МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Липы цветки ФС**

**лекарственный растительный**

**препарат дозированный/недозированный**

***Tiliae flores* Вводится впервые**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на собранные во время цветения и высушенные соцветия дикорастущих и культивируемых деревьев липы сердцевидной – *Tilia cordata Mill* и липы широколистной – *Tilia platyphyllos Sсop*, сем. липовых – *Tiliaceae,* применяемые в качестве лекарственного растительного препарата.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Измельченный препарат*. Смесь цветков,цветоножек и кусочков прицветников различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При рассмотрении под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видныкусочки слегка опушенных прицветных листьев светло-желтого, зеленовато-желтого или светло-зеленого цвета; чашелистики или их части, густо опушенные (с внутренней стороны и по краю), желто-серого, зеленовато-серого, реже светло-коричневого цвета; лепестки яйцевидной формы бело-желтого цвета; тычинки, пестик или их части, опушенные, светло-желтого цвета; кусочки цветоножек и цветоносов, опушенные, светло-зеленого, зеленого или серо-зеленого цвета; отдельные цветочные бутоны и незрелые сильноопушенные плоды (орешки) светло-зеленого или серо-зеленого цвета.

Цвет измельченного сырья лепестков беловато-желтый, чашелистиков зеленовато- или желтовато-серый, светло-коричневый, прицветных листьев – светло-желтый или зеленовато-желтый, светло-зеленый.

Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения сладковатый, слегка вяжущий, с ощущением слизистости.

*Порошок.* Смесь частиц цветков, цветоножек и прицветников липы различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении порошка под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) должны быть видны: кусочки слегка опушенных прицветных листьев зеленого, светло-зеленого или зелено-желтого цвета; чашелистики или их части, густо опушенные (с внутренней стороны и по краю), желто-серого, зеленовато-серого, реже светло-коричневого цвета; лепестки яйцевидной формы бело-желтого цвета; тычинки, пестик или их части, опушенные, светло-желтого цвета; кусочки цветоножек и цветоносов, опушенные, светло-зеленого, зеленого или серо-зеленого цвета; отдельные цветочные бутоны и незрелые сильноопушенные плоды (орешки) светло-зеленого или серо-зеленого цвета.

Запах слабый, характерный. Вкус водного извлечения сладковатый, слегка вяжущий, с ощущением слизистости.

***Микроскопические признаки.*** Анализ проводят в соответствии с требованиями ОФС «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов («Цветки»)».

*Измельченный препарат.* При рассмотрении микропрепарата прицветного листа с поверхности с обеих сторон листа должны быть видны сильноизвилистые стенки клеток эпидермиса. Кутикула продольно-морщинистая с обеих сторон. Морщинистость очень сильно выраженная. Устьица только на нижней стороне, овальные, с 4 – 6 околоустьичными клетками (аномоцитный тип). Жилки сопровождаются вытянутыми клетками с утолщенными слабоизвилистыми стенками. Вдоль жилок пролегают секреторные ходы, наполненные розовым содержимым. Волоски встречаются преимущественно в средней части прицветного листа, вблизи места срастания его с цветоносом. Волоски 2 типов: головчатые – с многоклеточной овальной головкой на короткой 1*–*3-клеточной ножке и звездчатые, состоящие из 3 *–* 7 длинных извилистых клеток, сросшихся основаниями. Мезофилл очень рыхлый, типа аэренхимы, с друзами, реже с призматическими кристаллами оксалата кальция, особенно многочисленными вблизи жилок.

Клетки эпидермиса лепестка прямоугольной формы с прямыми или слабоизвилистыми стенками. Наблюдаются клетки со слизью. Кутикула с верхней стороны слабо выражено штриховатая. В мезофилле располагаются друзы оксалата кальция. Волоски такие же, как на прицветном листе, присутствуют вильчатые волоски, состоящие из 2 извилистых клеток, сросшихся основаниями. Простые волоски встречаются редко с нижней стороны лепестка и по краю лепестка. На верхушке лепестка цветка клетки эпидермиса образуют сосочковидные выросты.

Клетки эпидермиса чашелистика многоугольные с прямыми и слабоизвилистыми стенками. Кутикула продольно-морщинистая. Устьица на верхней стороне аномоцитного типа. Волоски такие же, как на прицветном листе и, кроме того, у основания чашелистиков с верхней стороны располагаются длинные прямые параллельные волоски, состоящие из 2 параллельных клеток, сросшихся основаниями. В мезофилле располагаются друзы оксалата кальция. На поперечном срезе чашелистика видны крупные полости слизистых клеток.

Пыльца округло-угловатая, гладкая, сплющенная с 3 щелевидными отверстиями.

Эпидермис цветоножки состоит из клеток прямоугольной формы с прямыми стенками без устьиц. В паренхиме содержатся друзы оксалата кальция. Проводящие пучки сопровождаются клетками-идиобластами с коричнево-оранжевым содержимым, механическими волокнами и пористыми толстостенными клетками.

Тычинки и пестик содержат друзы. Пестик опушен волосками, сидящими пучками и выходящими по 2 *–* 10 из общего основания. Волоски извилистые тонкостенные.

*Порошок.* При рассмотрении под микроскопом микропрепараты порошка представляют собой смесь различных частиц: фрагментов эпидермиса прицветного листа, состоящего из клеток с извилистыми стенками; продольно-морщинистой кутикулы; овальных устьиц аномоцитного типа (и без них); головчатых волосков, состоящих из многоклеточной овальной головки на короткой 1*–*3-клеточной ножке (и без них); звездчато-лучистых волосков, состоящих из 3 *–* 8 извилистых клеток, сросшихся основаниями (и без них); мезофилл листа очень рыхлый, типа аэренхимы, содержит друзы оксалата кальция, реже призматические кристаллы оксалата кальция, особенно многочисленные вблизи жилок; фрагментов лепестка с клетками эпидермиса прямоугольной формы с прямыми или слабоизвилистыми стенками, с вильчатыми волосками, состоящими из 2 извилистых клеток, сросшихся у основания (и без них), с просвечивающимися друзами в мезофилле; фрагментов чашелистика с многоугольными клетками эпидермиса с прямыми или извилистыми стенками, продольно-морщинистой кутикулой, с овальными устьицами аномоцитного типа (и без них), со звездчато-лучистыми волосками, состоящими из 3 *–* 8 извилистых клеток, сросшихся основаниями, с вильчатыми волосками, состоящими из 2 извилистых клеток, сросшихся у основания (и без них), с длинными прямыми параллельными волосками, состоящими из 2 параллельных клеток, сросшихся основаниями (и без них); фрагментов цветоножки с эпидермисом, представленным клетками прямоугольной формы с прямыми стенками, с просвечивающимися в паренхиме друзами оксалата кальция, со звездчато-лучистыми волосками, состоящими из 3 *–* 8 извилистых клеток, сросшихся основаниями (и без них), с головчатыми волосками, состоящими из многоклеточной овальной головки на короткой 1*–*3-клеточной ножке (и без них); фрагментов тычинок, содержащих друзы в паренхиме; фрагментов пестика, содержащих друзы в паренхиме и имеющих на поверхности извилистые тонкостенные волоски, сидящие пучками и выходящие по 2 *–* 10 из общего основания; пыльцы округло-угловатой гладкой сплющенной с 3 щелевыми отверстиями.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| P1010035_зв волосок  1  b  a  а |  | lip_21  2 |  | P1010004_ФСП из 3  3 |
|  |  |  |  |  |
| P1010010_ФСП в туши  44  b | | |  | P1010030_ФСП изм 3  64  б |
| b  b |  | a |  |
| P1010126_ФСП изм 3  5  a | | |  |

Рисунок *–* Липы цветки.

1 – звездчато-лучистый волосок (200×); 2 – головчатые волоски (200×);   
3 – фрагмент верхушки лепестка цветка: a – сосочковидные клетки эпидермиса, б – друзы оксалата кальция (200×); 4 – фрагмент лепестка с идиобластами со слизью (40×); 5 – вильчатые волоски (200×); 6 – аэренхима (200×).

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) рутина.* Около 0,005 г рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

*Раствор СО кофейной кислоты.* Около 0,002 г кофейной кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 %. Срок годности растворане более 3 мес при хранении в прохладном защищенном от света месте.

*Дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствор 1 % в спирте 96 %.* 1,0 г дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира растворяют в 100 мл спирта 96 %. Срок годности растворане более   
3 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

*Полиэтиленгликоля раствор 5 % в спирте 96 %.* 5 мл (ПЭГ) 400 смешивают со 100 мл спирта 96 %. Срок годности растворане более 6 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Аналитическую пробу препарата измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г препарата помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения содержимое колбы фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10 ×10 см наносят в одну полосу длиной 10 мм и шириной не более 3 мм последовательно   
10 мкл (0,01 мл) раствора СО рутина и 10 мкл (0,01 мл) раствора СО кофейной кислоты, в другую полосу - 10 мкл (0,01 мл) испытуемого раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 10 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой и предварительно насыщенную в течение не менее 1 ч смесью растворителей этилацетат – толуол – муравьиная кислота безводная – вода (60:14:10:8), и хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 80 - 90 % от длины пластинки, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей. Затем пластинку нагревают при 100 - 105 °С в течение 5 - 10 мин, теплую обрабатывают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 % и полиэтиленгликоля раствором 5 % в спирте 96 % и через 15 мин после обработки просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

На хроматограмме растворов СО рутина и СО кофейной кислоты должны обнаруживаться зона адсорбции желтого или оранжево-желтого цвета (рутин) и зона адсорбции голубого цвета (кофейная кислота).

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: зона адсорбции желтого или желто-оранжевого цвета на уровне зоны СО рутина, зона адсорбции желтого или желто-оранжевого цвета выше зоны СО рутина; зона адсорбции синего или фиолетово-синего цвета на уровне зоны адсорбции СО кофейной кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции.

***Качественная реакция***

К 10 мл настоя цветков липы (1:20) прибавляют 30 мл спирта 96 % и перемешивают, появляется хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии (полисахариды).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.** *Измельченный препарат, порошок -* не более 13 %. В соответствии с требованиями ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Зола общая.** *Измельченный препарат, порошок -* не более 10 %. В соответствии с требованиями ОФС «Зола общая».

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Измельченный препарат, порошок -* не более 3 %. В соответствии с требованиями ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородная».

**Измельченность.** *Измельченный препарат:* измельченных частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, *–* не более 5 %; измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, *–* не более 5 %. *Порошок:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, *–* не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, *–* не более 5 %.

В соответствии с требованиями ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Посторонние примеси**

В соответствии с требованиями ОФС «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

***Изменившие окраску части соцветия (потемневшие и почерневшие)*** *Измельченный препарат –* не более 4 %.

***Другие части липы (листья и побеги).*** *Измельченный препарат –* не более 1%.

***Органическая примесь.*** *Измельченный препарат –* не более 0,3 %.

***Минеральная примесь.*** *Измельченный препарат, порошок -* не более 0,1 %.

**Тяжелые металлы и мышьяк.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Радионуклиды.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Остаточные количества пестицидов**. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

**Зараженность вредителями запасов.** В соответствии с требованиями ОФС «Определение степени зараженности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

**Масса содержимого упаковки.** В соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Измельченный препарат, порошок - сумма восстанавливающих сахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу *–* не менее 2 %.

*Приготовление растворов.*

*Натрия гидроксида раствор 40 %*.40,0 г натрия гидроксида растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, после охлаждения доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Раствору дают отстояться и прозрачную жидкость сливают с осадка. Срок годности раствора 6 мес при хранении в стеклянном сосуде с резиновой пробкой.

*Натрия карбоната раствор 20 %.* 20,0 г натрия карбоната безводного растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Срок годности раствора 2 мес.

*Раствор СО глюкозы.* Около 0,05 г (точная навеска) СО глюкозы (в пересчете на безводную) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 250 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Срок годности раствора 10 сут.

Около 1,0 г (точная навеска) препарата, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 75 %, 0,3 г кальция карбоната и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 45 мин. Охлаждают и фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, следя за тем, чтобы частицы препарата остались в круглодонной колбе. В круглодонную колбу прибавляют   
30 мл спирта 75 % и проводят повторное экстрагирование при нагревании на кипящей водяной бане в течение 15 мин. Извлечение охлаждают и фильтруют через тот же фильтр в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, аккуратно сливают, следя за тем, чтобы частицы препарата остались в круглодонной колбе. Препарат и фильтр промывают 10 мл спирта   
75 %, доводят объем раствора спиртом 75 % до метки и перемешивают (раствор А).

В круглодонную колбу с препаратом приливают 45 мл воды и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 60 мин, горячее извлечение фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 25 мм под вакуумом. Препарат на стеклянном фильтре и круглодонную колбу промывают 5 мл воды. Извлечение количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор Б).

20,0 мл раствора Б помещают в круглодонную колбу, прибавляют 7 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и кипятят с обратным холодильником в течение 10 мин. К полученному извлечению прибавляют по каплям 6 мл натрия гидроксида раствора 40 %, если раствор щелочной, то по каплям прибавляют раствор хлористоводородной кислоты разведенной до рН 4,0 *–* 4,5. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Фильтруют извлечение через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 *–* 15 мл фильтрата (раствор В).

10,0 мл раствора В помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 0,5 мл свинца ацетата раствора 10 %, перемешивают. Через 5 мин прибавляют 1,5 мл натрия фосфата раствора 5 %, перемешивают, оставляют на 2 мин, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают, фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 5 *–* 10 мл фильтрата (раствор Г).

В 4 конические колбы вместимостью 50 мл помещают по 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, затем по 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 %. В первую колбу прибавляют 5,0 мл раствора В (испытуемый раствор), во вторую – 5,0 мл раствора Г (раствор сравнения 1), в третью –   
5,0 мл раствора СО глюкозы (раствор СО глюкозы), в четвертую – 5,0 мл воды (раствор сравнения 2). Колбы с содержимым погружают на 10 мин в кипящую водяную баню, затем охлаждают до комнатной температуры и содержимое количественно переносят в мерные колбы вместимостью 25 мл, доводят объем растворов водой до меток и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора СО глюкозы на спектрофотометре при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно растворов сравнения 1 и 2 соответственно.

Содержание суммы восстанавливающих сахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу в абсолютно сухом препарате в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где *A* – оптическаяплотность испытуемого раствора;

*А0* – оптическая плотность раствора СО глюкозы;

*a* – навеска препарата, г;

*ао* – навеска СО глюкозы в пересчете на безводную глюкозу, г;

*Р –* содержание основного вещества в СО глюкозы, %;

*W* – влажность препарата, %.

**Упаковка, маркировка и транспортирование**. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

**Хранение.** В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».