

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07H 23/00 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02811351.9

[45] 授权公告日 2007 年 12 月 5 日

[11] 授权公告号 CN 100352829C

[22] 申请日 2002.6.4 [21] 申请号 02811351.9

[30] 优先权

[32] 2001.6.5 [33] JP [31] 169107/2001

[86] 国际申请 PCT/JP2002/005510 2002.6.4

[87] 国际公布 WO2002/098896 日 2002.12.12

[85] 进入国家阶段日期 2003.12.5

[73] 专利权人 卫材 R&D 管理有限公司

地址 日本东京都

[72] 发明人 久武义彦 田中卓扶 鹤来外美雄
黑田浩史

[56] 参考文献

CN1061886A 1992.6.17

GB1355899A 1974.6.5

US4141920 1979.2.27

JP45-38059B 1970.12.2

JP09143127A 1997.6.3

US5466816A 1995.11.14

US5225607A 1993.7.6

审查员 林琳

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄革生 隗永良

权利要求书 2 页 说明书 14 页

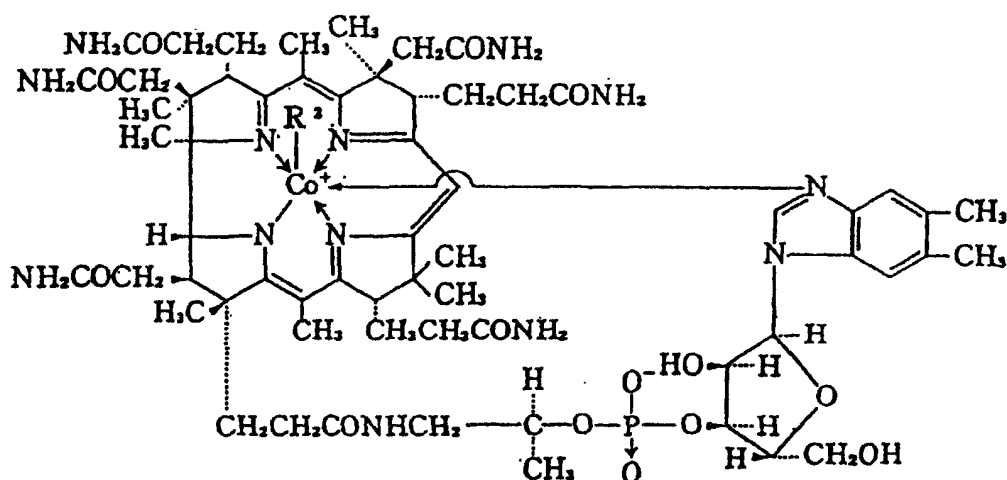
[54] 发明名称

制备甲基钴胺素的方法

[57] 摘要

本发明提供了一种新的、优异的制备可用作药物等的甲基钴胺素的方法，其适合于工业生产并符合生态学的要求。更具体地讲，本发明提供了通过在还原剂存在下将氰钴胺素或羟钴胺素还原、然后加入水溶性甲基化试剂使还原产物甲基化而制备甲基钴胺素的方法。

1. 制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括以下步骤: 在还原剂硼氢化钠存在下将以下通式所表示的氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 还原,

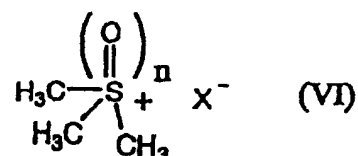


$R^2 = \text{CN}$: 氰钴胺素 (I)

$R^2 = \text{OH}$: 羟钴胺素 (II)

$R^2 = \text{CH}_3$: 甲基钴胺素 (V)

然后通过加入以下通式所表示的水溶性甲基化试剂三甲基硫衍生物 (VI) 将还原产物甲基化,



其中 X 为卤原子或甲氧基磺酰氧基; 且 n 为 0 或 1。

2. 根据权利要求 1 的制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在所述还原剂存在下于水溶液或含水有机溶剂中将所述氰钴胺素 (I) 或所述羟钴胺素 (II) 还原的步骤。

3. 根据权利要求 1 的制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在所述还原剂存在下于水溶液或含水有机溶剂中将所述氰钴胺素 (I) 或所述羟钴胺素 (II) 还原, 最后将所述甲基化反应产物以结晶或沉淀形式析出的步骤。

4. 根据权利要求 1 的制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在氰根离

子清除剂和所述还原剂存在于水溶液或含水有机溶剂中将所述氰钴胺素(I)或所述羟钴胺素(II)还原,最后将所述甲基化反应产物以结晶或沉淀的形式析出的步骤。

5. 权利要求1至4中任一项的制备甲基钴胺素(V)的方法,其中的三甲基硫衍生物(VI)为碘化三甲基氧化铈、三甲基碘化铈、溴化三甲基氧化铈、三甲基溴化铈、氯化三甲基氧化铈和/或三甲基氯化铈。

6. 权利要求4的制备甲基钴胺素(V)的方法,其中的氰根离子清除剂为硫酸亚铁和/或氯化钴。

7. 权利要求4或6的制备甲基钴胺素(V)的方法,其中的氰根离子清除剂的量相对于氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)以重量计为1至30%。

制备甲基钴胺素的方法

技术领域

本发明涉及一种优异的制备甲基钴胺素的工业化方法。特别地，本发明还涉及一种新的不会生成具有恶臭的有害物质且符合生态学要求的制备方法，以及在制备甲基钴胺素（V）的过程中抑制这种具有恶臭的有害物质生成的方法。

现有技术

甲基钴胺素是一种存在于血液和脊髓液中的辅酶型维生素 B12。与其它 B12 同系物相比，其可更容易地迁移进入神经组织，并可用于预防、治疗和改善糖尿病性神经病变、多神经炎以及其它周围神经病，尤其是麻木、疼痛和麻痹，也可用于由于缺乏维生素 B12 所导致的幼巨红细胞贫血。

通常，按照以下制备方法制备甲基钴胺素：

- （1）使羟钴胺素与二羧酸单甲酯在金属粉末存在下反应的方法（JP-A 49-47899）；
- （2）使氰钴胺素与草酸单甲酯在金属粉末存在下于含水甲醇中反应的方法（JP-A 50-41900）；
- （3）使羟钴胺素与碘化甲基汞或甲基六氟硅酸铵反应的方法（JP-A 50-38120）；和
- （4）使氰钴胺素与碘代甲烷在硼氢化钠存在下反应的方法（JP-A 45-38059）。

但是，方法（1）和（2）中使用的二羧酸单甲酯如草酸单甲酯，不能从商业途径获得，必须在使用前制备并且不能用于大规模生产。此外，用作金属粉末的锌粉是一种重金属，必须采取措施以保护环境并防止其污染产品，并且其不适于工业化应用。

在方法(3)中所使用的碘化甲基汞是一种污染物,不能在工业上使用。此外,甲基六氟硅酸铵不能从商业途径获得,必须在使用前制备,因此不能在工业上使用。

相比之下,制备方法(4)在收率和产品纯度方面都很优异。但是,碘代甲烷的沸点很低(41℃至43℃),因而不易操作。因此,该方法不足以作为用于大规模生产的工业方法。此外,从保护工作环境或自然环境的角度考虑,使用被列为特殊化学物质并具有毒性如潜在致癌性的碘代甲烷对于保护工人的健康也是决不可取的。为了在使用碘代甲烷的方法中获得高纯度的甲基钴胺素,通常需要进行一次或多次柱层析纯化步骤,从而在操作和生产成本方面带来严重的问题。此外,柱层析纯化需要大量的有机溶剂并可产生大量的废液。

根据以上所述,目前还没有优异的制备甲基钴胺素的工业化方法,因此需要一种新的优异的方法。

因此,本发明的目的是提供一种优异的制备甲基钴胺素的工业化方法,特别是制备甲基钴胺素的新方法,所述方法不需要使用碘代甲烷和柱层析纯化步骤,符合生态学的要求。本发明的另一个目的是提供一种新的不会引起具有恶臭的有害物质生成且符合生态学要求的制备方法,以及在甲基钴胺素(V)的制备过程中抑制具有恶臭的有害物质生成的方法。

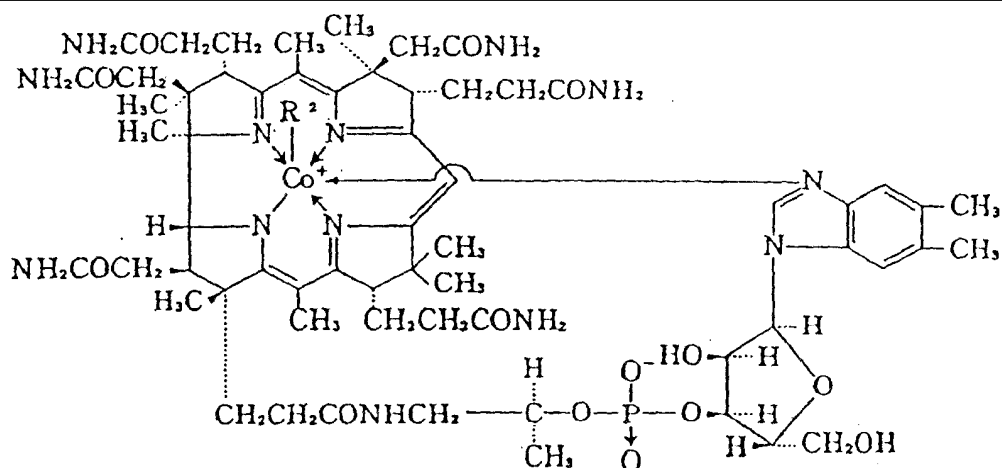
发明内容

一方面,本发明提供了以下反应式所表示的制备甲基钴胺素的方法,其包括还原步骤和甲基化步骤。

还原步骤: 钴胺素-CN 或 钴胺素-OH $\longrightarrow$ 钴胺素

甲基化步骤: 钴胺素 $\longrightarrow$ 钴胺素-CH₃

具体地讲,本发明提供了制备甲基钴胺素(V)的方法,其包括在还原剂(III)存在下将以下通式所表示的氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)还原、然后通过加入水溶性甲基化试剂(IV)将还原产物甲基化的步骤。



$R^2 = \text{CN}$: 氰钴胺素 (I)

$R^2 = \text{OH}$: 羟钴胺素 (II)

$R^3 = \text{CH}_3$: 甲基钴胺素 (V)

另一方面, 本发明提供了制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在还原剂 (III) 存在下于水溶液或含水有机溶剂中将氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 还原、然后通过加入水溶性甲基化试剂 (IV) 将还原产物甲基化的步骤。

本发明还提供了制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在还原剂 (III) 存在下于水溶液或含水有机溶剂中将氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 还原、加入水溶性甲基化试剂 (IV) 将还原产物甲基化、然后将反应产物以结晶或沉淀形式析出的步骤。

另一方面, 本发明还提供了制备甲基钴胺素 (V) 的方法, 其包括在氰根离子清除剂和还原剂 (III) 存在下于水溶液或含水有机溶剂中将氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 还原、加入水溶性甲基化试剂 (IV) 将还原产物甲基化、然后将反应产物以结晶或沉淀形式析出的步骤。

此外, 本发明提供了在使用三甲基硫衍生物 (VI) 作为甲基化试剂制备甲基钴胺素 (V) 的过程中抑制具有恶臭的甲硫醚生成的方法, 其包括在还原剂 (III) 存在下将氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 还原、然后加入碘化三甲基氧化铈、溴化三甲基氧化铈和/或氯化三甲基氧化铈将还原产物甲基化的步骤。

根据本发明，将还原剂和水溶性甲基化试剂在不同的时间分别加入至反应体系中。具体而言，在还原步骤中，将还原剂加入至反应体系中从而使氰钴胺素（I）或羟钴胺素（II）转化为还原产物。在还原步骤之后，将水溶性甲基化试剂加入至反应体系中从而制得甲基钴胺素。在还原步骤中，氰钴胺素（I）或羟钴胺素（II）是否被转化为还原产物通常可以由氰钴胺素（I）或羟钴胺素（II）在分离分析中例如在高效液相色谱中是否消失来判别。由还原剂的作用而导致的氢的生成的停止，表明还原步骤已完成。

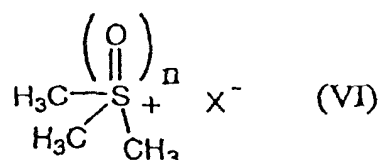
本发明中涉及的氰钴胺素（I）、羟钴胺素（II）和甲基钴胺素（V）是已知的天然的化合物。

氰钴胺素（CAS 登记号：68-19-9）

羟钴胺素（CAS 登记号：13422-51-0）

甲基钴胺素（CAS 登记号：13422-55-4）

对用于本发明的水溶性甲基化试剂没有具体的限制，只要其于室温下在水中具有 2% 或更大的溶解度即可，其包括例如以下通式所表示的三甲基硫衍生物（VI）。在该通式中，X 为卤原子或甲氧基磺酰氧基；且 n 为 0 或 1。



三甲基硫衍生物（VI）的例子包括但不限于以下化合物：

- （1）碘化三甲基氧化硫（CAS 登记号：1774-47-6）
- （2）三甲基碘化硫（CAS 登记号：2181-42-2）
- （3）氯化三甲基氧化硫（CAS 登记号：5034-06-0）
- （4）三甲基氯化硫（CAS 登记号：3086-29-1）
- （5）溴化三甲基氧化硫（CAS 登记号：3084-53-5）
- （6）三甲基溴化硫（CAS 登记号：25596-24-1）
- （7）三甲基硫甲基硫酸盐（CAS 登记号：2181-44-4）

所有这些化合物都是已知物质。其中，碘化三甲基氧化铊、三甲基碘化铊、氯化三甲基氧化铊、溴化三甲基氧化铊和三甲基溴化铊均为以低成本可获得的试剂或工业原料。三甲基氯化铊可根据 B. Byrne 等人在 *Tetrahedron Lett.*, 27, 1233, 1986 中所述的方法容易地合成得到。

在三甲基硫衍生物 (VI) 中，溴化三甲基氧化铊、三甲基溴化铊、氯化三甲基氧化铊和三甲基氯化铊尤其可显示在水中的高溶解度，并且具有使用较小的量就可以以高收率得到高纯度的甲基钴胺素的特点。

对三甲基硫衍生物 (VI) 的量没有具体的限制，通常相对于氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 为 1.0 至 5 当量、优选 1.1 至 4.5 当量、更优选 1.2 至 4 当量。

对用于本发明的还原剂 (III) 没有具体的限制，只要其可用于氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 的合成即可，其包括例如硼氢化钠、硼氢化锂、 NaBH_3CN (氰基硼氢化钠) 和 Red-Al (双 (2-甲氧基乙氧基) 氢化铝钠)，其中优选硼氢化钠。

对还原剂 (III) 的量没有具体的限制，通常相对于氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 为 5 至 30 当量、优选 8 至 25 当量、更优选 10 至 20 当量。

本发明的特征之一是：具有与柱层析分离纯化的产品相当或更高纯度的甲基钴胺素可以以高收率方便地制得，其中使用氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II)，依次按顺序逐步进行还原步骤和随后的甲基化步骤，必要时以结晶或沉淀物的形式将几乎不溶于水的产品析出，并对所得物质进行分离和处理。在还原步骤中，氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 通常在还原剂 (III) 存在下于水溶液或含水有机溶剂中被还原。在甲基化步骤中，于还原步骤之后加入水溶性甲基化试剂 (IV) 从而将还原产物甲基化。

还原剂和水溶性甲基化试剂分别在不同的步骤中被加入到反应体系中。更具体地讲，在还原步骤中，加入还原剂以使氰钴胺素 (I) 或羟钴胺素 (II) 完全转化为还原产物。还原步骤完成后，向反应体系中加入水溶性甲基化试剂以生成甲基钴胺素。

本发明的另一个重要特征是：当使用三甲基硫衍生物中的碘化三甲基

氧化铊、溴化三甲基氧化铊和/或氯化三甲基氧化铊作为水溶性甲基化试剂时、依次按顺序逐步进行还原步骤和随后的甲基化步骤，可以抑制甲硫醚的生成。在还原步骤中，氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)通常在还原剂(III)存在下于水溶液或含水有机溶剂中被还原。在甲基化步骤中，于还原步骤后加入水溶性甲基化试剂(IV)从而将还原产物甲基化。

甲硫醚是一种具有恶臭的有害物质，且对工人和环境具有不良的作用。因此，根据刺激气体管理法(the Offensive Odor Control Law)，应对甲硫醚的排放进行严格的控制。

当作为水溶性甲基化试剂的三甲基硫衍生物与还原剂在反应体系中共存时，三甲基硫衍生物可被还原从而生成可污染大气环境的甲硫醚。根据本发明，首先用还原剂将氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)还原，并将其转化为还原产物。在该步骤完成之后，加入作为水溶性甲基化试剂的三甲基硫衍生物中的碘化三甲基氧化铊、溴化三甲基氧化铊和/或氯化三甲基氧化铊，从而将还原产物甲基化。这样，可以防止过度的还原过程，并可基本上完全抑制甲硫醚的生成。

当使用三甲基碘化铊、三甲基溴化铊和/或三甲基氯化铊作为水溶性甲基化试剂时，通过依次按顺序逐步进行还原步骤，其中氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)通常在还原剂(III)存在下于水溶液或含水有机溶剂中被还原，随后进行甲基化步骤，其中加入水溶性甲基化试剂(IV)将还原产物充分甲基化，虽可生成甲硫醚，但其生成量小于“其中甲基化试剂和还原剂共存于反应体系中的制备甲基钴胺素的方法”中的生成量。当甲基化试剂和还原剂共存于反应体系中时，必须过量加入甲基化试剂以使反应稳定，从而生成与过量的甲基化试剂相对应量的甲硫醚。相比之下，本发明的“通过分别依次进行还原步骤和随后的甲基化步骤”，没有生成由过量的甲基化试剂所衍生的甲硫醚，从而减少了甲硫醚的生成量。

通常，在反应过程中生成的甲硫醚常常通过 1) 氧化剂如次氯酸盐水溶液或 2) 有机溶剂如二甲基甲酰胺水溶液而被收集和除去。但是，技术 1) 为使用氧化剂的氧化反应，当废气中共存其它成分如氢气和氰化氢

时，作用繁杂，需要进行复杂的控制。其还需要对用于收集废气的设施进行复杂的安装和管理。技术 2) 使生成的有机溶剂废液的量增加，由此带来环境问题并增加了处理废液所致的花费。

相比之下，本发明的制备甲基钴胺素的方法和抑制甲硫醚生成的方法本身可控制甲硫醚的生成，无需额外的设备和处理，是非常简便而有用的方法。

本发明的制备方法可以不使用或仅使用少量的金属离子作为氰根离子清除剂而以高收率制备高纯度的甲基钴胺素，并且由于不会产生将难以过滤的金属离子从体系中除去的问题，所述方法显示出极其优异的效果。

当使用碘代甲烷作为甲基化试剂时，通常将硫酸亚铁作为氰根离子清除剂与碘代甲烷一起使用。这种情况下，硫酸亚铁的量相对于氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)以重量计必须为 30% 或者更多。

然而，本发明可以以高收率制得高纯度的甲基钴胺素，是因为即使不使用硫酸亚铁作为氰根离子清除剂，甲基化反应依然可以进行。

当使用少量的硫酸亚铁作为氰根离子清除剂时，反应可以以更高的速度进行，并且即使通过与不使用硫酸亚铁时同样的后处理过程也可以以高收率制得高纯度的甲基钴胺素。同理，通过使用少量的氯化钴，可使甲基化反应以高选择性进行，从而抑制杂质的生成并且也可以以高收率制得高纯度的甲基钴胺素。

可提及的用于本发明的氰根离子清除剂的例子包括金属或金属盐如硫酸亚铁、铁粉、莫尔盐、氯化亚铁、氯化钴、氯化镍或氯化锌。其中，特别优选硫酸亚铁和/或氯化钴。这些金属和金属盐中的每一种都可以单独或组合使用。

氰根离子清除剂的用量可以很小且通常相对于氰钴胺素(I)或羟钴胺素(II)以重量计为 1 至 30%、优选 1 至 10%。

对反应溶剂的使用没有具体的限制。若使用反应溶剂，只要其对氰钴胺素(I)、羟钴胺素(II)、三甲基硫衍生物(VI)和甲基钴胺素(V)呈惰性外，无其它具体的限制。反应溶剂通常为水溶液或含水有机溶剂。有

机溶剂优选在水中可溶的溶剂，包括低级醇如甲醇、乙醇、丙醇、异丙醇、丁醇、异丁醇、仲丁醇或叔丁醇；酯类如甲酸甲酯、甲酸乙酯、乙酸甲酯、乙酸乙酯或乙酸异丙酯；酮类如丙酮、2-丁酮或3-甲基-2-丁酮；环醚类如THF或二氧杂环己烷；和乙腈、DMF、DMSO、吡啶以及这些有机溶剂的混合物。

对本发明中的还原步骤和甲基化步骤的反应温度没有具体的限制，通常为0℃至90℃、优选10℃至70℃、更优选15℃至50℃。

本发明中的还原步骤和甲基化步骤的反应优选在惰性气体流如氮气流和/或暗处（在红色光下）的条件下进行。但是，反应进程并不因此受到限制。

本发明可提供优异的制备甲基钴胺素的工业化方法；其还可提供新的优异的制备甲基钴胺素的工业化方法，所述方法不会生成具有恶臭的有害物质且符合生态学的要求；以及在制备甲基钴胺素的过程中抑制具有恶臭的有害物质生成的方法。以下将描述有关本发明优点的实施例。

本发明对具有恶臭的有害物质生成的抑制作用。

本发明的方法包括按顺序逐步进行还原步骤和随后的甲基化步骤。

在本发明的实施例1至3中（甲基化试剂：溴化三甲基氧化铈），在硼氢化钠水溶液滴加完毕后，立即按照以下方式每小时对反应罐中甲硫醚的浓度进行测定。具体而言，将甲硫醚经由玻璃管从反应罐引入作为吸收剂的50%DMF水溶液中，通过气液鼓泡使气体吸收，并通过毛细管气相色谱法测定吸收剂中所收集的甲硫醚的浓度（使用安捷伦公司制造的GC HP 6890毛细管气相色谱仪、DB-624柱进行毛细管气相色谱法分析。温度在50℃保持10分钟后，以每分钟15℃的速度升温至200℃。气体吸收温度为100℃，检测温度为215℃，进样量为1 μl。与此同时进行嗅觉测试）。

作为对照试验，在以下的“其中作为水溶性甲基化试剂的三甲基硫衍生物与还原剂共存于反应体系中的制备甲基钴胺素的方法”中，在滴加硼氢化钠水溶液完毕后，立即进行同样的每小时取样测定。

对照试验

向 260 ml 离子交换水中加入 20 g 氰钴胺素、7.66 g 溴化三甲基氧化铊、1.4 g 氯化钴六水合物和 15 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度为 40℃ 下、于 90 分钟内向其中滴加硼氢化钠水溶液 (8 g/40 ml)。保持状态继续搅拌 3 小时后，将该混合物在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集所得的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50 % 的丙酮水溶液，将混合物在 35℃ 下加热，并用浓盐酸调节 pH 值至 7.0，然后滴加丙酮并搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥。

各实施例中生成的甲硫醚的浓度见表 1。

表 1

滴加硼氢化钠后的 时间间隔	滴加完毕即刻	1 小时	2 小时	5 小时
实施例 1	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味
实施例 2	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味
实施例 3	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味	0 ppm 无味
对照实施例 1	62.4 ppm 恶臭	1250 ppm 恶臭	697 ppm 恶臭	

上行：甲硫醚的浓度

下行：嗅觉测试的结果

在实施例 1 至 3 中 (甲基化试剂：溴化三甲基氧化铊)，加入硼氢化钠后 1 小时、2 小时、3 小时和 5 小时，在嗅觉测试中没有检测到恶臭并且在气相色谱分析中没有检测到甲硫醚。相反，在水溶性甲基化试剂和还原剂

共存的对照试验中，加入硼氢化钠至少 3 小时后还能检测到恶臭和高浓度的甲硫醚。

这些结果表明：本发明的制备甲基钴胺素的方法、特别是“其中氰钴胺素（I）或羟钴胺素（II）在还原剂（III）存在下被还原，并在还原后加入碘化三甲基氧化铈、溴化三甲基氧化铈和/或氯化三甲基氧化铈，从而将还原产物甲基化”的制备方法，不会引起并且可以有效地抑制具有恶臭的有害物质的生成。

实施例

通过以下的实施例将对本发明进行详细地阐述，但这些实施例并不对本发明的范围进行限定。

实施例 1 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 65 ml 离子交换水中加入 5 g 氰钴胺素、0.35 g 氯化钴六水合物和 3.75 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、水浴温度 38℃ 下、于 60 分钟内向其中滴加硼氢化钠水溶液（2 g/10 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（1.9 g/10 ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集得到的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液，加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 85%。

所得甲基钴胺素的物理性质如下：

在盐酸缓冲液（pH 2.0）中，测得 UV_{max} 为 264 至 266 nm、303 至 307 nm 和 459 至 462 nm。

在磷酸盐缓冲液（pH 7.0）中，测得 UV_{max} 为 266 至 269 nm、341 至

344 nm 和 520 至 524 nm。

UV_{max} 参考值 (默克索引, 第十二版)

(0.1N 盐酸): 264、304 和 462 nm。

(pH 7): 266、342 和 522 nm。

实施例 2 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处 (红色光下) 进行。

向 260 ml 离子交换水中加入 20 g 氰钴胺素、1.4 g 氯化钴六水合物和 15 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后, 将混合物在水浴中加热, 并在搅拌状态下、体系内温度 40℃ 下、于 70 分钟内向其中滴加硼氢化钠水溶液 (8 g/40 ml)。保持状态继续搅拌 30 分钟后, 再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液 (7.66 g/40 ml)。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时, 随后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集生成的沉淀并使之干燥, 得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液, 加热至 35℃ 后, 用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0。然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥, 得到标题化合物, 收率 85%。

实施例 3 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处 (红色光下) 进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后, 将混合物在水浴中加热, 并在搅拌状态下、体系内温度 40℃ 下、于 2 小时内向其中滴加硼氢化钠水溶液 (12 g/60 ml)。保持状态继续搅拌 30 分钟后, 再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液 (11.5 g/60 ml)。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时, 然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集得到的沉淀并使之干燥, 得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液, 在加热至 35℃ 后, 用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0, 然后向其中滴加丙

酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 88%。

实施例 4 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 40℃ 下、于 2 小时向其中滴加硼氢化钠水溶液（12 g/60 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（11.5 g/60 ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集得到的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 87%。

实施例 5 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 50℃ 下、于 2 小时内向其中滴加硼氢化钠水溶液（12 g/60 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（11.5 g/60 ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集得到的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 88%。

实施例 6 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 50℃ 下、于 2 小时内向其中滴加硼氢化钠水溶液（12 g/60 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（11.5g/60ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集得到的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50 % 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 87%。

实施例 7 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 30℃ 下、于 2 小时内向其中滴加硼氢化钠水溶液（12 g/60 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（11.5 g/60 ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集生成的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50 % 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 85%。

实施例 8 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 390 ml 离子交换水中加入 30 g 氰钴胺素、2.1 g 氯化钴六水合物和 22.5 ml 2-丁酮。在以 15ml/min 的流速向体系中通入氮气的同时，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 30℃ 下、于 2 小时内向其中滴加硼氢化钠水溶液（12 g/60 ml）。保持状态继续搅拌 30 分钟后，再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（11.5 g/60 ml）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集生成的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 86%。

实施例 9 甲基钴胺素的合成

本实施例中的所有操作步骤均于暗处（红色光下）进行。

向 13 L 离子交换水中加入 1 kg 氰钴胺素、70 g 氯化钴六水合物和 750 ml 2-丁酮。以氮气置换出体系中的气体后，将混合物在水浴中加热，并在搅拌状态下、体系内温度 $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 下、于 120 分钟内向其中滴加硼氢化钠水溶液（400 g/2 L）。再于 30 分钟内向其中加入溴化三甲基氧化铈的水溶液（383 g/2 L）。将混合物保持状态继续搅拌 3 小时，然后在水浴温度 15℃ 下搅拌过夜。过滤收集生成的沉淀并使之干燥，得到标题化合物的粗品。向粗品中加入 50% 的丙酮水溶液，在加热至 35℃ 后，用浓盐酸将混合物的 pH 值调节至 7.0，然后向其中滴加丙酮并将混合物搅拌过夜。过滤收集沉淀的结晶并使之干燥，得到标题化合物，收率 87%。