

322985



MEMORIA DESCRIPTIVA

para

una Patente de Invención
por veinte años en España,

a favor de

The Upjohn Company
(sociedad de EE.UU.)

322985

residente en

Kalamazoo, Michigan (EE.UU.)

301 Henrietta Street

por:

"PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DEL COMPUESTO LIDIMICINA"

INVENTORES: Malcolm Edward Bergy, John Henry Coats y Ladislav
James Hanka, todos de nacionalidad norteamericana.

PRIORIDAD: Solicitud Patente EE.UU. Serial No. 434.434 del día
23 de Febrero de 1965.



322985

Esta invención se refiere a una nueva composición de materia y a un proceso para la producción de la misma. Más particularmente, esta invención se refiere a un nuevo compuesto, lidimicina (U-15,965), y a un proceso para la preparación del mismo.

5

La lidimicina es un producto biosintético obtenido por cultivo de una actinomiceta productora de lidimicina en un medio nutritivo acuoso adecuado bajo condiciones aeróbicas. La lidimicina inhibe el crecimiento de Nocardia asteroides, Blastomyces dermatitidis, Geotrichum sp., Phialophora verrucosa, Cryptococcus neoformans,

10

Histoplasma capsulatum, y Trichophyton mentagrophytes. Así la lidimicina es útil sola o combinada con otros agentes antimicóticos o antibióticos para prevenir el crecimiento o reducir el número de microorganismos susceptibles presentes en diversos ambientes, por ejemplo, en plantas, y en animales tales como mamíferos, aves, peces, reptiles y seres humanos. También, lidimicina es útil en soluciones de lavado con propósitos sanitarios, como en el lavado de las manos y la limpieza del equipo, pisos o mobiliario de habitaciones contaminadas o laboratorios de micología; es también útil como un agente anti micótico en preservativos industriales, por ejemplo,

15

como un enjuague anti micótico para ropas lavadas y para impregnación de papeles y géneros; y es útil para suprimir el crecimiento de hongos de organismos sensibles en las pruebas en placa y otros medios biológicos. Se distingue de agentes antibióticos conocidos por su espectro infrarrojo característico, mostrado en la Figura 1; un trazado característico de cromatograma en papel, mostrado en

20

un trazado característico de cromatograma en papel, mostrado en

25

un trazado característico de cromatograma en papel, mostrado en

322985



1908

-3-

la Figura II; peso molecular; análisis elemental; rotación óptica; -
solubilidad; y espectro antimicótico.

Lidimicina es producida por la conocida actinomiceta Streptomyces lydicus, NRRL 2433. Este microorganismo se describe en Pa-
5 tente E.U.A. 3,160,560 para la producción del antibiótico estreptoli-
dina.

El nuevo compuesto de la invención es producido cuando el-
organismo productor se hace desarrollar en un medio nutritivo acuoso
bajo condiciones aeróbicas de inmersión. Debe entenderse que para la
10 preparación de cantidades limitadas pueden emplearse cultivos en su-
perficie en frascos. El organismo se hace desarrollar en un medio
nutritivo conteniendo una fuente de carbón, por ejemplo, un hidrato
de carbono asimilable, y una fuente de nitrógeno, por ejemplo, un --
compuesto de nitrógeno asimilable o material protéico. Las fuentes
15 de carbono preferidas incluyen, glucosa, azúcar moreno, sacarosa, -
glicerol, almidón, almidón de maíz, lactosa, dextrina, melazas, y -
fuentes semejantes de carbohidrato. Las fuentes de nitrógenos prefe-
ridas incluyen harina de semillas de algodón, levadura, levadura de
cerveza autolizada con sólidos de la leche, digerido pancreático de
20 caseína, sustancias solubles de destilación, líquidos con peptona -
animal, carne y trozos de huesos, y fuentes semejantes nitrogenadas.
Se puede usar ventajosamente la combinación de estas fuentes de car-
bono y de nitrógeno. Puede no ser necesario agregar al medio de fer-
mentación trazas de metales, como por ejemplo, zinc, magnesio, manga-
25 neso, cobalto, hierro y semejantes, puesto que el agua corriente e in-

322985

125



1908

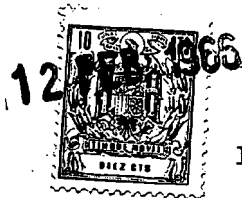
-4-

gredientes impuros son usados como componentes del medio.

5 La producción del compuesto de la invención puede ser efectuada a cualquier temperatura conveniente para el crecimiento satisfactorio del microorganismo, por ejemplo, entre unos 18° y 40° C y preferentemente entre unos 26° y 35° C. De ordinario, la producción óptima del compuesto se obtiene en unos 2 a 10 días. El medio normalmente permanece muy próximo a la neutralidad, o del lado ácido durante la fermentación. El pH final depende, en parte, de la presencia de soluciones amortiguadoras, y en parte del pH inicial del medio de cultivo que se ajusta ventajosamente a aproximadamente pH 6-8 antes de la esterilización.

10 Cuando se lleva a cabo el crecimiento en grandes recipientes y tanques, es preferible usar la forma vegetativa, más que la forma esporulada del microorganismo para inocular, para evitar un retardo pronunciado en la producción del nuevo compuesto y el consiguiente uso ineficaz del equipo. De acuerdo con esto, es preferible producir un inóculo vegetativo en un caldo nutritivo de cultivo inoculando el caldo de cultivo con una alícuota de un cultivo de suelo o de tubo inclinado. Cuando se ha asegurado así un inóculo vegetativo joven activo, este es transferido asépticamente a recipientes grandes o tanques. El medio en el cual se produce el inóculo vegetativo puede ser el mismo, o de forma diferente al utilizado para la producción del nuevo compuesto siempre que se obtenga un buen cultivo del microorganismo.

25 El nuevo compuesto de la invención, lidimicina, es una



sustancia ácida cuyo análisis elemental indica la fórmula empírica $C_{10}H_{14}N_2O_3$. La lidimicina es escasamente soluble en cloroformo, cloruro de metileno, y semejantes hidrocarburos halogenados; metanol, etanol, y alcoholes semejantes; acetato de etilo, acetato de amilo, acetato de butilo, y ésteres alifáticos semejantes; y en acetona, metil etil cetona, isopropil butil cetona, y alcanonas inferiores semejantes. La lidimicina es soluble en agua hasta una proporción de aproximadamente 1 mg/ml. Es apreciablemente más soluble en agua a pH de aproximadamente 6.0 ó mayor.

Pueden emplearse una variedad de procedimientos en el aislamiento y purificación de la lidimicina, por ejemplo, extracción con solvente, distribución líquido-líquido en un aparato Craig, el uso de adsorbentes, y cristalización de solventes. Un método preferido para la recuperación de lidimicina es el utilizar adsorbentes activos de superficie, por ejemplo, carbón decolorante o resinas decolorantes, y eluir el material adsorbido con un solvente. Cualquiera de los solventes mencionados arriba pueden utilizarse. Una resina decolorante adecuada es Permutita DR (Patente E.U.A. 2,702,263). En un proceso de recuperación preferido, el micelio de una fermentación de lidimicina se separa del caldo por medios convencionales tales como filtración o centrifugación. El fermentado clarificado es entonces pasado a través de una columna de carbón activado y la columna eluida por un sistema solvente de mezcla gradual constituido por agua y concentraciones cambiantes de una alcanona inferior (se prefiere acetona). El eluido de la



columna es concentrado hasta una solución acuosa y luego secado por congelación para dar una preparación seca de lidimicina. Esta preparación puede mezclarse fácilmente con otros agentes antibióticos para ser usada en los ambientes en que no es esencial un alto grado de pureza del antimicótico.

5

También puede usarse una resina de intercambio aniónico fuertemente básica para recuperar lidimicina del medio de cultivo. Se obtienen resinas de intercambio aniónico adecuadas para este propósito por clorometilación, por el procedimiento dado en páginas 88 y 97 de Kunin, Resinas de Intercambio Iónico, 2da. Edición (1958), John Wiley and Sons, Inc., de poliestireno de ligaduras cruzadas, si se desea, con divinilbenceno, preparado por el procedimiento indicado en página 84 de Kunin, supra, y cuaternando con trimetilamina o dimetiletanolamina por el procedimiento dado en página 97 de Kunin, supra. Las resinas de intercambio aniónico de este tipo se comercializan bajo los nombres de fábrica Dowex-1, Dowex-2, Dowex-3, Amberlite IR-400, Duolite A-102, y Permutita S-1. La resina puede eluirse como anteriormente y el eluido puede ser concentrado y secado por congelación como se describe anteriormente.

10

15

20

Cuando se desea lidimicina de alto grado de pureza, la preparación secada por congelación entonces puede someterse a proceso posterior, ventajosamente por cromatografía de partición y extracción con solvente. En un proceso de purificación preferido, una preparación acuosa secada por congelación de lidimicina se disuelve en un sistema solvente apropiado, constituido por solventes enumerados

25

322985

12 FEB



1908

-7-

5 anteriormente, y pasada a través de columna cromatográfica de parti-
ción. Las fracciones son seleccionadas de la columna y ensayadas -
para determinar lidimicina. Las fracciones altamente activas se -
mezclan y se concentran hasta una solución acuosa de la cual comien-
za la cristalización. Los cristales de lidimicina entonces pueden
10 ser recolectados por filtración y secados. Las fracciones obteni--
das de la columna de partición descrita anteriormente que no produ-
cen cristales, pueden ser distribuídas en un aparato Craig usando -
solventes enumerados anteriormente para una posterior purificación
de material y así inducir la formación de cristales de lidimicina.
15 Los cristales de lidimicina obtenidos como anteriormente pueden re-
cristalizarse de metanol para dar cristales de lidimicina de alta -
pureza.

15 Las sales de lidimicina se forman empleando el ácido libre
de lidimicina y una base inorgánica u orgánica. Las sales de lidi-
micina pueden prepararse, como por ejemplo, disolviendo el ácido li-
bre de lidimicina en agua, agregando una base diluída hasta que el
pH de la solución sea 7 a 8 y secando por congelación la solución -
para proporcionar un residuo seco constituido por sal lidimicina. -
20 Las sales de lidimicina que pueden formarse, incluyen las sales de
amonio, sodio, potasio y calcio. Otras sales de lidimicina, inclu-
yendo aquellas con bases orgánicas tales como monoaminas primaria,
secundaria y terciaria, como también con poliaminas, pueden formar-
se también usando los procedimientos descritos anteriormente u otros
25 comunmente empleados. Otras sales valiosas se obtienen con bases -



eficazmente terapéuticas que imparten efectos terapéuticos adicionales a las mismas. Tales bases son, por ejemplo, las bases de la purina tales como teofilina, teobromina, cafeína, o derivados de tales bases de purina; bases antihistamínicas que son capaces de formar sales con ácidos débiles; compuestos de piridina tales como amida del ácido nicotínico, hidrazida del ácido isonicotínico y semejantes; - fenilalquilaminas tales como adrenalina, efedrina, y semejantes; colina y otras. Las sales de lidimicina pueden usarse para los mismos propósitos biológicos que el ácido libre.

La lidimicina tiene una actividad antimicótica como se muestra en Tabla I. El espectro antimicótico se determinó por una valoración en placa de agar por dilución.

TABLA I
ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DE LIDIMICINA

	<u>ORGANISMO DE ENSAYO</u>	<u>CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA EN μ/ml.</u>
15	<u>Nocardia asteroides</u>	100
	<u>Blastomyces dermatitidis</u>	1000
	<u>Coccidioides immitis</u>	1000
	<u>Geotrichum sp.</u>	100
20	<u>Phialophora verrucosa</u>	100
	<u>Cryptococcus neoformans</u>	1000
	<u>Histoplasma capsulatum</u>	1000
	<u>Sporotrichum schenckii</u>	1000
	<u>Monosporium apiospermum</u>	1000
25	<u>Trichophyton rubrum</u>	1000



TABLA I (Continuación)

<u>Candida albicans ABBOTT</u>	100
<u>Trichophyton violaceum</u>	1000
<u>Trichophyton asteroides</u>	100
<u>Trichopyton mentagrophytes</u>	100

5

Lidimicina tiene un espectro antibacteriano como se muestra en Tabla II. El espectro antibacteriano fue determinado por la prueba de difusión con discos en placa de agar usando discos de tamaño de 13 mm.

10

TABLA II

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LIDIMICINA

<u>ORGANISMO DE ENSAYO</u>	<u>TAMAÑO DE ZONA (mm.)</u>
<u>Bacillus subtilis</u>	16 (turbio)
<u>Sarcina lutea</u>	24 (turbio)
<u>Staphylococcus aureus</u>	40
<u>Streptococcus faecalis</u>	22
<u>Mycobacterium phlei</u>	28
<u>Salmonella gallinarum</u>	21
<u>Rhodopseudomonas spheroides</u>	33
<u>Chromobacterium violaceum</u>	25 (turbio)

15

La lidimicina es también activa contra el hongo filamentoso Glomerella sp. y Penicillium oxalicum, y las levaduras Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces pastorianus, y Trigonopsis variabilis.

25

La lidimicina puede ser usada para controlar el hongo filamentoso



1966

1908

5 Glomerella sp. que se conoce como el causante de la podredumbre -
 amarga (bitter-rot) de la manzana (Malus), la marchitez de las pe--
 queñas ramitas y la mancha en forma de lágrimas de las frutas del -
 naranjo (Citrus), antracnosis del mango (Mangifera), y aguacate ---
 (Persea). La lidimicina también puede ser usada como un agente an-
 timicótico contra los hongos que atacan el calzado (shoe uppers) -
 como se revela en Patente E.U.A. 3,130,505. Además la lidimicina -
 puede ser usada para controlar S. gallinarum en el ganado y aves de
 corral y S. aureus en los utensilios de comida, lavados y apilados.

10 Los siguientes ejemplos son ilustrativos de los procesos
 y productos de la presente invención, pero no deben ser interpreta-
 dos como límites de la misma. Todos los porcentajes se expresan -
 en peso y todas las proporciones de mezclas de solvente lo son en
 volumen, salvo que se indique de otra manera.

15 EJEMPLO 1 - LIDIMICINA

A. FERMENTACION

Un cultivo madre de suelo de Streptomyces lydicus, NRRL
 2433, se usó para inocular una serie de frascos Erlenmeyer de - -
 500 ml conteniendo 100 ml de medio de siembra compuesto por los -
 siguientes ingredientes:

Glucosa monohidratada	25 g
Farmamedia*	25 g
Agua corriente c.s.p.	1 litro

*Farmamedia es un producto de tipo industrial de harina de semi-
 llas de algodón producido por Traders Oil Mill Co., Fort Worth,

322985

-11-



Texas.

El inóculo de siembra se hizo crecer durante dos días a 28°C en un agitador rotatorio Gump operando a 250 r.p.m.

5 El inóculo de siembra (5 ml), descripto anteriormente, se usó para inocular un frasco Erlenmeyer de 500 ml, conteniendo 100 ml del siguiente medio de fermentación estéril.

	Glucosa monohidratada	10 g
	Dextrina	20 g
	Levadura Pabst*	10 g
10	Harina de semillas de algodón	10 g
	Aceite de manteca de cerdo	1 ml
	Agua corriente, c.s.p.	1 litro

*Levadura de cerveza obtenida de la Pabs Brewing Company

15 El frasco de fermentación se hizo desarrollar durante 144 horas a una temperatura de 32°C, en un agitador rotatorio Gump operando a 250 r.p.m. A la recolección el fermentado tenía una valoración de 19.2 biounidades/ml contra S. pastorianus.

B. RECUPERACION

20 El fermentado total de una serie de frascos de fermentación, como se indica anteriormente, (920 ml con valoración 9.4 biounidades/ml de lidimicina contra el organismo S. pastorianus), se ajustó a pH 4.0 con ácido sulfúrico y se filtró con la ayuda de tierra de diatomeas. El conglomerado del filtro se lavó con un volumen de agua equivalente a un décimo del fermentado, y se descartó.

25 El caldo filtrado fue entonces pasado a través de una columna conte-

322985



-12-

niendo 27.1 gramos (3% p/v) de carbón activado granulado (Pittsburg
Coke and Chemical Company, Pittsburg, Pa.) a una velocidad del flu-
jo de aproximadamente 3.5 ml/min. El carbón entonces se lavó con -
60 ml de agua deionizada y se descartó el efluente. La columna de car-
bón se eluyó a su vez por un sistema de mezcla de solvente gradual
5 constituido por 400 gramos de acetona acuosa al 50%, y 400 gramos -
de acetona. En este sistema de elución, la acetona acuosa al 50% -
fue la primera en tomar contacto con el carbón. La velocidad de -
flujo durante el ciclo de elución fue 4 ml/min.; fueron recolecta--
10 das fracciones de 20 ml. Las fracciones 64 a la 100 se mezclaron,
se concentraron hasta una solución acuosa por destilación al vacío,
y se secaron por congelación; rendimiento 490 mg. de lidimicina con
la valoración de 12.0 biounidades/mg contra S. pastorianus. Este-
procedimiento fue la base para aumentar la producción con éxito.

15 C. CROMATOGRAFIA DE PARTICION DE LIDIMICINA PREPARACION I

El sistema solvente usado en la columna de cromatografía
de partición, consistía de acetato de etilo: ciclohexano: solución
amortiguadora McIlvaine pH3 (16:4:1). El lecho de columna se preparó
suspendiendo 1000 gramos de tierra de diatomeas lavada con ácido -
20 sulfúrico en la fase superior y homogeneizando la misma con 400 ml-
de fase inferior. La mezcla se vertió en una columna cromatográfi-
ca de vidrio de 3 pulgadas (Diámetro Interno) y se hizo compacto -
hasta una altura constante de aproximadamente 30 pulgadas usando 2
ó 3 libras de presión de aire. La lidimicina (130 gramos), designa
25 da como lidimicina preparación 1, preparada como se describió ante-

322985



-13-

1908

riormente, se disolvió en 100 ml de fase inferior. La solución se -
ajustó hasta pH 3.0 con ácido clorhídrico concentrado y luego se ho-
mogeneizó con 200 gramos de tierra de diatomeas y suficiente canti--
dad de fase superior para proporcionar una mezcla fluyente. Esta -
5 mezcla se agregó a la parte superior del lecho de columna y el nivel
del líquido se hizo escurrir hasta el nivel de la tierra de diatomeas.
Se agregó sistema solvente fresco, fase superior y se desarrolló la colum
na a una velocidad de flujo de aproximadamente 200-400 ml/min. Se -
recolectaron fracciones de 1 litro y se valoraron contra S. pasto---
10 rianus. Las fracciones que tenían una potencia mayor de 50 biounida
des/mg de lidimicina se mezclaron, se concentraron hasta 50 ml de so
lución acuosa (pH 2.5-3.0), y se almacenaron a 40° F durante un día.
Los cristales de ácido lidimicina se retiraron por filtración y se -
secaron al vacío; rendimiento 160 mg, valoración de 1617 biounidades/
15 mg, S. pastorianus. Los cristales se recrystalizaron disolviendo -
157 mg de cristales en 90 ml de metanol hirviendo. La solución se -
filtró y luego se evaporó hasta ebullición hasta un volumen de 20 ml.
El concentrado se enfrió a 0° C durante dos horas y los cristales li
dimicina se separaron por filtración y se secaron; rendimiento 125 mg.
20 con valoración de 1917 biounidades/mg, S. pastorianus.

Las preparaciones de lidimicina obtenidas de la columna de
cromatografía de partición, como se describe anteriormente, que no -
son cristalinas pueden obtenerse en la forma cristalina por distribu
ción en un aparato para distribución en contra corriente Craig, usan
do un sistema solvente constituido por 1-butanol:metil etil cetona:
25

322985

12



1908

-14-

5 agua (1:1:2). Se mezclan los contenidos de los tubos conteniendo la mayor porción de lidimicina y se concentran al vacío a menos de 50° C hasta una solución acuosa. El pH de esta solución acuosa se ajusta a pH 3.0 y la solución se deja en reposo a la temperatura ambiente durante 2 horas. Los cristales de lidimicina son separados entonces por filtración, lavados con agua, y secados hasta peso constante al vacío a 40° C.

EJEMPLO 2 - SAL DE AMONIO DE LIDIMICINA

10 El ácido libre de lidimicina (18.85 mg), preparado según - Ejemplo 1, se disolvió en 5 ml de agua a la que se agregó hidróxido de amonio concentrado hasta un pH de 8.0. La solución entonces se secó por congelación para dar 13.9 mg de sal de amonio de lidimicina con una valoración de 1612 biounidades/mg, S. pastorianus.

15 Una biounidad, como se usa a través de estas especificaciones, es aquella cantidad de antibiótico que, cuando se disuelve en 0.88 ml de la solución ensayo y se aplica a un disco de 12.7 mm, da una zona de 20 ml de inhibición bajo condiciones standard en el ensayo del disco-placa.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS DE LIDIMICINA

20 La lidimicina cristalina tiene las siguientes propiedades

físicas y químicas:

Color: Blanco.

Análisis elemental: C = 49.68, H = 6.04, O = 20.01, N = 11.38,
S = 12.84.

25 Fórmula empírica: $C_{10}H_{14}N_2O_3S$.

322985



-15-

Rotación óptica:

$[\alpha]_D^{25} = +92^\circ$ (c = 0.70 en solución amortiguadora de KH_2PO_4 , 0.1 M, pH 7.0)

Peso molecular:

242, como se determina por espectroscopía de masa.

5

Titrimetría:

$\text{pKa}' = 4.32$.

Peso equivalente:

244, como se determina por titrimetría.

Espectro ultravioleta:

La lidimicina no muestra absorción máxima en solución acuosa ácida, neutra o básica entre 220-400 $\text{m}\mu$.

10

Espectro infrarrojo:

El espectro de absorción infrarrojo de lidimicina en una suspensión con aceite mineral se reproduce en Figura I del dibujo.

La lidimicina muestra bandas en las siguientes longitudes de onda expresadas en cm^{-1} .

15

3320 (M - mediano)

1444 (M)

1060 (G)

3290 (P - pequeño)

1430 (M)

1035 (G)

2950 (M) (aceite)

1413 (M)

1010 (M)

2920 (P) (aceite)

1378 (G) (aceite)

982 (M)

20

2850 (M) (aceite)

1335 (M)

949 (G)

2640 (G - grande)

1315 (P)

910 (G)

2500 (G)

1308 (M)

890 (G)

2400 (G)

1294 (M)

867 (G)

2310 (G)

1283 (P)

852 (G)

25

1910 (G)

1273 (P)

841 (M)



1711 (P)	1238 (G)	810 (G)
1695 (P)	1203 (G)	760 (G)
1654 (M)	1163 (G)	743 (M)
1645 (P)	1142 (G)	690 (M)
5 1590 (M)	1118 (G)	683 (M)
1479 (M)	1093 (G)	655 (M)
1465 (M)	1077 (G)	

Las intensidades de banda se indican como "P", "M", y "G", respectivamente, y son aproximadas en el término de la intensidad de las bandas. Las bandas "P" son bandas de pequeña intensidad; las -
 10 bandas "M" son bandas de intensidad mediana; y las bandas "G" son -
 bandas de gran intensidad.

La lidimicina tiene un trazado cromatográfico en papel ca
 racterístico como se muestra en Figura II del dibujo cuando se usan
 15 los siguientes sistemas solventes:

- I. - 1-butanol, agua (86:16), 16 horas.
- II. - 1-butanol, agua (84:16), más ácido p-toluenosulfónico 0.25%, 16 horas.
- III. - 1-butanol, ácido acético, agua (2:1:1), 16 horas.
- 20 IV. - piperidina 2% (p/v) en 1-butanol, agua (84:16),
 16 horas.
- V. - 1-butanol, agua (4:96), 5 horas.
- VI. - 1-butanol, agua (4:96), más ácido p-toluenosulfónico
 0.25%, 5 horas.

25 En la fig. 1 significa A el % de transmisión y B la frecuencia en cm^{-1} ; en la Fig. 2 se indica con C la palabra *Saccharomycespastorianus*.



N O T A.-

La presente patente de invención, comprende las siguientes reivindicaciones:

5 1.- Procedimiento para la preparación del compuesto lidimicina, caracterizado porque se cultiva S. lydicus en un medio nutritivo acuoso bajo condiciones aeróbicas hasta que una actividad sustancial sea impartida a dicho medio por producción de lidimicina y el aislamiento de lidimicina.

10 2.- Procedimiento, caracterizado porque se cultiva S. lydicus en un medio nutritivo acuoso que contiene una fuente de hidrato de carbono asimilable y de nitrógeno asimilable, bajo condiciones aeróbicas, hasta que una actividad sustancial se haya impartido a dicho medio por la producción de lidimicina y el aislamiento de la lidimicina así producida.

15 3.- Procedimiento, de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado porque el aislamiento comprende filtración del medio, adsorción de la lidimicina sobre un agente tensio activo de superficie y recuperación de lidimicina del adsorbente.

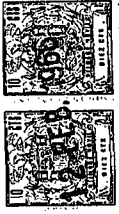
20 4.- Procedimiento para la preparación del compuesto lidimicina.

Según se describe y reivindica en la presente memoria, se ilustra con los planos adjuntos, la cual consta de diecisiete hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 12 FEB. 1966

CARLOS ROEB

P. R.



322985

FIGURA I

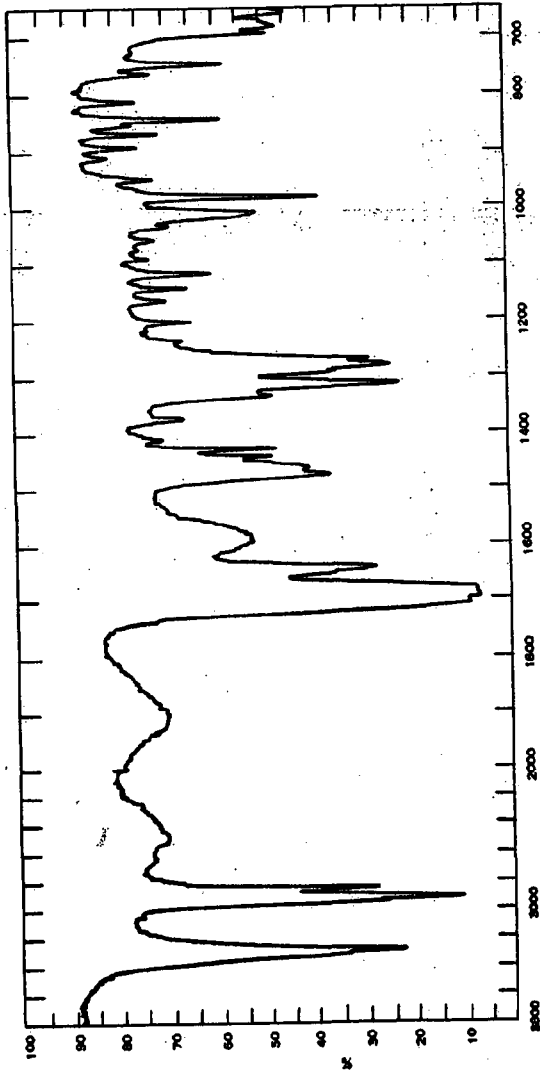
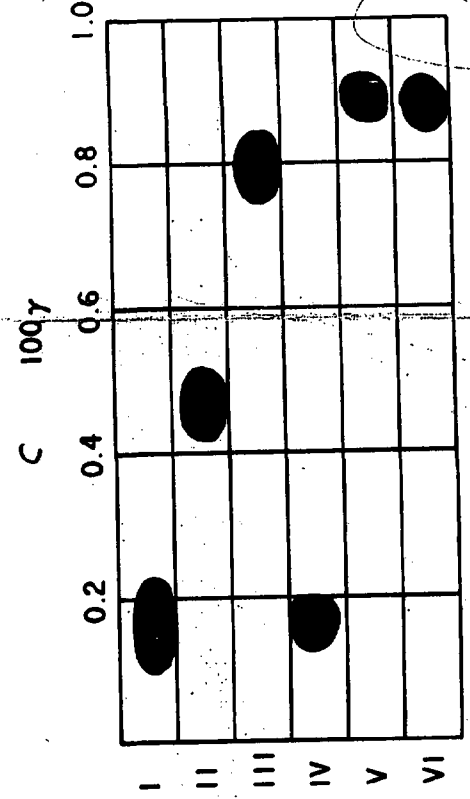


FIGURA II



ESCALA VARIABLE
CARLOS ROEE
P.F. 11