

# PROSPECTS

## IN PHARMACEUTICAL SCIENCES

Prospects in Pharmaceutical Sciences, 22(2), 50-58  
<https://prospects.wum.edu.pl/>

Review

### **COTONEASTER HORIZONTALIS DECNE. (ROSACEAE) - MEDICINAL OR JUST ORNAMENTAL SPECIES?**

Barbara Krzemińska\*<sup>1</sup>, Gabriela Szewczyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland.

<sup>2</sup> Student Scientific Association at the 2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Medical University of Warsaw, 00-315 Warsaw, Poland.

\* Correspondence, e-mail: barbara.krzeminska@umlub.pl

Received: 19.02.2024 / Accepted: 04.04.2024 / Published: 16.05.2024

#### ABSTRACT

The genus *Cotoneaster* Medikus (*Rosaceae*) includes many species traditionally used in Asian medicine to treat, among others, cardiovascular diseases, cuts and wounds, diabetes, hemorrhoids, abdominal pain, eye diseases and fever. A representative of this group of plants is *Cotoneaster horizontalis* Decne., whose health-promoting and healing effects have been confirmed in many scientific studies. To date, compounds such as phenolic acids, flavonoids, cyanogenic glycosides, essential oils, fatty acids, triterpenes, sterols and vitamins have been identified or isolated in the leaves, fruits, flowers and twigs of *C. horizontalis*. Many of them are responsible for pharmacological properties, including antioxidant, hepatoprotective, antidiabetic, antibacterial and antifungal properties. Despite numerous studies on the phytochemistry, pharmacology and toxicology of extracts from individual parts of *C. horizontalis*, the available literature lacks a review paper summarizing the achievements of current reports on the effects and safety of use of this species. This work is a collection of information available in the scientific literature regarding the morphology, chemical composition, biological activity and cytotoxicity of extracts and compounds obtained from *C. horizontalis*. This work, by indicating further research perspectives, constitutes an important reference base for subsequent research on various medical applications of both extracts and pure isolates of *C. horizontalis*.

**KEYWORDS:** *Cotoneaster*; *Rosaceae*; medicinal plants; ornamental plants.

Article is published under the CC BY license.

#### 1. Wstęp

Ekstrakty roślinne są cenionym źródłem związków biologicznie aktywnych. Liczne badania naukowe potwierdzają działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwgrzybicze ekstraktów z surowców roślinnych [1]. Obecnie niektóre rośliny ozdobne, zwłaszcza stosowane w medycynie ludowej, coraz częściej można spotkać w lekach, suplementach i preparatach kosmetycznych [1].

Rodzaj *Cotoneaster* Medik. należy do rodziny *Rosaceae* Juss. [2]. Na podkreślenie zasługuje różnorodność występowania rodzaju *Cotoneaster*, obejmująca doliny i brzegi rzek, lasy, zarośla, tereny skaliste i wapienne, a także obszary górskie na wysokościach od 800 do nawet 4100 m n.p.m. Poszczególne gatunki są rodzime, zwłaszcza w regionie Palearktyki (Azja o klimacie umiarkowanym, Europa i Afryka Północna). Niemniej jednak uprawia się je nie tylko w całej Europie, ale także w różnych częściach

świata ze względu na ich istotne walory estetyczne: białe, czerwone lub różowe kwiaty oraz czerwone, brązowo-czerwone, pomarańczowe lub czarne owoce. Kluczowy obszar występowania, liczący 60 % gatunków, można zaobserwować w górskich rejonach Chin [3]. Irga pozioma (*Cotoneaster horizontalis*), podobnie jak wiele innych irg, jest uprawiana w Polsce jako roślina ozdobna w parkach, ogrodach i innych miejscach miejskich.

Udowodniono, że liczne gatunki irgi posiadają cenne właściwości biologiczne i znalazły zastosowanie w medycynie tradycyjnej w wielu krajach [4].

Liście i owoce różnych gatunków *Cotoneaster* są szeroko stosowane w medycynie tradycyjnej jako środki chłodzące, ściągające i wykrztuśne [5]. Rośliny te są również cenione jako leki przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe [6], kardiotoniczne i moczopędne [7,8]. Niektóre irgi stosuje się także w leczeniu bólu brzucha, chorób oczu, hemoroidów, białaczki, świądu,

gorączki, skaleczeń i ran [5,9]. Ponadto mają liczne zastosowania w przypadku krwotoku z nosa, nadmiernych miesiączek i cukrzycy [6,10]. Gatunki należące do *Cotoneaster* mają również duże znaczenie w tradycyjnej medycynie azjatyckiej, w tym w leczeniu chorób skóry [11,12]. Swati i wsp. podali, że owoce *Cotoneaster microphyllus* stosuje się na skórę w celu zapobiegania podrażnieniom [12]. Ponadto liście *C. microphyllus* stosuje się w leczeniu zapalenia skóry. W Pakistanie, Turcji, Indiach, Libanie i Iranie donoszono o leczniczym zastosowaniu gatunków irga w chorobach skóry jako środka terapeutycznego w leczeniu skaleczeń i ran [9]. Dodatkowo zaobserwowano przeciwwiędrowe działanie irgi [5,13].

## 2. Metody

W niniejszym przeglądzie skupiono się przede wszystkim na jednym gatunku z rodzaju *Cotoneaster*, a mianowicie *Cotoneaster horizontalis*. Do dnia 31 grudnia 2023 r. przeszukano wszystkie istotne bazy literaturowe. Do wyszukiwania artykułów zawierających określone hasła wyszukiwania wykorzystano m.in. bazy Scopus, Web of Science, Research Gate, Pubmed, Medline, SciFinder, Google Scholar i Science Direct. W celu odnalezienia w zasobach naukowych wszystkich dostępnych informacji dotyczących gatunku *Cotoneaster horizontalis*, użyto następujących haseł wyszukiwania: „*Cotoneaster*”, „*Cotoneaster horizontalis*”, „*Rosaceae*”, „phenolic compounds *Cotoneaster*”, „antioxidant *Cotoneaster*”, „ornamental plants”, „traditional medicine”. Baza danych Pubmed została przeszukana przy użyciu wyszukiwania zaawansowanego, używając formuły: "*rosaceae*"[MeSH Terms] OR "*rosaceae*"[All Fields] OR "*cotoneaster*"[All Fields] AND "*horizontalis*"[All Fields]. Ponadto, potwierdzenia nomenklatury botanicznej dokonano przy użyciu botanicznych baz danych, takich jak *The Plant List*, *eFlora of India* i *The online Flora of Mexico* (eFloraMEX). Zgromadzone informacje obejmują artykuły z recenzowanych czasopism naukowych. Nie nałożono żadnych ograniczeń dotyczących języka artykułów. Niemniej jednak wykluczono niektóre raporty w języku innym niż angielski, zawierające znikomą wiedzę. Przeszukanie literatury przeprowadzono bez ograniczania lat publikacji artykułów.

## 3. Występowanie

Według informacji zawartych w *Plants of the World Online* [14], bazie danych tworzonej we współpracy międzynarodowej, *C. horizontalis* występuje w stanie naturalnym w środkowych i południowych Chinach oraz na Tajwanie. Jednocześnie, zgodnie z danymi zawartymi w pracy Dickoré i Kasperka [15] gatunek ten został introdukowany do Europy Środkowej, gdzie jego populacje można spotkać w Austrii, Szwajcarii i Niemczech, na obszarach skalistych, zlokalizowanych m.in. na wyspie Helgoland, w okolicy środkowego Renu, w północnej Hesji oraz na Jurze w Badenii-Wirtembergii i Bawarii. W Alpach występuje co najmniej na wysokości 1000 m n.p.m. Ponadto, można go spotkać w Belgii [16], Czechach i w Polsce [15], gdzie jest jednym z najczęściej sadzonych krzewów w zieleni miejskiej, parkach i przydomowych ogrodach. Przyczyną takiego stanu rzeczy jest fakt, iż *C. horizontalis* jest gatunkiem o niezbyt wysokich

wymaganiach glebowych, odpornym na suszę i łatwym w uprawie, a dodatkowo ze względu na charakterystyczne owoce jest rośliną ozdobną.

## 4. Morfologia

Irga pozioma jest półzimozielonym, płożącym, rozłożystym i niskim krzewem osiagającym wysokość do 1 m (zazwyczaj mieszczącą się w zakresie 0,6 - 0,8 m) [17,18]. Pędy boczne rozrastają się na boki szeroko, często niemal poziomo, nawet do 2,5 m średnicy. Rozgałęzienia te ze względu na swoją regularność, szczególnie w stanie bezlistnym, przypominają "rybi szkielet" [19]. Młode pędy mają kolor czerwono-brązowy i są owłosione [17,20]. Liście są okrągłe lub eliptyczne [18], osiagające do 1,2 cm długości, osadzone na krótkich, do 2 mm długości, ogonkach [17]. Mają barwę ciemnozieloną, są błyszczące i jaśniejsze na spodniej stronie, jesienią są zwykle czerwone [17]. Kwiaty są koloru białoróżowego [18], zebrane po 1 - 2 w zwartym kwiatostanie [20].



**Zdjęcie 1.** Ulistnione gałązki *Cotoneaster horizontalis* Decne. Zdjęcie wykonane we wrześniu 2023 r., w Ogródniku Botanicznym Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej w Lublinie (zdjęcie własne autora).

Płatki korony są jaśniejsze na końcach. Kielichy są owłosione, charakteryzują się trójkątnymi działkami. Liczba pręcików wynosi 10 - 15, a słupków 2 - 3. Kwitnienie odbywa się w maju i czerwcu [17]. Owoce są błyszczące, o kształcie elipsoidalnym i długości dochodzącej do 6 mm [17]. Ich intensywnie jaskrawoczerwone zabarwienie wiąże się z wysoką zawartością karotenoidów (380,63 mg/kg DW), znacznie wyższą niż w badanych jednocześnie owocach gatunku *C. microphyllus* (179,63 mg/kg DW) [20]. Owocowanie odbywa się od sierpnia do września [17]. Owoce utrzymują się na krzewach do połowy grudnia, będąc jednocześnie cennym pokarmem dla ptaków. Ze względu na ich znaczące walory estetyczne, *C. horizontalis* pełni funkcję krzewu ozdobnego [21].

## 5. Skład chemiczny

### 5.1. Związki fenolowe

W badaniu przeprowadzonym przez Mahmutović-Dizdarević i wsp. ogólna zawartość związków fenolowych w metanolowym ekstrakcie pozyskanym z liści *C. horizontalis* (TPC - ang. *Total Phenolic Content*), oznaczona metodą z wykorzystaniem odczynnika Folin-Ciocalteu, wynosiła  $93,21 \pm 1,61$  mg GAE/g. Jednocześnie wartość ta dla metanolowego ekstraktu z kory była równa  $82,97 \pm 1,57$  mg GAE/g [4]. Ci sami autorzy oznaczyli

również ogólną zawartość flawonoidów (TFC - ang. *Total Flavonoids Content*), korzystając z metody opartej na reakcji pomiędzy flawonoidami i  $\text{AlCl}_3$  (chlorkiem glinu). Dla metanolowych ekstraktów otrzymanych z liści i kory *C. horizontalis* wartość ta wynosiła kolejno  $10,55 \pm 0,51$  i  $8,73 \pm 0,28$  mg QE/g [4].

Wyżej wymienione metody zostały zastosowane również przez Mohamed i wsp., które wykazały, że metanolowy ekstrakt z części nadziemnych irgi poziomej zawierał  $14 \pm 0,16$  mg GAE/g TPC oraz  $6,8 \pm 0,76$  mg RE/g flawonoidów, w tym  $2,2$  mg RE/g flawonoli (RE - ang. *rutin equivalent*) [22].

Podobne analizy metanolowych ekstraktów z liści irgi poziomej przeprowadzili Sytar i wsp., dzięki czemu uzyskano wartości TPC równe  $2,35 \pm 0,64$  mg/g DW oraz TFC równe  $1,30$  mg QE/mg DW [23].

Metoda Folina-Ciocalteu została również zastosowana przez Kicel i wsp. do oszacowania zawartości TPC w metanolowych ekstraktach z owoców, dla których uzyskano wynik  $30,50 \pm 0,72$  mg GAE/g [25] oraz liści -  $7,30 \pm 0,20$  % GAE [24]. Analizy metanolowych ekstraktów pozyskanych z owoców przeprowadzili również Popovicu i wsp., uzyskując wynik  $8036,07$  mg/kg DW dla TFC i  $16342,06$  mg/kg GAE w przypadku TPC [20].

Ponadto, w publikacji Kicel i wsp. [24] są zawarte informacje dotyczące określenia ilościowego TFC w metanolowym ekstrakcie z liści *C. horizontalis*, z użyciem metody HPLC-PDA (ang. *High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array*). Badania wykazały, że kwercetyna stanowiła  $0,27 \pm 0,01$  %, a kemferol  $0,127 \pm 0,003$  % DW. W tym samym ekstrakcie całkowita zawartość proantocyjanidyn (TPAC - *Total Proanthocyanidin Content*), zmierzona za pomocą zmodyfikowanej metody z zastosowaniem *n*-butanolu i kwasu solnego, kształtowała się na poziomie  $5,36 \pm 0,04$  %CYE - (ang. *Cyanidin Chloride Equivalents*) [24].

Co więcej, metanolowy ekstrakt z liści *C. horizontalis* został poddany analizie UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS (ang. *Ultra High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array, Electrospray Ionization and Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry*), która wykazała obecność różnorodnych związków fenolowych, takich jak kwas neochlorogenowy, kwas chlorogenowy, kwas kryptochlorogenowy, (-)-epikatechina, proantocyjanidyny, kwercetyna i jej pochodne, hiperozyd oraz rutyna [24]. W tym samym ekstrakcie oznaczono zawartość izomerów kwasu chlorogenowego metodą HPLC-PDA (ang. *High Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array*), dzięki czemu uzyskano wyniki kształtujące się na poziomie  $0,108 \pm 0,003$  % dla kwasu neochlorogenowego,  $1,57 \pm 0,04$  % dla kwasu chlorogenowego oraz  $0,047 \pm 0,001$  % dla kwasu kryptochlorogenowego [24].

Analiza HPLC (ang. *High Performance Liquid Chromatography*) metanolowego ekstraktu z liści *C. horizontalis* zastosowana przez Sytar i wsp. wykazała następującą zawartość kwasów fenolowych: kwas 4-hydroksybenzoesowy  $0,023 \pm 0,005$  mg/g DW, kwas wanilinowy  $0,335 \pm 0,025$  mg/g DW, kwas chlorogenowy  $0,009 \pm 0,003$  mg/g DW, kwas syringowy  $0,003 \pm 0,0003$  mg/g DW, kwas *o*-kumarowy  $0,003 \pm 0,001$  mg/g DW, kwas *p*-kumarowy  $0,008 \pm 0,002$  mg/g DW, kwas ferulowy  $0,004 \pm 0,001$  mg/g DW, kwas *p*-anyżowy  $1,541 \pm 0,329$  mg/g DW,

kwas salicylowy  $0,209 \pm 0,029$  mg/g DW, kwas cynamonowy  $0,005 \pm 0,001$  mg/g DW i kwas metoksycynamonowy  $0,030 \pm 0,006$  mg/g DW [23].

Oprócz typowych kwasów fenolowych, z frakcji octanu etylu ekstraktu metanolowego części nadziemnych *C. horizontalis* wyizolowano mniej znane związki, jakimi są horyzontaty A i B - estry kwasu benzoowego [5].

Analiza HPLC metanolowego ekstraktu z części nadziemnych *C. horizontalis* wykonana przez Mohamed i wsp. wykazała obecność polifenoli, spośród których w największej ilości obecny był pirogalol ( $1029,57$  mg/100 g DW), a następnie kwas chlorogenowy ( $278,77$  mg/100 g DW), katechina ( $136,25$  mg/100 g DW), kwas salicylowy ( $80,54$  mg/100 g DW), kwas wanilinowy ( $40,57$  mg/100 g DW), kwas syringowy ( $13,65$  mg/100 g DW), kwas *p*-kumarowy ( $10,50$  mg/100 g DW) oraz kwas kawowy ( $1,69$  mg/100 g DW) [22]. Ponadto odnotowano obecność trzech flawonoidów, a mianowicie: luteoliny ( $9,2$  mg/100 g DW), kwercetyny ( $3,41$  mg/100 g DW) oraz naryngeniny ( $0,38$  mg/100 g DW) [22].

Wykazano również, iż flawonoidy i procyjanidyny występują w owocach *C. horizontalis*, a wśród nich można wyszczególnić: izokwercytrynę, hiperozyd, kwercytrynę, rutynę, (-)-epikatechinę oraz procyjanidyny [25].

## 5.2. Glikozydy cyjanogenne

Spośród glikozydów cyjanogennych, w ekstrakcie etanolowym z ulistnionych gałązek zidentyfikowano prunazyne i amidalinę ( $0,334$  mg/100 g DW) [21].

## 5.3. Witaminy

Analiza HPLC etanolowego ekstraktu z części nadziemnych wykazała obecność następujących witamin: B-karotenu ( $2,500$  mg/100 g DW), kwasu askorbinowego ( $70$  mg/100 g DW) i  $\alpha$ -tokoferolu ( $0,093$  mg/100 g DW) [21].

## 5.4. Olejki eteryczne

Metoda GC/MS (ang. *Gas Chromatography/Mass Spectrometry*) zastosowana w analizie frakcji otrzymanej z liści *C. horizontalis* poprzez ekstrakcję *n*-heksanem i eterem dietylowym wykazała, że wśród lotnych składników dominuje benzaldehyd (34 %). Węglowodory stanowiły 3,82 %, natomiast związki lotne 62,25 % [22].

## 5.5. Kwasy tłuszczowe

Analizy ekstraktu eterowego (eter naftowy) z części nadziemnych, uzyskanego przy użyciu aparatu Soxhleta, wykonane z wykorzystaniem GLC (ang. *Gas Liquid Chromatography*) wykazały przeważającą obecność kwasu palmitynowego (12,18 %) oraz kwasu mirystynowego (7,02 %) jako głównych nasyconych kwasów tłuszczowych, natomiast dominującym nienasyconym kwasem tłuszczowym był kwas oleinowy, który stanowił 54,3 % oraz kwas linolowy - 10,3 % [22].

Metoda GC-FID-MS (ang. *Gas Chromatography-flame Ionization Detection- Mass Spectrometry*) użyta do analizy chloroformowych ekstraktów z owoców *C. horizontalis* dowiodła, że kwasem tłuszczowym obecnym w największej ilości jest kwas linolowy  $1012,83 \pm 45,02$  mg/100 g DW. Jednocześnie zawartość pozostałych kwasów tłuszczowych kształtowała się na

następującym poziomie: kwas kaprylowy  $0,69 \pm 0,01$ , kwas laurylowy  $2,28 \pm 0,10$ , kwas mirystynowy  $4,80 \pm 0,25$ , kwas palmitynowy  $174,10 \pm 5,40$ , kwas margarynowy  $1,37 \pm 0,05$ , kwas palmitynowy  $8,68 \pm 0,43$ , kwas stearynowy  $38,38 \pm 2,10$ , kwas oleinowy  $294,05 \pm 13,01$ , kwas arachidowy  $13,25 \pm 0,60$  oraz kwas behenowy  $26,05 \pm 1,00$  mg/100 g DW [25].

## 5.6. Triterpeny i sterole

Analiza GLC związków niezmydlających się (USM -ang. *unsaponifiable matter*) nadziemnych części irgi poziomej wykazała obecność  $\beta$ -sitosterolu (8,48 %) jako głównego sterolu oraz  $\alpha$ -amyryny (14,35 %) jako dominującego triterpenu [22]. Podobne wyniki uzyskano dla chloroformowych ekstraktów owoców poddanych metodzie GC-FID-MS, dzięki której zidentyfikowano trzy fitosterole (kampesterol,  $\beta$ -sitosterol i stigmasterol) oraz cztery triterpeny ( $\alpha$ - i  $\beta$ -amyrynę, kwasy ursolowy i oleanolowy). Zawartość  $\beta$ -sitosterolu kształtowała się na poziomie  $316,30 \pm 15,03$  mg/100 g DW). Wartość pozostałych związków wynosiła odpowiednio: kampesterol  $6,04 \pm 0,22$ ,  $\alpha$ -amyryna  $0,88 \pm 0,02$ , kwas ursolowy  $25,45 \pm 1,10$  oraz kwas oleanolowy  $17,24 \pm 0,50$  mg/100 g DW [25].

Według Kicel i wsp. kwas linolowy i  $\beta$ -sitosterol mają udokumentowane właściwości terapeutyczne w kierunku schorzeń układu krążenia [25].

Powyższe informacje dotyczące składu chemicznego irgi poziomej zostały podsumowane w Tabeli 1.

## 6. Właściwości biologiczne

W dostępnej literaturze naukowej można znaleźć wiele interesujących prac dotyczących aktywności biologicznej ekstraktów pozyskanych z różnych części irgi poziomej, udokumentowanych w licznych eksperymentach (Rycina 1). Otrzymane wyniki potwierdzają zasadność stosowania tego gatunku w tradycyjnej medycynie.

### 6.1. Działanie antyoksydacyjne

Właściwości antyoksydacyjne *C. horizontalis* są związane głównie z obecnością związków polifenolowych. Aktywność ta została udokumentowana dzięki licznym analizom *in vitro*, zarówno na modelach chemicznych jak i biologicznych. Wśród modeli chemicznych można wyszczególnić metody oparte na mechanizmie SET (ang. *Single Electron Transfer* - przeniesienia pojedynczego elektronu) oraz metody związane z mechanizmem HAT (ang. *Hydrogen Atom Transfer* - przeniesienia atomu wodoru). Najpopularniejszymi analizami SET są: test DPPH (ang. *DPPH Free Radical Scavenging Assay*; 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS - akronim wywodzi się od (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu)) oraz FRAP (ang. *Ferric Reducing Antioxidant Power Assay* - spektrofotometryczna metoda oznaczania zdolności redukcji jonów  $Fe(III)$ ). Często stosowanymi metodami HAT są: test wychwytywania anionów nadadtlenkowych ( $O_2^{\cdot-}$ ; ang. *Superoxide Anion Radical Scavenging Assay*) i nadtlenku wodoru ( $H_2O_2$ ; ang. *Hydrogen Peroxide Scavenging Assay*) oraz ocena zdolności do hamowania peroksydacji kwasu linolowego (LA) monitorowana testem TBARS (ang. *ability to inhibit linoleic acid (LA) peroxidation monitored by TBARS test*). Wadą modeli

chemicznych jest fakt, iż nie uwzględniają one warunków takich jak m.in. pH i temperatura panujących w ludzkim organizmie, w związku wymagane są również badania z użyciem metod biologicznych wykorzystujących systemy komórkowe [26].

Sokkar i wsp. [21] wykazali, iż etanolowy ekstrakt z ulistnionych gałązek *C. horizontalis* posiada zależną od dawki aktywność antyoksydacyjną w teście DPPH wyrażoną jako EC50 na poziomie  $19,3 \mu\text{g/ml}$ . Metanolowy ekstrakt z liści irgi poziomej został poddany testom oceny pod kątem właściwości przeciwutleniających w testach DPPH, neutralizacji  $O_2^{\cdot-}$ , neutralizacji  $H_2O_2$  i FRAP, dając wyniki kształtujące się na poziomie: EC50  $23,02 \pm 0,06 \mu\text{g/ml}$  dla DPPH, SC50  $49,48 \pm 0,17 \mu\text{g/ml}$  dla neutralizacji  $O_2^{\cdot-}$ , SC50  $71,14 \pm 0,76 \mu\text{g/ml}$  w przypadku testu z wykorzystaniem  $H_2O_2$  oraz  $2,08 \pm 0,04$  mmol  $Fe^{2+}/g$  dla analizy FRAP [24]. Co więcej, ekstrakt metanolowy z liści został przebadany w teście DPPH również przez Sytar i wsp. [23], którzy uzyskali wynik  $72,35 \pm 0,24$  %, zbliżony do wartości, które wykazują gatunki z rodziny *Rosaceae* o cenionych właściwościach terapeutycznych, takie jak *Alchemilla mollis* ( $76,35 \pm 0,34$  %) czy *Rosa canina* ( $78,59 \pm 0,38$  %). Obiecującą aktywność antyoksydacyjną wykazał również ekstrakt metanolowy z owoców omawianego gatunku, gdyż EC50 w teście DPPH wynosiło  $93,32 \pm 1,90 \mu\text{g/ml}$ , dla TBARS kształtowało się na poziomie  $84,89 \pm 2,11 \mu\text{g/ml}$ , jednocześnie wartość FRAP wyniosła  $0,85 \pm 0,01$  mmol  $Fe^{2+}/g$  [25]. Mahmutović-Dizdarević i wsp. badali 80 % metanolowe ekstrakty pozyskane z liści i kory *C. horizontalis* testem DPPH, uzyskując wartości IC50 równe  $2,15 \pm 0,03$  mg/ml dla liści i  $2,50 \pm 0,03$  mg/ml dla kory. Dodatkowo, wykonano test ABTS, w którym wartości IC50 wyniosły odpowiednio  $0,38 \pm 0,01$  mg/ml dla liści i  $0,42 \pm 0,01$  mg/ml dla kory [4].

Metanolowy ekstrakt z owoców irgi poziomej przebadano z wykorzystaniem biologicznego modelu ludzkiego osocza krwi, w którym w zależności od stężenia ( $1 - 5 \mu\text{g/ml}$ ) zwiększał zdolność przeciwutleniającą ludzkiego osocza i skutecznie chronił białkowe i lipidowe jego składniki przed uszkodzeniami związanymi z działaniem wolnych rodników [25].

### 6.2. Aktywność hamująca enzymy

Enzymami, które są obecne w organizmie człowieka i pełnią kluczową rolę w powstawaniu reakcji zapalnych, są m.in. lipooksygenazy i hialuronidazy. Zdolność metanolowych ekstraktów pozyskanych z owoców irgi poziomej do hamowania tych enzymów została przebadana przez Kicel i wsp. [25]. Aktywność hamowania lipooksygenazy kształtowała się na poziomie IC50  $421,85 \pm 5,78 \mu\text{g/ml}$ , jednocześnie dla kwasu chlorogenowego użytego jako pozytywna kontrola uzyskano wynik IC50  $151,71 \pm 7,52 \mu\text{g/ml}$ . W przypadku działania hamującego hialuronidazę wynik wyniósł IC50  $40,51 \pm 2,11 \mu\text{g/ml}$ , a dla pozytywnej kontroli (również kwasu chlorogenowego) IC50 było równe  $20,35 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ .

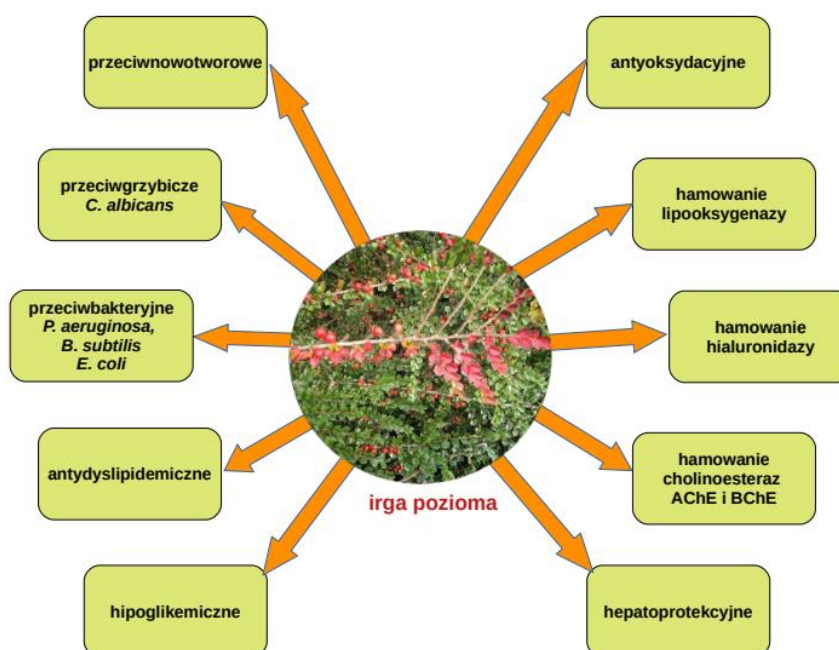
Cholinoesterazy (esterazy cholinowe) są enzymami z grupy hydrolaz katalizującymi hydrolizę estrów cholinylu. Wśród nich można wyszczególnić m.in. acetylocholinoesterazę (AChE) i butyrylocholinoesterazę (BChE).

**Tabela 1.** Związki chemiczne zidentyfikowane u gatunku *Cotoneaster horizontalis* (zebrane na podstawie oryginalnych badań naukowych opublikowanych do roku 2023).

Część rośliny/typ ekstraktu	Zidentyfikowany związek	Metoda izolacji / identyfikacji	Źródło
<b>Związki fenolowe</b>			
liście, ekstrakt metanolowy	kwas neochlorogenowy	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS, HPLC-PDA	[24]
	kwas chlorogenowy	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS, HPLC-PDA	[24]
	kwas kryptochlorogenowy	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS, HPLC-PDA	[24]
	(-)-epikatechina	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS	[24]
	proantocyjanidyny	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS	[24]
	kwercetyna	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS	[24]
	hiperozyd	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS	[24]
	rutyna	UHPLC-PDA-ESI-QTOF-MS	[24]
	kwas 4-hydroksybenzoesowy	HPLC	[23]
	kwas wanilinowy	HPLC	[23]
	kwas chlorogenowy	HPLC	[23]
	kwasy syringowy	HPLC	[23]
	kwasy o-kumarowy	HPLC	[23]
	kwasy p-kumarowy	HPLC	[23]
	kwasy ferulowy	HPLC	[23]
	kwasy p-anizowy	HPLC	[23]
kwasy salicylowy	HPLC	[23]	
kwasy cynamonowy	HPLC	[23]	
kwasy metoksycynamonowy	HPLC	[23]	
części nadziemne, ekstrakt metanolowy, frakcja octanu etylu	horyzontaty A i B	MPLC ( <i>Medium-Pressure Liquid Chromatography</i> ), NMR ( <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> )	[5]
części nadziemne, ekstrakt metanolowy	pirogalol	HPLC	[22]
	kwasy chlorogenowy	HPLC	[22]
	katechina	HPLC	[22]
	kwasy salicylowy	HPLC	[22]
	kwasy wanilinowy	HPLC	[22]
	kwasy syringowy	HPLC	[22]
	kwasy p-kumarowy	HPLC	[22]
	kwasy kawowy	HPLC	[22]
	luteolina	HPLC	[22]
	kwercetyna	HPLC	[22]
naryngenina	HPLC	[22]	
owoce, ekstrakt metanolowy	izokwercytryna	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
	hiperozyd	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
	kwercytryna	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
	rutyna	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
	(-)-epikatechina	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
	procyjanidyny	UHPLC-PDA-ESI-MS	[25]
<b>Glikozydy cyjanogenne</b>			
części nadziemne, ekstrakt etanolowy	prunazyna	HPLC	[21]
	amigdalina	HPLC	[21]
<b>Witaminy</b>			
części nadziemne, ekstrakt etanolowy	$\beta$ -karoten	HPLC	[21]
	kwasy askorbinowy	HPLC	[21]
	$\alpha$ -tokoferol	HPLC	[21]
<b>Olejki eteryczne</b>			
liście, ekstrakt heksanowy i eterowy (eter dietylowy) (1:1, v/v)	benzaldehyd	GC/MS	[22]

**Tabela 1 cd.** Związki chemiczne zidentyfikowane u gatunku *Cotoneaster horizontalis* (zebrane na podstawie oryginalnych badań naukowych opublikowanych do roku 2023).

Część rośliny/typ ekstraktu	Zidentyfikowany związek	Metoda izolacji / identyfikacji	Źródło
<b>Kwasy tłuszczowe</b>			
części nadziemne, ekstrakt eterowy (eter naftowy)	kwasy palmitynowy	GLC	[22]
	kwasy mirystynowy	GLC	[22]
	kwasy oleinowy	GLC	[22]
	kwasy linolowy	GLC	[22]
owoce, ekstrakt chloroformowy	kwasy linolowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy kaprylowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy laurynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy mirystynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy palmitynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy margarynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy palmitynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy stearynowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy oleinowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy arachidowy	GC-FID-MS	[25]
kwasy behenowy	GC-FID-MS	[25]	
<b>Sterole</b>			
części nadziemne, ekstrakt eteru naftowego	B-sitosterol	GLC	[22]
owoce, ekstrakt chloroformowy	kampesterol	GC-FID-MS	[25]
	B-sitosterol	GC-FID-MS	[25]
	stigmasterol	GC-FID-MS	[25]
<b>Triterpeny</b>			
owoce, ekstrakt chloroformowy	α-ameryna	GC-FID-MS	[25]
	β-ameryna	GC-FID-MS	[25]
	kwasy ursolowy	GC-FID-MS	[25]
	kwasy oleanolowy	GC-FID-MS	[25]



**Rycina 1.** Podsumowanie aktywności biologicznych *Cotoneaster horizontalis* (irgi poziomej) udowodnionych eksperymentalnie.

Khan i wsp. przeprowadzili badania dotyczące zdolności hamowania enzymów cholinesterazy przez wyizolowane z ulistnionych gałązek *C. horizontalis* horyzontaty A i B, uzyskując znakomite wyniki, porównywalne do galantaminy i alanzantanu, użytych jako pozytywna kontrola [5]. Aktywność była zależna od dawki i wyrażona jako IC<sub>50</sub> wynosiła kolejno 1,54 mM i 5,97 mM dla AChE i BChE w przypadku horyzontatu A oraz 3,41 mM i 6,84 mM odpowiednio dla AChE i BChE w analizach z użyciem horyzontatu B. Podobne badania dotyczące inhibicji AChE przeprowadził zespół Mahmutović-Dizdarević dla 80 % metanolowych ekstraktów z liści i kory irgi poziomej. Ekstrakt z liści wykazał aktywność równą IC<sub>50</sub> 0,34 mg/ml. Była ona najwyższa spośród wszystkich badanych gatunków (*C. integerrimus*, *C. tomentosus*). Udowodniono, że tak silna zdolność hamowania acetylocholinoesterazy jest związana z dużą zawartością horyzontatów. Ekstrakt z kory wykazał zdolność hamowania AChE równą 0,94 ± 0,03 mg/ml, wyrażoną jako IC<sub>50</sub> [4]. Właściwości te znajdują zastosowanie w leczeniu choroby Alzheimerera. Inhibitory AChE podnoszą endogenny poziom acetylocholino w mózgu pacjentów. Rola BChE w tym schorzeniu jest nie do końca poznana, jednak wiadomo, że poziom BChE jest wyższy w mózgu osób z chorobą Alzheimerera niż u osób zdrowych [5].

### 6.3. Działanie hepatoprotekcyjne, przeciwcukrzycowe i zapobiegające dyslipidemii

Potencjał etanolowych ekstraktów z ulistnionych gałązek *C. horizontalis* związany z ochroną wątroby został przebadany w warunkach *in vivo* na modelu hepatotoksyczności acetaminofenu po podaniu wielokrotnym u szczurów (1 g/kg masy ciała) [21]. W przypadku dawki 200 mg/kg masy ciała zauważono znaczne obniżenie poziomu biomarkerów związanych z dysfunkcją wątroby, a mianowicie: bilirubiny całkowitej (TB),  $\gamma$ - transferazy glutamylowej (GGT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT) oraz fosfatazy alkalicznej (ALP). Jednak w porównaniu do sylimaryny użytej jako pozytywna kontrola w dawce 50 mg/kg masy ciała, hepatoprotekcyjny efekt *C. horizontalis* był raczej umiarkowany. Sokkar i wsp. wykazali również działanie irgi poziomej regulujące gospodarkę lipidową, gdyż po podaniu etanolowych ekstraktów zauważono znaczną poprawę parametrów profilu lipidowego surowicy, porównywalną do efektu uzyskanego po zastosowaniu sylimaryny [21].

Kolejną analizą dotyczącą antydyslipidemicznej i przeciwcukrzycowej aktywności *C. horizontalis* była ocena wpływu frakcji śluzowej pozyskanej z ulistnionych gałązek, bogatej w monosacharydy, w warunkach *in vivo* u szczurów. Próba trwała 28 dni. Frakcję śluzową podawano w ilości 250 mg/kg masy ciała. W badaniu przeprowadzonym na szczurach z cukrzycą indukowaną streptozotocyną zauważono normalizowanie poziomu glukozy i lipidów (TG (ang. *triglycerides*), TC (ang. *total cholesterol*), LDL (ang. *low density lipoprotein*) i VLDL (ang. *very low density lipoprotein*)) we krwi, w porównaniu z glibenklamidem - lekiem przeciwcukrzycowym użytym jako pozytywna kontrola w dawce 0,4 mg/kg masy ciała [22]. Wnioskiem z badania jest, iż frakcja śluzowa otrzymana z części nadziemnych irgi poziomej w dawce 250 mg/kg masy ciała posiada zarówno hipoglikemiczne jak i antydyslipidemiczne właściwości.

### 6.4. Aktywność przeciwbakteryjna i przeciwrzybicza

Metanolowe ekstrakty z liści oraz kory *C. horizontalis* zostały przebadane metodą dyfuzji na krążkach agarowych wobec szczepów wybranych bakterii i grzybów [4]. Przeprowadzone badanie wykazało, iż dla ekstraktu z liści otrzymano strefę zahamowania wzrostu *C. albicans* równą 30,40 ± 0,53 mm. Wynik ten był większy niż ten otrzymany dla nystatyny, użytej jako pozytywna kontrola (21,12 ± 0,24 mm). Co więcej, ekstrakty z liści i kory wykazały aktywność wynoszącą 18,50 ± 0,74 mm dla *P. aeruginosa*. Wartość ta jest większa niż wartość otrzymana dla ampicyliny, zastosowanej jako pozytywna kontrola (13,02 ± 0,09 mm). Dodatkowo, badanie dowiodło, iż strefa zahamowania wzrostu dla *B. subtilis* w przypadku ekstraktu z kory *C. horizontalis* była równa 20,97 ± 0,49 mm, a dla *E. coli* 19,67 ± 0,29 mm. Ekstrakt z liści wykazał aktywność w kierunku *E. coli* na poziomie 19,35 ± 0,70 mm. Za działanie przeciwbakteryjne i przeciwrzybicze najprawdopodobniej odpowiedzialne są związki fenolowe, które w tym samym badaniu zostały wykryte w analizowanych ekstraktach w znaczących ilościach [4].

### 7. Cytotoksyczność i bezpieczeństwo stosowania

Etanolowe ekstrakty z ulistnionych gałązek *C. horizontalis* wykazały zależną od dawki aktywność cytotoksyczną w kierunku ludzkich linii komórek nowotworowych, takich jak: HEPG2 - linia komórkowa raka wątroby (ang. *hepatic carcinoma cell line*), MCF7 - linia komórkowa raka piersi (ang. *breast carcinoma cell line*), HCT116 - linia komórkowa raka okrężnicy (ang. *colon carcinoma cell line*) oraz HELA - linia komórkowa raka szyjki macicy (ang. *cervix carcinoma cell line*). Aktywność ta jest związana z obecnością glikozydu cyjanogenego amigdaliny, która jest naturalnym chemioterapeutycznym występującym w znaczących ilościach w gatunkach rodziny *Rosaceae*. Jednocześnie badany ekstrakt roślinny nie wywarł znaczącego wpływu na linię komórkową raka krtani HEP2 (ang. *larynx carcinoma cell line*) [21].

### 8. Konkluzje i dalsze perspektywy

Biorąc pod uwagę wyżej opisane dane dotyczące składu chemicznego i właściwości terapeutycznych *C. horizontalis*, można wysnuć wniosek, iż irga pozioma jest jednym z lepiej przebadanych gatunków rodzaju *Cotoneaster*. Uzasadnionym wydaje się być kontynuowanie i rozszerzenie analiz związanych z aplikacyjnością opisanego materiału roślinnego jako potencjalnego surowca leczniczego.

Zważywszy na bardzo dobre wyniki aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwrzybiczej ekstraktów z liści i kory, szczególnie pożądanym kierunkiem dalszych badań jest uzupełnienie luk w wiedzy dotyczących działania owoców wobec chorobotwórczych patogenów. Co więcej, wskazanym jest przebadanie właściwości przeciwzapalnych wobec takich enzymów jak cyklooksigenaza 1 i 2 (COX-1, COX-2), szczególnie mając na względzie obiecujące wyniki otrzymane dla innych gatunków z tego rodzaju (np. frakcji eteru dietylowego z ekstraktu metanol-aceton-woda (3:1:1, v/v/v) liści *C. hsingshangensis* [27]. Dodatkowo, biorąc pod uwagę aktywność ekstraktów z owoców, ważnym kierunkiem

badań jest ocena właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów z liści i kory w modelach biologicznych, uwzględniających pH i temperaturę panujące w ludzkim organizmie.

Reasumując, możliwość zastosowania *C. horizontalis* w leczeniu różnorodnych dysfunkcji została potwierdzona w licznych badaniach, dowodzących bogatego chemizmu, jak również znaczącej aktywności biologicznej, nie tylko *in vitro* na modelach chemicznych, ale również w badaniach *in vivo* na szczurach. Wyniki badań sugerują, iż irga pozioma jest znakomitym kandydatem do wykorzystania go w postępowaniu leczniczo - prozdrowotnym. Co więcej, biorąc pod uwagę, iż do rodzaju *Cotoneaster* zalicza się około 500 gatunków, a jedynie kilkadziesiąt z nich posiada udokumentowane doniesienia naukowe [19], uzasadnionym kierunkiem badań wydaje się być analiza takich gatunków ozdobnych jak np. *Cotoneaster adpressilis*, *Cotoneaster ascendens*, *Cotoneaster atropurpureus*, *Cotoneaster hjelmqvistii* czy *Cotoneaster scandinavicus* pod kątem potencjału terapeutycznego.

**Wkład autorów:** Opracowanie koncepcji, B.K.; metodologia, B.K.; przygotowanie oryginalnej wersji roboczej, B.K., G.S.; recenzja i edycja, B.K. Wszyscy autorzy przeczytali i zaakceptowali opublikowaną wersję artykułu.

**Finansowanie:** Praca nie była finansowana ze środków zewnętrznych.

**Konflikt interesów:** Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

## Bibliografia

- Ribeiro, A.S.; Estanqueiro, M.; Oliveira, M.B.; Sousa Lobo, J.M. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. *Cosmetics* **2015**, *2*, 48-65. doi:10.3390/cosmetics2020048.
- <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000009472> (accessed on 05.02.2024).
- Chang, C.-S.; Jeon, J.I. Leaf flavonoids in *Cotoneaster wilsonii* (Rosaceae) from the island Ulleung-do, Korea. *Biochem. Syst. Ecol.* **2003**, *31*, 171-179. doi:10.1016/S0305-1978(02)00064-9.
- Mahmutović-Dizdarević, I.; Dizdar, M.; Čulum, D.; Vidic, D.; Dahija, S.; Jerković-Mujkić, A.; Bešta-Gajević, R. Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of *Cotoneaster Medik.* species from Bosnia and Herzegovina. *Bull. Chem. Technol. Bosnia Herzeg.* **2020**, *54*, 1-6. doi: 10.35666/gthb.2020.54.01.
- Khan, S.; Wang, Z.; Wang, R.; Zhang, L. Horizontaloates A-C: New cholinesterase inhibitors from *Cotoneaster horizontalis*. *Phytochem. Lett.* **2014**, *10*, 204-208. doi: 10.1016/j.phytol.2014.09.007.
- Holzer, V.M.D.; Lower-Nedza, A.D.; Nandintsetseg, M.; Batkhuu, J.; Brantner, A.H. Antioxidant constituents of *Cotoneaster melanocarpus* Lodd. *Antioxidants* **2013**, *2*, 265-272. doi: 10.3390/antiox2040265.
- Les, F.; López, V.; Caprioli, G.; Iannarelli, R.; Fiorini, D.; Innocenti, M.; Bellumori, M.; Maggi, F. Chemical constituents, radical scavenging activity and enzyme inhibitory capacity of fruits from *Cotoneaster pannosus* Franch. *Food Funct.* **2017**, *8*, 1775-1784. doi: 10.1039/C7FO00330G.
- Zengin, G.; Uysal, A.; Gunes, E.; Aktumsek, A. Survey of phytochemical composition and biological effects of three extracts from a wild plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): A potential source for functional food ingredients and drug formulations. *PLoS ONE.* **2014**, *9*(11), doi: 10.1371/journal.pone.01113527.
- Zengin, G.; Ferrante, C.; Menghini, L.; Orlando, G.; Brunetti, L.; Recinella, L.; Chiavaroli, A.; Leone, S.; Ronci, M.; Aumeeruddy, M.Z.; et al. Protective effects of *Cotoneaster integerrimus* in vitro and ex-vivo models of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced lactate dehydrogenase activity in HCT116 cell and on lipopolysaccharide-induced inflammation in rat colon. *J. Food Biochem.* **2019**, *43*, doi: 10.1111/jfbc.12766.
- Esmaili, S.; Ghiaee, A.; Naghibi, F.; Mosaddegh, M. Antiplasmodial activity and cytotoxicity of plants used in traditional medicine of Iran for the treatment of fever. *Iran J. Pharm. Res.* **2015**, *14*, 103-107.
- Kicel, A.; Kołodziejczyk-Czepas, J.; Owczarek, A.; Marchelak, A.; Sopinska, M.; Ciszewski, P.; Nowak, P.; Olszewska, M.A. Polyphenol-rich extracts from *Cotoneaster* leaves inhibit pro-inflammatory enzymes and protect human plasma components against oxidative stress in vitro. *Molecules* **2018**, *23*, Art. No: 2472. doi: 10.3390/molecules23102472.
- Swati, S.; Manjula, R.R.; Sowjanya, K.; Vennela, Y.; Tanuja, K. A phyto pharmacological review on *Cotoneaster microphyllus* species. *J. Pharm. Sci. Res.* **2018**, *10*, 2166-2168.
- Khan, S.; Yasmeen, S.; Afza, N.; Malik, A.; Iqbal, L.; Lateef, M. Cotonoates A and B, new aromatic esters from *Cotoneaster racemiflora*. *Z. Naturforsch. B.* **2008**, *63*, 1219-1222. doi: 10.1515/znb-2008-1013.
- <https://powo.science.kew.org> (accessed on 10.01.2024).
- Dickoré, W.B.; Kasperek, G. Species of *Cotoneaster* (Rosaceae, Maloideae) indigenous to, naturalising or commonly cultivated in Central Europe. *Willdenowia* **2010**, *40*, 13-45. doi:10.3372/wi.40.40102.
- Piqueray, J.; Mahy, G.; Vanderhoeven, S. Naturalization and impact of a horticultural species, *Cotoneaster horizontalis* (Rosaceae) in biodiversity hotspots in Belgium. *Belgian J. Bot.* **2008**, *141*, 113-124. doi:10.2307/20794659.
- Jerzak, E. Irgi uprawiane w Polsce, Wyd. 1; Officina Botanica, Kraków, Polska, **2007**; p. 31.
- Bailey, L.H.; Bailey, E.Z. Hortus Third: A Concise Dictionary of Plants Cultivated in the United States and Canada, Revised by Staff of the L. H. Bailey Hortium; The Macmillan Publishing Company, New York, **1976**.
- Kicel, A. An overview of the genus *Cotoneaster* (Rosaceae): phytochemistry, biological activity, and toxicology. *Antioxidants* **2020**, *9*, Art. No: 1002. doi:



10.3390/antiox9101002.

20. Popoviciu, D.R.; Negreanu-Pirjol, T.; Motelica, L.; Pirjol, B.S.N. Carotenoids, flavonoids, total phenolic compounds and antioxidant activity of two creeping *Cotoneaster* species fruits extracts. *Rev. Chim.* **2020**, *71*, 136-142 doi: 10.37358/RC.20.3.7981.
21. Sokkar, N.; El-Gindi, O.; Sayed, S.; Mohamed, S.; Ali, Z.; Alfishawy, I. Antioxidant, anticancer and hepatoprotective activities of *Cotoneaster horizontalis* Decne extract as well as  $\alpha$ -tocopherol and amygdalin production from in vitro culture. *Acta Physiol. Plant.* **2013**, *35*, 2421-2428. doi: 10.1007/s11738-013-1276-z.
22. Mohamed, S.A.; Sokkar, N.M.; El-Gindi, O.; Ali, Z.Y.; Alfishawy, I.A. Phytoconstituents investigation, anti-diabetic and anti-dyslipidemic activities of *Cotoneaster horizontalis* Decne cultivated in Egypt. *Life Sci. J.* **2012**, *9*, 394-403.
23. Sytar, O.; Hemmerich, I.; Zivcak, M.; Rauh, C.; Brestic, M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. *Saudi J. Biol. Sci.* **2018**, *25*, 631-641. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.01.036.
24. Kicel, A.; Michel, P.; Owczarek, A.; Marchelak, A.; Zyzelewicz, D.; Budryn, G.; Oracz, J.; Olszewska, M.A. Phenolic profile and antioxidant potential of leaves from selected *Cotoneaster* Medik. species. *Molecules* **2016**, *21*, 688. doi: 10.3390/molecules21060688.
25. Kicel, A.; Kolodziejczyk-Czepas, J.; Owczarek, A.; Rutkowska, M.; Wajs-Bonikowska, A.; Granica, S.; Nowak, P.; Olszewska, M.A. Multifunctional phytochemicals in *Cotoneaster* fruits: phytochemical profiling, cellular safety, anti-inflammatory and antioxidant effects in chemical and human plasma models in vitro. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2018**, *24*, 3482521. doi: 10.1155/2018/3482521.
26. Koss-Mikołajczyk, I.; Baranowska, M.; Namieśnik, J.; Bartoszek-Pączkowska, A. Metody oznaczania właściwości przeciwutleniających fitozwiązków w systemach komórkowych z wykorzystaniem zjawiska fluorescencji/luminescencji. *Postępy Hig. Med. Dosw.* **2017**, *71*, 602-616; doi: 10.5604/01.3001.0010.3841.
27. Krzemińska, B.; Dybowski, M.P.; Klimek, K.; Typek, R.; Miazga-Karska, M.; Dos Santos Szewczyk, K. The anti-acne potential and chemical composition of two cultivated *Cotoneaster* species. *Cells* **2022**, *11*, Art. No: 367. doi.org/10.3390/cells11030367.