

## Toxicidad aguda oral e irritabilidad de la mucosa oral con una formulación de tabletas de *Tamarindus indica* L.

[Acute oral toxicity and irritability of the oral mucosa with a tablet formulation of *Tamarindus indica* L]

Jesús Rafael RODRÍGUEZ AMADO<sup>1</sup>, Edgar PUENTE ZAPATA<sup>2</sup>, Dani LARRAMENDY<sup>2</sup>; Ariadna LAFOURCADE PRADA<sup>1</sup>, Julio ESCALONA ARRANZ<sup>1</sup>, Gustavo SIERRA GONZÁLEZ<sup>3</sup>, Humberto MORRIS QUEVEDO<sup>1</sup>, Hady KEITA<sup>4</sup> & Juan Francisco INFANTE<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmacia, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup>Centro de Toxicología y Biomedicina, Santiago de Cuba, Cuba

<sup>3</sup>Instituto Finlay, Ciudad de la Habana, Cuba

<sup>4</sup>Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México DF, México.

Contactos | Contacts: Jesús Rafael RODRÍGUEZ AMADO - E-mail address: [jiribilla2009@gmail.com](mailto:jiribilla2009@gmail.com)

### Abstract

In this study, the possible preclinical toxic effects of the *Tamarindus indica* L tablets were evaluated by the acute oral toxicity (AOT) and oral mucosa irritation (OMI), adapting guideline OECD 423 and ISO 10993-10, respectively. The AOT was evaluated, using the Class Toxicity Method in *Sprague Dawley* females rats and the OMI was assessed in sirian hamsters, according to the acute exposure method. Any sign of toxicity were not observed in the study. No animal death was occurring and the body weight increase in the two experimental groups was not statistically different. Slight irritation of the oral mucosa of the animals was observed, but this fact didn't impede them to feed appropriately and they body weight increase normally during the assay. Tamarind tablets were framed as non toxic substance and they produce a "light irritability" of the oral mucosa.

**Keywords:** irritability, acute toxicity class, tamarind tablets

### Resumen

En este trabajo se evaluó a nivel preclínico, los posibles efectos tóxicos de las tabletas de *Tamarindus indica* L. Se ensayó la toxicidad aguda oral, por el método de las clases de toxicidad, en ratas hembras de la línea Sprague Dawley y la irritabilidad de la mucosa oral en Hamster sirio, según las normas OECD 423 y ISO 10993-10, respectivamente. Durante el estudio de toxicidad aguda, no se observaron signos de toxicidad, ni muerte. El peso corporal en ambos grupos experimentales aumentó y no fue diferente estadísticamente. En el estudio de irritabilidad, se observó una ligera irritación en la mucosa de los biomodelos. Esto no les impidió alimentarse adecuadamente y se observó un incremento del peso corporal de ambos grupos experimentales. Se determinó que las tabletas producen una irritabilidad "leve" de la mucosa oral y no clasifican como tóxicas según las normas internacionales de referencia.

**Palabras Clave:** irritabilidad; clases de toxicidad aguda; tabletas de tamarindo.

Recibido | Received: 8 de Mayo de 2012.

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 30 de Julio de 2012.

Publicado en línea | Published online: 30 de Marzo de 2013

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: Jesús Rafael Rodríguez Amado, Edgar Puente Zapata, Dani Larramendy, Ariadna Lafourcade Prada, Julio Escalona Arranz, Gustavo Sierra González, Humberto Morris Quevedo, Hady Keita, Juan Francisco Infante. 2013. Toxicidad aguda oral e irritabilidad de la mucosa oral de una formulación de tabletas de *Tamarindus indica* L. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 12(2): 154 – 161.

## INTRODUCCIÓN

La necesidad de encontrar nuevas moléculas activas para el tratamiento de diversas enfermedades, constituye una línea priorizada en la política de investigación en la mayoría de los países. Por este motivo, se ha incrementado el número de investigaciones relacionadas con la utilidad de las plantas medicinales en todo el mundo. Un grupo de patologías que necesita con urgencia de nuevas entidades terapéuticas, así como de nuevas alternativas para su tratamiento, son las hepatopatías.

En el mundo existen muy pocos medicamentos para combatir las enfermedades hepáticas. Las hepatitis víricas agudas poseen diversos modos de transmisión y epidemiología. Se caracterizan por producir una inflamación hepática difusa e ictericia. En la mayoría de los casos se resuelven espontáneamente, aún cuando se corre el riesgo de que progresen a hepatitis crónica. Sin embargo, no existen tratamientos etiológicos para la curación de las mismas (Martin *et al.*, 1985).

La planta más utilizada en el Caribe y especialmente en Cuba para el tratamiento de las hepatopatías es el *Tamarindus indica* L (Fabaceae), conocida como tamarindo (Roig, 1988). Se ha informado la riqueza de metabolitos secundarios que poseen los extractos de las hojas de esta especie (Escalona *et al.*, 2010). Se informó la obtención de una formulación de tabletas (Rodríguez *et al.*, 2011) a partir del extracto blando estandarizado de las hojas de *Tamarindus indica* L (Rodríguez *et al.*, 2012). Para la utilización segura de esta formulación en humanos, es necesaria la evaluación preclínica toxicológica de la misma.

El empleo del tamarindo por el hombre data de fechas anteriores a nuestra era. La experiencia práctica acumulada durante siglos, en su uso como alimento (Roig, 1988; El Siddig *et al.*, 2007) y como remedio etnobotánico (Roig Mesa, 1988, Escalona *et al.*, 2010) apunta hacia una baja o nula toxicidad de las hojas y de los extractos preparados con ellas. Sin embargo ha sido informada la toxicidad en dosis relativamente bajas de preparados de la corteza de esta planta (Nevado *et al.*, 2011). Un informe presentado por el Centro de Toxicología y Biomedicina de Santiago de Cuba (TOXIMED) refiere que el extracto fluido en etanol al 72% de hojas de *Tamarindus indica* L, posee una irritabilidad baja de la mucosa oral (Informe de investigación, TOXIMED 2009<sup>a</sup>). Adicionalmente se informó que el extracto fluido no produce toxicidad por

exposición aguda por la vía oral, resultando que este preparado "no clasifica" como tóxico por esta vía (Informe de investigación, TOXIMED, 2009b), permitiendo su utilización como materia prima para la formulación de otras formas farmacéuticas.

Sin embargo, el extracto fluido de *Tamarindus indica* L tiene la desventaja de poseer un alto contenido alcohólico, lo que limita su utilidad en el tratamiento de las hepatopatías (Cederbaum *et al.*, 2009). Por otra parte, el extracto fluido de tamarindo es astringente y ácido al paladar. Estos elementos justifican, desde el punto de vista biofarmacéutico, la formulación de fitofármacos en forma sólida, productos ideales para eliminar los inconvenientes mencionados anteriormente.

El objetivo de este trabajo es la evaluación de la irritabilidad de la mucosa oral en hámster sirio y la evaluación de la toxicidad aguda oral en ratas *Sprague Dawley*, por el método de las clases de toxicidad, que puedan producir las tabletas de *Tamarindus indica* L

## Materiales y métodos

### Preparación de las tabletas

Las tabletas de *Tamarindus indica* L fueron elaboradas por el método de granulación húmeda (Rodríguez *et al.*, 2011). El principio activo utilizado fue el extracto blando estandarizado de las hojas de esa especie (Rodríguez *et al.*, 2012). Las tabletas contienen como excipientes: celulosa microcristalina (Microcell 101 USP 28 Blanver, Brasil), lactosa monohidratada (Contero Excipientes, Nueva Zelanda), dióxido de silicio coloidal (Aerosil ® V-200 Degusa Bélgica), croscarmelosa sódica (Ac-Di-Sol Blanver Brasil) y estearato de magnesio (Derive SA Alemania); todos ellos reconocidos mundialmente y aprobados por la FDA (Rowe *et al.*, 2009).

### Biomodelos experimentales y consideraciones éticas

En el ensayo de **toxicidad aguda oral** se emplearon ratas *Sprague Dawley*, hembras nulíparas, de 8-10 semanas de edad y con un peso corporal comprendido entre 150-200 g. En la evaluación de la **irritabilidad de la mucosa oral**, fueron empleadas hembras nulíparas de una cepa no consanguínea de la especie hámster sirio, de 3-4 semanas de edad, con un peso corporal comprendido entre 50-60 g. Los biomodelos; en perfecto estado de salud; fueron suministrados por el *Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorios* (CENPALAB), de la ciudad de la Habana. La instalación se mantuvo a temperatura

controlada de  $22 \pm 3$  °C, humedad relativa de  $60 \pm 10\%$  y ciclo luz-oscuridad de 12/12 horas. La alimentación consistió en dieta estándar CMO-1000 suministrada por CENPALAB y agua destilada *ad-libitum*. Todos los ensayos se realizaron de acuerdo con las *Buenas Prácticas de Laboratorio* (FDA, 2012). Se tuvieron en cuenta las consideraciones éticas establecidas por el Comité de Ética del Centro de Toxicología y Biomedicina (TOXIMED), Universidad Médica de Santiago de Cuba. Cuba

#### Evaluación de la toxicidad aguda oral

La metodología utilizada fue la propuesta por la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, según el método de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA) (OECD/OCDE 423, 2012). Se emplearon un grupo control y un grupo experimental, compuesto de 7 animales cada uno. Al grupo experimental se le administró la dosis límite de 2000 mg/kg de polvo de las tabletas de *Tamarindus indica* L, suspendidas en carboximetilcelulosa al 0,5% en agua destilada. Al grupo control, solo se le administró el vehículo utilizado.

Se observó la actividad somato motora, así como la posible ocurrencia de muerte. Se registraron posibles cambios en la piel y el pelaje. La coloración y la apariencia de las membranas mucosas y de los ojos

fueron verificadas, así como posibles cambios en el sistema respiratorio, nervioso central y periférico. Diariamente se registró el consumo de agua y alimentos.

Los animales se pesaron los días 0, 7 y 14 en una balanza (Sartorius, Alemania) con una precisión de 0,01 g. Al cabo de este tiempo, fueron sacrificados por narcosis con una dosis anestésica de ketamina por vía intramuscular y se procedió al estudio anatomopatológico macroscópico de todos los órganos.

#### Ensayo de irritabilidad de la mucosa oral

El ensayo se realizó según la norma ISO 10993-10 (2002). Se formaron 2 grupos experimentales de 5 animales cada uno. Un grupo experimental tratado con las tabletas de *Tamarindus indica* L y un grupo control para la comparación. Al grupo experimental, se le colocó en la bolsa malar derecha, un *pellet* de algodón humedecido con agua destilada y embebido en polvo de tabletas trituradas utilizando un mortero de ágata.

Al grupo control, se le aplicó un *pellet* de algodón embebido en agua destilada. Se realizó la aplicación 5 min/h, durante 4 horas consecutivas. Se describió la apariencia de la mucosa bucal de cada animal y se determinó el grado de irritación para eritema (Tabla 1), según la norma de referencia.

**Tabla 1**  
Categorización de las sustancias de acuerdo al grado de reacción eritematosa

Clasificación del eritema	Valor
Ausencia de eritema	0
Eritema muy leve (apenas perceptible)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado	3
Eritema grave o formación de escaras ligeras	4

Tomado de la norma ISO 10993-10, 2002

Los animales se observaron hasta 7 días después de la aplicación y se pesaron en una balanza con sensibilidad de 0,01 g los días 0, 4 y 7 (Sartorius, Alemania). Transcurridas 24 horas después de terminado el ensayo, se examinó macroscópicamente la mucosa oral de cada animal, y posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Para el examen histopatológico, muestras de tejido del sitio de aplicación fueron extraídas y fijadas en formaldehído al 10% y procesadas por la técnica de inclusión y cortes en parafina y coloreadas con hematoxilina y

eosina. Se utilizó el sistema de graduación para el examen microscópico de la reacción del tejido oral, considerando el estado del epitelio, la presencia de infiltración leucocitaria, la posible congestión vascular, así como el posible grado de edema. Con esta evaluación se determinó el índice de irritación teniendo en cuenta los parámetros que se muestran en la tabla 2 (ISO DIS-10993-10, 2002).

**Tabla 2**  
**Clasificación de las sustancias de acuerdo al potencial irritante determinado en las evaluaciones histológicas**

Índice de irritación	
Graduación media	Descripción de la respuesta
No irritante	0
Irritante mínimo	1-4
Irritante leve	5-8
Irritante moderado	9-11
Irritante grave	12-16

Tomado de la norma ISO 10993-10, 2002

### **Consumo de agua y alimentos**

En ambos estudios se midió diariamente el consumo de agua y alimento. Se utilizaron frascos de vidrio transparente, de 250 ml de capacidad. Estos fueron tarados adecuadamente, donde cada división se correspondía con un volumen de 10 ml. Los frascos se enrasaron con agua diariamente, y se taparon utilizando un cierre ajustable de PVC. La salida del agua se produce por la succión de los animales. Esto permitió un control preciso diario del agua consumida. Se suministró inicialmente 175 g de alimento, colocándose el mismo en la parte superior de la caja destinada a ese efecto. Se pesó diariamente y se completó nuevamente esta cantidad hasta el séptimo día de ensayo.

### **Procesamiento estadístico**

Como medida de resumen para variables cuantitativas se determinó la media y la desviación estándar. Para la comparación de las medias del peso corporal entre los grupos en cada tiempo, se comprobó la normalidad de los datos (Prueba de Kolmogorov-Smirnov) y se realizó una prueba t de student con un nivel de significación de 0,05. Se utilizó el software StatGraphics Plus 5.1 (StatEase Co. MA. USA).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Evaluación de toxicidad aguda oral**

La evaluación de la toxicidad aguda oral de cualquier sustancia medicamentosa, constituye un paso inicial imprescindible para el establecimiento de los regímenes de dosificación. Esta prueba constituye, además la base para la clasificación de las sustancias dentro de las clases de toxicidad aguda (Hayes, 1994).

Toda sustancia tóxica produce cambios anatomofisiológicas. Estas alteraciones se manifiestan en modificaciones del cuadro clínico general del

animal y dependen de la severidad y extensión de la lesión. También dependen del órgano afectado, de la duración de la exposición, de la cantidad total de la sustancia absorbida en sangre, de la edad y del estado de salud del animal (OECD/OCDE 423, 2001; Hayes, 1994).

### **Signos clínicos**

Las observaciones clínicas realizadas a los animales tratados con las tabletas de *Tamarindus indica* L, no evidenciaron signos clínicos que pudieran asociarse a efectos tóxicos sistémicos. No se observaron cambios en el pelaje ni en la piel de los animales. Se observó una apariencia y coloración normal en los ojos y mucosas de los animales. La actividad somato-motora y su comportamiento fue normal para la especie. El consumo diario de agua por grupo experimental fue de 288,4 ml (41,2 ml/animal) y de alimento fue de 142,6 g/día (20,38 g/animal), lo que se considera normal para este tipo de estudio. El ensayo concluyó con un 100% de supervivencia.

### **Comportamiento del peso corporal**

El peso corporal es el parámetro más sensible para indicar un efecto tóxico, y posee una gran sensibilidad para detectar alteraciones por productos químicos de baja toxicidad (Mosgber y Hayes, 1989; Gad, 1994; Díaz *et al.*, 2008). Una sustancia tóxica puede producir una pérdida acelerada del peso corporal entre un 15% y un 29% en un período de cinco a siete días (Harvard University, 1999).

La Figura 1 muestra un incremento del peso corporal en ambos grupos experimentales. Se comprobó que el peso de los animales estaba en el rango establecido para este tipo de estudio (Harvard University, 1999). No se encontraron diferencias

significativas entre las medias del peso corporal de ambos grupos en cada tiempo:

( $p_{\text{Kolmogorov-Smirnov}} = 0,9968$ ;  $t = -0,0450$ ,  $p = 0,9662$ )

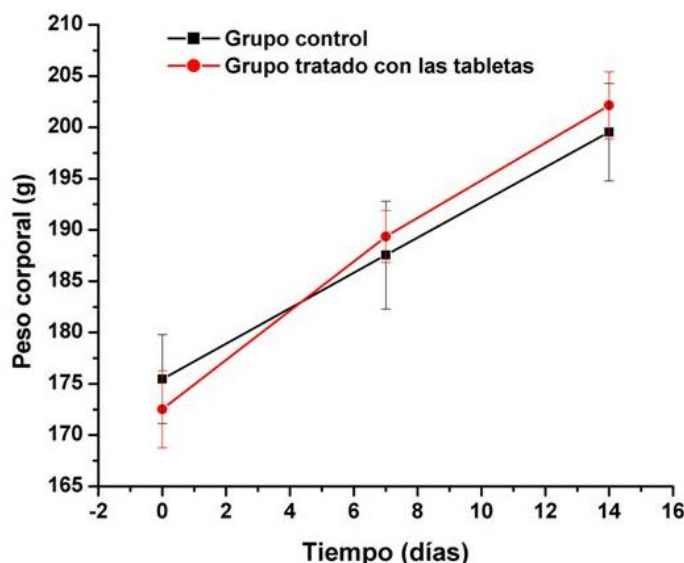


Figura 1

Ganancia de peso corporal de los biomodelos experimentales en el ensayo de toxicidad aguda oral por el método de las clases de toxicidad.

**Estudio anatomopatológico**

No se observaron alteraciones en la citoarquitectura de los tejidos que pudieran atribuirse a procesos tóxicos. Como no hubo signos clínicos que evidenciaran toxicidad, ni se observó muerte en los biomodelos experimentales con la dosis límite 2000 mg/kg, no fue

necesario probar niveles inferiores de dosis. De este modo, la forma farmacéutica Tabletadas de *Tamarindus indica L* se enmarcó como “no clasificada”, dentro de la escala de las clases de toxicidad (OECD/OCDE 423, 2012).

Tabla 3  
Escala de clasificación de las Clases de Toxicidad Aguda (CTA).

CTA	Rango de la DL 50 (mg/kg)	Clasificación
CTA 5	$DL_{50} > 2000$	No clasificada
CTA 4	$300 < DL_{50} < 2000$	Peligrosa
CTA 3	$50 < DL_{50} < 300$	Tóxica
CTA 2	$5 < DL_{50} < 50$	Muy Tóxica
CTA 1	$DL_{50} < 5$	Altamente Tóxica

CTA clases de toxicidad aguda, DL dosis límite

Estas observaciones confirman que las tabletas de *Tamarindus indica L* no producen toxicidad aguda por la vía oral. Este resultado permite avalar científicamente la utilización de las hojas de esta planta por la población cubana, sin que haya sido informado hasta ahora, algún signo de toxicidad asociado a su uso etnobotánico.

**Irritabilidad de la mucosa oral**

El ensayo de irritabilidad de la mucosa oral se aplica solamente a sustancias que van a estar en contacto directo con esta. Sustancias que sean irritantes dérmicos u oculares, o que posean un pH menor que 2 o mayor que 11,5, no deben someterse a este ensayo y

declararse como irritantes (Draize *et al.*, 1994; ISO DIS-10993-10, 2002).

### Evaluación macroscópica y microscópica

La evaluación macroscópica de la mucosa oral de los biomodelos mostró un ligero enrojecimiento (eritema muy leve, según graduación de la Tabla 1 (ISO DIS-10993-10, 2002) en todos los animales. No se evidenció, a este nivel de observación, otro signo de lesión. Sin embargo, el examen microscópico mostró leve degeneración del epitelio, una ligera congestión vascular y un infiltrado ligero de células mononucleares en el tejido muscular de tres de los animales. No se observó reacción inflamatoria de la mucosa oral en ninguno de ellos.

La graduación media proporcionó un índice de irritación de 5. Este índice clasificó a las tabletas de *Tamarindus indica* L como “irritante leve”. Es significativo que, el índice de irritación obtenido es el menor valor posible dentro del grado “irritante leve”, que se encuentra entre 5 y 8 (Tabla 2). Este resultado se corresponde con la metodología de exposición aguda utilizada en este ensayo. El extracto blando de tamarindo, principio activo de las tabletas de

*Tamarindus indica* L, contiene ácidos orgánicos como el cítrico, tartárico y ascórbico (El Siddig *et al.*, 2007), así como fenoles, taninos y aceites esenciales (Escalona *et al.*, 2011). Todos estos compuestos pueden provocar una leve irritación en un tejido tan sensible como la mucosa oral, si la exposición es prolongada, algo que no ocurre durante el consumo de las tabletas de desintegración rápida, como en este caso, pues éstas solo estarán en contacto con la mucosa unos segundos.

### Comportamiento del peso corporal

La Figura 3 muestra el comportamiento del peso corporal en los dos grupos experimentales. Se aprecia un incremento constante del peso corporal, evidencia de que la irritación producida por las tabletas de *Tamarindus indica* L, no impidió que los animales se alimentaran (7,21 g/día) y bebieran agua (14,26 ml/día) adecuadamente durante el ensayo. No se encontraron diferencias estadísticas significativas en el peso corporal de ambos grupos experimentales, en cada tiempo evaluado ( $p_{\text{Kolmogorov-Smirnov}} = 0,9963$ ;  $t = 0,1335$ ,  $p = 0,9002$ ).

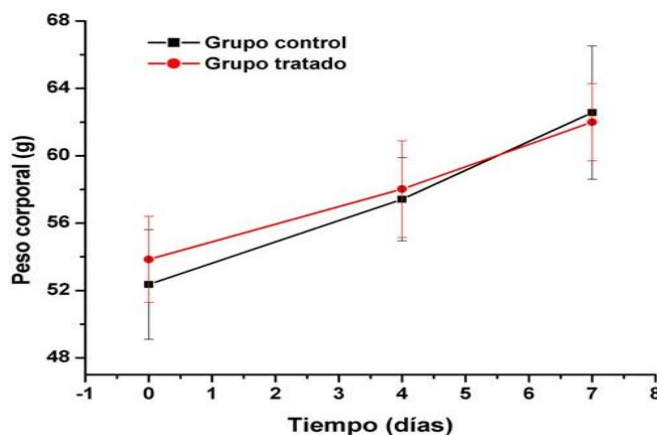


Figura 3

### Ganancia de peso corporal de los biomodelos experimentales en el ensayo de irritabilidad de la mucosa oral

El resultado observado no resulta invalidante para la utilización de las tabletas por vía oral. Primero, porque el índice de irritación de 5 clasifica como autorizado para el uso en humanos (Repetto, 1988; ISO 10993-10, 2002); y segundo, las tabletas de *Tamarindus indica* L, solo estarán en contacto con la mucosa unos segundos, cuando el paciente la coloque en la lengua antes de beber el agua y no 5 minutos, como sugiere este ensayo en la metodología utilizada.

### CONCLUSIONES

Las tabletas obtenidas a partir del extracto blando estandarizado de las hojas de *Tamarindus indica* L, no son tóxicas por exposición aguda, por vía oral, en una dosis de 2000 mg/kg de peso en el modelo animal y las condiciones experimentales utilizadas. De igual modo, las tabletas producen una irritabilidad leve de la mucosa oral, si se realiza una exposición aguda sobre este tejido. Estos resultados, constituyen una evidencia

científica, que avala el uso etnobotánico de las hojas de esta planta, elemento importante que permite avanzar en proceso de evaluación de la seguridad en la utilización de esta forma farmacéutica de origen natural.

## REFERENCIAS

- Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. 2009. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. **Arch Toxicol** 83: 519 - 548
- Díaz BJ, Martínez MC, Alfonso CA, Pardo TA, Esmérito BJ, Salas MH, Puente ZE, Sedeño SN. 2008. Evaluación de la toxicidad aguda oral e irritación sobre mucosa bucal de la solución CM-95 tratada magnéticamente. **Acta Toxicol Arg** 16: 34 - 40
- Draize JH, Woodard D, Calvery HO. 1944. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. **J Pharmacol Exp Ther** 82: 377 - 390.
- El-Siddig K, Gunasena HPM, Prasad BA, Pushpakumara DKNG, Ramana KVR, Vijayanand P, Williams JT. 2006. **Tamarind, *Tamarindus indica* L.** Southampton Centre for Underutilised Crops, Southampton, UK.
- Escalona AJC, Pérez RR, Licea JI, Rodríguez AJ, Argota CH, Cañizares LJ, Morris AH, Sierra GG. 2010. Chemical constituents of *Tamarindus indica* L. leaves. **Rev Cub Quim** 22: 65 - 71
- FDA. 2012. **Good laboratory practice (GLP) for non clinical laboratory studies.** 21 CFR Part 58. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/980335s1.pdf> [Consultado Enero 25, 2012].
- Gad SC, Weil CS. 1994. **Statistics for toxicologist.** En Hayes WA. Principles and methods of toxicology. 3<sup>er</sup> Edition. Raven Press LTD. NY. USA
- Harvard University 2012. Faculty of Arts & Sciences. **Standing committee on the use of animals in research & teaching.** Guidelines for animal studies involving death as an endpoint. [www.kudosconcepts.com/samples/arcm/documents/pdfs/death.pdf](http://www.kudosconcepts.com/samples/arcm/documents/pdfs/death.pdf) [Consultado Enero 25, 2012].
- Hayes WA. 1994. **Principles and methods of toxicology.** 2<sup>nd</sup> Edition. Raven Press. NY. USA.
- Martin DW, Mayes PA, Rodwell VW, Granner DK. 1985. **Harper's review of biochemistry.** Lange Medical Publication. California. USA.
- Mosberg AT, Hayes WA. 1989. **Subchronic toxicity testing.** En Hayes WA. Principles and methods of toxicology. 2<sup>nd</sup> Edition. Raven Press, LTD. NY. USA.
- Nevado UU, Ngene AA, Anaga AO, Chigor VN, Henrietta II, Okoh AI. 2011. Acute toxicity and hepatotoxicokinetic studies of *Tamarindus indica* extract. **Molecules** 16: 7415 - 7427.
- OECD/OCDE 423. 2012. **OECD Guideline for Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method.** [http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD\\_GL423.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL423.pdf) [Consultado Enero 25, 2012].
- ISO 10993-10. 2002. **Organización Internacional de Normalización.** Biological Evaluation of Medical Devices part 10. Test for irritation and skin sensitization.
- Repetto MR. 1988. **Toxicología Experimental.** Editorial Científico Médica. 2da Edición. Barcelona, España.
- Roig JT. 1988. **Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba.** Editorial Científico Técnica. La Habana. Cuba.
- Rodríguez AJR, Lafourcade PA, Escalona AJC. 2011. Formulación de comprimidos de tamarindo por el método de granulación húmeda. **Rev Cub Farm** 45: 414 - 422
- Rodríguez AJR, Pérez RR, Escalona-AJC, Lafourcade PA, Sierra GG. 2012. Standardization of the quality control parameters of the *Tamarindus indica* L. soft extract. **Rev Cub Plant Med** 17: 108 - 114
- Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. (Editors). 2009. **Handbook of Pharmaceutical Excipient.** Pharmaceutical Press & American Pharmacists Association. Washington, DC. USA.
- TOXIMED. 2009a. **Centro de Estudios de Toxicología y Biomedicina. Informe final de estudio preclínico toxicológico.** Evaluación de la irritabilidad de la mucosa oral del hámster sirio producida por el extracto fluido de las hojas de *Tamarindus indica* L (Tamarindo). Santiago de Cuba. Cuba.
- TOXIMED. 2009b. **Evaluación de Toxicidad aguda oral por el método de las clases de toxicidad del extracto fluido de las hojas de *Tamarindus indica* L. (Tamarindo) en ratas *Sprague Dawley*.** Centro de Estudios de

Toxicología y Biomedicina. Informe final de estudio preclínico toxicológico. ISCM. Santiago de Cuba. Cuba.