



MINISTÈRE DES AFFAIRES ÉCONOMIQUES

N° 884.518

Classif. Internat.: C07C/C12P/A61K

Mis en lecture le: 28-01-1981

Le Ministre des Affaires Économiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;**Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle;**Vu le procès-verbal dressé le 28 juillet 1978 à 15 h. 50**au Service de la Propriété industrielle;*

ARRÊTE :

Article 1. — Il est délivré à la Sté dite : SANKYO COMPANY LIMITED,
1-6, 3-chome, Nihonbashi, Honcho, Chuo-Ku, Tokyo (Japon),

repr. par l'Office Kirkpatrick-G.C. Plucker à Bruxelles,

un brevet d'invention pour: Nouveaux dérivés de la monacoline K, leur
procédé de préparation et leur application en
thérapeutique,

qu'elle déclare avoir fait l'objet de demandes de brevet
déposées au Japon le 27 juillet 1979, n° 95814/79 et le
26 septembre 1979, n° 123461/79

Article 2. — Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et
périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit
de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.

Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention
(mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui
de sa demande de brevet.

Bruxelles, le 28 janvier 1981

PAR DÉLÉGATION SPÉCIALE:

Le Directeur

L. SALPETEUR

T. 40-D

A

00510

MÉMOIRE DESCRIPTIF

DÉPOSÉ A L'APPUI D'UNE DEMANDE

DE

BREVET D'INVENTION

FORMÉE PAR

SANKYO COMPANY LIMITED

p o u r

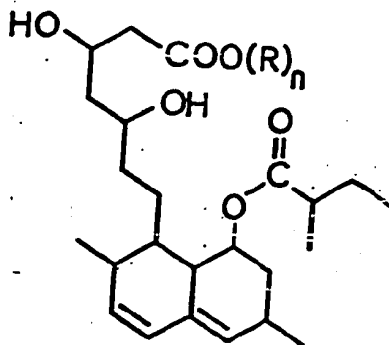
Nouveaux dérivés de la Monacoline K, leur procédé de préparation
et leur application en thérapeutique.

Demandes de brevets japonais n° 95814/79 du 27 juillet 1979
et n° 123461/79 du 26 septembre 1979 en sa faveur.

La présente invention concerne des sels et esters de l'acide libre correspondant à la lactone appelée Monacoline K, les procédés pour leur préparation et leur utilisation comme agents anti-hypercholestérolémiques.

5 La demande de brevet britannique n° 8 005 748, au nom de la présente Demanderesse, décrit la Monacoline K et sa préparation au moyen de microorganismes du genre Monascus, en particulier la souche 1005 (FERM 4822) de Monascus ruber. Cette demande britannique divulgue l'ac-
10 tivité précieuse et inattendue de la Monacoline K comme agent anti-hypercholestérolémique. La demande de brevet britannique ultérieure n° 8 007 240 décrit la préparation de la Monacoline K par culture de divers autres microorga-
15 nismes du genre Monascus. Il a maintenant été trouvé que les sels et les esters de l'acide libre, dont la Monacoline K est la lactone, présentent une activité anti-hypercholes-
térolemique du même type que la Monacoline K, à un degré comparable ou supérieur. Par souci de commodité, ces composés sont dénommés, dans le présent mémoire, "sels ou
20 esters de Monacoline K". Il est bien entendu que cette expression se réfère aux sels et esters de l'acide dont la Monacoline K est la lactone.

Les sels et esters de la Monacoline K objet de la présente invention répondent à la formule :



25 dans laquelle :

- R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué ou un atome de métal ; et

7

L'invention concerne aussi un procédé de préparation des sels et esters de la Monacoline K par salification ou estérification de la Monacoline A ou d'un dérivé réactif de celle-ci.

Les sels de Monacoline K auxquels la présente invention s'applique sont les sels métalliques et, de préférence, les sels des métaux alcalins, comme les sels de sodium ou de potassium, les sels de métaux alcalino-terreux comme les sels de calcium ou de magnésium, les sels des métaux du Groupe IIIa de la Classification périodique des éléments, comme le sel d'aluminium, et les sels des métaux de transition des Groupes Ib, IIb et VIII de la Classification périodique des éléments, comme les sels de fer, de nickel, de cobalt, de cuivre et de zinc. Parmi ces sels métalliques, les sels de métaux alcalins, les sels de métaux alcalino-terreux et le sel d'aluminium sont ceux que l'on préfère, les sels de sodium, de calcium et d'aluminium étant tout particulièrement appréciés.

Les sels de Monacoline K peuvent être facilement convertis en la Monacoline K elle-même, ou en l'acide correspondant à la Monacoline K, par acidification. La Monacoline K résultante ou l'acide correspondant peut être à nouveau transformé en un sel en présence d'une substance alcaline, par exemple un hydroxyde ou un carbonate de métal alcalin. Ces transformations peuvent être effectuées quantitativement, de manière répétée. Il a été trouvé que la transformation de la Monacoline K, ou de l'acide correspondant, en sel métallique ou réciproquement, est en relation étroite avec le pH du milieu contenant ces

substances. La valeur de pH déterminante est d'environ 5,0. Pourvu que des ions métal soient disponibles, la Monacoline K est toujours présente sous la forme d'un sel lorsque le pH est supérieur à 5,0. Par ailleurs, lorsque le pH est inférieur à 5,0, la Monacoline K elle-même, l'acide correspondant à la Monacoline K ou un mélange de ces deux substances en des proportions variables est alors présent.

Les esters de Monacoline K selon la présente invention sont ceux des composés de la formule précitée pour lesquels R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué. Lorsque R représente un groupe alkyle non substitué, celui-ci peut être un groupe à chaîne droite ou à chaîne ramifiée, ayant de préférence jusqu'à 8 atomes de carbone. Comme exemples de tels groupes alkyle représentés par R, on peut citer les groupes méthyle, éthyle, propyle, isopropyle, butyle et hexyle.

Lorsque R représente un groupe alkyle substitué, le substituant peut être choisi, comme il est bien connu dans cette technique, dans une gamme étendue de groupes et atomes, comprenant notamment les groupes aryle, les groupes acyle (en particulier les groupes arylcarbonyle), les groupes alcoxy, les atomes d'halogènes et les groupes hydroxy. Les substituants particulièrement préférés sont les groupes aryle et les groupes arylcarbonyle, c'est-à-dire ceux où R représente un groupe aralkyle ou un groupe aryl-carbonylalkyle.

Lorsque R représente un groupe aralkyle, celui-ci est de préférence un groupe benzyle substitué ou non substitué. Les groupes benzyle substitués comportent de préférence un ou plusieurs substituants choisis parmi les groupes alkyle, les groupes alcoxy et les atomes d'halogènes. Comme exemples de tels groupes benzyle, on peut citer les groupes benzyle, 2-méthylbenzyle, 3-méthylbenzyle, 4-méthylbenzyle, 2-éthylbenzyle, 3-éthylbenzyle, 4-éthylbenzyle, 2-méthoxybenzyle, 3-méthoxybenzyle, 4-méthoxybenzyle, 2-éthoxybenzyle, 3-éthoxybenzyle, 4-éthoxybenzyle, 2-chlorobenzyle, 3-chlorobenzyle, 4-chlorobenzyle, 2-bromobenzyle, 3-bromobenzyle ou 4-bromobenzyle.

Lorsque R représente un groupe arylcarbonylal-
 kyle, il s'agit de préférence d'un groupe phénacyle substitué ou non.
 Les groupes phénacyle substitués comportent de préférence
 un ou plusieurs substituants choisis parmi les groupes
 5 alkyle, les groupes alcoxy et les atomes d'halogène.
 Comme exemples de tels groupes phénacyle, on peut citer
 les groupes phénacyle, 2-méthylphénacyle, 3-méthylphénacyle,
 4-méthylphénacyle, 2-éthylphénacyle, 3-éthylphénacyle,
 4-éthylphénacyle, 2-méthoxyphénacyle, 3-méthoxyphénacyle,
 10 4-méthoxyphénacyle, 2-éthoxyphénacyle, 3-éthoxyphénacyle,
 4-éthoxyphénacyle, 2-chlorophénacyle, 3-chlorophénacyle,
 4-chlorophénacyle, 2-bromophénacyle, 3-bromophénacyle ou
 4-bromophénacyle.

Parmi les esters, les esters de méthyle, éthyle,
 15 butyle et benzyle sont particulièrement préférés.

Les sels et les esters de la Monacoline K selon
 la présente invention peuvent être facilement préparés
 par salification ou estérification de la Monacoline K elle-
 même ou d'un dérivé réactif de la Monacoline K. Des exem-
 20 ples de dérivés réactifs convenables comprennent l'acide
 correspondant à la Monacoline K et, dans le cas de la
 préparation des esters, les sels de Monacoline K (par
 exemple les classes de sels décrites plus haut, en parti-
 culier le sel de sodium, de potassium, de calcium, de
 25 magnésium, d'aluminium, de fer, de zinc, de cuivre, de
 nickel ou de cobalt).

Les sels de la Monacoline K peuvent être préparés
 par simple réaction de la Monacoline K ou de l'acide
 correspondant avec un oxyde, hydroxyde, carbonate ou
 30 bicarbonate, de préférence un hydroxyde ou carbonate du
 métal choisi. On doit prendre les mesures nécessaires pour
 que la réaction soit effectuée à une valeur de pH supé-
 rieure à 5,0 et de préférence à 7,0 pour assurer une
 conversion complète de la Monacoline K ou de l'acide cor-
 35 respondant en le sel désiré. La Monacoline K utilisée dans
 cette réaction est de préférence préparée comme décrit
 dans les demandes de brevet précitées, par culture d'un
 champignon du genre Monascus et isolement de la Monacoline
 K à partir du milieu de culture. La Monacoline K peut

être isolée du milieu de culture et purifiée avant salification ou, plus avantageusement, la réaction de salification est effectuée au cours de l'isolement et la purification de la Monacoline K à partir du milieu de culture, de sorte que la Monacoline K est isolée sous la forme de son sel de métal désiré. Quelque soit la méthode adoptée, le sel métallique peut être isolé du milieu de réaction ou du milieu de culture par des méthodes bien connues dans la technique y compris celles décrites ci-après en relation avec l'isolement des sels métalliques de la Monacoline K à partir de cultures de champignons producteurs de sels de Monacoline K.

Les esters de la Monacoline K peuvent être préparés par simple estérification de la Monacoline K ou d'un dérivé réactif de celle-ci. La réaction peut être effectuée en faisant réagir un alcool de formule ROH (ou un dérivé réactif de celui-ci), dans laquelle R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué, avec la Monacoline K ou l'acide correspondant, de préférence en présence d'un agent de déshydratation, par exemple un halogénure d'acide, comme le chlorure d'acétyle. Selon un autre mode de réalisation, les esters de la Monacoline K peuvent être préparés en faisant réagir un sel de la Monacoline K avec un halogénure de formule RX (dans laquelle R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué et X représente un atome d'halogène, de préférence un atome d'iode).

Il est aussi possible de préparer directement les sels de la Monacoline K par culture d'un microorganisme producteur de sel de Monacoline K, du genre Monascus. Des microorganismes convenables qui peuvent être utilisés dans ce procédé comprennent : Monascus anka SANK 10171 (IFO 6540) ; Monascus purpureus SANK 10271 (IFO 4513), Monascus ruber SANK 10671 (Ferm 4958) ; Monascus vitreus SANK 10960 (NIHS 609, e-609 ; Ferm 4960) ; Monascus paxii SANK 11172 (IFO 8201) ; Monascus ruber SANK 11272 (IFO 9203) ; Monascus ruber SANK 13778 (Ferm 4959) ; Monascus ruber SANK 15177

(Ferm 4956) ; Monascus ruber SANK 17075 (CBS 832.70) ;
Monascus ruber SANK 17175 (CBS 503.70) ; Monascus ruber
 SANK 17275 (ATCC 18199), et Monascus ruber SANK 18174
 (Ferm 4957). Tous ces microorganismes sont disponibles
 5 dans des collections reconnues de cultures, telles que
 désignées par les abréviations suivantes :

- IFO = Institute for Fermentation, Osaka, Japon ;
- Ferm = Fermentation Research Institute, Agency
 10 of Industrial Science and Technology,
 Ministry of International Trade and
 Industry, Japon ;
- NIHS = National Institute of Hygienic Sciences,
 Japon ;
- CBS = Centraal Bureau voor Schimmelcultures,
 15 Pays-Bas ;
- ATCC = American Type Culture Collection, Maryland,
 Etats-Unis d'Amérique.

Les souches préférées du genre Monascus qui peuvent
 être utilisées dans le procédé de l'invention, pour produire
 20 les sels de la Monacoline K, sont Monascus ruber SANK 10671,
Monascus ruber SANK 11272, Monascus ruber SANK 13778,
Monascus ruber SANK 15177 et Monascus ruber SANK 18174.
Monascus ruber SANK 10671, Monascus ruber SANK 13778,
Monascus ruber SANK 15177 et Monascus ruber SANK 18174
 25 sont tous des champignons récemment isolés du sol par la
 présente demanderesse, leurs propriétés microbiologiques
 étant données ci-après :

Monascus ruber SANK 15177 (FERM 4956)

Cette souche a été isolée du sol à Tukimino,
 30 Yamato-city, préfecture de Kanagawa, Japon, et a été déposée
 le 27 avril 1979, sous le n° 4956, auprès du Fermentation
 Research Institute.

Cette souche croît bien sur un milieu pomme de terre-
 glucose-agar à 25°C et produit dans le milieu une substance
 35 colorante soluble ayant une coloration brun-jaunâtre à
 brun-rougeâtre. Il se forme beaucoup de cléistothécies sur la
 couche basale des hyphes.

7

Sur un milieu farine d'avoine-agar, cette souche produit une substance colorante brun pâle et elle croît bien. La formation des cléistothécies est bonne ; celles-ci sont sphériques, d'un diamètre de 30 à 60 micromètres, et se forment sur de courts pédoncules. Ces pédoncules sont presque incolores et ramifiés, leurs dimensions étant de 25-60 x 3,5 - 5,0 micromètres. Les asques sont évanescents et par conséquent difficiles à observer. Les ascospores sont incolores et ellipsoïdales et leurs dimensions sont de 4,5-6,5 x 4,0 - 5,0 micromètres ; leurs surfaces sont lisses. Les conidies sont liées depuis leur sommet et ont des dimensions de 7,0-10,0 x 6,0-10,0 micromètres. Leurs tissus sont rompus.

Bien que la souche puisse croître à 37°C, la meilleure croissance est observée entre 23 et 30°C.

Monascus ruber SANK 10671 (FERM 4958)

Cette souche a été isolée du sol à Shinagawa-ku, Tokyo, Japon, et a été déposée le 27 avril 1979 sous le n° 4958 auprès du Fermentation Research Institute.

La croissance sur les milieux pomme de terre-glucose-agar et farine d'avoine-agar est similaire à celle de la souche SANK 15177, sauf que la substance colorante soluble produite est rouge sombre. Le diamètre des cléistothécies est de 30-80 micromètres et les dimensions des pédoncules sont de 30-70 x 3,0 - 5,0 micromètres. On n'observe pas d'asques. Les ascospores sont incolores et ellipsoïdales et leurs dimensions sont de 4,5-6,5 x 4,0 - 5,0 micromètres. Les conidies sont incolores et piriformes ou ovoïdes et leurs dimensions sont de 6,0 - 10,0 x 6,0 - 8,5 micromètres.

Monascus ruber SANK 13778 (FERM 4959)

Cette souche a été isolée du sol à Inawashirocho Nagata, Yama-gun, Préfecture de Fukushima, Japon, et a été déposée le 27 avril 1979, sous le n° 4959, auprès du Fermentation Research Institute.

La croissance sur les milieux pomme de terre-glucose-agar et farine d'avoine-agar est similaire à celle de la souche SANK 15177, sauf que la substance colorante soluble produite est de couleur brun-rougeâtre pâle à
 5 brun-rougeâtre. Les cléistothécies ont un diamètre de 35-75 micromètres et les pédoncules sont de 30-70 x 3,5-5,0 micromètres. On n'observe pas d'asques. Les ascospores sont incolores et ellipsoïdales et leurs dimensions sont de 4,5-6,0 x 4,0-5,0 micromètres. Leurs surfaces
 10 sont lisses. Les dimensions des conidies sont de 7,0-10,0 x 6,0-10,0 micromètres.

Monascus ruber SANK 18174 (FERM 4957)

Cette souche a été isolée du sol à Shakotan-cho, Shakotan-gun, Shiribeshi Shicho, Préfecture de
 15 Hokkaido, Japon, et a été déposée le 27 avril 1979, sous le n°4957, auprès du Fermentation Research Institute.

La croissance sur les milieux pomme de terre-glucose - agar et farine d'avoine-agar est similaire à celle de la souche SANK 15177, sauf que la substance colo-
 20 rante produite est rose pâle. Les cléistothécies ont un diamètre de 20-70 micromètres et les dimensions des pédoncules sont de 20-60 x 3,0-5,0 micromètres. On n'observe pas d'asques. Les ascospores sont incolores et ellipsoïdales et leurs dimensions sont de 5,0-7,0 x 4,0-5,5 micro-
 25 mètres ; leurs surfaces sont lisses. Les conidies sont reliées entre elles depuis leur sommet et sont incolores ; la plupart d'entre elles sont piriformes et ont des dimensions de 6,0-9,5 x 6,0-10,0 microns.

Sur la base de l'observation des caractéristiques
 30 mentionnées plus haut, ces microorganismes ont tous été identifiés comme étant des souches de Monascus ruber van Tieghem.

Les propriétés microbiologiques de Monascus ruber ont été rapportées dans la littérature suivante : Takada,
 35 Transactions of the Micological Society of Japon, 9, 125 - 130 (1969) /Materials for the Fungus Flora of Japan (7)/ et van Tieghem, Bull. Soc. Botan. France, 31, 227 (1884).

La production d'ascospores par la souche a été mentionnée par Cole et al dans le Canadian Journal of Botany, 46, 987 (1968), "Conidium ontogeny in hyphomycetes. The imperfect state of Monascus ruber and its meristem
5 arthrospores".

En plus des souches de champignons mentionnées plus haut, tous champignons du genre Monascus, y compris leurs variétés et les souches obtenues par mutation, qui sont capables de produire des sels de Monacoline K, peuvent
10 être utilisés dans le procédé de la présente invention.

Les sels de la Monacoline K peuvent être produits en cultivant le microorganisme choisi dans un milieu de culture, dans des conditions aérobies, en utilisant les techniques bien connues de culture de champignons et autres
15 microorganismes. Par exemple, la culture choisie de Monascus peut être tout d'abord cultivée sur un milieu convenable et les microorganismes produits peuvent être ensuite recueillis et inoculés dans un autre milieu de culture où ils sont cultivés pour produire le sel de Monacoline K
20 désiré; le milieu de culture utilisé pour la multiplication du microorganisme et le milieu de culture utilisé pour la production du sel de Monacoline K peuvent être identiques ou différents. Tout milieu de culture bien connu dans la technique pour la culture des champignons peut être utilisé,
25 pourvu qu'il contienne, de manière en soi bien connue, les substances nutritives nécessaires, en particulier une source de carbone assimilable et une source d'azote assimilable. Des exemples de sources convenables de carbone assimilable sont le glucose, le maltose, la dextrine,
30 l'amidon, le lactose, le saccharose et la glycérine. Parmi ces sources, le glucose et la glycérine sont particulièrement appréciés pour la production des sels de la Monacoline K. Comme exemples de sources convenables d'azote assimilable, on peut citer les peptones, l'extrait
35 de viande, la levure, l'extrait de levure, la farine de soja, la farine de pois, la liqueur de maïs macéré, le son

7

de riz et les sources d'azote minéral. Parmi ces sources d'azote, les peptones sont tout particulièrement préférées. Lors de la production du sel de Monacoline K, on peut ajouter au milieu de culture, si nécessaire, un sel
 5 minéral et/ou un sel métallique. De plus, si nécessaire, une faible quantité d'un métal lourd peut aussi être ajoutée. Pour la production des sels de la Monacoline K par fermentation avec un champignon du genre Monascus, il est important que soient présents, dans le milieu de culture ou dans
 10 le champignon, des ions métalliques correspondant au métal du sel que l'on désire produire.

On préfère tout particulièrement faire une pré-culture du microorganisme sur un milieu pomme de terre-dextrose-agar (par exemple disponible auprès de Difco
 15 Company) et l'inoculer ensuite dans un autre milieu de culture où on le cultive pour produire le sel de Monacoline K désiré. Le microorganisme est de préférence cultivé dans des conditions aérobies, en utilisant des méthodes de culture bien connues dans la technique, par exemple la
 20 culture sur solide, la culture sous agitation ou la culture sous aération et agitation. Le microorganisme croît sur un intervalle étendu de températures, par exemple de 7 à 35°C, mais, lorsqu'on fait croître le microorganisme dans le but de produire de la Monacoline K ou l'un de ses sels, la
 25 température de culture la plus appréciée est de 20 à 30°C.

Pendant la culture du microorganisme, la production du sel de Monacoline K peut être régulée par prélèvement d'échantillons du milieu de culture et mesure de l'activité physiologique du sel de Monacoline K dans le milieu
 30 de culture selon les essais décrits plus loin. La culture peut être poursuivie jusqu'à obtention d'une accumulation importante du sel de Monacoline K dans le milieu de culture et ce sel peut être isolé à ce moment et extrait du milieu de culture et des tissus du microorganisme par
 35 toute combinaison convenable de techniques d'isolement choisie eu égard à ses propriétés physiques et chimiques.

7

Par exemple, on peut utiliser tout ou partie des techniques d'isolement suivantes : extraction de la liqueur à partir du milieu de culture au moyen d'un solvant hydrophile (comme l'éther diéthylique, l'acétate d'éthyle ou le chloroforme) ; extraction du microorganisme avec un solvant hydrophile (comme l'acétone ou un alcool) ; concentration, par exemple par évaporation de tout ou partie du solvant sous pression réduite ; dissolution dans un solvant davantage polaire (comme l'acétone ou un alcool) ; enlèvement des impuretés avec un solvant moins polaire (comme l'éther de pétrole ou l'hexane) ; filtration sur gel à travers une colonne garnie d'une substance comme le Sephadex (dénomination commerciale d'une substance disponible auprès de la Pharmacea Co. Limited, Etats-Unis d'Amérique) ; chromatographie d'absorption avec du charbon actif ou un gel de silice ; chromatographie liquide rapide ; conversion en la Monacoline K elle-même ou en l'acide correspondant ; purification directe sous la forme du sel métallique ; et autres méthodes similaires. En utilisant une combinaison convenable de ces techniques, le sel de Monacoline K désiré peut être isolé du milieu de culture sous la forme d'une substance pure.

Comme décrit dans la demande de brevet précitée, la Monacoline K elle-même peut être aussi produite en utilisant les microorganismes et les techniques décrits ci-dessus.

L'activité physiologique des sels et des esters de la Monacoline K peut être évaluée et déterminée quantitativement par les essais suivants qui peuvent être aussi utilisés sous forme modifiée, pour réguler ou diriger la production des sels de Monacoline K au cours du procédé de fermentation selon la présente invention.

1. Inhibition de la biosynthèse du cholestérol

Tout comme la Monacoline K elle-même, les sels et esters de la Monacoline K inhibent spécifiquement l'activité de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA réductase, qui est l'enzyme de détermination de la vitesse dans la biosynthèse

7

du cholestérol. Le tableau I ci-après donne les concentrations (en ng/ml) des composés de l'invention qui inhibent de 50 % l'activité de la 3-hydroxy-3-méthylglytaryl (HMG)-CoA réductase [mesurée par la méthode décrite dans

5 Analytical Biochemistry, 31, 383 (1969)] et les concentrations (en ng/ml) des composés de l'invention qui inhibent de 50 % la biosynthèse du cholestérol [mesure effectuée selon la méthode du Journal of Biological Chemistry, 247, 4914 (1972)]. Ces tableaux donnent aussi les résultats

10 correspondants pour le composé connu ML-236B (qui est un composé connu comme ayant un type similaire d'activité et qui est obtenu en cultivant des microorganismes du genre Penicillium, comme décrit dans le brevet britannique n° 1 453 425, au nom de la présente demanderesse). On donne

15 aussi la concentration de Monacoline K qui inhibe de 50 % la biosynthèse du cholestérol. On peut constater que, tandis que la concentration de ML-236B requise pour inhiber la biosynthèse du cholestérol est de 10,0 ng/ml, la concentration correspondante pour les esters de la Monacoline

20 K est de l'ordre de 1 ng/ml (c'est-à-dire que le pouvoir d'inhibition est d'environ 10 fois plus élevé) et la concentration correspondante pour le sel de sodium de la Monacoline K est d'environ 0,14 ng/ml (pouvoir d'inhibition environ 70 fois plus élevé). Les activités des sels et des

25 esters de la Monacoline K sont comparables à ou plus élevées que celles de la Monacoline K elle-même.

7

TABLEAU I

Composé	Concentration (ng/ml) requise pour inhibition de 50 %	
	HMG-CoA réductase	Biosynthèse du cholestérol
ester méthylique	70,0	1,2
ester éthylique	12,0	1,3
ester butylique	15,0	2,0
ester benzylique	11,0	1,1
sel de sodium	2,0	0,14
sel de calcium	12,0	1,8
Monacoline K	-	2,0
ML - 236 B	10,0	10,0

2. Réduction des taux de cholestérol sanguin

Les animaux utilisés dans cet essai sont des rats de la souche Wistar Imamichi, pesant chacun environ 300 g. Les essais sont effectués sur plusieurs groupes de rats comportant chacun 5 animaux. Chaque animal reçoit une injection intraveineuse de 400 mg/kg de Triton WR-1339 (dénomination commerciale d'une substance connue pour accroître le taux du cholestérol sanguin) tandis qu'on lui administre simultanément, par voie orale, l'un des composés mentionnés sur le tableau II suivant, en la quantité indiquée sur ce tableau. 20 heures après l'administration orale les rats sont sacrifiés en les saignant ; on recueille le

sang et le foie et on détermine, par des moyens usuels, les taux de cholestérol. Les résultats sont rapportés dans le tableau II qui donne la réduction des taux de cholestérol dans le sang et le foie par comparaison avec un groupe témoin de ra
5 auxquels on a seulement administré du Triton WR-1339.

Dans un but de comparaison, on donne les résultats correspondants pour la Monacoline K elle-même et pour le composé ML-236B, mais ces composés ont été administrés en des doses nettement supérieures à celles utilisées pour
10 les composés de l'invention afin d'obtenir une réduction comparable des taux de cholestérol.

TABLEAU II

Composé	Dose mg/kg	Réduction des taux de cholestérol (%) dans le	
		sang	foie
ester méthylique	5	23,8	18,4
ester éthylique	5	23,3	18,0
ester butylique	5	19,5	15,7
ester benzylique	5	24,4	18,5
sel de sodium	2	27,5	18,9
sel de calcium	5	21,4	17,1
Monacoline K	10	22,4	16,7
ML-236 B	40	24,6	20,9

La réduction du taux de cholestérol du sang ou du foie est donnée par la formule :

$$\frac{1 - (C - B)}{A - B} \times 100$$

où : A est le taux dans le groupe traité seulement par le

5 Triton WR-1339 ;

B est le taux dans le groupe témoin non traité ;

C est le taux dans le groupe soumis à l'essai.

3. Toxicité aigüe

Les composés soumis aux essais sont les esters de
10 méthyle, d'éthyle, de butyle et de benzyle et les sels de sodium et de calcium de la Monacoline K. On a trouvé que la dose létale pour 50 % des individus (DL_{50}), pour chacun de ces composés, est d'au moins 2000 mg/kg par administration orale et d'au moins 50 mg/kg par administration intra-
15 péritonéale. Ainsi, ces composés présentent une très faible toxicité.

Ces résultats démontrent que les composés de l'invention inhibent la biosynthèse du cholestérol et, par conséquent, diminuent le taux de cholestérol dans le
20 sang. Ils constituent par conséquent des médicaments précieux pour le traitement de l'hyperlipémie et de l'artériosclérose.

Les composés de l'invention peuvent être administrés oralement ou parentéralement sous la forme
25 de capsules, de comprimés, de préparations injectables ou de toute autre formulation connue, quoique leur administration orale soit normalement préférée. La dose varie en fonction de l'âge et du poids du corps du patient, ainsi que de la gravité de l'état, mais, en général, la
30 dose journalière pour un adulte est de préférence de 0,1 à 100 mg et mieux encore de 0,1 à 10 mg dans le cas des sels de la Monacoline K et de 0,5 à 100 mg et mieux encore de 0,5 à 10 mg dans le cas des esters de la Monocoline K.

35 La préparation des composés de l'invention est en outre illustrée par les exemples suivants, donnés à

titre non limitatif.

EXEMPLE 1

Sel de sodium de la Monacoline K

- 300 litres d'un milieu de culture présentant un pH
- 5 de 5,5 avant stérilisation et contenant 5 % en poids/
volume de glucose, 0,5 % en poids/volume de liqueur de
maïs macéré, 2 % en poids/volume de peptone (de dénomina-
tion commerciale Kyokuto, disponible auprès de Kyokuto
Seiyaku KK, Japon) et 0,5 % en poids/volume de chlorure
- 10 d'ammonium sont introduits dans un fermenteur de 600 litres;
on inocule alors le microorganisme Monascus ruber SANK
18174 (Ferm. 4957) dans ce milieu. La culture du micro-
organisme est effectuée pendant 116 heures à 26°C avec
un débit d'aération de 300 litres par minute et une agita-
- 15 tion à raison de 190 tours par minute. Au bout de cette
durée, on règle le pH du milieu de culture contenant le
microorganisme à une valeur de 3,4 par addition d'acide
chlorhydrique 6N, puis on le soumet à une extraction avec
800 litres de méthanol.
- 20 On ajoute 6 kg d'Hyflo Super Cel et on filtre
ensuite l'extrait, en utilisant un filtre-presse, pour
obtenir 1100 litres d'extrait méthanolique. Cet extrait
est lavé avec 200 litres d'une solution aqueuse saturée
de chlorure de sodium et ensuite avec 180 litres d'éthyl-
- 25 cyclohexane. La solution résultante est soumise à une
extraction avec 600 litres de dichlorure d'éthylène. On
ajoute 50 g d'acide trifluoroacétique à l'extrait dans
le dichlorure d'éthylène et on laisse réagir à 80°C pendant
30 minutes. On lave ensuite successivement le mélange
- 30 réactionnel avec 200 litres d'une solution aqueuse à 2 %
en poids/volume de bicarbonate de sodium et avec 200
litres d'une solution aqueuse à 10 % en poids/volume
de chlorure de sodium. Le mélange est ensuite concentré
par évaporation sous pression réduite, ce qui donne 135 g
- 35 d'une substance huileuse.
- 7

Cette substance huileuse est dissoute dans 400 ml de méthanol. 20 ml de la solution méthanolique résultante (contenant 6,8 g de l'huile) sont ensuite soumis à une chromatographie liquide rapide de préparation en utilisant l'appareillage dénommé "System 500" de Waters Co. Limited, équipé d'une colonne de Prepac C₁₈ (colonne en phase inversée). On utilise un mélange 85:15 en volume de méthanol et d'eau, en tant qu'agent de développement. Le développement est effectué à un débit de 200 ml/min (durée de développement d'environ 10 minutes) ; on observe les indications d'un réfractomètre différentiel relié à la masse et on sépare la fraction donnant le pic principal sur le réfractomètre différentiel. On répète cette opération, on recueille les fractions résultantes correspondant au pic principal et on les concentre pour obtenir 10,2 g d'une substance huileuse. Cette substance huileuse est dissoute dans 30 ml de méthanol et on soumet à nouveau 6 ml de la solution méthanolique (contenant environ 2 g de l'huile) à la même chromatographie liquide rapide de préparation ; on développe avec un mélange 80:20, en volume, de méthanol et d'eau, à un débit de 200 ml/min. On sépare la fraction présentant le pic principal. On répète cette opération et on recueille et concentre les fractions correspondants au pic principal. Le résidu est traité par du méthanol aqueux pour donner 1170 mg de cristaux bruts, lesquels sont recristallisés plusieurs fois dans l'éthanol, ce qui donne 864 mg de cristaux.

On ajoute 19,4 ml d'hydroxyde de sodium aqueux 0,1 N à ces cristaux et on agite le mélange à 50-60°C pendant 3 heures. On sépare les insolubles par filtration et on lyophilise le filtrat pour obtenir 900 mg du sel de sodium de la Monacoline K, qui présente les propriétés suivantes :

1. Couleur et forme : Poudre blanche

2. Analyse élémentaire
Valeurs calculées : C: 64,84% ; H : 8,38% ; Na: 5,17 %
Valeurs expérimentales : C: 64,78% ; H : 8,55% ; Na: 5,21 %
3. Poids moléculaire :
5 444 $\bar{\Delta}$ après la spectroscopie de masse (F.D. Mass.)
4. Formule brute :
 $C_{24}H_{37}O_6Na$.
5. Spectre d'absorption ultraviolette :
Comme le montre la figure 1 des dessins ci-joints,
10 λ_{max} est égal à :
232 nm (log ϵ = 4,30) ;
239 nm (log ϵ = 4,36) ;
248 nm (log ϵ = 4,19).
6. Spectre d'absorption infrarouge (comprimé de KBr) :
15 Comme le montre la figure 2 des dessins ci-joints.
7. Spectre de résonance magnétique nucléaire (D_2O) :
Comme le montre la figure 3 des dessins ci-joints.
8. Chromatographie rapide en phase liquide :
Durée de séjour : 8,5 minutes ;
20 Garnissage de la colonne : Microbondapac C18 ;
Méthanol aqueux à 60 % en volume/volume + 0,1 %
• de PIC-A (produit de Waters Co. Limited) ;
Débit : 1,5 ml/minute.
Comme le montre la figure 4 des dessins ci-joints.
- 25 9. Solubilité :
Soluble dans l'eau ; insoluble dans les solvants organiques.
10. Pouvoir rotatoire spécifique :
30 $[\alpha]_D^{25} = +266^\circ$ (c = 0,33, dans l'eau).

EXEMPLE 2

Sel de sodium de la Monacoline K

300 litres d'un milieu de culture présentant un pH de 7,4 avant stérilisation et contenant 1,5 % en poids/
35 volume d'amidon soluble, 1,5 % en poids/volume de glycérine,
2,0 % en poids/volume de farine de poisson et 0,2 % en

- poids/volume de carbonate de calcium sont introduits dans un fermenteur de 600 litres ; le microorganisme Monascus ruber SANK 17075 (CBS 832.70) est inoculé dans ce milieu. La culture du microorganisme est effectuée pendant 120 heures à 26°C, avec un débit d'aération de 300 litres par minute, sous agitation à raison de 190 tours par minute. Le milieu de culture est ensuite filtré en utilisant un filtre-presse, pour donner 35 kg (poids humide) de microorganisme.
- 10 On y ajoute 100 litres d'eau et on règle la valeur du pH du mélange à 12 par addition d'hydroxyde de sodium, sous agitation. Le mélange est ensuite laissé à la température ambiante pendant une heure, après quoi on y ajoute 2 kg de Hyflo Super Cel ; on filtre ensuite en utilisant
- 15 un filtre-presse. Le pH du filtrat est réglé à la valeur de 10 par addition d'acide chlorhydrique et le mélange résultant est ensuite adsorbé sur une colonne contenant 5 litres de résine HP-20, puis lavé avec 15 litres d'eau puis avec 15 litres d'une solution aqueuse à 10 %
- 20 en volume/volume de méthanol. La colonne est ensuite éluée avec du méthanol aqueux à 90 % en volume/volume. L'éluat est concentré jusqu'à un volume d'environ 10 litres et son pH est ensuite réglé à la valeur 2 par addition d'acide chlorhydrique; le mélange est alors soumis à une extraction
- 25 tion par l'acétate d'éthyle. L'extrait est lavé avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium, séché sur du sulfate de sodium anhydre et ensuite concentré par évaporation jusqu'à siccité pour donner 50 g d'une substance huileuse contenant l'acide de la Monacoline K.
- 30 On ajoute du méthanol à cette substance huileuse, en quantité suffisante pour obtenir un volume total de 100 ml. On soumet 20 ml de la solution résultante à une chromatographie liquide rapide de préparation en utilisant une colonne à phase inversée (comme décrit dans l'exemple 1);
- 35 on élue avec une solution aqueuse à 20 % en volume/volume
- 7

de méthanol (contenant 2 % d'acide acétique), à un débit de 200 ml/minute. La fraction présentant le pic principal sur le réfractomètre différentiel est séparée (7-10 minutes). Les 80 ml restants de la solution méthanolique sont
5 ensuite traités par le même processus. Les fractions résultantes correspondant au pic principal sont recueillies, concentrées et extraites par l'acétate d'éthyle. L'extrait est concentré jusqu'à siccité, après addition d'heptane, pour donner 1,2 g d'une substance huileuse.

10 Cette substance huileuse est dissoute dans 20 ml de méthanol et est ensuite soumise à une chromatographie liquide rapide, comme décrit ci-dessus, pour donner 150 mg d'acide de la Monacoline K. On y ajoute 2 ml de méthanol et 100 ml d'eau et on règle le pH de la solution résultante
15 à 8,0 par addition d'hydroxyde de sodium aqueux 1N, ce qui donne une solution aqueuse claire. On fait passer cette solution à travers une colonne contenant 10 ml de résine HP-20, on lave la colonne avec 100 ml d'eau et on élue avec du méthanol aqueux à 80 % en volume/volume. L'éluat
20 est lyophilisé pour donner 130 mg du sel de sodium de la Monacoline K, sous la forme d'une poudre blanche. Les propriétés du produit sont identiques à celles données pour le produit de l'exemple 1.

EXEMPLE 3

25 Sel de calcium de la Monacoline K

On répète la culture, l'extraction, la concentration, le chromatographie liquide rapide de préparation, et la recristallisation dans l'éthanol, comme décrit dans l'exemple 1. 500 mg des cristaux résultants sont ensuite
30 dissous dans 50 ml de chlorure de méthylène et la solution résultante est filtrée à travers un filtre à pores très fins. 20 ml d'une solution aqueuse saturée d'hydroxyde de calcium sont ajoutés au filtrat et le mélange est ensuite énergiquement agité à la température ambiante. Toutes les
35 fois que le pH de la solution décroît pour venir en dessous de 8, on ajoute une nouvelle portion de 10 ml d'une solu-

7

tion aqueuse saturée d'hydroxyde de sodium et on poursuit l'agitation. Lorsque le pH ne diminue plus (après addition d'une quantité totale de 50 ml de la solution aqueuse d'hydroxyde de calcium), on ajoute de l'eau distillée et on place la totalité de la solution dans un entonnoir à décantation. On recueille la phase organique et on sépare le solvant par distillation. Le résidu est traité par l'heptane et une poudre est ensuite obtenue en soumettant le mélange à des ultrasons. La poudre est filtrée et échée pour donner 450 mg du sel de calcium de la Monacoline K, sous la forme d'une poudre blanche.

Ce sel de calcium présente les propriétés suivantes:

1. Poids moléculaire :
882 (par spectrométrie de masse)
2. Formule brute :
 $(C_{24}H_{37}O_6)_2 \cdot Ca$
3. Point de fusion :
155 - 165°C (avec décomposition).
4. Pouvoir rotatoire spécifique :
 $[\alpha]_D^{25} = +209^\circ$ (c = 1,48, dans le chloroforme)
5. Spectre d'absorption infrarouge (KBr) :
Comme le montre la figure 5 des dessins ci-joints.
6. Spectre de résonance magnétique nucléaire (CD_3OD) :
Comme le montre la figure 6 des dessins ci-joints.

EXEMPLE 4

Ester méthylique de la Monacoline K

On répète les processus de culture, extraction, concentration, chromatographie liquide rapide de préparation et recristallisation dans l'éthanol, comme décrit dans l'exemple 1, pour obtenir 864 mg de Monacoline K. On dissout 200 mg de cette Monacoline K dans 20 ml de méthanol (qui a été préalablement déshydraté avec le tamis moléculaire 3A). Après addition de quelques gouttes de chlorure d'acétyle, la solution est agitée à la température ambiante pendant 3 heures. Le solvant est séparé par distillation et le résidu est soumis à une extraction avec 50 ml d'acétate d'éthyle. L'extrait est lavé successivement avec une solu-

tion aqueuse à 2 % en poids/volume de bicarbonate de sodium et une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium, puis il est séché sur du sulfate de sodium anhydre, après quoi le solvant est séparé par distillation. Le résidu est adsorbé sur une colonne contenant 10 g de gel de silice (Wakogel C-100) qui a été préalablement traité par du benzène. Les fractions éluées avec un mélange 6 : 94 en volume d'acétate d'éthyle et de benzène sont recueillies et le solvant est séparé par distillation, ce qui donne 65 mg de l'ester méthylique de la Monacoline K, sous la forme d'une huile incolore.

Ce produit présente les propriétés suivantes :

1. Poids moléculaire :
436,6 (par spectrométrie de masse)
- 15 2. Formule brute :
 $C_{25}H_{40}O_6$
3. Pouvoir rotatoire spécifique :
 $[\alpha]_D^{25} = +208^\circ$ (c = 1,05, méthanol)
4. Spectre d'absorption infrarouge
20 Comme le montre la figure 7 des dessins ci-joints.
5. Spectre de résonance magnétique nucléaire :
Comme le montre la figure 8 des dessins ci-joints.

25

EXEMPLE 5

Ester méthylique de la Monacoline K

On prépare le sel de sodium de la Monacoline K en procédant comme décrit dans l'exemple 2. On dissout ensuite 100 mg de ce sel de sodium dans 2 ml de sulfoxyde de diméthyle, à la suite de quoi on ajoute 50 μ l d'iodure de méthyle à la solution. La solution est ensuite soumise au reflux, sous agitation, à 40-50°C, pendant 5 heures, dans un récipient de réaction équipé d'un condenseur à reflux. Le mélange réactionnel est ensuite dilué avec 35 5 ml d'eau et soumis à une extraction avec 10 ml de chlorure de méthylène. Le solvant est chassé de l'extrait par distillation et le résidu est adsorbé sur une colonne conte-

nant 10 g de gel de silice (Wakogel C-100) qui a été
préalablement traité par du benzène. Les fractions éluées
avec un mélange 4:96 en volume d'acétate d'éthyle et de
benzène sont recueillies et le solvant est chassé par
5 distillation, ce qui donne 35 mg de l'ester méthylique
de la Monacoline K, sous la forme d'une huile.

EXEMPLE 6

Ester éthylique de la Monacoline K

On dissout 100 mg de Monacoline K (préparée comme
10 décrit dans l'exemple 1) dans 15 ml d'éthanol qui a été
préalablement déshydraté à l'aide du tamis moléculaire 3A
et on ajoute quelques gouttes de chlorure d'acétyle à la
solution. Le mélange est ensuite agité à la température
ambiante pendant 3 heures, puis le solvant est chassé par
15 distillation et le résidu est soumis à une extraction
avec 50 ml d'acétate d'éthyle. L'extraît est lavé suc-
cessivement avec une solution aqueuse à 2 % en poids/volume
de bicarbonate de sodium et avec une solution aqueuse
saturée de chlorure de sodium, puis il est séché sur du
20 sulfate de sodium anhydre. Après séparation du solvant
par distillation, le résidu est adsorbé sur une colonne
contenant 10 g de gel de silice (Wakogel C-100) qui a été
préalablement traité par du benzène. Les fractions éluées
avec un mélange 6:94 en volume d'acétate d'éthyle et de
25 benzène sont recueillies et le solvant est chassé par dis-
tillation, ce qui donne 30 mg de l'ester éthylique de la
Monacoline K, sous la forme d'une huile incolore.

Les propriétés de ce composé sont les suivantes :

1. Poids moléculaire :
30 450,6 (par spectrométrie de masse)
2. Formule brute :
 $C_{25}H_{42}O_6$
3. Spectre d'absorption infrarouge ($CHCl_3$) :
Comme le montre la figure 9 des dessins
35 ci-joints.
4. Spectre de résonance magnétique nucléaire :

Comme le montre la figure 10 des dessins ci-joints.

EXEMPLE 7

Ester butylique de la Monacoline K

5 On dissout 200 mg de Monacoline K (préparée comme décrit dans l'exemple 1), dans 20 ml de méthanol qui a été préalablement déshydraté avec le tamis moléculaire 3A. Après addition de quelques gouttes de chlorure d'acétyle à la solution, le mélange résultant est agité à la tempé-
10 ture ambiante pendant 2 heures. Le solvant est ensuite chassé par distillation et le résidu est soumis à une extraction avec 50 ml d'acétate d'éthyle. L'extrait est lavé successivement avec une solution aqueuse à 2 % en poids/volume de bicarbonate de sodium et une solution aqueu-
15 se saturée de chlorure de sodium. La solution est ensuite séchée sur du sulfate de sodium anhydre et le solvant est chassé par distillation. Le résidu est adsorbé sur une colonne contenant 10 g de gel de silice (Wakogel C-100) qui a été préalablement traité par du benzène. Les fractions
20 éluées avec un mélange 4 : 96 en volume d'acétate d'éthyle et de benzène sont recueillies et le solvant est chassé par distillation, ce qui donne 80 mg de l'ester butylique de la Monacoline K, sous la forme d'une huile incolore.

Ce composé présente les propriétés suivantes :

- 25 1. Poids moléculaire :
478,7 (par spectrométrie de masse).
2. Formule brute :
 $C_{28}H_{46}O_6$.
3. Spectre d'absorption infrarouge ($CHCl_3$) :
30 Comme le montre la figure 11 des dessins ci-joints.
4. Spectre de résonance magnétique nucléaire ($CDCl_3$) :
Comme le montre la figure 12 des dessins ci-joints.

EXEMPLE 8

Ester benzylique de la Monacoline K

35 On dissout 200 mg de Monacoline K (préparée comme décrit dans l'exemple 1) dans 20 ml d'alcool benzylique

7

- qui a été préalablement déshydraté au moyen du tamis moléculaire 3A. Après addition de quelques gouttes de chlorure d'acétyle à la solution, le mélange résultant est agité à la température ambiante pendant 3 heures. Le
- 5 solvant est ensuite chassé par distillation et le résidu est soumis à une extraction avec 50 ml d'acétate d'éthyle. L'extrait est lavé successivement avec une solution aqueuse à 2 % en poids/volume de bicarbonate de sodium et avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium.
- 10 La solution est ensuite séchée sur du sulfate de sodium anhydre et le solvant est chassé par distillation. Le résidu est adsorbé sur une colonne contenant 10 g de gel de silice (Wakogel C-100) qui a été préalablement traité par du benzène. Les fractions éluées avec un mélange 4 : 96
- 15 en volume d'acétate d'éthyle et de benzène sont recueillies et le solvant est chassé par distillation, ce qui donne 70 mg de l'ester benzylique de la Monacoline K, sous la forme d'une huile incolore.

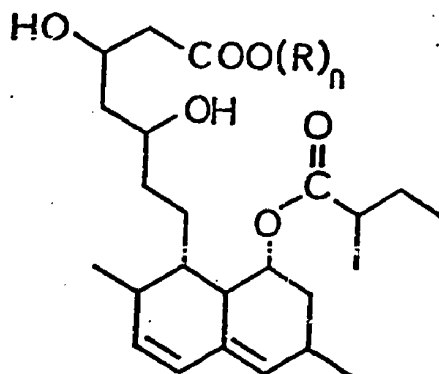
Les propriétés de ce composé sont les suivantes :

- 20 1. Poids moléculaire :
512,6 (par spectrométrie de masse).
2. Formule brute :
 $C_{31}H_{44}O_6$
3. Spectre d'absorption infrarouge ($CHCl_3$) :
- 25 Comme le montre la figure 13 des dessins ci-joints.
4. Spectre de résonance magnétique nucléaire ($CDCl_3$) :
Comme le montre la figure 14 des dessins ci-joints.

7

REVENDICATIONS

1. Composés utiles comme agents anti-hypercholestérolémiques, caractérisés en ce qu'ils sont constitués par des dérivés de la Monacoline K répondant à la formule :



5 dans laquelle :

- R représente un atome métallique ou un groupe alkyle substitué ou non substitué ; et

- $\underline{n}$ est l'inverse de la valence de l'atome ou du groupe représenté par R.

10 2. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont constitués par des sels de Monacoline K dans lesquels R représente un atome métallique.

3. Composés selon la revendication 2, caractérisés en ce que l'atome métallique précité est le sodium, le
15 potassium, le calcium, le magnésium, l'aluminium, le fer, le zinc, le cuivre, le nickel ou le cobalt.

4. Composés selon la revendication 3, caractérisés en ce que le métal précité est le sodium, le calcium ou l'aluminium.

20 5. Composés selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont constitués par des esters de la Monacoline K dans lesquels R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué et $\underline{n}$ est 1.

25 6. Composés selon la revendication 5, caractérisés en ce que R est un groupe alkyle, un groupe aralkyle ou un groupe acylalkyle.

7

7. Composés selon la revendication 6, caractérisés en ce que R est un groupe alkyle, un groupe aralkyle ou un groupe arylcarbonylalkyle.

8. Composés selon la revendication 7, caractérisés en ce que R est un groupe alkyle, un groupe benzyle substitué ou non substitué ou un groupe phénacyle substitué ou non substitué.

9. Composés selon la revendication 8, caractérisés en ce que R est un groupe alkyle, un groupe benzyle, un groupe benzyle comportant un ou plusieurs substituants alkyle, alcoxy ou halogène, un groupe phénacyle ou un groupe phénacyle comportant un ou plusieurs substituants alkyle, alcoxy ou halogène.

10. Composés selon la revendication 5, caractérisés en ce que R représente un groupe méthyle, éthyle, butyle ou benzyle.

11. Procédé de préparation des sels et des esters de la Monocoline K, caractérisé en ce qu'on salifie ou en ce qu'on estérifie la Monacoline K ou un dérivé réactif de celle-ci.

12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que le dérivé réactif précité est l'acide correspondant à la Monacoline K ou un sel de la Monacoline K.

13. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'on prépare les esters de la Monacoline K en faisant réagir un halogénure de formule RX , où R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué et X représente un atome d'halogène, avec un sel de la Monacoline K.

14. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'on prépare les esters de la Monacoline K en faisant réagir un alcool de la formule ROH , où R représente un groupe alkyle substitué ou non substitué, avec la Monacoline K ou l'acide correspondant, en présence d'un agent de déshydratation.

15. Procédé de préparation des esters de la Monacoline K, caractérisé en ce qu'on cultive un micro-

7

organisme producteur de sel de Monacoline K, du genre Monascus, dans un milieu de culture convenant à ce microorganisme et en ce qu'on sépare un sel de Monacoline K dudit milieu de culture.

- 5 16. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le microorganisme précité, du genre Monascus, est choisi parmi les suivants : Monascus anka SANK 10171 (IFO 6540) ; Monascus purpureus SANK 10271 (IFO 4513) ; Monascus ruber SANK 10671 (Ferm 4958) ; Monascus vitreus SANK 10960 (NIHS 609, e-609; Ferm 4960) ; Monascus paxii SANK 11172 (IFO 8201) ; Monascus ruber SANK 11272 (IFO 9203) ; Monascus ruber SANK 13778 (Ferm 4959) ; Monascus ruber SANK 15177 (Ferm 4956) ; Monascus ruber SANK 17075 (CBS 832.70) ; Monascus ruber SANK 17175 (CBS 503.70) ;
- 15 Monascus ruber SANK 17275 (ATCC 18199) ; et Monascus ruber SANK 18174 (Ferm 4957).

17. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le microorganisme précité est choisi parmi les microorganismes suivants : Monascus ruber SANK 10671, (Ferm 4958) ; Monascus ruber SANK 11272 (IFO 9203) ; Monascus ruber SANK 13778 (Ferm 4959) ; Monascus ruber SANK (Ferm 4956) ; et Monascus ruber SANK 18174 (Ferm 4957).
- 20

18. Procédé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le métal précité est le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium, l'aluminium, le fer, le zinc, le cuivre, le nickel ou le cobalt.
- 25

19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que le métal précité est le sodium, le calcium ou l'aluminium.

20. Médicament caractérisé en ce qu'il contient à titre de principe actif un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10.

Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon. de SANKYO COMPANY LIMITED
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER.

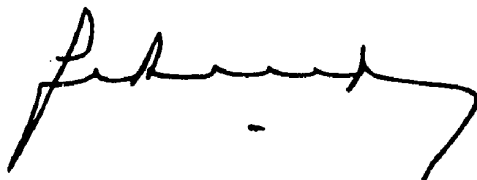


FIG. 1

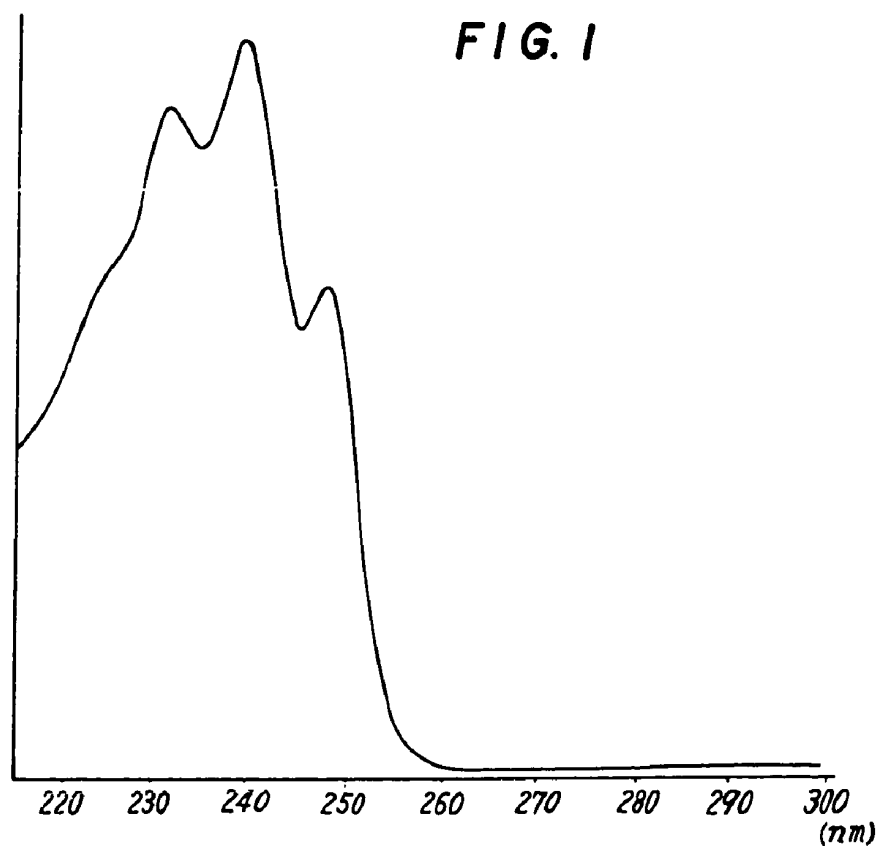
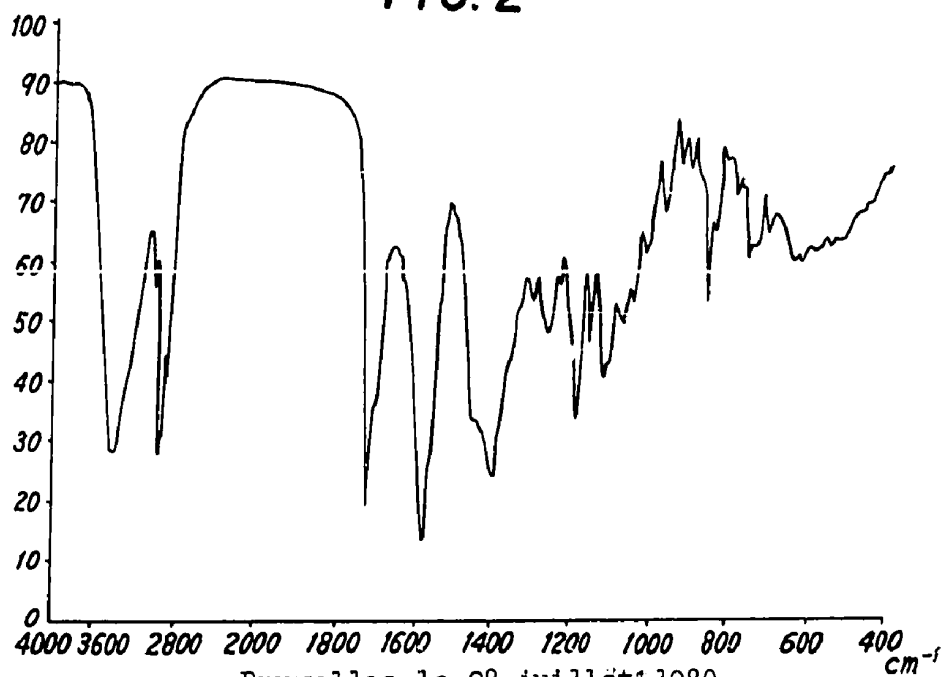


FIG. 2



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK. G. C. PLUCKER

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'P. Pon de', is written over the typed name.

FIG. 3

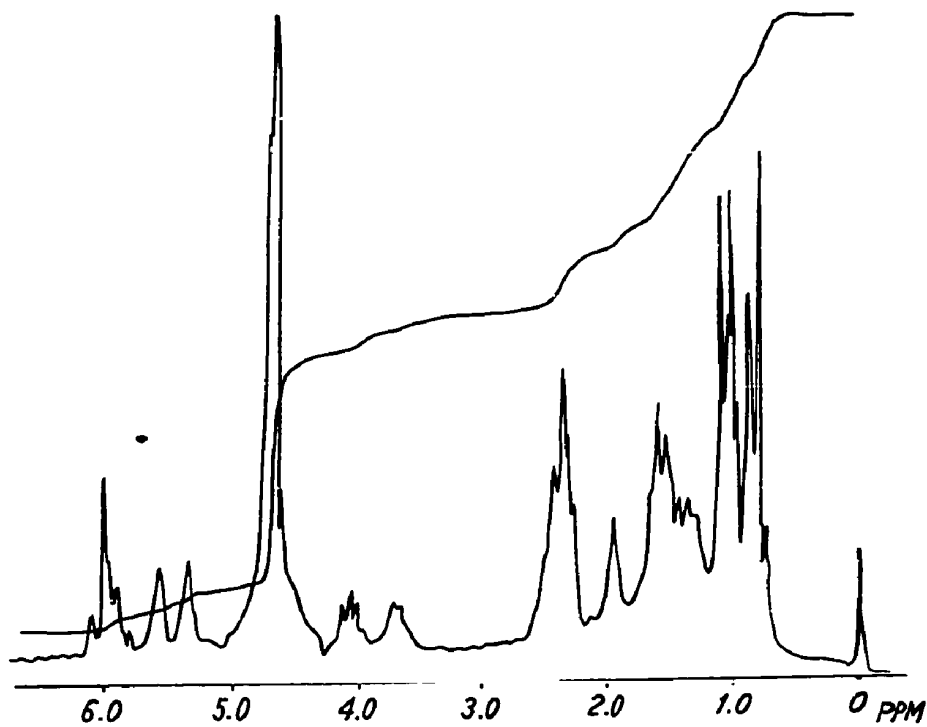
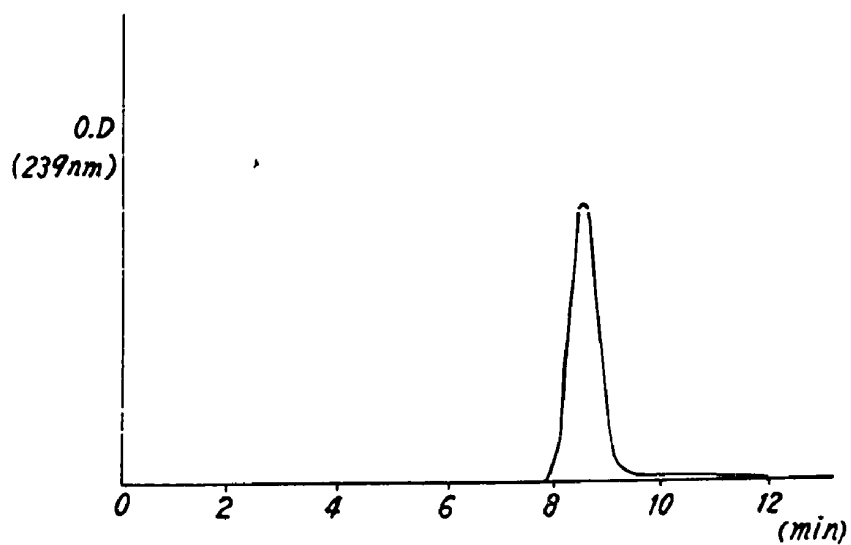


FIG. 4



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK, G. C. PLUCKER

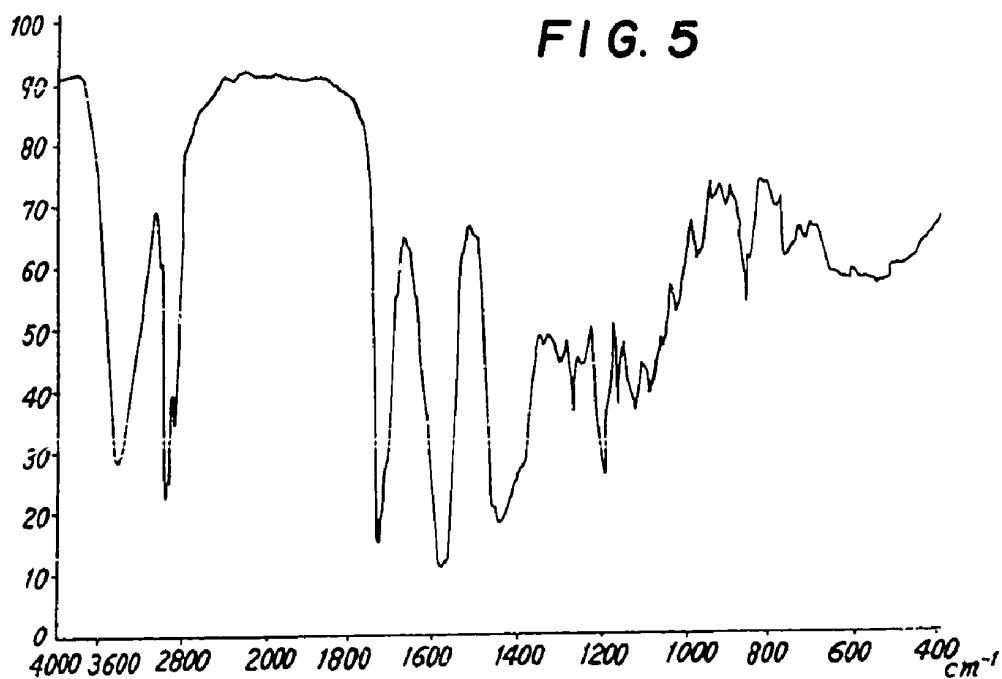
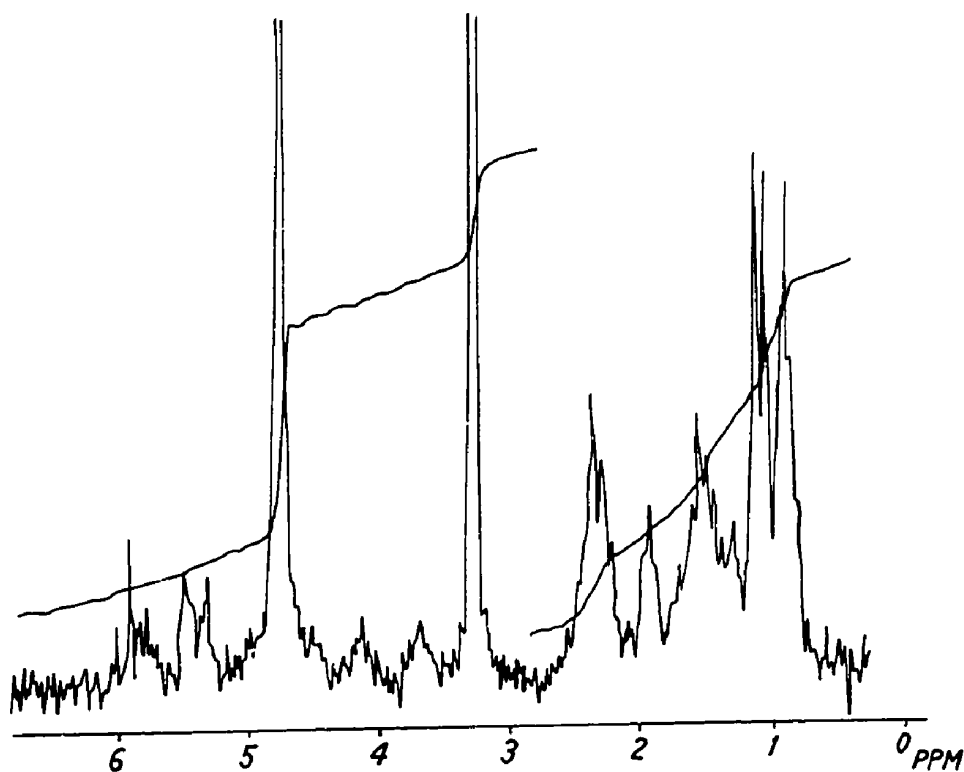


FIG. 6



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pcn de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK. G. C. PLUCKER

FIG. 8

The figure displays two NMR spectra traces. The horizontal axis is labeled 'PPM' and ranges from 8.0 to 0. The top trace shows a broad peak around 6.5 ppm and a sharp peak at 3.5 ppm. The bottom trace shows a broad peak around 6.5 ppm and a sharp peak at 3.5 ppm. The spectrum is labeled 'FIG. 8' in the top left corner.

Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK. G. C. PLUCKER

ATRICK. G. C. FLOCKER

FIG. 9

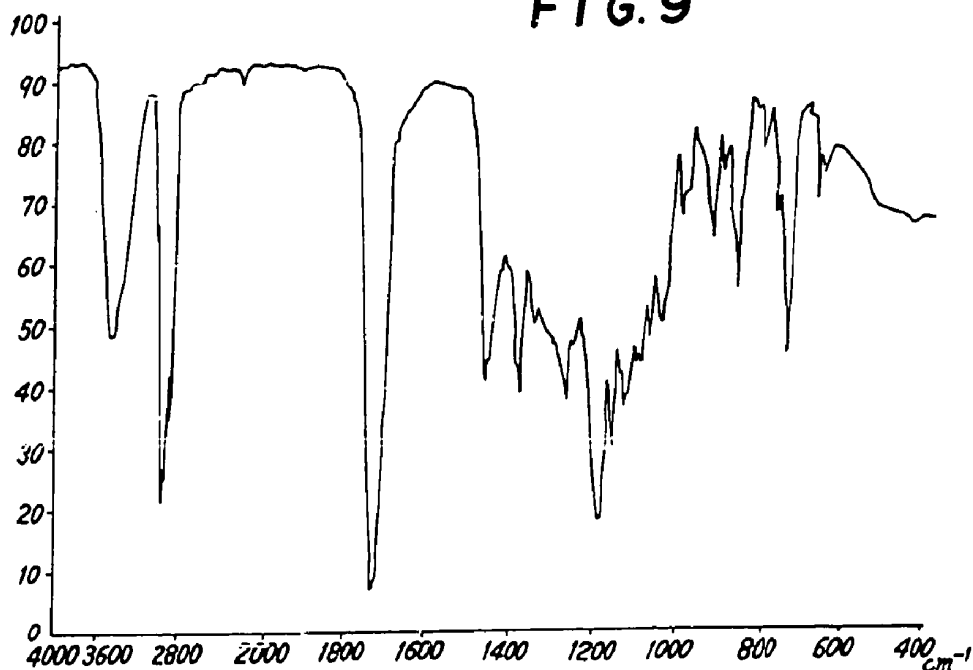
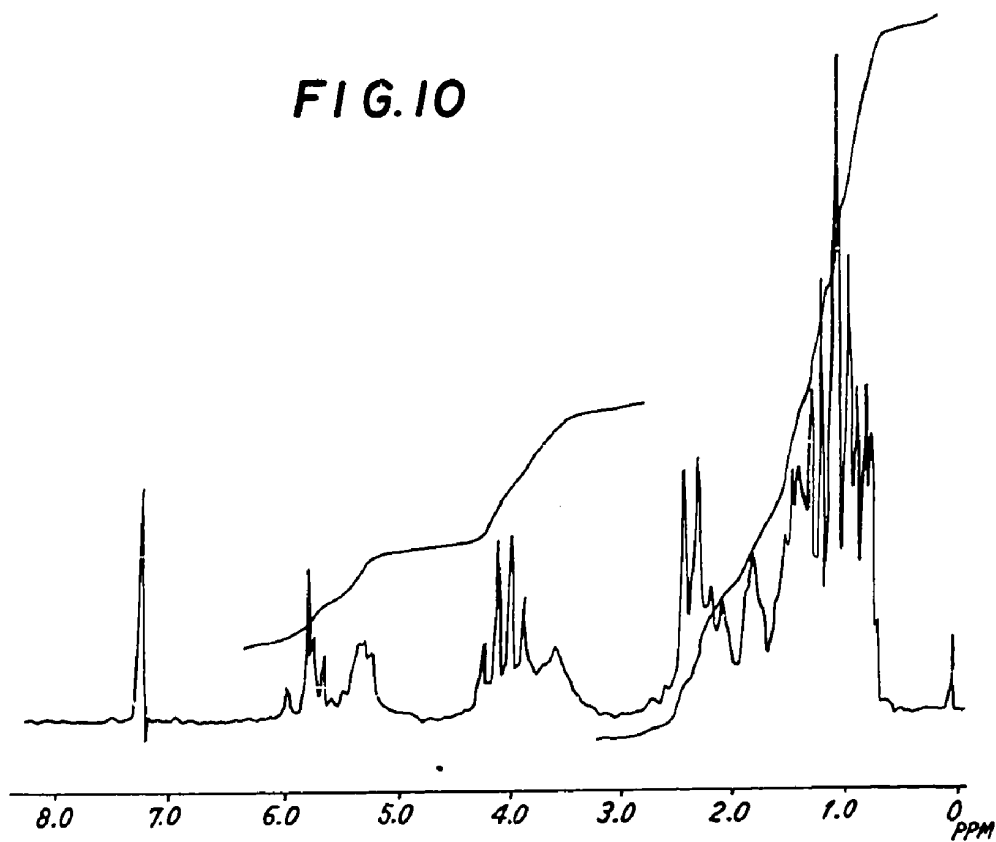


FIG. 10



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK, G.C. PLUCKER

FIG. 11

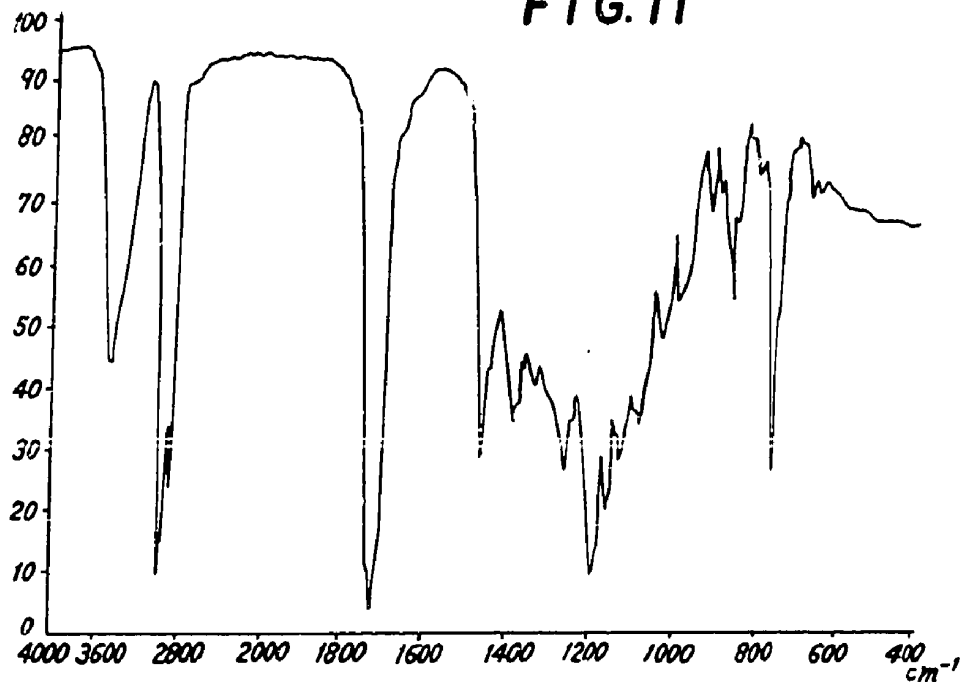
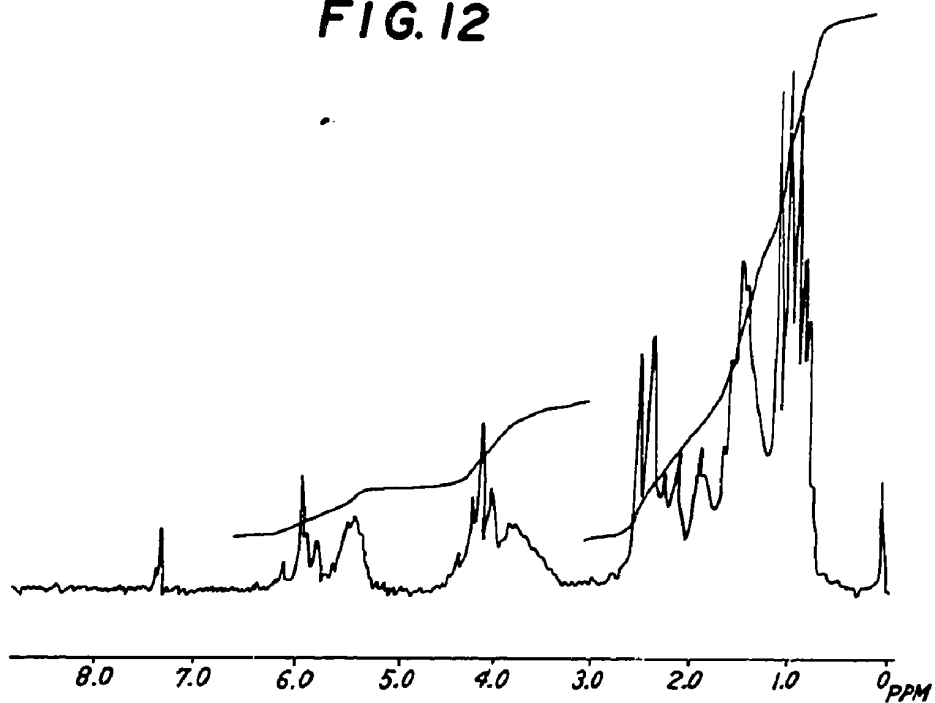


FIG. 12



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED
OFFICE KIRKPATRICK. G. C. PLUCKER

FIG. 13

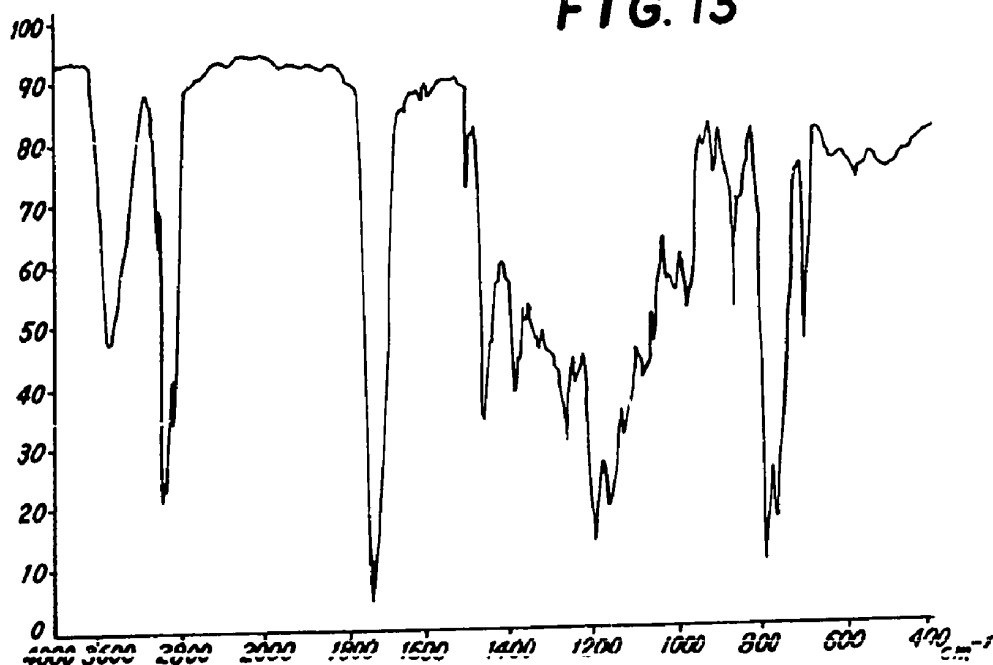
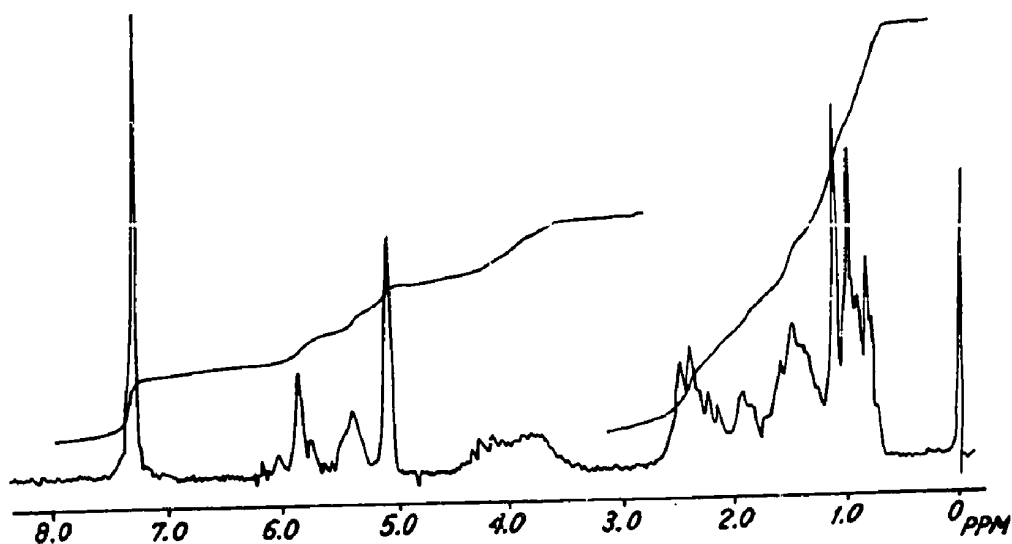


FIG. 14



Bruxelles, le 28 juillet 1980
P. Pon de: SANKYO COMPANY LIMITED.
OFFICE KIRKPATRICK. G. C. PLUCKER