

CZU: 582.949.22:581.9

STUDIES ON THE PHYTOTOXIC EFFECTS OF AN EXTRACT FROM *AJUGA GENEVENSIS*

Georgiana NIȚULESCU, George Mihai NIȚULESCU*, Maria-Bianca IONIȚĂ,
Ana-Maria GRIGORE, Remus-Ștefan ISTRĂTESCU, Cerasela Elena GÎRD,
Emanuela-Alice LUȚĂ, Octavian Tudorel OLARU

Faculty of Pharmacy, „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest,
Romania

Corresponding author*: george.nitulescu@umfcd.ro

Introduction. *Ajuga sp.* is a genus of herbaceous plants belonging to the Lamiaceae family. The species are widely distributed across Europe, Asia, and North Africa and have been traditionally used in folk medicine for its sedative properties, antihemorrhagic benefits, anti-inflammatory effects, and because it promotes wound healing. The aerial parts of *Ajuga* plants are rich in bioactive compounds such as phenolic acids, flavonoids, iridoids, diterpenes, triterpenes [1]. Previous *in vitro* and *in vivo* research has demonstrated the following actions: anti-malarial, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, antipyretic, and antiproliferative [2]. Recent research has aimed at isolating and identifying specific compounds from *Ajuga sp.* to further understand their mechanisms of action and explore their potential therapeutic applications.

Aim of the study. Evaluation the phytotoxicity of *Ajuga genevensis* extract using *Lemna minor* (Araceae) and *Riccia fluitans* (Ricciaceae) as biological material.

Material and methods. The aqueous extract was obtained by refluxing the aerial parts with water, followed by concentration using a rotary evaporator and lyophilization. The tested concentrations were as follows: 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, and 50 µg/mL. The investigation focused on the toxicity of the extract over a period of 16 days, with observations recorded on days 0, 1, 5, 6, 8, and 16. Each test was conducted in duplicate to ensure reliability of the results. Water served as the control in this experiment. The following parameters were evaluated: biomass over 16 days, measured using an analytical balance; leaf area of *Lemna minor* at intervals of 0, 1, 5, 6, 8, and 16 days, analyzed with the ImageJ software; segment length of *Riccia fluitans* at the same intervals (0, 1, 5, 6, 8, and 16 days), also assessed using ImageJ; color intensity, indicated by chlorophyll content, for both *Lemna minor* and *Riccia fluitans* at days 0 and 16, measured with ImageJ[3].

Results.

1. The effect of the extract on the surface of *L. minor* leaves: at the concentrations of 50, 100 and 1000 µg/mL (74.19; 75.64; and 86.57), an inhibitory effect was found compared to the control (114.09). At concentrations between 250 and 750 µg/mL, the effect was similar to that observed in the control.
2. The effect of the extract on the mass of *L. minor* plants: the tested extract visibly influences *L. minor* biomass in a stimulatory manner.
3. The effect of the extract on the length of segments of *R. fluitans*: at concentrations 750 and 1000 µg/mL (32.07 and 46.49), a strong inhibitory effect was found compared to the control; at concentrations of 250 and 500 µg/mL (61.32 and 55.36) an inhibitory effect was found compared to the control (72.07); at the concentration of 50 µg/mL (75.74), the effect was similar to that observed in the control; at the concentration of 100 µg/mL (80.73) the effect was slightly stimulatory.

4. The effect of the extract on the mass of *R. fluitans* plants: The extract influenced the biomass in very small limits, no correlation between the concentration and it being evident.

Conclusion. Ajuga extract has a different impact on the two aquatic plant species. In *Lemna minor*, medium concentrations stimulate growth compared to the control, while extremes are inhibitory. In contrast, on *Riccia fluitans*, the extract had an inhibitory effect at higher concentrations and a slight stimulation only at 100 µg/mL, indicating a varied sensitivity.

Bibliography.

1. Göger, F.; Bileşiklerin, F.; Karakterizasyonu, F.; Aktiviteleri, B.; et al. Phytochemical Characterization of Phenolic Compounds by LC-MS/MS and Biological Activities of Ajuga Reptans L., Ajuga Salicifolia (L.) Schreber and Ajuga Genevensis L. from Turkey. *Turkish J. Pharm. Sci.* **2021**, *18*, 616, doi:10.4274/TJPS.GALENOS.2021.33958.
2. Toiu, A.; Mocan, A.; Vlase, L.; Pârvu, A.E.; Vodnar, D.C.; Gheldiu, A.M.; Moldovan, C.; Oniga, I. Comparative Phytochemical Profile, Antioxidant, Antimicrobial and In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Different Extracts of Traditionally Used Romanian Ajuga Genevensis L. and A. Reptans L. (Lamiaceae). *Molecules* **2019**, *24*, doi:10.3390/MOLECULES24081597.
3. Haffner, O.; Kučera, E.; Drahoš, P.; Cigánek, J.; Kozáková, A.; Urminská, B. Lemna Minor Bioassay Evaluation Using Computer Image Analysis. *Water* **2020**, *Vol. 12*, Page 2207 **2020**, *12*, 2207, doi:10.3390/W12082207.

Acknowledgment: This research was supported by „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

CZU: 582.949.22:581.9

STUDII PRIVIND EFECTELE FITOTOXICE ALE UNUI EXTRACT DIN *AJUGA GENEVENSIS*

**Georgiana NIȚULESCU, George Mihai NIȚULESCU*, Maria-Bianca IONIȚĂ,
Ana-Maria GRIGORE, Remus-Ștefan ISTRĂTESCU, Cerasela Elena GÎRD,
Emanuela-Alice LUȚĂ, Octavian Tudorel OLARU**

*Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București,
România*

Autor corespondent*: george.nitulescu@umfcd.ro

Introducere. *Ajuga sp.* este un gen de plante erbacee aparținând familiei Lamiaceae. Speciile sunt larg răspândite în Europa, Asia și Africa de Nord și au fost utilizate tradițional în medicina populară pentru proprietățile lor sedative, antihemoragice, efecte antiinflamatoare și cicatrizante. Părțile aeriene ale plantelor *Ajuga* sunt bogate în compuși bioactivi precum acizii fenolici, flavonoidele, iridoidele, diterpenele și triterpenele [1]. Cercetările anterioare, *in vitro* și *in vivo*, au demonstrat următoarele acțiuni: antimalarică, antimicrobiană, antioxidantă, antiinflamatoare, antipiretică și antiproliferativă [2]. Cercetările recente au vizat izolarea și identificarea compușilor specifici din *Ajuga sp.* pentru a înțelege mai bine mecanismele lor de acțiune și a explora potențialele lor aplicații terapeutice.

Obiectiv: Evaluarea fitotoxicității extractului de *Ajuga genevensis* utilizând *Lemna minor* (Araceae) și *Riccia fluitans* (Ricciaceae) ca material biologic.

Material și metode. Extractul apos a fost obținut prin refluxarea părților aeriene cu apă, urmată de concentrarea prin rotaevaporare și liofilizare. Concentrațiile testate au fost următoarele: 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, respectiv 50 µg/mL. Investigația a evaluat toxicitatea extractului pe o perioadă de 16 zile, cu

Înregistrarea observațiilor în zilele 0, 1, 5, 6, 8 și 16. Fiecare test a fost efectuat în duplicat pentru a asigura fiabilitatea rezultatelor. Apa a fost folosită ca martor în acest experiment. Au fost evaluați următorii parametri: biomasa pe parcursul a 16 zile, măsurată cu ajutorul unei balanțe analitice; aria frunzelor de *Lemna minor* la intervalele de 0, 1, 5, 6, 8 și 16 zile, analizată cu software-ul ImageJ; lungimea segmentelor de *Riccia fluitans* la aceleași intervale (0, 1, 5, 6, 8 și 16 zile), evaluată tot cu ImageJ; intensitatea culorii, indicată de conținutul de clorofilă, pentru ambele specii în zilele 0 și 16, măsurată cu ImageJ [3].

Rezultate.

1. Efectul extractului asupra suprafeței frunzelor de *L. minor*: la concentrațiile de 50, 100 și 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (74.19; 75.64; și 86.57), s-a constatat un efect inhibitor comparativ cu martorul (114.09). La concentrații între 250 și 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$, efectul a fost similar cu cel observat la martor.
2. Efectul extractului asupra masei plantelor *L. minor*: extractul testat influențează vizibil biomasa *L. minor* într-un mod stimulator.
3. Efectul extractului asupra lungimii segmentelor de *R. fluitans*: la concentrațiile de 750 și 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (32.07 și 46.49), s-a constatat un efect inhibitor puternic comparativ cu martorul; la concentrațiile de 250 și 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (61.32 și 55.36), s-a constatat un efect inhibitor comparativ cu martorul (72.07); la concentrația de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (75.74), efectul a fost similar cu cel observat la martor; la concentrația de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (80.73) efectul a fost ușor stimulator.
4. Efectul extractului asupra masei plantelor *R. fluitans*: extractul a influențat biomasa în limite foarte mici, nefiind evidentă nicio corelație între concentrație și aceasta.

Concluzie: Extractul de *Ajuga* are un impact diferit asupra celor două specii de plante acvatice. La *Lemna minor*, concentrațiile medii stimulează creșterea în comparație cu martorul, în timp ce concentrațiile extreme sunt inhibitoare. În contrast, la *Riccia fluitans*, extractul a avut un efect inhibitor la concentrații mai mari și o ușoară stimulare doar la 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, indicând o sensibilitate variată.

Bibliografie.

1. Göger, F.; Bileşiklerin, F.; Karakterizasyonu, F.; Aktiviteleri, B.; et al. Phytochemical Characterization of Phenolic Compounds by LC-MS/MS and Biological Activities of *Ajuga Reptans* L., *Ajuga Salicifolia* (L.) Schreber and *Ajuga Genevensis* L. from Turkey. *Turkish J. Pharm. Sci.* **2021**, *18*, 616, doi:10.4274/TJPS.GALENOS.2021.33958.
2. Toiu, A.; Mocan, A.; Vlase, L.; Pârvu, A.E.; Vodnar, D.C.; Gheldiu, A.M.; Moldovan, C.; Oniga, I. Comparative Phytochemical Profile, Antioxidant, Antimicrobial and In Vivo Anti-Inflammatory Activity of Different Extracts of Traditionally Used Romanian *Ajuga Genevensis* L. and *A. Reptans* L. (Lamiaceae). *Molecules* **2019**, *24*, doi:10.3390/MOLECULES24081597.
3. Haffner, O.; Kučera, E.; Drahoš, P.; Cigánek, J.; Kozáková, A.; Urminská, B. Lemna Minor Bioassay Evaluation Using Computer Image Analysis. *Water* **2020**, *Vol. 12*, Page 2207 **2020**, *12*, 2207, doi:10.3390/W12082207.

Finanțare: Această cercetare a fost susținută financiar de Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

Authors' ORCID

Georgiana Nițulescu	https://orcid.org/0000-0002-2162-3069
George Mihai Nițulescu	https://orcid.org/0000-0002-2978-8052
Maria-Bianca Ioniță	https://orcid.org/0000-0003-4967-7146
Cerasela Elena Gîrd	https://orcid.org/0000-0003-4372-4335
Emanuela-Alice Luță	https://orcid.org/0000-0002-6903-3260
Octavian Tudorel Olaru	https://orcid.org/0000-0001-6904-3066