

Rosario García Mateos, Marcos Soto Hernández, Mariano Martínez Vázquez  
Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*  
Ciencia Ergo Sum, vol. 7, núm. 2, julio, 2000  
Universidad Autónoma del Estado de México  
México

Available in: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10401811>



*Ciencia Ergo Sum*,  
ISSN (Printed Version): 1405-0269  
[ciencia.ergosum@yahoo.com.mx](mailto:ciencia.ergosum@yahoo.com.mx)  
Universidad Autónoma del Estado de México  
México

How to cite

| Complete issue

| More information about this article

| Journal's homepage

---

**[www.redalyc.org](http://www.redalyc.org)**

Non-Profit Academic Project, developed under the Open Acces Initiative

# Toxicidad de los extractos de las semillas de *Erythrina americana*

ROSARIO GARCÍA MATEOS,\* MARCOS-SOTO HERNÁNDEZ\*\* Y MARIANO MARTÍNEZ VÁZQUEZ\*\*\*

Recepción: 15 de junio de 1999

Aceptación: 26 de agosto de 1999

## Toxicity of the *Erythrina americana* Extracts Seeds

**Abstract.** *This work describes the effect of several alkaloid fractions obtained from E. americana seeds, which allowed the evaluation of the in vitro toxicity in some crustaceans, such as Daphnia magna and Artemia salina, in the bacterium Bacillus cereus, and in the nematode Panagrellus redivivus. The fraction of liberated alkaloids showed a low toxicity in D. magna and P. Redivivus while, on the other hand, the alkaloidal fractions did not show toxicity on the other organisms that were tested. With the use of GC/MS, interesting results were obtained due to the identification of dienoic alkaloids with a higher proportion of erysovine than erysodine in the liberated alkaloid fraction.*

## Introducción

Los bioensayos permiten evaluar la bioactividad presentada por algunos metabolitos secundarios y las respuestas que generan al establecerse la interacción del producto natural con los organismos; es así como se ha descubierto la activi-

dad de algunos herbicidas, reguladores del crecimiento, fitoalexinas, alelopáticos y una diversidad de compuestos (Walker, 1988). Existen numerosos tipos de bioensayos que dependen de los organismos usados -semillas, hongos, bacterias, nemátodos, insectos, etcétera- (Castañeda *et al.*, 1992; Ingham, 1991; Mitscher *et al.*, 1987; Muniappan, 1993).

Los bioensayos realizados en diferentes países desde hace varios años (CETESB, 1991) se han encaminado a la detección de efectos agudos o letales (los cuales ocasionan la muerte de los organismos expuestos), subcrónicos (detectables cuando se expone el organismo a un compuesto tóxico durante gran tiempo de su ciclo de vida), o bien, para observar las repercusiones en diversos procesos metabólicos como reproducción, crecimiento o muerte del organismo.

La literatura señala consistentemente la identificación de alcaloides en los extractos de semillas de varias especies de *Erythrina*, responsables de la toxicidad en animales de laboratorio y en el hombre. Los estudios analíticos han permitido elucidar sus estructuras, con la identificación de la  $\beta$ -eritroidina como uno de los alcaloides de mayor toxicidad. Diversos autores describen la LD<sub>50</sub> de varios alcaloides determinada en ratones.<sup>1</sup>

Por otro lado, Wada *et al.* (1966) describen que de los alcaloides aislados en tres de las doce especies de *Cocculus* (Menispermaceae) estudiadas, la cocculolidina, el homólogo más cercano de la  $\beta$ -eritroidina, presenta gran actividad como insecticida. Estos hallazgos dieron la pauta para explorar la actividad tóxica de los extractos de semillas de *E. americana* en organismos de diferentes niveles tróficos (*Daphnia magna*, *Artemia salina*, *Bacillus cereus* y en *Panagrellus redivivus*) usados por instituciones nacionales e internacionales para evaluar la calidad de diferentes cuerpos de agua contaminados por sustancias tóxicas, así como la bioactividad de diversos metabolitos secundarios. La evaluación de toxi-

\* Universidad Autónoma Chapingo. Preparatoria Agrícola. Área de Química. Chapingo, Estado de México. Tel. (595) 215 00 ext. 5797.

\*\* Colegio de Postgraduados, Instituto de Recursos Naturales, Especialidad en Botánica, Montecillo, Estado de México. Tel. (595) 202 00 ext 1361.

Correo electrónico: msoto@colpos.colpos.mx

\*\*\* Instituto de Química, UNAM. Circuito Exterior, Ciudad Universitaria. México, D. F. Nuestro agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca proporcionada a través del Programa de Cátedras Patrimoniales de Excelencia para la realización de estudios de doctorado. Al Instituto de Química de la UNAM por la realización de los análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas. Al personal del Laboratorio de Biología y Bioensayos del Instituto Nacional de Ecología de la SEMARNAP por la donación de los organismos para la realización de los bioensayos.

1. Véase Unna y Greeslin, 1944; Unna *et al.*, 1944; Berger y Schwartz, 1948; Megiran *et al.*, 1955 y, el más reciente, Ghosal *et al.*, 1972.

cidad se realizó con la fracción de alcaloides libres del extracto hexánico y las dos fracciones del extracto metanólico (alcaloides libres y liberados); el estudio permitirá iniciar las investigaciones para determinar la potencialidad del género *Erythrina* como fuente útil de insecticidas.

### I. Materiales y métodos

Las semillas de *voucher specimen* se colectaron de varios ejemplares en la población de Ocuituco, Morelos, México. Si se considera que la altitud y el ambiente físico pueden afectar las concentraciones de alcaloides en la planta, en el cuadro 1 se mencionan las condiciones climáticas de la zona (García, 1973). La autenticidad del material fue certificada por el curador Manuel González, del herbario (CHAPA) de la Especialidad de Botánica del Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México y por el biólogo Rafael Torres C., del Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología de la UNAM. Un resguardo de estas semillas (*voucher specimen*) fue depositado en el herbario CHAPA del Colegio de Posgraduados con el número 112.

#### 1. Preparación de las fracciones de alcaloides

Los extractos crudos se obtuvieron a partir de una separación con hexano en un equipo soxhlet durante 48 horas. El residuo vegetal se extrajo nuevamente con metanol por soxhlet de 48 a 72 horas. La preparación de las fracciones de alcaloides libres se realizó a partir de una extracción ácido-base con una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 2%; la mezcla se alcalinizó con NaHCO<sub>3</sub> hasta obtener un pH de 8, se extrajo con dicloro-metano (3 X 100), el disolvente se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y posteriormente se evaporó a sequedad, con lo que se obtuvo la fracción de alcaloides libres de los extractos hexánico y metanólico; posteriormente, una hidrólisis ácida de la fase acuosa del extracto metanólico con ácido clorhídrico concentrado permitió obtener la fracción de alcaloides liberados conforme la metodología descrita por Games *et al.* (1974).

#### 2. Identificación y cuantificación de alcaloides por cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM)

La caracterización de los alcaloides de las fracciones se realizó mediante el análisis con un espectrómetro de masas JMSAX 505 HA (JEOL) acoplado a un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890, Serie II, con una columna capilar empacada con silicona 1701 y un separador de Watson-Biemann de dos pasos. La temperatura de la fuente de iones fue de 220°C y los potenciales de aceleración y de ionización fueron de 3kV y 70 eV, respectivamente. En cada inyección

se aplicó 1 µL de la muestra recientemente preparada mediante el tratamiento con N, O-bis (trimetilsilil) acetamida (BSA) para obtener trimetilsilil-derivados; se utilizó acetonitrilo como disolvente (Games *et al.*, 1974). Los espectros se registraron a través de un sistema de datos: después de eliminar los picos de fondo fueron normalizados y graficados en un registrador; los espectros se realizaron en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

#### 3. Evaluación de toxicidad aguda. *Daphnia magna*

La prueba de toxicidad se realizó conforme lo describe la Norma Oficial Mexicana (SEDESOL, 1994). El mantenimiento de los organismos se llevó a cabo mediante cultivos *stock* que se mantuvieron a una intensidad constante de luz de 600 a 1,000 luxes, con fotoperiodos de 16 horas de luz por 8 horas de oscuridad, a una temperatura de 20°C ± 2°C, con un mínimo de oxígeno disuelto de 3 mg/l, pH de 7.5 a 8.5 unidades, conductividad en el rango de 250 a 600 micromhos/cm y una dureza total de 160 a 180 mg/l como CaCO<sub>3</sub>. Cada fracción de alcaloides se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO ≤ 0.1%), se preparó la solución madre a una concentración conocida, después se realizaron diluciones para obtener diferentes concentraciones aforando con agua reconstituida. A cada vial se le adicionaron 50 mL de las concentraciones a evaluar y se colocaron 10 neonatos de *D. magna*. Se prepararon dos testigos (agua reconstituida y DMSO-agua reconstituida) que fueron expuestos a fotoperiodos de 16 horas de luz por 8 de oscuridad; se efectuaron lecturas de mortalidad a las 24 y 48 horas. Al inicio y al final de la prueba se realizaron las determinaciones de los parámetros físico-químicos; los resultados se expresan en términos de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>). El cálculo de la CL<sub>50</sub> se llevó a cabo mediante el método estadístico de Unidades Probabilísticas o Método de Probit (Finney, 1971).

#### 4. *Artemia salina*

La evaluación se realizó conforme el método descrito por Petsoone y Vanhaecke (1981); la obtención de las larvas nauplio de *A. salina* a partir de quistes se realizó 24 horas

CUADRO 1

CONDICIONES CLIMÁTICAS DE <i>E. AMERICANA</i>						
ZONA	ALTURA (MSNM)	LATITUD NORTE	LATITUD OESTE	CLIMA	TEMP.	PRECIP.
					MEDIA ANUAL (°C)	MEDIA ANUAL (MM)
C	1,700	18°53'	98°51'	(A)Ca(W <sup>1</sup> )(W <sup>1</sup> )G	19.4	1,083.0

FUENTE: GARCÍA, 1973

**CUADRO 2**

**LONGITUDES ESTÁNDAR DE *P. REDIVIVUS* EN FUNCIÓN DE LAS ETAPAS DE CRECIMIENTO**

ETAPA DE CRECIMIENTO	LONGITUD (µM)
20. ESTADO JUVENIL	250-350
30. ESTADO JUVENIL	350-550
40. ESTADO JUVENIL	550-750
ADULTO	750-2000

FUENTE: INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA, 1994.

**CUADRO 3**

**RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD AGUDA DE EXTRACTOS DE *ERYTHRINA***

BIOENSAYO	EXTRACTO HEXÁNICO	EXTRACTO METANÓLICO	
		ALCALOIDES LIBRES	ALCALOIDES LIBERADOS
<i>DAPHNIA MAGNA</i>	CL <sub>50</sub> =125.5 PPM*	CL <sub>50</sub> =392.8 PPM**	CL <sub>50</sub> =78.6 PPM***

\* L.M. CONF. = 55.1 PPM Y 231.6 PPM; \*\* L.M. CONF. = 307.6 PPM Y 490.3 PPM; \*\*\* L.M. CONF. = 49.3 PPM Y 107.5 PPM.

antes de iniciar la prueba. El desarrollo del bioensayo, así como el cálculo de la CL<sub>50</sub>, fue exactamente igual a los empleados para *D. magna*.

**5. Bacillus cereus**

La evaluación se realizó según el método descrito por Liu (1987): se secaron las cajas de Petri con el medio de cultivo sólido a 40°C por 30 minutos, después se inocularon los organismos del medio de cultivo líquido (medio de crecimiento sin agar) en condiciones asépticas. En las cajas de Petri con el medio se colocaron 10 microlitros de la muestra disuelta en DMSO (≤ de 0.1%) a diferentes concentraciones, por triplicado. El control fue agua destilada y DMSO (≤ de 0.1%). Después de 24 horas de incubación se observaron las cajas y se realizó un análisis cualitativo con base en la presencia o inhibición del halo de crecimiento de la bacteria.

**6. Evaluación de toxicidad subcrónica. Panagrellus redivivus**

La prueba se realizó según la metodología de Samoiloff (1990); debido a que el ciclo de vida del nemátodo es corto (96 horas) y su sensibilidad es alta, ha sido seleccionado para realizar pruebas de toxicidad subcrónica. Para la evaluación se emplearon diluciones de las fracciones de alcaloides disueltas en DMSO (≤ 0.1%). Se adicionaron diez organismos en el segundo estadio juvenil

2. Organismos que alcanzaron los estadios: tercer estadio juvenil (J<sub>3</sub>), J<sub>4</sub> y adulto.

por vial y una alícuota de la muestra preparada; a fin de garantizar la confiabilidad de los resultados, se emplearon diez réplicas. Los organismos se mantuvieron a una temperatura de 19 a 25°C durante 96 horas; se observó en el microscopio el número de organismos sobrevivientes y la etapa de desarrollo para cada concentración y testigo. El resultado de las mediciones de los organismos de cada una de las réplicas de la muestra, así como de los controles, se compararon con los valores estándar presentados en el cuadro 2.

El grado de toxicidad subcrónica se calcula a partir del porcentaje de sobrevivencia (porcentaje de mortalidad), de crecimiento,<sup>2</sup> y de madurez (organismos de estadios de J<sub>4</sub> y adulto) de los organismos, al comparar estos conceptos con los datos de las muestras y los testigos de control. El cálculo de cada uno de los porcentajes y la determinación estadística de x<sup>2</sup> se realizó mediante el empleo del paquete de cómputo *Worm Test* (Nematode Test Bioquest International, Canadá), proporcionado por el National Research Institute de Canadá.

Las cepas de *D. magna*, *Bacillus cereus* y los nemátodos *Panagrellus redivivus* fueron donados por el National Research Institute de Ontario, Canadá. Los organismos se mantuvieron en el Laboratorio de Biología y Bioensayos del Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAP), lugar donde se realizaron los bioensayos.

**II. Resultados y discusión**

Los bioensayos realizados con los crustáceos *Daphnia magna* y *Artemia salina*, además de la bacteria *Bacillus cereus*, permitieron evaluar la toxicidad aguda de las fracciones de *E. americana*. En el cuadro 3 se presentan los valores de la concentración letal media, con un 95% de intervalo de confianza calculado mediante el análisis de probit para la evaluación con *Daphnia magna* (Finney, 1971). La fracción de alcaloides liberados mostró mayor toxicidad que las restantes. En las tres fracciones que se probaron no se observó respuesta con *Artemia salina* y *Bacillus cereus* a pesar de las elevadas concentraciones usadas. Este resultado confirma que *D. magna* es un organismo más sensible a las evaluaciones de toxicidad (SEDESOL, 1994).

Los resultados de la evaluación de la toxicidad subcrónica con el nemátodo *Panagrellus redivivus* así como los de x<sup>2</sup>, se muestran en el cuadro 4; se presentan como los porcentajes de sobrevivencia, crecimiento y madurez, que al compararlos con los criterios expuestos en el cuadro 2, se obtuvo el grado de toxicidad de la muestra. En este bioensayo, la fracción metanólica (alcaloides liberados) presentó mayor toxicidad con respecto a las fracciones restantes. La etapa de

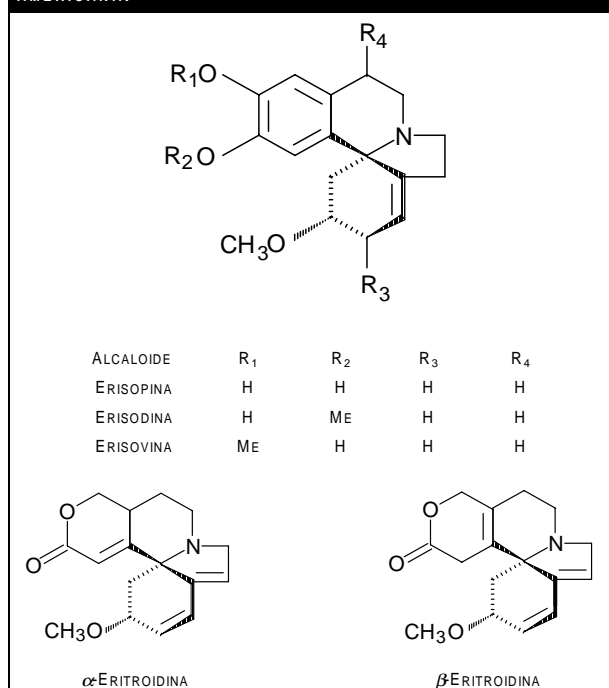
maduración (transición del estado J<sub>4</sub> a adulto), seguida de la de crecimiento (transición del estado J<sub>2</sub> a J<sub>3</sub> y del J<sub>3</sub> a J<sub>4</sub>), fueron las más afectadas (cuadro 4).

El Instituto Nacional de Ecología (1994) y Samoiloff (1990) mencionan que el hecho de que varios mutágenos conocidos inhiben selectivamente el paso entre el 4o. estado y el adulto, esto puede utilizarse como indicador de las características de mutagenicidad de las muestras. Así, aunque la prueba de toxicidad no es una prueba directa de mutagenicidad, es utilizable como referencia para elaborar un examen más apropiado.

CUADRO 4					
RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD					
SUBCATEGORÍA DE EXTRACTOS DE <i>E. AMERICANA</i>					
EXTRACTO	% S	% C	% M	CONC. (PPM)	TOXICIDAD
EXTRACTO HEXÁNICO (ALCALOIDES LIBRES)	100 <sup>A</sup>	99 <sup>B</sup>	77 <sup>C</sup>	100	EFECTO NO DETECTADO
EXTRACTO METANÓLICO (ALCALOIDES LIBRES)	95 <sup>D</sup>	96 <sup>E</sup>	85 <sup>F</sup>	10 000	EFECTO NO DETECTADO
EXTRACTO METANÓLICO (ALCALOIDES LIBERADOS)	100 <sup>G</sup>	61 <sup>H</sup>	9 <sup>I</sup>	5 000	MUY TÓXICA

\*  $\chi^2 \geq 5$ , EFECTO SIGNIFICANTE.  
<sup>A</sup>  $\chi^2 = 0.25$ , <sup>B</sup>  $\chi^2 = 0.25$ , <sup>C</sup>  $\chi^2 = 4.74$ , <sup>D</sup>  $\chi^2 = 0$ , <sup>E</sup>  $\chi^2 = 0.11$ , <sup>F</sup>  $\chi^2 = 5.20$ ,  
<sup>G</sup>  $\chi^2 = 0.25$ , <sup>H</sup>  $\chi^2 = 6.25$ , <sup>I</sup>  $\chi^2 = 83.26$ .

**FIGURA 1. ESTRUCTURAS DE LOS ALCALOIDES IDENTIFICADOS EN LOS EXTRACTOS DE LAS SEMILLAS DE *E. AMERICANA*.**



Los espectros de masas de las fracciones obtenidas de alcaloides, al ser comparados con sus similares de muestras auténticas, permitieron identificar sus estructuras (ver figura 1).

En el cuadro 5 se presentan los resultados del análisis cuantitativo de CG/EM realizados en las fracciones de *E. americana*. Los alcaloides identificados en el presente trabajo coinciden con los descritos en estudios previos (Aguilar *et al.*, 1981; Hargreaves *et al.*, 1974). Se identificaron los alcaloides lactónicos  $\alpha$  y  $\beta$ -eritroidina y la erisovina en la fracción hexánica, así como  $\alpha$  y  $\beta$ -eritroidina en la fracción metanólica (alcaloides libres). A través de la hidrólisis del extracto metanólico se obtuvieron los alcaloides liberados: erisopina, erisodina y erisovina, el más abundante.

De acuerdo con la toxicidad de los alcaloides  $\alpha$ -eritroidina y  $\beta$ -eritroidina descrita por algunos autores (Craig, 1955; Hastings, 1990; Lozoya y Lozoya, 1982; Payne y Foley 1992), se esperaba que la fracción metanólica de alcaloides libres resultara la más tóxica; sin embargo, resultó sorprendente observar mayor toxicidad en la fracción donde no se presentaron éstos. El diferente grado de toxicidad de los alcaloides erisodina, erisovina y erisopina podría deberse a que están involucrados mecanismos de acción diferentes a los señalados para los alcaloides lactónicos. En la literatura no existen pruebas de toxicidad, descritas en esta especie o similares, que pudieran utilizarse como punto de comparación o referencia.

Por otro lado, debido a que son tres los alcaloides presentes en la fracción con mayor toxicidad, es viable realizar estudios adicionales para evaluar la actividad biológica de los compuestos puros.

### Conclusiones

La toxicidad de las fracciones hexánica y metanólica de alcaloides libres en *Daphnia magna*, *Artemia salina*, *Bacillus*

CUADRO 5			
ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS ALCALOIDES PRESENTES EN LOS EXTRACTOS DE <i>E. AMERICANA</i> *			
ALCALOIDE	FRACCIÓN HEXÁNICA (ALCALOIDES LIBRES)	FRACCIÓN METANÓLICA (ALCALOIDES LIBRES)	FRACCIÓN METANÓLICA (ALCALOIDES LIBERADOS)
ERISODINA (A)			39.6
ERISOVINA (B)	4.2		56.8
ERISOPINA (C)			3.6
$\alpha$ -ERITROIDINA (D)	80.9	82.6	
$\beta$ -ERITROIDINA (E)	14.9	17.4	

\* LAS PROPORCIONES RELATIVAS DE LOS ALCALOIDES FUERON CALCULADAS DE LAS ÁREAS DE LOS PICOS DE CG.

*cerens* y *Panagrellus redivivus* fue diferente a la inducida por la fracción de alcaloides liberados de las semillas de *E. americana*. En las fracciones se detectó la presencia de  $\alpha$  y  $\beta$ -eritroidinas. La fracción de alcaloides liberados resultó ser la más tóxica,

especialmente con la identificación de los alcaloides erisopina, erisodina y erisovina. El crustáceo *Daphnia magna* y el nemátodo *Panagrellus redivivus* presentaron una mayor sensibilidad a los extractos probados que los organismos restantes. ☹️



## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, M. I.; Giral, F. y Espejo, O. (1981). "Alkaloids from the Flowers of *Erythrina americana*", en *Phytochemistry*. 20: 2061-2062.
- Berger, F. M. y Schwartz, R. P. (1948). "The Toxicity and Muscular Effect of d-Tubocurarine Combined with  $\alpha$ -Erythroidine, Myanesin or Evipal", en *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 93: 362-367.
- Castañeda, P.; García, M. R.; Hernández, B. E.; Torres, B. A.; Anaya, A. L. y Mata, R. (1992). "Effects of Some Compounds Isolated from *Celaenodendron mexicanum*. Standl (Euphorbiaceae) on Seeds and Phytopathogenic Fungi", en *Journal Chemical Ecology*. 18: 1025-1037.
- CETESB (1991). *Métodos de Abaliciés de Toxicidade de Poluentes a Organismos Acuáticos*. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB). Governo do Estado de Sao Paulo. Secretaria do Meio Ambiente, Sao Paulo, S. P. Brasil.
- Craig, L. E. (1955). "Erythrina alkaloids", en *The Alkaloids*. Manske, R. H. F. y Holmes, H. L. Eds. Vol. V. Academic Press, London. pp. 265-293.
- Finney, D. J. (1971). *Probit Analysis*. 3rd. ed. Cambridge University Press, London.
- Games, D. E.; Jackson, A. H.; Khan, N. A. y Millington, D. S. (1974). "Alkaloids of Some African, Asian, Polynesian and Australian Species of *Erythrina*", en *Lloydia*. 37: 581-588.
- García, E. (1973). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen*. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Ghosal, S.; Dutta, S. K. y Bhattacharya, S. K. (1972). "Erythrina-chemical and Pharmacological Evaluation II: Alkaloids of *Erythrina variegata* L.", en *Journal Pharmaceutical Sciences*. 61: 1274-1277.
- Hargreaves, R. T.; Johnson, R. D.; Millington, D. S.; Mondal, M. H.; Breavers, W.; Becker, L.; Young, C. y Rinehart Jr., K. L. (1974). "Alkaloids of American Species of *Erythrina*", en *Lloydia*. 37: 569-580.
- Hastings, R. B. (1990). "Medicinal Legumes of Mexico: Fabaceae Papilionoideae, Part One", en *Economic Botany*. 44: 336-348.
- Ingham, J. L. (1991). "Isoflavonoids Phytoalexins from the Fungus-inoculated Leaflets of *Erythrina* Species", en *Biochemical Systematics and Ecology*. 19: 497-506.
- Instituto Nacional de Ecología (1994). *Curso Teórico-Práctico de Toxicología. Laboratorio de Bioensayos*. Instituto Nacional de Ecología (INE). Dirección General de Normatividad Ambiental. INE-SEDESOL, México.
- Liu, D. (1987). "Agar Plate Method for Rapid Screening of Chemical Toxicity", en *Toxicity Assesment: An International Journal*. 2: 463-468.
- Lozoya, X. y Lozoya, M. (1982). "Flora Medicinal de México", en *Plantas indígenas*. Instituto Mexicano del Seguro Social, México.
- Megiran, D.; Leary, D. E. y Slater, I. H. (1955). "The Action of Some Derivates of Beta-erythroidine on Peripheral Neuro-effector Systems", en *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 113: 212-227.
- Mitscher, L. A.; Drake, S.; Gollapudi, S. y Okwute, S. (1987). "A Modern Look at Folkloric Use of Anti-infective Agents", en *Journal Natural Products*. 50: 1025-1040.
- Muniappan, R. (1993). "Pest and Diseases of *Erythrina*", en *Journal of Coffee Research*. 23: 1-13.
- Payne, L. G. y Foley, J. P. (1992). "Gas Chromatography and Mass Spectrometry of *Erythrina alkaloids* from the Foliage of Genetic Clones of Three *Erythrina* Species", en *Chromatography and Pharmaceutical Analysis*. Ahuja, S. Ed. American Chemical Society Symposium. Serie No. 412, 85-99. American Chemical Society, USA.
- Petsoone, G. y Vanhaecke, P. (1981). *Intercalibration Exercise on a Short-term Standar Toxicity Test with Artemia nauplii*. Final Report, Contract EEC-ENV- 396B (N). Bélgica.
- Samoiloff, M. R. (1990). "Technical Methods Section. Nematode Toxicity Assay Using *Panagrellus redivivus*", en *Toxicity Assesment: An International Journal*. 5: 309-318.
- SEDESOL (1994). *Norma Oficial Mexicana NOM-074. Ecol-1994*. Comité Consultivo de Normalización para la Protección Ambiental del Instituto Nacional de Ecología (SEDESOL). Método de Prueba de Toxicidad Aguda con *Daphnia magna* Straus. (crustácea-cladocera). Publicada en el Diario Oficial de la Federación. Julio, 1994. México.
- Unna, H. y Greeslin, J. G. (1944). "Pharmacologic Action of *Erythrina alkaloids*. II. Free, Liberated and Combined Alkaloids", en *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 80: 53-61.
- Unna, K.; Kniazurk, M. y Greeslin, J. G. (1944). "Pharmacologic Action of *Erythrina alkaloids*. I.  $\alpha$ -Erythroidine and Substances Derived from it", en *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*. 80: 39-52.
- Wada, K.; Marumo S. y Munakata, K. (1966). "An Insecticidal Alkaloid, Coculidine from *Cocculus trilobus* DC", en *Tetrahedron Letters*. pp. 5179-5184.
- Walker, D. J. (1988). "Relative Sensitivity of Algae, Bacteria, Invertebrate and Fish to Phenol: Analysis of 234 Test Conducted for more than 149 Species", en *Toxicity Assesment: An International Journal*. 3: 415-447.