

**EFEK EKSTRAK ETANOL RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) TERHADAP MEMORI SPASIAL TIKUS MODEL DEMENSIA YANG DIINDUKSI TRIMETHYLTIN**

**THE EFFECT OF *Curcuma xanthorrhiza* Roxb RHIZOME ETHANOL EXTRACT TO SPATIAL MEMORY ON DEMENTIA RATS INDUCED BY TRIMETHYLTIN**

*Nuroh Aspamufita, Sapto Yuliani*

*Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta*

*Jl. Prof. Dr. Supomo, Telp. (0274) 379418*

*Email : syuliani@yahoo.com*

**Abstrak**

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) merupakan salah satu tanaman yang mengandung kurkumin. Kurkumin telah terbukti berkhasiat sebagai *anti amyloidogenic*, antioksidan, dan anti inflamasi yang dapat mencegah demensia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap memori spasial tikus model demensia yang diinduksi *trimethyltin* (TMT). Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang terbagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Semua kelompok diberi TMT secara intraperitoneal kecuali kelompok I. Kelompok I (kontrol sehat) dan kelompok II (kontrol TMT/sakit) diberi larutan CMC-Na 1% secara oral. Kelompok III (kontrol obat) diberi larutan *citicoline* dengan dosis 200 mg/kgBB. Kelompok IV, V, dan VI diberi ekstrak temulawak dengan dosis masing-masing 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 150 mg/kgBB secara oral. Gambaran memori spasial diperoleh melalui uji Morris water maze yang terdiri dari *acquisition trial* dan *probe trial*. Data hasil uji kemudian dianalisa secara statistik dengan *one-way repeated measure ANOVA*. Hasil uji *Morris water maze* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kontrol sakit dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak temulawak dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB ( $p < 0,05$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna antara ekstrak temulawak dosis 100 mg/kgBB dengan kontrol sehat ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb pada dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan memori spasial pada tikus model demensia yang diinduksi TMT.

**Kata kunci :** *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, memori spasial, *Morris water maze*

## Abstract

*Curcuma xanthorrhiza* Roxb is one of the plants containing curcumin. Curcumin has anti-amyloidogenic, antioxidant, and anti-inflammatory activity that can prevent dementia. The aim of the research was to know the effect of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb rhizome ethanol extract (CREE) to spatial memory on dementia model rat induced by trimethyltin (TMT). This research use 30 rats, divided into 6 groups, each group consisted of 5 rats. All groups were given trimethyltin intraperitoneal lyexcep tgroup I. Group I (healthy controls) and group II (TMT /illness control) were given a solution of 1% CMC-Na orally. Group III (drug control) were given citicoline 200 mg/kgBW orally. Group IV, V, and VI were given CREE orally dose 50 mg/kgBW, 100 mg/kgBW, and 150 mg/kgBW respectively. Data of spatial memory were obtained by Morris water maze test consisted of acquisition trial, and a probe trial. Data from the test then statistically analyzed by one-way repeated measure ANOVA. Morris water maze test showed that there were significant differences ( $p < 0,05$ ) between TMT group compared with CREE dose 50 mg/kgBW, 100 mg/kgBW, and 150 mg/kgBW group. But there was no significant difference ( $p > 0,05$ ) between CREE dose 100 mg/kgBW group and drug control group. Based on the research results can be concluded that ethanol extract *Curcuma xanthorrhiza* Roxb rhizome at dose of 100 mg / kgBW can improve spatial memory on dementia model rat induced by trimethyltin.

**Key words :** *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., spatial memory, Morris water maze

## PENDAHULUAN

Demensia adalah penurunan yang progresif terhadap fungsi kognitif, tingkah laku dan kepribadian akibat penyakit pada sebagian atau seluruh hemisfer cerebri. Demensia menyebabkan gangguan fungsi memori tanpa adanya gangguan kesadaran (Evans *et al.*, 2000). *Alzheimer's disease* adalah tipe demensia dengan persentase kasus terbanyak, 60% dari semua kasus demensia (Van Marum, 2008).

Stres oksidatif merupakan pato-genesis penting demensia (Butterfield *et al.* 2002). *Trimethyltin* (TMT) merupakan senyawa organometal yang bersifat neurotoksik dan dapat menyebabkan kematian saraf pada otak tikus melalui mekanisme stres oksidatif (Shuto *et al.* 2009). *Neurode* generasi ditandai dengan kematian saraf terutama pada daerah sistem *limbic* dan hipokampus pada khususnya (Geloso *et al.* 2004). Induksi TMT biasa digunakan sebagai model demensia tipe Alzheimer (Ishikawa *et al.* 1997) karena TMT menyebabkan gangguan proses memori (Geloso *et al.* 2004). TMT menyebabkan penurunan kemampuan tikus pada *Morris water maze* (MWM) karena adanya neuro-degenerasi pada hipokampus (Park *et al.* 2011).

Uji MWM akan menggambarkan memori spasial pada tikus. Memori spasial pada binatang berperan dalam menemukan lokasi yang menyediakan makanan dan keselamatan untuk mempertahankan hidup (Dogru *et al.* 2003). Memori spasial binatang sama dengan memori deklaratif pada manusia. Memori deklaratif adalah memori tentang suatu objek yang berhubungan dengan lingkungan sekitarnya (Guyton dan Hall, 2000).

Zat antioksidan dapat mencegah dan memperbaiki kerusakan akibat stres oksidatif. Cole *et al.* (2004) menyatakan kurkumin dapat menunda dan mencegah progresifitas *Alzheimer's disease*. Temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif karena di dalam rimpangnya mengandung senyawa kurkumin.

Percobaan secara *in vitro* dan *in vivo* membuktikan bahwa kurkumin berkhasiat sebagai *anti amyloidogenic*, antioksidan, dan anti inflamasi yang dapat mencegah *Alzheimer's disease* (Ringman *et al.* 2005). Bahkan sifat antioksidan kurkumin sepuluh kali lebih kuat dibandingkan vitamin E (Khopde *et al.* 1999).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza* Roxb terhadap memori spasial tikus model demensia yang diinduksi TMT. Penelitian ini diharapkan akan menjadi dasar pengembangan temulawak sebagai anti demensia.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan yaitu alat-alat gelas *pyrex*, *magnetics turrer*, *rotary evaporator Heidolph*, timbangan *Ohaus*, tabung reaksi, *chamber*, densitometer. Alat untuk uji memori adalah kolam *Morris water maze*, *video camera*, kain, *hair dryer*, dan spuit injeksi.

## Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah rimpang temulawak yang diperoleh dari CV. Merapi Farma di daerah Sleman, etanol 96%, tikus jantan galur Sprague-Dawley dengan berat badan 150-250 gram berumur 2-3 bulan yang diperoleh dari UHP Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan standarisasi ekstrak yaitu *silica gel 60 F 254* sebagai fase diam dan fase gerak kloroform dan metanol proanalisis. Bahan kimia yang digunakan yaitu *trimethyltin chloride* sebagai induktor model demensia, *citicoline* sebagai obat pembanding, NaCl 0,9% sebagai pelarut TMT, aquades sebagai pelarut *citicoline*, CMC Na 1% sebagai pelarut ekstrak. Bahan untuk uji MWM adalah air dan santan.

## Pembuatan Ekstrak

Serbuk rimpang temulawak diidentifikasi di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan. 250 gram serbuk kemudian dimaserasi kemudian dimasukkan dalam gelas beker 1000 ml dan direndam 500 ml etanol 96% selama 24 jam. Sebelumnya dilakukan pengadukan dengan *magnetic stirrer* selama 2 jam. Maserat kemudian disaring dengan corong Buchner sampai terpisah dari ampasnya. Sari etanol kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

## Standarisasi Ekstrak

Membuat larutan induk kurkumin 50 mg/ml. Kemudian membuat kurva baku (1;5;10;15;20;25;30 mg/ml) dan larutan sampel dengan melarutkan 100 mg ekstrak ke dalam 10 ml etanol 96%. Dengan fase diam *silica gel 60 F 254* dan fase gerak campuran kloroform dan metanol (9:1) *plate KLT* dielusi kemudian dibaca menggunakan densitometer.

## Jalannya Penelitian

30 ekor hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok. Semua kelompok kecuali kelompok I (kontrol sehat) diberi induksi larutan TMT dosis 8 mg/kg BB. Kelompok I (kontrol sehat) dan kelompok II (kontrol sakit) diberi larutan CMC Na 1% secara peroral. Kelompok III (kontrol obat) diberi larutan *citicoline* dengan dosis 200 mg/kg BB. Kelompok IV, V, IV diberi suspensi ekstrak etanol rimpang temulawak dengan dosis 50 mg/kg BB; 100 mg/kg BB; 150 mg/kg BB. Perlakuan dilakukan selama 21 hari dan hari ke-22 dilakukan uji *Morris water maze*.

## Uji Morris Water Maze (MWM)

Uji Morris water maze dilakukan sesuai metode yang dilakukan oleh Vorhees dan Williams (2006)

dengan modifikasi Pengujian terdiri dari 3 tahapan yaitu *acquisition trial*, *probe trial* dan uji kemampuan sensorimotoris. Kolam dibagi menjadi empat kuadran secara imajiner dan di sekeliling *maze* diberi penanda berupa poster, pintu, sumber cahaya dan pengamat. Kamera video diletakkan di atas *maze*. Kolam diisi air opak dengan diberi santan.

*Acquisition trial* dilakukan selama 5 hari. Tikus akan dilatih untuk menemukan *platform* yang terletak 2 cm di bawah permukaan air pada salah satu kuadran sebanyak empat kali per hari. Tikus dimasukkan ke dalam kolam pada salah satu kuadran secara random. Waktu diakhiri jika tikus telah mencapai *platform* atau setelah berenang selama 60 detik tetapi belum mencapai *platform*. Jika tikus tidak berhasil menemukan *platform* selama 60 detik maka tikus akan dibimbing untuk menemukan *platform* dan ditempatkan di atas *platform* selama 15 detik sebelum latihan berikutnya. Waktu dan jarak tempuh tikus mencapai *platform* dicatat.

Pada *probe trial* tikus dibiarkan berenang selama 60 detik tanpa *platform*. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap waktu lamanya tikus berada di kuadran letak *platform* dan berapa kali tikus melintasi kuadran letak *platform*, hal ini juga dilakukan sebanyak empat kali tiap tikus.

Pada uji kemampuan sensori-motoris, *platform* terletak 2 cm di bawah air diberi penanda dengan warna mencolok. Letak *platform* diubah-ubah pada kuadran yang berbeda tiap latihan. Tikus dimasukkan pada salah satu kuadran kecuali pada kuadran yang ditempati *platform*. Tiap tikus dilatih empat kali, jika selama 60 detik tikus tidak dapat mencapai *platform* maka tikus akan dibimbing untuk menemukan *platform*. Waktu tempuh tikus untuk menemukan *platform* dicatat.

## Analisis Data

Data *Acquisition trial* dan *probe trial* dianalisa secara statistik menggunakan uji *one-wayrepeated measure* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

Data jarak diperoleh menggunakan *curvemeter*, dan dihitung menggunakan rumus berikut :

$$= \frac{\text{diameter kolam sebenarnya}}{\text{diameter kolam pada video}} \times \text{jarak pada video}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembuatan ekstrak

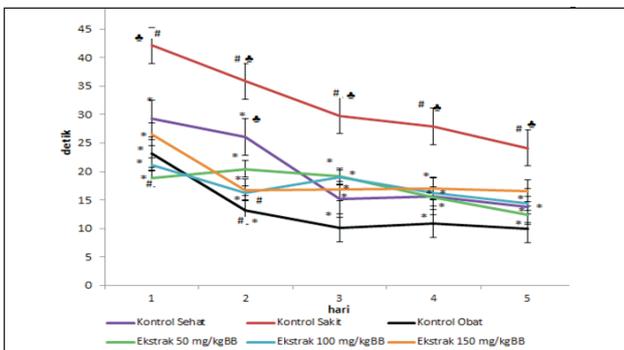
Hasil identifikasi simplisia menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar simplisia rimpang temulawak *Curcuma*

*xanthorrhiza* Roxb). Ekstrak kental etanol rimpang temulawak yang diperoleh sebanyak 86,85 gram atau 8,69 %. Hasil standarisasi menunjukkan bahwa kurkumin yang terkandung dalam ekstrak sebesar 95,73 %.

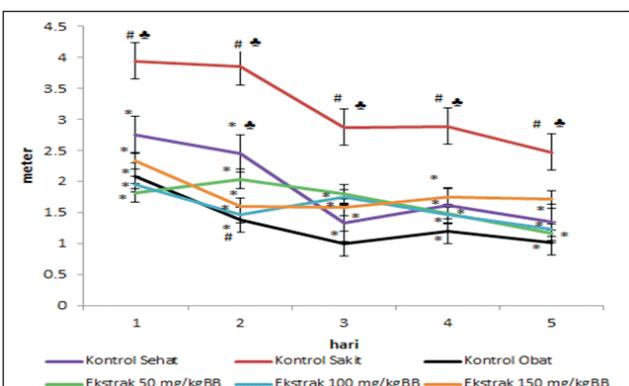
### Hasil Uji Morris Water Maze

Uji *Morris water maze* (MWM) terdiri dari tiga tahap yaitu, *acquisition trial*, *probe trial*, dan uji kemampuan sensorimotoris. Gambaran memori spasial akan diperoleh dari *Acquisition trial* dan *probe trial*.

*Acquisition trial* adalah tes untuk melihat fase latihan sebagai proses pembelajaran untuk pembentukan memori spasial. Fase ini dilakukan dalam 5 hari berturut-turut dengan 4 latihan per hari. Hasil *acquisition trial* dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



**Gambar 1.** Rerata waktu latensi  $\pm$  SEM pada *Acquisition trial*. Pengujian dilakukan selama 5 hari dengan 4 kali latihan perhari. \* menunjukkan  $p < 0,05$  jika dibandingkan kontrol sakit, # jika dibandingkan kontrol sehat, dan ♣ jika dibandingkan kontrol obat



**Gambar 2.** Rerata jarak  $\pm$  SEM pada *Acquisition trial*. Pengujian dilakukan selama 5 hari dengan 4 kali latihan perhari. \* menunjukkan  $p < 0,05$  jika dibandingkan kontrol sakit, # jika dibandingkan kontrol sehat, dan ♣ jika dibandingkan kontrol obat

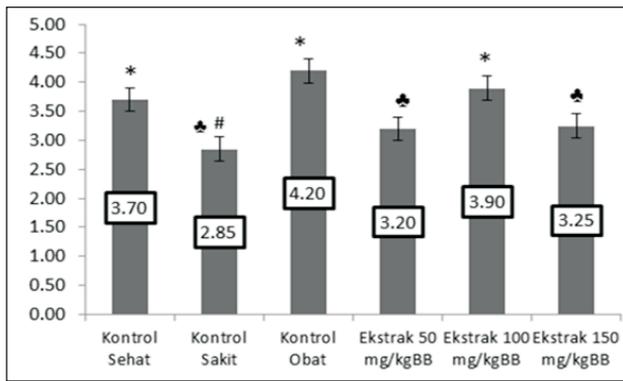
Gambar 1 dan 2 menunjukkan pemberian TMT dapat menurunkan fungsi memori. Seperti yang dinyatakan oleh Balaban *et al.* (1988) bahwa pemberian TMT dapat menyebabkan terjadinya penurunan fungsi memori dan penurunan kemampuan belajar karena terjadinya neurodegenerasi pada hipokampus. Neurodegenerasi terjadi karena TMT akan menyebabkan stres oksidatif dengan memproduksi *reactive oxygen species* (ROS), meningkatkan *reactive nitrogen species* (RNS) dan peroksidasi lipid (Zhang *et al.*, 2006).

Pada data waktu jika kelompok kontrol sehat dibandingkan dengan kelompok ekstrak, hanya kelompok ekstrak dengan dosis 150 mg/kgBB yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna (lihat Gambar 1). Kelompok ekstrak dosis 50 mg/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna pada hari ke-1. Kelompok ekstrak dosis 100 mg/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna pada hari ke-2.

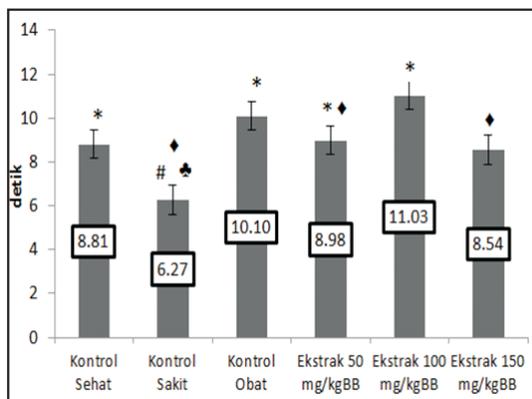
Pada data jarak tidak ada perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ekstrak, baik dosis 50; 100; maupun 150 mg/kgBB (lihat Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa sebenarnya pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak dapat meningkatkan memori spasial pada tikus model demensia yang diinduksi TMT dengan adanya kandungan kurkumin yang berkhasiat sebagai zat antioksidan sehingga dapat mencegah terjadinya neurodegenerasi. Kandungan kurkumin dalam ekstrak etanol rimpang temulawak kemungkinan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif akibat induksi TMT dengan menurunkan terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) serta mencegah terjadinya peroksidasi lipid. Seperti hasil penelitian Ringman *et al.* (2005), kurkumin berkhasiat sebagai antioksidan dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas dan menurunkan peroksidasi lipid. Selain itu, kurkumin sebagai antioksidan juga dapat serta meningkatkan aktivitas *super oxide dismutase* (SOD) dan *sodium-potassium ATPase* yang normalnya akan menurun dengan bertambahnya usia (Bala *et al.*, 2006).

*Probe trial* adalah tes untuk melihat fungsi memori hewan uji yaitu kemampuan penyimpanan memori spasial setelah fase pembelajaran pada *acquisition trial*. *Probe trial* dilakukan selama satu hari dengan empat kali tes. Hasil *probe trial* dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.

Dari Gambar 3 dan 4 dapat diketahui bahwa pemberian TMT menyebabkan terjadinya gangguan pada fungsi memori. Selain itu dapat diketahui bahwa pemberian *citicoline* sebagai obat pembanding dapat meningkatkan fungsi memori tikus model demensia yang diinduksi TMT. Sesuai dengan hasil penelitian



Gambar 3. Rerata berapa kali tikus di kuadran platform ± SEM pada probe trial\* menunjukkan p=<0,05 jika dibandingkan kontrol sakit, # jika dibandingkan kontrol sehat, ♣ jika dibandingkan kontrol obat, dan ♦ jika dibandingkan ekstrak 100 mg/kgBB



Gambar 4. Rerata waktu lamanya tikus di kuadran platform ± SEM pada probe trial\* menunjukkan p=<0,05 jika dibandingkan kontrol sakit, # jika dibandingkan kontrol sehat, dan ♣ jika dibandingkan kontrol obat

Rao *et al.* (2002), yang menunjukkan bahwa *citicoline* dapat mengembalikan aktivitas asetilkolines-terase dan pompa Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>hipokampus sehingga dapat meningkatkan performa memori.

Kelompok kontrol sakit dibandingkan dengan kelompok ekstrak dosis 100 mg/kgBB terdapat perbedaan bermakna (lihat Gambar 3). Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan memori spasial pada tikus model demensia yang diinduksi TMT. Selain itu tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol obat dengan kelompok ekstrak dosis 100 mg/kgBB. Tetapi pada Gambar 4 antara kelompok kontrol sakit dengan kelompok ekstrak dosis 50 dan 100 mg/kgBB terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa sebenarnya pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak dosis 50 mg/kg BB dapat meningkatkan memori spasial tikus model demensia yang diinduksi TMT, tetapi efeknya tidak sebaik dosis 100 mg/kgBB.

Jika kontrol obat dibandingkan dengan kelompok ekstrak, baik dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, maupun 150 mg/kgBB tidak terdapat perbedaan bermakna. Ini menunjukkan bahwa sebenarnya pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 150 mg/kgBB dapat meningkatkan memori spasial sama seperti *citicoline* sebagai obat pembanding, tetapi terdapat perbedaan pada tingkat keefektifannya.

Uji *Morris water maze* (MWM) yang terakhir adalah uji kemampuan sensorimotoris. Uji ini hanya akan digunakan untuk melihat kemampuan tikus dalam berenang atau kemampuan motoris tikus, kemampuan indra penglihatannya sebagai kemampuan sensoris, dan motivasi tikus untuk keluar dari air sebagai faktor yang akan mempengaruhi kecepatan berenang tikus sehingga tidak akan menggambarkan kemampuan belajar maupun fungsi memori spasial tikus karena tikus tidak harus mencari dan mengingat letak platform tetapi cukup melihat tanda untuk bisa menemukan posisi platform (Vorhees dan Williams, 2006). Hasil uji menunjukkan bahwa tidak ada gangguan aktivitas sensorimotoris pada hewan uji karena semua hewan uji dapat mencapai platform sebelum waktu yang ditentukan habis.

Dari hasil uji MWM terutama *acquisition trial* dan *probe trial* dapat diketahui bahwa *trimethyltin chloride* (TMT) dapat digunakan sebagai induktor model demensia yang menyebabkan terjadinya gangguan fungsi memori. Pemberian ekstrak etanol rimpang temulawak dengan dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan memori spasial tikus model demensia yang diinduksi TMT sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif anti demensia yang efektifitasnya hampir sama dengan *citicoline* sebagai obat pembanding.

### KESIMPULAN

Ekstrak etanol rimpang temulawak *Curcuma xanthorrhiza*, Roxb dapat meningkatkan memori spasial tikus model demensia yang diinduksi TMT. Ekstrak etanol rimpang temulawak dengan dosis 100 mg/kgBB dapat meningkatkan memori spasial tikus model demensia yang diinduksi TMT.

### DAFTAR PUSTAKA

Bala, K., Tripathy, B.C., Sharma, D., 2006, Neuroprotective and anti-ageing effects of curcumin in aged rat brain region, *Biogerontology*, 7:81–9.

Balaban, C.D., O’Callaghan, J.P., Billingsley, M.I., 1988, Trimethyltin-induced Neuronal Damage in the Rat Brain, *Neuroscience*, 26: 337-361.

- Butterfield, D.A., Griffin, S., Munch, G., Pasinetti, G.M., 2002, Amyloid  $\beta$ -peptide and amyloid pathology are central to the oxidative stress and inflammatory cascades under which Alzheimer's disease brain exists, *J. Alzheimers Dis.*, 4 (3): 193 -201.
- Cole, G.M., Morihara, T., Lim, G.P., Yang, F., Begum, A., Frautschy, S.A., 2004, NSAID and Antioxidant Prevention of Alzheimer's disease: Lessons from *In Vitro* and Animal Models. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1035:68-84.
- Dogru, E.J., Gumusbas, U., Kara, F., 2003, Individual variation in the spatial reference and working memory assessed under allothetic and idiothetic orientation cues in rat, *Acta Neurobiologica*, 63:17-23.
- Evans, C., Mellor-Clark, J., Margison, F., Barkham, M., Audin, K., Connell, J., McGrath, G., 2000, CORE: Clinical Outcomes in Routine Evaluation, *Journal of Mental Health*, 9: 247-255.
- Geloso, M.C., Corvino, V., Cavallo, V., Toesca, A., Guadagni, E., Passalacqua, R., Micheti, F., 2004, Expression of Astrocytic Nestin in the Rat Hippocampus During Trimethyltin-induced neurodegeneration, *Neurosci Lett*, 357: 103-106.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2000, The Cerebral cortex; Intellectual functions of the brain: Learning and memory, *Textbook of Medical Physiology*, 10<sup>th</sup> edition, Philadelphia.
- Khopde, S.M., Priyadarsini, K.I., Venkatesan, N., Rao, M.N.A., 1999, Free radical scavenging ability and antioxidant efficiency of curcumin and its substituted analogue. *Biophysical Chemistry*, 80(2): 83-89.
- Ishikawa, K., Kubo, T., Shibanoki, S., Matsumoto, A., Hata, H., Asai, S., 1997, Hippocampal degeneration inducing impairment of learning in rats: model of dementia, *Behav. Brain Res.*, 83: 39-44.
- Park, H.J., Shim, S.S., Choi, W.K., Kim, K.S., Shim, I.S., 2011, Neuroprotective Effect of Lucium chinense Fruit on Trimethyltin Induced Learning and Memory Deficits in the Rats, *Exp Neurobiol*, 20(3): 137-143.
- Rao, M.A., Hatcher, J.F., Dempsey, R.J., 2002, Citicoline: neuroprotective mechanisms in cerebral ischemia, *Journal of Neurochemistry*, 80: 12±23.
- Ringman, J.M., Sally, A.F., Gregory M.C., Donna, L.M., Jeffrey, L.C., 2005, A Potential Role of the Curry Spice Curcumin in Alzheimer's Disease, *Curr Alzheimer Res.*, 2(2): 131-136.
- Shuto, M., Higuchi, K., Sugiyama, C., Yoneyama, M., Kuramoto, N., Nagashima, R., Kawada, K., Ogita, K., 2009, Endogenous and Exogenous Glucocorticoids Prevent Trimethyltin From Causing Neuronal Degeneration of the Mouse Brain In Vivo: Involvement of Oxidative Stress Pathways, *J Pharmacol Sci*, 110: 424-436.
- van Marum R.J., 2008, Current and future therapy in Alzheimer's disease, *Fundam. Clin. Pharmacol*, 22, 265-274.
- Vorhees, Charles V., Williams, Michael T., 2006, Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory, *Nat Protoc.*, 1 (2): 848-858.
- Zhang, L., Li, L., Prabhakaran, K., Borowitz, J.L., Isom, G.E., 2006, Trimethyltin induced apoptosis is associated with upregulation of inducible nitric oxide synthase and bax in a hippocampal cell line, *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 216, 34-43.