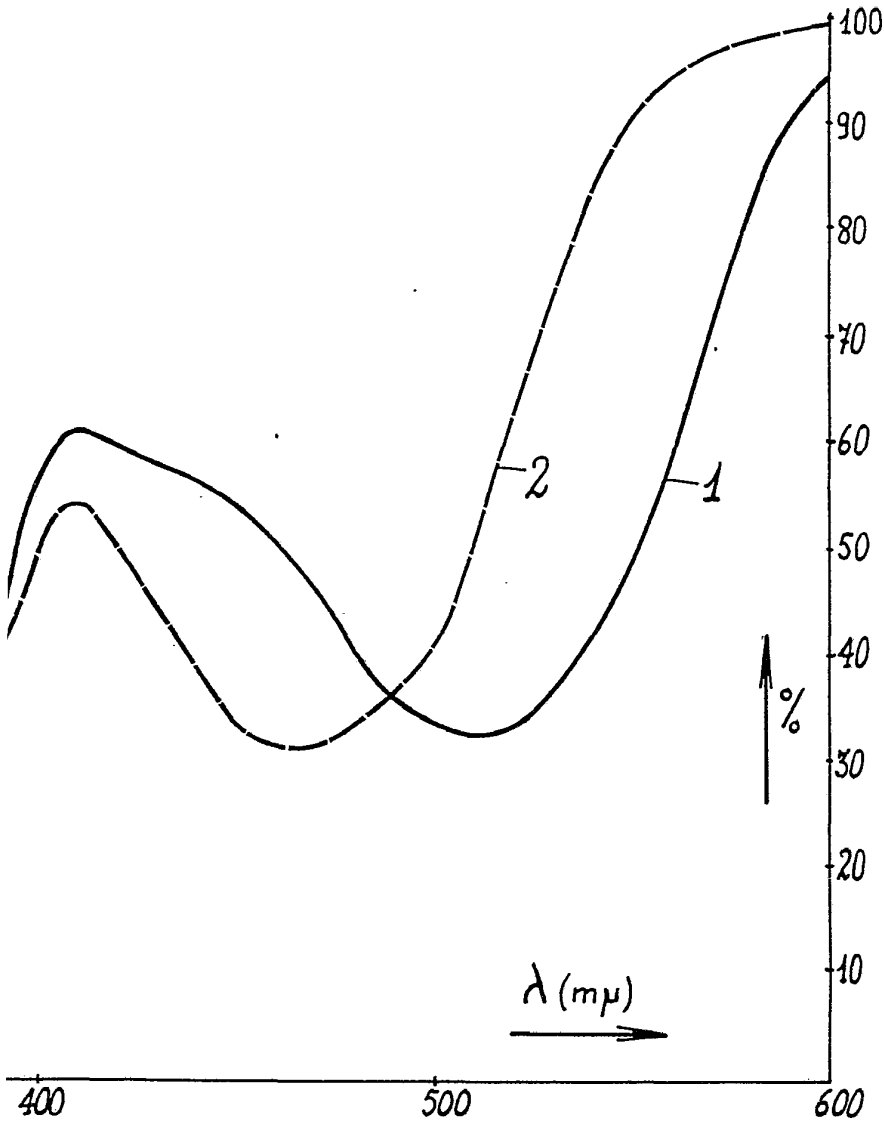


ANALYTICAL CHEMISTRY
Per Fodale
Per Fodale

408279



408279



Albert de lauzere
Per Foucault