



# ENDEMİK *ASPERULA LILACIFLORA* SUBSP. *PHRYGIA* (BORNM.) SCHÖNB. -TEM. (RUBIACEAE) ÜZERİNDE FARMASÖTİK BOTANİK ARAŞTIRMA

*THE PHARMACEUTICAL BOTANICAL INVESTIGATION ON ENDEMIC ASPERULA  
LILACIFLORA SUBSP. PHRYGIA (BORNM.) SCHÖNB. -TEM. (RUBIACEAE)*

Kader KAYIŞ<sup>1\*</sup> , Ayla KAYA<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, 26470, Eskişehir,  
Türkiye

## ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada Rubiaceae familyasına ait endemik *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia*'nın farmasötik botanik açıdan araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Eskişehir-İnönü'den toplanan bitki morfolojik araştırmalarda değerlendirilirken, tüy ve polen morfolojisi SEM'de incelenmiştir. Anatomik çalışmalarda %70'lik alkole alınan örneklerin manuel kesitlerinde, yapıları aydınlatılmış ve fotoğrafları çekilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu reaktifi ile test edilmiştir. Bitki ekstresinin antioksidan aktivitesi ise DPPH ve ABTS süpürücü etki tayini ile belirlenmiştir.

**Sonuç ve Tartışma:** Bitkinin morfolojik, anatomik, tüy, polen ve kimyasal özellikleri ilk kez bu çalışmayla ortaya koyulmuştur. Morfolojik çalışmada taksonun ayrıntılı deskripsiyonu verilmiş, çizimler ve fotoğraflarla desteklenmiştir. Gövdeler, dört köşeli-yuvarlak, kollateral tipte ve ergastik madde ile raft kristalleri içermektedir. Yapraklar monofasiyal tiptedir. Toplam fenolik madde miktarı 1 g *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresinde 31 mg gallik asite eşdeğer (GAE) olarak hesaplanmıştır. Antioksidan aktivitesi DPPH  $IC_{50}=0.38$  mg/ml, ABTS  $IC_{50}=0.37$  mg/ml-0.90 mg/ml olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Anatomi, antioksidan, *Asperula*, morfoloji, palinoloji

## ABSTRACT

**Objective:** This study aimed to investigate the aspects of pharmaceutical botany of endemic *Asperula lilaciflora* subsp. *phrygia* in Rubiaceae family.

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Kader Kayış  
e-posta / e-mail: kaderkayis@anadolu.edu.tr, Tel. / Phone: +905432772922

**Material and Method:** While the plant from Eskişehir-İnönü was studied morphologically, it was also examined by SEM for trichome and pollen morphology. In anatomical studies, the structures of the samples taken in 70% alcohol were illuminated in manual sections and their photographs were taken. The total amount of phenolic substances was tested with the Folin-Ciocalteu reagent. The antioxidant activity of the plant extract was determined by DPPH and ABTS scavenging effect assays.

**Result and Discussion:** The morphological, anatomical, trichome, pollen, and chemical properties of the plant were revealed for the first time in this study. A detailed description of the taxon was given in the morphological study, supported by drawings and photographs. The stem and leaves are densely hispid hairy. Pollen is hexacolpate and elliptical. The stems are tetragonal-round, collateral type and contain ergastic material, raphide crystals. Leaves are monofacial. The total amount of phenolic substances in 1 g of extract was calculated as 31 mg of gallic acid equivalent (GAE). Antioxidant activity was found to be DPPH  $IC_{50}=0.38$  mg/ml, ABTS  $IC_{50}=0.37$  mg/ml-0.90 mg/ml.

**Keywords:** Anatomy, antioxidant, *Asperula*, morphology, palynology

## GİRİŞ

Rubiaceae familyası üyeleri boyamacılıkta kullanılmakta ve köklerin boyama özelliğinden dolayı, bu familyaya “Kökboyasığiller” adı verilmektedir [1]. Kozmopolit olan bu familya, dünyada yaklaşık 620 cins ve 13000 kadar tür ile familyalar arasında dördüncü sırada yer almaktadır [2,3]. Familyadaki bitkilerin antimikrobiyal, antienflamatuar, antimalaryal, antioksidan gibi birçok etkiye sahip olduğu bilinmektedir [4]. Ayrıca bazı türlerin ekonomik değerinin olmasıyla beraber; *Cinchona* L., *Coffea* L., *Uncaria* Schreber gibi bazı cinslerden droglar elde edilmekte ve tedavi amaçlı da kullanılmaktadır. *Asperula* L. da bu familyaya dâhil Türkiye’de bulunan cinslerden biri olup, bazı tıbbi etkiler göstermektedir. Halk arasında lenf ve kan temizlenmesinde, böbrek rahatsızlıklarında, cilt hastalıklarında ve kanser tedavisinde kullanılmaktadır; ayrıca sedatif etki gösterdiği de bilinmektedir [5-7].

*Asperula* cinsi Dünya üzerinde alt tür ve varyeteleri içeren 232 takson ile temsil edilmektedir [8]. Türkiye’de ise cinse ait 58 takson bulunmaktadır. Bu türlerin 26 tanesi endemik olup, yüksek bir endemizm oranı göstermektedir [9]. *Asperula lilaciflora* L. küme şeklinde yarı çalimsı bir bitki olup florada beş alttüre ayrılmaktadır. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* (Bornm.) Schönb.-Tem çiçek durumunun dallanması ve korolla tüpünün uzunluğu ile diğer alttürlerden ayrılmaktadır. Endemik olan bu attür, meşe ve çam ormanlarında, steplerde 300-1400 m yüksekliklerde yetişmektedir [10].

*Asperula* cinsi ile ilgili, literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. *A. taurina* L. subsp. *caucasica* (Pobed.) Ehrend. türünün kök anatomisinde rafit kristalleri tespit edilmiştir [1]. *A. odorata* L. türünün kuru ekstraktının antihipoksik ve sedatif aktivitesi test edilmiştir [7]. Çankırı’da bulunan bir takson morfolojik incelemeler sonucu yeni bir tür (*A. cankiriense* B.Şahin & Sağıroğlu) olarak rapor edilmiştir [8]. *A. arvensis* L. türünün flavonol glikozidleri analiz edilmiştir [11]. Endemik olan *Asperula* cinslerinin agar difüzyon ve sıvı dilüsyon metotlarıyla aktimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir [12]. Bazı endemik *Asperula* taksonlarının kimyasal bileşenleri, toplam flavanoid ve  $\alpha$ -tokoferol (E-vitamini) miktarları ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiş olup, çalışılan taksonlar arasında radikal süpürücü etkisi en yüksek *A. brevifolia* Vent. olarak bulunmuştur [13]. 5 farklı *Asperula* taksonunun karyotip çalışması yapılarak, kromozom sayıları ortaya çıkarılmıştır [14]. *A. lutea* subsp. *rigidula* (Halacsy) Ehrend. türünde temel yağ asidi bileşenlerinin %32.7 palmitik asit, %20.1 linolenik asit ve %10.5 linoleik asit olduğu belirlenmiştir [15]. Anadolu’nun güney-doğusunda Şırnak Uludere’den toplanan, *Asperula* cinsinin bazı türleri arasında yapılan morfolojik inceleme sonucunda *A. anatolica* M. Ozturk, yeni tür olarak Türkiye Florası’na kazandırılmıştır [16]. *A. lilaciflora* bitkisinin toprak üstü kısımlarından yeni bir flavonol glikozit (lilasifloroside) ve iridoid (asperulogenin) izole edilmiştir [17]. Endemik *A. daphneola* O. Schwarz kök ve gövde anatomik kesitlerinde rafit kristalleri tespit edilmiş olup yapıları ayrıntılı açıklanmıştır. Ayrıca kromozom sayısına bakılmış ve  $2n=20$  olarak tespit edilmiştir [18]. *Asperula* cinsinin filogenetik ilişkisi tekrardan yorumlanmıştır [19]. *A. taurina* subsp. *caucasica* (Pobed.) Ehrend. taksonunun toprak üstü kısımlarının fitokimyasal, antikolinesteraz ve antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Fitokimyasal çalışma sonucunda ise kersetin 3-O- $\beta$ -galaktozid

izole edilmiş; asetilkolinesteraz inhibitör etki ise göstermediği tespit edilmiştir [20]. *A. odorata*'nın hidroalkolik ekstresinin fenolik ve flavonoid içeriğine sahip olduğu ve fareler üzerinde anti-depresan etki gösterdiği bildirilmiştir [21]. Çalışılan taksonların polen şekillerinin prolat-sferodial ve oblat-sferodial olduğu bulunmuştur [22].

Ülkemizde yayılış gösteren endemik *A. lilaciflora* Boiss. subsp. *phrygia* alttürüne literatür taramasında genellikle flora çalışmalarında rastlanılmıştır. Taksona ait detaylı anatomik, morfolojik, palinolojik ve kimyasal çalışmanın bulunmaması nedeniyle; bu çalışmada endemik *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'nın farmasötik botanik açıdan ayrıntılı olarak ilk kez araştırılması amaçlanmıştır.

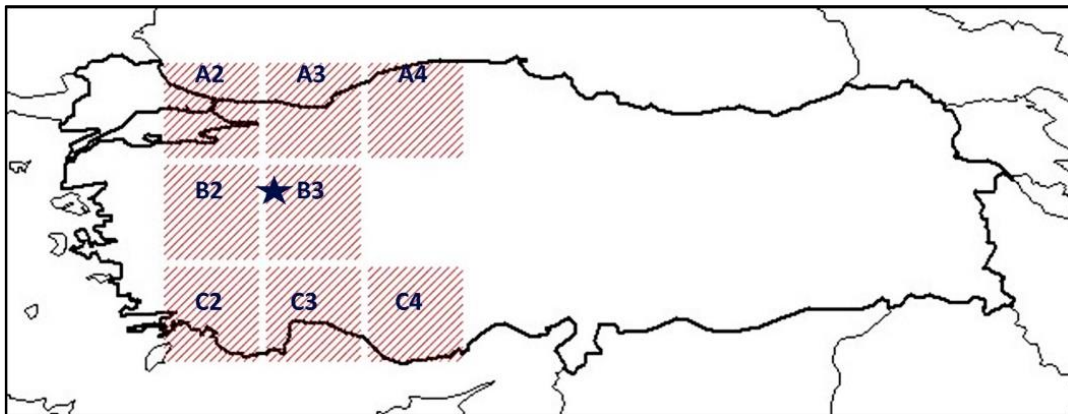
## GEREÇ VE YÖNTEM

### Bitkisel Materyaller

Bitkisel materyal çiçekli ve meyveli dönemlerinde (2020 Mayıs-Temmuz) Eskişehir-İnönü ilçesinden (30°10'1.555" E- 39°44' 21.496"N) toplanmış ve numaralandırılıp herbarium örneği haline getirilmiştir (ESSE: 15611) (Şekil 1). Bitkinin yayılış gösterdiği alanlar ve bitkinin toplandığı bölge Şekil 2'de gösterilmektedir [23].



Şekil 1. (a) Bitki genel görünüş (b) Herbarium örneği



Şekil 2. Davis'in kareleme sistemine göre, taksonun yayılış alanları ve \*örneğin toplandığı yer

### Morfolojik ve Anatmik Çalışmalar

Morfolojik çalışmada taksonun ayrıntılı deskripsiyonu verilmiş, çizimler ve fotoğraflarla desteklenmiştir (Şekil 3,4,5,6). Çizimler ve fotoğraflar için WILD TYP 181300 stereo mikroskobu ve resim çizme tüpü kullanılmıştır. Mikromorfolojik çalışmalar için bitkilerin gövde, yaprak, korolla, ovaryum yüzeylerindeki tüy ve yapılar taramalı elektron mikroskobu (SEM-TM3030 Plus Tabletop Microscope-HITACHI) ile görüntülenmiştir. Morfolojik terminolojide Baytop (1998)'un İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu [24] isimli eseri kullanılmıştır.

Anatomik çalışmalarda kullanılmak üzere %70'lik alkolde muhafaza edilen gövdeden enine kesitler; yaprakların ise hem enine, hem de yüzeysel kesitleri alınmıştır. Tüm kesitler saydamlaşması için kloralhidrata maruz bırakılmıştır, daha sonra Sartur reaktifi ile boyanarak anatomik yapıları aydınlatılmıştır.

### Palinolojik Çalışmalar

Polenler, ok uçları yardımıyla çıkarılıp, örnek tutucu (stab) üzerine çift taraflı bant ile yapıştırılmıştır. Hazırlanan örnekler altın ile kaplanmış ve masa üstü taramalı elektron mikroskobunda (TM3030 Plus Tabletop Microscope - HITACHI) ayrıntılı olarak incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Polen morfolojisinde, Walker ve Doyle [25] terminolojisinden yararlanılmıştır.

### Bitki Ekstreleri ve Kimyasal Çalışmalar

Bitkilerin oda sıcaklığında kurutulmuş toprak üstü kısımları iri taneli toz parçaları haline getirilmiştir. Toz numuneden 20 g tartılarak erlenmayere konulmuştur. Üzerine %70'lik 100 ml etanol konularak, 1 gün boyunca çalkayıcı ile oda sıcaklığında masere edilmiştir. Süre sonunda karışım süzülüp, numune üzerine tekrar 100 ml etanol ilave edilmiştir. Aynı işlem üç kez yapılmıştır. Süzüntüler bir kap içerisinde toplanıp dolaba konulmuş, daha sonra saklanan süzüntülerdeki etanol evaporatörde 30 dakika boyunca 41°C'de kontrollü bir şekilde uçurulmuştur. Çözücü uzaklaştırma işleminden sonra, numunedeki suyun kristalleşmesi için dondurucuya yerleştirilmiştir. Kristal halindeki su ise liyofilizatör ile uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstre ağzı kapalı şişelerde saklanmıştır.

Toplam fenolik madde miktarı tayini için Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. 20 mg bitki ekstresi 2 ml metanolde çözündürülerek 10 mg/ml derişimli çözelti hazırlanmıştır. Standart olan gallik asitten de farklı derişimlerde (0.1 mg/ml, 0.35 mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.7 mg/ml, 1 mg/ml) çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerden 20 µl mikropalak kuyucuklarına konularak üzerine 1560 µl distile su ve 100 µl Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Reaktifin homojen dağılması için 1-2 dakika bekledikten sonra, 300 µl %20'lik sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Karanlıkta 2 saat oda sıcaklığında bekledikten sonra absorbands değerleri 760 nm'de ölçülmüştür.

DPPH süpürücü etki tayini için MeOH'de (metanol) çözülmüş bitki örneğinden seri seyreltme yapılmıştır. Radikal uzaklaştırma aktivitesi, %50 inhibisyon konsantrasyonu denklemi ( $IC_{50} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ ) kullanılarak hesaplanmıştır. Denkleme göre; IC<sub>50</sub>: %50 inhibe eden konsantrasyon, A<sub>0</sub>: kontrol absorbands, A<sub>1</sub>: numune absorbandsıdır [14]. 96-kuyucuklu mikrotitrasyon plak kuyucuğuna 200'er µl MeOH'de çözülmüş bitki örneği (10 mg/ml derişimli) aktarılmıştır. Diğer kuyucuklara 100'er µl MeOH konulmuştur. İlk kuyucuktan 100 µl numune alınarak, sırasıyla 10 seri seyreltme işlemi yapılmıştır. Seyreltilmiş örnekler üzerine 100 µl DPPH<sup>+</sup> çözeltilerinden eklenip 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometrede 517 nm'de ölçüm yapılmıştır.

ABTS süpürücü etki tayini için, 7 miliMolar (mM) ABTS<sup>•+</sup> ve 2.5 mM sodyum persülfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) ile karıştırılmıştır. Karışım 12-16 saat karanlıkta bekletilmiş ve mavi-yeşil renkli radikal oluşumu sağlanmıştır. Hazırlanan radikal çözeltinin absorbands değerinin 734 nm'de 0.7- 0.8 olması için, etanol ile seyreltme yapılmıştır. Bitki ekstresinden 0.1 mg/ml ve 10 mg/ml derişiminde çözeltiler elde edilmiştir. Daha sonra ise, standart olarak kullanılacak 3 mM Troloks'dan farklı derişimler (2.5 mM, 2 mM, 1.5 mM, 1 mM, 0.5 mM ve 0.1 mM) hazırlanmıştır. 0.1 mg/ml ve 1 mg/ml yoğunluğa sahip gallik asit ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan numunelerden 10 µl mikropalak kuyucuklarına sırasıyla konulmuş ve üzerine 990 µl ABTS<sup>•+</sup> eklenmiştir. 30 dakika sonunda 734 nm'de absorbandsı ölçülmüştür. Troloksa eşdeğer antioksidan kapasite hesabı için, standartın kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

### Morfolojik Sonuç ve Tartışma

**Bitki** çok gövdeli, tabanda yoğun yapraklı, yarı çalimsıdır (Şekil 3a). Çiçekli gövdeler 16-35(-39) cm, yükselici - dik, dört köşeli, ya da hafifçe yuvarlak, yoğun puberulent ya da hispit tüylü üst kısımlarda tüysüz (Şekil 4a,b).

**Yapraklar** her nodta dört adet ve çevrel dizilişli (Şekil 5a), linear-subulat (Şekil 5b,c). Taban yapraklar  $2-10 \times 0.2-1$  mm, yoğun hispit tüylü (Şekil 5d), tepede aristat, şeffaf arista  $0.5-1$  mm; üst yapraklar  $10-20 \times 0.2-1$  mm, tüy daha az ya da eksik, şeffaf arista  $1$  mm, kenarlar düz, tabanda trunkat ve belirgin geriye kıvrık.

**Çiçek durumu** basit ya da hemen hemen dallanmış, panikula çiçek durumunda bir araya gelen (Şekil 3b) çiçekler dalların ucunda simoz şeklinde (Şekil 4c), simözlarda bir araya gelen çiçeklerin sayısı 3-12, çiçek durumunun sapı  $8-47$  mm.

**Brakte** simözlarda, 2 adet (Şekil 6d),  $2.4-4.5 \times 1-1.6$  mm, ovat-üçgen, alt kısım yanlarda kulakçıklı, düz veya belirgin şeffaf kenarlar genellikle düzensiz dişli (Şekil 6e,f). Tepede aristalı, aristalar  $0.5-1$  mm, şeffaf, hafif geriye kıvrık, tüysüz.

**Brakteoller**  $2-3.6 \times 0.4-0.8$  mm (Şekil 6g,h), lanseolat, kenarlar düz, alt kısımlarda içe kıvrık, genellikle düzensiz dişli, tepede aristalı. Şeffaf aristalar  $0.5-1$  mm, tüysüz.

**Kaliks** eksik.

**Korolla** gamopetal, huni ya da lobları yayık boru şeklinde,  $5-10$  mm (Şekil 5e,f), loblarda pembemsi beyaz, tüp kısmında pembe (Şekil 3b). Loblar 4 parçalı (Şekil 5g), lanseolat, akuminat,  $2-3 \times 0.8-1.2$  mm, tüp  $5-7.5$  mm, tüpten 2 ya da 3 kat kadar daha kısa, çok nadiren tüp ve lob neredeyse eşit, tüysüz.

**Pistil** açık pembe, hemen hemen ikili eşit dallanmış yuvarlak stigmalı, stilus  $6-6.5$  mm. Ovaryum  $0.5-1.2 \times 0.5-0.8$  mm, dış yüzeyi yoğun papilli (Şekil 6b).

**Stamenler** 4 adet,  $1-1.3$  mm, loblar ile almaşık dizili, dorsifiks. Anterler linear (Şekil 6a), sarımsı-koyu kahverengi, filamentler çok kısa.

**Meyve** iki merikarpa ayrılan şizokarp (Şekil 6c), ovat-orbikular, genişçe oblong,  $2-3 \times 1-2$  mm, genç merikarplar pembemsi, olgun merikarplar kahverengi (Şekil 3c), dış yüzey yoğun papilli.

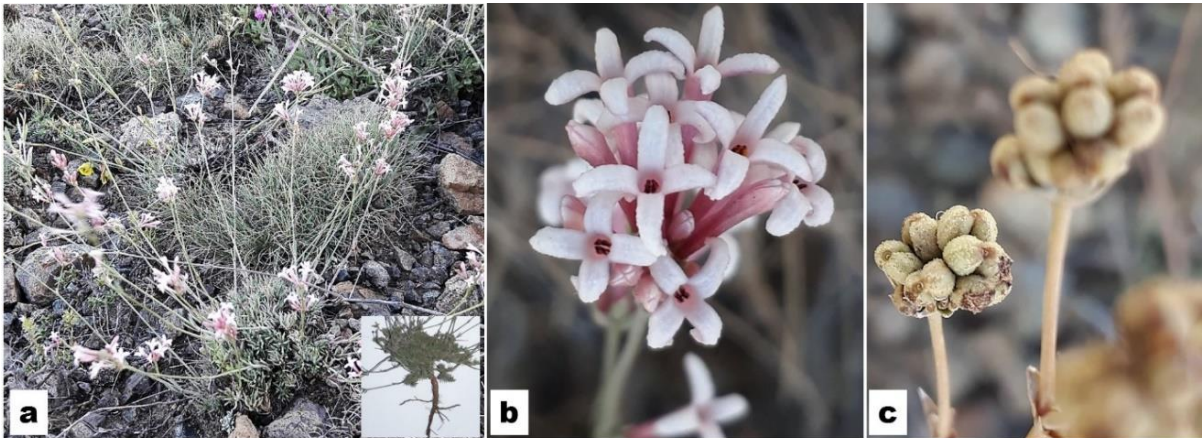
**Not:** Bitki kuruduğunda korolla ve üst gövdelerin bazıları belirgin mor.

**Çiçeklenme zamanı:** Haziran-Temmuz.

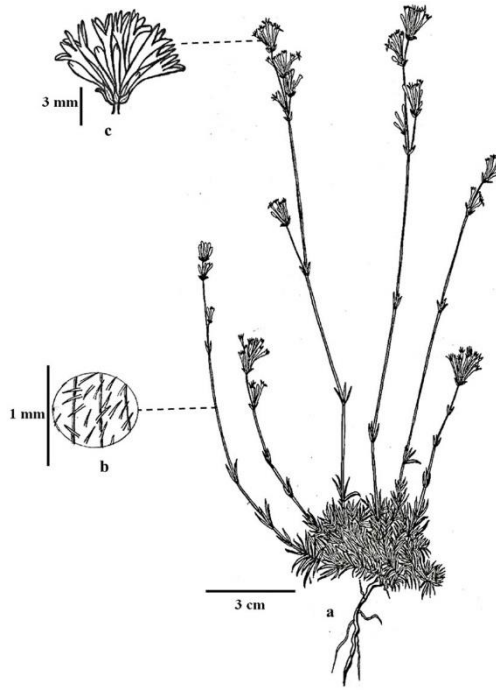
**Habitatı:** Tepe stepleri, meşe ve çam ormanlarıdır.

**Yüksekliği:**  $300-1400$  m

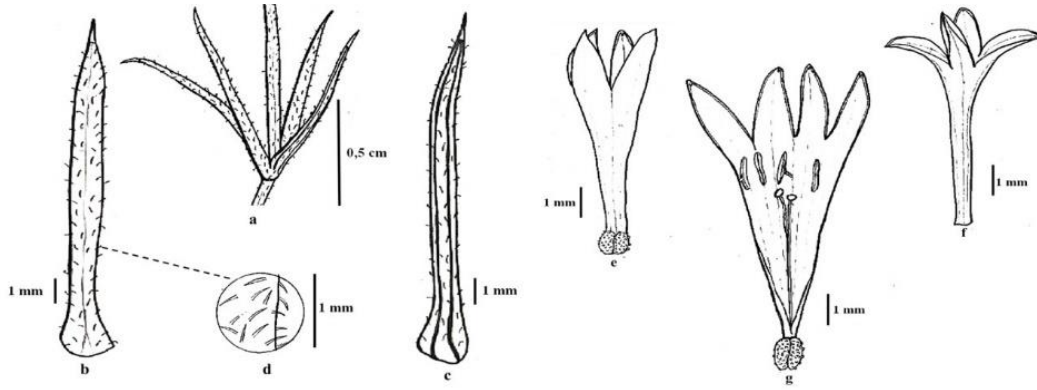
**Endemik**



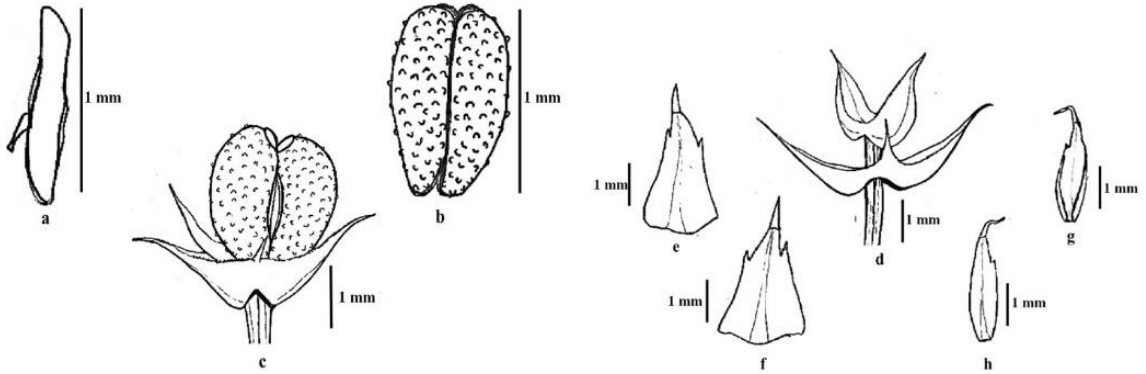
Şekil 3. (a) Bitki genel görünüş, taban yapraklar ve kök (b) çiçekler (c) meyveler



Şekil 4. Çizimler (a) bitki genel görünüş (b) gövde tüyü (c) çiçek durumu



Şekil 5. Çizimler (a) yaprakların dizilişi (b) yaprak üst yüzey (c) yaprak alt yüzey (d) yaprak tüyleri (e) ovaryumlu korolla (f) ovaryumsuz korolla (g) korolla iç yüzey



Şekil 6. Çizimler (a) anter (b) ovaryum (c) merikarplar (meyve) (d) çiçeği saran brakte (e) brakte iç yüzey (f) brakte dış yüzey (g) brakteol iç yüzey (h) brakteol dış yüzey

Davis'in kareleme sistemine göre, bu çalışmada B3 karesinden toplanan ve genel yapısı Şekil 3'teki gibi olan endemik *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* alt türünün morfolojik sonuçları, Davis [10]'in "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" kaynağı ile kıyaslanarak farklılıklar kısaca özetlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* morfolojik özelliklerinin flora ile karşılaştırılması

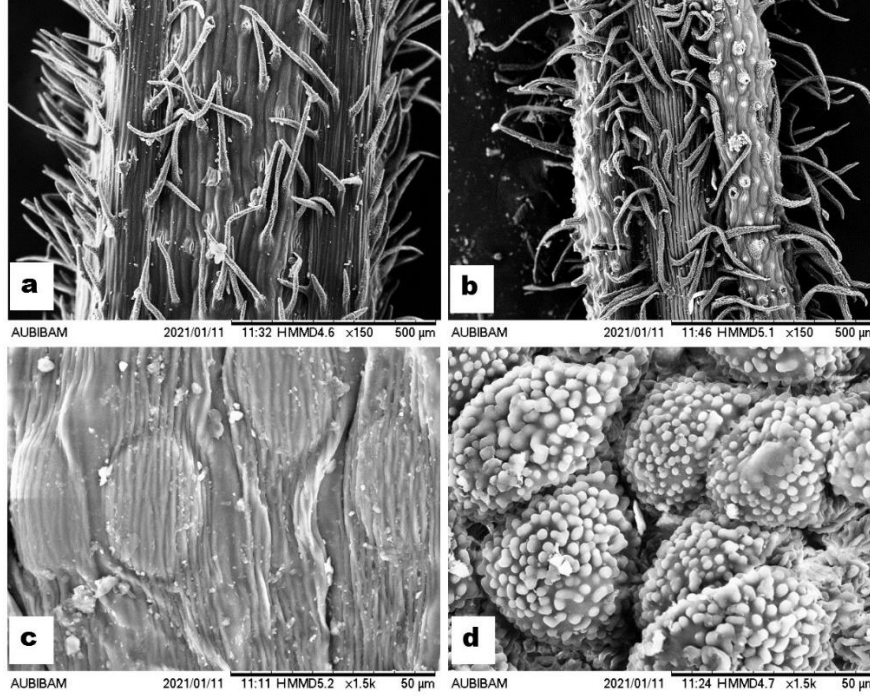
Özellikler	<i>A. lilaciflora</i> subsp. <i>phrygia</i>	Türkiye Florası
Gövde boyu	16-35(-39) cm	(10-)15-35 cm
Yaprak boyutu	Taban yaprak 2-10 × 0.2-1 mm, üst yaprak 10-20 × 0.2-1 mm	Taban yaprak 2-7 × 0.6-1 mm, üst yaprak (-8)10-20 × 0.3-0.75 mm
Yaprak arista boyu	0.5-1 mm	1 mm
Brakte boyu	2.4-4.5 × 1-1.6 mm	1.5-6 mm
Korolla boyu	5-10 mm	(4-)5-8 mm
Korolla rengi	Loblarda pembemsi beyaz, tüpte ise pembe	Açık pembe-pembe
*Yaprak	Sayısı	4, çevrel dizilişli
	Kenarı	Düz
*Çiçek durumu	Çiçek sayısı	Simozlarda 3-12
	Sap uzunluk	8-47 mm
*Brakte	Arista boyu	0.5-1 mm, şeffaf hafif geriye kıvrık
*Brakteol	Boyut	2-3.6 × 0.4-0.8 mm
	Şekil	Lanseolat
	Kenar	Düz ya da düzensiz dişli
	Tepe	Aristat
	Arista	0.5-1 mm, şeffaf
*Stamen	Sayısı	4
	Şekli	Dorsifiks
	Konumu	Petale bağlı, loblar ile almasıık
*Anter	Boy	1-1.3 mm
	Şekli	Linear
	Rengi	Sarımsı-koyu kahve
*Filament	Boy-Yapı	Kısa, Korollaya yapışık
*Ovaryum	Boy	0.5-1.2 × 0.5-0.8 mm
	Rengi	Koyu kahverengi
*Stilus	Boy	6-6.5 mm
	Şekli	İkili eşit dallanmış
	Rengi	Açık pembe
*Stigma	Şekli	Küresel
	Sayısı	2
*Meyve	Şekli	Ovat-orbikular

Bitki boyu, çalışmamızda (16-35 (-39) cm) Türkiye Florası'ndan ((10-)15- 35 cm) daha fazla belirlenmiştir. Gövde şekli ve tüy yapısı flora ile uyumlu çıkmıştır. Floraya göre çalışmamızdaki taban yapraklar daha uzun, üst yapraklar ise benzerdir. Yaprak enleri ise aynı ya da daha dardır. Florada brakte 1.5-6 mm, sonuçlarımızda 2.4-4.5 × 1-1.6 mm olup daha küçüktür. Brakte şekli ovat-üçgen olup floradan farklı bulunmuştur. Florada korolla loblarının boyu 1.5-3 mm olup, tüp boyu loblara eşit ya da 3 kat uzun iken; çalışmamızda lob boyu 2-3 × 0.8-1.2 mm ve tüp boyu loblardan 2 ya da 3 kat uzun çıkmıştır. Bununla birlikte yaprak, çiçek durumu, brakte, brakteol, stamen, pistil ve meyveye ait tabloda belirtilen özellikler ilk kez bu çalışmayla verilerek florada bu yöndeki eksiklikler giderilmiştir.

### Mikromorfolojik Sonuç ve Tartışma

Bitkiye ait tüy özellikleri ve yoğunlukları Tablo 2'de verilmiştir. Alt gövde yoğun tüylü, üst gövde tüysüz, gövde üzerinde çok sayıda stoma bulunur. Örtü tüyleri tek hücreli, basit, genelde uzun-yatık hispit, 101 µm-174 µm ve yoğun kütikula kabarcıklıdır. Yaprak alt ve üst yüzeyi yoğun örtü tüylü olup gövde ile benzer tüy yapısını sahiptir (Şekil 7a,b). Yaprığın iki yüzünde de stoma olup, üst yüzde daha

fazladır. Korolla dış yüzeyi düzensiz çizgili ve yer yer elipsoid-oblong şekiller içerirken (Şekil 7c), iç yüzey düzensiz epidermal katlanmaların oluşturduğu yoğun şekilsiz kabartılar halindedir. Ovaryumun tüm yüzeyi sıkı dizilimli, çok sayıda, irili ufaklı, konveks şekilde papiller ile kaplıdır (Şekil 7d). Papillerin üzerinde açık renkte küçük yoğun ikincil papil kabarcıklar yer alır.



Şekil 7. SEM görüntüleri (a) gövde tüyleri (b) yaprak tüyleri (c) korolla yüzeyi (d) ovaryum yüzeyi

Tablo 2. Vejetatif ve generatif organların tüy özellikleri ve yoğunlukları

	Özellikler	Konum	Yoğunluk
Gövde	101 µm-174 µm Hisplit Tek hücreli	Üst	±
		Alt	++
Yaprak	50.3 µm-265 µm Hisplit Tek hücreli	Üst yüz	+
		Alt yüz	+
Korolla	Tüysüz	Tüp	-
		Lob	-
Ovaryum	Yuvarlak ve konveks, Papillalı		++

(-) yok, (±) seyrek, (+) yoğun, (++) çok yoğun

Metcalf ve Chalk'ın [26] *Asperula* ve bazı cinslerde rapor ettiği tek hücreli uzun tüyler ve uç kısımdaki kıvrımlı yapı bizim sonuçlarımızla uyumludur. Şahin vd.'nin yaptıkları bir çalışmada *A. cankiriense*'de en üst yapraklar seyrek kısa setalı veya tüysüz olarak rapor edilirken [8], *A. anatolica* yaprak üst ve alt yüzeylerinde tüysüz, kenarlarda ve ana yüzeyde sadece seyrek olarak kısa setalı tüylerin olduğu bildirilmiştir [16].

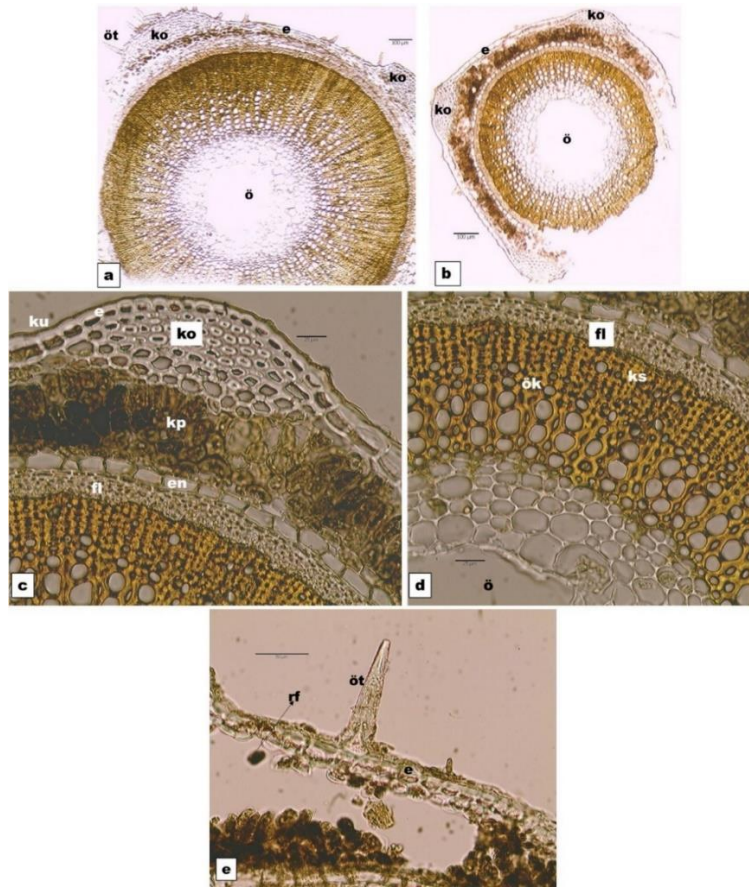
## Anatomik Sonuç ve Tartışma

### Gövde

Gövde enine kesitlerde alt gövdeler dört köşeli-yuvarlak; üst gövdeler belirgin dörtgendir (Şekil 8a,b). Dış kısımda dikdörtgen ya da kare şekilli, tek sıra, üst ve alt çeperleri daha kalın olan epiderma



hücreleri bulunur. Epidermanın üzeri düz kalın bir kütikula tabakası ile örtülüdür. Alt gövdelerde seyrek, basit tek hücreli örtü tüylerine rastlanmıştır (Şekil 8e). Köşelerde epidermanın altında 3-7 sıra, enine oval hücreli kollekimatik doku yer alır. Hemen altında korteksi oluşturan, 2-4 sıra, büyük, yuvarlak-oval hücrelerin meydana getirdiği parankimatik doku yer alır. Yoğun ergastik maddeler ve rafit kristali içeren (Şekil 8e) parankima dokusu üst gövdelerde neredeyse korteksin tamamında koyu renkte ve halka şekliyle dikkat çekicidir. Alt gövdelerde ise ergastik maddeler içeren parankima dokusu daha azdır. Endoderma tek sıra, belirgin, büyük enine dikdörtgenimsi hücrelerden oluşur (Şekil 8c). Endoderma üst gövdelerde gövdeyi halka şeklinde çevrelerken, alt gövdelerde parankima hücreleriyle yer yer kesintiye uğramıştır. İletim demetleri gövdeyi tümüyle sarar. Floem tabakası 4-5 sıra, basık düzensiz şekilli hücrelerden oluşur Floem altında, belirsiz ya da 1-2 sıra ezilmiş hücrelerden oluşan kambiyum yer alır. Trake ve trakeidlerden oluşan ksilemde, trakeler büyük oval-yuvarlak şekilde, trakeidler ise küçük düzensiz şekillidir. Öz kolları 1 (-2) sıradır. Öz bölgesini dolduran hücreler ksilemin altında küçük, öze doğru büyük, poligonol, ince çeperli, hücreler arasında boşluklu parankimatik hücrelerden oluşur. Merkeze doğru parçalanmış parankima hücrelerinden dolayı orta kısım boştur (Şekil 8d).



**Şekil 8.** *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* enine kesitleri **a)** alt gövde genel görünüş **b)** üst gövde genel görünüş **c-d-e)** yakın görünüm ku:kütikula, e:epidermis, ko:kollenkima, kp:korteks parankiması, en:endodermis, fl:floem, ks:ksilem, ök:öz kolları, ö:öz, öt:örtü tüyü, rf:rafit kristali (Ölçek a-b=100 µm, c-d=25 µm, e=50 µm)

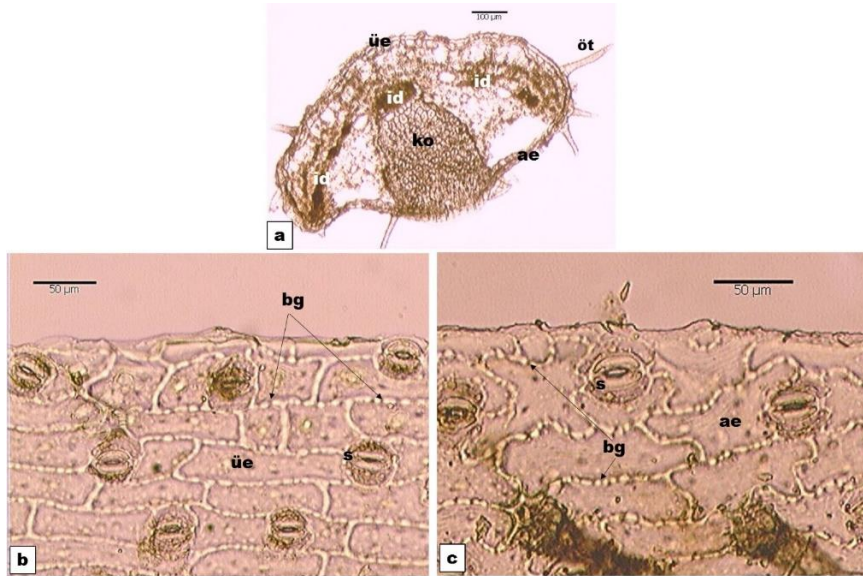
## Yaprak

Yaprak enine kesitte genel görünüm ovaldir. Geriye kıvrık olan yapraklar alt yüzeyde hafif girintilidir (Şekil 9a). Yapraktan alınan enine kesitte; alt ve üst epidermis hücreleri tek sıralı, dikdörtgenimsi olup, alt ve üst çeperle yan çeperlere göre daha kalındır. Yüzeysel kesitlerde üst-alt epiderma hücreleri uzun dikdörtgen şekilli, hemen hemen eşit uzunlukta ve çok sayıda basit geçitli; alt

epidermalar, üst epidermadan daha dalgalı çepmelidir (Şekil 9b,c). Alt ve üst epiderma üzerinde kalın, düz ya da hafif dalgalı bir kütikula tabakası ve tek hücreli, konik-uzun, basit örtü tüyleri bulunur. Epidermanın iki yüzünde yer alan stoma (amfistomatik), parasitik tiptedir (Şekil 9b). Epiderma hücreleri ile stomalar aynı seviyede (mezomorf) olup, üst yüzde stoma sayısı, alt yüze oranla daha fazladır. Alt epidermada kollenkimanın sağında ve solunda yer alan stoma altı boşlukları dikkat çekecek kadar geniştir. Yaprak monofasiyaldir. Üst epidermanın altında mezofili oluşturan 2 sıra, sıkı dizilimli, uzun, silindirik, bol kloroplast içeren palizat parankiması yan yüzlerde tek sıra halinde devam eder. Alt epidermada palizat parankimasının üzerinde 3-4 sıra boyuna silindirik ya da oval, gevşek dizilimli sünger parankiması bulunur. Mezofil tabakasında yer yer rafit kristalleri görülmektedir. Orta damarın altında dikeyde 15-19 sıra, yatayda 6-15 sıra oval-yuvarlak hücreli kollenkimatik doku yer alır. Kollenkima tabakasının üzerinde demet kını ile çevrelenmiş büyük bir iletim demeti, bu demetin sağında ve solunda ise 4-5 adet küçük iletim demetleri vardır. İletim demetlerinde ksilem üst epiderma, floem ise alt epiderma yönündedir.

Metcalf ve Chalk'a göre *Asperula* cinsinin gövdeleri kollenkimatik köşe çıkıntılarının olduğu poligonale şekle sahiptir ve mantar görülmez. Endoderma iyi gelişmiş, bununla birlikte sklerankimatik periskl bulunmaz. Ksilem dar, silindirik bir yapıdadır ve trakeal elemanlarının çapları küçüktür. Rubiaceae familyası genellikle dorsiventral yaprak yapısına sahip iken, bazı üyelerinde sentrik (*Asperula*) ya da homojen (*Borreria*) bir yapı görülebilmektedir. Bazı cinslerin türlerinde tüyler küçük kristaller içerebilmektedir. Stoma neredeyse sadece yaprak alt yüzünde bulunsa da, *Asperula* ve bazı cinslerin türlerinde üst yüzünde de yer alır ve rubiaseus (parasitik) tiptedir. Epiderma hücreleri düz ya da dalgalı çepmelidir. Familya üyelerinde kristaller genellikle yaprak ve gövdelerde yoğun olup kum kristali, rafitler, küme kristaller şeklindedir ve kristallerin tipi cinslerin ve türlerin tanımlanmasında son derece önemlidir. Rafitler ya yalnız olarak ya da küme kristallerle birlikte *Asperula* dâhil birçok cinste bulunmaktadır. *Asperula* gövdelerinde kristaller sadece rafitlerden oluşmaktadır [26]. Metcalf ve Chalk'ın Rubiaceae familyası ve *Asperula* cinsi için yapmış olduğu gövde, yaprak anatomik özellikler ve kristal tanımlamaların birçoğu çalışma sonuçlarımızla benzerdir.

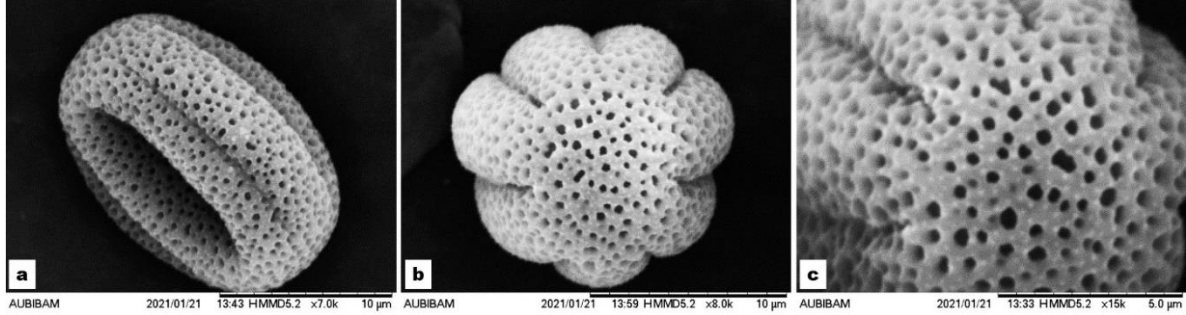
*Asperula daphneola* türünün anatomik çalışmasında gövde, ince bir tabaka periderm ve altında ince bir parankimatik hücrelerden oluşan kortekse sahip ve kortekste rafit kristalleri bulunmaktadır. İzolateral olan yaprakta orta damar altında büyük kollenkimatik doku, demet kını hücreleri ile çevrelenmiş iletim demetleri, alt ve üst epidermin altında palizat parankiması yer aldığı belirtilmektedir. Mezofilde rafit kristallerinin varlığı rapor edilmektedir [18]. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla genel olarak uyumludur.



Şekil 9. (a) Yaprak enine kesit (b) yaprak üst yüzey (c) yaprak alt yüzey öt: örtü tüyü üe: üst epidermis id: iletim demeti ko: kollenkima ae: alt epidermis s: stoma bg: basit geçit

## Palinolojik Sonuç ve Tartışma

Palinolojik çalışmaların sonucuna göre Şekil 10'daki polen tanelerinin özellikleri monad, radyal simetrlili, izopolar, hegzakolpattır (ya da heptakolpat). Ekvatorial görüntüleri eliptik (Şekil 10a), polar görüntüleri hemen hemen daire (Şekil 10b) şeklindedir. Skulptur skabrat-perforattır (Şekil 10c). Polen ölçümlerindeki maksimum ve minimum değerler ve polen şekli ise Tablo 3'de özetlenmiştir.



Şekil 10. SEM görüntüleri (a) ekvatorial görünüm (b) polar görünüm (c) yüzeysel görünüm

Tablo 3. Palinolojik özellikler ve maksimum-minimum değerler

Özellikler	Polen	
Ornamentasyon	Skabrat-Perforat	
Apertür tipi	Kolpus	
Polen şekli	Öprolat	
Apertür sayısı	6-7	
Kolpus genişlik	< 1 µm	
Kolpus boyu	Max.	Min.
	15.2 µm	11.9 µm
Polar uzunluk (P)	Max.	Min.
	21.2 µm	17.3 µm
Ekvatorial uzunluk (E)	Max.	Min.
	14.8 µm	11.4 µm
P/E değeri	Max.	Min.
	1.51 µm	1.43 µm

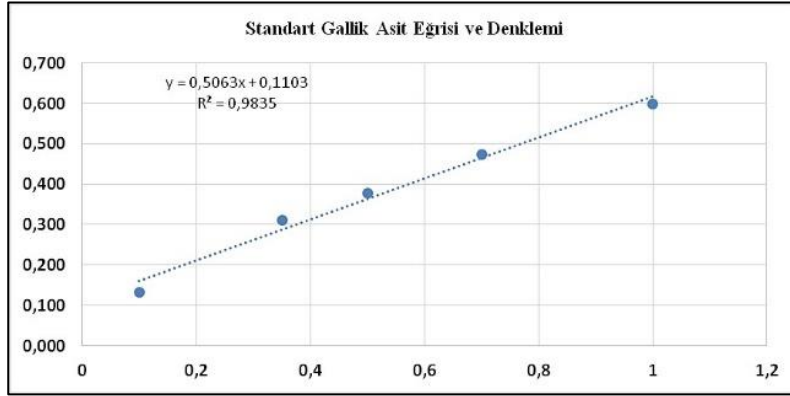
Polen çalışmaları bitki taksonomisinde son derece önemlidir ve bitkilerin tanımlanmasında kullanılabilir. *Asperula* türleri ile ilgili yapılmış bazı polen çalışmalarına rastlanılmıştır. *A. cankiriensis*'de polen şekli oblat-sferoidal ve prolat-sferoidal, polar eksen 17.03-20.53 µm, ekvatorial eksen 18.41-20.02 µm, ornamentasyonu skabrat-perforat, kolpus sayıları 6-8, kolpus boyu 12.41-15.40 µm, kolpus eni 0.95-1.38 µm arasında bulunmuştur [8]. Bu sonuçlar ile bizim sonuçlarımız kıyaslandığında kolpus sayısı ve ornamentasyon tipi uyumluluk göstermektedir. Yeni tür olarak tanımlanan *A. anatolica* türünün polen özellikleri taksonun yakın akrabası *A. comosa* Schönb.-Tem. ile karşılaştırılmıştır [16]. İki taksonun P ve E değerleri bizim sonuçlarımızdan daha fazla, P/E oranı ise daha düşük rapor edilmiştir. Ayrıca kolpus boy ve enlerinin sahip olduğu değer aralığının da daha geniş olduğu bildirilmiştir. Her iki türe ait kolpus sayısı, çalışmamız ile benzerdir. *A. daphneola* türünün polen özelliklerinde P değeri 18.47±0.78 µm, E değeri 17.37±0.67 µm, P/E değeri 1.06, kolpus uzunluğu 9.60±0.50 µm, kolpus eni 0.90±0.10 µm, kolpus sayısı 6, ornamentasyonu ise granulat tespit edilmiştir [18]. Bulgular göz önüne alındığında, kolpat sayısı ve kolpus genişliği çalışmamız ile benzer olup, polen şeklinin prolat-sferoidal olması sonuçlarımız ile farklılık göstermektedir.

*Asperula* cinsinin *Thlipthisa* seksiyonundaki tüm taksonların palinolojik özellikleri ışık mikroskobu ve SEM ile incelenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre; 6-7-8 kolpus sayısı, 1 µm'den

küçük kolpus eni ve perforat yüzey süslemesi, polenlerimiz ile uyumlu iken; P/E oranı daha düşük, kolpus uzunluğu ise benzer aralıklarda bulunmuştur [27].

### Antioksidan Aktivite Sonuçları ve Tartışma

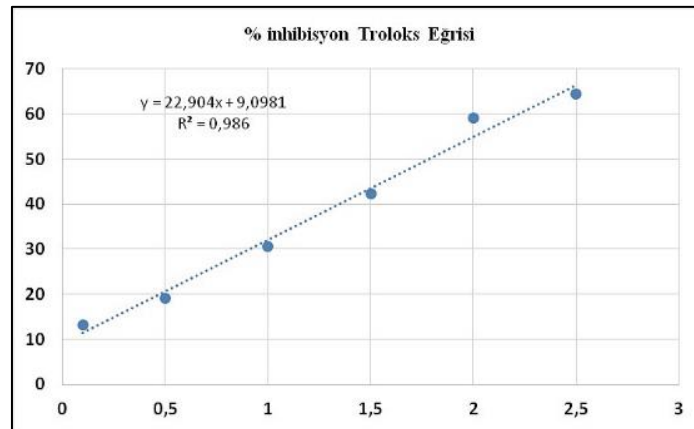
Yapılan toplam fenolik madde miktarı temel olarak renk reaksiyonuna dayanmaktadır. Oksidan molekül, antioksidandan elektron alır. Bu durum renk değişimine neden olur. Renk değişiminin derecesi, antioksidan derişimiyle orantılıdır ( $\text{Mo(VI)}$ (sarı) + e-(antioksidan)  $\rightarrow$   $\text{Mo(V)}$ (mavi)) [28]. Ekstrenin içerdiği fenolik madde miktarı, mg cinsinden standart gallik asite eşdeğer olarak hesaplanmıştır. Bu değerler standart eğri denkleminde bulunmuştur (Şekil 11). 1 g ekstredeki fenolik madde miktarı 31 mg GAE (Gallik asite eşdeğer) bulunmuştur.



Şekil 11. Hesaplama da kullanılan Gallik asit eğrisi ve denklemi

DPPH radikali süpürücü etki tayininde sonuçlar; %50 inhibisyon konsantrasyonu ( $\text{IC}_{50}$ ) şeklinde verilmiştir ve standart gallik asit ile kıyaslanmıştır. Gallik asit  $\text{IC}_{50}$  değeri  $0,0011 \pm 0,0002$  mg/ml hesaplanmıştır. *A. lilaciflora* subsp. *phrygia* ekstresi için,  $\text{IC}_{50} = 0,38 \pm 0,035$  mg/ml olarak belirlenmiştir.

ABTS radikali süpürücü metodu, antioksidan bileşikler tarafından ABTS'nin rengini kaybetmesi temeline dayanır [28]. ABTS radikali süpürücü etki tayininde, veriler ile kalibrasyon eğrisi çizilerek denklemi oluşturulmuştur (Şekil 12). Yapılan hesaplamalar sonucu ekstrelerin, Troloksa eşdeğer konsantrasyonları (mM TEAC) verilmiştir. 0,1 mg/ml derişimli ekstrede  $0,37 \pm 0,07$  mM TEAC, 10 mg/ml derişimde  $0,90 \pm 0,18$  mM TEAC hesaplanmıştır. Standart olarak kullanılan Gallik asitin 0,1 mg/ml derişiminde  $1,44 \pm 0,45$  mM TEAC; 1 mg/ml derişiminde ise  $2,63 \pm 0,07$  mM TEAC çıkmıştır. Bu durumda ekstrenin konsantrasyonları arttıkça, radikali süpürücü etkilerinin de arttığı gözlenmiştir.



Şekil 12. Hesaplama da kullanılan eğri ve denklemi

Literatüre baktığımızda, *Asperula* türleriyle yapılmış kimyasal çalışmalar çoğunlukla bileşen tespitine dayanmaktadır. Antioksidan ve biyoaktivite analizleri ise az sayıda bulunmaktadır. Bir çalışmada 5 farklı endemik *Asperula* cinsinin (*A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha* var. *antalyensis* (Ehrend.) Minareci & K.Yıldız, *A. pseudochlorantha* var. *pseudochlorantha* Ehrend., *A. purpurea* subsp. *apiculata* (Sibth. & Sm.) Ehrend. ve *A. serotina*) antioksidan aktiviteleri çalışılmıştır [13]. Çalışma sonucunda, *Asperula* taksonlarının antioksidan aktivite göstermesi, sonuçlarımız ile uyumlu bulunmuştur. Loizzo ve arkadaşları, *A. glomerata* (M.Bieb) Griseb türünün total fenolik madde miktarını tespit etmiştir [29]. Fenolik bileşen miktarı  $81.5 \pm 0.13$  (mg/g), bizim sonucumuzdan oldukça yüksek hesaplanmıştır. *A. lilaciflora* türünün toprak üstü kısımları ile çalışılmış ve yeni bir flavonol glikozit ile iridoid tespit edilmiş ve flavonol glikozitin adı "lilaciflorasit"; iridoid adının ise "asperulojenin" olduğu belirtilmiştir [17]. İridoidler dikotil familyaları için taksonomik değere sahip olup, aynı zamanda bitkilere antioksidan özellik kazandırmaktadır [30]. *A. oppositifolia* Regel & Schmalh. türünün toprak üstü kısımlarının metanol ile elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktivitesi test edilmiş ve yüksek konsantrasyonda yüksek inhibitör etki görülmüştür. Bu sonuç, bizim çalışmamız ile uyumlu olup bitkimizin de antioksidan ajanlar için yeni bir kaynak olabileceğini göstermektedir [31]. *Asperula involucrata* Wahlenb. türünün toprak üstü kısımları ile yapılan bir çalışmada üç yeni iridoid glikozitleri bulunmuştur. Kromatografi yöntemi kullanılarak, involucratosit A, B ve C adı verilen üç yeni bileşen tespit edilmiş ve molekül yapıları açıklanmıştır [32]. Farklı *Asperula* türlerinin (*A. antalyensis*, *A. brevifolia*, *A. pseudochlorantha*, *A. purpurea* subsp. *apiculata* ve *A. serotina*) metanol ve eter ekstraktlarının agar difüzyon ve sıvı dilüsyon metotlarıyla aktimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir. Testler sonucunda en aktif türler *A. brevifolia* ve *A. serotina* çıkmıştır [33].

Çalışmanın tümü ele alındığında morfolojik, anatomik, tüy ve polen sonuçlarının literatürde belirtilen özellikler ile benzeştiği; fakat bazı yönlerden ise farklılık gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca takson ile ilgili morfolojik, mikromorfolojik, anatomik, palinolojik ve antioksidan özellikler ilk kez bu çalışmayla ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir. Sonuçlarımızda *A. lilaciflora* subsp. *phrygia*'nın antioksidan aktivite göstermesi, yapılmış çalışmalar temel alındığında fenolik bileşenlerinde flavonoid ve iridoid yapıları taşıyabileceğini düşündürmüştür. Flavonoid, iridoid gibi fenolik bileşenlerinin tespiti ve antimikrobiyal aktivite testleri ileriki çalışmamızın konusu olarak öngörülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Yazarlar olarak, kimyasal analiz konusundaki yardımlarından dolayı Anadolu Üniversitesi'nden Doç. Dr. Fatih Göger'e; SEM incelemelerinde Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve bünyesinde çalışan Sayın Dr. Bio. Şennur Görgülü'ye yardımlarından dolayı teşekkür ederiz.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: K.K., A.K.; Tasarım: K.K., A.K.; Denetim: A.K.; Kaynaklar: K.K., A.K.; Malzemeler: K.K., A.K.; Veri Toplama ve/veya İşleme: K.K., A.K.; Analiz ve/veya Yorumlama: K.K., A.K.; Literatür Taraması: K.K.; Makalenin Yazılması: K.K., A.K.; Kritik İnceleme: K.K., A.K.; Diğer: -

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Özgen, U., Coşkun, M. (1999). *Asperula taurina* L. subsp. *caucasica* (Pobed.) Ehrend. (Rubiaceae) üzerinde morfolojik ve anatomik çalışmalar. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 28(2), 71-83.

2. Bremer, B., Eriksson, T. (2009). Time tree of Rubiaceae: Phylogeny and dating the family, subfamilies, and tribes. *International Journal of Plant Sciences*, 170(6), 766-793.
3. Ehrendorfer, F., Barfuss, M.H.J., Manen, J.F., Schneeweiss, G.M. (2018). Phylogeny, character evolution and spatiotemporal diversification of the species-rich and world-wide distributed tribe Rubieae (Rubiaceae). *PLOS ONE*, 13(12), 1-26. [CrossRef]
4. Kala, S.C. (2015). Medicinal attributes of family Rubiaceae. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5(2), 179-181.
5. Baytop, A. (1977). *Farmasötik Botanik*. (3.baskı), İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, p.297-299.
6. Akdeniz, S. (2019). Yüksek Lisans Tezi. Türkiye’de yayılış gösteren *Asperula L.*, *Galium L.* (Rubiaceae) cinslerine ait bazı taksonların polen morfolojileri. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitlis Eren Üniversitesi, Bitlis, Türkiye.
7. Iurchenko, N.S., Ilyina, T.V., Kovaleva, A.M., Toryanik, E.L., Kulish, I.A. (2015). The antihypoxic and sedative activity of the dry extract from *Asperula odorata L.* *Pharmacognosy Communications*, 5(4), 233-236. [CrossRef]
8. Şahin, B., Sağıroğlu, M., Başer, B. (2021). A new *Asperula L.* (Rubiaceae) species from gypsum steppes of Çankırı province in Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 45(2), 243-252. [CrossRef]
9. Bizim Bitkiler Web sitesi. <https://bizimbitkiler.org.tr/>. Erişim tarihi: 02.09.2022.
10. Davis, P.H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 7.: Edinburgh University Press, Edinburgh, p.722-767.
11. Güvenalp, Z., Demirezer, L.Ö. (2005). Flavonol glycosides from *Asperula arvensis L.* *Turkish Journal of Chemistry*, 29(2), 163-169.
12. Kalyoncu, F., Minareci, E., Minareci, O. (2009). Antimicrobial activity of five endemic *Asperula* species from Turkey. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4), 263-268. [CrossRef]
13. Minareci, E., Ergönül, B., Kayalar, H., Kalyoncu, F. (2011). Chemical compositions and antioxidant activities of five endemic *Asperula* taxa. *Archives of Biological Sciences*, 63(3), 537-543. [CrossRef]
14. Minareci, E., Yıldız, K. (2011). Karyotype characterization of Turkish taxa of the genus *Asperula L.*-section *Thlipthisa* (Rubiaceae). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 71(1), 49-54.
15. Tzakou, O., Lempesis, K., Loukis, A. (2011). Secondary metabolites from *Asperula lutea* subsp. *rigidula*. *Natural Product Communications*, 6(2), 237-238.
16. Ozturk, M. (2013). *Asperula anatolica* (Rubiaceae), a new species from south-east Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 37(1), 46-54. [CrossRef]
17. Kırmızıbekmez, H., Bardakçı, H., Masullo, M., Kamburoğlu, Ö., Eryılmaz, G., Akaydın, G., Yeşilada, E., Piacente, S. (2014). Flavonol glycosides and iridoids from *Asperula lilaciflora*. *Helvetica Chimica Acta*, 97(11), 1571-1576. [CrossRef]
18. Gücel, S. (2015). Morphology, anatomy and cytology of critically endangered endemic *Asperula daphneola* from West Anatolia, Turkey. *Journal of Environmental Biology*, 36(1), 129-132.
19. Gargiulo, R., Guacchio, E., Caputo, P. (2015). Phylogenetic reconstruction of *Asperula* sect. *Cynanchicae* (Rubiaceae) reveals a mosaic of evolutionary histories. *Taxon*, 64(4), 754-769. [CrossRef]
20. Ozgen, U., Şener, S.Ö., Badem, M., Seçinti, H., Hatipoğlu, S.D., Gören, A.C., Kazaz, C., Palaska, E. (2018). Evaluation of hplc, phytochemical, anticholinesterase and antioxidant profiles of the aerial parts of *Asperula taurina* subsp. *caucasica*. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 42(1), 1-13.
21. Nematı, M.A.H., Vatani, K., Abbasy, Z., Jahromy, M.H., Davoodi, P. (2021). Anti-depressant activity of hydroalcoholic extract of *Asperula odorata L.* in mice. *Galen Medical Journal*, 1-10. [CrossRef]
22. Başer, B., Akdeniz, S., Kurşat, M. (2020). Palynomorphological studies on some *Asperula* and *Galium* (Rubiaceae) taxa. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 689-696. [CrossRef]
23. TUBİVES Web sitesi. [http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax\\_id=8552](http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=8552) Erişim tarihi: 02.09.2022.
24. Baytop, A. (1998). *İngilizce-Türkçe Botanik Kılavuzu*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, p.359-375.
25. Walker, J.W., Doyle, J.A. (1975). The Bases of Angiosperm Phylogeny: Polynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 62, 664-723. [CrossRef]
26. Metcalfe, C.R., Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*, Vol. 2. Oxford University Press, London. pp.759-776.
27. Minareci, E. (2007). Doktora Tezi. Türkiyede yayılış gösteren *Asperula L.* (Rubiaceae) cinsi *Thlipthisa* (Griseb.) Ehrend. seksiyonunun revizyonu. Fen Bilimleri Enstitüsü, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa, Türkiye.
28. Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17, 93-103.

29. Loizzo, M.R., Saabb, A.M., Tundisa, R., Menichinia, F., Bonesia, M., Piccola, V., Statti, G.A., De Cindioc, B., Houghtond, P.J., Menichinia, F. (2008). *In vitro* inhibitory activities of plants used in Lebanon traditional medicine against angiotensin converting enzyme (ACE) and digestive enzymes related to diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(1), 109-116. [\[CrossRef\]](#)
30. Wang, C., Gong, X., Bo, A., Zhang, L., Zhang, M., Zang, E., Zhang, C., Li, M. (2020). Iridoids: research advances in their phytochemistry, biological activities, and pharmacokinetics. *Molecules*, 25(2), 287. [\[CrossRef\]](#)
31. Halimi, M., Nasrabadi, M. (2015). Essential oil composition and antioxidant activity of aerial parts of *Asperula oppositifolia* collected from Darkesh, Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(46), 1118-1122. [\[CrossRef\]](#)
32. Kırmızıbekmez, H., Tiftik, K., Kusz, N., Orban-Gyapai, O., Zomborszki, Z.P., Hohmann, J. (2017). Three new iridoid glycosides from the aerial parts of *Asperula involucrata*. *Chemistry & Biodiversity*, 14 (3), 1-7. [\[CrossRef\]](#)
33. Kalyoncu, F., Minareci, E., Minareci, O. (2009). Antimicrobial activity of five endemic *Asperula* species from Turkey. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 8(4), 263-268.