اندازه‌گیری گلیسیریزین در ریشه گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC)

کامکار جایمند[1] و محمد باقر رضایی[1]

چکیده

ریشه گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhizia glabra* L.) به طور عام لیکوریس نامیده می‌شود که به عنوان عامل شیرین‌کننده و بیش از دو هزار سال کاربرد دارویی داشته است. لیکوریس دارای پنج حلقه ساپونین تری‌ترپن به نام اسید گلیسیریزینیک است. این ترکیب متعلق به مشتقات بتا-آمیرین(β-amyrin) می‌باشد. شیرین‌بیان به خاطر مزه شیرین آن به عنوان عامل ضد التهاب، آلرژی و زخم شناخته شده است. تا کنون جهت ارزیابی مقدار گلیسیریزین در ریشه گیاه شیرین‌بیان و عصاره‌های حاصل از آن از روشهای مختلفی استفاده شده است، که تماماً غیر اختصاصی و متکی به روشهای غیر مستقیم می‌باشند.

در این تحقیق جهت تشخیص مقدار گلیسیریزین در نمونه‌های ریشه شیرین‌بیان، از روش (بدون هیدرولیز ماده) یعنی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) صورت گرفته است. در این روش جداسازی گلیسیریزین از دیگر اجزای موجود در عصاره ریشه گیاه با استفاده از مرحله معکوس صورت گرفت، که نتایج رضایت‌بخش و قابل تکرار می‌باشند. ریشه گیاه از مزرعه گیاهان دارویی در باغ گیاه شناسی ملی ایران، جمع‌آوری گردید. سپس اقدام به استخراج عصاره توسط حلال و شناسایی ترکیب اسید گلیسیریزینیک توسط دستگاه (HPLC) نمودیم. مقدار ترکیب در

۱- عضو هیئت علمی‌مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق‌پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵

نمونه ۱/۵ درصد تعیین گردید. این روش مشکلات در روشهای قبلی را دفع کرده است.

کلمات کلیدی

شیرین‌بیان، لیکوریس، گلیسیریزین، بتا-آمیرین و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا.

مقدمه

اندام مهم و مورد مصرف گیاه، شیرین‌بیان ریشه و یا ریزوم آن است که دارای یک ماده شیرین گلیکوزئیدی به نام گلیسیریزین (Glycyrrhizin) می‌باشد. این ترکیب به صورت نمک پتاسیم و کلسیم اسید گلیسیرتینیک (Glycyrrhetinic acid) در گیاه موجود است. که به طور عام آنرا لیکوریس (Liqurice) می‌نامند (Stecher، ۱۹٦۸). گلیکوزئید مذکور دارای آگلیکونی به نام اسید گلیسیرتینیک می‌باشد که اثرات عمده شیرین‌بیان مربوط به این ترکیب مربوط می‌شود.

نظر به اینکه مصرف گلیسیریزین در فرآورده‌های دارویی و یا غذایی سبب دفع یون پتاسیم و جذب یون سدیم و آب می‌گردد، بنابراین در اثر استفاده طولانی و یا بیش از حد این ماده عوارض مختلفی نظیر افزایش فشار خون پدیدار خواهد داشت. بنابراین تعیین مقدار این ماده در محصولات مختلف دارویی و غذایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. شیرین‌بیان را در حال حاضر به خاطر مزه شیرین آن می‌شناسند (Brieskron و Lang، ۱۹۷۸ و Gibson، ۱۹۷۸) ولی به تناسب منشاء گیاهی، مقدار ترکیب گلیسیریزین فرق می‌کنند. به‌طوری‌که گیاهی که در ناحیه کالابر سیسیل اسپانیا می‌روید طعم ملایم دارد، ولی نمونه‌های متعلق به یونان دارای طعم تلخ هستند (زرگری، ۱۳٤٥). گونه‌های مفید عبارتند از: *G. asferina*، *G. glabra* و

G. echinata که در نواحی شمالی چین، بعضی از نواحی مغرب، شمال ایران، آذربایجان، بندرگز و اراک می‌رویند (زرگری ۱۳٤۱).

معمولاً از ترکیبهای ریشه به عنوان ماده‌ای که خاصیت ضد زخم دارد استفاده گردیده است (Fantus و همکاران ۱۹۳٤ و Lutomski، ۱۹۸۳). ترکیب اسید گلیسیریزینیک یکی از معدود تولیدات طبیعی Glucurono–glucuronides است که در گیاهان آلی رخ می‌دهد و علاوه بر آنکه در داروسازی جهت مخفی ساختن طعم ناپسند بعضی از داروها نظیر سولفات کینین، صبر زرد، آکاسیا، کلرور آمونیاک و غیره بکار می‌رود، به داروهای مسهل قوی نیز که مصرف آنها معمولاً پیچش و ناراحتی روده بوجود می‌آورند اضافه می‌گردد (زرگری، ۱۳٤٥).

گلیسیریزین برای پوشاندن طعم بد املاحی که به میزان متوسط بکار می‌روند مفید است و برای پوشاندن طعم نامطبوع آلکالوییدها اثرش کمتر از داروی Eriodictyon بوده و در مورد آلکانها موثرتر می‌باشد. قدرت پوشانندگی طعم نا مطبوع و تلخ مواد به علت کلوئید بودن و خاصیت شیرین‌کنندگی گلیسیریزین می‌باشد (Gibson، ۱۹۸۷). اسید گلیسیریزیک و مشتقاتش با روشهای معمول، به املاح فلزات سنگین به استثنای سرب تبدیل می‌شود، که املاح ارسنیک، مس، جیوه خاصیت درمانی دارند (Riedel، ۱۹۱۳). عصاره آبی شیرین‌بیان نخهای پشمی‌را در حضور Mordants، رنگ‌آمیزی می‌نماید، و قابلیت رنگ‌آمیزی خوبی از خود نشان داده است (Kasumov، ۱۹۷۲).

در حال حاضر از پودر و عصاره شیرین‌بیان در تهیه فرآورده‌های دارویی (گیاهی) ساخت ایران استفاده می‌شود. به عنوان نمونه قرص د– رگلیس، شامل ریشه شیرین‌بیان، برگ نعناع فلفلی و بذر رازیانه می‌باشد و جهت درمان زخم معده، اثنی عشر، گاستریت و نفخ معده بکار می‌رود (درخشان رودسری، ۱۳۷٥).

در این تحقیق اسید گلیسیرتینیک، با پنج حلقه ساپونین تری‌ترپنوئید اسید گلیسیریزنیک، که به مشتقات بتا-آمیرین متعلق است و نیز شامل آگلیکون بتا-اسید گلیسیرتینیک و دو ملکول از دی-اسید گلوکورونیک مربوط به اتم کربن ۳ (C_3) که جزء بسیار کوچک آگلیکون می‌باشد (Beaton و Spring، ۱۹۵۵، Lythgoe و Trippett، ۱۹۵۰، arsh و Levvy، ۱۹۵٦ و Ruzicka و Marxer، ۱۹٤۰) مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

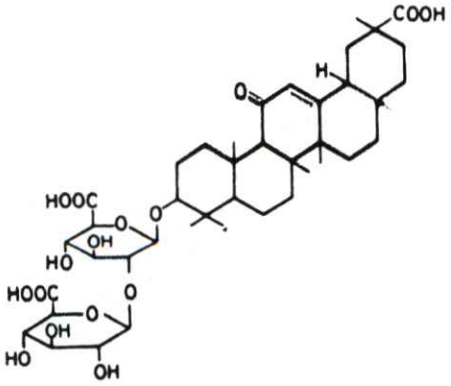
مشخصات گیاه شناسی

شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گیاهی است از دسته گیاهان گلدار، نهاندانه، دولپه‌ای، جدا گلبرگ و از تیره نخود(*Leguminoseae*) و تیره فرعی پروانه‌داران (papilionaceae). گیاهی است علفی، پایا و شامل ۱۲ گونه می‌باشد. عموماً به استثناء برخی گونه‌ها در نیمکره شمالی یافت می‌شود. گلها به رنگ آبی روشن یا مایل به بنفش و مجتمع به صورت خوشه با کاپیتول‌هایی در محور ساقه است. ساقه به طول ۵۰ سانتیمتر تا ۱ متر، که در محیط‌های مساعد تا ارتفاع ۲ متر نیز می‌رسد. میوه نیامی و شامل ۵ یا ٦ دانه (گاهی کمتر و به رنگ قهوه‌ای یا قهوه‌ای روشن) است. ریشه و یا ریزوم آن به رنگ قهوه‌ای و یا با خطوط طولی به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای که سطح مقطع آنها به رنگ زرد روشن است. در قطعات متعلق به ریزوم اثر جوانه‌های از بین رفته نیز مشاهده می‌شود. بوی این قطعات مخصوص و طعم آن شیرین است (زرگری، ۱۳٤۱). واریته‌های گیاه به طور خودرو در نقاط مختلف جنوب اروپا و آسیای شرق روییده و پرورش می‌یابد (زرگری، ۱۳٤۱).

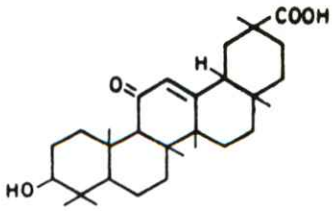
طبیعت و شیمی ترکیبهای مهم شیرین‌بیان

گلیسیریزا (Glycyrrhiza) در یونانی به معنای «ریشه شیرین»، ریزوم و گونه‌های مختلف و گلیسیریزا را همچنین، لیکوریس (Liquorice) نیز می‌نامند. بیشترین گونه‌ای که کاربرد تجارتی دارد، گونه *Glycyrrhiza glabra* L. می‌باشد که عموماً به عنوان لیکوریس اسپانیا (Spanish liquorice) معروف است، که در آنجا کشت می‌شود. گونه *Glycyrrhiza glabra* L. var. *gladulifera* از سیسیل و انگلستان به عنوان لیکوریس روسی (Russian liquorice) معروف است که به طور عمده در روسیه می‌روید، گونه *Glycyrrhiza glabra* L. var. *β - violacea* به عنوان لیکوریس پارسی (Persian liquorice) معروف است و در ایران رشد می‌کند (Fuggersberger و Franz، ۱۹۸٤).

طعم شیرین لیکوریس به خاطر ترکیب گلیسیریزین می‌باشد، که حدود ۵۰ مرتبه شیرین‌تر از شکر است. گلیسیریزین ساپونین تری ترپنوییدی است که این آگلیکون با شکر پیوند دارد. آگلیکون اسید گلیسیرتینیک متصل به دو ملکول از اسید گلوکورونیک در اتم کربن –۳ از قسمت مساوی آگلیکون است. بر روی آبکافت اتصال ساپونین گلیکوزید به آگلیکون و باقیمانده شکر تبدیل می‌شود (Grenby، ۱۹۸۹).



(a) – Glycyrrhizin
(Glycyrrhizic acid)



(b) – Glycyrrhetinic acid
(Glycyrrhetic acid)

ساختمان فرمول ترکیبهای مهم گیاه شیرین‌بیان

ترکیب اسید گلیسیریزئیک اغلب در ریشه‌های اصلی گونـه *Glycyrrhiza glabra* L. موجود می‌باشد، حال آنکه ریشه‌های جانبی دارای مقدار کمتری از این ماده هستند. البته اندامهای سبز گیاه گلیسیریزین ندارند (Fuggersberger و Franz، ١٩٨٤). معیار اختلاف در تولیدات مختلف تجارتی غلظت گلیسیزیزین می‌باشد. این اختلاف ممکن است به نوع گیاه، روشهای مختلف کشت یا تنوع در کاربرد روشهای تجزیه نسبت داده شود. می‌توان اسید گلیسیریزئیک را بوسیله چگالی سنجی و کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) در گیاه تعیین نمود (Takino و همکاران، ١٩٧٩).

مشخص گردیده است که ریشه‌های گونه لیکوریس چینی ٩/٣ درصد (استخراج نیمه خشک ٧/٠٥ درصد) اسید گلیسیریزئیک دارد. مقدار این ماده در ریشه بعضی گونه‌ها و با روشهای مختلف استخراج (کروماتوگرافی مایع- گازی GLC) میانگینی برابر ٠/٧٥ داشته است (Killacky ١٩٧٦). در بررسی دیگری ترکیب بتا-اسید گلیسیرتینیک توسط(HPLC) تعیین مقدار شده است. آماری از تولید تجاری لیکوریس (بتا- اسید گلیسیرتینیک) به صورت زیر گزارش شده است: لیکوریس اسپانیایی ٠/٨٨ درصد، لیکوریس عراقی پوست کنده ٠/٦٤ درصد و لیکوریس پارسی ٠/٥٣درصد، در میان ترکیبهای تری ترپنوییدی، ساپونین‌ها و فلاونوییدها نیز در لیکوریس موجود می‌باشند. البته چالکون، لیکویریتین (Liquiritin)، مواد تلخ و گلیسیر آمارین (Glycyramarin)، به مقدار زیادی در پوست ریشه موجود می‌باشند.

مواد و روشها

جمع‌آوری گیاه: نمونه مورد آزمایش در اواخر پاییز (آذر ١٣٧٦) از باغ ملی گیاهشناسی ایران جمع‌آوری و در محیط آزمایشگاه خشک گردیده و در زمستان ١٣٧٦

مورد تجزیه قرار گرفت. این گونه توسط گیاهشناسان هرباریوم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع مورد شناسایی قرار گرفته است.

طرز تهیه نمونه: ریشه شیرین‌بیان را توسط آسیاب خرد کرده و طبق روش زیر مواد آن استخراج شد: ۲ گرم پودر ریشه شیرین‌بیان را داخل بشر ریخته و با ۳۰ میلی لیتر آب ۹۰ تا ۹۵ درجه سانتیگراد مخلوط گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر NH_4OH (۳۷ درصد) تغلیظ شده به آن اضافه شد. مخلوط را به مدت ۳ دقیقه خوب بهم‌زدیم. محلول را به بشر منتقل کرده و pH آنرا توسط PO_4H_3 به ۷ رساندیم. آنگاه دیاستاز ۱۰ درصد را به آن اضافه کردیم. ماده حاصل را به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمودیم، بعد در دمای اتاق آنرا سرد کرده و به داخل بالون (حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری) منتقل و به وسیله متانول به حجم رساندیم. سپس این محلول با کاغذ صافی صاف شد(Hurst و همکاران۱۹۸۳).

طرز تهیه محلول استاندارد پنج میلی‌گرم از نمک آمونیوم اسید گلیسیریزئیک (مرک) داخل بالون ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و با آب دیونیزه شده به حجم رساندیم، استاندارد تهیه شده با غلظت ۰/۰۵ mg/ml بود (Takino و همکاران، ۱۹۷۹).

شرایط دستگاه کرواتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC): سیستم دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) بکار برده شده، الگوی WellChrom2000 از شرکت Knauer آلمان با پمپ الگوی Maxi star K-1000 و دتکتور UV با طیف‌نور سنج، در ۲۹۰ نانومتر تنظیم گردید. ستون مورد استفاده C_{18} Eurospher 100 به طول ۲۵ سانتیمتر در قطر ٤ میلیمتر با ستون اولیه انتگرال ۵ µm گرفته شده، فاز متحرک شامل متانول آب: اسید استیک (٦٠ :٣٤: ٦) می‌باشد. مرحله جداسازی به

مدت ۳۰ دقیقه طول کشید در این مرحله فاز متحرک به وسیله فیلترهای غشایی PTFE شرکت Sartorius صاف گردید، دمای آون دستگاه ۳۰ درجه سانتیگراد و شدت جریان حلال در ستون ۱ml/min، و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰µm می‌باشد.

نتایج

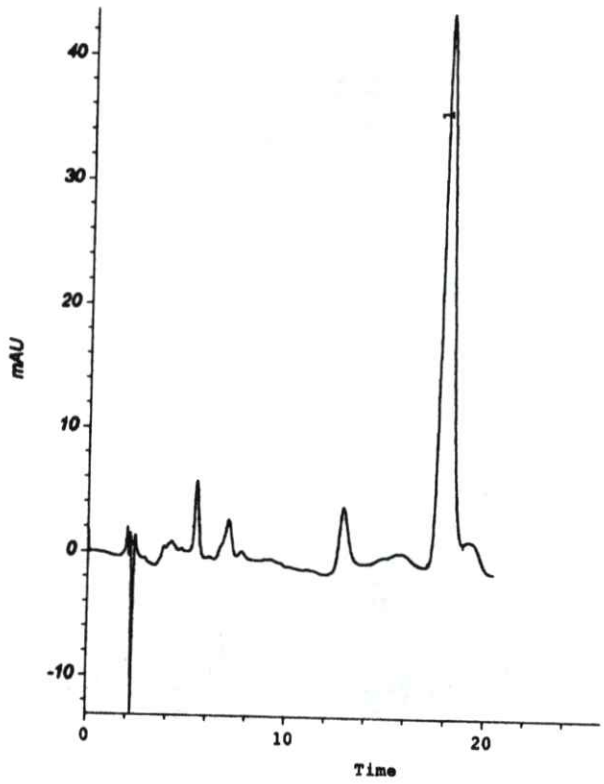
همان‌طور که در جدولهای شماره ۱ و ۲ و شکلهای شماره ۱و۲ مشاهده می‌گردد، ترکیب اسید گلیسیریزئیک، با استفاده از شرایط دستگاهی HPLC در زمان بازداری ۱۷/۹ دقیقه برای استاندارد و زمان بازداری ۱۷/٦ دقیقه برای عصاره بدست که مقدار این ترکیب در نمونه ۱/۵ درصد تعیین گردید.

جدول شماره ۱- میزان ترکیب استاندارد، اسید گلیسیریزئیک

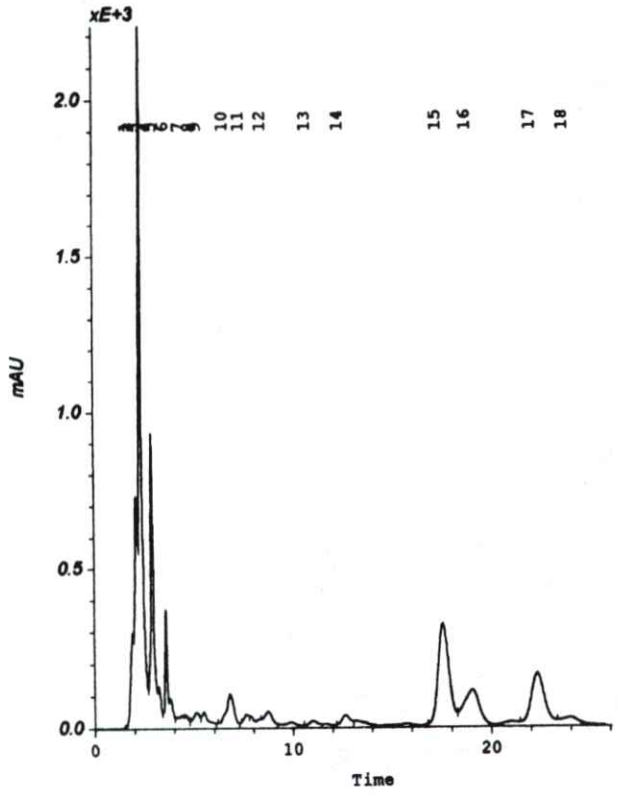
ردیف	زمان بارداری (در دقیقه)	شروع (دقیقه)	پایان (دقیقه)	ارتفاع واحد میلی‌آمپر	مساحت‌واحد میلی‌آمپر در دقیقه	درصد مساحت	پهنا در دقیقه	عامل-T	عامل زیر رادیکال
۱	۱۷/۹٤۲	۱۷/۰۷	۱۸/۸۸	٤۳/۵۷۵۸	۲۷/۵۰۹۳	۱۰۰/۰	۰/۵۹٤	۱/۰۸٤	۵۰۵٤/۵

جدول شماره ۲- میزان ترکیب اسید گلیسیریزئیک در عصاره ریشه شیرین‌بیان.

ردیف	زمان بارداری (در دقیقه)	شروع (دقیقه)	پایان (دقیقه)	ارتفاع واحد میلی‌آمپر	مساحت‌واحد میلی‌آمپر در دقیقه	درصد مساحت	پهنا در دقیقه	عامل-T	عامل زیر رادیکال
۱	۱۷/۵۸۹	۱٦/۸۱	۱۸/۳۱	۲۹۵/۱۹۸	۱۷۳/۳٤۳	۱٤/۹۷	۰/۵٦۱	۱/۰۳۹	٥٤٤٥/۹



شکل شماره ۱: کروماتوگرام ترکیب استاندارد اسید گلیسیریزئیک



شکل شماره ۲: کروماتوگرام عصاره ترکیب اسید گلیسیریزینیک در ریشه شیرین‌بیان

بحث

روشهای مختلفی جهت استخراج ترکیب اسید گلیسیریزئیک وجود دارد، امـا اغلـب این روشها اختصاصی نیستند. در روش وزنی (Gravimeteric)، زمان استخراج ترکیـب گلیسیریزین، بسیاری از مواد در عصاره رسوب می‌کنند که کروماتوگرافـی لایـه نـازک (TLC) رسوب بدست آمده را به طور وضوح نشان می‌دهد. البته در این روش علاوه بر ترکیب گلیسیریزین ترکیبهای زیاد دیگری از جمله فلاونوییدها نیز به همراه آن رسـوب می‌کنند. روشهای رنگ سنجی (Colorimetry) نیز اختصاصی نبوده و ترکیبهای زیـادی در عصاره، مانند فنلها، استروئیدها و اسانسها می‌توانند بـا وانیلیـن - اسـید سـولفوریک وارد واکنش شوند. وجود اسید گلیسیرتیک آزاد در عصاره و در نهایت استخراج تمـامی ژنین آزاد شده از عواملی هستند که می‌توانند باعث تغییر در نتـایج و غـیر قـابل تکـرار بودن روش شوند. بنابراین با در نظر گرفتن روشهای فوق روشHPLC برای شناسـایی و تعیین مقدار گلیسیریزین شرایطی آرمانی از نظر جداسازی و زمان بـازداری (R_t) را فراهم خواهد کرد.

HURST و همکـاران، ۱۹۸۳، در مقالـه‌ای تحـت عنـوان تعییـن گلیسـیریزین در تولیـدات شـیرین‌بیان بوسـیله HPLC مقـدار ایـن ترکیـب را در پولکـهای شـیرین‌بیان (فرانسوی) ۱/٦٥ میلی‌گرم در گرم و در آب نباتهای شیرین‌بیان ۱/۳۹ میلـی‌گرم در گرم گزارش نموده است. همچنیـن در کتـب پیشـرفت در شـیرین‌کننده‌ها نوشـته Grenby، ۱۹۸۹، در بخش سوم نوشته Sela در رابطه با مقدار این ترکیب در شیرین‌بیان اسپانیایی ۰/۸۸ درصـد، شـیرین‌بیان عراقـی ۰/٦٤ درصـد و در شـیرین‌بیان ایرانـی ۰/۵۳ درصـد گزارش نموده است. در صورتی که در مورد نمونه مورد آزمایش مقدار این ترکیـب ۱/۵ درصد تعیین گردیده است،که ایـن مقـدار بـا توجـه بـه شـرایط آب و هوایـی و زمـان جمع‌آوری می‌تواند تغییر کند.

منابع

درخشان رودسری، مسعود ۱۳۷۵. اطلاعات و کاربرد بالینی داروهای گیاهی، انتشارات تدبیر

زرگری، علی ۱۳٤۱. روش شناسایی گیاهان (گیاهان بی‌گلبرگ – جدا گلبرگ)، چاپ امیرکبیر ، صفحه ۳٥٦ .

زرگری، علی ۱۳٤٥. گیاهان دارویی، چاپ امیرکبیر، جلد اول، صفحه ٤۱٦.

Beaton, J.M.; Spring, F.S. 1955. Configuration of the carboxyl group in glycyrrhetic acid. J. Chem. Soc., pp. 3126-3129.

Brieskron, C.H.; Lang, J. 1978. 18 β-glycyrrhetic acids and their sweet flavour, Arch. Pharm., 311(12), pp. 1001-9.

Fantus, B.; Dyniecz, H.A. and Dyniewics, J.M., 1934. A study of vehichels for medicines. III . the glycyrrhiza vehichels. J.Am. Pharm. Assoc., 23, pp. 915-926.

Fuggersberger–Heinz, R. and Franz, G., 1984. Formation of glycyrrhizinic acid in glycyrrhiza glabra var. typica . Planta Medica, 50, pp. 409 – 413 .

Gibson, M.R., 1978. Glycyrrhiza in old and new perspectives., Lloydia, 41 (4), 348 – 354.

Grenby, T.H., 1989. N:, Progress in sweeteners: Chapter 3, Sela, M.N. and Steinberg, Glycyrrhizin : The basic facts plus medical and dental and dental benefits. Pub.: Elsevier Applied Food Science, pp. 71–96.

Hurst,W.J.; McKim, J.M. and Martin, R.A., 1983. High–Performance liquid Chromatographic determination of glycyrrhizin in licorice products. J. Agric. Food Chem., pp. 387–389.

Kasumov, M.A., 1972. Azerbadzhan dye–producing plants suitable for dyeing carpet wool. Rast Resur, 8(3), pp. 416–420.

Killacky, J.; Ross, M.S.F.; Turner, T.D., 1976. The determination of glycyrrhetinic acid in liquorice by high–pressure liquid chromatography. Plant Medica , 30, pp. 310-316.

Lutomski, J., 1983. Chemistry and therapeutic use of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). Pharm. Userer zeit., 12(2), pp.49 – 54.

Lythgoe, B.; Trippett, S., 1950. Constitution of the disaccharide of glycyrrhizinic acid. J. Chem. Soc., pp. 1983- 1990.

Marsh, C.A. and Levvy, G.A. 1956. Glucuronide metabolism in plants . III. Triterpene glucuronides. Biochem. J., 63, pp. 9 –14.

Riedel, J.D., 1913. Derivatives of glycyrrhizic acid. AKT. – GES. Ger., 287,126, No. 9.

Ruzicka, L.; Marxer, A. 1940. Conversion of hederagenin into a rearrangement product of α - boswellic acid., Helv. Chim. Acta, 23, pp. 144–152 .

Stecher, P. 1968. Glycyrrhetic acid and glycyrrhizic acid. Merck & Co. Inc. Rahway, N.J., U.S.A., pp. 505.

Takino, Y.; Koshioka, M.; Shiokawa, M.; Maruyama, S.; Higashino, M.; hayashi, T. 1979. Quantitative determination of glycyrrhizic acid in liquorice roots and extracts by TLC densitometery. Plant Medica, 36, pp. 74–78 .

Measurment of glycyrrhizin in *Glycyrrhiza glabra* L. by High Performance Liquid Chromatography

K. Jaimand[1] and M. B. Rezaee[1]

Abstract

Roots or storon of *Glycyrrhizia glabra* L. commonlly called licorice, which is used for over 2000 years, mainly as a sweetening agent and a drug. Licorice known to contain the pentacyclic triterpene saponin glycyrrhizinic acid , which belong to the β-amyrin series. Licorice is presently recognized for its sweet tast and pronounced to be effective as an anti – inflammatory, anti-allergenic and anti-ulcer agent. Most of licorice determination methods of glycyrrhizin in the roots are non-specific and relying on indirect methods. The results obtained from these methods are usually unreal and unreliable. In this research glycyrrhizin in plants was estimated directly by High Performance Liquid Chromatography without hydrolysing glycyrrhizin to its aglycone. All sample collected from Iranian National Botanical Garden, then after extraction, component identified with compare standard. Hence the existing problems that considerably change results are eliminated. In this method, glycyrrhizin was separated from other components of total extract using reverse phase HPLC and the results of determinations have been satisfactory and reproducible.

Key words

Glycyrrhizia glabra L., Licorice, glycyrrhizin, β-amyrin and High Performance Liquid Chromatography.

1- Research Institute of Forests and Rangelands, P. D. Box 13185-116, Tehran, Iran.