

Évaluation de la capacité antioxydante et anti- acétylcholinestérase d'extraits de *Galanthus nivalis* et de *Narcissus pseudo-narcissus*

Rodica Mihaela Dinică

Département de Chimie,
Physique et Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
rodica.dinica@ugal.ro

Bianca Furdui

Département de Chimie,
Physique et Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
bfurdui@ugal.ro

Sabine Chierici

Département de Chimie Moléculaire
Université Grenoble Alpes,
CNRS
Grenoble, France
sabine.chierici@univ-grenoble-alpes.fr

Cécile Dupont

Département de Chimie Moléculaire
Université Grenoble Alpes,
CNRS
Grenoble, France
cecile.dupont@univ-grenoble-alpes.fr

Ioana Otilia Ghinea

Département de Chimie,
Physique et Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
ioana.ghinea@ugal.ro

Alexandra Mariana Ionescu

Département de Chimie, Physique et
Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
alexandra.ionescu@ugal.ro

Maria Daniela Mihaila

Département de Chimie, Physique et
Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
maria.mihaila@ugal.ro

Anna Busuioc

Département de Chimie,
Physique et Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
anna.cazanevscaia@ugal.ro

Andreea Veronica Botezatu

Département de Chimie,
Physique et Environnement
Université "Dunarea de Jos" de Galati
Galati, Roumanie
andreea.botezatu@ugal.ro

Résumé— La galantamine est un composé d'intérêt dans le développement de médicaments contre la maladie d'Alzheimer [1,2]. Dans ce contexte, les propriétés biologiques de différents extraits riches en galantamine ont été évaluées dans ce travail. Les études ont été menées à partir de bulbes des espèces *Galanthus nivalis* et *Narcissus pseudo-narcissus*. Les bulbes séchés ont été broyés finement dans un mortier et des extraits hydroalcooliques (solution aqueuse méthanolique à 80 %) ont été obtenus par extraction sous ultrasons pendant 2 heures. En parallèle, la galantamine synthétique a été extraite du Reminyl® 16 mg commercial et utilisée comme témoin dans cette étude. En utilisant la méthode de chromatographie sur couche mince, la présence de galantamine dans la composition des deux espèces étudiées a été identifiée. Les extraits obtenus ont été ensuite analysés pour leur activité antioxydante en utilisant les tests de réduction du radical DPPH (2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et de décoloration du β -carotène. Leur action inhibitrice de l'acétylcholinestérase, une enzyme impliquée dans la pathologie de la maladie d'Alzheimer, a également été évaluée. La méthode DPPH a montré des activités inhibitrices de 39 et 55 % pour les deux extraits de 12,5 mg/mL testés, activité proche de celle obtenue pour 0,5 mg de galantamine. La méthode de décoloration du β -carotène a montré quant à elle des activités entre 50 et 99 % pour les extraits selon la concentration testée de 5 à 15 mg/mL, révélant une activité antioxydante remarquable en particulier pour l'extrait issu de *Narcissus pseudo-narcissus*. L'action des deux extraits de plantes de 3,33 mg/mL sur l'acétylcholinestérase a également révélé leur capacité à inhiber cette enzyme avec un taux d'inhibition comparable à une solution de galantamine à 0,13 mg/mL.

Mots-clés—composés naturels, activité biologique, maladie d'Alzheimer, galantamine, antioxydants, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

I. INTRODUCTION

La maladie d'Alzheimer (MA) se caractérise principalement par une dégénérescence sévère du système nerveux central (SNC). Il s'agit d'une maladie irréversible caractérisée par une perte progressive des facultés cognitives suivie d'une perte d'autonomie dans les activités de la vie quotidienne [1]. C'est la forme de démence la plus courante chez les personnes âgées. La MA a été décrite pour la première fois par le neuropathologiste allemand Alois Alzheimer lors du congrès de psychiatrie de Tübingen, où il a présenté le cas d'une femme de 51 ans souffrant d'une forme

inconnue de démence. En examinant des coupes du cerveau de la patiente décédée, il a noté la présence généralisée de deux types de lésions (extra et intra-neuronales) que l'on appelle aujourd'hui les plaques séniles et les enchevêtrements neurofibrillaires. La maladie d'Alzheimer est décrite depuis 1907 comme une maladie neurodégénérative progressive qui représente actuellement plus de 50 % des cas de démence sénile [1]. Considérant qu'elle est étroitement liée à l'âge, dans une société qui continue de vieillir, le phénomène risque de prendre des dimensions inquiétantes. Cette pathologie représente l'un des défis les plus importants de santé publique dans le monde [2]. De nombreuses voies moléculaires ont été identifiées dans le déclenchement de la MA : l'agrégation des peptides A β et de la protéine tau, le dysfonctionnement des mitochondries, la neuro-inflammation, le stress oxydatif et les lésions neurovasculaires. Ces phénomènes sont étroitement interconnectés et peuvent induire directement ou indirectement des lésions neuronales et la mort des neurones (Fig.1) [3].

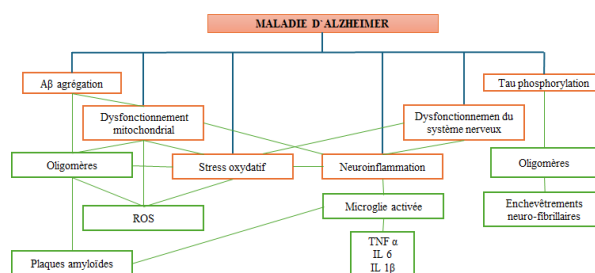


Fig.1. Voies moléculaires impliquées dans la maladie d'Alzheimer

Les deux marqueurs histologiques de la MA sont la formation de plaques extracellulaires dites séniles constituées de dépôts de fibrilles amyloïdes issues des peptides A β_{40} et A β_{42} , et la formation intracellulaire d'agrégats neurofibrillaires de la protéine tau. Récemment, un gène codant une protéine impliquée dans le transport du cholestérol (ApoE) a été identifié comme étant associé à la maladie d'Alzheimer. Les mécanismes sous-jacents à la nature pathogénique de l'ApoE dans la MA n'ont pas encore été entièrement élucidés. En plus de l'hypothèse de la cascade amyloïde, qui stipule qu'un équilibre altéré entre la production et la clairance des peptides A β est la principale cause de la maladie, il

existe des preuves convaincantes que les déséquilibres des ions métalliques, en particulier Zn, Cu et Fe sont également des facteurs clés. Les oligomères d'Aβ ont de plus la capacité d'influencer les mitochondries en induisant un stress oxydatif et une dysrégulation du Ca²⁺. Cela entraîne une augmentation de la production de radicaux libres (ROS) et une diminution de la production d'ATP. Les études approfondies des mécanismes conduisant à la neurodégénérescence tendent à conclure que les processus, tels que le dysfonctionnement mitochondrial, l'inflammation, le déséquilibre calcique, le mauvais repliement des protéines et le déséquilibre métallique coexistent et interfèrent les uns avec les autres à plusieurs niveaux dans la MA.

Les études ont montré également que l'acétylcholine et le système cholinergique sont impliqués dès les stades précoces de la maladie [4]. L'acétylcholine est un neurotransmetteur synthétisé dans les neurones par l'enzyme choline- acétyltransférase en utilisant la choline et le groupe acétyle de l'acétyl-CoA comme substrat. L'enzyme acétylcholinestérase (AChE) est responsable de sa dégradation et de sa conversion en choline. L'acétylcholine (ACh) peut également être dégradée par d'autres cholinestérases, comme la butyrylcholinestérase (BuChE), qui a cependant une affinité plus faible que l'AChE [5]. Dans l'état actuel des connaissances sur la maladie d'Alzheimer, aucun traitement pharmacologique causal n'est proposé, et seuls des médicaments « symptomatiques » sont préconisés. Des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (donépézil, galantamine et rivastigmine), la mémantine et des antioxydants (sélégiline et vitamine E) appartiennent à cette classe [3]. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase sont les médicaments de premier choix dans le traitement de la MA, car les patients atteints de cette maladie présentent une diminution de la concentration d'ACh dans l'espace synaptique, et la perte de la fonction cholinergique associée est étroitement liée au dysfonctionnement cognitif. L'inhibition de l'AChE en augmentant la concentration d'ACh au niveau de la fente synaptique renforce ainsi la neurotransmission cholinergique centrale. Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEI) approuvés par la FDA pour le traitement de la MA sont : la tacrine, le donépézil, la galantamine et la rivastigmine (Fig. 2). Actuellement, la tacrine n'est plus utilisée en raison de son hépatotoxicité qui se manifeste chez environ 50% des patients. Les AChEI actuellement utilisés n'ont que des bénéfices modestes pour le patient par une faible amélioration des symptômes sans effet clair sur la progression de la maladie, et présentent des effets secondaires tels que des nausées ou encore des douleurs d'estomac. Ces médicaments sont néanmoins indiqués pour les formes légères et modérées de la maladie d'Alzheimer lors du stade précoce. En effet, ils peuvent améliorer certains symptômes cognitifs (tels que la mémoire et l'attention) et comportementaux (tels que l'apathie, l'agitation et les hallucinations), mais cette capacité diminue avec la progression de la maladie.

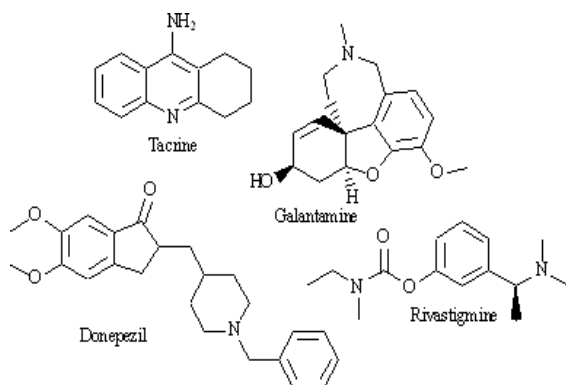


Fig.2. Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

La galantamine a été isolée de différentes plantes, *Galanthus woronwii* Losinsk, *Galanthus nivalis* L., *Lycoria squamiger* Maxim., *Leucojum vernum* L., *Narcissus* sp., ou encore *Ungernia* sp. Sa structure a été élucidée par Barton et Kirby en 1962 et confirmée plus tard par cristallographie. La galantamine est utilisée depuis des décennies en Europe de l'Est pour diverses indications, comme le traitement de la myasthénie grave, de la myopathie et des dysfonctionnements sensoriels et moteurs associés aux troubles du système nerveux central. Aux États-Unis, elle est approuvée par la FDA pour le traitement de la maladie d'Alzheimer [6,7].

Les objectifs de l'étude présentée dans ce papier sont les suivants : (i) l'analyse qualitative de la teneur en galantamine d'extraits végétaux obtenus à partir de *Galanthus nivalis* et *Narcissus pseudo-narcissus* par chromatographie sur couche mince (CCM), et (ii) l'étude de leur activité antioxydante et anti-acétylcholinestérase, en comparaison avec la galantamine synthétique.

II. METHODES

A. Généralités

Tous les réactifs ont été achetés auprès de Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne). Les étalons de référence ont été achetés auprès de Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne) et de Fluka (Honeywell Fluka™, Fluka, Allemagne). Les études ont été réalisées à partir de matériel végétal : des bulbes des espèces *Galanthus nivalis* et *Narcissus pseudo-narcissus* récoltés dans la forêt de Rascani à Galati (Roumanie).

B. Procédures expérimentales

B.1. Extrait végétal

Le matériel végétal, représenté par les bulbes de perce-neige et de narcisse jaune, a été soumis à un premier tri pour éliminer les corps étrangers et les impuretés. Une fois le tri terminé, le produit végétal a été séché pendant 2 semaines à température ambiante. Après séchage, le produit végétal a été à nouveau trié en éliminant les produits végétaux dégradés lors du séchage (brunis, moisiss, etc.). Le produit végétal obtenu a été stocké dans des sacs en papier dans des pièces bien ventilées. Les bulbes de perce-neige et de narcisse jaune séchés sont broyés dans un mortier jusqu'au degré de broyage le plus fin possible. La poudre obtenue a été pesée et introduite dans un flacon taré et le solvant (méthanol 80% aqueux) a été ajouté dans la proportion de 1,25 g de produit végétal et 25 mL de solution méthanolique 80%. Le récipient étant ensuite hermétiquement fermé, le mélange a été soumis à une sonication pendant 2 heures puis laissé décanter pendant 24 heures. Le surnageant de concentration estimée à 50 mg/mL a été ensuite récupéré et utilisé ultérieurement pour les différents tests.

B.2. Préparation du témoin

La galantamine synthétique a été utilisée comme témoin, et a été extraite du produit pharmaceutique original Reminyl® 16 mg selon la méthode de travail suivante. La capsule de Reminyl® 16 mg a été triturée jusqu'à obtention d'une poudre fine et la galantamine a été extraite avec une solution aqueuse méthanolique 80%, pour obtenir une solution de concentration en galantamine à 2 mg/mL.

B.3. Identification de la galantamine par méthode chromatographique

L'identification de la galantamine a été réalisée à partir des extraits obtenus comme décrit précédemment, par chromatographie sur couche mince. Les extraits ont été soumis à des tests CCM sur des plaques de gel de silice 60 F254 (Merck, Darmstadt, Allemagne). Un mélange d'acétate d'éthyle : méthanol : eau dans le

rapport 10 : 1,3 : 1 a été utilisé comme phase mobile et une lampe UV a été utilisée pour l'identification (254 nm et 365 nm).

B.4. Détermination de la capacité antioxydante

B.4.1. Activité antioxydante en inhibant le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [8].

L'utilisation du radical libre stabilisé 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode courante et abordable pour la mesure des propriétés antioxydantes de composés en évaluant leur potentiel à servir de fournisseurs d'hydrogène et ainsi réduire ce radical. Le principe du test consiste à suivre la disparition du radical par spectrophotométrie. En effet, le radical DPPH présente une couleur violette intense due à sa forte absorbance à 515 nm. En présence d'un inhibiteur de radicaux libres, la réduction du DPPH en DPPHH de couleur jaune est détectable par une diminution de l'absorbance à 515 nm. Cette diminution traduit la capacité de l'inhibiteur à transférer un hydrogène et ainsi son effet antioxydant [9]. L'activité antioxydante de 1 mL de solution d'extrait à 50 mg de produit végétal/mL et 2 mg/mL de galantamine a été déterminée. 1 mL d'échantillon (extrait ou galantamine synthétique) a été mélangé avec 1 mL de solution de DPPH (3,5 mg dissous dans 100 mL de méthanol 95 %) et 2 mL de solution aqueuse de méthanol à 95 %. L'absorbance des solutions obtenues et de l'échantillon « contrôle » (avec les mêmes réactifs, en l'absence de l'échantillon) a été enregistrée après 1 heure de repos à température ambiante. La concentration finale testée était de 12,5 mg/mL pour les extraits de plantes et de 0,5 mg/mL pour la galantamine. La méthode a été réalisée dans des cuves et l'absorbance a été enregistrée à 515 nm avec un spectromètre Beam PC 8 Scanning auto cell UVD- 3200, Labomed. Tous les échantillons ont été effectués en triplicat. La capacité de capture des radicaux (RSC), exprimée en pourcentage, a été calculée à l'aide de l'équation suivante, où A_c représente l'absorbance de l'échantillon contrôle (solution contenant du DPPH et du solvant) et A_e représente l'absorbance de l'échantillon :

$$RSC = 100 \times \frac{A_c - A_e}{A_c} \quad (1)$$

B.4.2. Activité antioxydante par la méthode de décoloration au β -carotène [10].

Ce test consiste à mesurer la décoloration du β -carotène (absorbance à 460 nm) résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique (décomposition catalysée par la chaleur dès 50 °C). L'addition d'antioxydants purs ou sous forme d'extraits végétaux induit un retard de la cinétique de décoloration du β -carotène. Cette méthode spectrophotométrique est sensible, rapide et simple à mettre en œuvre et a été réalisée dans des plaques 96 puits.

Une solution de 2 mg de β -carotène, 250 μ L d'acide linoléique, 2 g de Tween-40 et 10 mL de chloroforme a été préparée. 1 mL de cette solution a été distribué dans des tubes Falcon™ et maintenu à l'évaporateur rotatif sous vide à 40°C pendant 45 minutes. Le résidu huileux obtenu a été stocké jusqu'à utilisation à -20°C. Juste avant le test, 10 mL d'eau ultrapure ont été ajoutés au résidu huileux et le mélange a été homogénéisé. Un volume de 100 μ L de ce mélange (réactif) a été ajouté dans chaque puit dans des microplaques 96 puits en présence de 100 μ L d'extraits à différentes concentrations pour obtenir des concentrations finales en extrait de 5, 10 et 15 mg/mL. Pour les puits témoins, 100 μ L des solutions de rutine pure (Sigma) ont été utilisés à la place des extraits pour obtenir des concentrations finales en rutine de 40, 60 et 200 μ g/mL. Les puits « contrôle » ont été eux préparés à partir de 100 μ L de solvant et 100 μ L de mélange (réactif). Le test est réalisé sous agitation constante (agitation orbitale, amplitude 1

mm) et chauffage (40°C), avec des pauses uniquement pour les lectures. L'absorbance à 460 nm a été lue avec un appareil Tecan Pro i200. Les absorbances ont été mesurées après 30, 60, 90, 120, 150 et 180 minutes.

B.5. Détermination de l'activité anticholinestérase

La méthode est basée sur la dégradation de l'acétylthiocholine en présence d'acétylcholinestérase (AChE). L'acétylthiocholine est ainsi hydrolysée pour former de la thiocholine qui est par la suite réduite par l'acide 5,5'- dithiobis(-2-nitrobenzoïque) (DTNB) libérant un composé coloré, l'acide 5-thio-2-nitrobenzoïque. Des solutions de 250 μ M de DTNB et d'iodure d'acétylthiocholine (15 mM) ont été préparées dans une solution tampon phosphate pH 7,4. L'extrait 50 mg de produit végétal/mL a été analysé ainsi qu'une solution de 2 mg/mL de galantamine synthétique, utilisé comme substance standard. La solution AChE (eeAChE V-S, Sigma C2888, ≥ 1.000 U/mg protéine) a été préparée dans un tampon Tris-HCl (pH = 8 ; 50 mM, avec 0,1

% de d'albumine sérique bovine) puis diluée à une activité de 0,27 U. 10 μ L d'AChE et 100 μ L de solution de DTNB ont été ajoutés à 10 μ L d'extraits à 50 mg/mL (ou de solution de galantamine à 2 mg/mL) et 30 μ L d'iodure d'acétylthiocholine. La concentration finale testée était de 3,33 mg/mL pour les extraits végétaux et de 0,13 mg/mL pour la galantamine. La microplaque a été incubée à 37°C, et l'absorbance a été lue à 450 nm minute par minute jusqu'à 10 minutes, puis à 15, 20, 25 et 30 minutes. Des échantillons « contrôle » ont été préparés avec le solvant approprié à la place des échantillons à tester.

III. RESULTATS

A. Extraits végétaux et composé témoin de galantamine

Deux extraits hydrométhanoliques de plantes à partir de bulbes séchés de *Galanthus nivalis* et de bulbes séchés de *Narcissus pseudo-narcissus* et une solution témoin de galantamine synthétique extraite d'une capsule de Reminyl® ont été obtenus. Ils ont été analysés par chromatographie et testés quant à leur activité antioxydante et inhibitrice de l'acétylcholinestérase.

B. Résultats expérimentaux

B.1. Chromatographie sur couche mince

Par la méthode de chromatographie sur couche mince, la présence de galantamine a été identifiée dans la composition des deux espèces étudiées (1-extrait de bulbes séchés de *Galanthus nivalis*, 2-extrait de bulbes séchés de *Narcissus pseudo-narcissus*, Fig. 3) sur la base de la valeur de la référence frontale R_f de la galantamine pure extraite du Reminyl® (R, Fig. 3).

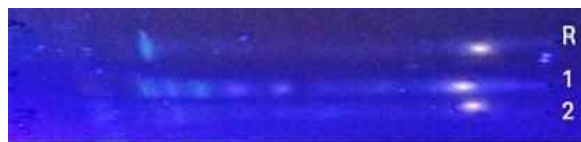


Fig.3. Identification et séparation de la galantamine par chromatographie sur couche mince

B.2. Détermination de la capacité antioxydante

La galantamine synthétique, utilisée comme témoin, a été extraite du produit pharmaceutique Reminyl® 16 mg pour obtenir une solution hydrométhanolique à 2 mg/mL. L'activité antioxydante a été mesurée pour 0,1 mL de solution soit pour 0,2 mg de galantamine. Pour obtenir 25 mL d'extrait végétal, 1,25 g de produit végétal sec ont été extraits avec 25 mL de solution méthanolique. L'activité d'inhibition du DPPH la plus élevée a été obtenue pour la solution témoin de galantamine (concentration finale testée de 0,5 mg/mL) obtenue par extraction de comprimés

de Reminyl®, suivie de l'extrait de bulbes séchés de *Narcissus pseudo-narcissus* (extrait 2 - concentration finale testée de 12,5 mg/mL, Fig. 4a) donc l'activité est très proche. L'extrait de bulbes séchés de *Galanthus nivalis* a montré une plus faible, activité antioxydante même s'il reste néanmoins actif avec une valeur de l'ordre de 40% (extrait 1- concentration finale testée de 12,5 mg/mL, Fig. 4a). L'activité antioxydante des extraits a été également étudiée grâce au test de décoloration du β -carotène. Les deux extraits végétaux ont montré à la plus faible concentration testée de 5 mg/mL une capacité de décoloration du β -carotène similaire entre eux et similaire à une concentration de rutine de 0,04 mg/mL (Fig. 4 b-d), composé connu pour sa remarquable activité antioxydante. Pour les concentrations plus élevées d'extraits testées de 10 et 15 mg/mL, l'extrait de *Narcissus pseudo-narcissus* (extrait 2) est cette fois plus actif que celui de *Galanthus nivalis* (extrait 1)

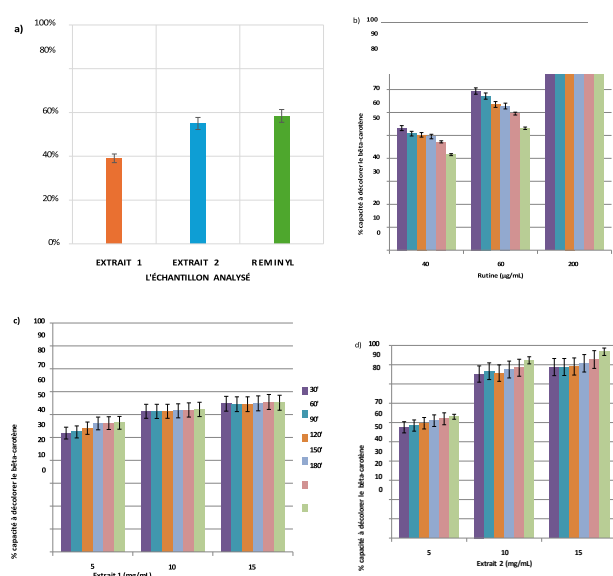


Fig.4. Capacité antioxydante des extraits obtenus

B.3. Détermination de l'activité anticholinestérase

Les deux extraits se sont révélés très actifs pour inhiber l'AChE (Fig. 5) et ont montré des activités inhibitrices comparables entre elles et à la galantamine utilisée à une concentration finale testée de 0,13 mg/mL. Les extraits de plantes ont été utilisés à la concentration de 3,33 mg/mL pour les deux espèces végétales étudiées.

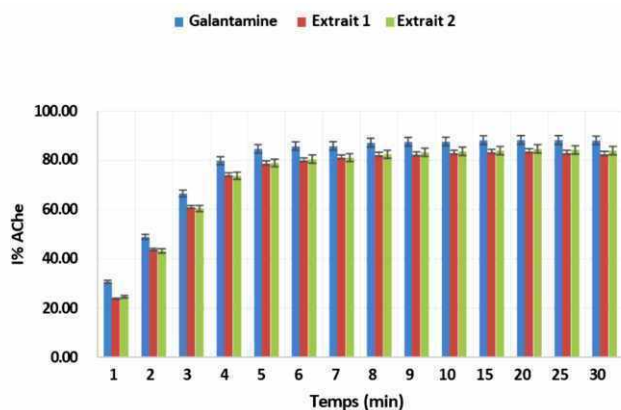


Fig.5. Capacité anti-acétylcholinestérase des extraits obtenus

CONCLUSIONS

Cette étude a mis en évidence la présence de galantamine, un principe actif impliqué dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, dans deux espèces végétales, *Galanthus nivalis* et *Narcissus pseudo-narcissus*. L'activité biologique d'extraits végétaux issus de ces deux espèces a été évaluée et comparée à des solutions standards de galantamine pure ou de rutine, un antioxydant connu. Les extraits de *Galanthus nivalis* et de *Narcissus pseudo-narcissus* en particulier ont montré une très bonne activité antioxydante en inhibant la décoloration et donc la réduction du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl et du β -carotène. Ces deux extraits de plantes ont montré de plus des activités inhibitrices de l'acétylcholinestérase similaires et proches de celles de la galantamine pure à 2 mg/mL. Cette étude préliminaire montre le potentiel très intéressant des extraits végétaux et en particulier ceux de *Narcissus pseudo-narcissus* et de *Galanthus nivalis* comme substances actives multicibles dans le contexte de la maladie d'Alzheimer.

REMERCIEMENTS

Les auteurs (R.M.D., B.F., S.C.) remercient le projet Cobil Ro-Fr Nr. 8BMFR/10.09.2024, Programme « Hubert Curien-Brancusi », « Multitarget compounds for Alzheimer and cancer treatment » LAURENCE, 2024-2025.

REFERENCES

- [1] L. Söderberg, M. Johannesson, P. Nygren, H. Laudon, F. Eriksson, G. Osswald, C. Möller, L. Lannfelt, Lecanemab, Aducanumab, and Gantenerumab — Binding Profiles to Different Forms of Amyloid-Beta Might Explain Efficacy and Side Effects in Clinical Trials for Alzheimer's Disease, *Neurotherapeutics* 20 (2023) 195–206. <https://doi.org/10.1007/s13311-022-01308-6>.
- [2] F. Bermejo-Pareja, T. del Ser, Controversial Past, Splendid Present, Unpredictable Future: A Brief Review of Alzheimer Disease History, *J. Clin. Med.* 13 (2024). <https://doi.org/10.3390/jcm13020536>.
- [3] R.B. Khalil, E. Khoury, S. Koussa, Linking multiple pathogenic pathways in Alzheimer's disease, *World J. Psychiatry* 6 (2016) 208. <https://doi.org/10.5498/wjp.v6.i2.208>.
- [4] T. Wang, X. huan Liu, J. Guan, S. Ge, M. Bin Wu, J. ping Lin, L. rong Yang, Advancement of multi-target drug discoveries and promising applications in the field of Alzheimer's disease, *Eur. J. Med. Chem.* 169 (2019) 200–223. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.02.076>.
- [5] G. Ghotbi, M. Mahdavi, Z. Najafi, F.H. Moghadam, M. Hamzeh- Mivehroud, S. Davaran, S. Dastmalchi, Design, synthesis, biological evaluation, and docking study of novel dual-acting thiazole-pyridiniums inhibiting acetylcholinesterase and β - amyloid aggregation for Alzheimer's disease, *Bioorg. Chem.* 103 (2020) 104186. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104186>.
- [6] B. Bozkurt, G.I. Kaya, M.A. Onur, N. Unver-Somer, Chemo- profiling of some Turkish *Galanthus L.* (Amaryllidaceae) species and their anticholinesterase activity, *South African J. Bot.* 136 (2021) 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.09.012>.
- [7] M. Heinrich, H.L. Teoh, Galanthamine from snowdrop – The development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge, *J. Ethnopharmacol.* 92 (2004) 147–162. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.02.012>.
- [8] V.M. Dembitsky, S. Poovarodom, H. Leontowicz, M. Leontowicz, S. Veerasilp, S. Trakhtenberg, S. Gorinstein, The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological activity and active metabolites, *Food Res. Int.* 44 (2011) 1671–1701. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.003>.
- [9] S.B. Kedare, R.P. Singh, Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *J. Food Sci. Technol.* 48 (2011) 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>.
- [10] F. Oke, B. Aslim, S. Ozturk, S. Altundag, Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten., *Food Chem.* 112 (2009) 874–879. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.061>.