

## TÜRKİYE'DE YETİŞMEKTE OLAN *Glycyrrhiza glabra* L. VARYETELERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ

Nezire ÖZKAL (\*),

Lester A. MITSCHER (\*\*)

Steve DRAKE (\*\*)

### ÖZET :

Bu çalışmada Türkiye'de yetişen *Glycyrrhiza glabra* L. varyetelerinin antimikrobiyal etkileri incelenmiş ve bu etkiler ticarete İspanya meyana olarak bilinen *G. glabra* var. *typica* ile karşılaştırılmıştır. Üzerinde çalışılan meyana varyetelerinin hepsinin in-vitro olarak *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı aktif olduğu saptanmıştır. Bununla beraber *G. glabra* var. *typica*'da *Candida albicans*'a karşı etki görüldüğü halde Türkiye'de yetişen *G. glabra* varyetelerinde böyle bir etki bulunmamıştır.

Örneklerin metanollü ekstraktlarının HPLC analizi sonucu elde edilen pikler, standartlarla karşılaştırılarak aktif olan bileşikler de tesbit edilmiştir.

### ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THE VARIETIES OF GLYCYRRHIZA GLABRA L. GROWING IN TURKEY

### SUMMARY :

In this research the antimicrobial activities of the varieties of *G. glabra* L. growing in Turkey have been examined and also compared with the activity of *G. glabra* var. *typica* which is known in commerce as Spanish licorice. All varieties of *G. glabra* that have been examined, showed antimicrobial activity in-vitro against *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium smegmatis*.

It was also found that Turkish samples are inactive against *Candida albicans* although *G. glabra* var. *typica* has an activity against this microorganism.

The methanol extracts of the samples have separated by HPLC. And the bioactive compounds have been determined by comparison with the authentic samples.

(\*) A.U. Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, Tandoğan - ANKARA

(\*\*) Kansas University, School of Pharmacy, Medicinal Chemistry Department, Lawrence, Kansas, U.S.A.

## GİRİŞ ve AMAÇ

*Glycyrrhiza* türleri çok eski zamanlardan beri üzerinde çalışmaların yapıldığı ve halen de sürdürüldüğü bitkilendir. Ekonomik öneme de sahip olan *Glycyrrhiza glabra* L. bitkisinin kök ve rizom ekstraktları eskiden olduğu gibi günümüzde de gerek halk arasında ve gerekse tıbbi tedavi alanında değişik amaçlarla birçok hastalığa karşı kullanılmış ve kullanılmaktadır (1).

Daha önce yaptığımız çalışmalarda Anadolu'da yaygın olan *G. glabra* L. varyetelerini morfolojik ve anatomik yönden inceleyerek saptamıştık (1). Yine kimyasal incelemelerimizle bu varyeteler arasındaki farkları değerlendirmiştik (2).

Bu kez de meyan kökünün antimikrobiyal etkisi (3,4,5,6,7) üzerinde araştırmalar yapmayı ve memleketimizde yetişen varyetelerdeki etkiyi ticarete İspanya meyanı olarak isimlendirilen *G. glabra* var. *typica*'da bulunan etki (6,7) ile karşılaştırmayı amaçladık.

## MATERYEL ve YÖNTEM

Üzerinde çalıştığımız kök ve rizomlar, genellikle yol kenarlarındaki tarlalardan, yamaç, nehir ya da dere yataklarındaki kumlu araziden 0.5-1 m kadar kazılarak çıkarılmıştır.

İncelemelerde kullanılan varyetelere ait örnekler şu yörelerden toplanmıştır.

- 1- *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* form (a)  
Alpaslan D.Ü.Ç (Muş) civarından:  
1500 m.
- 2- *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera*

ra form (b)

Diyarbakır, Dicle nehri yamaçları ve tarlalar: 660 m.

- 3- *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra*
  - a) Muş Ovası : 1500 m
  - b) Tatvan-Güroymak arası: 1500 m.
- 4- *G. glabra* var. *typica*

A.B.D.'de piyasadan İspanya meyan-kökü diye satın alınan numunedir.

Topraküstü kısımları ayırdıktan sonra, gölgede kurutulup toz edilen kök ve rizomlara :

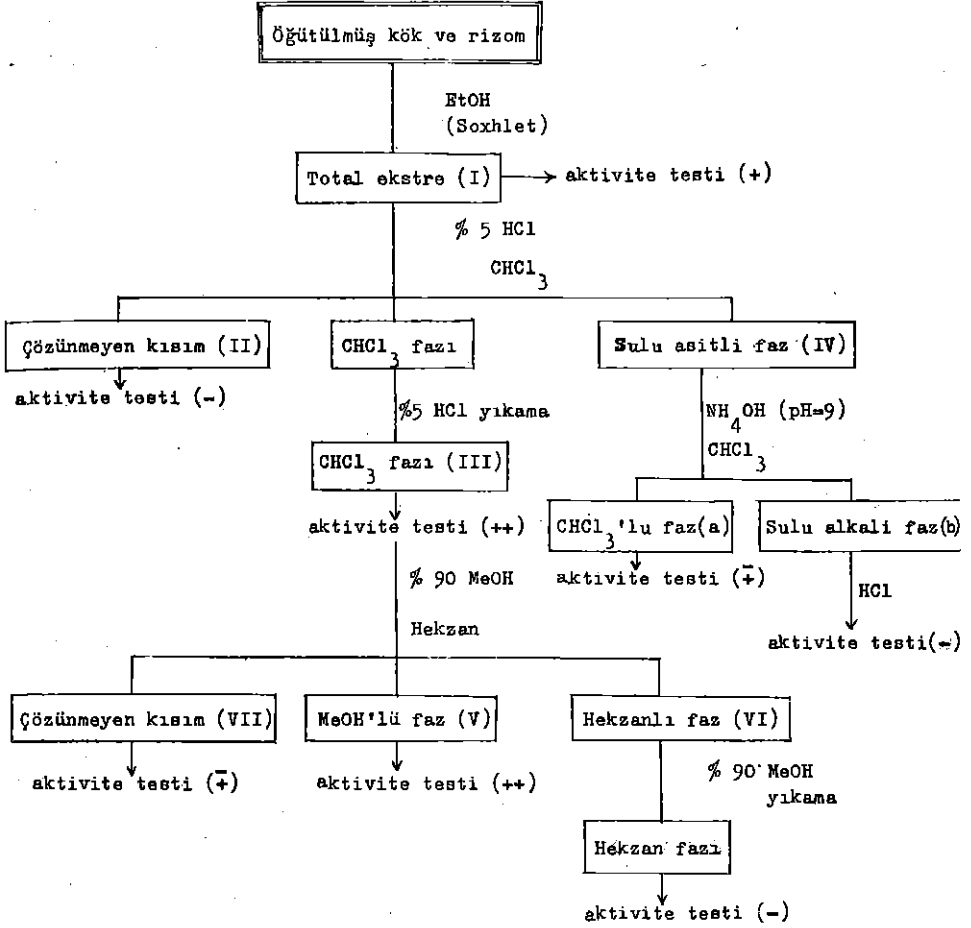
- 1- Bir seri ekstraksiyon uygulandı (Şema 1)
- 2- Değişik solvanlarla ekstraksiyon sonucu ayrılan ve yoğunlaştırılan fraksiyonların in-vitro olarak mikroorganizmalara karşı gösterdiği etkiler, agar-dilüsyon metodu ile saptandı (Tablo I).

Mikroorganizma olarak :

- a) *Staphylococcus aureus* (ATCC 13709)
- b) *Escherichia coli* (ATC 9637)
- c) *Salmonella gallinarum* (ATCC 9184)
- d) *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031)
- e) *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 607)
- f) *Candida albicans* (ATCC 10231) kullanıldı.

- 3- Mikroorganizmaların inkübasyonu için :

- a) Sıvı besi yeri olarak Trypticase Soy Broth (TSB) (BBL, cat, No.: 11768)



Şema 1. Glycyrrhiza glabra varyetlerinin kök ve rizomlarının ekstraksiyon şeması.

- b) İnkübatör olarak ta Dubnoff Shaking Incubator kullanıldı.
- 4- Katı besi ortamı olarak Trypticase Soy Agar (TSA) (BBL cat.no: 11043) kullanıldı.
- 5- En fazla aktiviteye sahip olduğu saptanan metanollü ekstrelere, Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi uygulanarak aktif olan bileşikler teşhis edildi.

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisinde Perkin-Elmer Series 2/2 anal. HPLC'den yararlanıldı.

Aktif bileşiklerin teşhisinde, Hispaglabridin A ve B, 3'-Metoksiglabridin, 4'-O-metilglabridin, Glabridin, Glabrol, Glabren, Faseolinizoflavan, Formononetin, Salisilik asit ve Aspirin standart olarak kullanıldı.

## BULGULAR

24 ve 48 saat sonunda mikroorganizmaların üremeleri kontrol edilerek numunelerin değişik fraksiyonlarının antimikrobial aktiviteye sahip olup olmadıkları saptandı. Bu fraksiyonların mikroorganizmalara karşı gösterdikleri Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)  $\mu\text{g/ml}$  olarak Tablo I de gösterildi.

Üzerinde çalıştığımız ve Türkiye'de yetişen *G. glabra* varyetelerinin in vitro olarak kullandığımız 5 mikroorganizmadan sadece ikisine (*Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*) karşı aktif olduğu görüldü. Buna karşılık, ticarete İspanya meyhanı olarak bilenen *G. glabra* var. *typica*'nın bu iki mikroorganizmadan başka *Candida albicans*'a karşı da aktivite gösterdiği bulundu (Tablo I).

En fazla aktif olduğu saptanan metanollü ekstrinin (nötral terpen-steroid fraksiyonu), HPLC analiziyle elde

edilen kromatogramlarındaki pikler (Krom. 1,2,3,4,5), standartlarla karşılaştırıldı ve büyük piklerin;

Glabren ve 3'-Metoksiglabridin'e, küçük piklerin;

Hispaglabridin A ve B, Glabrol, 4'-O-metilglabridin'e, çok küçük bir pikin de, Faseolinizoflavan'a ait olduğu teşhis edildi.

Ayrıca, büyük piklerden birinin antimikrobial etkisi bulunmayan "Formononetin" piki, 2 küçük pikin de "Salisilik asit" ve "Aspirin" pikleri olduğu standartlarla karşılaştırılarak saptandı.

*G. glabra* var. *typica* (ticari İspanya meyhanı)'nın metanollü ekstre kromatogramlarında görülen ve "Glabridin" olduğu teşhis edilen pikin Türkiye'de yetişmekte olan *G. glabra* varyetelerinin metanollü ekstre kromatogramlarında bulunmadığı anlaşıldı.

Daha önceki çalışmalarımızla *G. glabra* var. *glandulifera* form (b) olarak teşhis ettiğimiz (1) ve halen üzerinde çalışmalara devam ettiğimiz numunenin kromatogramlarında ise henüz tesbit edilemeyen iki ayrı bileşiğe ait pikler de görüldü (Krom. 2).

## DENEYSEL KISIM

### 1. Ekstraksiyon :

1.5 kg öğütülmüş numune 12 lt etanol ile bir Soxhlet apareyinde 30 saat süre ile ekstre edildi. Alkollü ekstre düşük basınçta ve 40°C de yoğunlaştırıldı (I).

Elde edilen koyu kahverenkli kalıntı, 2 lt % 5 lik HCl içine alındı ve ayırma hunisinde  $\text{CHCl}_3$  ile çalkalandı (10x3lt). Her iki fazda da erimeyen kısımlar ayrıldı (II)

Birleştirilen  $\text{CHCl}_3$ 'lu fazlar, 8 lt kalmıncaya kadar yoğunlaştırıldı. Bu  $\text{CHCl}_3$ 'lu faz % 5'lik HCl ile yıkandı (3 x 2.5 lt). Ayrılan  $\text{CHCl}_3$  fazı susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ile kurutularak yoğunlaştırıldığında, koyu kahverengi bir kalıntı elde edildi (III).

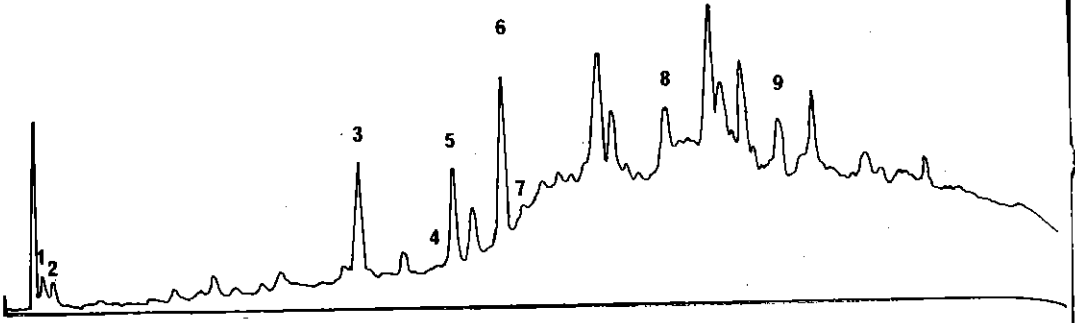
Kloroformla ekstraksiyondan sonra,

Tablo I: *G. glabra* varyetelerinden ekstraksiyonla elde edilen değişik fraksiyonların gösterdikleri antimikrobiyal aktivite.

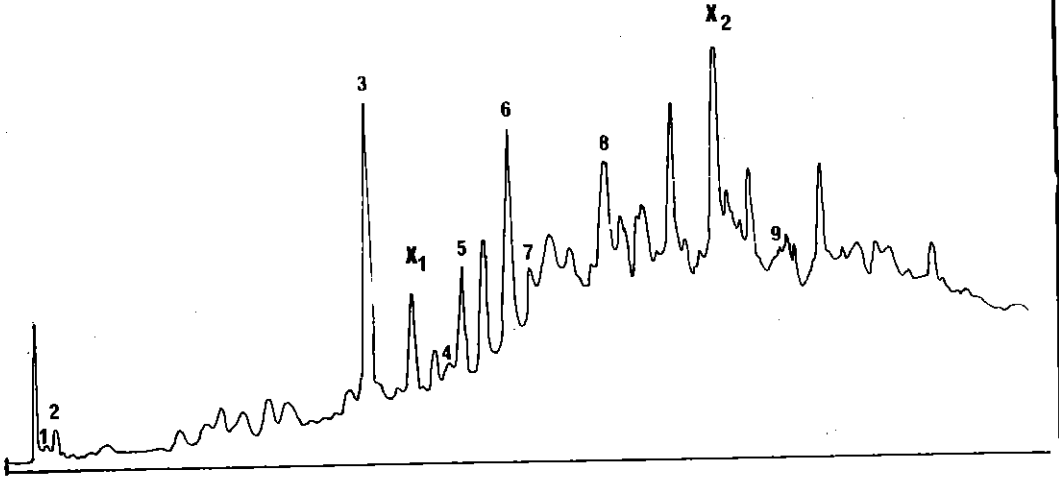
Varyeteler	EtOH ekstre (I)	Erimeyen kısım (CHCl <sub>3</sub> ekst.) (II)	Sulu Asitli faz (IV)				Erimeyen kısım (MeOH ekst.) (VII)	Mikroorganizmalar
			CHCl <sub>3</sub> fazı (III)	CHCl <sub>3</sub> fazı (a)	Sulu alkali faz (b) (V)	MeOH fazı (VI)		
<i>G. glabra</i> var. glandulifera form (a)	1000	—	1000	—	—	1000	—	<i>S. aureus</i> <i>M. smegmatis</i> <i>C. albicans</i>
<i>G. glabra</i> var. glandulifera form (b)	1000	—	<100	—	<100	1000	<100	<i>S. aureus</i> <i>M. smegmatis</i> <i>C. albicans</i>
<i>G. glabra</i> var. glabra (Muş)	1000	—	<100	—	<100	1000	—	<i>S. aureus</i> <i>M. smegmatis</i> <i>C. albicans</i>
<i>G. glabra</i> var. glabra (Tatvan)	1000	—	1000	—	<100	1000	± 1000	<i>S. aureus</i> <i>M. smegmatis</i> <i>C. albicans</i>
<i>G. glabra</i> var. tipica (Ticari İspanya meyani)	*	—	<100	—	<100	—	—	<i>S. aureus</i> <i>M. smegmatis</i> <i>C. albicans</i>

Mikroorganizmalara karşı aktivite Minimum İnhibitör Konsantrasyon ( $\mu\text{g/ml}$ ) olarak 100 ve 1000 seviyelerinde gösterilmiştir.

\* Bu varyetenin aktivitesi daha önce saptanmış olduğu için EtOH'lu ekstrede tekrar aktivite testi yapılmadı.

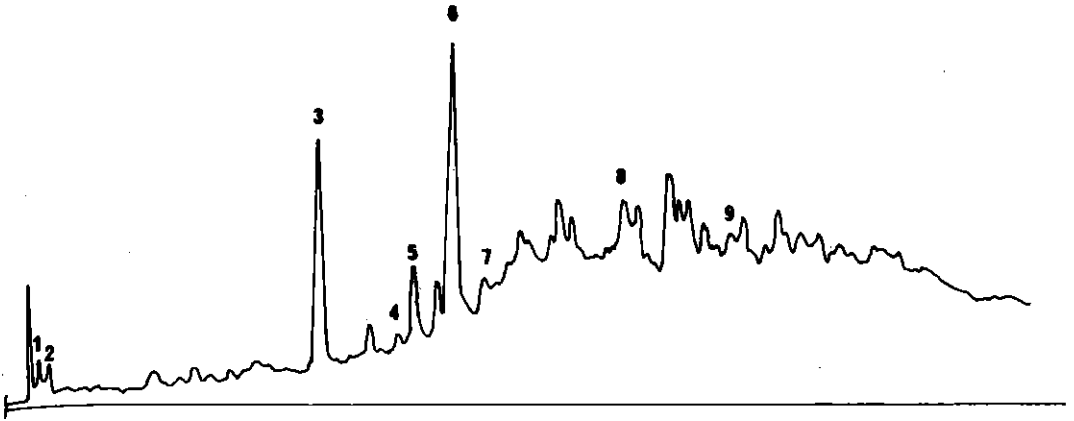


Krom. 1.: *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* form (a)  
metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.

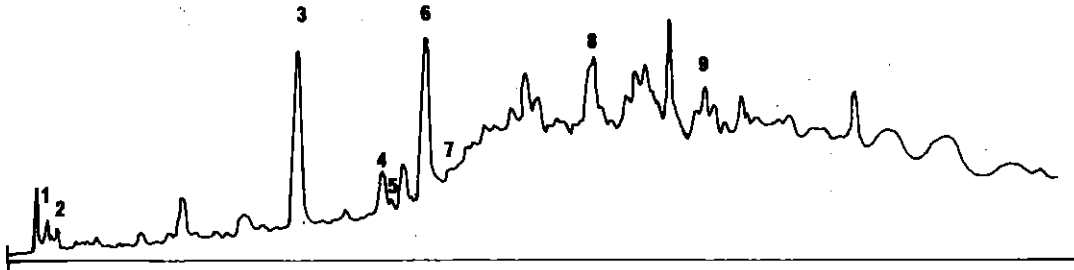


Krom. 2.: *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* form (b)  
metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.

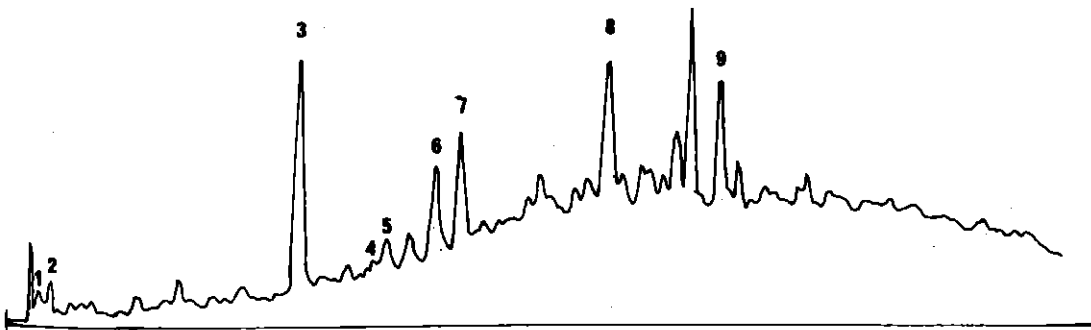
- |                       |                         |
|-----------------------|-------------------------|
| (1) Aspirin           | (6) 3'-Metoksiglabridin |
| (2) Salisilik asit    | (7) Glabridin           |
| (3) Formononetin      | (8) Hispaglabridin A    |
| (4) Faseolinizoflavan | Glabrol                 |
| (5) Glabren           | 4'-O-metilglabridin     |
|                       | (9) Hispaglabridin B    |



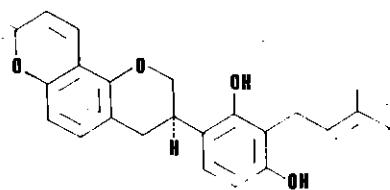
Krom. 3 : *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* (Muş) metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.



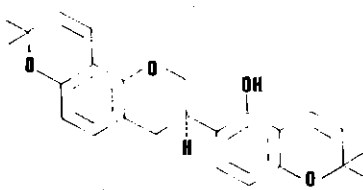
Krom. 4 : *Glycyrrhiza glabra* var. *glabra* (Tatvan) metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.



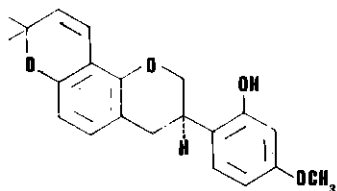
Krom. 5 : *Glycyrrhiza glabra* var. *typica* (ticari İspanya meyvanı) metanollü ekstresinin HPLC kromatogramı.



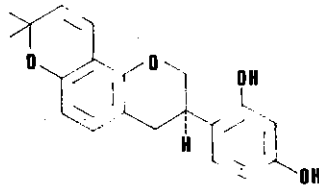
**Hispaglabridin A**



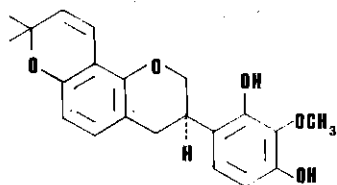
**Hispaglabridin B**



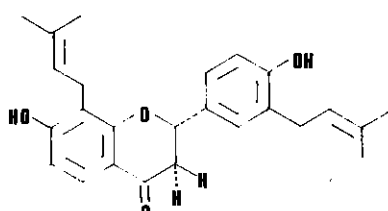
**4'-O-methylglabridin**



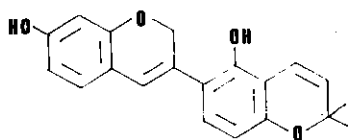
**Glabridin**



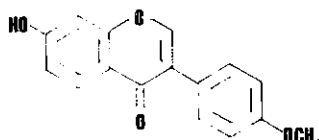
**3'-metoksiglabridin**



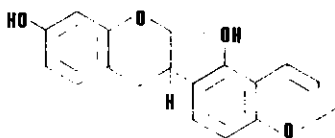
**Glabrol**



**Glabren**



**Formononetin**



**Faseolinizoflavan**



elde edilen kalıntı 750 ml % 90'lık MeOH'de eritildi ve n-hekzan ile, hekzan fazı renksiz oluncaya kadar tüketildi (7 x 1 lt). Ayrılan hekzan fazı, tekrar % 90'lık MeOH ile yıkandı (2 x 3,5lt) Birleştirilen hekzanlı ekstratlar, susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile suyundan kurtarıldı ve 40°C'nin altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılarak, yağlımsı görünümlü, sarı yeşil bir artık elde edildi (VI).

Ekstraksiyon sırasında MeOH ve hekzanda erimeyen bir kısım da ayrıldı (VII).

Ayrılan metanolü fazlar birleştirildi ve 40°C'nin altında yoğunlaştırılarak, koyu kahverengi bir kalıntı elde edildi (V).

Kloroform ekstraksiyonundan arta kalan sulu asitli faz, pH = 9 oluncaya kadar NH<sub>3</sub> ile alkalilendirildikten sonra, CHCl<sub>3</sub> ile tüketildi. Ayrılan CHCl<sub>3</sub> fazı susuz Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile kurutulup yoğunlaştırıldı (IVa). Sulu alkali faz ise, derişik HCl ile asitlendirilerek yoğunlaştırıldı (IVb).

Yukarıda anlatılan ekstraksiyon yöntemiyle, elde edilen ekstratlar (I,II,III,IVa,IVb, V,VI,VII), 100 ve 1000 µg/ml seviyesinde agar-dilüsyon metodu kullanılarak, antimikrobiale aktivite testleri uygulandı.

## 2. Antimikrobiale aktivite testinin uygulanması:

Aktivite testi için, aşağıda belirtilen işlemler, elde edilen ekstratlar ayrı ayrı uygulanmıştır.

**2.1. Numunenin hazırlanması :** Yoğunlaştırılan ekstratlar vakum desikatöründe en az 1 gece bekletilerek kurutuldu. Kurutulmuş numunedan 40 mg tam olarak tartılıp 0,4 ml dimetilsülfoksit (DMSO) içinde iyice eritildikten sonra (100 mg/ml), 1 gece 6°C de bekletildi.

**2.2. Mikroorganizmaların inkübasyonu:** Deiyonize distile su ile hazırlanan ve 121°C lik otoklavda (15 lb basınçta) 15 dk. sterilize edilen, 10 ml

% 3'lük TSB sıvı ortamında, çalkalayıcı inkübatörde, 37°C'de

*S.aureus*, *E.coli*, *S.gallinarum*, *K.pe; numoniae* ve *C. albicans* mikroorganizmaları 24 saat, *M.smegmatis* mikroorganizması da 48 saat inkübasyona bırakıldı.

**2.3 Agar besisi ortamının hazırlanması:** Deiyonize su ile hazırlanmış % 4'lük TSA çözeltisinden her petri kutusu için 10 ml kullanıldı. Bu çözelti kullanılmadan önce 121°C lik otoklavda (15 lb basınçta) 15 dk. sterilize edildi.

**2.4. Petri kutularının hazırlanması ve mikroorganizmaların ekilmesi :**

**2.4.1. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIK) 100 µg/ml seviyesindeki aktivite testi için:** DMSO içinde eritilerek hazırlanan numune çözeltisi (100 mg/ml), oda ısısında bir süre bekletildikten sonra 0.1 ml miktarında steril petri kutularına kondu. Üzerine 10ml sterilize edilmiş TSA çözeltisi ilâve edilerek bu karışımın petri kutusu içine homojen bir şekilde yayılması sağlandı. 10 ml agar çözeltisi içinde 0.1 ml numune çözeltisi 1000 µg/ml'lik bir konsantrasyon oluşturdu.

**2.4.2. Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIK) 100 µg/ml seviyesindeki aktivite testi için:** Hazırlanan numune çözeltisinden (100 mg/ml). 0.1 ml alındı ve 0.9 ml DMSO ilavesiyle çözelti 10 kez dilüe edildi (10 mg/ml). Dilüe edilen bu çözeltinin 0.1 ml si yine aynı şekilde 10 ml steril TSA çözeltisi ile beraber steril petri kutusuna homojen bir şekilde yayıldı. Burada da, 10 ml agar çözeltisi içinde 0.1 ml dilüe numune çözeltisi 100 µg/ml lik bir konsantrasyon oluşturdu.

Agar çözeltisinin katılmasından sonra, hazırlanan bu petri kutularına mikroorganizmaların TSB kültürleri, izotonik NaCl (% 0.85 NaCl) çözeltisiyle dilüe edilerek ekildi.

*S.aurens*, *E.Coli*, *S.gallinarum* ve *K.penumoniae* 1:100; *C.albicans* 1:10 oranlarında dilüe edildi ve *M.smegmatis* ise dilüe edilmeden uygulandı.

Ekilen petri kutuları, ters çevrilerek, 37°C'lik inkübatörde 24 ve 48 saat inkübasyona bırakıldı.

### 2.5 Kontrol için hazırlanan petri kutuları :

2.5.1. Negatif kontrol: Yalnız saf TSA çözeltisi taşıyan 2 adet petri kutusu kullanıldı.

2.5.2. Pozitif kontrol için: 1 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan streptomisin sülfat çözeltisinin 0.1 ml si ve 10 ml TSA çözeltisiyle hazırlanan 2 adet petri kutusundan yararlanıldı.

### 3. Kromatografik analizler:

Terpenler ile steroidleri içerdiği düşünülen ve en fazla aktivite gösteren metanol ekstresi  $CHCl_3$  'da eritilip silisik asit kolonuna uygulandı.

3.1. Kolon Kromatografisi: Kullanılan kolon, çap:yükseklik oranı 14:1 ve numune: adsorban oranı da 40:1 olacak şekilde  $CHCl_3$  içinde silisilik asitle hazırlandı.  $CHCl_3$  'la başlanan elüsyona 3.5 lt MeOH: $CHCl_3$  (0.5:100), 4 lt MeOH,  $CHCl_3$  (1:100), 3 lt MeOH :  $CHCl_3$  (2:100), 2.5 lt MeOH: $CHCl_3$  (4:100), 2 lt MeOH: $CHCl_3$  (5:100) ile devam edildi ve 2 lt MeOH: $CHCl_3$  (10:100) ile son verildi. Fraksiyonlar 200 er ml olarak toplandı ve İ.T.K'e uygulandı.

3.2. İ.T.K.: Silicagel G/UV<sub>254</sub> (Polygram, precoated 0.25 m.m.) ile kaplanmış hazır plaklar ile MeOH: $CHCl_3$  (5:95) solvan sistemi kullanıldı. Aynı lekeleri veren fraksiyonlar birleştirilerek yeni fraksiyonlar oluşturuldu.

3.3. HPLC analiz: İ.T.K. sonucu oluşturulan fraksiyonlar, bu fraksiyonların total karışımı ve eldeki standartların

çözümleri ayrı ayrı aynı şartlarda HPLC'ye uygulanarak retansiyon zamanları bulundu. Ayrıca standart çözümlerle total fraksiyon çözümleri HPLC kolonuna birlikte enjekte edilerek çakışan pikler gözlemlendi. Bunlara dayanarak ta, üzerinde çalıştığımız numunelerdeki maddeler kalitatif olarak saptandı.

HPLC şartları ise :

Kolon : ODS (excalibar) ters faz

Mobil faz: Başlangıçtan itibaren gradient sistem olarak

MeOH:H<sub>2</sub>O (% A:50 ile başlandı)

% A akış hızı : 2 ml/dk.

Total akış hızı: 2 ml/dk. dir.

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Yaptığımız araştırmalar sonucu, Türkiye'de yetişen varyetelerin [*G.glabra* var. *glandulifera* form (a), -var. *glandulifera* form (b), -var. *glabra* (Muş ve Tatvan'dan toplanan)] (1) *Staphylococcus aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı aktif olduğu ve bu aktivitenin İspanya meyanınınmkine (-var. *typica*) eşit olduğu saptanmıştır.

Bu numunelerin en fazla aktiviteye sahip olan fraksiyonu, nötral terpen-steroid fraksiyonudur (MeOH ekstre). Bu fraksiyonun HPLC analizi sonucu, -var. *typica*'da bulunan ve *Candida albicans*'a karşı etkili olduğu bildirilen (6,7) glabridin adlı bileşiğin, Türkiye'de yetişen varyetelerde bulunmadığı görülmüştür. Bu da antimikrobal aktivite testini doğrulamaktadır.

Gerek Türkiye'de yetişen varyetelere ve gerekse -var. *typica*'ya ait kromatogramlar incelendiğinde antimikrobal etkisi olmayan formononetin'e (7) ait piklerin diğer piklerden daha büyük olduğu gözlemlenmiştir.

Yine kromatogramlardaki piklerin büyüklükleri kabaca karşılaştırıldığında, 3'-metoksiglabridin ve glabren piklerinin Türkiye'de yetişen varyetelerde, hispaglabridin B pikinin ise -var. *typica*'da daha büyük olduğu görülmüştür. Aynı zamanda 3'-metoksiglabridin pikinin,

Türkiye'deki varyetelerde bulunan diğer bileşiklerin piklerinden daha büyük olduğu dikkati çekmiştir.

Daha önce tabiatta doğal olarak rastlanılmayan aspirin'in, ilk kez *G. glabra* var. *typica*'da doğal olarak bulunduğu yapılan araştırmalar sonucu belirtilmiştir (7). Biz de, gerek Türkiye'de yetişen varyetelerin ve gerekse -var. *typica*'nın metanollü ekstreleri üzerinde yaptığımız HPLC analizlerinden elde edilen hem aspirin, hem de salisilik asite ait olduğunu standartlarla karşılaştırarak saptadığımız iki küçük pike rastladık. Piklerin küçük olması, bu bileşiklerin meyan kökü ekstrelerinde az miktarda bulunduğunu düşündürmüş ise de özellikle aspirinin tabiatta doğal olarak varlığının anlaşılması bakımından önem taşımaktadır ve aynı zamanda içerdikleri aspirine bağlı olarak, bazı farmakolojik etkileri de açıklığa kavuşturulabilir kanısındayız.

Bütün bunların yanı sıra, Rusya meyanı olarak bilinen *G. glabra* var. *glandulifera*'nın antimikrobial aktivitesi olmadığı belirtildiği halde (6,7) Türkiye'de yetişen *G. glabra* var. *glandulifera* üzerinde yapmış olduğumuz araştırmalar bu varyetinin de antimikrobial etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

#### KAYNAKLAR

- 1- Tanker, N., Özkal, N., "Glycyrrhiza glabra L. Bitkisinin Türkiye'de Yetiştirmekte Olan Varyetelerinin Farmakognozik Karşılaştırılması". *Ankara Ecz. Fak. Mec.* 7 (2), 214-225 (1977).
- 2- Tanker, M., Özkal N., "Glycyrrhiza glabra L. Bitkisinin Türkiye'de

Yetiştirmekte Olan Varyetelerinin Farmakognozik Karşılaştırılması". *Ankara Ecz. Fak. Mec.*, 8 (1), 69-79 (1978).

- 3- Mano, D., "The Inhibitory Action of Some Plant Extracts on Bacterial Growth. III. The Inhibitory Action of Licorice Root Fractions on Bacterial Growth and The Increased Potential of Resistance in Bacteria., *Nippon Saikingaku Zasshi*, 17 (12), 938-40 (1962) Ref.: CA: 64 10122 f (1966).
- 4- Vichkanova, S.A., Rubinchik, M.A., "Antitrichomonas Properties of a Sodium Glycyrrhetinate Preparation from *Glycyrrhiza glabra* L.: *Vop. Izuch. Ispol'z Solodki SSSR, Akad Nauk. SSSR.* 176-9 (1966), Ref.: Ca: 68 113291 t (1968).
- 5- Vichkanova, S.A., Goryunova, L.V., "Antiviral Activity of Some Saponins", *Tr. Vses Nauch-Issled. Inst. Lek. Rast.* 14 204-12 (1971) Ref.: CA: 78: 155107 z (1973).
- 6- Mitscher, L.A., Park, Y.H., Omoto, S., Clark, G.W., Clark, D., "Antimicrobial Agents from Higher Plants, *Glycyrrhiza glabra* L. (var. Spanish). I. Some Antimicrobial Isoflavans, Isoflavenes, Flavanones and Isoflavones, *Heterocycles*, 9, 1533-1538 (1978).
- 7- Mitscher, L.A., Park, Y.H., Clark, D., Beal, J.L., "Antimicrobial Agents from Higher Plants. Antimicrobial Isoflavanoids and Related Substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. *Typica*.", *J. of Natural Products*, 43 (2), 259-269 (1980).