МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Липы цветки** |  | **ФС.2.5.0024** |
| **Tiliae flores**  |  | **Взамен ФС.2.5.0024.15** |

|  |
| --- |
|  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

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*.

Содержит не менее 0,4 % суммы флавоноидов в пересчёте на кверцетин в сухом сырьё.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

***Внешние признаки*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Цветки».

*Цельное сырьё*. Соцветия щитковидные, состоят из 5*–*15 (у липы сердцевидной) или 2*–*9 (у липы широколистной) цветков на удлинённых цветоножках, сидящих на общем цветоносе, сросшимся в нижней части с главной жилкой прицветного листа. Цветки правильные, 1*–*1,5 см в диаметре. Чашечка из 5 продолговато-яйцевидных чашелистиков, густо опушённых по краю и с внутренней стороны. Венчик из 5 свободных яйцевидных лепестков, длиннее чашечки. Тычинки многочисленные, с 2 жёлтыми 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 опушённые орешки до 2 мм в диаметре. Прицветный лист плёнчатый, с густой сетью жилок, длиной до 6 см и шириной до 1,5 см, продолговато-эллиптической формы с притуплённой верхушкой, в нижней половине сросшийся по главной жилке с цветоносом. Цвет лепестков беловато-жёлтый, чашелистиков зеленовато- или желтовато-серый, прицветных листьев светло-жёлтый или зеленовато-жёлтый. Запах слабый, характерный.

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

При рассмотрении измельчённого сырья под лупой (10× и др.) видны кусочки слегка опушённых прицветных листьев светло-жёлтого, зеленовато-жёлтого или светло-зелёного цвета; чашелистики или их части, густо опушённые (с внутренней стороны и по краю), жёлто-серого, зеленовато-серого, реже светло-коричневого цвета; лепестки яйцевидной формы бело-жёлтого цвета; тычинки, пестик или их части, опушённые, светло-жёлтого цвета; кусочки цветоножек и цветоносов, опушённые, светло-зелёного, зелёного или серо-зелёного цвета; отдельные цветочные бутоны и незрелые сильноопушённые плоды (орешки) светло-зелёного или серо-зелёного цвета.

Цвет лепестков беловато-жёлтый, чашелистиков зеленовато- или желтовато-серый, светло-коричневый, прицветных листьев – светло-жёлтый или зеленовато-жёлтый, светло-зелёный. 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×, 16×) видны: кусочки слегка опушённых прицветных листьев зелёного, светло-зелёного или зелёно-жёлтого цвета; чашелистики или их части, густо опушённые (с внутренней стороны и по краю), жёлто-серого, зеленовато-серого, реже светло-коричневого цвета; лепестки яйцевидной формы бело-жёлтого цвета; тычинки, пестик или их части, опушённые, светло-жёлтого цвета; кусочки цветоножек и цветоносов, опушённые, светло-зелёного, зелёного или серо-зелёного цвета; отдельные цветочные бутоны и незрелые сильноопушённые плоды (орешки) светло-зелёного или серо-зелёного цвета.

Цвет порошка серовато-зелёный, серовато-жёлтый или светло-коричневый с жёлтыми, тёмно-жёлтыми, коричневыми и тёмно-коричневыми вкраплениями. Запах слабый, характерный.

***Микроскопические признаки*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения». Раздел «Листья».

*Цельное сырьё, измельчённое сырьё*. При рассмотрении микропрепарата прицветного листа с поверхности, с обеих сторон листа 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 утолщёнными 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 звёздчато-лучистые, состоящие из 3*–*8 длинных извилистых клеток, сросшихся основаниями. Мезофилл очень рыхлый, типа аэренхимы, с друзами, реже с призматическими кристаллами кальция оксалата, 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 кальция оксалата. 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 кальция оксалата. 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 кальция оксалата. Проводящие пучки сопровождаются клетками-идиобластами с коричнево-оранжевым содержимым, механическими волокнами и пористыми толстостенными клетками.

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

*Порошок.* При рассмотрении микропрепарата должны быть видны фрагменты эпидермиса прицветного листа, состоящего из клеток с извилистыми стенками; продольно-морщинистой кутикулы; овальных устьиц аномоцитного типа; головчатых волосков, состоящих из многоклеточной овальной головки на короткой 1*–*3-клеточной ножке (и без них); звёздчато-лучистых волосков, состоящих из 3*–*8 извилистых клеток, сросшихся основаниями; мезофилл листа очень рыхлый, типа аэренхимы, содержит друзы кальция оксалата, реже призматические кристаллы кальция оксалата, особенно многочисленные вблизи жилок; фрагменты 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; фрагменты чашелистика с многоугольными клетками эпидермиса с прямыми или извилистыми стенками, продольно-морщинистой кутикулой, с овальными устьицами аномоцитного типа (и без них), со звёздчато-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); фрагменты цветоножки с эпидермисом, представленным клетками прямоугольной формы с прямыми стенками, с просвечивающимися в паренхиме друзами кальция оксалата, со звёздчато-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); фрагменты тычинок, содержащих друзы в паренхиме; фрагменты пестика, содержащего друзы в паренхиме и имеющего на поверхности извилистые тонкостенные волоски, сидящие пучками и выходящие по 2*–*10 из общего основания; пыльцы округло-угловатой гладкой сплющенной с 3 щелевыми отверстиями.



Рисунок 1 – Липы цветки

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

**Определение основных групп биологически активных веществ**

***Тонкослойная хроматография***

Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Вода––муравьиная кислота безводная––толуол––этилацетат 8:10:14:60.

*Испытуемый раствор.* В колбу со шлифом вместимостью 100 мл помещают около 1,0 г сырья, измельчённого до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм, прибавляют 10 мл спирта 96 %, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение15 мин. После охлаждения, полученное извлечение фильтруют через беззольный фильтр.

*Раствор рутина*. Растворяют 5 мг рутина в 10 мл спирта 96 %.

*Раствор кофейной кислоты*. Растворяют 2 мг кофейной кислоты в 10 мл спирта 96 %.

*Реактив для детектирования 1*. Дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира раствор 1 % в спирте 96 %.

*Реактив для детектирования 2*. Макрогола 400 раствор спиртовой 5 %. На линию старта пластинки в виде полос длиной 10 мм и шириной 2 мм наносят по 10 мкл раствора рутина, раствора кофейной кислоты, испытуемого раствора. Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе в течение 10 мин, помещают в камеру, выложенную изнутри фильтровальной бумагой, предварительно насыщенную в течение 1 ч ПФ, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры и сушат до удаления следов растворителей. Пластинку выдерживают при температуре 100–105 °С в течение 5–10 мин, еще тёплую обрабатывают последовательно реактивом для детектирования 1, затем реактивом для детектирования 2 и через 15 мин просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм.

*Результат.* На хроматограмме раствора рутина должна обнаруживаться зона адсорбции жёлтого или оранжево-жёлтого цвета.

На хроматограмме раствора кофейной кислоты должна обнаруживаться зона адсорбции голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должны обнаруживаться: две зоны адсорбции жёлтого или жёлто-оранжевого цвета – на уровне зоны адсорбции рутина и выше неё; зона адсорбции синего или фиолетово-синего цвета на уровне зоны адсорбции кофейной кислоты; допускается обнаружение других зон адсорбции (фенольные соединения).

***Качественная реакция***

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

ИСПЫТАНИЯ

***Влажность*.** Не более 13,0 % (ОФС «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения»).

***Зола общая*.** Не более 10,0 % (ОФС «Зола общая»).

***Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте*.** Не более 3,0 % (ОФС «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»).

***Измельчённость*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

*Цельное сырьё*: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, – не более 3 %.

*Измельчённое сырьё:* частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5 %; 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 %.

***Допустимые примеси*.** Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение подлинности, измельчённости и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

*Соцветия с прицветниками и отдельные прицветники, повреждённые вредителями и поражённые ржавчиной****.*** *Цельное сырьё:* не более 2 %.

*Изменившие окраску части соцветия (потемневшие и почерневшие)****.*** *Цельное сырьё, измельчённое сырьё:* не более 4 %.

*Другие части липы (листья и побеги). Цельное сырьё, измельчённое сырьё:* не более 1%.

*Соцветия, полностью отцветшие, с плодами*. *Цельное сырьё:* не более 2 %.

*Осыпь отдельных цветков или соцветий без прицветников****.*** *Цельное сырьё:* не более 15 %.

*Органическая примесь****.*** *Цельное сырьё, измельчённое сырьё:* не более 0,3 %.

*Минеральная примесь.* Не более 0,1 %.

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

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

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

***Заражённость вредителями запасов***. В соответствии с ОФС «Определение степени заражённости лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов вредителями запасов».

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят в соответствии с ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

*Исходный раствор.* Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. В коническую колбу со шлифом вместимостью 250 мл помещают 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья, прибавляют 20 мл ацетона, 2 мл хлористоводородной кислоты 25 %, 1 мл гексаметилентетрамина раствора 5 г/л. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 30 мин. Затем охлаждают и фильтруют через вату в мерную колбу вместимостью 100 мл. Вату помещают в колбу с остатками сырья, и повторяют экстракцию.

После охлаждения извлечения фильтруют через вату в ту же мерную колбу и доводят объём раствора ацетоном до метки. В делительную воронку помещают 20,0 мл полученного раствора, прибавляют 20 мл воды и встряхивают с 15 мл этилацетата. Экстракцию повторяют трижды с тем же растворителем порциями по 10 мл. Объединённые этилацетатные слои промывают два раза по 40 мл водой, фильтруют через беззольный фильтр c натрия сульфатом безводным в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора этилацетатом до метки.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл исходного раствора, прибавляют 2 мл алюминия хлорида реактива и доводят объём раствора уксусной кислотой раствором 5 % (о/о) в метаноле до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 10,0 мл исходного раствора и доводят объём раствора уксусной кислотой раствором 5 % (о/о) в метаноле до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора через 45 мин на спектрофотометре при длине волны 425 нм в кюветах с толщиной слоя 1 см относительно раствора сравнения.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на кверцетин в сухом сырье в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X= \frac{A ∙100∙50 ∙ 25 ∙100 }{714∙a ∙20 ∙10∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *а* | − | навеска сырья, г; |
|  | *714* | − | удельный показатель поглощения кверцетина при длине волны 425 нм ($А\_{1см}^{1\%}$); |
|  | *W* | − | влажность сырья, %. |

УПАКОВКА, МАРКИРОВКА И ПЕРЕВОЗКА

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

ХРАНЕНИЕ

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