

AÑO

Expediente núm.



247189
REGISTRO DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL

247189

PATENTE DE **INVENCION.**

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de

una **PATENTE DE INVENCION** por 20 años, en España

a favor de

SANDOZ, A.G., entidad suiza., de nacionalidad

..... domiciliado en Basilea, Suiza.

calle de núm.

por:

«Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina»

PATENTE DE INVENCION
=====

Case 1005/1052.



Memoria Descriptiva 247189

sobre:

"Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina".

=====

Solicitante: SANDOZ, A.G., entidad suiza,
residente en Basilea, Suiza.

=====

5. La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención, de especies de hongos de los compuestos psilocibina y psilocina, hasta ahora desconocidos, de efecto psicotrópico. Se ha descubierto un procedimiento para la obtención de los compuestos mencionados, que se

247189



5. caracteriza, porque de *Psilocybe mexicana* Heim o de material funginoso cultivado artificialmente, obtenido de cultivos o de variantes o mutaciones biológicas de este hongo por inoculación de caldos de cultivo naturales o artificiales e incubación de estos cultivos, a la luz del día o en la oscuridad, a una temperatura constante entre 18° y 27° , según métodos conocidos, se extraen las materias activas, se limpian, se separan entre sí y, en caso dado, se liberan del halógeno.

10. Además se ha descubierto, que del material funginoso de origen natural de los géneros *Psilocybe*, *Stropharia*, *Conocybe*, *Panaeolus*, *Amanita* o *Russula*, o de materia funginosa cultivada artificialmente, obtenido de cultivos de las distintas clases de hongos o sus variantes biológicas o mutaciones, se pueden obtener en forma pura la psilocibina y la psilocina según la forma de trabajo arriba indicada.

20. Ya era conocido (R. Heim. C.r.hebd. Séances Acad. Sci. 242, 965 (1956) que una serie de clases de hongos naturales, que se encuentran en Méjico, Siberia oriental, Camchatca y en otras regiones de Asia y América, se emplean por los indígenas para finalidades rituales o como estimulantes o narcóticos, ya que su toma provoca en el cuerpo, y ante todo en la psiquis del hombre, efectos peculiares. En estos así llamados hongos halucinógenos se trata de los siguientes géneros: *Psilocybe*, *Stropharia*, *Panaeolus*, *Conocybe*, *Amanita*, *Russula*.

30. Hasta ahora no se logró, sin embargo, de muestras de hongos de origen natural o de materia funginosa cultivada artificialmente, el aislar las materias activas, o, partiendo de los hongos de origen natural, de cultivar en el labo-



247189

ratorio las clases de efecto halucinógeno bajo tales condiciones de cultivo, que se forme materia inicial activa en cantidades suficientes para la obtención de las materias activas en escala preparativa.

5. Se ha descubierto ahora un procedimiento según el cual las materias activas, hasta ahora desconocidas, del género de los hongos halucinógenos, preferentemente *Psilocybe mexicana* Heim, *Psilocybe caerulescens* Murril var. *mazatecorum* Heim, *Psilocybe caerulescens* Murril var. *nigripes* Heim, *Psilocybe zapotecorum* Heim, *Psilocybe semperviva* Heim et Cailleux, *Psilocybe aztecorum* Heim, *Stropharia cubensis* Earle, se obtienen en estado puro según métodos conocidos, bien directamente de la materia funginosa de origen natural o bien de la materia funginosa cultivadas de cultivos que se preparan sobre substratos naturales o artificiales, empleándose aquellos métodos de cultivo de manera, que así se obtengan cantidades de materia inicial activa técnicamente aplicables en escala preparativa para la obtención de las materias activas.
- 10.
- 15.
20. El procedimiento se realiza preferentemente de la siguiente manera:

Para el cultivo sobre substrato natural se prepara un mantillo de paja de trigo fermentada, una mezcla de hojas y cañas de maíz o tallos de hierbas silvestres, se lava abundantemente con agua corriente, se reparte en cuencos de barro y se esteriliza en el autoclave.
25. El mantillo se inocula con micelo de cultivos primarios, se incuba durante aprox. dos semanas a 24-27° , los cultivos se cubren con tierra esterilizada y se dejan por sí solos en la caja del cristal, a la luz del día,
- 30.



con una temperatura de 18-27°, manteniéndose constante el grado de humedad. Después de cuatro a cinco semanas aparecen los cuerpos de fruto; la recolección se efectúa de vez en cuando durante uno a dos meses, al empezar la formación de esporas.

5.

Como de esta manera la obtención de grandes cantidades de materia inicial resulta, sin embargo, algo prolija, se elaboraron otros métodos de cultivo. Aquí se descubrió inesperadamente, que los hongos en vitro, sobre substratos ricos en sustancia nutritiva, en lugar de micelo con cuerpos de fruto, forman casi exclusivamente micelo activo y parcialmente esclerotias en grandes cantidades, sobre substratos pobres en sustancia nutritiva, por el contrario, los conocidos cuerpos de fruto. Por ejemplo, sobre un caldo de agar (con 1,5%

10.

15.

de agar) el grado óptimo para la formación de cuerpos de fruto se encuentra en una concentración en sustancia seca de extracto de malta de 0,2 hasta 0,7%, el grado óptimo para la formación de micelo y esclerotias, por el contrario, en concentraciones de 4 hasta 10 % según la

20.

clase de hongo. Mientras que la luz del día es imprescindible para la formación de los cuerpos de fruto se encontró, por el contrario, que, al incubar los cultivos en la oscuridad, la formación de esclerotias o micelo es considerablemente más abundante. Los mejores rendimientos en materia funginosa activa (micelo y esclerotias) se

25.

obtienen si se preparan cultivos de superficie con caldos de extractos de malta (mosto de cerveza o preparados de extractos de malta adquiribles en el mercado con un 4

30.

hasta un 10% de sustancia seca y estos cultivos se incuban



247189

en la oscuridad a una temperatura constante entre 22 y 26°.

Para un buen crecimiento se le ha de agregar al caldo un 0,2% de agar: En este agente casi líquido encuentra el

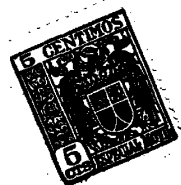
hongo aún justamente suficiente apoyo para formar rápida-

5. mente una capa de micelo bien cerrada. La adición de sales de hierro II es necesaria, además demuestran ser muy ventajosas las adiciones de sales de cinc, potasio, calcio y magnesio, de iones de nitrato, fosfato y sulfato, así como de extracto de levadura o de los así llamados
10. "Cornsteep Solids" (concentrado del agua de remojo de maiz).

Este procedimiento de cultivo significa un gran progreso técnico, ya que hace posible la obtención, de un tiempo más breve y bajo un empleo de trabajo más reducido - en comparación con el cultivo sobre substrato natural -, de un rendimiento más de 10 veces superior en materia inicial activa.

15. La materia funginosa activa (cuerpos de fruto, esclerotias o micelo) se seca cuidadosamente en la corriente de aire o en vacío a 10-40°, se muele lo más finamente posible y a temperatura de ambiente se extrae a fondo con agua, un alcohol alifático bajo o una mezcla de agua y un disolvente orgánico miscible con agua. Los extractos se evaporan en vacío a temperatura baja y el residuo
20. se desengrasa con éter de petróleo y, para retirar las materias secundarias inactivas, se extrae con acetona o cloroformo. Las ulteriores materias de lastre se separan mediante solución del residuo en la menor cantidad posible de agua y repetida precipitación con etanol absoluto o
25. acetona; el filtrado se evapora en vacío a temperatura baja.
- 30.

247189



- La ulterior limpieza se efectúa por cromatografía en polvo de celulosa según el procedimiento de paso; la elución se efectúa con butanol saturado en agua o con otro alcohol no miscible con agua. En las fracciones recogidas se comprueba, mediante la reacción seg. Keller (ácido acético glacial ferrocianuroso y ácido sulfúrico concentrado), el contenido de materia activa. Las fracciones con reacción de color positiva se reúnen y, en caso dado, se someten a una ulterior separación cromatográfica en una columna de polvo de celulosa. Del cromatograma de paso se aluye una zona de translación más rápida, que da una materia activa, caracterizada por la reacción de color seg. Keller puramente azul, llamada ("Psilocina" mientras que de una zona de translación más lenta se obtiene una segunda materia activa, predominante en cantidad, con reacción de color más violeta, la "Psilocibina".
- 5.
- 10.
- 15.

- las materias activas, obtenidas de la columna ya en forma bastante pura, son halogenosas y no cristalizan como tales: Solo mediante un tratamiento químico se puede retirar el halógeno, obteniéndose entonces compuestos cristalinos. Con este objeto se trata una solución acuosa de las materias activas con carbonato de plata, el filtrado se libera con sulfuro de hidrógeno de los iones de plata en exceso y se concentra por evaporación en vacío a temperatura baja, con lo que las substancias cristalizan de la solución concentrada.
- 20.
- 25.

- Para el análisis se vuelve a recrystalizar la Psilocibina de metanol o agua. De agua se obtienen finas agujas blancas como la nieve, de metanol placas hexagonales o prismas incoloras metanolosas que, a 195-200, funden
- 30.

247189



bajo descomposición. El compuesto se disuelve en 120 partes de metanol hirviendo o en 20 partes de agua hirviendo, en alcoholes más elevados u otros disolventes orgánicos es de muy difícil solución o insoluble.

5. Para el análisis se seca a 100° en alto vacío, con lo que se presenta una reducción del peso de un 10,4%. Los resultados del análisis elemental coinciden con la fórmula en bruto $C_{12}H_{17}O_4N_2P$ (P.m. 284,2). La psilocibina es un compuesto ópticamente inactivo anfotero y se disuelve

10. fácilmente, bajo formación de sal, en ácidos minerales acuosos diluidos y en álcalis acuosos diluidos. La solución de la psilocibina en etanol acuoso al 80 % reacciona ligeramente ácida (pH 5,2). El espectro ultravioleta en solución metanólica muestra bandas en 222, 267 y 290 mm.

15. Para el análisis se limpia la psilocina, mediante nueva cromatografía en una columna de polvo de celulosa, con butanol saturado de agua o mediante tratamiento con bicarbonato sódico en solución acuosa y agitación con éter o un disolvente orgánico. Los resultados del análisis

20. elemental coinciden con la fórmula en bruto $C_{12}H_{16}NO_2$.

La psilocina cristaliza de metanol o acetona; se disuelve moderadamente en agua, fácilmente en ácido diluido. Punto de fusión 173-176° (descomp.). La psilocina está caracterizada por el espectro ultravioleta (en solución

25. metanólica) con las máximas en 222, 260, 267, 283 y 293 mm por una parte y por la reacción de color seg. Keller por otra, donde - contrario a la psilocibina - se forma un color azul puro.

30. En la inyección subcutánea o administración peroral de 2 hasta 8 mg la psilocibina provoca en el

247189



hombre una disposición de ánimo pronunciadamente eufórica acompañada de falta de iniciativa y un sentimiento de indiferencia. En dosis más elevadas se presentan además de manifestaciones vegetativas, ciertas variaciones en la perceptibilidad. Los compuestos deberán emplearse para la investigación de enfermedades mentales y psicosis de las génesis más variadas y se pueden utilizar en los enfermos psíquicos como ayuda útil en el tratamiento psicoterapéutico.

10. EJEMPLO 1. Psilocibina y psilocina de Psilocybe mexicana Heim de procedencia natural.

Para el cultivo sobre substrato natural se prepara un mantillo de paja de trigo fermentada, se lava abundantemente con agua corriente, se reparte en cuencos de barro y se esteriliza en el autoclave. El mantillo se inocula con micelo de cultivos primarios, se incuba durante unas 2 semanas a 24-27°, los cultivos se cubren con arena estéril y se dejan por sí solos en la caja de cristal a la luz del día a temperatura de 21-22°. Después de 4 a 5 semanas aparecen los cuerpos de fruto; la recolección se efectúa de vez en cuando durante uno hasta dos meses al empezar la formación de esporas. Los cuerpos de fruto maduros de Psilocybe mexicana Heim se secan a continuación cuidadosamente en la corriente de aire a 30°. 54 g de los hongos secos se muelen lo más finamente posible y se agitan una vez con 600 cm³ y tres veces con 300 cm³ de metanol cada vez durante $\frac{1}{2}$ hora. Los extractos se reúnen y en vacío se evaporan hasta secar. Residuo 12 g. Para desengrasar se frota el residuo de metanol 4 veces con 250 cm³ de éter de petróleo y a continuación aún 3 veces con 100 cm³ de cloroformo + 10 % de alcohol.

247189



- El resto que aún queda sin disolver, de unos 10 g. se disuelve en 10 cm³ de agua y lentamente se mezcla con 100 cm³ de alcohol abs. con lo que en la solución se enriquece la sustancia activa. Esta operación se repite aún 2 hasta 3 veces. Las soluciones decantadas se evaporan en vacío hasta secar, se vuelve a disolver con metanol y se mezcla con 20 g. de polvo de celulosa + 5 % de agua. El metanol se vuelve a evaporar en vacío y el polvo celulósico con la sustancia activa adherida se vierte en una columna de 100 g. de polvo de celulosa + 5 % de agua (la columna se limpia primero con butanol saturado de agua). Se eluye con butanol saturado de agua y se recogen fracciones de 20 cm³. En el residuo de evaporación de las distintas fracciones se comprueba el contenido de materia activa con ayuda de la reacción de color según Keller. Para ello se preparan pruebas de 0,25 mg de residuo de evaporación con 2 cm³ de agente de reacción seg. Keller.
- 5.
- 10.
- 15.

- Las fracciones con reacción de color positiva se reúnen. El polvo amorfo se disuelve en 20 cm³ de agua y se agita con 0,5 g. de carbonato de plata. Después de la filtración se retira la plata con sulfuro de hidrógeno y a continuación se concentra cuidadosamente por evaporación. De la solución concentrada cristaliza la psilocibina en agujas finas incoloras (rendimiento 200 mg).
- 20.

- La psilocina se obtiene de los cuerpos de fruto solo en huellas.
- 25.

- La psilocibina de análisis puro se obtiene volviendo a recrystallizar de metanol o agua. Se disuelve en 120 partes de metanol hirviendo o 20 partes de agua a temperatura de ebullición. Del metanol se obtienen prismas
- 30.

247189



incoloros que funden bajo descomposición a 195-220°.

Los resultados del análisis elemental coinciden con la fórmula en bruto $C_{12}H_{17}O_4N_2P$.

5. El espectro ultravioleta, recibido en metanol, muestran las siguientes máximas: 222 mm, 267 mm y 290 mm.

La nueva materia activa tiene carácter anfótero. Se disuelve bajo formación de sal, tanto en álcali acuoso diluido como también en ácidos acuosos. La solución de la psilocibina en alcohol acuoso al 80 % tiene reacción ácida (pH 5,2).

10. EJEMPLO 2. Obtención de psilocibina y psilocina de Stropharia cubensis Earle de procedencia natural

Los cuerpos de fruto de Stropharia cubensis Earle, recogidos en Méjico, se secan cuidadosamente al aire a temperatura de ambiente en la sombra. 24,2 g de cuerpos de fruto secados se molturan lo más finamente posible y se agitan a temperatura de ambiente, una vez con 300 cm³ y tres veces, cada una con 150 cm³ de metanol, durante $\frac{1}{2}$ hora cada vez. Los extractos se reúnen y se evaporan en vacío hasta secar. El residuo (6 g) se frota, para desengrasar, cuatro veces, cada una con 125 cm³ de éter de petróleo y otras 3 veces, cada una con 50 cm³ de cloroformo, que contiene 10 % de etanol. El resto que aún queda sin disolver, de unos 5 g, se disuelve en 5 cm³ de agua y de esta solución se precipitan ulteriores materias acompañantes mezclando lentamente con 50 cm³ de etanol, con lo que se enriquecen las materias activas en la solución. La limpieza se repite, en igual forma, aún dos a tres veces. Las soluciones decantadas se reúnen y se evaporan en vacío hasta secar. El residuo se recibe en metanol y se mezcla con 10 g. de polvo de celulosa al que se le agregaron



247189

- 5 % de agua. El metanol se evapora en vacío y el polvo celulósico adherido con la sustancia activa se vierte en una columna de 50 g. de polvo de celulosa que contiene 5 % de agua; antes se leva la columna con butanol saturado de agua. Se eluye con butanol saturado de agua y se recogen fracciones de 10 cm³. Las distintas fracciones se evaporan en alto vacío a un máximo de temperatura del baño de 50° y se comprueba el contenido de materia activa con ácido acético glacial ferrocianuroso y ácido sulfúrico concentrado. Para ello se preparan pruebas de 0,25 mg de residuo con 2 cm³ de agente de reacción seg. Keller. Las fracciones activas se caracterizan por una reacción seg. Keller violeta (psilocibina) o azul puro (psilocina).

- Las fracciones con reacción de color positiva de la misma tonalidad se reúnen. El polvo amorfo de los residuos de evaporación arriba indicados se disuelven en 2 cm³ de agua y se agita con 0,25 g. de carbonato de plata. Después de la filtración se retiran los iones de plata en exceso con sulfuro de hidrógeno. De la solución concentrada cuidadosamente por evaporación cristaliza la psilocibina en agujas finas incoloras. Se obtienen 58 mg. de psilocibina cristalizada, correspondiente a un rendimiento de 0,24 % - referido al cuerpo de fruto seco - y una huella de psilocina.

25. EJEMPLO 3. Obtención de psilocibina y psilocina de cultivos puros de *Psilocybe semperviva* Heim et Cailleux.

a) Obtención del material de inoculación.

- De basidicesporas del hongo *Psilocybe semperviva* Heim et Cailleux se preparan cultivos puros sobre mosto de cerveza-agar. Para este objeto se recogen las esporas

247189



que caen de las láminas del cuerpo de fruto maduro sobre una base estéril y se aplican sobre mosto de cerveza-agar y se incuba. De los cultivos primarios así obtenidos se prepara el material de inoculación en cantidad suficiente de la siguiente manera:

5.

El micelo se pica con una espátula basta, bajo agua del grifo estéril, de manera que se forme una suspensión de copos de micelo finos. Con esta suspensión se inoculan matraces de Erlenmeyer que contienen un caldo

10.

y cuerpos de relleno de porcelana en forma de arzón, tal y como se emplean para el relleno de columnas de destilación. Las mejores experiencias las hemos realizado con matraces

Erlenmeyer de 300 cm³, conteniendo 50 g. de cuerpos de relleno (tamaño 1 cm. peso aprox. 0,9 g) y 80 cm³ de caldo

15.

compuesto de mosto de cerveza de aprox. 4% de sustancia seca y 0,2 % de agar.

El cultivo se incuba a una temperatura de 24°; después de dos semanas se ha formado sobre la superficie una capa de micelo compacta. Todo el cultivo se agita durante 30 minutos sobre la máquina agitadora rotativa con lo cual los cuerpos de relleno, con sus aristas vivas, molturen el micelo: se forma así una fina suspensión de copos de micelo. El material de inoculación así obtenido es suficiente para la inoculación de 50 litros de caldo.

20.

25.

b) Obtención del cultivo.

Mosto de cerveza fresco y claro, sin adición de lúpulo, se diluye con agua del grifo a un contenido de 8 % de sustancia seca. Por cada litro de esta solución



247189

se agregan:

	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,00417 g.
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,00172 g.
	Ca(NO ₃) ₂	1,0 g.
5.	KH ₂ PO ₄	0,0624 g.
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,0624 g.
	KCl	0,0312 g.
	Agar-agar	2,0 g.

- Este caldo se introduce en porciones de 1 litro en matraces de penicilina y se destila durante 25 minutos en el autoclave a 108°. Después de enfriar se inoculan los matraces, cada uno con 2 cm³ de una suspensión de Psilocybe semperviva Heim et Cailleux, Los cultivos obtenidos se incuban en la oscuridad a 24-26°. Se forma la capa de micelo descrita bajo 3 a).

15.

c) Aislamiento del material funginoso.

- Después de siete semanas se filtra el cultivo maduro a través de una tela de gasa, se prensa el material funginoso y se seca en vacío a 30°. De un preparado con 100 matraces de penicilina, que contiene 100 litros de caldo se obtiene durante la recolección, después de 49 días, 2540 g de material seco, es decir 25,4 g por litro de caldo preparado. El filtrado del cultivo, que también contiene determinadas cantidades de materia activa, se elabora en igual forma como descrito en el siguiente párrafo para el material funginoso.

25.

d) Obtención de las materias activas.

- 306 g de material funginoso seco se pulverizan lo más finamente posible, se agitan tres veces, cada una con 500 cm³ de cloroformo y otras tres veces, cada una

30.

247189



- con 500 cm³ de cloroformo que contiene 10 % de etanol. De esta manera se disuelven 2,8 g de materias secundarias inactivas. El material funginoso, previamente extraido, se extrae a fondo una vez con 3 litros y tres veces, cada una con 1,5 litros de metanol. Los extractos reunidos se evaporan bajo presión reducida hasta secar, quedando un residuo marrón claro de 17,5 g. Para retirar las impurezas grasosas se recibe este residuo en 17,5 cm³ de agua y la suspensión se agita una vez con 500 cm³ y dos veces cada una con 250 cm³ de éter de petróleo. La solución de éter de petróleo contiene 0,75 g. de materias secundarias inactivas. La solución acuosa residual se concentra por evaporación en vacío a unos 25 cm³ y agitando fuertemente se mezcla lentamente con 250 cm³ de etanol absoluto. De la precipitación pegajosa, que así se forma, se separa mediante decantación la solución que contiene la materia activa. La precipitación se vuelve a disolver en poca agua y se trata con 10 veces la cantidad de etanol abs. Esta limpieza, mediante precipitación, se repite aún dos veces con el residuo. Las soluciones se reúnen y, en vacío, se evaporan hasta secar. Queda un residuo sólido de 11,7 g que contiene toda la cantidad de la materia activa.
- Para la cromatografía en la columna de celulosa se disuelve el residuo en la menor cantidad posible de metanol al 50 %, la solución se mezcla bien con 40 g. de polvo de celulosa y el material se seca en vacío. El polvo celulósico, cargado de esta manera con sustancia, se vierte en una columna de celulosa, que se prepara mediante suspensión de 350 g. de polvo de celulosa con butanol saturado de agua. Se desarrolla por el procedimiento de
- 5.
 - 10.
 - 15.
 - 20.
 - 25.
 - 30.



247189

paso con butanol saturado de agua con lo que se separan fracciones de 100 cm³ cada una y que se evaporan en alto vacío a una temperatura del baño que no supere los 50°.

5. Las fracciones centrales (3,35 g) dan una reacción de color seg. Keller positiva y para su ulterior limpieza se vuelven a cromatografiar, según el mismo procedimiento, sobre polvo de celulosa.

10. Durante el desarrollo con butanol saturado de agua se separan fracciones de 50 cm³ de cada una y después se evaporan en alto vacío, a una temperatura máxima del baño de 50°, se comprueba con la reacción de color seg. Keller. Se obtiene así la siguiente distribución:

Fracción nº	Resíduo mg	Reacción de color seg. Keller
1 - 7	1270	negativa
15. 8 - 16	87	azul puro
17 - 20	79	negativa
21 - 30	1053	violeta
31 - 43	758	negativa

20. El resíduo de las fracciones 8 - 16 (87 mg), da, después del tratamiento con carbonato de plata, como descrito en el ejemplo, 2,45 mg de psilocina pura. Las fracciones 21 - 30 (1053 mg) dan después del tratamiento con carbonato de plata, 765 mg de psilocibina pura.

25. Del filtrado del cultivo se obtienen las materias activas según el mismo procedimiento. Con este objeto se concentra el filtrado en vacío a aprox. 1/10 de su volumen. Se precipita con 10 veces su volumen de metanol, se filtra de las materias secundarias precipitadas, la solución se



247189

evapora en vacío hasta secar y el residuo se extrae tres veces con 10 veces la cantidad de metanol. El residuo de evaporación de los extractos metanólicos se sigue elaborando como arriba indicado. De 12 litros de filtrado de

- 5. cultivo se obtienen 80 mg de psilocibina y 6mg de psilocina. Rendimiento total: 845 mg de psilocibina y 51 mg de psilocina, lo que corresponde a un contenido de 0,28 % o 0,017 % referido al material funginoso seco.

EJEMPLO 4. Obtención de psilocibina y psilocina de cultivos puros de Psilocybe mexicana Heim.

- 10. En este ejemplo se da una descripción detallada sobre el cultivo del hongo Psilocybe mexicana Heim en vitro para la producción de micelo y esclerotias, así como sobre la obtención de las materias activas puras.

- 15. Mosto de cerveza claro, fresco y sin adición de lúpulo se diluye con agua del grifo a un contenido de 4,0 - 4,5% de sustancia seca. Por cada litro de esta solución se agregan

FeSO ₄ .7H ₂ O	0,00417 gramos
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00172 "
Agar-agar	2,0 "

- 20. Este caldo se introduce en porciones de 500 cm³ cada una en matraces de Fernbach de 1,6 litros de capacidad cada uno y se esteriliza durante 25 minutos en el autoclave a 108°. Después de enfriar se inoculan los matraces, cada
- 25. uno con 2 cm³ de una suspensión del hongo Psilocybe mexicana Heim. El material de inoculación se obtiene preparando de basidiosporas del hongo mencionado cultivos puros sobre mosto de cerveza-agar. Las esporas que caen de las láminas de un cuerpo de fruyo maduro se recogen sobre una base
- 30. estéril, se aplican sobre mosto de cerveza-agar y se

247189



- incuba. De los cultivos primarios, que se forman de esta manera, se puede obtener el material de inoculación de la siguiente manera: El micelo se pica con una espátula basta, bajo agua del grifo estéril, de manera que se forme una suspensión de copos de micelo finos. Con ella se inoculan
5. matraces de Erlenmeyer, que contienen un caldo y cuerpos de relleno de porcelana en forma de arzón. Las mejores experiencias las hemos realizado con matraces de Erlenmeyer de 300 cm³ conteniendo 50 g de cuerpos de relleno (Tamaño: 1 cm, peso aprox. 0,9 g) y 80 cm³ de caldo compuesto de mosto de cerveza de aprox. 4 % de substancia seca y 0,2 % de agar. Incubado a 24° se ha formado, después de 2 semanas, sobre la superficie una capa de micelo compacta. Todo el cultivo se gira durante 30 minutos en la máquina agitadora,
10. con lo que los cuerpos de relleno molturan el micelo de manera que se forma una fina suspensión de copos de micelo. El material de inoculación así obtenido es suficiente para la inoculación de 25 litros de caldo.
- 15.

- Los cultivos inoculados se incuban en la oscuridad a 24-26°. Se forma la capa de micelo ya descrita con esclerotias muy numerosas que, por lo general, alcanzan un tamaño de hasta aprox. 1 cm (algunas pueden ser considerablemente mayores). Para la separación del micelo y las esclerotias se filtran los cultivos maduros a través de una
20. tela de gasa, se prensa y se seca en el armario de secado a 35-40°. De un preparado con 134 matraces de Fernbach, que contienen 67 litros de caldo, se obtuvieron en la recolección, después de 62 días, 1149 g de material seco (esclerotias y micelo), lo que corresponde a 17,14 g
- 25.
30. por litro de caldo empleado.

247189



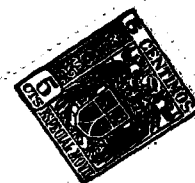
- metanol al 50%, la solución se mezcla bien con 80 g de polvo de celulosa y el material se seca en vacío. El polvo de celulosa cargado de esta manera con la sustancia se introduce en una columna de celulosa que se preparó mediante suspensión de 700 g de polvo de celulosa en butanol saturado con agua. Se desarrolla con butanol saturado en agua por el procedimiento de paso, separándose fracciones de 200 cm³ cada uno y que se evaporan en alto vacío a una temperatura del baño que no sobrepase los 50°. De esta manera se obtiene la siguiente repartición:
- 5.
- 10.

TABLA 1.

Fracción nº	Residuo g	Reacción de color seg. Keller.
1 - 14	2,170	negativa
15 - 34	6,660	positiva
35 - 40	3,540	negativa
	<u>12,370</u>	

- El resto de aprox. 11 g queda adherido en la columna.
- Las fracciones 15 hasta 34, que suministran en total un residuo de 6,660 g, contienen la cantidad total de las materias activas. Para la ulterior limpieza se vuelven a cromatografiar como descrito a continuación. Se disuelve el residuo de 6,66 g en la menor cantidad posible de metanol y con ello se impregnan 20 g de polvo de celulosa. Después de secar se vierte éste sobre una columna de 600 g de polvo de celulosa previamente tratado como arriba indicado. Durante el desarrollo con butanol
- 15.
- 20.
- 25.

247189



saturado de agua se separan fracciones de 100 cm³ cada una y después de evaporar en alto vacío se comprueban con la reacción de color. Se obtiene así la siguiente distribución:

5.

TABLA 2.

Fracción nº	Residuo mg	Reacción de color seg. Keller.
1 - 8	2950	negativa
9 - 17	180	azul/puro
18 - 21	155	negativa
22 - 31	912	violeta
32 - 45	1510	negativa

10.

El residuo de las fracciones 9 - 17

(180 mg) da, después del tratamiento con carbonato de plata, como descrito en el ejemplo 1, 90 mg de psilocina pura.

15.

Las fracciones 22 - 31 (Tabla 2) dan, después

del tratamiento descrito en el ejemplo 1 con carbonato de plata, 619 mg de psilocibina pura con las propiedades descritas en el ejemplo 1. Del filtrado del cultivo se obtienen las materias activas según el mismo procedimiento

20.

como descrito mas arriba para las esclerotias. Con este objeto se concentra el filtrado del cultivo en vacío a aprox. 1/10 de su volumen. Se precipita con 10 veces el volumen de metanol, se filtra y el residuo se extrae

25.

3 veces con 10 veces el volumen de metanol. El residuo de evaporación de los extractos metanólicos se sigue elaborando como descrito mas arriba. De 10 litros de



247189

filtrado de cultivo se obtienen, por ejemplo, 220 mg de psilocibina y 12 mg de psilocina.

EJEMPLO 5. Psilocibina y psilocina de cultivos puros de Stropharia cubensis Earle.

Un caldo se prepara de la siguiente manera:

5. Mosto de cerveza claro, fresco, sin adición de lúpulo se diluye con agua del grifo a un contenido de 6 % de sustancia seca. Por cada litro de esta solución se agregan

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,0021 g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,0009 g
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1,0 g
KH_2PO_4	0,0624 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,0624 g
KCl	0,0312 g
Agar-agar	2,0 g

15. Este caldo se esteriliza como en el ejemplo 3 y por litro se inyecta con 2 cm³ de una suspensión del hongo *Stropharia cubensis* Earle de Cambodscha. La obtención de esta suspensión de inoculación se efectúa como indicado en el ejemplo 3 a). Después de una incubación de 52 días
20. en la oscuridad a 24° se obtienen, de un preparado de 20 litros, 452 g de material funginoso secado, es decir 22,6 g por litro. La obtención de las materias activas del material funginoso se efectúa según el procedimiento descrito en el ejemplo 3. Rendimiento: 1083 mg de psilocibina cristalizada pura y 45 mg de psilocina, lo que
25. corresponde a un rendimiento de 0,24 % o 0,010 % referido al material funginoso secado.

247189



EJEMPLO 6. Psilocibina y psilocina de Psilocybe semperviva Heim et Cailleux de procedencia natural.

- Los cuerpos de fruto maduros obtenidos por cultivo artificial sobre caldo natural (mantillo) de Psilocybe semperviva Heim et Cailleux se secan cuidadosamente en la corriente de aire a 30°. 32 g de los cuerpos de fruto secados se molturan lo más finamente posible y, a temperatura de ambiente, se agitan una vez con 300 cm³ y tres veces, cada una, con 150 cm³ de metanol, durante $\frac{1}{2}$ hora cada vez. Los extractos reunidos se evaporan en vacío hasta secar. El residuo (8,3 g) se frota, para desengrasar, cuatro veces, cada una con 125 cm³ de éter de petróleo y tres veces, cada una con 50 cm³ de cloroformo que contiene 10 % de etanol. Queda un resto de 6,5 g. Este resto se disuelve en 6 cm³ de agua y la solución se mezcla lentamente con 60 cm³ de etanol abs. para precipitar las ulteriores materias secundarias, y enriquecer así la sustancia activa en la solución. La limpieza se repite dos veces en forma idéntica. Las soluciones se decantan, se reúnen y en vacío se evaporan hasta secar. El residuo se recibe en metanol y como descrito en el ejemplo 2 se cromatografía sobre polvo de celulosa. A las materias activas, así obtenidas, se les extrae el halógeno mediante tratamiento con carbonato de plata. Después de recrystalizar se obtienen 160 mg de psilocibina cristalizada y 32 mg de psilocina, lo que corresponde a un contenido de 0,5 % o 0,1 % referido al material funginoso secado.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

EJEMPLO 7. Psilocibina de Psilocybe caerulescens Murrill var. Mazatecorum Heim de procedencia natural.

Los cuerpos de fruto maduros obtenidos por



5. cultivo artificial sobre caldo natural (mantillo) de *Psilocybe caerulescens* Murril var. *Mazatecorum* Heim se secan cuidadosamente, después se moltura finamente el material funginoso secado (7,3 g) y se extrae a fondo con metanol, tal como descrito en el ejemplo 2. Los extractos se reúnen y en vacío se evaporan hasta secar. El residuo se sigue elaborando a materias activas como indicado en el ejemplo 2. Se obtienen 14,6 mg de psilocibina pura, lo que corresponde a un contenido de 0,2 % de psilocibina (referido al material funginoso secado). De la muestra funginosa preparada no se obtuvo ninguna psilocina.

EJEMPLO 8. Psilocibina de cultivos puros de *Psilocybe caerulescens* Murril var. *Mazatecorum* Heim.

15. Se prepara el caldo diluyendo mosto de cerveza claro, fresco, sin adición de lúpulo, con agua del grifo a un contenido de 4,0 % de sustancia seca. Por cada litro de esta solución se agregan:

	"Cornsteep Solida"	10,0	g.
20.	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00834	g
	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	0,20	g
	K_2HPO_4	0,20	g
	NH_4OH	0,25	g
	Agar-agar	2,0	g

25. Valor pH de la solución: 5,4.

30. Este caldo se esteriliza como indicado en el ejemplo 3, se inocula con la suspensión de micelo de un cultivo puro de *Psilocybe caerulescens* Murril var. *Mazatecorum* Heim de Méjico, y los cultivos obtenidos se incuban en la oscuridad a 26°. Después de 48 días se recogen 20,4 g de material funginoso secado, por litro



de solución. El aislamiento y limpieza de las materias activas de este material se efectúa como indicado en el ejemplo 3. Rendimiento de un preparado de 10 litros de caldo: 449 mg de psilocibina, correspondiente a un contenido de 0,22 %, referido al material funginoso secado.

5. En este preparado no se encontró psilocina.

EJEMPLO 9. Psilocibina de Psilocybe Zapotecorum Heim de procedencia natural.

10. Los cuerpos de fruto maduros recogidos y seleccionados en el "pays chatino", Méjico, de Psilocybe Zapotecorum Heim se secan cuidadosamente (Resíduo 42,4 g) se molturan lo más finamente posible y se agita con metanol, como descrito en el ejemplo 2. Los extractos metanólicos reunidos se evaporan en vacío hasta secar.

15. El resíduo se sigue elaborando como indicado en el ejemplo 2. Se obtienen 212 mg de psilocibina pura, lo que corresponde a un contenido de 0,5 %. Del material funginoso elaborado no se obtuvo ninguna psilocina.

EJEMPLO 10. Psilocibina de cultivos puros de Psilocybe Zapotecorum Heim.

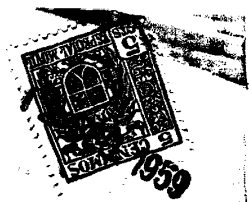
20. Mosto de cerveza claro, fresco, sin adición de lúpulo, se diluye con agua del grifo a un contenido en sustancia seca de 4,5%. Por cada litro de esta solución se agrega:

25.	FeSO ₄	0,00834 g
	"Cornsteep Solida"	10,0 g
	NH ₄ OH	0,30 g
	K ₂ HPO ₄	0,30 g
	Agar-agar	2,0 g

Valor pH de la solución: 5,5.

30. Este caldo de cultivo se esteriliza como indicado en el ejemplo 3 y se inocula con una suspensión de micelo de

247189



5. un cultivo puro que se obtuvo de cuerpos de fruto maduros de *Psilocybe Zapotecorum* Heim del "pays Chatino", Méjico. Después de incubar durante 57 días en la oscuridad a 24° se obtiene un preparado de 25 litros de 430 g de material funginoso seco, es decir, 17,2 g por litro. La obtención de la materia activa de este material se efectúa según el procedimiento descrito en el ejemplo 3. Rendimiento: 903 mg de psilocibina pura, lo que corresponde a un contenido de 0,21 % referido al material funginoso secado. Ninguna psilocina.

10.

EJEMPLO 11. Psilocibina y psilocina de *Psilocybe Aztecorum* Heim de procedencia natural.

15. Los cuerpos de fruto de *Psilocybe Aztecorum* Heim maduros recogidos en Méjico en la zona de los aztecas (en el Popocatépetl a 3300 hasta 3500 m sobre el nivel del mar) se secan cuidadosamente, se moluran lo más finamente posible y se extrae a fondo con metanol como descrito en el ejemplo 2. El residuo se elabora a materias activas como indicado en el ejemplo 2. Se obtienen 570 mg de psilocibina pura y 47 mg de psilocina, lo que corresponde a un contenido de 0,2 % ó 0,017 % referido al material funginoso secado (285 g).

20.

EJEMPLO 12. Psilocibina y psilocina de cultivos puros de *Psilocybe Aztecorum* Heim.

25. El caldo se prepara de la siguiente manera:

Extracto de malta	100	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,00417	g
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,00172	g
Ca(NO ₃) ₂	1,0	g
KH ₂ PO ₄	0,25	g
30. MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,25	g
KCl	0,125	g
Agar-agar	2,0	cm ³
Agua del grifo a 1000		



247189

- El caldo se esteriliza en el autoclave durante 25 minutos a 108°. Un litro se inocula con 2 cm³ de una suspensión del hongo *Psilocybe Aztecorum* Heim. Esta suspensión de inoculación se prepara como indicado en el ejemplo 3 a). Los cultivos se incuban en la oscuridad durante 45 días a 24° y se recogen como indicado en el ejemplo 3 c). Rendimiento de 10 litros de caldo: 86,5 g de micelo secado. El micelo molturado lo más finamente posible se agita durante $\frac{1}{2}$ hora con 1 litro de etanol acuoso al 80 % a temperatura de ambiente. Después de filtrar del residuo, éste se extrae otras tres veces en idéntica forma. El residuo de evaporación de los extractos reunidos (8,9 g) se extrae, para retirar las materias secundarias grasosas y materias de lastre inactivas, consecutivamente dos veces con 100 cm³ de éter de petróleo, dos veces con 80 cm³ de cloroformo y dos veces con 50 cm³ de acetona. Quedan 5,6 g de un polvo soluble en agua, que se disuelve con 6 cm³ de agua. Agitando bien, se mezcla la solución lentamente con 60 cm³ de acetona, se separa la precipitación obtenida, se vuelve a disolver en poca agua y nuevamente se precipita de 10 veces la cantidad de acetona. Esta limpieza por precipitación se repite otras dos veces con la parte insoluble en acetona, después de lo cual, toda la cantidad de las materias activas ha pasado a los extractos acuoso-acetónicos. Los extractos se evaporan en vacío y el residuo (2,8 g) se sigue limpiando y divide por cromatografía en una columna de polvo de celulosa, como descrito en el ejemplo 3.
- Después de cromatografiar 2 veces se obtienen 225 mg de psilocibina cristalizada y 15 mg de psilocina, lo que corresponde a un rendimiento de 0,26 % o 0,017%
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.
- 30.

247189



referido al material funginoso secado.

EJEMPLO 13. Preparación de un cultivo.

Un caldo se prepara de la siguiente manera:

5. Mosto de cerveza fresco (claro, sin lúpulo) se diluye con agua del grifo hasta un contenido en sustancia seca de 4,0 hasta 4,5 %. Por cada litro de esta solución se agregan:

	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,00209	gramos
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,00086	"
10.	Ca(NO ₃) ₂	0,25	"
	KH ₂ PO ₄	0,0625	"
	MgSO ₄	0,0625	"
	KCl	0,031	"
	Agar-agar	2,0	"

15. Este caldo se esteriliza como indicado en el ejemplo 4 y se inocula. Después de incubar durante 48 días a 24° se logra en un preparado de 55 litros, un rendimiento de 924 g de esclerotias y micelo (sustancia seca), lo que corresponde a 16,6 g por litro. La obtención de la materia activa se puede efectuar como descrito en el ejemplo 4.

Rendimientos: Psilocina 0,018 % y psilocibina 0,12 % del material funginoso secado.

EJEMPLO 14. Preparación de un cultivo

25. Un caldo se prepara de la siguiente manera:

Mosto de cerveza fresco (claro, sin lúpulo), se diluye con agua del grifo a un contenido de sustancia seca de 4,0 hasta 4,5%. Por cada litro de esta solución se agregan:

247189



FeSO ₄ .7H ₂ O	0,00209	gramos
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00086	"
Ca(NO ₃) ₂	1,0	"
Agar-agar	2,0	"

5. Este caldo se esteriliza como en el ejemplo 4, se inocular y se incuban. Después de 48 días se obtienen, por litro de caldo, 20,5 g de esclerotias y micelo secado, del cual se aislan las materias activas como indicado en el ejemplo 4. Rendimientos: Psilocina 0,011 % y psilocibina 0,14 % del material funginoso secado.

EJEMPLO 15. Preparación de un cultivo

Un caldo se prepara de la siguiente manera:

Mosto de cerveza fresco (claro, sin lúpulo), se diluye con agua del grifo a un contenido de sustancia seca de 4,0 hasta 4,5 %. Por cada litro de esta solución se agregan:

15.

FeSO ₄ .7H ₂ O	0,00209	gramos
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00086	"
KH ₂ PO ₄	0,25	"
Agar-agar	2,0	"

20.

La ulterior elaboración se efectúa como descrito en el ejemplo 4. El rendimiento en esclerotias y micelo asciende, después de 48 días a 15,9 g por litro de caldo. El aislamiento de las materias activas se efectúa como descrito en el ejemplo 4. Rendimientos: psilocina 0,02% y psilocibina 0,11 % del material funginoso secado.

25.

EJEMPLO 16. Preparación de un cultivo.

Un caldo se prepara de la siguiente manera:

Mosto de cerveza fresco (claro, sin lúpulo) se diluye con agua del grifo a un contenido de sustancia seca de 4,0 hasta 4,5 %. Por cada litro de esta solución se

30.



247 189

agregan:

	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00209	gramos
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00086	"
	"Cornsteep Solids"	20,0	"
5.	Agar-agar	2,0	"

La ulterior elaboración se efectúa como descrito en el ejemplo 4. El rendimiento en esclerotias secadas y micelo asciende, después de 48 días, a 29,8 g por litro de caldo. El aislamiento de las materias activas se efectúa

10. como descrito en el ejemplo 4. Rendimientos: psilocina 0,012 % y psilocibina 0,22 % del material funginoso secado.

EJEMPLO 17. Preparación de un cultivo.

Un caldo se prepara de la siguiente manera:

	Extracto de malta	45	gramos
15.	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00417	"
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00172	"
	Agua del grifo	1000	cm ³

20. El caldo se esteriliza en el autoclave durante 25 minutos a 108°. 1 litro se inocula con 10 cm³ de una suspensión del hongo *Psilocybe mexicana*. La obtención de esta suspensión de inoculación se efectúa como descrito en el ejemplo 4. Después de la inoculación se cultiva el hongo en este caldo a 24° por el procedimiento de inmersión movida. Se forman bolas de micelo parecidas a sémola, tal

25. y como es conocido en el cultivo de inmersión de hongos bajos. Después de 30 días se separa el micelo por filtración y se obtiene un rendimiento de 7,0 g de micelo seco por litro de caldo.

30. 430 g de micelo secado, lomás finamente molturado se agitan durante $\frac{1}{2}$ hora con 4,5 litros de etanol acuoso al

247189



- 80 % a temperatura de ambiente. Después de filtrar el residuo, se vuelve a extraer éste otras tres veces en igual forma. El residuo de evaporación de los extractos reunidos (41 g) se extrae, para retirar las materias de lastre, consecutivamente dos veces 500 cm³ de éter de petróleo, dos veces con 400 cm³ de cloroformo y dos veces con 200 cm³ de acetona. Quedan 25 g de un polvo soluble en agua, que se disuelve en 25 cm³ de agua. Agitando bien se mezcla lentamente con 250 cm³ de acetona, se separa a continuación el líquido y la precipitación y ésta se vuelve a disolver en poca agua y se vuelve a precipitar con 10 veces la cantidad de acetona. Esta operación se repite aún otras dos veces con la parte insoluble en acetona, habiéndose trasladado entonces todas las materias activas a los extractos acuoso-acetónicos. Estos se evaporan agitando bien y el residuo (9,8 g) se siguen dividiendo por cromatografía en una columna de celulosa, como descrito en el ejemplo 4.

- Después de cromatografiar dos veces se obtienen 32 mg de psilocina cristalina y 225 mg de psilocibina, lo que corresponde a un rendimiento de 0,007 o 0,05 % referido al micelo seco.

N O T A

- Descrita suficientemente la naturaleza del invento, así como la manera de realizarlo en la práctica, debe hacerse constar que las disposiciones anteriormente indicadas son susceptibles de modificaciones de detalle en cuanto no alteren su principio fundamental. También se hace constar que el invento corresponde a las solicitudes de patente presentadas en Suiza con las fechas y números

947189



siguientes: 21 de febrero de 1958, nº 56143 y 30 de julio de 1958, nº 62393, acogiendo por lo tanto, a los beneficios que conceden los convenios internacionales en vigor, siendo lo que constituye la esencia del referido invento y por lo

5. que se solicita Patente de Invención por 20 años en España: "Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina" caracterizándose por lo siguiente:

10. 1º.- Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina, de efecto psicotrópico, en estado puro, compuestos hasta ahora desconocidos, de ciertas clases de hongos, caracterizado porque de material funginoso de origen natural de los géneros *Psilocybe*, *Stropharia*, *Panaeolus*, *Conocybe*, *Amanita* o *Russula*, o de material funginoso cultivado artificialmente, obtenido de cultivos de las distintas clases de estos hongos a sus variantes biológicas o mutaciones mediante inoculación de caldos naturales o artificiales e incubación de estos cultivos a la luz del día o a la oscuridad con una temperatura constante entre 18º y 27º, se extraen las materias activas según métodos conocidos, se limpian, se separan entre sí y, en caso dado se liberan del halógeno.

25. 2º.-Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina, caracterizado porque de *Psilocybe mexicana* Heim o de material funginoso cultivado artificialmente, obtenido de cultivos puros o de variantes biológicas o mutaciones de este hongo, por inoculación del mismo sobre caldos naturales o artificiales e incubación de estos cultivos a la luz del día o a la oscuridad a una temperatura constante entre 18º y 27º, según métodos conocidos se extraen, limpian, separan entre sí las materias activas
- 30.



247189

y, en caso dado, se liberan del halógeno.

5. 3º.- Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina, según reivindicación 1ª, caracterizado porque como material inicial se emplea el hongo *Stropharia cubensis* Earle.

4º.- Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado porque como material inicial se emplea el hongo *Psilocybe semperviva* Heim et Gailleux.

10. 5º.- Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado porque como material inicial se emplea el hongo *Psilocybe caerulescens* Murril var. *Mazatecorum* Heim.

6º.- Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado porque como material inicial se emplea el hongo *Psilocybe Zapotecorum* Heim.

15. 7º.- Procedimiento, según reivindicación 1ª, caracterizado porque como material inicial se emplea el hongo *Psilocybe Aztecorum* Heim.

20. 8º.- Procedimiento, según reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque los hongos se cultivan sobre un substrato natural y los cultivos se incuban a la luz del día a una temperatura constante entre 18 y 27º.

25. 9º.- Procedimiento, según reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque los hongos se cultivan in vitro sobre caldos artificiales de extracto de malta con una concentración de sustancia seca de 4 hasta 10% según las clases del hongo, al caldo se le agregan 0,0004 hasta 0,0010 g/litro de hierro II-ión y 2 g/litro de agar-agar y los cultivos se incuban a una temperatura constante entre 22º y 26º.

30. 10º.- Procedimiento, según reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque el material funginoso desengrasado se

247189



extrae con agua o con un disolvente orgánico miscible con agua, de la solución acuosa del residuo de extracción se separan las materias secundarias inactivas mediante precipitación fraccionada con un disolvente orgánico miscible

5. con agua y las materias activas contenidas en el filtrado se separan entre sí mediante absorción en polvo de celulosa y elución con butanol saturado de agua.

11º.- Procedimiento, según las reivindicaciones 1 - 7, caracterizado porque las materias activas halogenadas obtenidas, antes o después de su separación entre sí, se liberan del halógeno, según métodos conocidos, por tratamiento con carbonato de plata.

10.

12º.- Procedimiento para la obtención de psilocibina y psilocina; tal y como queda sustancialmente descrito en la presente memoria que consta de treinta y tres hojas escritas a máquina por una sola cara.

15.

Madrid,

SANDES, S.G.