

Glycyrrhiza glabra L. Bitkisinin Türkiye'de Yetişmekte Olan Varyetelerinin Farmakognozik Karşılaştırılması*

Pharmacognostical Comparison of the Varieties of Glycyrrhiza glabra L., Growing in Turkey

Mekin TANKER**

Nazire ÖZKAL**

Glycyrrhiza glabra L. çok eski zamanlardan beri gerek halk arasında ve gerekse tıbbi tedavi alanında çok kullanılan bir bitkidir. Halen antispazmotik, antienflamatuar ve antiasit etkilerinden yararlanılarak ülser ve üst solunum yolları hastalıklarına karşı kullanılan preparatların bileşimine giren saponozit (glisirizik asit) ve flayonozitleri (likiritozit ve izolikiritozit) içeren bu drog memleketimiz ekonomisi yönünden de değerli bir ihraç maddesidir (1).

Bugüne kadar *G. glabra*'nın tesbit edilmiş 5 varyetesi bulunduğu halde, *R. Liquiritiae* ile ilgili araştırmalar sadece içerdiği etken maddelerin saptanması ve bu maddelerin farmakolojik etkileri üzerinde yapılmıştır. Ancak varyeteler arasında etkinlik yönünden bir farklılık bulunup bulunmadığı incelenmemiştir.

Dolayısıyla değerli bir drog olan *G. glabra*'nın bütün varyetelerinin aynı amaçlarla kullanılıp kullanılmayacağını ya da etkinlik yönünden hangisinin diğerlerine tercih edilmesi gerektiğini araştırmayı düşündük.

Araştırmalarımızın birinci kısmını oluşturan botanik incelemelerimizde *G. glabra* bitkisini 4 varyete altında toplamıştık (1). Çalış-

Redaksiyona verildiği tarih: 24 Mart 1978.

* Ecz. Nazire Özkal'ın aynı isimli Doktora Tezinin Kimyasal kısmının özetidir (Sınav tarihi: Haziran 1977). İlk kısım bu derginin 1977/2 sayısında yayınlanmıştır.

** Farmakognozik ve Farmasötik Botanik Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

malarımızın devamını oluşturan kimyasal incelemelerimizle de bu varyeteler arasındaki farklar farmakognozi açısından değerlendirilmiştir.

MATERYEL ve YÖNTEM

Üzerinde çalıştığımız kök ve rizomlar 1973-75-76 senelerinin mayıs ayı sonları, haziran ve temmuz aylarında Doğu, Güneydoğu, Güney Anadolu'nun çeşitli yörelerinden topladığımız *G. glabra* varyetelerinden elde edilmiştir.

Genellikle yol kenarlarındaki tarlalarda, yamaç, nehir ya da dere yataklarındaki kumluk arazide bulunan bitkilerin kök ve rizomları, 0.5-1 m kadar kazılarak toprak altından çıkarılmıştır.

Kimyasal incelemeler için kullanılan ve 4 grup altında toplayabildiğimiz örnekler 12 ayrı yerden toplanmıştır.

- A- *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* form. (a).
 1- Varto (Muş): 1700 m
 2- Alpaslan D.Ü.Ç. civarı (Muş): 1500 m
 3- Aksu (Antalya): 15 m
- B- *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* form. (b)
 1- Diyarbakır, Dicle nehri civarı: 660 m
 2- Akziyaret (Urfa): 560 m
 3- Belen yaylası (Hatay): 600 m.
- C- *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra*
 1- Bulank yol ayırımı (Muş): 1700 m
 2- Tatvan-Güroymak arası: 1500 m
 3- Muş ovası: 1500 m
 4- Tercan (Erzincan): 1390 m.
- D- *Glycyrrhiza glabra* var. *violacea*
 1- Aligör-Suruç yol ayırımı (Urfa): 560 m
 2- Maraş-Göksun yol kenarları: 700 m

Kimyasal incelemeler için ayrılan kök ve rizomlar, toprak üstü kısımlarından kurtarılarak gölgede, 3-4 ay kurutulmuş ve öğütücüde toz edilmiştir.

Araştırmalara Farmakopelerin önerdiği genel miktar tayinleri ile başlanmıştır.

Materyelimizin saponozit içerdiği renk reaksiyonları ile saptandığından köpürme indeksi tayin edilerek, hemoliz özeliği incelenmiştir.

Ayrıca saponozitin varlığı içerdiği glisirizik asitin aglikonu olan 18 β -glisiretik asitin ince tabaka kromatografisinde verdiği leke ile de saptanmıştır.

Glisirizik asitin miktarı, aglikonun yani 18 β -glisiretik asitin vanilin-H₂SO₄ ile renklendirilerek $\lambda_{\max} = 545$ nm deki ekstinksiyon değerinin ölçülmesi ile spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

Flavonozit kontrolü için kök ve rizomlar Soxhlet apareyinde bir düze organik solvanla tüketilmiştir. Elde edilen ekstratlar ince tabaka kromatografisine uygulanmıştır. Ayrıca metanollü ekstrenin pozitif siyanidin reaksiyonu vermesinden ve diğer renk reaksiyonlarından flavonozit varlığı saptanmıştır.

Flavonozitlerin miktar tayinleri ise hidrolizleriyle ayrılan flavonoidlerinin (flavanon ve kalkon) spektrofotometrede ölçülen ekstinksiyon değerlerinden yararlanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Örnek tozları üzerindeki incelemelerimiz 2 grup altında toplanabilir:

1- Farmakopelerce aranan genel miktar tayinleri

1.1. **Kuruma kaybı**; USP XVII'de belirtilen gravimetrik yöntemle göre 105°C lik etüvde kurularak saptanan değerler Tablo I'de gösterilmiştir.

1.2. **Kül miktarı**; 800°C lik fırın kullanılarak tayin edilmiş (Ph.Fr.IX) ve % miktarları hesaplanmıştır (Tab. 1).

1.3. **Asitte erimeyen kül miktarı**; total külün asit ile kaynatıldıktan sonra yakılmasıyla hesaplanmış ve Tab. 1 de verilmiştir.

1.4. **Su ile tüketilebilen madde miktarı;** toz numunenin su ile masere edilmesi sonucu (Ph.Fr.IX) hesaplanmış ve % 14-28 arasında değerler bulunmuştur (Tab. 1).

2- Etken madde tanımı ve miktar tayini

2.1. **Saponozit:**

2.1.1. **Saponozitin (Glisirizik asit=Glisirizin) tanınması.**

2.1.11. **Renk reaksiyonları:** Toz numunenin veya metanollü ekstresinin vermiş olduğu renk reaksiyonları ile saponozitin varlığı saptanmıştır.

a) Salkowski reaksiyonu ile sarı renk,

b) Liebermann-Burchard reaksiyonu ile önce kırmızı sonra sarı-kahverengi bir renk,

c) Yoğunlaştırılmış metanollü ekstrenin anisaldehit-sülfürik asit reaktifi ile önce pembe, sonra mor bir renk vermesi saponozitin tri-terpenik yapıda olduğunu gösterir.

2.1.12. **Köpürme indeksi:** Kök ve rizomların sulu ekstresi çalkalandığında da kalıcı bir köpük meydana gelir.

Köpürme indeksi, ancak % 1 lik dekoksilyondan hazırlanan gam ile saptanabilmiştir (Tab. 1).

2.1.13. **Hemoliz özeliği:** Droğun sulu çözeltisi emdirilmiş süzgeç kâğıdı eritrosit çözeltisine batırıldığında hemoliz özeliği görülmemektedir.

2.1.14. **İnce tabaka kromatografisi:** Ayrıca droğun içerdiği saponozitin aglikonu yani 18 β -glisiretik asit te ince tabaka kromatografisi ile saptanmıştır. Toz drog IN-H₂SO₄ ile 5 saat kaynatılarak hidroliz edilmiştir. Kloroformla tüketilen hidroliz ürünü "silicagel GF₂₅₄ Merck" ile kaplanmış plaklara uygulanarak kloroform: metanol (95:5) solvan sistemi ile develope edildiğinde R_f değeri (0.3) ve görünümü bakımından (anisaldehit püskürtüldüğünde mavi-mor renkli) saf madde ile eş olan bir leke görülmektedir. Bu da aglikonun 18 β -glisiretik asit olduğunu kanıtlamıştır (Ph. Fr. IX).

2.1.2. **Saponozitin (Glisirizik asit) miktar tayini:** Toz edilmiş kök ve rizom örnekleri IN-H₂SO₄ ile hidroliz edilmiştir (Ph. Fr. IX). Ancak hidrolizin tam olabilmesi için 5 saat süre ile kay-

Tablo I. *Glycyrrhiza glabra* varyetelerinin toprakaltı kısımlarının nicel özellikleri

G. glabra varyeteleri	Kuruma kaybı	Kül %	Asitte erimeyen Kül %	Su ile tüketilebi- len Madd. %	Köpürme İndeksi
var. glandulifera forma (a)	4.69-6.83	3.81-5.49	0.41-0.60	20.76-28.01	250
var. glandulifera form (b)	5.36-5.98	4.58-6.54	0.69-1.25	16.80-21.30	200
var. glabra	5.45-6.98	3.98-6.93	0.74-1.85	22.75-25.17	250
var. violacea	4.79-5.62	5.25-6.77	0.63-1.00	14.19-15.55	166.6

natmak gerekmektedir. Soğutulduktan sonra kloroform ile tüketilmiştir. Bu işlem aglikonun tamamı alınıncaya kadar birçok kereler tekrarlanmıştır. Kloroformlu fazlar birleştirilerek susuz sodyum sülfat ile kurutulup 100 ml ye tamamlanmıştır. Bu çözeltinin 1 ml. si fosfat tamponu ile tamponlanmış "silicagel 0.05-0.20 mm Merck" ve aktif kömür karışımı ile hazırlanmış çapı 1 cm, boyu 40 cm olan kolondan, yine tamponlanmış kloroform çözeltisi ile elüe edilmiştir. Toplanan 20 ml çözelti uçurulduktan sonra, önce % 80 lik H_2SO_4 ile asitlendirilip daha sonra vanilin reaktifi ile renklendirilerek UV spektrofotometresinde $\lambda_{max} = 545$ nm deki ekstinksiyon değeri ölçülmüştür.

Aynı şartlarda standart olarak kullanılan 18 β -glisiretik asitin de ekstinksiyon değeri ölçülerek şu formüle göre örneklerimizin içerdiği glisirizik asitin % miktarları hesaplanmıştır (DAB 7-DDR).

$$\% \text{ glisirizik asit} = \frac{E_1 \times 437}{E_2 \times E_w(100-a)}$$

E_1 = örnek çözeltisinin ekstinksiyon değeri

E_2 = standart çözeltisinin ekstinksiyon değeri

E_w = örnek miktarı

a = numunenin kuruma kaybı yüzdesi

Saptanan sonuçlar Tab. II de gösterilmiştir.

Değişik yörelerden toplanan örneklerdeki glisirizik asit miktarı, varyetelerle olduğu gibi yetiştikleri yerle de ilgili olarak değişme göstermektedir. Şöyle ki, glisirizik asit miktarı, 1300-1700 m yükseklikte yetişen bitkilerde daha fazladır (Varto % 11.2; Bulanık % 12.5). Ayrıca Akdeniz iklimine sahip yörelerden toplanan örnekler de etken madde miktarı yönünden yüksek yerlerde yetişenlere daha yakındır (Belen % 9.5; Aksu % 9-9.5).

2.2. Flavonozit

2.2.1. **Flavonoitlerin tanınması:** Örneklerin içerdiği flavonozitler de renk reaksiyonları ve ince tabaka kromatografisi ile tanınmıştır.

2.2.11. **Renk reaksiyonları:** Metanollü ekstrelere uygulanmıştır:

- a) Seyreltik sodyum hidroksit çözeltisi ile sarı bir renk,
- b) Deriřik antimon triklorür çözeltisiyle sarı bir çökelek,
- c) % 5 lik ferri klorür çözeltisiyle de siyahımsı-yeşil bir renk ve çökelek oluşmaktadır.

2.2.12. **Siyanidin reaksiyonu;** ile oluşan menekře renk te örneklerimizin flavanon türevi maddeler içerdiđini göstermiřtir.

2.2.13. **İnce tabaka kromatografisi:** Meyan kökü örneklerinin, Soxhlet apareyinde sırasıyla eter, etilasetat, metanol ile tüketilmesiyle elde edilen ekstreler, "kieselgel G" ile kaplanmış plaklara (2) uygulanmış ve etilasetat: metanol: su (100:17:13) solvan sistemi ile develope edilmiştir. Kalkona (izolikiritigenol) ait lekeler gün ışığında sarı, UV/366 da koyu kahverengi, $AlCl_3$ püskürtüldükten sonra UV/366 da yine sarı renkte görülür. Gün ışığında görülemeyen flavanon (likiritigenol) lekeleri ise UV/366 da mavi ve yeşil floresans gösterirler. $AlCl_3$ ile işlem den sonra bu lekeler daha da parlaklaşır.

2.2.21. **Kalkon (izolikiritigenol) miktar tayini:** Meyan kökü tozu $IN-H_2SO_4$ ile hidroliz edildikten sonra kloroformla tüketilmiştir. Kloroforma alınan aglikonun UV spektrofotometresinde $\lambda_{max} = 496$ nm deki ekstinksiyon değeri ölçülür. Tanık çözeltinin değişik dilüsyonlarının da aynı dalga boyunda ölçülen ekstinksiyon değeri ne göre çizilen kalibrasyon eğrisi yardımıyla kalkon miktarı hesaplanmıştır (Tab. II).

2.2.22. **Flavanon (likiritigenol) miktar tayini:** Yine UV spektrofotometresinde okunan ekstinksiyon değeri ne göre hesaplanmıştır. Glisiretik asit ve kalkon miktar tayinlerinde kullanılmak üzere kloroformla tüketilmiş olan hidroliz ürünü eterle ekstre edilmiş ve eter uçurulmuştur. Artık metanolde çözülmüş ve asitlendirildikten sonra Mg tozu ilâve edilmiştir (siyanidin reaksiyonu). Oluşan menekşe rengin $\lambda_{max} = 550$ nm deki ekstinksiyonu ölçülmüştür. Tanık olarak kullanılan naringetol'ün değişik konsantrasyonlarının aynı şartlarda ölçülen ekstinksiyonuna göre çizilen kalibrasyon eğrisinden de miktar tayinine geçilmiştir (Tab. II).

Tablo II. *Glycyrrhiza glabra* varyetelerindeki etkin madde miktarları

G. glabra varyeteleri	Glisirizik asit %	Kalkon %	Flavanon %
var. glandulifera form (a)	9.03-11.22	0.84-1.48	1.1-2.45
var. glandulifera form (b)	6.3-9.5	0.61-1.54	1.75-2.1
var. glabra	8.0-12.5	0.84-1.38	0.95-2.15
var. violacea	4.4-4.6	0.69-1.14	1.55-1.85

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu dört varyete üzerinde yapılan kimyasal incelemeler sonunda; glisirizik asidin *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) da % 9-11, *G. glabra* var. *glabra* da % 8-12.5 miktarında bulunuşu dikkati çekmektedir. Buna karşılık *G. glabra* var. *violacea*'nın toprak altı örneklerinde glisirizik asit miktarının % 4.5 gibi oldukça düşük miktarda olduğu saptanmaktadır. *G. glabra* var. *glandulifera* form (b) nin toprak altı numunelerinde % 6.5-9.5 değerleri ile nisbeten düşük miktarda glisirizik asit taşıdığı görülmektedir. Ancak bu varyeteye iklimin etkisinin olduğu, Akdeniz iklimi görülen yörelerden alınan örneklerde söz konusu asit miktarının (Belen'den alınan numunede) % 9.5 olarak saptanması ile kanıtlanmaktadır.

Bu bitkiden elde edilen droğun etkin maddelerinden bir bölümünün de flavonoid bileşikleri olduğu bilinmektedir. Ayrı varyetelere ait toprak altı numunelerinde flavanon (likiritigenol) yönünden yapılan kimyasal incelemeler sonuçları da varyetelere göre ayrıcalık göstermektedir. Bu grup bileşiklerin spektrofotometrik miktar tayinleri sonucunda *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) için % 1.1-2.45, *G. glabra* var. *glandulifera* form. (b) için % 1.75-2.10, *G. glabra* var. *glabra* için % 0.95-2.15 ve *G. glabra* var. *violacea* içinse % 1.55-1.85 değerleri saptanmıştır. Kalkon miktarları ise aynı sıra ile % 0.84-1.48, 0.61-1.54, 0.84-1.38 ve 0.69-1.14 değerlerindedir. Burada açıkça görüldüğü gibi flavonoid miktarının da en düşük olduğu varyete yine *G. glabra* var. *violacea*'dir.

Böylece kimyasal çalışmalar sonunda elde edilen verilere dayanılarak *G. glabra* L. bitkisinin varyetelerinden *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) ve *G. glabra* var. *glabra*'nın ve kısmen de *G. glabra* var. *glandulifera* form. (b) nin özellikle Akdeniz iklimi görülen yörelerden

toplanan toprakaltı kısımlarından, daha yüksek kalitede offisinal drog elde edilmesinin uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Ayrıca 1974 Türk Farmakopesi'nde yer almıyan fakat geniş bir kullanılma alanına ve ekonomik değere sahip olan bu droğun tekrar farmakopeye alınmasının yararlı olacağı kanısındayız. Bu nedenle T.F. si için bir de monografi önerilmiştir (3).

ÖZET

Bu çalışmada Anadolu'nun birçok bölgesinde yaygın olarak bulunan *Glycyrrhiza glabra* L. (meyan) bitkisinin 4 varyetesine ait ve değişik yörelerden toplanan örnekler kullanılmıştır.

Bu varyetelerin kurutulup, toz edilmiş toprak altı kısımlarında farmakopelerce istenen genel miktar tayinleri yapılmış ve varyeteler için şu değerler saptanmıştır. Kuruma kaybı: % 4.79-6.98, kül miktarı: % 3.81-6.93, asitte erimeyen kül miktarı: % 0.41-1.00, su ile tüketilebilen madde miktarı ise % 14.19-28.01. Köpürme indeksi ise var. *glandulifera* form (a) ve var. *glabra* için 250, var. *glandulifera* form (b) için 200 ve var. *violacea* için de 166.6 olarak bulunmuştur.

Örneklerdeki glisirizik asit miktarı, toz numuneden asit hidroliziyle ayrılan 18 β -glisiretik asitin vanilin-H₂SO₄ reaktifi ile verdiği rengin $\lambda_{max} = 545$ nm deki ekstinksiyon değerinin ölçülmesiyle spektrofotometrik olarak hesaplanmış ve şu değerler bulunmuştur: *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) da % 9.03-11.22, *G. glabra* var. *glandulifera* form. (b) de % 6.3-9.5, *G. glabra* var. *glabra*'da % 8.0-12.5, *G. glabra* var. *violacea*'da ise % 4.4-4.6.

Flavonozitlerin miktar tayinleri de, toz numunenin hidrolizinden sonra oluşan flavanon (likiritigenol) ve kalkon (izolikiritigenol) türevi aglikonların UV spektrofotometresinde ölçülen ekstinksiyon değerleri ile hesaplanmıştır.

Flavanon miktar tayininde metanollü örnek çözeltisinin siyanidin reaksiyonu ile verdiği rengin $\lambda_{max} = 550$ nm deki ekstinksiyon değeri ölçülerek varyetelere göre şu sonuçlar alınmıştır: *G. glabra* var. *glandulifera* form (a) da % 1.1-2.45, *G. glabra* var. *glandulifera* form. (b) de % 1.75-2.1, *G. glabra* var. *glabra* da % 0.95-2.15, *G. glabra* var. *violacea* da % 1.55-1.85.

Kalkon miktar tayininde ise metanollü çözeltinin $\lambda_{\max} = 496$ nm deki ekstinksiyon değeri ölçülmüş ve şu sonuçlar alınmıştır: *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) da % 0.84-1.48, *G. glabra* var. *glandulifera* form (b) de % 0.61-1.54, *G. glabra* var. *glabra*'da % 0.84-1.38, *G. glabra* var. *violacea*'da % 0.69-1.14.

SUMMARY

In this research, the varieties (four varieties) of *Glycyrrhiza glabra* L. which are widely spread all over Anatolia have been studied. The samples have been collected from the different parts of Anatolia.

The classical assays which are mentioned by the pharmacopoeias have been made on the powdered samples of the underground parts of these varieties. The amounts have been determined such as: loss on drying % 4.79-6.98, total ash % 3.81-6.93, acid insoluble ash % 0.41-1.00, water-soluble extracts % 14.19-28.01. The foaming index was found to be 250 for the var. *glandulifera* form (a) and var. *glabra*, 200 for the var. *glandulifera* form. (b) and 166.6 for the var. *violacea*.

The amount of glycyrrhizic acid has been determined spectrophotometrically by measuring the extinction values of the color which was formed after the reaction of 18 β -glycyrrhetic acid (which was obtained as a conclusion of acid hydrolyzation) with vanilin H_2SO_4 at $\lambda_{\max} = 545$ nm accounted such as: *G. glabra* var. *glandulifera* form. (a) % 9.03-11.2, *G. glabra* var. *glandulifera* form (b) % 6.3-9.5, *G. glabra* var. *glabra* % 8.0-12.5 and *G. glabra* var. *violacea* % 4.4-4.7.

The amounts of flavonoids have been also determined spectrophotometrically by measuring the extinction values of the flavanone (liquiritigenol) and the chalcone (isoliquiritigenol) derivatives which have been obtained after the acid hydrolyzation of the powdered samples.

The quantitative determination of flavanone derivatives has been made by measuring the extinction value of the color, which was formed by the cyanidine reaction, at $\lambda_{\max} = 550$ nm, and the following values have been obtained: *G. glabra* var. *glandulifera* form (a)

% 1.1-2.45, *G. glabra* var. *glandulifera* form (b) % 1.75-2.10, *G. glabra* var. *glabra* % 0.95-2.15, *G. glabra* var. *violacea* % 1.55-1.85.

The amount of chalcone has been determined by measuring the extinction value of the methanolic solution at $\lambda_{\max} = 496$ nm, such as: *G. glabra* var. *glandulifera* form (a) % 0.84-1.48, *G. glabra* var. *glandulifera* form. (b) % 0.61-1.54, *G. glabra* var. *glabra* % 0.84-1.38 and *G. glabra* var. *violacea* % 0.69-1.14.

LİTERATÜR

1. Tanker, N., Özkal, N., *J. Fac. Pharm. Ankara* 7, 2 (1977).
2. Stahl, E., *Dünnschicht-Chromatographie*, II. Auflage, Springer-Verlag, Berlin (1967).
3. Tanker, M., Özkal, N., "Glycyrrhiza glabra L. Bitkisinin Türkiye'de Yetişmekte Olan Varyetelerinin Karşılaştırılması" adlı doktora tezi (1977).