###### Липы цветки ФС.2.5.0024.19

###### *Tiliae flores* Взамен ФС.2.5.0024.15

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*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Соцветия щитковидные, состоят из 5*–*15 (у липы сердцевидной) или 2*–*9 (у липы широколистной) цветков на удлиненных цветоножках, сидящих на общем цветоносе, сросшемся в нижней части с главной жилкой прицветного листа. Цветки правильные, 1*–*1,5 см в диаметре. Чашечка из 5 продолговато-яйцевидных чашелистиков, густо опушенных по краю и с внутренней стороны. Венчик из 5 свободных яйцевидных лепестков, длиннее чашечки. Тычинки многочисленные, с 2 желтыми пыльниками на длинных нитях, сросшихся в 5 пучков. Пестик один с верхней шаровидной завязью, густо покрытой пушистыми волосками. Встречаются цветочные бутоны и незрелые плоды – шаровидные сильно опушенные орешки до 2 мм в диаметре. Прицветный лист пленчатый, с густой сетью жилок, длиной до 6 см и шириной до 1,5 см, продолговато-эллиптической формы с притупленной верхушкой, в нижней половине сросшийся по главной жилке с цветоносом. Цвет лепестков беловато-желтый, чашелистиков зеленовато- или желтовато-серый, прицветных листьев светло-желтый или зеленовато-желтый. Запах слабый, характерный.

*Измельченное сырье*. Смесь цветков, цветоножек и кусочков прицветников различной формы, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) или стереомикроскопом (16×) видны кусочки 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.

*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.

Цвет порошка серовато-зеленый, серовато-желтый или светло-коричневый с желтыми, темно-желтыми, коричневыми и темно-коричневыми вкраплениями. Запах слабый, характерный.

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье, измельченное сырье.* При рассмотрении 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 СО рутина (рутина тригидрата) растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

*Раствор стандартного образца (СО) кофейной кислоты.* Около 0,002 г СО кофейной кислоты растворяют в 10 мл спирта 96 % и перемешивают. Срок годности раствора не более 3 мес при хранении в прохладном защищенном от света месте.

Около 1 г сырья, измельченного до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта 96 % и нагревают с обратным холодильником на 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 наносят последовательно в одну полосу длиной 10 мм и шириной не более 3 мм последовательно 10 мкл раствора СО рутина и 10 мкл раствора СО кофейной кислоты, в другую полосу - 10 мкл испытуемого раствора. Пластинку с нанесенными пробами сушат при комнатной температуре в течение 10 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой и предварительно насыщенную 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 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей.

Затем пластинку выдерживают при температуре 100 - 105 °С в течение 5 - 10 мин, теплую обрабатывают последовательно дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствором 1 % в спирте 96 %, макрогола 400 раствором спиртовым 5 % и через 15 мин просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

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

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться следующие зоны: зона адсорбции с флуоресценцией желтого или желто-оранжевого цвета на уровне зоны адсорбции СО рутина; зона адсорбции с флуоресценцией синего или фиолетово-синего цвета на уровне зоны адсорбции СО кофейной кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

***Качественные реакции***

К 10 мл настоя липы цветков (1:20) прибавляют 30 мл спирта 96 % и перемешивают, должны наблюдаться образование хлопьевидных сгустков, выпадающих в осадок при стоянии (полисахариды).

ИСПЫТАНИЯ

**Влажность.**  *Цельное сырье*, *измельченное сырье*, *порошок –* не более 13,0 %.

**Зола общая.** *Цельное сырье*, *измельченное сырье, порошок –* не более 10,0 %.

**Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте.** *Цельное сырье*, *измельченное сырье, порошок –* не более 3,0 %.

**Измельченность сырья.** *Цельное сырье:* измельченных частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, *–* не более 3 %. *Измельченное сырье*: 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 %.

**Посторонние примеси**

***Соцветия с прицветниками и отдельные прицветники, поврежденные вредителями и пораженные ржавчиной.*** *Цельное сырье –* не более 2 %.

***Изменившие окраску части соцветия (потемневшие и почерневшие).*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 4 %.

***Другие части липы (листья и побеги).*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 1%.

***Соцветия, полностью отцветшие, с плодами*.** *Цельное сырье –* не более 2 %.

***Осыпь отдельных цветков или соцветий без прицветников.*** *Цельное сырье –* не более15 %.

***Органическая примесь.*** *Цельное сырье, измельченное сырье –* не более 0,3 %.

***Минеральная примесь.*** *Цельное сырье, измельченное сырье, 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».

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

**Количественное определение**. *Цельное сырье, измельченное сырье, порошок:* сумма моносахаров (в составе полисахаридов) в пересчете на глюкозу *–* не менее 2,0 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (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.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Около 10,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной, нагретой до кипения. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и кипятят при перемешивании на электрической плитке в течение 30 мин. Водное извлечение фильтруют через стеклянный фильтр Шотта с размером пор 40 - 100 мкм и диаметром 40 - 50 мм под вакуумом, избегая попадания частиц сырья на фильтр. Экстракцию повторяют еще два раза, порциями по 200 и 75 мл. Фильтр промывают 10 мл воды. Раствор охлаждают до комнатной температуры и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

25,0 мл раствора А помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 75 мл спирта 96 %, перемешивают, подогревают на водяной бане в течение 30 мин с обратным холодильником. Содержимое колбы фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16 диаметром 25 мм под вакуумом. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора спирта 96 % в воде очищенной (3:1), 10 мл смеси этилацетата и спирта 96 % (1:1) и сушат на воздухе. Осадок на стеклянном фильтре растворяют в горячей воде (порциями по 10 мл), собирая фильтрат в мерную колбу вместимостью 50 мл. Объем содержимого доводят водой до метки и перемешивают (раствор Б).

25,0 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 разведённой до рН 4,0 *–* 4,5. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешива-ют. Фильтруют извлечение через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 – 15 мл фильтрата (раствор В).

В 3 мерные колбы вместимостью 25 мл помещают по 2,5 мл пикриновой кислоты раствора 1 %, затем по 7,5 мл натрия карбоната раствора 20 %. В первую колбу прибавляют 10,0 мл раствора В (испытуемый раствор), во вторую - 5,0 мл раствора СО глюкозы (раствор СО глюкозы), в третью - 10,0 мл воды (раствор сравнения). Колбы с содержимым погружают на 10 мин в кипящую водяную баню, затем охлаждают до комнатной температуры и доводят объем растворов водой до меток и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора СО глюкозы на спектрофотометре при длине волны 460 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

Содержание суммы моносахаридов (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».