

## РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа \_\_\_\_\_ 109 \_\_\_\_\_ с., \_\_\_\_\_ 14 \_\_\_\_\_ рисунков, \_\_\_\_\_ 29 \_\_\_\_\_ таблиц, \_\_\_\_\_ 41 \_\_\_\_\_ источник.

Ключевые слова: калусная культура, ткани клеток, суспензионная культура, дитерпеновые алкалоиды, Delphinium elatum.

Объектом исследования является семена Delphinium elatum

Цель работы – получить калусную и суспензионную культуру Delphinium elatum

В процессе исследования проводились подбор оптимальных условий для получения калусной и суспензионной культуры, выделение алкалоидов из калусной и суспензионной культуры методом экстракции.

В результате исследования подобрали оптимальные условия для получения калусной Delphinium elatum: механическая обработка семян, питательная среда с добавлением гормонов, дневной свет; подобрали оптимальные условия для получения суспензионной культуры Delphinium elatum: механическая обработка семян, питательная среда с добавлением гормонов, 28-30 С, дневной свет, скорость перемешивания 120 об/мин; выделили дитерпеновые алкалоиды из калусной и суспензионной культуры Delphinium elatum методом экстракции.

Степень внедрения: данная работа находится на стадии научного исследования

Выпускная квалификационная работа выполнена на кафедре ФАХ.

Руководитель: к.х.н, доцент А.П. Асташкина.

Выполнил: бакалавр группы 2Д2Г Манькова А.А

## ABSTRACT

Final qualification work 109 pages, 14 drawing, 29 tables, 41 source.

Keywords: callus culture, tissue cells, suspension culture, diterpene alkaloids, Delphinium elatum.

Object of research is Delphinium elatum seeds.

Purpose work: to production callus and suspension culture Delphinium elatum

In the process of research was conducted and the optimal conditions for callus and suspension culture, isolation of alkaloids from callus and suspension cultures extraction method.

The study to find the optimal conditions for callus Delphinium elatum: Mechanical treatment of seeds, the nutrient medium supplemented with hormones, daylight; Optimal conditions for suspension culture Delphinium elatum: Mechanical treatment of seeds, the nutrient medium supplemented with hormones, 28-30 C, daylight, stirring speed of 120 rev / min; diterpene alkaloids isolated from the callus and suspension culture Delphinium elatum extraction method.

Degree of implementation: This work is in the process of scientific investigation.

Final qualifying work carried out at the Department of Physical and Analytical Chemistry.

Adviser: Cand.Chem.Sci, docent, A. P. Astashkina.

Performed: bachelor, gr. 2Д2Г, Mankova A.A.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	16
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1. Сведения о Живокости высокой (Delphinium L.)	19
1.1.1. Живокость высокая: морфология, распространение, ресурсы	19
1.1.2. Химический состав живокости высокой (Delphinium L.)	22
1.1.3. Фармакологические свойства живокости высокой и её препаратов	23
1.1.4. Характеристика биологически активных веществ, содержащихся в Живокостях (Delphinium L.)	26
1.2. Растительные алкалоиды	27
1.2.1. Дитерпеновые алкалоиды Живокости высокой	30
1.3. Биотехнологические методы исследования	33
1.3.1. Методы культивирования семян, изолированных клеток и тканей растений	34
1.3.2. Культивирование каллусных тканей на твердых питательных средах	38
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
2.1. Объект исследования	40
2.2. Приготовление питательной среды и вспомогательных растворов	41
2.2.1. Питательная среда Мурасиге –Скуга	41
2.2.1.1. Приготовление маточного раствора макросолей	42
2.2.1.2. Приготовление маточного раствора микросолей	43
2.2.1.3. Приготовление Fe-хелат	43
2.2.1.4. Приготовление агазированной среды	43
2.2.1.5. Приготовление гормонов	43
2.2.1.6. Приготовление питательной среде МС для получения каллусной культуры	44
2.2.2. Стерилизующий раствор	44
2.2.3 Стерилизация семян	44
2.3. Методика получения каллусной культуры Живокость высокая	44
2.3.1. Выделение дитерпеновых алкалоидов из каллусной культуры	45

2.4. Методы стратификации семян Живокости высокой	45
2.5. Приготовление питательной среде МС для получения суспензионной культуры	45
2.5.1. Методика получения суспензионной культуры Живокость высокая	46
2.5.2. Выделение дитерпеновых алкалоидов из суспензионной культуры	46
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	48
ГЛАВА 4 ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ	53
4.1 Общая характеристика НИР	53
4.2 Потенциальные потребители результатов исследования	54
4.2.1 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	54
4.3 SWOT анализ	54
4.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации	57
4.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования	59
4.6 Инициация проекта	59
4.7 Планирование управления научно-техническим проектом	61
4.7.1 План проекта	63
4.8 Бюджет научного исследования	71
4.8.1 Материальные затраты	71
4.9 Реестр рисков проекта	78
ГЛАВА 4. СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ	83
5.1 Анализ вредных и опасных факторов	84
5.2 Анализ опасных и вредных факторов	84
5.3 Микроклимат	89
5.4 Освещенность	91
5.4.1 Выбор осветительных приборов	91

5.5 Виброакустические	92
5.6 Электробезопасность	92
5.7 Расчет электрического освещения	94
5.8 Техника безопасности при проведении эксперимента	94
5.9 Охрана окружающей среды	98
5.10 Требования безопасности в аварийных ситуациях	99
5.11 Пожарная безопасность	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	106

## **ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ:**

ЦНС – центральная нервная система

БАВ - биологически активные вещества

МС - питательная среда Мурасиге - Скуга

ГХ – газовая хроматография

ИК-спектроскопия – инфракрасная спектроскопия

НУК – 1 – нафтилуксусная кислота

2,4-Д – 2,4 – дихлорфеноксиуксусная кислота

БАП – 6-бензиламинопурин

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность работы**

В настоящее время одним из самых тяжелых заболеваний в мире является онкологические заболевания. Для лечения этих заболеваний требуются лекарственные препараты, с содержанием таких веществ, как алкалоиды.

На сегодняшний день, несмотря на широкий спектр имеющихся лекарственных препаратов из растений, многие представители отечественной флоры не нашли должного применения в медицинской практике и являются лишь достоянием народной медицины. В этом отношении особый интерес представляет изучение растений, содержащих алкалоиды, которые обладают разносторонней биологической активностью. Одним из таких растений является живокость высокая.

**Объектом исследования** было выбрано растение живокость высокая. Живокость высокая – представитель флоры Сибири и тропической Африки, применяется в тибетской медицине как противоопухолевое средство. Народы Сибири применяли его для лечения рака желудка.

Используя сведения народной и научной медицины, экспериментальные данные мы предположили, что одним из основных действующих начал, обуславливающих фармакотерапевтическую активность живокости высокой, являются дитерпеновые алкалоиды, которые могут обладать противоопухолевым действием.

### **Цель исследования**

Целью данной работы является получить каллусную и суспензионную культуру *Delphinium elatum*.

### **Задачи исследования**

- 1) Провести литературный обзор по объекту исследования *Delphinium elatum*
- 2) Выбрать оптимальные условия для получения каллусной культуры *Delphinium elatum*
- 3) Выбрать оптимальные условия для получения суспензионной культуры *Delphinium elatum*
- 4) Выделить дитерпеновые алкалоиды из каллусной и суспензионной культуры *Delphinium elatum* методом экстракции

### **Научная новизна:**

Впервые получена каллусная культура *Delphinium elatum*. Подобраны оптимальные условия для получения каллусной культуры *Delphinium elatum*.

### **Практическая значимость**

Из дитерпеновых алкалоидов живокости высокой перспективными являются представители аконитиновой группы: кондельфин, метилликаконитин, элатин и дельсемин, обладающие высокой фармакологической активностью и низкой токсичностью.

Результаты полученных экспериментальных исследований могут лечь в основу разработки нового лекарственного препарата, на основе алкалоидов живокости высокой, для терапии заболеваний опухолевого характера.

### **Апробация работы**

Основные результаты работы докладывались и обсуждались на Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» имени профессора

Кулёва Л.П. посвященная 120-летию Томского Политехнического Университета 17 – 20 мая 2016 (г. Томск).

### **Публикации**

Результаты проведенных исследований отражены в 1 печатной работе.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Сведения о Живокости высокой (*Delphinium* L.)

#### 1.1.1. Живокость высокая: морфология, распространение

Живокость, или Дельфиниум, или Шпорник (лат. *Delphinium*) — род травянистых растений семейства Лютиковые (*Ranunculaceae*). Включает около 450 видов, произрастают в Северном полушарии и в горах тропической Африки. Многие виды пришли из Юго-Восточной Азии и особенно из Китая, где произрастает более 150 видов. Род Живокость близок к роду известных ядовитых растений *Aconitum*.

Свое научное название род получил, из-за сходства нераспустившегося цветка с формой головы и тела дельфина. По другой версии, имя растения происходит от названия греческого города Дельфы, в окрестностях которого росло множество этих цветов. Город был расположен на склоне горы Парнас, а в городе находился знаменитый храм Аполлона и дельфийский оракул. Не исключено, что название растения, дословно можно перевести, как цветок Аполлона дельфийского.

Устаревшее русское название Шпорник произошло от формы выроста-придатка на верхнем чашелистике, похожего на кавалерийскую шпору. Дословный перевод немецкого названия (нем. *Rittersporn*) — «рыцарские шпоры»; английского — «забавные шпоры», «пятка жаворонка», «коготь жаворонка»; французского — «ножка жаворонка».

В русском языке название «дельфиниум» чаще встречается в художественной и популярной литературе, в научной литературе используется преимущественно слово «живокость»[1].

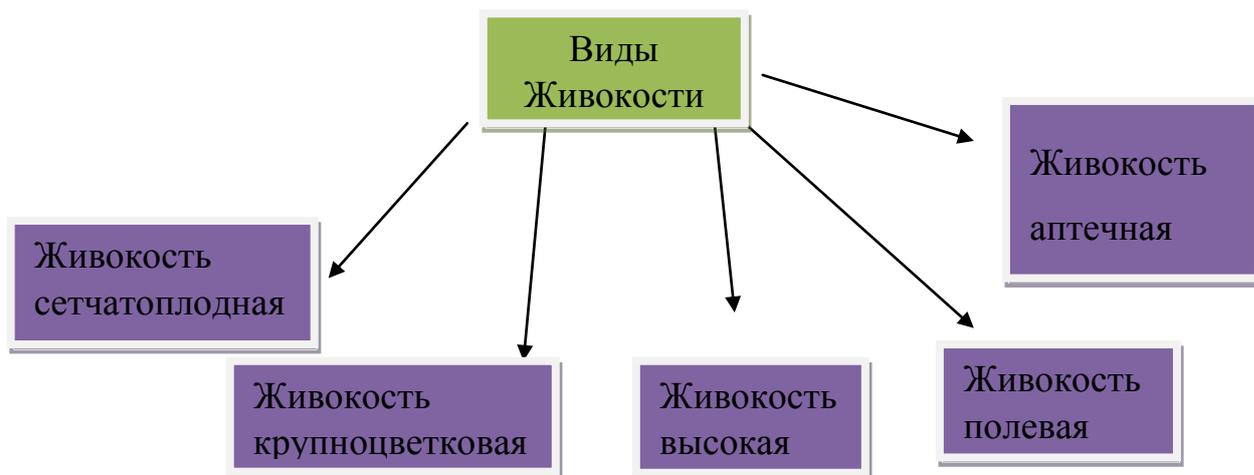


Рисунок 1. Классификация видов Живокости



Рисунок 2. Живокость высокая

Живокость высокая – вид рода живокость, семейства Лютиковых. Народное название живокости высокой – рогатые васильки, шпорник посевной, рыцарская шпора. Все декоративные сорта живокости высокой принято называть дельфиниумами.

Высота стебля Живокости высокой от 0,7 до 4 м. Корневище короткое. Корни мочковатые, коричневого цвета. Стебель простой, полый и ребристый, обычно голый, иногда волосистый в нижней части. Листья очередные, округлые, в основании глубокосердцевидные, пальчато рассечены на три ромбические соприкасающиеся доли, далее лапчатые, 5-7-ми отдельные, часто острозубчато надрезанные. Пластинка листа голая или по краям волосистая. Рассечённость и опушённость листьев сильно варьируется.

Цветы обоеполые, разных оттенков синего, верхние чашелистики видоизменены— шпорцы. Собраны в простые негустые кисти на верхушке стебля. Чашелистики лепестковидные цельные, числом пять. Основание верхнего чашелистика продолжается в полый шпорец. Лепестки чёрного или тёмно-бурого цвета, их всего четыре, вдвое короче чашелистиков. Два верхних изменены в два нектарника. Нектарники вытянуты в шпорец, вложенный в шпорец чашелистика. Два нижних лепестка превращены в два стаминодия, которые на концах- двунадрезаны, с жёлтыми волосками, образующими бородку. Тычинки многочисленные. Три пестика с верхними завязями [2]. Формула цветка:  $\uparrow K_5 C_{2^{nect:2st}} A_{\infty} G_{3-5}$  [3].

Цветет в июне-августе. Плод — собран из трёх листовок. Семена мелкие коричневые, блестящие, почти трёхгранные, по рёбрам узкоплёнчатокрылатые.

Род объединяет около 250 видов многолетних трав, широко распространенных в умеренном поясе Северного полушария, а также в горах тропической Африки, на Кавказе и в Средней Азии.

В европейской части России живокость высокая находит широкое распространение, в нечерноземной полосе (кроме Севера и южных районов), в Сибири, Забайкалье, на Урале, в Поволжье. Растет главным образом в лесной зоне, негустых светлых лесах, на лугах, на лесных полянах, в оврагах, на склонах, иногда по берегам рек. В горах заселяет субальпийскую область, поднимается до 2000 м над уровнем моря. Редко образует заросли, обычно растет рассеянно[3,4].



Рисунок.3 Регионы распространения живокости высокой на карте России



### 1.1.2 Химический состав живокости высокой (*Delphinium L.*)

Все части живокости высокой содержат ценные алкалоиды. В тканях растения найдены около 40 видов алкалоидов, относящихся к производным изохинолина (дельфелин, кондельфин, элатин, делатин, метилликаконитин, эдоленин, курарин, тубокурарин, токсиферин, дельсемин, мелликтин, гликоалкалоид, дельфинидин и др.): в корнях содержится до 4%, в семенах – до 2,5%, в траве – до 1,3%. Кроме этого, надземная часть живокости содержит микроэлементы: калий, кальций, магний, железо, марганец, медь, цинк, кобальт, молибден, хром, алюминий, барий, селен, никель, стронций, свинец. Также растение содержит флавоноиды, аконитовую кислоту; гликозиды: камфероль и дельфинидин.

Живокость содержит алкалоиды с курареподобным действием: метилликаконитин и кондельфин и др., которые в отличие от других

природных и синтетических веществ, обладающих курареподобным действием, всасываются в желудке[5]. Кураре - южно-американский стрельный яд, приготавливаемый, главным образом, из коры растения *Strychnos toxifera* (Стрихнос ядоносный)[6]. Алкалоид метилликаконитин найден во многих видах живокости, но сырье для его получения заготавливают от живокости сетчатоплодной и живокости полубородатой. Большинство курареподобных веществ применяются в хирургической практике. Содержание алкалоидов выше у живокостей, растущих в хвойных лесах. Некоторые алкалоиды живокостей похожи с алкалоидам аконитов, что доказывает близость ботанического происхождения обоих родов.

Все эти действующие вещества формируют основу химического состава живокости высокой[7,8].

### **1.1.3 Фармакологические свойства живокости высокой и её препаратов**

Фармакологические свойства живокости высокой определяются химическим составом, главным образом высоким содержанием алкалоидов, обладающих выраженным курареподобным действием: тормозят возбуждение в нервно-мышечных тканях, угнетают подкорковые центры и умеренно снижают артериальное давление, а также блокируют концевой аппарат двигательных нервов, вызывая расслабление скелетной мускулатуры, поэтому в сочетании с другими препаратами находят широкое применение в хирургии для наркоза при травмах головного мозга, поражениях спинного мозга и др. Препараты живокости также обладают высокими антимикробными свойствами, оказывают обезболивающее действие и ускоряют выздоровление.

Живокость высокая в народной медицине широко применяется с глубокой древности. Старинное народное средство хорошо зарекомендовало

себя при переломах костей в виде примочек и целебных компрессов. Поэтому живокость очень популярна у народных целителей уже многие века. Живокость высокая способствует восстановлению повреждённых тканей, поэтому отвары из корней дельфиниума и настойки из травы используют при ожогах. В народной медицине живокость высокую используют в качестве местного обезболивающего, кровоостанавливающего, противовоспалительного, диуретического, противосудорожного, отхаркивающего, противоглистного (семена), местно раздражающего средства. Отвары и настойки живокости рекомендуют для лечения водянки, лихорадки, при простудных заболеваниях, патологии пищеварительного тракта, для профилактики сифилиса, опухоли. Отваром травы живокости лечат пневмонию, воспаление плевры, мигрень, испуг, женские болезни, коклюш, болезни мочеполовой системы, воспаление мочевого пузыря и многие другие заболевания. Кроме того, в народной медицине живокость высокую применяют при лечении гипертонической болезни, конъюнктивита, патологий органов дыхания, кожи[9].

Живокость высокая как алкалоидсодержащее растение находит применение в традиционной медицине. В основном, используются препараты: элатин (в таблетках), кондельфин (в порошках), дельсемин (в ампулах), мелликтин (в таблетках или порошках).

Препарат Элатин применяется внутрь при дискинезии, повышенном мышечном тонусе, возникшем в результате поражения центральной нервной системы (головного и спинного мозга), а также при инфекционном и послеоперационном поражении спинного мозга.

Препарат Кондельфин живокости высокой применяется в медицинской практике не только при патологическом повышенном тонусе скелетной мускулатуры, но и при других расстройствах двигательной функции – это гиперкинезы, скованность и контрактуры, являющиеся

следствием заболеваний или травм нервной системы – паркинсонизме (болезнь Паркинсона), множественном рассеянном склерозе, спастическом параличе и др.

Препарат Дельсемин в хирургической практике в комбинации с наркотиками рекомендован в качестве релаксанта для расслабления мышц и в целях полного прекращения естественного дыхания при оперативных вмешательствах на органах грудной клетки.

Лечение мелликтином, обычно сочетают с препаратами патогенетического действия, рефлексотерапевтическими и физиотерапевтическими методами, проведением лечебной гимнастики и др. Препарат Мелликтин применяется для снижения мышечного тонуса при пирамидной недостаточности сосудистого и воспалительного происхождения, постэнцефалитическом паркинсонизме и болезни Паркинсона, болезни Литтля, и при других заболеваниях пирамидного и экстрапирамидного характера, сопровождающихся повышением мышечного тонуса и расстройствами двигательных функций.

#### Противопоказания и побочные действия

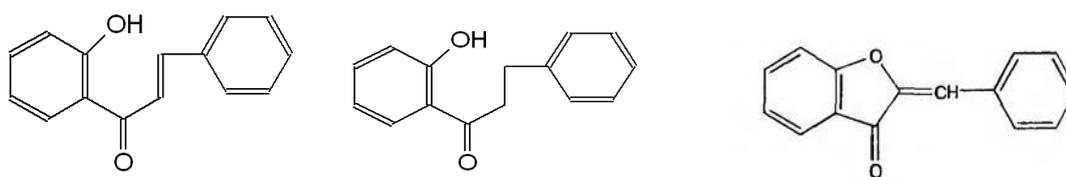
Живокость высокая в больших дозах может вызвать паралич отдельных групп мышц и обездвиживание. Она поражает также желудочно-кишечный тракт и сердечно-сосудистую систему. Препараты живокости высокой противопоказаны при миопатии, миастении и других заболеваниях с понижением мышечного тонуса, тяжелых нарушениях функции печени и почек, декомпенсации сердечной деятельности [10,11].

### 1.1.4 Характеристика биологически активных веществ, содержащихся в Живокостях (*Delphinium L.*)

БАВ — химические вещества, необходимые для поддержания жизнедеятельности живых организмов, обладают высокой физиологической активностью при небольших концентрациях по отношению к определенным группам живых организмов или их клеткам, избирательно задерживают или ускоряют их рост или полностью подавляют их развитие[12,13].

В состав живокости высокой входят не только алкалоиды, но и флавоноиды, аконитовая кислота; гликозиды (камфероль и дельфинидин).

Флавоноиды — это крупнейший класс растительных полифенолов. С химической точки зрения, флавоноиды представляют собой гидроксипроизводные флавона (флавоноиды), 2,3-дигидрофлавона (флаваноны), изофлавона (изофлавоноиды), 4-фенилкумарина (неофлавоноиды), а также флавоны с восстановленной карбонильной группой (флаванолы). Зачастую к флавоноидам относят и другие соединения C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> ряда, в которых имеются два бензольных ядра, соединенных друг с другом трехуглеродным фрагментом — халконы, дигидрохалконы и ауруны[14,15].



Халкон

Дигидрохалкон

Аурон

Рисунок.4 Структурные формулы флавоноидов C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> ряда

Выделим основные функции флавоноидов в растительном организме:

1) участие в окислительно-восстановительных процессах, аттрактанты, сигнальные молекулы, антистрессовые агенты. Ряд флавоноидов формирует яркую красочную окраску цветков и плодов растений, что привлекает птиц и насекомых, принимающих участие в опылении, размножении и

распространении растений. В качестве сигнальных молекул флавоноиды участвуют в ауксиновом обмене, процессах прорастания, роста и опыления растений, формирования симбиоза растений с клубеньковыми бактериями и микоризными грибами.

2) Антистрессовая (защитная) функция этих соединений против различных повреждающих факторов внешней среды (механическое повреждение, инфекции, насекомые, ультрафиолетовое излучение, температурный стресс) состоит в их участии в окислительно-восстановительных процессах, антибиотической активности, способности связываться с протеинами, служить материалом для построения клеточной стенки.

3) Протекторная функция флавоноидов в тканях растений против любых биотических и абиотических стрессоров дает основание рассматривать их в роли универсальных физиологических адаптогенов к неблагоприятным факторам среды.

Аконитовая кислота образуется при нагревании лимонной кислоты [16].

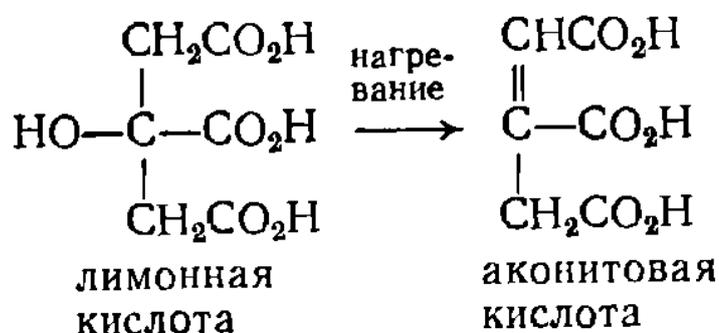


Рисунок.5 Реакция получения аконитовой кислоты из лимонной

## 1.2 Растительные алкалоиды

Алкалоиды – сложные органические соединения разнообразного химического строения содержащие в своей цепи атомы азота, в основном присутствуют в растительном сырье в качестве солей и оснований. Название

получили от греческого «еидос» (подобный) и арабского слова «алкали» (щелочь).[17,18,19]

Алкалоиды часто делят на следующие большие группы:

Группы алкалоидов	Примеры
Алкалоиды атомом азота в гетероцикле (истинные алкалоиды)	Атропин, никотин, морфин, кониин и коницеин
Алкалоиды с атомом азота в боковой цепи (протоалкалоиды)	Мескалин, адреналин и эфедрин
Полиаминные алкалоиды	Производные путресцина, спермидина и спермина
Пептидные (циклопептидные) алкалоиды	Содержат в молекуле остаток пептида
Псевдоалкалоиды	Терпеноидные, стероидные пуриновые алкалоиды, как кофеин, теобромин и теофиллин.

Таблица. 1 Представители растительных алкалоидов

В настоящее время наиболее распространена классификация алкалоидов, которая основывается на строении углеродно-азотного скелета молекулы:

Класс соединения	Представители алкалоидов	Представители родов растений	Фармакологическое действие, применение
Изохинолиновые алкалоиды	Глауцин, папаверин, морфин и др.	Papaver, Corydalis, Fumaria и др.	Болеутоляющее, противовоспалительное, противоопухолевое
Амариллисовые алкалоиды	Галантамин, ликорин и др.	Galanthus, Undernia и др.	Жаропонижающее, противовоспалительное
Хиназолиновые алкалоиды	Дезоксипетанин, пеганин и др.	Peganum	Антихолинэстеразное
Тропановые алкалоиды	Атропин, гиосциамин, скополапин и др.	Datura, Scopolia, Convolvulus	Атропиноподобное, антипаркинсонное
Пирролизидиновые алкалоиды	Гелиотрин, сарацин, платифиллин и др.	Boraginaceae, Asteraceae	Антиспазматическое действие гладкой мускулатуры ЖКТ, бронхов, кровеносных сосудов
Трополоновые алкалоиды	Колхицин, колхамин и др.	Merendera, Colchicum	Лечение подагры, цирроза печени
Индольные алкалоиды	Гармана, гармина, гармола, резерпин и др.	Herba Passiflorae incarnatae, Radices Rauwolfiae serpentinae	Лечение бессонницы, хронического алкоголизма,
Хинолизидиновые алкалоиды	Матрин, упинин нуфлеин, термопсин, анагирин	Lupinus, Herba Thermopsidis	Отхаркивающее средство, повышенное артериальное давление
Дитерпеновые алкалоиды	Аконитин, дельфинин, элатин, лаппаконитина	Aconitum, Delphinium, Garrya	при нервных заболеваниях, сопровождающихся повышением мышечного тонуса.

Таблица.2 Классификация алкалоидов, которая основывается на строении углеродно-азотного скелета молекулы

### 1.2.1 Дитерпеновые алкалоиды Живокости высокой

Дитерпеновые или аконитовые алкалоиды накапливаются в растениях, относящихся к родам *Aconitum*, *Delphinium*. Выделение и изучение дитерпеновых алкалоидов было начато в 30-х годах А.П. Ореховым и затем продолжено С.Ю. Юнусовым, Н.К. Абубакировым, А.Д. Кузовковым, М.С. Юнусовым.

Аконитовые алкалоиды можно разделить на две большие группы:

- 1) атизины, обладающие углеродным скелетом из 20 углеродных атомов
- 2) аконитины, углеродный скелет которых состоит из 19 углеродных атомов, и которые имеют ликоктониновое ядро.

Алкалоиды типа тубокурарина были обнаружены во всех видах живокости: кондельфин, метилликаконитин, элатин и дельсемин. Все эти алкалоиды в своей основе имеют одинаковое строение - ликоктониновое ядро. Большинство алкалоидов представляют собой твердые кристаллические или аморфные нелетучие вещества. Они обычно бесцветные, но встречаются и окрашенные (алкалоид берберин - желтоватого цвета), без запаха, обычно горького вкуса и оптически активные. Бескислородные соединения являются жидкими веществами с сильным неприятным запахом (никотин, конииин и др.). Аконитовые алкалоиды представляют маслянистые, высококипящие жидкости, зелено-желтоватого цвета. Алкалоиды - в воде не растворимы или очень трудно растворимы, а легко растворимы в спирте, эфире, хлороформе, и других органических растворителях.

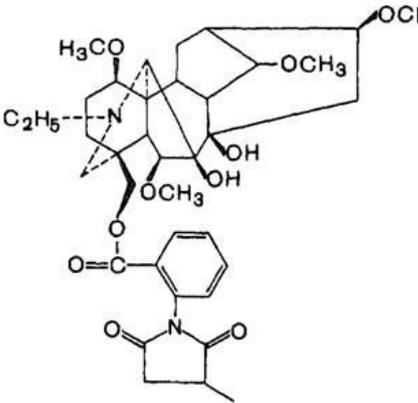
Соли алкалоидов нерастворимы в органических растворителях (кроме спирта), но хорошо растворяются в воде. Однако имеются алкалоиды,

которые и в форме оснований растворимы в воде (кодеин 1:150, кофеин 1:80, эфедрин 1:36).

Аконитовые алкалоиды обладают высокой физиологической активностью, благодаря этому, препараты, приготовленные из этих алкалоидов, нашли применение в медицине. [21,22].

Наиболее значимые алкалоиды, выделенные из растений рода

Живокости[14]:

Название алкалоидов	Структурная формула	Фармакологический эффект
<p>Метилликаконитин (в основном содержится в корнях 0,4-0,65%)</p>		<p>Для лечения нервных болезней</p>
<p>Кондельфин</p>		<p>Оказывает курареподобное воздействие, понижает тонус скелетной мускулатуры, а в повышенной дозировке приводит к полному обездвиживанию человека.</p>

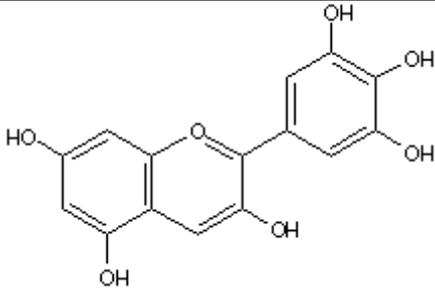
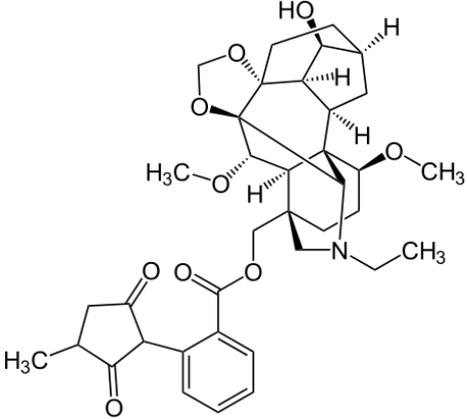
<p>Дельфинидин</p>		
<p>Элатин (в основном содержится в листьях, примерно треть от общего количества других алкалоидов растения)</p>		<p>Угнетает нервно-мышечную проводимость, оказывает угнетающее действие на подкорковые центры. Рекомендуется для применения преимущественно в неврологической практике при заболеваниях центральной нервной системы, сопровождающихся повышенным мышечным тонусом.</p>

Таблица.3 Наиболее значимые алкалоиды, выделенные из растений рода Живокость

### 1.3. Биотехнологические методы исследования

Биотехнология – это использование живых организмов и их систем в промышленных целях.

Длительный период исследователи пытались создать благоприятную среду и условия для выращивания изолированных органов, тканей и клеток. Они внесли большой вклад в развитие метода культуры клеток и тканей высших растений. На сегодняшний день клеточная биотехнология имеет в своем распоряжении ряд методов, представленных на рисунке 6.

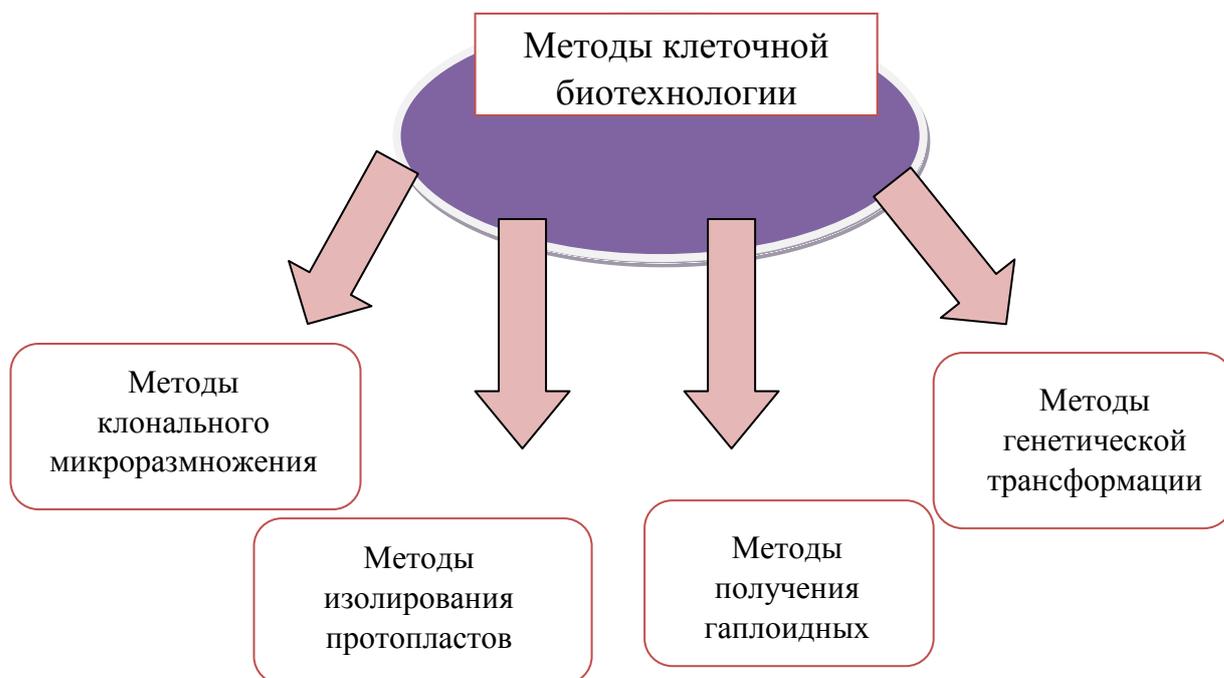


Рисунок.6 Методы клеточной биотехнологии

### 1.3.1. Методы культивирования семян, изолированных клеток и тканей растений

#### 1.3.1.1. Клональное микроразмножение

Существуют много приемов клонального микроразмножения, а также различные их классификации. Процесс клонального микроразмножения можно осуществлять следующими путями (рис.7):



Рисунок. 7. Пути клонального размножения

Активация роста пазушных почек и использование пазушных побегов – один из традиционных методов вегетативного размножения растений. Этот метод основан на снятии апикального доминирования. Достичь этого можно следующими методами: а) удалением верхушечной меристемы стебля и

последующим микрочеренкованием побега *in vitro* на безгормональной среде б) добавлением в питательную среду веществ цитокининового типа действия, индуцирующих развитие многочисленных пазушных побегов. В качестве цитокининов используют БАП или 6-фурфуриламинопури (кинетин). Полученные побеги отделяют от первичного экспланта и самостоятельно культивируют на свежей приготовленной питательной среде с добавлением ауксинов. Часто в качестве экспланта используют верхушечные или пазушные почки, которые отделяют от побега и помещают на питательную среду с цитокининами. Образующиеся пучки делят на отдельные побеги и переносят на свежую питательную среду. После необходимого числа пассажей побеги укореняют *in vitro*, добавляя в питательную среду ауксины. Затем переносят в почву, где создают условия, которые способствуют адаптации растений[23,24].

Методы клонального микроразмножения *in vitro* и культуры изолированных клеток и тканей позволяют решать различные вопросы в размножении и селекции, и получать за более короткий промежуток времени генетически однородный безвирусный материал с высоким коэффициентом размножения. Кроме цветочных культур с помощью микроклонирования размножают цитрусовые, виноград, картофель и древесные культуры.[25,26]

### **1.3.1.2.Получение соматических гибридов методом слияния изолированных протопластов**

В настоящее время продолжается разработка и улучшения методов выделения и культивирования протопластов на искусственных питательных средах, используемых для культуры изолированных клеток и тканей. Для стимуляции слияния протопластов предложен ряд методов: физические и химические. Для индукции слияния протопластов используют методику с применением полиэтиленгликоля, которая дает до 50% слившихся

протопластов. Изначально протопласты агглютинируют концентрированным раствором полиэтиленгликоля.

Для слияния протопластов используют физический метод с применением импульсов электромагнитного тока в качестве индуктора. Слияние протопластов приводит к образованию либо гибрида, либо цибрида. Использование соматической гибридизации позволяет скрещивать отдаленные виды растений; получать асимметричные гибриды, проводить слияние трех и более клеток; получать гибриды, представляющие сумму генотипов родителей; переводить мутации в гетерозиготное состояние и получать жизнеспособные формы растений[27,28].

### **1.3.1.3.Гаплоидные растения**

Гаплоидные растения имеют важное значение для селекции, они открывают возможности для ускоренного получения гомозиготных генетически стабильных линий. Для стабилизации используют традиционные методы – отдаленную гибридизацию, обработку фитогормонами и температурные шоки. Эти приемы трудоемки, требуют много времени и неэффективны вследствие низкого выхода гаплоидных растений. Для увеличения эффективности индуцирования гаплоидов используют следующие методы:

- 1) андрогенез в культуре пыльников и пыльцы;
- 2) элиминация хромосом в гибридном зародыше (в селекции злаковых)
- 3) псевдогамия – развитие гаплоидного зародыша после оплодотворения инородной пыльцой без оплодотворения яйцеклетки.

Уникальность метода культуры *in vitro* изолированных пыльников состоит в том, что на сегодняшний день это единственный способ закрепить ценный гетерозисный эффект гибридов 1-го поколения[29,30].

### 1.3.1.4. Генетическая инженерия растений

В качестве инструмента прямого генетического воздействия на растения широко применяются технологии генетической трансформации клеток. Основными приемами трансформации являются введение целевого гена из генома других организмов в геном реципиента для изменения его свойств.

Основными целями введения чужеродного гена являются повышение сельскохозяйственной ценности, устойчивости к патогенам и декоративных качеств культурных растений. Клеточные культуры служат живыми биореакторами при малозатратном производстве экономически важных белков и метаболитов.

Из одной клетки, созданной с помощью генно инженерных методов, может быть получено растение, несущее чужеродные гены. Генетическая трансформация позволяет изучать действие генов в ходе развития растения и других биологических процессов. Большое количество чужеродных генов в клетках растения стабильно наследуются и не влияют негативно на фенотип растения-хозяина и его потомство.

Наиболее остро стоит вопрос о получении растений, устойчивых к вредителям сельского хозяйства. Традиционно для этого используют ген *bt*, продуктом которого является бактериальный токсин *Bacillus thuringiensis*. Эта бактерия продуцирует протоксин, который контролируется геном *bt*. Ген *bt*, попадая в кишечник личинок насекомых, разрушается под действием ферментов, а его фрагмент (эндотоксин) приводит к их гибели. В настоящее время уже получен искусственный ген *bt*, конструкция с которым более эффективна. Получение гербицидустойчивых культурных растений позволяет удешевить их производство [31,32].

### 1.3.2. Культивирование каллусных тканей на твердых питательных средах

Каллусные культуры выращиваются на агаризованной среде с применением желирующих полимеров, либо на мостиках из фильтровальной бумаги, погруженных в жидкую питательную среду. Основными компонентами питательных сред для культуры клеток и тканей растений являются макро- и микроэлементы, источник углеродного питания (сахароза), витамины, регуляторы роста. Иногда в состав питательных сред включают дрожжевой экстракт, кокосовое молоко, экстракты из определенных органов растений. В настоящее время известны следующие питательные среды (таблица 4):

Составные компоненты	Концентрация компонентов в среде, мг/л				
	Уайта	МС	В5	Нича	N6 (Chu)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	–	1 650	–	720	–
KNO <sub>3</sub>	80	1 900	2 500	950	2 830
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	–	440	150	–	166
CaCl <sub>2</sub>	–	–	–	166	–
MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	750	370	250	185	185
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	170	-	68	400
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	–	134	–	463
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	300	–	–	–	–
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	200	–	–	–	–
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	19	–	150	–	–
KCl	65	–	–	–	–
KI	0,75	0,83	0,75	–	0,8
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,5	6,2	3	10	1,6
MnSO <sub>4</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	5	22,3	–	25	–
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	–	–	10	–	3,3

ZnSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	3	8,6	2	10	1,5
NaMoO <sub>4</sub> ·2 H <sub>2</sub> O	–	0,25	0,25	0,25	–
MoO <sub>3</sub>	0,001	–	–	–	–
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,01	0,025	0,025	0,025	–
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	–	0,025	0,025	–	–
Fe(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	2,5	–	–	–	–
FeSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	–	27,8	27,8	27,8	27,8
Na <sub>2</sub> ЭДТА·2 H <sub>2</sub> O	–	37,3	37,3	37,3	37,3
Органические вещества:					
Никотиновая кислота	0,5	0,5	1	5	0,5
Пиридоксин гидрохлорид	0,01	0,5	1	0,5	0,5
Тиамин гидрохлорид	0,01	0,1	10	0,5	1
Биотин	–	–	–	0,05	–
Инозит	–	100	100	100	–
Глицин	3	2	–	2	–
Фолиевая кислота	–	–	–	0,5	–
Сахароза	20 000	30 000	20 000	20 000	50 000
pH	–	5,8	5,5	–	5,8

Таблица 4. Состав питательных сред для культивирования растений и тканей

Ткань чаще всего не имеет строго определенной анатомической структуры. Цвет может быть белым, желтоватого оттенка, зеленым. Как правило, в длительно пересадочной культуре на средах, включающих ауксин, каллусные ткани теряют цвет и становятся рыхлыми. Каллусные клетки в пересадочной культуре неожиданно могут приобрести гормоннезависимость. Природа такой гормоннечувствительности к одному или обоим гормонам (ауксину и цитокинину) может быть генетической (результат мутации) или эпигенетической (результат экспрессии генов, определяющих гормоннезависимость клетки)[33,34].

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе представлена информация об экспериментальных исследованиях: объект исследования, методы и методики проведения эксперимента.

Исследования по данной тематике требуют строгого соблюдения правил работы в микробиологической лаборатории. Для поддержания чистоты исследуемой культуры и проведения эксперимента лаборатория оснащена следующим оборудованием:

1. Суховоздушный шкаф-стерилизатор Binder
2. Ламинарный шкаф SC2-4A1 Streamline Esco
3. Цифровой автоклав (паровой стерилизатор) WiseCube
4. Биореактор BIOSTAT Cplus, 20л Sartorius
5. Ферментер BIOSTAT Aplus, 5л Sartorius
6. Шкаф термостатируемый WiseCube
7. Инкубатор WiseCube WIS-20 горизонтальный с орбитальным шейкером
8. Бинокулярный микроскоп MC-100
9. Весы лабораторные аналитические ACCULAB ALC 210
10. рН-метр лабораторный типа рН-150 МИ
11. Дистиллятор 3,5 л/ч
12. Дозатор ВЮНІТ PROLINE 1-5 мл

### 2.1. Объект исследования

Семена растения Живокость высокая были собраны в 40 км от г. Томска на берегу пойменного озера между селом Вершинино и Ярское. Семена имеют почти три грани и узкопленчатые ребра.

## **2.2. Приготовление питательной среды и вспомогательных растворов**

Для приготовления питательных сред необходимо использовать реактивы высокой химической чистоты (ХЧ), так как их качество определяет результаты всего исследования. Для исследования использовали термостойкую посуду марки ХЧ. Перед тем как готовить питательную среду мы удостоверились в чистоте использованной посуды, проавтоклавировали ее в автоклаве 20 мин. при давлении 1 атм. и температуре 121° С.

Для получения каллусной культуры Живокости высокой использовали агазированную питательную среду Мурасиге – Скуга(МС). Состав питательной среды МС представлен в таблице 5.

### **2.2.1. Приготовление питательной среды Мурасиге – Скуга**

Приготовление питательной среды МС состоит из нескольких, отдельно произведенных, стадий:

- 1.приготовление маточного раствора макросолей;
- 2.приготовление маточного раствора микросолей;
- 3.приготовление раствора Fe-хелат;
- 4.приготовление агазированной среды.
5. приготовление гормонов.

Компоненты	Конечная концентрация в среде, М	Концентрация запасного раствора, мг/л	Объем запасного раствора на 1 л среды, мл
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	2,06·10 <sup>-2</sup>	33 000	50
KNO <sub>3</sub>	1,88·10 <sup>-2</sup>	38 000	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	3,00·10 <sup>-3</sup>	8 800	
MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	1,50·10 <sup>-3</sup>	7 400	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,25·10 <sup>-2</sup>	3 400	
KI	5,00·10 <sup>-6</sup>	166	5
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,00·10 <sup>-4</sup>	1 246	
MnSO <sub>4</sub> ·4 H <sub>2</sub> O	9,99·10 <sup>-5</sup>	4 460	
ZnSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	2,99·10 <sup>-5</sup>	1 720	
NaMoO <sub>4</sub> ·2 H <sub>2</sub> O	1,00·10 <sup>-6</sup>	50	
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	1,00·10 <sup>-7</sup>	5	
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	1,00·10 <sup>-7</sup>	5	
FeSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O	1,00·10 <sup>-4</sup>	5 560	5
Na <sub>2</sub> ЭДТА·2 H <sub>2</sub> O	1,00·10 <sup>-4</sup>	7 460	
Мезоинозит	2,06·10 <sup>-2</sup>	10 000	1
Гидролизат казеина			
Витамины:			
PP	2,06·10 <sup>-2</sup>	500	
B <sub>6</sub>	2,06·10 <sup>-2</sup>	500	
B <sub>1</sub>	2,06·10 <sup>-2</sup>	500	
Аминокислоты:			
Глицин	2,06·10 <sup>-2</sup>	2 000	
Источник углеводов:			30 г/л
Сахароза	8,80·10 <sup>-2</sup>	Добавление в виде порошка	
Агар-агар		Предварительный разогрев в воде до растворения	7 г/л

Примечание. pH = 5,8

Таблица 5. Состав питательной среды МС

### 2.2.1.1. Приготовление маточного раствора макросолей

Для приготовления маточного раствора макросолей смешали в колбе на 1000 см<sup>3</sup> 33,0 г нитрата аммония, 38,0 г нитрата калия, 8,8 г хлорида кальция, 7,4 г сульфата магния, 3,4 г калия дигидрофосфата и довели до метки

бидистиллированной водой. Закрыли колбу ватно-марлевой пробкой. Хранился в при температуре 2-4С в течении 30 дней.

#### **2.2.1.2. Приготовление маточного раствора микросолей**

Для приготовления маточного раствора микросолей смешали в колбе на 1000 см<sup>3</sup> 0,166 г иодида калия, 1,246 г борной кислоты, 4,460 г сульфата марганца, 1,720 г сульфата цинка, 0,050 г молибдата натрия, 0,005 г медного купороса, 0,005 г хлорида кобальта и довели до метки бидистиллированной водой. Закрыли ватно-марлевой пробкой. Хранился в при температуре 2-4С в течении 30 дней.

#### **2.2.1.3. Приготовление раствора Fe-хелат**

Для приготовления раствора Fe-хелат смешали в емкости из темного стекла на 1000 см<sup>3</sup> 5,560 г железного купороса, 7,460 г натриевой соли этилендиамина тетрауксусной кислоты ("Трилон Б") и довели до метки бидистиллированной водой. Хранился в при температуре 2-4С в течении 30 дней.

#### **2.2.1.4. Приготовление агазированной среды**

Для приготовления агазированной среды растворили 3,5 г микробиологического агар-агара в небольшом количестве бидистиллированной воды.

#### **2.2.1.5. Приготовление гормонов**

Для приготовления 150 см<sup>3</sup> гормонов поместили в колбу на 150 см<sup>3</sup> 2,4 – дихлорфеноксиуксусная кислота(2,4-Д) 0,00015 г, 6-бензиламинопури (БАП) 0,000015 г , 1 – нафтилуксусная кислота (НУК) 0,0003г и смешали с бидистиллированной водой.

#### **2.2.1.6. Приготовление питательной среде МС для получения каллусной культуры**

Для приготовления 500 см<sup>3</sup> питательной среды поместили в колбу на 1000 см<sup>3</sup> 25 см<sup>3</sup> маточного раствора макросолей, 2,5 см<sup>3</sup> маточного раствора микросолей, 2,5 см<sup>3</sup> Fe-хелат, агазированную среду и 15 г сахарозы. После проавтоклавировали питательную среду в автоклаве 20 мин при давлении 1атм и температуре 121°C. Остывшую проавтоклавированную питательную среду поместили в ламинарный шкаф под ультрафиолет на 20 мин. Затем добавили в питательную среду витамины: 0,5 см<sup>3</sup> витамина В6 , 0,5 см<sup>3</sup> витамина В1, 2,5 см<sup>3</sup> никотиновой кислоты и гормоны 150 см<sup>3</sup>.

#### **2.2.2. Стерилизующий раствор**

Стерилизующий раствор приготовили для стерилизации рабочего места (ламинарного шкафа) и для стерилизации самих семян, чтобы избежать непродуктивных результатов. Стерилизующий раствор готовили путем смешивания 23 см<sup>3</sup> 80% этанола с 4,6 см<sup>3</sup> воды и 2,4 см<sup>3</sup> 37% перекиси водорода.

#### **2.2.3 Стерилизация семян**

Стерилизацию семян проводили путем обработки их стерилизующим раствором. Семена поместили в фильтровальную бумагу, нанесли на нее стерилизующий раствор, оставили на 20 минут под ультрафиолетом.

## **2.3. Методика получения каллусной культуры Живокость высокая**

Подготовленную питательную среду разлили по баночкам 30 см<sup>3</sup> по 10 см<sup>3</sup>, оставили в ламинарном шкафу под ультрафиолетом на 20 мин. Затем, с помощью стерильного пинцета в асептических условиях, поместили семена на плотную питательную среду. Культивирование проводили при 27 °С при дневном свете.

### **2.3.1. Выделение дитерпеновых алкалоидов из каллусной культуры**

Биомассу, полученную в ходе культивирования, высушили в сухожировом шкафу при 60 °С в течение 5 часов, обработали 5 % спиртовым раствором уксусной кислоты (1-2 мл), экстракцию проводили хлороформом в соотношении 1:9 (масса сырья : объем растворителя) на водяной бане при 60 °С в течение 1 ч 30 мин с последующим подкислением концентрированной серной кислотой до рН 2-3

## **2.4. Методы стратификации семян Живокости высокой**

Стратификация семян - это создание для семян природных процессов пробуждения искусственно.

Стратификацию семян Живокости высокой проводили тремя способами:

1.Обработка семян Живокости высокой концентрированной серной кислотой.

Обработали семена концентрированной серной кислотой в течение 1 мин, после сразу поместили в губку, пропитанную холодной водой, и поставили в холодильник до появления проростков на 48 часов.

2.Обработка семян Живокости высокой кипящей водой.

Обработали семена кипящей водой в течение 2 мин и так же поместили в губку с холодной водой, и поставили в холодильник на 48 часов.

### 3. Механическая обработка семян Живокости высокой.

Проводили путем повреждения внутренней оболочки семян наждачной бумагой, поместили в губку с холодной водой и поставили в холодильник на 48 часов.

## **2.5. Приготовление питательной среде МС для получения суспензионной культуры**

Для приготовления 250 см<sup>3</sup> питательной среды поместили в колбу на 750 см<sup>3</sup> 17,5 см<sup>3</sup> маточного раствора макросолей, 1,25 см<sup>3</sup> маточного раствора микросолей, 1,25 см<sup>3</sup> Fe-хелат и 7,5 г сахарозы. После проавтоклавировали питательную среду в автоклаве 20 мин при давлении 1 атм и температуре 121°C. Остывшую проавтоклавленную питательную среду поместили в ламинарный шкаф под ультрафиолет на 20 мин. Затем добавили в питательную среду витамины: 0,25 см<sup>3</sup> витамина В6, 0,25 см<sup>3</sup> витамина В1, 2,25 см<sup>3</sup> никотиновой кислоты и гормоны 75 см<sup>3</sup>.

### **2.5.1. Методика получения суспензионной культуры Живокость высокая**

Приготовленную питательную среду 50 см<sup>3</sup> поместили в колбу на 150 см<sup>3</sup>, затем с помощью пинцета в асептических условиях берем небольшую часть полученного каллуса и переносим в суспензию и ставим в шейкер, для последующего перемешивания и изменения окраски от прозрачного до мутного.

### **2.5.2. Выделение дитерпеновых алкалоидов из суспензионной культуры**

Полученную суспензию разлили в 3 пробирки на  $12 \text{ см}^3$  по  $10 \text{ см}^3$ , поставили в центрифугу на 30 мин. После отделили культуральную жидкость от осадка. В пробирку с культуральной жидкостью добавили 1 каплю 25 %  $\text{NH}_4\text{OH}$ ,  $10 \text{ см}^3$  0,9%  $\text{NaCl}$ , 0,5 капли 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и  $15 \text{ см}^3$  хлороформа. Хорошо перемешали. Получили хлороформный экстракт  $\text{pH}=8-9$ . С помощью разделительной воронки отделили органическую фазу от водной. В органическую фазу добавили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  для устранения воды из исследуемой жидкости, отфильтровали с помощью фильтровальной бумаги и разлили в 2 пенициллинки.

## **ГЛАВА 4. ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ**

### **4.1 Общая характеристика НИР**

Научно-исследовательская работа связана с получением каллусной и суспензионной культуры *Delphinium elatum*, продуцентов фармакологически ценных алкалоидов. В настоящее время остро стоит проблема изыскания эффективных анальгезирующих и противовоспалительных лекарственных средств с минимальным числом нежелательных побочных эффектов. Применение синтетических препаратов в доклинических и клинических испытаниях сопровождаются выраженными осложнениями и побочными явлениями. В ограниченном диапазоне используют противовоспалительные свойства лекарственных препаратов получаемых из растений, преимущественно отличающиеся более легкой переносимостью и меньшей токсичностью. В связи с этим поиск эффективных антифлогистиков растительного происхождения является актуальным.

Объектом исследования в данной работе являются алкалоиды живокости высокой.

Выбор объекта исследования не случаен, так как растения, содержащие в своем составе алкалоиды, считаются перспективными формами при создании лекарственных средств, для использования в медицинской практике. На сегодняшний день, несмотря на масштабность использования лекарственных препаратов из растений, многие представители отечественной флоры до сих пор не нашли применения в медицинской практике и являются лишь достоянием народной медицины.

В этом отношении представляет интерес изучение растений, содержащих алкалоиды, которые обладают разносторонней биологической активностью.

## 4.2 Потенциальные потребители результатов исследования

Целевой рынок – пациенты, нуждающиеся в снятии болевых ощущений.

### 4.2.1 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

В настоящее время в клинической практике используются достаточно эффективные анальгетические и противовоспалительные препараты, однако большинство из них обладают рядом недостатков.

Рассмотрим следующие фармацевтические препараты. Препараты «Анальгин» и «Индометацин» прошли доклинические и клинические испытания и разрешены Минздравом для медицинского применения и промышленного выпуска.

Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения проведем с помощью оценочной карты таблица 7.

Таблица 9 – Оценочная карта сравнения конкурентных разработок

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Б <sub>ф</sub>	Б <sub>к1</sub>	Б <sub>к2</sub>	К <sub>ф</sub>	К <sub>к1</sub>	К <sub>к2</sub>
1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Технические критерии оценки ресурсоэффективности</b>							
1. Технологическая сложность выделения	0.1	4	5	5	0.4	0.5	0.5
4 Побочные эффекты	0.2	5	1	1	1	0.2	0.2
5. Уменьшение болевого эффекта	0.1	5	4	4	0.5	0.4	0.4
6 Токсичность в организме	0.1	4	4	5	0.4	0.4	0.5

<b>Экономические критерии оценки эффективности</b>							
1 Стоимость сырья	0.2	4	3	3	0.8	0.6	0.6
2 Стоимость курса лечения	0.1	4	4	5	0.3	0.4	0.5
3. Стоимость препарата	0.2	5	4	4	1	0.8	0.8
<b>Итого</b>	<b>1</b>	<b>35</b>	<b>29</b>	<b>27</b>	<b>4.4</b>	<b>3.3</b>	<b>3.5</b>

Анализ был проведен сравнительно с двумя основными препаратами: конкурент 1 – «Анальгин», конкурент 2 – «Индометацин». В результате научная разработка по сравнению с зарубежным поставщиком является конкурентноспособной.

### 4.3 SWOT-анализ

Таблица 9 – SWOT-анализ экспериментального лекарственного препарата

	<b>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</b>	<b>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</b>
	<p>С1. Экологичность производственной технологии</p> <p>С2. Минимальное количество противопоказаний и побочных эффектов</p> <p>С3. Квалифицированный персонал</p> <p>С4. Не используются синтетические составляющие</p>	<p>Сл1. Стоимость и отсутствие необходимого оборудования для проведения испытания опытного образца</p> <p>Сл2. Отсутствие достаточного финансирования проектов</p> <p>Сл3. Недостаток литературных данных по данному проекту</p> <p>Сл4. Ограниченность ресурса, в связи с сезонным произрастанием трав рода</p>

	<p>в составе ЛВ</p> <p>С5. Комплексный болеутоляющий эффект</p>	<p>живокость.</p> <p>Сл5. Ценовые затраты на курс лечения</p>
<p><b>Возможности:</b></p> <p>В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ</p> <p>В2. Появление спроса на продукт</p> <p>В3. Замена синтетических препаратов на ЛВ с растительными компонентами</p>	<p>С1. Разработка нового метода выделения элатина</p> <p>С2. Появится большой спрос на ЛВ за счет быстрого синтеза продукта.</p>	<p>Сл1. Отсутствие некоторых необходимых оборудований для проведения опытов</p> <p>Сл2. Не до конца изучен данный метод синтеза</p>
<p><b>Угрозы:</b></p> <p>У1. Отсутствие спроса на новые технологии производства</p> <p>У2. Введения дополнительных государственных требований к сертификации продукции</p> <p>У3. Ограничения на экспорт технологии</p> <p>У4. Несвоевременное финансовое обеспечение научного исследования со</p>	<p>С1. Синтез данным методом ускорит получение продукта, тем самым увеличив спрос на внутреннем рынке</p> <p>С2. Снижение зависимости от внешних рынков</p> <p>С3. Прибыль на внутреннем рынке</p>	<p>Сл1. Отсутствие рекламной компании на данный продукт</p> <p>Сл2. Отсутствие единого документа, подтверждающего качество ЛС</p> <p>Сл3. Недостаточная прибыль</p> <p>С4. Повышение себестоимости</p> <p>С5. Рынок имеет более дешевые синтетические препараты.</p> <p>С6. Изменение платежеспособности населения.</p>

стороны государства		
---------------------	--	--

## Вывод

Как мы выяснили в ходе SWOT-анализа, экспериментальному лекарственному веществу характерен некий баланс сильных и слабых сторон (сильных и слабых параметров), а также возможностей и угроз. Т.е. лабораторные исследования проходят достаточно в стабильных условиях, однако для получения дополнительных конкурентных преимуществ перед синтетическими лекарственными препаратами необходимо получить поддержку Министерства Здравоохранения России, тем самым занять свою нишу на рынке производства и сбыта.

## 4.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Таблица 10 – Оценка готовности проекта к коммерциализации

№ п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1	2	3	4
1.	Определен имеющийся научно-технический задел	4	4
2.	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	4	4
3.	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	5	5

4.	Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	4	4
5.	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	5	4
6.	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	4	4
7.	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	4	3
8.	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	4	3
9.	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	5	5
10.	Стратегия реализации научной разработки	5	5

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4
11.	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	2	2
12.	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	3	3
13.	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки	4	4
14.	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	4	5
15.	Проработан механизм реализации	4	5

	научного проекта		
	Итого баллов:	69	60

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i, \quad (2)$$

где  $B_{\text{сум}}$  – суммарное количество баллов по каждому направлению;

$B_i$  – балл по  $i$ -му показателю.

Значение  $B_{\text{сум}}$  позволяет говорить о мере готовности научной разработки и ее разработчика к коммерциализации. Так, если значение  $B_{\text{сум}}$  получилось от 75 до 60, то такая разработка считается перспективной, а знания разработчика достаточными для успешной ее коммерциализации.

Вывод данная разработка является перспективной.

#### **4.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования.**

Передача интеллектуальной собственности в уставной капитал предприятия.

НИИ Фармакологии является научно исследовательской лабораторией, внедрение и отработка технологий. Далее само предприятие решает вопросы продажи полученного продукта.

#### **4.6 Инициация проекта**

##### **Цели и результат проекта.**

Таблица 11 – Заинтересованные стороны проекта

Заинтересованные стороны проекта	Ожидания заинтересованных сторон
----------------------------------	----------------------------------

Национальный Исследовательский Томский Политехнический Университет, кафедра ФАХ	Технология получения алкалоидов
НИИ фармакологии ГУ ТНЦ СО РАМН	Результаты исследования биологической активности

Таблица 12 – Цели и результаты проекта

Цели проекта:	Получить каллусную и суспензионную культуру <i>Delphinium elatum</i> , продуценты фармакологически ценных алкалоидов
Ожидаемые результаты проекта:	Получить образцы алкалоидов, данные по биологической активности
Критерии приемки результата проекта:	Физико-химические характеристики алкалоидов, количественные данные по анальгетическому действию
Требования к результату проекта:	Требование:
	Обоснованность выбора темы исследования
	Новизна полученных результатов
	Рекомендации к использованию результатов исследования

### Организационная структура проекта:

Таблица 13 – Рабочая группа проекта

№ п/п	ФИО	Роль в проекте	Функции	Трудовые затраты, час.
11	Асташкина А.П.	Руководитель	Выбор направления исследований, формулировка темы, консультации и обсуждение полученных результатов	128
22	Манькова А.А.	Дипломник	Разработка плана работ, выполнение работ, обсуждение полученных	640

			результатов	
	Дорофеева Н.В.	Инженер	Выделение алкалоидов методами ИК - спектроскопией и газовой хроматографией	640
Итого:				1408

### Ограничения и допущения проекта.

Таблица 14 – Ограничения проекта

Фактор	Ограничения/ допущения
3.1. Источник финансирования	НИ ТПУ
3.2. Сроки проекта:	С 7.09.2015 по 30.05.2016
3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом	7.09.2015
3.2.2. Дата завершения проекта	20.05.2016 – 30.05.2016
3.3. Прочие ограничения и допущения*	Время использования научного оборудования.

### 4.7 Планирование управления научно-техническим проектом

Научно-исследовательскую работу можно разделить на отдельные части (этапы), содержание которых определяется спецификой темы. Как правило, НИР включает в себя следующие этапы:

Подготовительный этап. К этому этапу относится сбор и изучение литературных данных, составление литературного обзора по выбранной тематике, подготовка рабочего места, подготовка исходных веществ, химических реактивов и вспомогательных веществ.

Экспериментальная часть. Этот этап включает непосредственное проведение цикла экспериментов и обработку полученных результатов. Обсуждение результатов, вывод о проделанной работе.

Заключительный этап. Выполнение графической части, оформление пояснительной записки.

Контрольные события проекта представлены в таблице 14.

Таблица 15 – Контрольные события проекта

<b>Контрольное событие</b>	<b>Дата</b>	<b>Результат (подтверждающий документ)</b>
Литературный обзор проблематики	15.09.15	Литературный обзор в ВКР
Постановка цели и задач	16.09.15	Раздел цели и задачи в ВКР
Разработка плана экспериментальных работ	17.09.15	План работ
Приготовление питательной среды для получения каллусной культуры	28.09.15	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Посадка семян живокости высокой на питательную среду	30.09.15	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Подбор рабочих условий для получения каллусных культур живокости высокой методом in vitro.	10.11.15	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Посадка стратифицированных семян живокости высокой на питательную среду	26.02.16	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Приготовление питательной среды для получения суспензионной культуры	07.03.16	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Подбор рабочих условий для получения суспензионных культур живокости высокой методом in vitro.	11.04.16	Результаты экспериментов, представленных в ВКР

Выделение алкалоидов из суспензии	12.05.16	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Выделение алкалоидов из каллуса	23.05.16	Результаты экспериментов, представленных в ВКР
Оформление ВКР	20.05.16	Окончательный вариант ВКР

#### 4.7.1 План проекта

Таблица 16 – Календарный план проекта

Название	Длительность, дни	Дата начала работ	Дата окончания работ	Состав участников (ФИО ответственных исполнителей)
Выбор направления исследования	5	04.09.15	09.09.15	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Составление технического задания	6	09.09.15	15.09.15	Асташкина А.П.
Изучение литературы	7	15.09.15	22.09.15	Манькова А.А.
Подбор оптимальных методик и их совершенствование	5	22.09.15	27.09.15	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Подготовка исходных материалов	1	27.09.15	28.09.15	Манькова А.А.
Приготовление питательной среды для получения каллусной культуры живокости высокой	2	28.09.15	30.09.15	Асташкина А.П. Манькова А.А.

Посадка семян живокости высокой на питательную среду	29	30.09.15	10.11.15	Манькова А.А.
Подбор рабочих условий для получения каллусных культур живокости высокой методом <i>in vitro</i> .	11	10.11.15	25.11.15	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Наблюдение за ростом каллусной культуры	67	25.11.15	26.02.16	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Посадка стратифицированных семян живокости высокой на питательную среду	7	26.02.16	07.03.16	Манькова А.А.
Приготовление питательной среды для получения суспензионной культуры	25	07.03.16	11.04.16	Манькова А.А.
Подбор рабочих условий для получения суспензионных культур живокости высокой методом <i>in vitro</i> .	23	11.04.16	12.05.16	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Выделение алкалоидов из суспензии	8	12.05.16	15.05.16	Асташкина А.П. Дорофеева Н.В. Манькова А.А.
Выделение алкалоидов из каллуса	7	13.05.16	17.05.16	Манькова А.А. Дорофеева Н.В.
Обработка и обсуждение результатов	2	17.05.16	20.05.16	Асташкина А.П. Манькова А.А.
Оформление ВКР	11	20.05.16	30.05.16	Манькова А.А.

Итого:	216
--------	-----

Календарный

рейтинг-план

Таблица 17 - Календарный план-график проведения НИОКР по теме

№№	Вид работ	Исполнитель	Кол. дней	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
21	Выбор направления исследования	Руководитель, Дипломник	5	 									
22	Составление технического задания	Руководитель	6										
33	Изучение литературы	Дипломник	7										
44	Подбор оптимальных методик и их совершенствование	Дипломник, Руководитель	5	 									









## 4.8 Бюджет научного исследования

### 4.8.1 Материальные затраты

Бюджет затрат на выполнение НТИ составляется с целью проведения данной работы. Затраты на НТИ рассчитываются по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты.

Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам с учетом НДС. В стоимость материальных затрат включили транспортно-заготовительные расходы (3 – 5 % от цены).

Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения НИР представлены в таблице 16.

Таблица 18 – Сырье, материалы, комплектующие изделия и покупные полуфабрикаты

Наименование	Марка, размер	Количество	Цена за единицу, руб.	Сумма, руб.
1	2	3	4	5
Нитрат аммония	А	1 кг	28	28
Нитрат калия	А	0,2 кг	200	40
Кальций хлористый водный	Ч	1 кг	41	41
Магний сернокислый водный	ЧДА	1 кг	158	158
Калий фосфорнокислый замещенный	Ч	1кг	458	458
Иодид калия	ЧДА	1кг	734	734
Борная кислота	Б	1 кг	119	119

Серная кислота	ХЧ	1,8 кг	95	171
Хлорид натрия	ХЧ	1 кг	58	58
Хлороформ	ХЧ	8кг	247	1976
Гидроксид аммония	ЧДА	1 л	54	54
Никотиновая кислота	ХЧ	0,01 л	13300	133
Пиридоксин-НСl	ХЧ	0,01 л	2700	27
Тиамин -НСl	ХЧ	0,01 л	2800	28
Глицин	ХЧ	0,11 кг	273	30
Сахароза	ЧДА	1 кг	451	451
Агар-агар	ЧДА	0,1кг	3650	365
Делительная воронка	1л	1шт	856	856
Колба круглодонная	500мл	4шт	179	716
Стакан химический	50мл	1шт	43	43
Колба круглодонная	100мл	3шт	66	198
Воронка	100мм	1шт	28	28
Вата		2шт	30	60
Всего за материалы				6777
Транспортно-заготовительные расходы (3-5%)				203
Итого по статье $C_m$				6980

### Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ

Таблица 19 – Расчет материальных затрат «Спецоборудование для научных работ»

Наименование	Кол-во	Цена единицы	Суммарная стоимость
--------------	--------	--------------	---------------------

оборудования	единиц оборудов:	оборудования, тыс.руб.	оборудования, тыс.руб.
Весы аналитические (Sartorius)	1	710000	710000
Плитка нагревательная НР20А	1	15200	15200
ИТОГО			86200
Доставка и монтаж (5%)			1500
Итого по статье			87700

### Амортизация используемых приборов:

Расчет сводится к определению амортизационных отчислений, так как оборудование было приобретено до начала выполнения данной работы и эксплуатировалось ранее, поэтому при расчете затрат на оборудовании учитываем только рабочие дни по данной теме. Амортизация оборудования находится по формуле:

$$A = \frac{C_n \cdot H_a \cdot n}{100 \cdot k} \quad (3)$$

Где  $C_n$  – первоначальная стоимость оборудования;

$H_a$  – норма амортизации, %;

$n$  – число проработанных месяцев;

$k$  – количество месяцев в году.

Таблица 20 – Стоимость оборудование указана с учетом НДС.

Наименование прибора	Стоимость $C$ , руб.	Количество $n$ , шт.	Норма амортиз., $N_a$	Амортизация $A$ , руб.
----------------------	----------------------	----------------------	-----------------------	---------------------------

Весы аналитические	71000	1	10	7100
Итого:				7100

### Расчет затрат на электроэнергию:

Затраты по использованию электроэнергии находятся по формуле:

$$Z_э = N \cdot T \cdot C, \quad (4)$$

Где N – потребляемая мощность установки, кВт;

T – время работы оборудования, ч;

C – стоимость 1кВт·час электроэнергии (2,7 руб.). . (с учетом НДС 18%).

Таблица 21 – Затраты на электроэнергию (на период выполнения работы)

Наименование оборудования	N, кВт/ч	T, ч	затраты, руб.
Весы лабораторные аналитические	0,015	4	0,162
Плитка нагревательная	0,6	20	32,4
Итого:	–	–	32,56

### Расчет основной заработной платы

Основная заработная плата ( $Z_{осн}$ ) руководителя (инженера) от предприятия (при наличии руководителя от предприятия) рассчитывается по следующей формуле:

$$Z_{осн} = Z_{дн} \cdot T_{раб}, \quad (5)$$

где  $Z_{осн}$  – основная заработная плата одного работника;

$T_p$  – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн. ;

$Z_{дн}$  – среднедневная заработная плата работника, руб.

$$Z_m = Z_б \cdot (k_{пр} + k_д) \cdot k_p, \quad (6)$$

где  $Z_б$  – базовый оклад, руб.;

$k_{пр}$  – премиальный коэффициент, (определяется Положением об оплате труда);

$k_д$  – коэффициент доплат и надбавок (в НИИ и на промышленных предприятиях – за расширение сфер обслуживания, за профессиональное мастерство, за вредные условия: определяется Положением об оплате труда);

$k_p$  – районный коэффициент, равный 1,3 (для Томска).

Для инженера оклад составляет  $Q_{инж} = 14874$  руб/мес, для руководителя  $Q_{рук} = 34596$  руб/мес.  $Q_{дипл.} = 3000$  На выполнение НИР понадобилось 132 дня.

$$Z_{м \text{ Руководителя}} = 34596 \cdot 1.3 = 44974,8$$

$$Z_{м \text{ инженера}} = 14874 \cdot 1.3 = 19336,2$$

$$Z_{м \text{ дипломник}} = 3000 \cdot 1.3 = 3900$$

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле:

$$Z_{дн} = \frac{Z_m \cdot M}{F_d}, \quad (7)$$

где  $Z_m$  – месячный должностной оклад работника, руб.;

$M$  – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 24 раб.дня  $M = 11,2$  месяца, 5-дневная неделя;

при отпуске в 48 раб.дней  $M = 10,4$  месяца, 6-дневная неделя;

$F_d$  – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб.дн.

Таблица 22 – Баланс рабочего времени

<b>Показатели рабочего времени</b>	<b>Инженер</b>	<b>Руководитель</b>	<b>Дипломник</b>
Календарное число дней	132	132	132
Количество нерабочих дней	46	46	46
- выходные дни	40	40	40
- праздничные дни	6	6	6
Потери рабочего времени			
- отпуск			
- невыходы по болезни			
Действительный годовой рабочего времени	252	252	252

Среднедневная ЗП:

$$Z_{\text{дн.рук.}} = 44974,8 \cdot 5,2 / 252 = 928 \text{руб.}$$

$$Z_{\text{дн.инж.}} = 19336,2 \cdot 5,2 / 252 = 400 \text{руб.}$$

$$Z_{\text{дндипл.}} = 3900 \cdot 5,2 / 252 = 81 \text{руб.}$$

Основная ЗП:

$$Z_{\text{осн.рук.}} = 928 \cdot 132 = 122496 \text{руб.}$$

$$Z_{\text{осн.инж.}} = 400 \cdot 132 = 52800 \text{руб.}$$

$$Z_{\text{осн.диплю.}} = 81 \cdot 132 = 10692 \text{руб.}$$

Таблица 23 – Заработная плата исполнителей НТИ

Заработная плата	Руководитель	Инженер	Дипломник
Зарплата исполнителя	122496	52800	10692
Итого по статье $C_{зп}$	185988		

Отчисления на социальные нужды составляет 30,5 % от суммы заработной платы всех сотрудников. Отчисления на социальные нужды составляет: отчисления в пенсионный фонд 22 %, отчисление на социальное страхование 2,9%, отчисление на медицинское страхование 5,1 %. 0,5% страхование жизни, от несчастного случая.

Рассчитываем затраты на отчисление на социальные нужды по формуле:

$$Z_{o.c.n.} = 0,3 \cdot (Z_{ocn.ruk.} + Z_{ocn.инж.}), \quad (8)$$

где  $Z_{o.c.n.}$  – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$$Z_{o.c.n.} = 0,305 \cdot (122496 + 52800 + 10692) = 56726,34.$$

Таблица 24 – Смета затрат на выполнение НИР

Наименование затрат	Единицы измерения	Цена,руб.	Затраты на услугу, руб.
Материалы и оборудование:			
Сырье и материалы			6980
Оборудование			87700
Электроэнергия	кВт	2,7	32,56
Заработная плата:			
Руководитель	руб.		122496
Инженер	руб.		52800
Дипломник	руб.		10692
Отчисления на социальные нужды	руб.		56726
Содержание и эксплуатация оборудования:			
Амортизация	руб.		7100
Суммарные затраты	руб.		344526

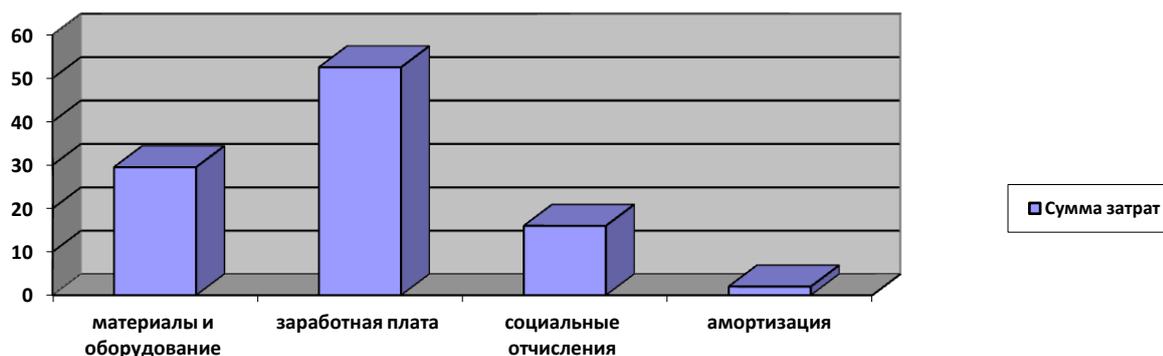


Рисунок 13 – Диаграмма суммы затрат на выполнение НИР

#### 4.9 Реестр рисков проекта

Идентифицированные проектные риски подразумевают в себе включение всевозможных неопределенных событий, которые могут появиться в проекте и вызвать определенные последствия, которые приведут к нежелательным побочным эффектам.

Таблица 24 – Реестр рисков

Риск	Потенциальное воздействие	Вероятность (1-5)		Уровень риска	Способы смягчения риска	Условия наступления
		Вероятность (1-5)	Влияние (1-5)			
Финансирования	Нехватка финансов для исследования в ТПУ	1	4	Средний	Привлечение внебюджетных средств	Не целевое использование бюджетных средств
Исполнитель	Невыполнение заданной работы в срок	2	5	Средний	Найти стороннюю организацию по оказанию аналогичных работ	Поломка оборудования, нехватка комплектующих, загруженность персонала

					ых услуг	
Расстановка приоритетов	Направлени е персонала на другие проекты	1	3	Низкий	Совмещени е двух проектов, изменение целей исследован ия	Подписание нового хоз. договора,

В целом, данный проект является перспективным с точки зрения ресурсопотребления, так как в отличие от аналогов в проекте предусмотрены меньшие затраты на себестоимость будущей продукции за счет использования лекарственно растительного сырья, базы которого находятся в Сибири.

#### Оценка сравнительной эффективности исследования

Таблица 25 – Группа затрат по статьям аналогов разработки

Вариант выполнения аналога	Сырье материалы	Специальное оборудование для экспериментальных работ	Стоимость электроэнергии	Основная заработная плата	Отчисление на социальные нужды	Плановая себестоимость
1	17000	150000	65	25050	76402,5	493967
2	19000	217300	78	30120	91866	629444

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\phi}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}}, \quad (9)$$

где  $I_{\phi}^p$  - интегральный финансовый показатель разработки;

$\Phi_{pi}$  – стоимость i-го варианта исполнения;

$\Phi_{\max}$  – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Найдем значение интегрального финансового показателя для всех вариантов исполнения научного исследования:

$$I_1^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{493967,5}{629444} = 0,78$$

$$I_2^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{354267,9}{629444} = 0.56 I_{\text{исс.}}^p = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\max}} = \frac{629444}{629444} = 1$$

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное удешевление стоимости затрат разработки в разы, то есть наша разработка обладает наименьшей стоимостью по сравнению с аналогами.

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования можно определить следующим образом:

$$I_m^a = \sum_{i=1}^n a_i b_i^a, \quad I_m^p = \sum_{i=1}^n a_i b_i^p \quad (10)$$

где  $I_m$  – интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов;  $a_i$  – весовой коэффициент  $i$ -го параметра;

$b_i^a$ ,  $b_i^p$  – бальная оценка  $i$ -го параметра для аналога и разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

$n$  – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности рекомендуется проводить в форме таблицы, пример которой приведен ниже.

Таблица 26 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Критерии \ ПО	Весовой коэффициент параметра	Текущий проект	Аналог 1	Аналог 2
1. Удобство в эксплуатации	0,2	5	4	3
2.Наличия оборудования	0,2	4	2	5
3.Экспрессность выполнения анализа	0,2	3	3	4
4. Энергосбережение	0,2	5	3	2
5 Материалоемкость	0,2	5	3	4
ИТОГО	1	4,4	3,0	3,6

Интегральный показатель эффективности разработки ( $I_{финр}^p$ ) и аналога ( $I_{финр}^a$ ) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{финр}^p = \frac{I_m^p}{I_\phi^p}, \quad I_{финр}^a = \frac{I_m^a}{I_\phi^a} \quad \dots \quad (11)$$

$$I_{фин.ис.}^p = \frac{I_m^p}{I_\phi^p} = \frac{4,4}{0,56} = 7,8 \quad I_{финр}^a = \frac{I_m^a}{I_\phi^a} = \frac{3,6}{0,78} = 4,6$$

Сравнение интегрального показателя эффективности текущего проекта и аналогов позволит определить сравнительную эффективность проекта. Сравнительная эффективность проекта:

$$\mathcal{E}_{ср} = \frac{I_{финр}^p}{I_{финр}^a} \quad (12)$$

$$\mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{финр}^p}{I_{финр}^a} = \frac{7,8}{4,6} = 1,7 \quad \mathcal{E}_{cp} = \frac{I_{финр}^p}{I_{финр}^a} = \frac{7,8}{3} = 2,6$$

где  $\mathcal{E}_{cp}$  – сравнительная эффективность проекта;  $I_{мэ}^p$  – интегральный показатель разработки;  $I_{мэ}^a$  – интегральный технико-экономический показатель аналога.

Таблица 27 – Сравнительная эффективность разработки

Показатели	Аналог 1	Разработка	Аналог 2
Интегральный финансовый показатель разработки	0,78	0,56	1
Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки	3,0	4,4	3,6
Интегральный показатель эффективности	3,0	7,8	4,6
Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1,7		2,6

Сравнение значений интегральных показателей эффективности показывают, что наша разработка более эффективный вариант решения поставленной в бакалаврской работе технической задачи с позиции финансовой и ресурсной эффективности.

## ГЛАВА 5 СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

В данной бакалаврской работе рассматривается безопасность и экологичность нахождения сотрудников в лаборатории. Безопасность включает в себя влияние опасных и вредных факторов, их анализ и меры их профилактики.

В настоящем разделе рассматриваются вопросы охраны труда, связанные с работой в лаборатории, а так же разрабатываются мероприятия по предотвращению воздействия на здоровье опасных и вредных факторов для работников лаборатории и создание безопасных условий труда для обслуживающего персонала. Научно-исследовательская работа по получению каллусной и суспензионной культуры *Delphinium elatum*, продуцентов фармакологически ценных алкалоидов.

В настоящее время химия является одной из наиболее развитых отраслей народного хозяйства. Современная химия насыщена опасными факторами: использование электроэнергии, высокого давления и глубокого вакуума, высоких и низких температур, разнообразных, агрессивных или токсичных соединений, большинство из которых обладают взрывоопасными и пожароопасными свойствами.

Одной из основных задач является внедрение на всех предприятиях и рабочих местах совершенных средств техники безопасности и безвредных условий труда, обеспечения санитарно-гигиенических условий, устраняющих производственный травматизм и профессиональные заболевания. Все вышесказанное в полной мере относится и к химическим лабораториям высших учебных заведений.

## **5.1 Анализ вредных и опасных факторов**

В соответствии с ГОСТ 120003-74 опасных и вредных факторов, которые воздействуют на оборудование при его эксплуатации, классификацию проводят по трем основным аспектам:

а) поражения полученные при нарушении изоляции проводов или при соприкосновении с открытыми токоведущими частями электрооборудования;

б) санитарно-гигиеническое состояние: использование нерациональных осветительных установок, содержание в воздухе отравляющих и вредных веществ;

в) организационно-технические: нерациональное использование рабочего места и труда (загроможденность используемого помещения, наличие ненужных и отсутствие необходимого оборудования и приспособлений), недостаточная квалификация работников по правилам техники безопасности.

Изучение всевозможных причин получения производственных травм предоставляет возможность разработать меры по их предотвращению. Одним из главных аспектов является установленные научно обоснованные нормы гигиены труда.

## **5.2 Анализ опасных и вредных факторов**

На всех этапах выполнения данная работа связана с использованием вредных и отравляющих веществ.

Опасные вещества проникают в организм человека в основном через дыхательную систему, а также через кожный покров и пищу. Воздействие данных отравляющих веществ определяют не только свойствами самого вещества, но и особенностями организма человека.[35]

Таблица 28 – Характеристика веществ, применяемых для работы

Вещества	Физические свойства	ПДК, мг/м <sup>3</sup>	Класс Опасности	Общая характеристика токсического действия
Нитрат аммония	Кристаллическое вещество белого цвета	Более 10	4	Вдыхание пыли нитрата аммония не приносит большого вреда, однако при попадании на части тела человека, которые имеют повышенную потливость, может вызывать дерматит и раздражение.
Нитрат калия	Бесцветные кристаллы	1,1-10,0	3	Опасен при вдыхании, попадании на кожу и в глаза.
Кальций хлористый 2-водный	Пористые кусочки белого цвета	1,1-10,0	3	При систематическом воздействии раздражает и осушает кожу, особенно раздражающе действует на слизистые оболочки верхних дыхательных путей и глаз.
Магний сернокислый 7-водный	Белый кристаллический порошок	Более 10	4	При попадании на кожу вызывает кожные заболевания.
Калий фосфорнокислый 1-замещенный	Порошок белого цвета	1,1-10,0	3	Вызывают злокачественные образования, заболевания ЖКТ
Иодид калия	Белый или грязно-белый кристаллический порошок.	1,1-10,0	3	Может привести к угнетению функции щитовидной железы, гастроэнтерит
Борная кислота	Бесцветное кристаллическое вещество в виде чешуек	1,1-10,0	3	Нарушают клеточный обмен, в особенности обмен нервных клеток.

Марганец сернокислы й	Кристаллы от белого до розового цвета	1,1-10,0	3	Вызывает заболевания ЖКТ
-----------------------------	---	----------	---	--------------------------

Цинк сернокислый 7-водный	Бесцветные прозрачные призматические кристаллы	0,1-1,0	2	Повышают заболеваемость органов дыхания, пищеварения, кровообращения
Натрий молибденовокислый 2-водный	Белый кристаллический порошок	1,1-10,0	3	Действует на нервную систему, нарушает обмен веществ
Медь сернокислая 5-водная	Порошок, состоящий из кристалликов лазурно-синего цвета.	1,1-10,0	3	Вызывает желудочно-кишечные расстройства, кашель, затрудненное дыхание, боли в животе, тошнота, рвота, покраснение кожи, боль, отек, краснота, слезотечение.
Кобальт хлористый(I) 6-водный	Красно-фиолетовые кристаллы	0,1-1,0	2	Потерю аппетита, рвоту, покраснение лица и конечностей, а также острый дерматит.
Железо сернокислое 7-водное	Зеленовато-голубые кристаллы	1,1-10,0	3	Вызывает тошноту, рвоту, диарею, незначительное раздражение кожи.
Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты	Белый кристаллический порошок	0,1-1,0	2	Может вызвать раздражение кожных покровов, слизистых оболочек глаз и дыхательных путей и симптомы бронхита.
Серная кислота	Маслянистая прозрачная жидкость	0,1-1,0	2	Раздражает дыхательные пути, вызывает ожоги кожи

Хлороформ	Бесцветная летучая жидкость	0,1-1,0	2	Вызывает поражения печени и почек
Хлорид натрия	Белое твёрдое вещество	1,1-10,0	3	Вызывает гипертонию, мигрень, набор лишнего веса
Гидроксид аммония	Водный раствор аммиака	1,1-10,0	3	Раздражает слизистую оболочку пищеварительного тракта
Никотиновая кислота	Прозрачная жидкость	Более 10	4	Аллергические реакции, раздражения
Пиридоксин -HCl	Прозрачная жидкость	Более 10	4	Аллергические реакции, развивается анемия, нарушается координация движений и появляется онемение конечностей
Тиамин -HCl	Прозрачная жидкость	Более 10	4	Аллергические реакции и спазматические головные боли, тошнота, рвота, крапивница
Глицин	Кристаллический продукт светло-серого или белого цвета.	1,1-10,0	3	Аллергические реакции, при длительном применении может провоцировать образование камней в почках.
Сахароза	Бесцветные кристаллы	Более 10	4	Может обострить астму; вызывать психические заболевания; повышать количество перепадов настроения; питать нервные расстройства.

Агар-агар	Порошок бело-желтого цвета	Более 10	4	Может привести к обильной и продолжительной диарее, а также существует риск нарушения бактериального соотношения в кишечнике - а это может стать причиной возникновения различных инфекций.
-----------	----------------------------	----------	---	---

Снизить содержание вредного вещества в воздухе рабочей зоны позволяют следующие мероприятия:

1. Исключить использование или заменить вредное вещество менее вредным.
2. Герметизация оборудования.
3. Устройство различных систем вентиляции.
4. Использовать средства индивидуальной защиты (респираторы, резиновые перчатки, спецодежда).

### **5.3 Микроклимат**

Микроклимат производственной среды в соответствии с ГОСТ 12.1.005-88 подразумевает сочетание температур, относительную влажность воздуха и интенсивность тепловых излучений. Приведенные параметры оказывают влияние на функциональные возможности деятельности человека, его здоровье, надежность работы и самочувствие.

В лаборатории, где проводят основные испытательные работы могут возникнуть факторы, влияющие на отклонение нормы влажности и температуры. Это приводит к дискомфортным условиям работы. Для создания комфортного рабочего места необходимо оснастить его мягким креслом.

По энерго затратам организма работу разделяют на три категории тяжести. Работу, лаборантов – разработчиков, относят к категориям легких. Те минимально допустимые значения микроклимата для этого случая приведены в таблице 28, согласно СанПиН 2.2.4.548 – 96 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений».

Таблица 29 – Основные требования к микроклимату

Временной период	Категории работ по уровню энерго затрат, Вт	Температура, °С	Относительная влажность, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	Ia (до 139)	20 – 22	15 - 60	0,1
Теплый	Ia (до 139)	22 – 23	15 - 75	0,1

Температура в рабочей зоне поддерживается отоплением в холодный период года и вентиляцией в теплый период.

Для того чтобы поддерживать нормальные параметры микроклимата в лаборатории необходимо установить:

- устройство систем вентиляции;
- кондиционирование воздуха. [36]

В лаборатории используется вентиляция, предназначенная для удаления из рабочей зоны загрязненного воздуха. В работающих условиях есть как естественная вентиляция, осуществляющаяся через окна, двери, форточки и искусственная, которая представлена в виде местной вентиляции – вытяжной, где загрязненный воздух удаляется от места его возникновения вентиляторами. Для этого применяют вытяжной шкаф, внутри которого проводят работу с химическими реактивами.

Помещение, где находится рабочее место, должны соответствовать нормам, количеству размещенного в нем оборудованию и размерам (объем, площадь) по количеству рабочих мест.

Нормальные условия труда согласно СанПиН 2.2.4.548 – 96 (Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений) устанавливает, что на одно рабочее место должно отводиться не менее 4,5 м<sup>2</sup> площади в помещении и 20 м<sup>3</sup> воздуха. Площадь данного помещения составляет 30 м<sup>2</sup>, объем 100 м<sup>3</sup>. В данном помещении работают 4 человека, соответственно на одного человека приходится 6,6 м<sup>2</sup> и 25 м<sup>3</sup> воздуха. Это соответствует санитарным нормам.

#### **5.4 Освещенность**

Применение на рабочих местах одного местного освещения не допускается. Общее же равномерное освещение применяется для тех помещений, где работа производится по всей площади, и нет необходимости в лучшем освещении отдельных участков.

Система общего локализованного освещения применяется тогда, когда в производственном помещении есть участки, на которых проводятся работы с высоким зрительным напряжением.

Система комбинированного освещения применяется в помещении, где выполняются точные зрительные работы; в случае необходимости определённого, изменяемого в процессе работы направления света, а так же в помещениях с не высокой плотностью распределения рабочих мест.

##### **5.4.1 Выбор осветительных приборов**

При выборе осветительного оборудования необходимо учесть условия среды, светотехнические требования и экономические показатели.

Люминесцентные лампы - открытые двухламповые светильники типа ОД, ОЛОП, ОДО, ШОД, ООД - для нормальных помещений с хорошим отражением стен и потолка; их применение допускается при умеренной влажности и запыленности.

При выполнении измерений в лаборатории освещенность рабочего места должна быть согласно СНиП 25-05-95 в пределах 400 лк. Обеспечить это требование естественным освещением практически невозможно, поэтому должно применяться комбинированное освещение. В данной лаборатории для освещения применяются люминесцентные лампы низкого давления с исправленной цветностью ЛДЦ и дневного света ЛД со светильниками рассеянного типа ОД.

Контроль искусственного и естественного освещения производственных помещений необходимо проводить не реже одного раза в год при помощи люксметра.

## **5.5 Виброакустические факторы**

Вибрации и шум, ухудшающие условия труда, оказывают вредоносное воздействие на человека. При продолжительном воздействии шума на организм происходят нежелательные явления:

- снижение зрения и слуха;
- повышение кровяного давления;
- снижение уровня внимания.

Измерение шума проводят с целью оценки его на рабочих местах или рабочих зонах для сопоставления с требованиями санитарных норм, а также для оценки шумовых характеристик оборудования, с целью разработки мероприятий по борьбе с шумом. Оценка шума производится с использованием частотного спектра измеренного уровня звукового

давления, выражаемого в дБ в активных полосах частот, которые сравнивают с предельными спектрами.

Уровни шума не должны превышать значений установленных в ГОСТ 12.1.003 – 83 и ГОСТ 17187 – 81, и проводится не реже двух раз в год.

По СН 3223 – 85 нормируются параметры шума и составляют:

для лаборатории ПДУ составляет 75 Дб;

для вентиляции ПДУ составляет 70 Дб.

По уровню шума, локальной и общей вибрации инфра и ультра звука данная лаборатория с вышеперечисленным оборудованием относится к допустимому классу, ПДУ <25 дБА, что соответствует требованиям безопасного нахождения в лаборатории установленного в этом стандарте. Контроль шума осуществляется шумером.

## **5.6 Электробезопасность**

Основной причиной воздействия электрического тока на организм человека являются: напряжение, возникнувшее в результате повреждения изоляции на металлических частях оборудования. Наибольшую опасность при эксплуатации электрических устройств и проведении ремонтно-профилактических работ представляет поражение электрическим током вследствие присоединения к токоведущим частям аппаратуры и к частям прибора, находящимся под напряжением.

Поражающее воздействие электрического тока напрямую зависит от длительности и значения протекания электрического тока через организм человека, частоты и рода тока, места прохождения через тело человека, индивидуального состояния человека. Наибольшую опасность для организма человека представляет переменный ток с частотой от 20 до 100 Гц.

Мероприятия, проводимые для устранения факторов поражения электрическим током:

а) все лица, приступающие к работе с электрооборудованием, проходят инструктаж на рабочем месте, допуск к самостоятельной работе разрешается лишь после проверки знаний техники безопасности;

б) осуществляется постоянный контроль качества и исправности защитных приспособлений и заземлении, ремонтно-наладочные работы на действующих электроустановках производится только с использованием защитных средств;

в) эксплуатация электроустановок предусматривает введение необходимой технической документации; обеспечивается недоступность к токоведущим частям, находящимся под напряжением; корпуса приборов и электроустановок заземляются;

Установление предельно допустимых уровней (ПДУ) напряжения и тока согласно ГОСТ 12.1.038 – 82. Защитные мероприятия от поражений электрическим током – защитное заземление ГОСТ 12.1.030-81. Принцип действия защитного заземления: человек должен стоять внутри контура заземления и при попадании фазного напряжения на заземленный корпус прибора, под фазным напряжением окажется как корпус прибора, так и участок земли, на которой стоит человек.

## **5.7 Расчет электрического освещения**

Для создания благоприятных условий труда важное значение имеет рациональное освещение. Недостаток освещения рабочего места затрудняет проведение работ, ведет к ухудшению зрения, снижению производительности труда и может явиться причиной несчастных случаев.

Для нормальной зрительной работы без перенапряжения глаз используется в лаборатории как общее искусственное, так и местное, то есть комбинированная система освещения СНиП II-4-79. Освещение рабочего

места должно быть близким по спектральному составу к солнечному свету как наиболее гигиеничному; достаточным и соответствовать СНиП II-4-79; равномерным и устойчивым; без резких теней и блеклости в поле зрения; соответствующей цветности и не являться источником дополнительных вредных и опасных факторов (по избыткам тепла, шуму, электро- и пожароопасности) [37].

Наименьший объект различия 0,5-1 мм, что соответствует зрительной работе средней точности, разряд работы – IV. По задачам зрительной работы лаборатория относится к помещениям группы I в соответствии с СНиП II-4-79.

Рассчитаем искусственное освещение на рабочем месте методом светового потока. Применим формулу:

$$F = \frac{E_n \cdot S \cdot Z \cdot K}{N \cdot \eta \cdot n}, \text{ лм,} \quad (13)$$

или 
$$N = \frac{E_n \cdot S \cdot Z \cdot K}{F \cdot \eta \cdot n} \quad (14)$$

где  $F$  – световой поток одной лампы в люменах;

$E_n$  – нормируемая освещенность;

$S$  – площадь аудитории, м<sup>2</sup>;

$K$  – коэффициент запаса;

$Z$  – поправочный коэффициент, учитывающий неравномерность освещенности в аудитории примем равным 1,1);

$\eta$  – коэффициент использования осветительной установки;

$N$  – число светильников;

$n$  - число ламп в светильнике.

Расчет общего освещения выполняем в следующей последовательности:

1. Выбрать систему освещения.
2. Обосновать нормированную освещенность на рабочих местах заданного объекта.

3. Оценить коэффициент запаса освещенности,  $k$ , и коэффициент неравномерности освещения,  $Z$ .
4. Выбрать источник света.
5. Оценить коэффициенты отражения поверхностей в помещении (потолка, стен, пола),  $r$ .
6. Рассчитать индекс помещения  $i$ .
7. Найти коэффициент использования осветительной установки,  $\eta$ .
8. Рассчитать требуемое количество светильников,  $N$ , или световой поток лампы,  $F$ , которые необходимы для обеспечения на объекте требуемой освещенности  $E_n$ .

### **Выбор системы освещения**

Выбор системы освещения зависит, прежде всего, от такого важнейшего фактора, как точность выполняемых зрительных работ (наименьший размер объекта различения), согласно действующим нормам при выполнении работ I – IV разрядов следует применять систему комбинированного освещения. Выбор системы освещения производится одновременно с выбором нормированной освещенности.

### **Выбор нормированной освещенности**

Количественные и качественные показатели искусственного освещения определяют согласно действующим нормам СНиП II-4-79.

По задачам зрительной работы лаборатория относится к помещениям группы I в соответствии с СНиП II-4-79.

Примем значение нормируемой освещенности для средней точности IV разряд 300 лк. [38]

### **Выбор источников света**

Определяющими параметрами при выборе экономичного источника света являются строительные параметры, архитектурно-планировочное решение, состояние воздушной среды, вопросы дизайна и экономические соображения.

В данной аудитории источником света являются люминесцентные лампы (светильник растровый встраиваемый на 4 люминесцентные лампы 18 Вт тип ARS/R 4x18 W, лампы люминесцентные 18 Вт, в одном встраиваемом растровом светильнике 4 лампы  $F = 1150$  лм).

Основным достоинством люминесцентных ламп их высокая светоодача, до 75 лм/Вт и срок службы до 10000 ч, хорошая цветопередача, низкая температура. Хотя они дорогие, требуют специалистов для их обслуживания, имеют сложную пусковую аппаратуру, иногда шумят, мигают, при их утилизации возникают проблемы.

В помещениях высотой до 6 м рекомендуется применять люминесцентные лампы.

### **Коэффициент запаса**

Коэффициент запаса  $K$  зависит от содержания пыли и состояния среды в помещениях, частоты чисток светильников или остекления светопроемов, сменности работ в аудитории, принимает значения от 1,2 до 2.0 (примем равным 1,25).

### **Коэффициент неравномерности освещенности $Z$**

Коэффициент неравномерности освещенности  $Z$  характеризует неравномерность освещения. Он является функцией многих переменных, точное его определение затруднительно, но в наибольшей степени он зависит от отношения расстояния между светильниками к расчетной высоте ( $L / h$ ).

### **Коэффициент использования светового потока**

Для определения коэффициента использования светового потока  $\square$  находят индекс помещения  $i$  и предполагаемые коэффициенты отражения поверхностей помещения: потолка  $rp$ , стен  $rc$ , пола  $rp$ .

Выбираем для производственных помещений с незначительными пылевыделениями:

$$rp = 50\%, rc = 30\%, rp = 10\%.$$

### **Расчет**

Аудитория:  $H = 5,0$  м;  $L = 8,2$  м;  $B = 5$  м.

Высота подвеса светильника – 0,5 м; рабочая поверхность стола на уровне 0,8 м от пола.

Площадь аудитории: ( $B \times L = 41 \text{ м}^2$ ).

Индекс помещения:

$$i = 8,2 \times 5 / [3,7(8,2 + 5)] = 41 / (3,7 \times 13,2) = 0,84.$$

По справочнику выбираем коэффициент использования светового потока  $\eta=0,31$ .

Определяем необходимое количество ламп для заданного светового потока  $F = 1150 \text{ лм}$ :

$$N = \frac{300 \cdot 41 \cdot 1,1 \cdot 1,25}{1150 \cdot 0,31 \cdot 4} = 11,86 \approx 12 \quad [39].$$

## 5.8 Техника безопасности при проведении эксперимента

В ходе проведения исследований необходимо соблюдать технику безопасности, во избежание несчастных случаев.

Чтобы избежать воздействия опасных и вредных факторов, необходимы организационные, профилактические мероприятия. Без ознакомления с инструкцией по технике безопасности перед выполнением НИР, работа в лаборатории запрещена.

При работе в лаборатории согласно Техническому Регламенту «О безопасности средств индивидуальной защиты», сотрудники и студенты должны иметь специальную одежду: халат, обувь, а также при необходимости средства индивидуальной защиты (очки, перчатки). [40]

При проведении НИР используется серная кислота и щелочь –  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Щелочи и кислоты в большинстве случаев относят к веществам с повышенной опасностью и способным вызывать химические ожоги и отравления.

Для работ с ними необходимо соблюдать следующие требования:

1. Кислоты и щелочь следует переливать с помощью ручных насосов или сифонов с грушей.
2. Разливать концентрированную кислоту необходимо в вытяжном шкафу при включенной вентиляции.
3. Приготовление растворов серной кислоты необходимо приливать в воду тонкой струйкой кислоту при перемешивании. Приливать воду в кислоту запрещается.
5. Разлитые кислоты или щелочи необходимо засыпать песком и лишь после этого производить уборку.

### **5.9 Охрана окружающей среды**

В настоящее время в нашей стране уделяется большое внимание организации разумного взаимодействия природы и общества. Комплексное использование сырья прогрессивно с точки зрения экономики и охраны окружающей среды. Специфической чертой развития является ориентация на безотходное производство.

Вредные вещества могут попадать в окружающую среду по сточным водам в виде пыли, дыма, газа, твердых отходов производства.

Необходимо совершенствовать технологические процессы с целью сохранения окружающей среды от вредных выбросов. Комплексное использование сырья прогрессивно с позиции экологии. Разработаны безотходные технологии, позволяющие вернуть отходы вновь в производство.

При выполнении научно-исследовательской работы был использован реактив хлороформ – это бесцветный яд с резким запахом, который медленно разлагается под действием ультрафиолетовых лучей и кислорода. Остатки хлороформа после проведения работ утилизируются специальной организацией.

## **5.10 Требования безопасности в аварийных ситуациях**

Одним из важнейших факторов в безопасности жизнедеятельности людей является подготовленность к чрезвычайным ситуациям.

Чрезвычайная ситуация (ЧС) – это совокупность таких обстоятельств, которые сопровождаются разрушениями зданий, сооружений, материальных ценностей, поражению и гибелью людей.

Чрезвычайную ситуацию можно квалифицировать следующим образом:

1. ЧС, связанная с производственными авариями (пожары, взрывы, выброс вредных веществ в окружающую среду)
2. ЧС, связанная со стихийными бедствиями (землетрясения, наводнения, ураганы, смерчи, снежные бури, заносы, оползни, обвалы, эпидемии, лесные и торфяные пожары).
3. ЧС конфликтного характера (вооруженное нападение, выступление экстремистских групп вызванные волнения в отдельных районах).

При выполнении дипломной работы может возникнуть чрезвычайная ситуация замыкание проводки и возгорание. По возможности, пламя необходимо потушить песком, но перед этим необходимо сообщить руководителю. Соблюдая все правила с электрическим оборудованием можно избежать ЧС.

## **5.11 Пожарная безопасность**

Все лабораторные помещения должны соответствовать требованиям пожарной безопасности согласно ГОСТ 12.1.004-91 и иметь необходимые средства противопожарной безопасности согласно ГОСТ 12.4.009-83. Помещения лабораторий по степени пожароопасности относятся к классу П-

2, так как в нем присутствует выделение пыли и волокон во взвешенном состоянии (в ред. Федерального закона от 10.07.2012 N 117-ФЗ). Лаборатории должны быть оснащены пожарными кранами (в количестве не менее одного на этаж) с пожарными рукавами необходимой длины. Каждое рабочее помещение должно быть оснащено песком и огнетушителями, а помещения с легковоспламеняющимися и огнеопасными веществами - дополнительными средствами пожаротушения. На видном в помещении лаборатории должен быть висеть план эвакуации. Необходимо назначить из числа сотрудников группу (2 - 5 человек), которая сможет организовать мероприятие противопожарной безопасности, получив предварительно инструктаж от местной команды пожарных. Каждый сотрудник лаборатории должны быть ознакомлен с правилами обращения с взрыво- и огнеопасными веществами, газовыми приборами, а также использовать противогаз, огнетушитель и другие средства пожаротушения, имеющимися в наличие лаборатории. В лаборатории, а также в непосредственной близости от них (под лестницами, в коридорах) строго запрещается хранение горючих материалов, и установление предметов, загромождающих пути эвакуации и доступа к средствам пожаротушения. Курение разрешается только в специально отведенных и оборудованных зонах. Курение в лаборатории воспрещается. Отсутствие разрешения начальника или сотрудника, отвечающего за противопожарную безопасность, запрещается установление нагревательных и лабораторных приборов, запуск в эксплуатацию. Нагревательные приборы необходимо установить на термостойкую подставку. Строго запрещена эксплуатация неисправных нагревательных и лабораторных приборов. Сотрудники лаборатории, заметивший задымление, пожар или другие признаки пожара обязаны:

- незамедлительно сообщить в пожарную часть по телефону;
- принять всевозможные меры по недопущению распространения огня;
- известить начальника лаборатории, в свою очередь который обязан известить сотрудников, принять меры по ликвидации пожара к их эвакуации.



исключением щелочноземельных элементов, а также электроустановок под напряжением до 1000 В. При загорании снять огнетушитель, поднести к очагу загорания, не менее 1 метра, прочистить спрыск иглой или гвоздем, повернуть рычаг до отказа до 180°, перевернуть огнетушитель вверх дном и направить струю на огонь. Действие огнетушителя 60 секунд, длина струи пены 6-8 метров. Выход пены из огнетушителя 50 литров.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе работы получена каллусная и суспензионная культура *Delphinium elatum*.

2. Наиболее оптимальными условиями для получения каллусной культуры *Delphinium elatum* является температура окружающей среды 28-30 С, дневной свет, механическая обработка семян, стратификация семян в течение 46 часов, питательная среда МС с добавлением гормонов 2,4 – дихлорфеноксиуксусная кислота(2,4-Д) 0,00015 г, 6-бензиламинопурин (БАП) 0,000015 г , 1 – нафтилуксусная кислота (НУК) 0,0003г.

3. Наиболее оптимальными условиями для получения суспензионной культуры *Delphinium elatum* является температура окружающей среды 28-30 С, дневной свет, механическая обработка семян, стратификация семян в течение 48 часов, питательная среда МС с добавлением гормонов 2,4 – дихлорфеноксиуксусная кислота(2,4-Д) 0,00015 г, 6-бензиламинопурин (БАП) 0,000015 г , 1 – нафтилуксусная кислота (НУК) 0,0003г, скорость перемешивания 120 об/мин.

4. Определены ресурсная (ресурсосберегающая), финансовая, социальная и экономическая эффективности исследования. Рассчитаны затраты на материалы и бюджет научно-исследовательского проекта.

5. Рассмотрены вредные факторы, возникающие в процессе работы и возможность защиты от них.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. Асташкина А.П., Манькова А.А.. Получение каллусной культуры *Delfinium Elatum*, продуцента фармакологически ценных алкалоидов. Сборник материалов XVI Всероссийской научно-практической конференции им. Проф. Л.П. Кулева студентов и молодых ученых с международным участием «Химия и химическая технология в XXI веке». - Томск, 2016. Том.1-С. 300-301.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Агапова Н. Д. Семейство лютиковые (Ranunculaceae) // Жизнь растений. Т. 5, М., 1980. — 210—216с.
2. Губанов И. А. и др. 594. *Delphinium elatum* L. Живокость высокая // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 томах // М., 2003.- 209с.
3. Дідух Я.П. Экофлора Украины // Т. 2. 2004. - 480с.
4. Асеева Т. А., Тармаева З. В., Логина О. В. Ресурсы лекарственных растений Бурятии// Растительные ресурсы Забайкалья и их использование. – Улан-Удэ, 1987. – 41–61 с.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование: Семейство Magnoliaceae – Limoniaceae. // Л.: Наука, 1985. – 37 с.
6. Тарханов И. Р., Яды сердечные //Энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона : в 86 т. (82 т. и 4 доп.). — СПб., 1907. - 160с.
7. Фруентов Н. К., Кадаев Г. Н. Ядовитые растения: Медицинская токсикология растений Дальнего востока. // Хабаровское книжное издательство, 1971. – 256 с.
8. Хайдав Ц. Лекарственные растения, применяемые в монгольской народной медицине // Тез. докл. 41-ой итог. научной конференции. – Черновцы, 1965. – 43–45 с.
9. Громова Н. Ю., Косивцов Ю. Ю., Сульман Э. М. Технология синтеза и биосинтеза биологически активных веществ: Учебное пособие. — Тверь: ТГТУ, 2006. — 84 с.
10. Кнунянц И. Л. Флавоноиды/ Химическая энциклопедия. — М.: Советская энциклопедия, 1990. – 54с.
11. Тейтор Г. Основы органической химии для студентов нехимических специальностей: Пер. с англ.-М.: Мир, 1989. – 384 с.
12. Орехов, А.П. Химия алкалоидов / АН СССР, Отделение хим. наук. - 2-е изд., испр. и доп. Р.А. Коноваловой и А.А. Коноваловой. - М: изд-во АН СССР, 1955. - 859 с.

13. Джахангиров, Н. Туляганов, Ф. Сатритдинов // Фармакология алкалоидов и их производных. – Ташкент, 1972. – 146 – 152 с.
14. Муравьева Д.А. Фармагнозия.// Учебник 3-е изд.-е. М.: Медицина 1981. - 655с.
15. Бабикова А.В., Горпенченко Т.Ю., Журавлев Ю.Н.. Растение как объект биотехнологии.// Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток, 2007 Вып. LV.
16. Катаева Н.В., Аветисов В.А. Клональное размножение в культуре ткани // Культура клеток растений. М.: Наука, 1981. - 137-149с.
17. Быкова В. А. и Далина М. В.Биотехнология лекарственных средств.// Учебное пособие. – М.: Медбиоэкономика– 303с.
18. Хиггинса И., Беста Д., Джойса Дж. Биотехнология. Принципы и применения./ Под ред.– М.: Мир. – 1988.
19. Егорова Н. С., Самуилова В. Д. Биотехнология.// Учебное пособие для ВУЗов. В 8 кн.– М.: Высшая школа. – 1987.
20. Айала Ф., Кайчур Д. Современная генетика/ Под ред.– М.: Мир. – 1987.
21. Вечтомова С. Г. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии - Л.: Наука. 1986.
22. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука, 1986.
23. Murashige T. Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture / T. Murashige, F.A. Skoog //Physiol. Plant. - 1962. - V. 15, № 13. - P. 473-497.

24. Цыренов В.Ж. Основы биотехнологии: Культивирование изолированных клеток и тканей растений: Учебно-методическое пособие. – Улан-Удэ: ВСГТУ, 2003. - 112с.
25. Виестур У.Э., Шмите И.А., Жилевич А.В. Биотехнология. Биологические агенты, технология, аппаратура// изд. Зинатне, Рига, 1987 . - 263с.
26. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений – М Наука, 1983. – 131с.
27. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. – М.: Колос, 1992. – 98с.
28. Шевелуха В.С., Калашникова С.В., Дегтярев С.В. и др. Сельскохозяйственная биотехнология – М.: Высшая школа, 1998. – 135с.
29. Петров А. А. Изучение противоопухолевых свойств индивидуальных алкалоидов и остатков сумм оснований аконита узкошлемного // Вопр. клинич. и эксперим. онкологии: Тр. Киргизского НИИ онкологии и радиологии. – Фрунзе, 1972. – Т. 8. – 267–269 с.
30. Химический анализ лекарственных растений : справочное пособие // под ред. проф. Гринкевич Н. И. – М. : Высшая школа. – 1991. – 148 с.
31. Дитерпеноидные алкалоиды как новый класс антиаритмических средств / Ф. Н. Джахангиров, М. Н. Султанходжаев, Б. Т. Ташходжаев, Б. Т. Салимов // Химия природ. соед. – 1997. – № 2. – 254–270 с.
32. Ефремова Н. А. Лекарственные растения Камчатки и Командорских островов / Н. А. Ефремова. // Петропавловск-Камчатский, 1967. – 122 с.
33. Шретер А. И. Лекарственная флора Дальнего Востока. // М.: Медицина, 1975. – 337 с.
34. Гром И. И. Сведения о лекарственных растениях народной медицины Коми АССР // Вопросы фармакогнозии. – Л., 1955. – Вып. 3. – 199–214 с.

35. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения). Методические рекомендации ПНД Ф 12.13.1-03 (УТВ. ФГУ «Центр экологического контроля и анализа» 04.09.2003)
36. Расчёт искусственного освещения. Методические указания к выполнению индивидуальных заданий для студентов дневного и заочного обучения всех направлений и специальностей ТПУ. – Томск: Изд. ТПУ, 2008. – 20 с
37. СанПиН 2.2.4.548-96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений.
38. СНиП II-4-79. Естественное и искусственное освещение. Нормы проектирования.-М.: Стройиздат, 1980.- 48 с.
39. Строительные нормы и правила СНиП 23-05-95. Естественное и искусственное освещение (утв. постановлением Минстроя РФ от 2 августа 1995 г. N 18-78) (с изменениями от 29 мая 2003 г.).
40. Технический регламент «О безопасности средств индивидуальной защиты» №1213-ФЗ от 24.12.2009.
41. Технический регламент «О требованиях пожарной безопасности» № 123-ФЗ от 22 июля 2008 года.