

## Comparación de los efectos del D-004, imipramina y sertralina en el modelo de nado forzado en ratones

### Comparative effects of D-004, Imipramine and Sertraline in the forced swimming test in mice

Dr. Cs. Daisy Carbajal Quintana, Dr. Cs. Vivian Molina Cuevas, MSc. Yazmin Ravelo Calzado, Dr. Cs. Rosa Mas Ferreiro

Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** La finasterida, inhibidor de la 5  $\alpha$ -reductasa, se emplea en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna, y ocasiona entre sus efectos adversos un aumento de cuadros de depresión. El D-004 es un extracto lipídico extraído a partir del fruto de la palma real (*Roystonea regia*), inhibe la 5  $\alpha$ -reductasa y previene la hiperplasia prostática benigna, y muestra un efecto antidepressivo moderado en el ensayo de nado forzado y suspensión por la cola.

**Objetivo:** comparar el efecto del D-004 con la imipramina y la sertralina sobre la duración de las conductas de inmovilidad, nado y escalado en el ensayo de nado forzado.

**Métodos:** se distribuyeron los ratones en ocho grupos: control (vehículo), tres tratados con D-004 (100, 250 y 500 mg/kg), dos con sertralina y dos con imipramina (30 y 50 mg/kg) respectivamente. Estos se colocaron en un cilindro de cristal que contenía agua a una altura de 6 cm y se cuantificaron las conductas.

**Resultados:** la administración oral de D-004 (100, 250 y 500 mg/kg) durante 14 días redujo significativamente el tiempo de inmovilidad con respecto al grupo control (17, 22 y 25 %) y aumentó significativamente la conducta de nado en 1,58, 1,68 y 1,74 veces. Este efecto resulta moderado (25 %) comparado con las reducciones alcanzadas por la sertralina y la imipramina (30 y 50 mg/kg) (60 %). Las dosis mayores (250 y 500 mg/kg) ocasionaron incrementos de la conducta de escalado, 2,79 y 3,55 veces superiores a la del grupo control, lo que mostró semejanza con la imipramina, aunque con una menor eficacia.

**Conclusiones:** el D-004 ejerce un moderado efecto antidepresivo, lo que pudiera contribuir al manejo de los pacientes con hiperplasia prostática benigna en los cuales se informa coincidencia de cuadros depresivos.

**Palabras clave:** D-004, imipramina, nado forzado, Roystonea regia, sertraline.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Finasteride is a 5  $\alpha$ -reductase inhibitor to treat benign prostatic hyperplasia (BPH) and one of the adverse effects is the increase of depressive symptoms. D-004 is a lipid extract from the real palm fruit (*Roystonea regia*) that is effective to prevent prostatic hyperplasia by inhibiting 5  $\alpha$ -reductase and shows moderate antidepressant effects in the forced swimming test (FST) and tail suspension test.

**Objective:** to compare the effects of D-004, Imipramine and Sertraline on the duration of behaviours under conditions of immobility, swimming and climbing in the forced swimming test.

**Methods:** mice were randomly distributed in 8 groups: control (vehicle), 3 treated with D-004 (100, 250 and 500 mg/kg), 2 with Sertraline and 2 with Imipramine (30 and 50 mg/kg) respectively. Mice were placed in a glass cylinder containing 6 cm high column of water and their behaviours were quantified.

**Results:** oral administration of D-004 (100, 250 and 500 mg/kg) during 14 days reduced the length of time of immobility with respect to the control group (17, 22 and 25 %), and significantly increased the behaviours at swimming by 1.58, 1.68 and 1.74 times. This is a moderate effect (25 %) if compared with Sertraline and Imipramine (30 and 50 mg/kg) (30 and 60 %) The doses of 250 and 500 mg/kg showed that climbing behaviours were 2.79 and 3.55 times higher than the control group. The results were similar to those of Imipramine but less effective.

**Conclusions:** D-004 showed moderate antidepressant effect. This fact could help in the treatment of patients with benign prostatic hyperplasia, who reported similar depressive status.

**Key words:** D-004, Imipramine, forced swimming test, *Roystonea regia*, Sertraline.

---

## INTRODUCCIÓN

La hiperplasia prostática benigna (HPB), enfermedad común en hombres mayores de 50 años, conlleva a padecer síntomas del tracto bajo urinario (STBU) que afectan la calidad de vida de los pacientes.<sup>1,2</sup>

La etiología de la enfermedad involucra factores hormonales, fundamentalmente el aumento de la conversión de testosterona (T) en dihidrotestosterona (DHT) por acción de la 5 $\alpha$ -reductasa prostática que desencadena procesos que propician el crecimiento prostático; y factores no hormonales, de los cuales el fundamental es el aumento del tono del músculo liso de la vejiga y la próstata regulado por los adrenoreceptores  $\alpha_1$  (ADR)- $\alpha_1$ . El tratamiento farmacológico de la HPB incluye los

---

inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa, los antagonistas de los ADR- $\alpha$ 1, la terapia combinada con ambos, y la fitoterapia, alternativa muy utilizada en el manejo de la patología.<sup>3,4</sup> La finasterida, el más utilizado de los inhibidores de la 5  $\alpha$ -reductasa, produce efectos adversos asociados a su uso, como afectaciones de la conducta sexual masculina, y más recientemente, un aumento de cuadros de depresión.<sup>5,6</sup>

El D-004 es un extracto lipídico del fruto de la palma real (*Roystonea regia*, *Arecaceae*), constituido por una mezcla de ácidos grasos, principalmente oleico, palmítico, láurico, linoléico y mirístico. La administración por vía oral de D-004 previene la hiperplasia prostática (HP) inducida in vivo por T, no por DHT, en roedores,<sup>7-9</sup> mientras que estudios in vitro han demostrado que produce una inhibición competitiva de la 5  $\alpha$ -reductasa prostática,<sup>10</sup> sin afectar el enlace de la DHT en próstata de ratas.<sup>11</sup> Además, el D-004 antagoniza las respuestas mediadas por los ADR- $\alpha$ 1 in vitro e in vivo.<sup>12</sup>

Aunque los estudios de toxicología experimental no han mostrado toxicidad asociada al tratamiento con D-004<sup>13</sup> ni siquiera afectación de la actividad copulatoria de la rata macho,<sup>14</sup> el hecho de que el D-004 inhiba la actividad de la 5  $\alpha$ -reductasa prostática, al igual que la finasterida, motivó a evaluar su posible efecto depresivo en modelos experimentales.<sup>15,16</sup> Sin embargo, el tratamiento con D-004 redujo, en vez de aumentar, el tiempo de inmovilidad en los modelos de nado forzado y suspensión por la cola, sin afectar la actividad exploratoria, la ejecución y coordinación motora ni la respuesta a estímulos nociceptivos en roedores,<sup>17</sup> mostrando un perfil análogo al de sustancias antidepresivas.<sup>15,18,19</sup>

Aunque este hecho minimizaba la preocupación inicial de que el tratamiento indujera conductas depresivas, despertó el interés de profundizar en su estudio.

Las sustancias antidepresivas reducen el tiempo de inmovilidad en el ensayo de nado forzado (ENF) en roedores, uno de los más empleados para evaluar su eficacia, si bien existen patrones distintivos según su modo de acción,<sup>20,21</sup> ya que los inhibidores selectivos de la recaptura noradrenérgica y dopaminérgica (desipramina, maprotilina, y bupropion) disminuyen la inmovilidad y aumentan la conducta de escalado,<sup>22,23</sup> y los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (5HT) (fluoxetina, paroxetina, sertralina) reducen la inmovilidad y aumentan el nado.<sup>23</sup>

Teniendo en cuenta estos antecedentes, este trabajo comparó, de modo preliminar, el efecto del D-004, la sertralina y la imipramina sobre la duración de las conductas de inmovilidad, nado y escalado en el ENF en ratones.

## MÉTODOS

### Animales

Se utilizaron ratones machos OF1 (20-25 g) suministrados por el Centro de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, La Habana, Cuba) que se adaptaron a las condiciones de laboratorio (temperatura 23  $\pm$  3 °C, humedad relativa 60  $\pm$  5 %, ciclos luz/oscuridad de 12 h) durante 7 días. El alimento (pienso para roedores CENPALAB) y el agua fueron suministrados ad libitum.

El estudio se condujo de acuerdo con las regulaciones vigentes sobre Buenas Prácticas de Laboratorio y a los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Centro de Productos Naturales (CPN). El protocolo de estos ensayos fue aprobado por el Comité de Ética para el trabajo con animales.

Todos los experimentos se llevaron a cabo entre las 8:00 y 14:00 h en un local aislado de ruidos y temperatura controlada.

### **Administración y dosificación**

El D-004, suministrado por el Departamento de Química Farmacéutica del CPN, se utilizó tras corroborar sus especificaciones de calidad.

Para su administración, el D-004, la imipramina (Quimefa, Cuba) y la sertralina (CIPLA LTD Mumbai, India) se suspendieron en un vehículo goma acacia/agua (2 %).

Los ratones se distribuyeron aleatoriamente en ocho grupos (nueve ratones por grupo): uno control, tratado con el vehículo, tres grupos tratados con D-004 (100, 250 y 500 mg/kg), dos grupos con imipramina (30 y 50 mg/kg) y dos con sertralina (30 y 50 mg/kg). El D-004 y el vehículo se administraron por vía oral mediante entubación gástrica (5 mL/kg) durante 14 días, mientras la imipramina y la sertralina se inyectaron por vía intraperitoneal (i.p.).

### **Descripción experimental**

Al concluir los tratamientos, los ratones se colocaron en un cilindro de cristal de 20 cm de diámetro y 30 cm de altura que contenía agua a  $24 \pm 1$  oC de temperatura y a una altura de 6 cm.<sup>21</sup>

Tras transcurrir 2 min iniciales de actividad vigorosa por parte de los animales, durante los 4 min siguientes se registró la duración de las conductas de inmovilidad, del nado y del escalado. La conducta de inmovilidad responde a la de flotación, en que los ratones solo ejecutan movimientos ligeros que le permitiesen mantener la cabeza fuera del agua; la de nado a los movimientos horizontales deliberados alrededor del cilindro y sobre la superficie del agua; y la de escalado a movimientos intensos con las cuatro patas, en que agitaban las delanteras contra la pared del cilindro.

Los resultados se expresan como la suma de los tiempos que los animales adoptan las diferentes conductas, empleando para esto un cronómetro digital.

### **Análisis estadístico**

Las comparaciones entre grupos se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis, y las comparaciones pares entre cada grupo tratado y el control con la prueba de la U de Mann Whitney, estableciendo un nivel de significación  $\alpha = 0,05$  para la significación estadística. Los datos se procesaron con el paquete de programas Statistic para Windows (Release 6,1; StatSoft Inc, Tulsa, OK, USA).

## **RESULTADOS**

En la tabla se resumen los resultados del estudio. Los ratones del grupo control mostraron un tiempo de inmovilidad mayor que el de nado y de escalado. La sertralina (30 y 50 mg/kg), redujo significativamente el tiempo de inmovilidad

---

(48 y 60 %, respectivamente, con relación al control), e incrementó el de nado en 2,66 y 3,2 veces, respectivamente, sin producir modificaciones significativas del tiempo de escalado. Por otra parte, la imipramina (30 y 50 mg/kg) inhibió significativamente ( $p < 0,001$ ) el tiempo de inmovilidad con relación al control (62 y 66 %, respectivamente), aumentó significativamente ( $p < 0,001$  y  $p < 0,01$ ) el tiempo de nado (3,02 y 2,6 veces mayor que el control) y de escalado (5,27 y 10 veces superior al control).

**Tabla.** Estudio comparativo del D-004, la sertralina y la imipramina en el modelo de nado forzado en ratones

Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Nado(s) (Incremento)#	Escalado(s) (Incremento)#	Inmovilidad (s) (% de reducción)
Control	0	47,9±7,22	4,76 ± 2,8	187,3 ± 6,38
D-004	100	76,1 ± 11,0* (1,58)	8,1 ± 5,95 (1,7)	155,7 ± 11,61* (17)
D-004	250	80,8 ± 7,9* (1,68)	13,3 ± 3,73* (2,79)	145,7 ± 8,87** (22)
D-004	500	83,4 ± 7,84** (1,74)	16,9 ± 3,79** (3,55)	139,7 ± 8,14*** (25)
Sertralina	30	127,5 ± 16,8*** (2,66)	14,6 ± 9,57 (3,06)	97,8 ± 14,6*** (48)
	50	154,7 ± 27,5** (3,2)	11,2 ± 4,22 (2,35)	74,0 ± 27,7** (60)
Imipramina	30	144,7 ± 4,32*** (3,02)	25,1 ± 4,28** x (5,27)	70,1 ± 15,4*** (62,5)
	50	126,0 ± 14,4** (2,6)	51,7 ± 19,3*** + xx (10,8)	62,2 ± 13,3*** (66,7)

# (Incremento) Número de veces que se incrementa la respuesta con respecto al grupo control  
 \*  $p < 0,05$  \*\*  $p < 0,01$  \*\*\*  $p < 0,001$  Comparación con el control. Prueba de la U de Mann Whitney  
 +  $p < 0,05$  Comparación vs. sertralina 30 mg/kg.  
 x  $p < 0,05$ , xx  $p < 0,01$  Comparación vs. sertralina 50 mg/kg.

Con excepción del efecto sobre la conducta de escalado, que resultó significativamente mayor ( $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ ) en el grupo tratado con imipramina que en el tratado con sertralina, los restantes efectos de ambas sustancias no fueron estadísticamente diferentes.

La administración oral de dosis repetidas de D-004 (100, 250 y 500 mg/kg) durante 14 días redujo significativamente ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  y  $p < 0,001$ ) el tiempo de inmovilidad con respecto al grupo control (17, 22 y 25 %, respectivamente); y aumentó significativamente ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ ) la conducta de nado 1,58; 1,68 y 1,74 veces por encima que el grupo control. Solo las dosis mayores (250 y 500 mg/kg) produjeron aumentos significativos ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ) de la conducta de escalado que resultaron 2,79 y 3,55 veces superiores, respectivamente, que la del grupo control. Los efectos del D-004 sobre los tiempos de inmovilidad, nado y escalado no resultaron dependientes de las dosis y fueron menores que los inducidos por la sertralina y la imipramina. Resulta obvio que el efecto del D-004 sobre el tiempo de inmovilidad, principal variable de este modelo, aunque significativo resulta moderado (25 %) en comparación con las reducciones del 3 60 % alcanzadas por la sertralina y la imipramina.

## DISCUSIÓN

El presente estudio demuestra que el tratamiento por vía oral con D-004 (100-500 mg/kg) produce un moderado efecto antidepresivo en el ENF en roedores, de modo que todas las dosis modificaron el tiempo de inmovilidad y nado y solo las dosis mayores modificaron el tiempo de escalado.

La congruencia de los resultados en ratones controles y en los tratados con sertralina o imipramina con lo referido por otros autores,<sup>24,25</sup> confiere validez a los resultados obtenidos en las condiciones experimentales en que se realizó el estudio, lo que indirectamente avala que los efectos observados en los grupos tratados con D-004 sean atribuibles al tratamiento.

Ha sido informado que este modelo es muy sensible y específico para las principales clases de medicamentos antidepresivos incluyendo antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la recaptación de 5-HT, inhibidores de la monoamina oxidasa y agentes atípicos,<sup>21,24</sup> y que sus distintivos efectos sobre los tiempos de inmovilidad, escalado y nado pueden aportar indicios preliminares del modo de acción antidepresivo de una sustancia en estudio.<sup>24</sup>

Los inhibidores de la recaptura de 5-HT como la sertralina, los antidepresivos tricíclicos como la imipramina, ambas sustancias de referencia utilizadas en este estudio, son muy efectivos y frecuentemente empleados en el tratamiento de la depresión, razón por la cual resultan comparaciones obligadas a la hora de dilucidar el potencial antidepresivo de una sustancia. Se considera que los inhibidores de la recaptura de 5-HT ejercen su efecto antidepresivo mediante el bloqueo de la recaptura de 5-HT de las terminales sinápticas, lo que produce una elevación de su concentración extracelular en las regiones límbicas del cerebro que favorece su acción sobre varios receptores postsinápticos de la 5-HT,<sup>26,27</sup> mientras que los tricíclicos previenen tanto la recaptura de noradrenalina como de 5-HT de las terminaciones nerviosas.<sup>28,29</sup>

La dilucidación del mecanismo mediante el cual el D-004 produce el efecto antidepresivo observado se encuentra más allá de los objetivos del estudio. Sin embargo, el hecho de que sus efectos se asemejen, aunque con mucha menor eficacia, a los de la imipramina, sugieren que pudiera inducir un aumento de la neurotransmisión noradrenérgica relacionada con la conducta de escalado en este modelo.<sup>21</sup>

La disminución del tiempo de inmovilidad que se observa en los animales tratados con D-004 corrobora los resultados de trabajos previos realizados en nuestro laboratorio, y aporta nuevos datos de sus efectos sobre el tiempo de nado y escalado, no cuantificados con anterioridad, así como de su magnitud relativa con respecto a antidepresivos utilizados en la clínica. En tal sentido, los presentes resultados no sustentan que el D-004 pueda producir efectos antidepresivos de relevancia clínica en comparación con tratamientos habituales, pero confirma que, a diferencia de la finasterida, con un mecanismo similar sobre la inhibición de la 5 $\alpha$ -reductasa prostática, ejerce un moderado efecto antidepresivo, lo que lejos de representar un efecto adverso potencial, pudiera contribuir al manejo de los pacientes con HPB en los cuales se informa coincidencia de cuadros depresivos.

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio, ensayos clínicos posteriores serán necesarios para comparar la eficacia del D-004 y la finasterida en pacientes con HPB y sobre la depresión producida por esta última, así como profundizar en el efecto del D-004 sobre los mecanismos de la depresión producida por los inhibidores de la 5 $\alpha$ -reductasa prostática.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Thorpe A, Neal D. Benign prostatic hyperplasia. *Lancet*. 2003;19:1359-67.
2. Bhargava S, Canda AE, Chapple CR. A rational approach to benign prostatic hyperplasia evaluation: recent advances. *Curr Opin Urol*. 2004;14:1-6.
3. Sandhu JS, Te AE. The role of 5 alpha-reductase inhibition as monotherapy in view of the MTOPS data. *Curr Urol Rep*. 2004;5:274-9.
4. Djavan B, Fong YK, Chaudry A, Reissigl A, Anagnostou T, Bagher F, Walder M, Marihart S, Harik M and Marberger M. Progression delay in men with mild symptoms of bladder outlet obstruction: a comparative study of phytotherapy and watchful waiting. *World J Urol*. 2005;23:253-6.
5. Traish AM, Hassani J, Guay AT, Zitzmann M, Hansen ML. Adverse Side Effects of 5 $\alpha$ -Reductase Inhibitors Therapy: Persistent Diminished Libido and Erectile Dysfunction and Depression in a Subset of Patients. *J Sex Med*. 2011;8(3):872-84.
6. Römer B, Gass P. Finasteride-induced depression: new insights into possible pathomechanisms. *J Cosmet Dermatol*. 2010;9(4):331-2.
7. Arruzazabala ML, Carbajal D, Mas R, Molina V, González V, Rodríguez E. Preventive effects of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm (*Rostoynea regia*) fruits, on prostate hyperplasia induced with testosterone on intact and castrated rodents. *Drugs Exptl Clin Res*. 2004:227-34.
8. Carbajal D, Arruzazabala ML, Más R, Molina V, Rodriguez E, Gonzalez V. Effect of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm fruit, on inhibiting prostate hyperplasia induced with testosterone and dihydrotestosterone in rats. *Curr Ther Res Clin & Exptl*. 2004;65:505-14.
9. Carbajal D, Molina V, Más R, Arruzazabala ML. Therapeutic effect of D-004, a lipid extract from *Roystonea regia* fruits, on prostate hyperplasia induced in rats. *Drugs Exp Clin Res*. 2005;31(5-6):193-7.
10. Pérez Y, Menéndez R, Más R, González R. In vitro effect of D-004, a lipid extract from the Cuban Royal palm (*Roystonea regia*) fruits, on the activity of prostate steroid 5-alpha reductase. *Curr Ther Res*. 2006;67(6):396-405.
11. Pérez Y, Menéndez R, Más R, González RM. In vitro effect of D-004, a lipid extract from the fruits of Cuban royal palm, on androgenic receptors of prostatic tissue. *Rev CENIC Cien Biol*. 2007;38(3):177-9.
12. Arruzazabala ML, Más R, Carbajal D, Molina V. Effect of D-004, a lipid extract from Cuban royal palm fruit, on in vitro and in vivo effects mediated by a adrenoceptors in rat. *Drugs R & D*. 2005; 6:281-9.
13. Gutiérrez A, Gámez R, Mas R, Noa M, Pardo B, Marrero G, et al. Oral subchronic toxicity of a lipid extract from *Roystonea regia* fruits in mice. *Drugs Chem Toxicol*. 2008;3:217-28.
14. Fernández L, Más R, Fernández JC, Mendoza S, Gámez R, Pardo B. Effect of D-004, a lipid extract of the fruit of the Cuban Royal Palm (*Roystonea regia*) or the



lipidosterolic extract of Saw Palmetto (*Serenoa repens*) on the sexual activity in male rats: a controlled experimental study. *Curr Ther Res.* 2008;69(1):65-74.

15. Porsolt RD. Animal models of depression: utility for transgenic research. *Rev Neurosci.* 2000;11:53-5.

16. Porsolt RD, Anton G, Deniel M, Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 1978;47:379-91.

17. Carbajal D, Ravelo Y, Molina V, Más R, Arruzazabala ML. D-004, a lipid extract from royal palm fruit, exhibits antidepressant effects in the forced swim test and the tail suspension test in mice. *Pharmacol Biochem & Behavior.* 2009;92(2):465-8.

18. Campos AR, Barros AI, Albuquerque FA, M Leal LK, Rao VS. Acute effects of guarana (*Paullinia cupana* Mart.) on mouse behaviour in forced swimming and open field tests. *Phytother Res.* 2005;19:441-3.

19. Xu Y, Ku BS, Yao HY, Lin YH, Ma X, Zhang YH, Li XJ. The effects of Curcumin on depressive-like behaviors in mice. *Eur J Pharmacol.* 2005;518:40-6.

20. Detke M, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially activated by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology.* 1995;121:66-72.

21. Detke MJ, Johnson J, Lucki I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol.* 1997;5:107-12.

22. Rénéric J-P, Lucki I. Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology.* 1998;136:190-7.

23. Cryan J, Lucki I. Antidepressant-like behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;295:1120-6.

24. Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology.* 1984;83:1-16.

25. Seyed Adel Moallem, Hossein Hosseinzadeh, Fatemeh Ghoncheh Evaluation of Antidepressant Effects of Aerial Parts of *Echium vulgare* on Mice. *Iranian J Basic Medi Sci.* 2007;10:189-96.

26. Goodnick PJ and Goldstein BJ. Selective serotonin reuptake inhibitors in affective disorders. I. Basic pharmacology. *J Psychopharmacol.* 1998;12:S5-S20.

27. Cottingham J. Thioridazine/Mellaril Parkinson's List Drug Database Index 2000:1-4. Available from: <http://www.parkinsons-information-exchange-network-online.com/drugdb/126.html>

28. Reynolds JEF, Partiti K, Parson AV, Sweetman SC. The imipramine. In: Martindale. The extra Pharmacopeia. 31 ed. London: Pharmaceutical Press; 1996. p. 316-7.



29. Wong DT, Perry KW, Bymaster FP. The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nature Rev Drug Discov.* 2005; 4: 764-74.

Recibido: 22 de marzo de 2012.

Aprobado: 24 de mayo de 2012.

Daisy Carbajal Quintana. Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Calle 198 entre 19 y 21, Atabey, municipio Playa, Apartado Postal 6414, La Habana, Cuba. Correo electrónico: [cpn.sup@cnic.edu.cu](mailto:cpn.sup@cnic.edu.cu)