

Министерство образования и науки Российской Федерации
 федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Школа новых производственных технологий
 Направление подготовки 19.04.01 Биотехнология, профиль Биотехнология
 Отделение школы (НОЦ) Н.М. Кижнера

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

| Тема работы |
|---|
| Исследование влияния фенолгликозидов на метаболические процессы в дрожжах УДК 547.918:577.124.22:663.12 |

Студент

| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
|--------|------------------------|---------|----------|
| 4ДМ61 | Болат Акерке Болаткызы | | 17.05.18 |

Руководитель ВКР

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|-------------------------|--------------|------------------------|---------|---------|
| доцент НОЦ Н.М. Кижнера | Белянин М.Л. | к.х.н., доцент | | 4.06.18 |

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|--|----------------|------------------------|---------|------------|
| Доцент отделения социально-гуманитарных наук | Криницына З.В. | к.т.н., доцент | | 24.05.2018 |

По разделу «Социальная ответственность»

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|--|-----------------|------------------------|---------|----------|
| Профессор отделения контроля и диагностики ИШНКБ | Ахмеджанов Р.Р. | д.б.н., профессор | | 19.05.18 |

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

| Руководитель ООП | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|----------------------------|--------------|------------------------|---------|---------|
| Профессор НОЦ Н.М. Кижнера | Потапов А.С. | д.х.н., профессор | | 4.06.18 |

Томск – 2018 г.

Планируемые результаты обучения
по ООП 19.04.01 «Биотехнология» (магистр)
профиль «Биотехнология»

| Код результата | Результат обучения (выпускник должен быть готов) |
|--|---|
| <i>Профессиональные компетенции</i> | |
| P1 | Профессионально эксплуатировать современные биотехнологические производства, обеспечивая их высокую эффективность и безопасность |
| P2 | Разрабатывать и внедрять новые биотехнологические процессы и оборудование в рамках проектирования новых и усовершенствования действующих производств |
| P3 | Проводить теоретические и экспериментальные исследования в различных областях прикладной биотехнологии |
| <i>Универсальные компетенции</i> | |
| P4 | Ставить и решать задачи инженерного анализа для создания инновационных биотехнологических процессов и продуктов |
| P5 | Эффективно организовывать и участвовать в работе коллективов, в том числе международных, демонстрировать ответственность за результаты инженерной деятельности |
| P6 | Демонстрировать глубокие знания социальных, этических и правовых аспектов инновационной инженерной деятельности, компетентность в вопросах устойчивого развития |
| P7 | Постоянно повышать интеллектуальный и общекультурный уровень и профессиональную квалификацию, способствовать обучению персонала |

Министерство образования и науки Российской Федерации
 федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Школа Инженерная школа новых производственных технологий
 Направление подготовки (специальность) 19.04.01 Биотехнология
 Отделение школы (НОЦ) Н.М. Кижнера

УТВЕРЖДАЮ:
 Руководитель ООП
 12.03.18 Потапов А.С.
 (Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ
на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

| |
|--------------------------|
| магистерской диссертации |
|--------------------------|

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

| Группа | ФИО |
|--------|------------------------|
| 4ДМ61 | Болат Акерке Болаткызы |

Тема работы:

| | |
|---|-----------------------|
| Исследование влияния фенолгликозидов на метаболические процессы в дрожжах | |
| Утверждена приказом директора (дата, номер) | №1531/с от 06.03.2018 |

| | |
|--|---------------|
| Срок сдачи студентом выполненной работы: | 02.06.2018 г. |
|--|---------------|

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

| | |
|---|--|
| <p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p> | <p><i>Объектом исследования являются фенолгликозиды и их агликоны, и некоторые производные фенолкарбоновых и коричных кислот. Вид сырья – химические соединения. Лаборатория органического синтеза при правильном функционировании не является особо опасным объектом воздействия на окружающую среду. При работе с токсичными веществами необходимо использовать СИЗ (перчатки, очки), спецодежду (халат); соблюдение правил пожарной безопасности.</i></p> |
| <p>Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов</p> <p><i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования;</i></p> | <p><i>Изучение литературных источников; постановка задачи исследования; протестирование соединения (фенолгликозиды и их агликоны, и некоторые производные фенолкарбоновых и коричных кислот) на процесс гликолиза cerevisiae; анализ полученных результатов; Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение, социальная ответственность; заключение по</i></p> |

| | | |
|--|--|--------------------------|
| содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе). | | исследовательской работе |
| Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i> | | 16 рис., 30 табл. |
| Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i> | | |
| Раздел | Консультант | |
| Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение | Креницына З.В. Доцент отделения социально-гуманитарных наук ШБИП, к.т.н. | |
| Социальная ответственность | Ахмеджанов Р.Р. Профессор отделения контроля и диагностики ИШНКБ, д.б.н. | |
| Иностранная часть | Кобзева Н.А. Старший преподаватель отделения иностранных языков ШБИП. | |
| Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках: | | |
| 1 Обзор литературы | | |
| 2 Гликолиз - один из центральных метаболических путей у большинства организмов | | |
| Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику | | 29.01.2018 г. |

Задание выдал руководитель:

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|-------------------------|--------------|------------------------|---|----------|
| доцент НОЦ Н.М. Кижнера | Белянин М.Л. | к.х.н. |  | 29.01.18 |

Задание принял к исполнению студент:

| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
|--------|------------------------|---|----------|
| 4ДМ61 | Болат Акерке Болаткызы |  | 29.01.18 |

Реферат

Выпускная квалификационная работа состоит из --- стр., 16 рис., 30 табл., 32 источников.

Ключевые слова: описторхоз, гликолиз, *S.cerevisiae*, фенолгликозиды, этанол, пируват.

Объектом исследования являются фенолгликозиды, их агликаны, некоторые производные фенолкарбоновых и коричных кислот.

Цель работы – оценить влияния тестируемых соединений на процесс гликолиза.

В процессе исследования предложена эффективная методика, позволяющая тестировать соединения по их влиянию на процесс гликолиз.

В результате работы выявлены соединения, оказывающие влияние на процесс гликолиза в дрожжах, и они могут ингибировать сходные процессы у описторхов.

Область применения: фармакология, микробиология.

В будущем планируется протестировать самые активные соединения на модели лабораторных животных.

Определения, обозначения, сокращения и нормативные ссылки

АДФ - аденозиндифосфат

АМФ - аденозинмонофосфат

АТФ – аденозинтрифосфат

ВОЗ - всемирная организация здравоохранения

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография

ГЖХ - газожидкостная хроматография

ДМСО - диметилсульфоксид

ИСР - иерархическая структура работ

ИФА - иммуноферментный анализ

НАД – никотинамидадениндинуклеотид

ОГДГ – оксоглутаратдегидрогеназа

СДГ - сукцинатдегидрогеназа;

ТСХ - Тонкослойная хроматография

ФГ – ферменты гликолиза

ФР - фумаратредуктаза

ХМАО – Ханты - Мансийский автономный округ

ЦТК- цикл трикарбоновых кислот

ГОСТ Р 55710-2013 Освещение рабочих мест внутри зданий. Нормы и методы измерений.

СанПиН 2.2.4.548-96 Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений, утв. Постановлением ГКСЭН России 01. 10. 1996 г. — М.: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1997 — 39 с.

ГОСТ 12.1.004-91 Пожарная безопасность. Общие требования. — Межгосударственный стандарт 01.07.1992

ГН 2.2.5.686-98 Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. — М.: Минздрав России, 1998

ГОСТ 12.0.003-74 ССБТ Опасные и вредные производственные факторы. — Межгосударственный стандарт союза ССР, 01.01.1976

ГОСТ IEC 61140-2012 Защита от поражения электрическим током. Общие положения безопасности установок и оборудования. — Межгосударственный стандарт, 01.07.2014

ГОСТ Р 12.1.019-2009 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты. — Национальный стандарт Российской Федерации, 01.01.2011

ГОСТ 12.2.007.0-75 ССБТ Изделия электротехнические. Общие требования безопасности. — Межгосударственный стандарт, 01.07.1978

Федеральный закон от 30 декабря 2009 г. N384-ФЗ «Технический регламент о безопасности зданий».

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности. — Дата введения 01.07.2009

ГОСТ 12.3.002-75 ССБТ. Процессы производственные. Общие требования безопасности. — Межгосударственный стандарт, дата введения 01.07.1976

СП 2.2.2.1327-03 Гигиенические требования к организации технологических процессов, производственному оборудованию и рабочему инструменту. — М.: Минздрав России, 2003

ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. — Межгосударственный стандарт союза ССР, 01.01.1979.

ГОСТ 12.2.033-78 ССБТ Рабочее место при выполнении работ стоя. Общие эргономические требования. — Межгосударственный стандарт союза ССР, 01.01.1979

ГОСТ 12.2.061-81 ССБТ. Оборудование производственное. Общие требования безопасности к рабочим местам

СН 2.2.4/2.1.8.562–96. Шум на рабочих местах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории застройки.

ГОСТ 12.1.003–83 ССБТ. Шум. Общие требования безопасности.

СП 52.13330.2011 Естественное и искусственное освещение

ГОСТ Р 22.0.01-94. Безопасность в ЧС. Основные положения.

ГОСТ Р 22.3.03-94. Безопасность в ЧС. Защита населения. Основные положения.

Инструкция по охране труда при работе с химическими веществами
ТПУ-Томск 2008

Федеральный закон "Технический регламент о безопасности зданий и сооружений" от 30.12.2009 N 384-ФЗ

Оглавление

| | |
|--|----|
| Введение | 16 |
| Глава 1 Обзор литературы | 20 |
| 1.1 Канцерогенный потенциал <i>O. Felineus</i> и <i>O.viverrini</i> | 20 |
| 1.2. Энергетический обмен | 23 |
| Глава 2 Гликолиз - один из центральных метаболических путей у большинства организмов | 26 |
| 2.1 Биохимия брожения и дыхания дрожжевой клетки | 28 |
| 2.2 Ингибиторы процесса гликолиз | 30 |
| Глава 3 Материалы и методы исследования | 33 |
| Глава 4 Результаты и обсуждение | 44 |
| 4.1 Влияние тест-соединений на образование этилового спирта | 44 |
| 4.2 Влияние тест-соединений на образование пирувата | 47 |
| Глава 5 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение | 55 |
| 5.1 Потенциальные потребители результатов исследования | 55 |
| 5.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения | 56 |
| 5.3 Диаграмма Исикавы | 57 |
| 5.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации | 59 |
| 5.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования | 60 |
| 5.6 Инициация проекта | 61 |
| 5.7 Планирование управления научно-техническим проектом | 64 |
| 5.7.1 Иерархическая структура работ проекта | 64 |
| 5.7.2 Контрольные события проекта | 65 |
| 5.7.3 План проекта | 66 |
| 5.7.4 Бюджет научного исследования | 68 |

| | | |
|---------|--|----|
| 5.7.5 | Накладные расходы | 73 |
| 5.7.6 | Реестр рисков проекта | 75 |
| 5.7.7 | Определение ресурсной эффективности исследования | 75 |
| Глава 6 | Социальная ответственность | 79 |
| 6.1 | Производственная безопасность | 80 |
| 6.2 | Анализ вредных производственных факторов и обоснование мероприятий по их устранению (производственная санитария) | 81 |
| 6.2.1 | Недостаточная освещённость рабочих помещений | 81 |
| 6.2.2 | Отклонение показателей микроклимата | 82 |
| 6.2.3 | Повышенный уровень шума | 83 |
| 6.2.4 | Вредные химические вещества | 84 |
| 6.3 | Анализ опасных производственных факторов и обоснование мероприятий по их устранению | 86 |
| 6.3.1 | Опасность поражения электрическим током | 86 |
| 6.3.2 | Пожаровзрывоопасность | 87 |
| 6.4 | Экологическая безопасность | 88 |
| 6.4.1 | Защита атмосферы | 88 |
| 6.4.2 | Защита гидросферы | 89 |
| 6.4.3 | Защита литосферы | 89 |
| 6.5 | Безопасность в чрезвычайных ситуациях | 89 |
| 6.6 | Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности | 90 |
| 6.6.1 | Специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства | 90 |
| 6.6.2 | Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны | 91 |
| | Выводы | 92 |

| | |
|--------------------------------|-----|
| Список публикаций | 93 |
| Список используемой литературы | 94 |
| Приложение А | 98 |
| Приложение Б | 99 |
| Иностранная часть | 100 |

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения из 50 млн. человек ежегодно умирающих в мире более чем у 16 млн. причиной смерти являются инфекционные и паразитарные заболевания. Этот класс болезней остается ведущим в причинах смертей человечества в 21 веке. По числу больных в мире кишечные гельминтозы занимают третье место [1].

Ситуация по паразитарным заболеваниям в Российской Федерации остается сложной. Регистрируется заболеваемость природно-очаговыми гельминтозами, приводящими больных к инвалидизации и летальному исходу (описторхоз, эхинококкозы) [1]. По данным Бэра, Россия «держит первенство» по распространенности этого опасного паразитарного заболевания, на ее территории сосредоточено не менее 70% всех случаев описторхоза, на Украину и Казахстан приходится по 71%, Белоруссию около 3-5% и 3-4% на страны Западной Европы вместе с странами Балтии [2].

Описторхоз является социально значимой проблемой для России, так как 2/3 мирового ареала возбудителя приходится на территорию нашей страны. Кроме того, за последние 20 лет происходит увеличение числа регионов РФ, где регистрируется описторхоз с включением в эпидемический процесс человека как источника инвазии. Местные случаи описторхоза зарегистрированы в 27 регионах РФ. Ежегодно в России выявляется до 30 тыс. случаев описторхоза, при этом наиболее высокие показатели заболеваемости регистрируются в Ханты - Мансийском (375,4 на 100 тыс. населения) и Ямало-Ненецком автономных округах (162,08). Высокая заболеваемость наблюдается в Томской (145,2 на 100 тыс. населения), Новосибирской (143,4), Тюменской (106,9), Омской (82,08), Курганской (63,2), Кемеровской областях (49,72), Красноярском (44,93) и Алтайском краях (33,13) [3]. Эпидемиологи привели шокирующую статистику: в одной

только Томской области гельминта *O.felineus* обнаружили у каждого третьего ребенка в возрасте от 7 до 15 лет; среди взрослых распространенность была значительно выше. По данным статистики, на конец сентября 2017 года около 1000 страдающих описторхозом зарегистрировано в Томской области, из них 498 – жители областного центра.

По данным ведомства, в 2016 году показатель заболеваемости описторхозом в Томской области в девять раз превышал общероссийский уровень: в регионе было зарегистрировано 124 случая на 100 тысяч человек, по РФ – 14,24 случая на 100 тысяч. В 2015 году этот показатель в Томской области составлял 248 случаев на 100 тысяч человек, в России – 15,5 случая на 100 тысяч человек.

За девять месяцев 2017 года по Томской области в целом было зарегистрировано 955 случаев заболеваний описторхозом. В 2016 году на этот же период приходилось 995 случаев. Из этого количества среди детей в 2017 году – 327, а в 2016 году – 384 детей [3].

Заражение этим паразитом происходит при употреблении сырой или недостаточно термически обработанной речной рыбы. Одной из главных проблем этого заболевания является его не исследованность и отсутствие качественного лечения. Результаты мировых исследований позволяют предположить, что описторхоз – это один из факторов риска для злокачественной опухоли печеночных желчных протоков, на долю которой приходится от 10 до 20% всех случаев рака печени [4].

Основным источником энергии у гельминтов является гликолиз, то есть бескислородное расщепление углеводов, что, кстати, является также отличительной чертой опухолевых клеток от нормальных. Углеводный и энергетический обмен гельминтов значительно отличается от подобного обмена позвоночных, что может быть основой для рационального поиска новых антигельминтных препаратов. Узловым моментом энергетического обмена является образование и гидролиз молекул АТФ в митохондриях. Митохондриальная АТФаза является самым высокомолекулярным

компонентом АТФазного комплекса [4]. Изучение возможности блокировки этого процесса у гельминтов антигельминтными препаратами представляет значительный практический интерес с точки зрения разработки высокочувствительной биохимической модели для предварительного отбора препаратов. Поэтому соединения, которые нарушают процесс утилизации глюкозы, могут проявить себя как противогельминтные и *противоопухолевые* лекарства.

Однако, вследствие особенностей физиологии описторхисов (анаэробные условия), а также их малой доступностью проблематично проводить скрининг на противоописторхозную активность соединений в условиях *in vitro*. Ввиду большого сходства стадий гликолиза у описторхов и дрожжей нами было предложено использовать в качестве модельного организма пекарские дрожжи - *Saccharomyces cerevisiae*. Они также используют глюкозу в процессе гликолиза в качестве источника энергии [4].

Таким образом, цель данного исследования является: оценить влияния тестируемых соединений (фенолгликозиды и их агликоны, и некоторые производные фенолкарбоновых и коричных кислот) на процесс гликолиза, осуществляемый бесклеточной средой *Saccharomyces cerevisiae*.

Задачи исследования:

1. Протестировать соединения по их влиянию на образования этилового спирта;
2. Протестировать соединения по их влиянию на содержание пирувата.

Научная новизна: впервые протестированы соединения по их влиянию на процесс гликолиз, осуществляемый бесклеточной средой *Saccharomyces cerevisiae*.

Практическая значимость результатов ВКР: В процессе выполнения работы предложена эффективная методика, что позволяющая тестировать соединения по их влиянию на процесс гликолиз. В работе выявлены соединения, оказывающие влияние на процесс гликолиза в дрожжах, и

потенциально могут ингибировать сходные процессы у описторхов. Протестированные соединения могут стать базисными для разработки новых эффективных препаратов против гельминтов.

Реализация и апробация работы: Полученные результаты исследований подвергались статистической обработке с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010. Статистическая обработка результатов включала определение средних значений величин и стандартной средней ошибки. Результаты работы были представлены на международном конференции I International Conference on Research, Learning and Development (2018, USA, Los Angeles).

1 Обзор литературы

1.1 Канцерогенный потенциал *O.Felineus* и *O.Viverrini*

Международное агентство по исследованию рака классифицировало трематод *O.viverrini* и *C.sinensis* как канцерогенные факторы первой группы опасности [5] и как основные факторы развития холангиокарциномы в эндемичных регионах [6;7;8].

В связи с отсутствием в России системных эпидемиологических и клинических исследований описторхоза, роль *O.felineus* в формировании холангиокарциномы у человека не определена. Безусловно, сходство клинических проявлений и течения заболеваний, вызванных *O.felineus* и *O.Viverrini* [9;10;11], также, как и результаты исследований патогенеза этих гельминтозов, полученные на модели экспериментального описторхоза на грызунах [12;13], говорят о достаточно высокой вероятности участия *O.felineus* в возникновении этих опухолей. В частности, в нашей лаборатории был проведен подробный гистопатологический анализ и комплексная оценка процессов воспаления, дисплазии желчных протоков, перидуктального фиброза, гиперплазии и пролиферации желчных протоков, образования гранулем, кист печени, холангиофиброза и холангиокарциномы на протяжении 30 недель после инвазии *O.felineus* на фоне действия диметилнитрозамина на модели золотистых хомячков. Установлено, что на этой модели *O.felineus* обладает канцерогенным потенциалом и участвует в формировании рака желчных протоков. При сочетанном действии *O.felineus* и диметилнитрозамина, морфология печени на органном и клеточном уровнях менялась драматически. С раннего срока эксперимента у животных наблюдали обширный перидуктальный фиброз, активное воспаление, гиперплазии и пролиферации желчных протоков и образование гранулем, на

фоне которых происходило формирование холангиофиброза и холангиокарцином.

Анализ данных, опубликованных в центральной медицинской печати России, связанных с описторхозом, показал, что в Томском городском морге согласно данным 343 аутопсий, умерших с длительной инвазией *O.felineus*, в 5% случаев были обнаружены холангиокарциномы [14;15]. По данным Томского гепатологического центра на основании лечения 4756 больных описторхозом людей было прооперировано 141 человек по поводу рака желчных протоков и рака под желудочной железой [14] (без уточнения по каждому виду рака).

На основании данных областного онкологического диспансера Томска, накопленных за период 1990-2001 гг., рак печени занимает в структуре онкологических заболеваний седьмое место (3,9%). Согласно этому исследованию заболеваемость раком печени среди мужчин в указанный период составляла 11,2 случаев на 100 тыс. населения. Этот показатель намного выше, чем данные официальной статистики России [15], указывающие, что в России в 2012 зарегистрировано 4,6 случаев рака печени на 100,000 человек.

В некоторых регионах процент возникновения холангиокарцином составляет около 15% от всех случаев рака печени. Так, в Москве, в некоторых районах согласно статистике 1004 операций по поводу первичного рака печени в РОНЦ им.Блохина, доли гепатоклеточного и холангиоклеточного рака составляли 85,1% и 14,9%, соответственно [7]. Эти цифры совпадают с опубликованными данными по эпидемиологии холангиокарциномы.

В США, регионе, свободном от очаговоописторхоза, эта опухоль регистрируется в 19% случаев рака печени. В Таиланде, в частности, в провинции Хон Каен, районе с самым высоким уровнем заболеваемости холангиокарциномой в мире, данный вид рака является причиной 71% случаев рака печени [7]. Помимо холангиокарциномы, при описторхозе

возникают такие патологические проявления как холангиты, холециститы, холангиофиброз, кисты печени, которые считаются предраковыми состояниями. Кроме того, при описторхозе находят абсцессы печени и панкреатиты. Структура осложнений описторхоза представлена в работах, опубликованных сотрудниками Томского гепатологического центра. Так, по данным наблюдения 4756 больных, страдающих описторхозом, показано, что 1170 пациентам было необходимо хирургическое вмешательство (24,6%). Причиной этого были стриктуры желчевыводящих протоков (62,4%), панкреатит (16%), кисты печени (3,1%), склерозирующий холангит (2,3%), абсцессы печени (2,6%), цирроз печени (3,6%) (Альперович, Абушахманов, 1999; Бражникова 1997). Как отмечают авторы, большинство хирургических больных страдали хроническим описторхозом с длительностью инвазии *O.felineus* более 10 лет.

Результаты последующих исследований, проведенных в Томском гепатологическом центре, подтверждают, что наиболее частыми осложнениями описторхоза являются стриктуры и сужения желчных протоков, холециститы; описторхозные панкреатиты среди осложнений описторхоза занимают второе место. В основе развития описторхозных кист печени лежит холангиоэктазия; абсцессы печени возникают в результате нагноения кист, а также как осложнения холангита [14].

Близкие данные о частоте хирургических осложнений при описторхозе были получены группой исследователей из ХМАО. Согласно результатам наблюдения 4327 больных описторхозом в городской клинической больнице Сургута, в 27% случаев требовалось хирургическое вмешательство [10].

Суммируя данные, касающиеся канцерогенного потенциала *O.felineus*, следует сказать, что между описторхозом, обусловленным инвазией этого гельминта, и раком желчевыводящих путей существует прямая связь. Именно в регионах, расположенных в Обь-Иртышском очаге описторхоза, уровень заболеваемости холангиокарциномой намного выше, чем в эндемичных областях. Однако представленные данные получены

отдельными группами исследователей и не могут дать все объемлющей картины ассоциации описторхоза и онкологии печени. Для этого необходимы масштабные эпидемиологические исследования, учитывающие опыт, накопленный при проведении подобных исследований в других странах, в частности в Таиланде и Лаосе, как наиболее эндемичным по описторхозу, вызванному заражением *O. viverrini*[7].

1.2 Энергетический обмен

У трематод главным источником энергии являются углеводы. Они являются факультативными анаэробами, но даже в присутствии кислорода они зависят от хода гликолиза и экскретируют продукты, представляющие из себя короткоцепочечные кислоты. Иными словами, энергия, заключенная в молекулах глюкозы, используется не полностью. В то же время эти черви находятся в условиях, в которых источник глюкозы практически не ограничен. Плоские черви могут сохранять жизнеспособность и при низком содержании кислорода, а конечные продукты метаболизма могут в дальнейшем использоваться хозяином (в реакции - катаболизма).

В настоящее время считается, что паразитические плоские черви способны к окислительному фосфорилированию, но значение его для общего энергетического баланса оценить трудно. У многих сосальщиков обнаружены ферменты цикла Кребса, но активность аконитазы и изоцитратдегидрогеназы очень низка, поэтому ЦТК в целом вряд ли играет существенную роль в энергетическом обмене паразитических плоских червей. Возможно, некоторые ферменты участвуют в иных метаболических путях, либо в ЦТК, но на других онтогенетических стадиях (Рисунок 1). У трематод конечные реакция гликолиза могут существенно отличаться от обычных для других животных. Многие паразитические плоские черви

образуют в результате гликолиза гомолактические продукты. Трематоды накапливают значительные количества глюкозы, но конечные продукты ее гликолитического расщепления различны.

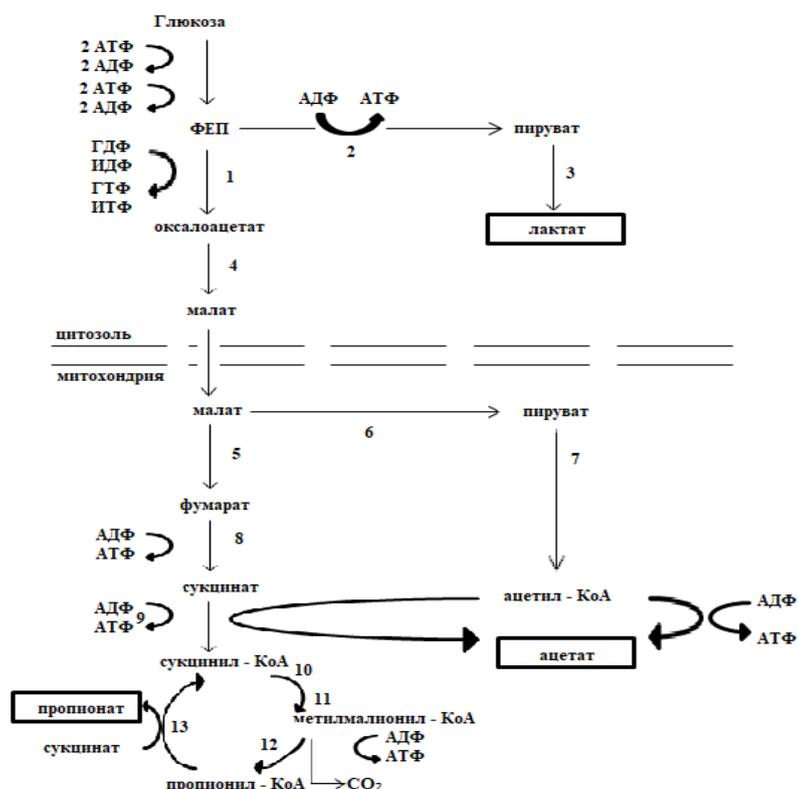


Рисунок 1 - Возможный общий путь энергетического обмена у гельминт: 1- ФЕФ-карбоксикиназа, 2 - пируват-киназа, 3 - лактат-дегидрогеназа, 4 - малат -дегидрогеназа, 5 - фумарат-дегидрогеназа, 6 - декарбоксилирующая малат- дегидрогеназа, 7 - пируват дегидрогеназа, 8 - фумарат-редуктаза, 9 - сукцинил- СоА-синтетаза, 10 - метилмалонил-СоА-мутаза, 11 - метилмалонил-СоА-рацемаза, 12 - ацил-СоА-трансфераза [12].

Главным способом извлечения энергии является гликолиз и несколько реакций, протекающих в митохондриях. Часть продуктов гликолиза может войти в цикл Кребса и расщепиться до углекислого газа, но с образованием таких веществ, как ацетат, лактат, сукцинат, пропионат, аланин. Это позволяет получить 4 (или может быть, 6) молекулы АТФ. Жиры и аминокислоты в энергетическом обмене цестод играют очень небольшую роль.

Трематоды так же, как и многие паразитические черви, обладают способностью накапливать запасы гликогена. Личинки, находящиеся в теле промежуточного хозяина, оказываются в достаточно стабильных условиях в отношении обеспечения глюкозой. Взрослые черви зависят в этом отношении от перерывов между приемами пищи окончательным хозяином. Запасы гликогена позволяет пережить условия, когда хозяин не питается. При гликолизе у опситорх глюкоза сначала расщепляется до обычного продукта - фосфоенолпирувата (Рисунок 2). Но затем следует ответвление от пути расщепления. Возможно образование лактата из фосфоенолпирувата через пируват. Возможно образование малата путем присоединения углекислого газа через оксалоацетат. Обе ветви оказываются эффективными, так как приводят к образованию фосфатных связей и образованию НАД из НАДН. Дополнительная энергия извлекается в митохондриях (Рисунок 5). Здесь часть малата окисляется и декарбоксилируется до пирувата. Пируват далее также декарбоксилируется до ацетата, который экскретируется, либо трансаминируется до аланина, который тоже экскретируется. Другая часть малата превращается в фумарат и далее - в сукцинат с образованием АТФ.

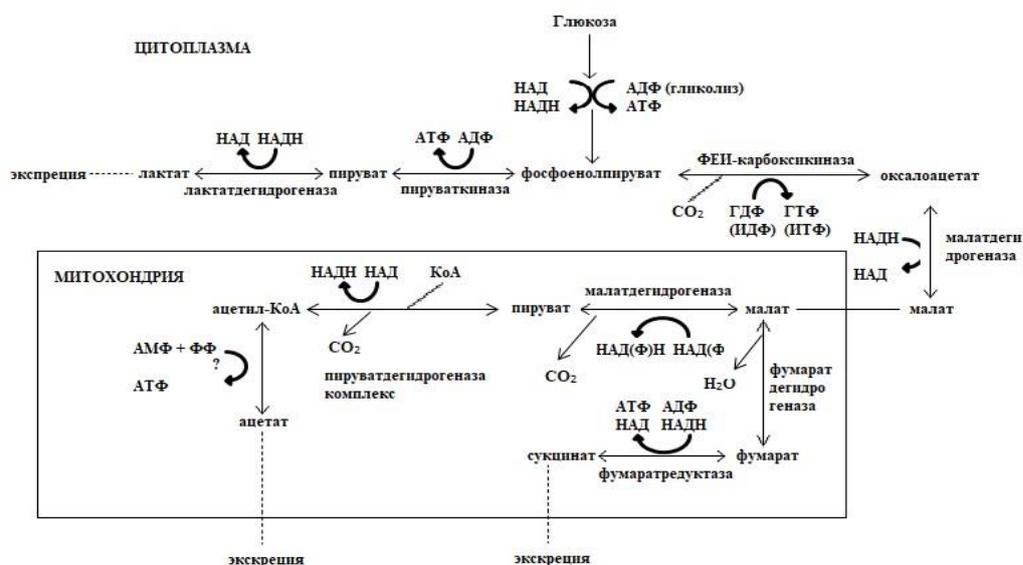


Рисунок 2 - Энергетический обмен трематод. Главные конечные продукты образуются из фосфоенолпирувата. Реакции приводят к образованию дополнительной молекулы АТФ [12].

2 Гликолиз - один из центральных метаболических путей у большинства организмов

Гликолиз почти универсален как один из центральных путей катаболизма глюкозы; он выполняет эту роль не только в животных и растительных клетках, но также и у многих микроорганизмов. Последовательности гликолитических реакций различаются у разных организмов только характером регуляции их скорости, а также метаболической судьбой образующегося пирувата.

Продукт гликолиза - пируват - может использоваться тремя способами. У аэробных организмов гликолиз составляет лишь первую стадию полного аэробного расщепления глюкозы до CO_2 и воды (Рисунок 3).

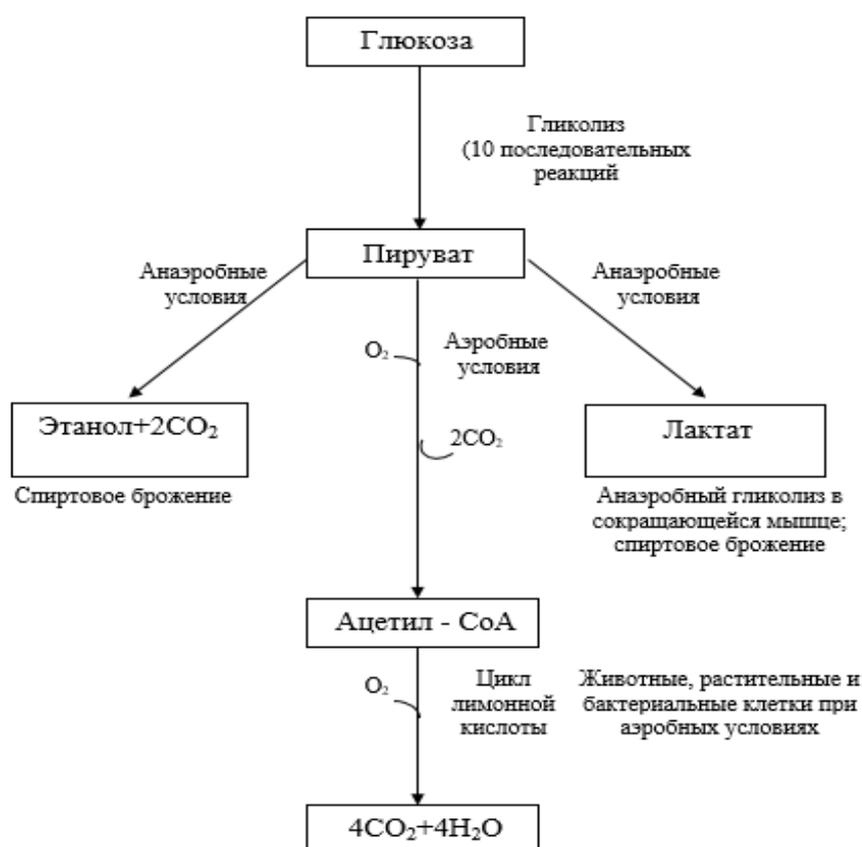
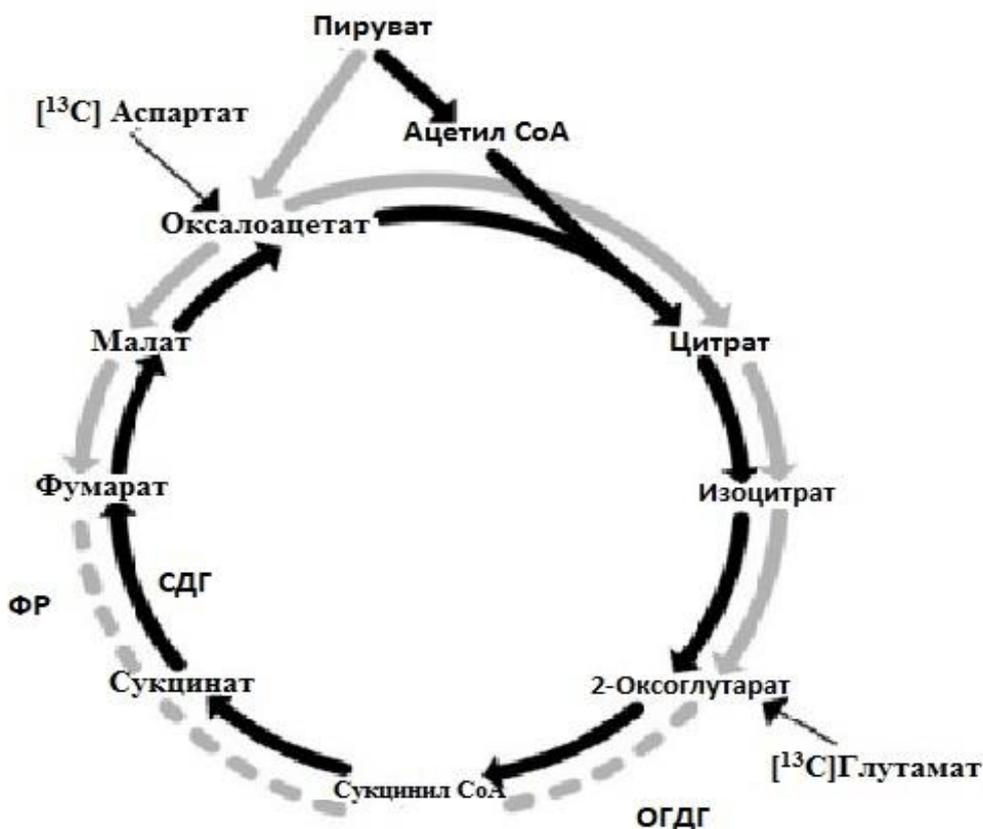


Рисунок 3 - Конечный продукт гликолиза пируват проходит различные катоболические пути в зависимости от вида организма и от условий в которых протекает метаболизм [16].

Образовавшийся при гликолизе пируват претерпевает затем окислительное декарбоксилирование, т. е. теряет CO_2 , а оставшийся двухуглеродный фрагмент в виде ацетильной группы включается в ацетилкофермент А. Далее уже эта ацетильная группа полностью окисляется до CO_2 и H_2O в цикле лимонной кислоты с участием молекулярного кислорода (Рисунок 4) [4]. Таков путь, на который вступает пируват в аэробных животных и растительных клетках.



Рисуниок 4 - ЦТК во время дыхания и ферментации.

Толстые черные стрелки, путь ЦТК, функционирует как цикл во время дыхания. Серые стрелки, путь ЦТК действует как окислительная ветвь и восстанавливающая ветвь во время ферментативного обмена. Прерывистая серая линия показывает участок, на котором цикл прерывается на время ферментации. Тонкая черная стрела, аспаргат и глутамат дезаминированы в промежуточные продукты ЦТК. ФР - фумаратредуктаза; СДГ - сукцинатдегидрогеназа; ОГДГ – оксоглутаратдегидрогеназа [4].

Второй путь заключается в восстановлении пирувата до лактата. Когда некоторые животные ткани вынуждены функционировать в условиях анаэробноз, а это особенно характерно, например, для напряженно работающей скелетной мышцы образовавшийся из глюкозы пируват не может быть подвергнут дальнейшему окислению просто из-за отсутствия кислорода. В этих условиях продукт гликолиза пируват восстанавливается с образованием лактата. В скелетной мышце этот процесс, называемый анаэробным гликолизом, служит важным источником энергии АТФ при напряженной физической работе. У анаэробных микроорганизмов, осуществляющих молочнокислое брожение, продуктом гликолиза является также лактат (Рисунок 3). Молочная кислота, образующаяся из сахара в результате деятельности молочнокислых бактерий, вызывает скисание молока, и эта же кислота придает квашеной капусте ее характерный чуть кислый вкус.

Третий путь превращений пирувата заканчивается образованием этанола. Существуют микроорганизмы (к ним относятся, например, дрожжи), превращающие пируват, образовавшийся из глюкозы в процессе гликолиза, в этанол и CO₂. Этот процесс носит название спиртового брожения. Брожение - общий термин, которым обозначают анаэробное расщепление глюкозы или каких-нибудь других органических пищевых веществ для получения из них энергии в форме АТФ [16;17].

2.1 Биохимия брожения и дыхания дрожжевой клетки

Ферментативная диссимиляция углеводов в анаэробных условиях, происходящая с выделением энергии и приводящая к образованию продуктов неполного окисления, называется брожением.

При брожении акцептором водорода служат органические соединения, получающиеся в реакциях окисления (например, уксусный альдегид при спиртовом брожении) [16].

Спиртовое брожение — это процесс окисления углеводов, в результате которого образуются этиловый спирт, углекислота и выделяется энергия. На рисунке 8 приведена схема химических реакции при спиртовом брожении глюкозы. Эти реакции происходят без участия кислорода (анаэробно) (рисунок 5).

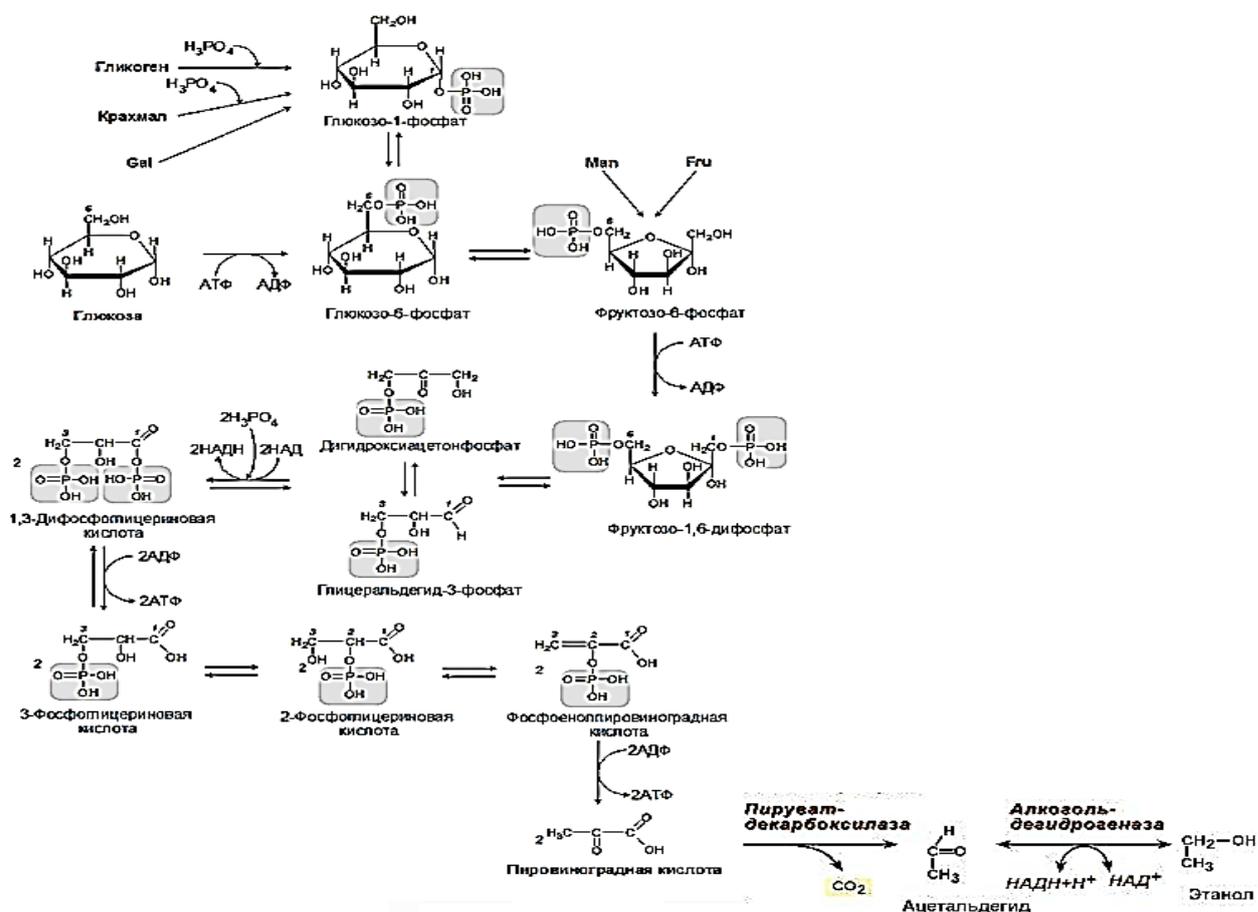


Рисунок 5. Спиртовое брожение глюкозы [16].

При спиртовом брожении пировиноградная кислота превращается в конечном итоге в спирт и углекислоту. Эти реакции протекают в две стадии. Сначала от пирувата отщепляется CO₂ и образуется уксусный альдегид; затем уксусный альдегид присоединяет водород, восстанавливаясь в

этиловый спирт. Все реакции катализируются ферментами. В восстановлении альдегида участвует НАД-Н₂.

При спиртовом брожении помимо основных продуктов — спирта и СО₂, из глюкозы возникает множество других, так называемых вторичных продуктов брожения: уксусный альдегид, глицерин, сивушные масла (бутиловый, изобутиловый, амиловый и изоамиловый спирты), уксусная и янтарная кислоты и др.

Биологический смысл спиртового брожения заключается в том, что образуется определенное количество энергии, которая запасается в форме АТФ, а затем расходуется на все жизненно необходимые процессы клетки.

2.2 Ингибиторы процесса гликолиза

Гликолиз при гипоксии является, по-видимому, основным источником АТФ в клетке, и блокирование гликолиза должно вызывать «обезэнергечивание» клеток и, как следствие, ингибирование их роста или гибель. Поэтому в настоящее время исследуется действие ингибиторов гликолиза и их антигельминтный эффект.

Ингибиторы гексокиназы — 2-дезоксиглюкоза, лонидамин и 3-бромпируват— ингибируют образование аденозинтрифосфата. Дихлорацетат ингибирует активность киназыпируватдегидрогеназы (Рисунок 6).

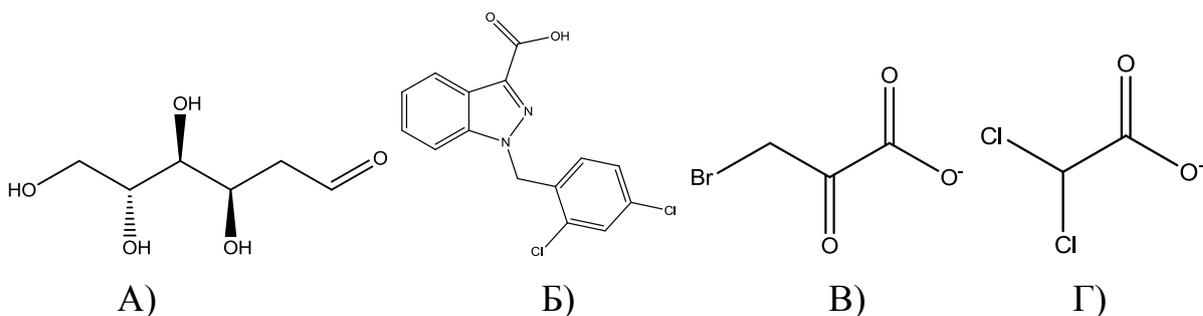


Рисунок 6 - Ингибиторы гексокиназы: А) 2-дезоксиглюкоза; Б) лонидамин; В) 3-бромпируват; Г) дихлорацетат [18].

Широко изучается действие 2-дезоксиглюкозы (2-ДГ). Это соединение – аналог глюкозы. Оно фосфорилируется киназой, образуя 2-ДГ-фосфат, соединение, которое не может далее метаболизироваться и накапливается в клетке, блокируя активность каталазы. В результате действия 2-ДГ происходит падение уровня образующегося АТФ. Это вызывает изменение соотношения аденозинмонофосфат (АМФ)/АТФ в пользу АМФ [18].

Другой ингибитор гексокиназы II – лонидамин, производное имидазол-3-карбоксилевой кислоты, взаимодействующее с гексокиназой, – также уменьшает уровень АТФ [19] в клетке и потенцирует противогельминтное действие цитостатиков: усиливает эффект облучения, как и 2-ДГ [20], и действие доксорубина [19].

3-хлорацетолфосфат необратимо ингибирует триозофосфатизомеразу (Рисунок 7). Этот ингибитор является структурным аналогом диоксиацетонфосфата: он дехлорируется и необратимо присоединяется к остатку глутаминовой кислоты в активном центре фермента [19]. При добавлении к мышечному экстракту моноiodуксусной или монобромуксусной кислоты гликолиз останавливается на образовании двух молекул триозофосфата, так как моноiodуксусная кислота тормозит дальнейшее превращение, ингибируя триозофосфатдегидрогеназу. Моноiodуксусная кислота блокирует сульфгидрильные группы триозофосфатдегидрогеназы и таким образом инактивирует фермент [20].

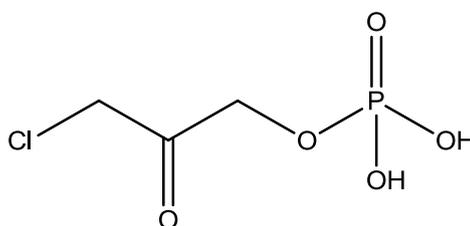


Рисунок 7 - Ингибитор триозофосфатизомеразы:
3-хлорацетолфосфат [20].

Известно, что ингибирование активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, являющейся центральным ферментом гликолиза, приводит к блокированию этого энергетического пути. Благодаря уникально высокой реакционной способности сульфгидрильной группы активного центра ГАФД, окислители, сульфгидрильные яды и многие другие соединения эффективно ингибируют активность этого фермента, причем некоторые из них воздействуют в очень низких концентрациях, близких к концентрации активных центров фермента. Например, добавление к ферменту иодацетата в стехиометрических количествах (4 молекулы на молекулу тетрамера или одна молекула на мономер) приводит к полной инактивации фермента. Более того, проявление эффекта «полуцентральной реактивности», а точнее реактивности половины активных центров ГАФД, приводит к тому, что в ряде случаев добавление одной молекулы модификатора обуславливает потерю активности сразу двух активных центров фермента.

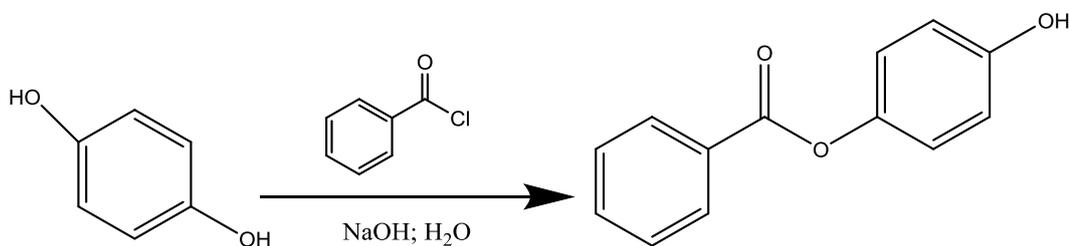
Известно несколько классов соединений, которые специфически взаимодействуют с ГАФД, а не просто модифицируют сульфгидрильные группы этого фермента. К ним относятся фураксановые производные, обладающие способностью достаточно прочно связываться с ферментом и ингибировать его активность, а также производные депренила, на основе которого был создан лекарственный препарат, предназначенный для лечения болезни Паркинсона — CGP 3466 [21].

Ингибиторами энолазы являются ионы фтора F^- (в присутствии ионов Mg^{2+} и фосфата), а также пирофосфат и ионы Ca^{2+} . Добавление фторида к гликолизирующей системе останавливает энолазную реакцию и приводит к накоплению непревращенных фосфоглицериновых кислот [22].

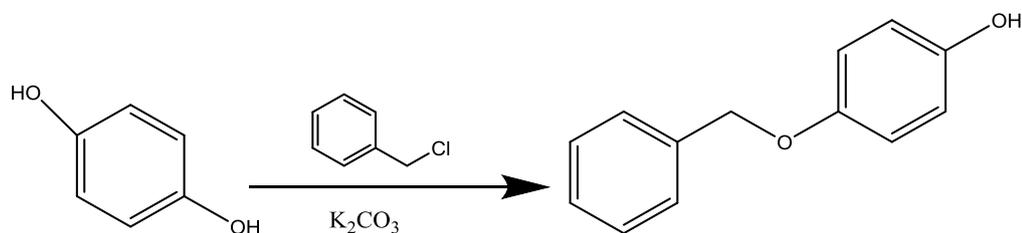
3 Материалы и методы исследования

Тестируемые соединения (Таблица 1) были синтезированы по общепринятым и доступным однозначным протоколам (методикам) из коммерчески доступных соединений. Индивидуальность полученных веществ подтверждали методами ТСХ и ВЭЖХ. Строение для впервые полученных веществ подтверждали на основе ИК-спектроскопии.

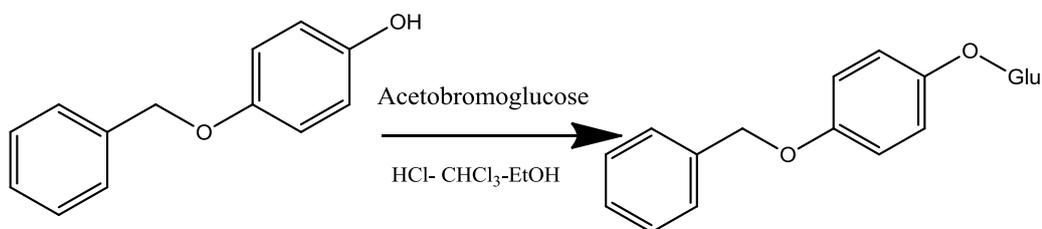
Синтез бензоилгидрохинона:



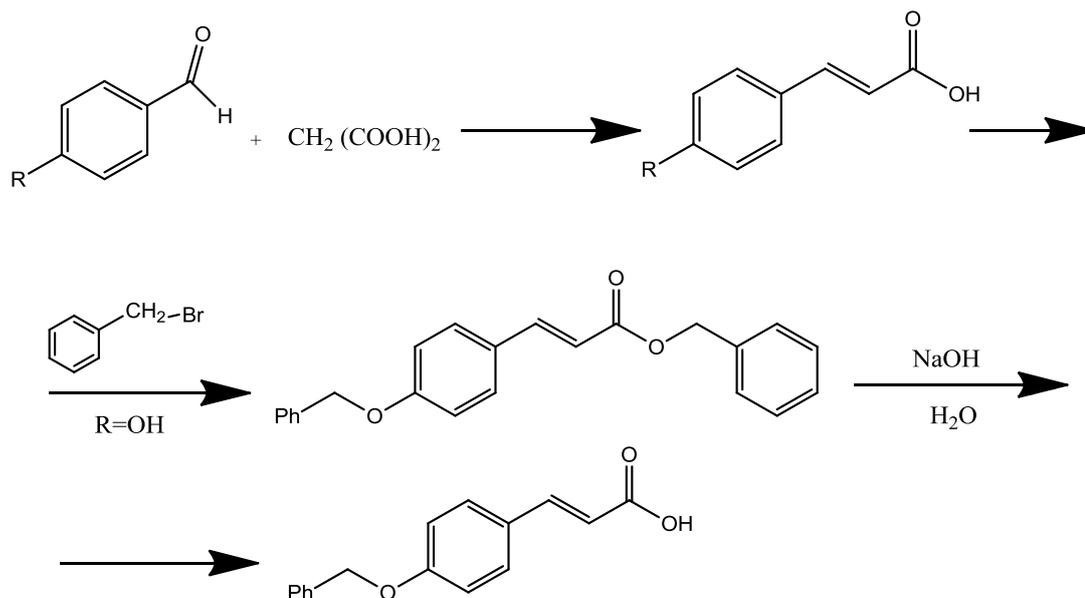
Синтез бензилгидрохинона:



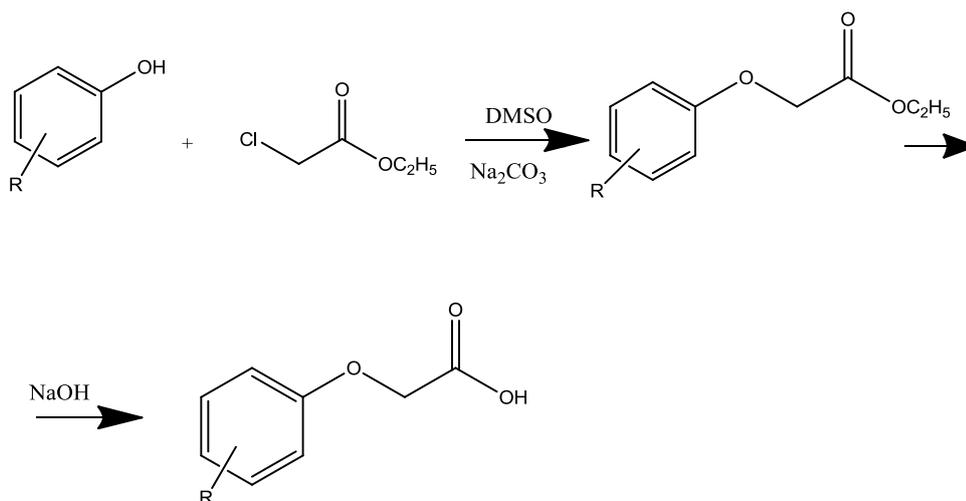
Синтез бензиларбутина:



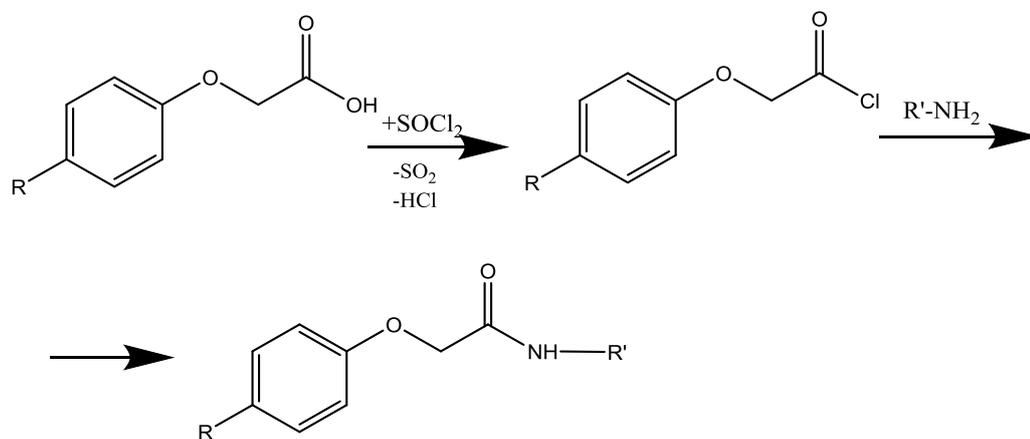
Синтез производных коричных кислот:



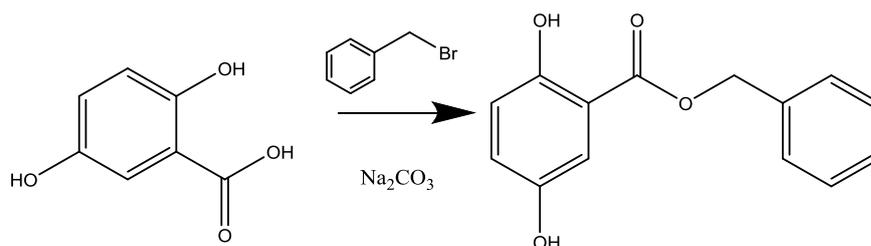
Синтез феноксиуксусных кислот:



Синтез амидов феноксиуксусных кислот:



Синтез бензилгентицата



Синтез этилового эфира ацетоксиоксима триптантрина:

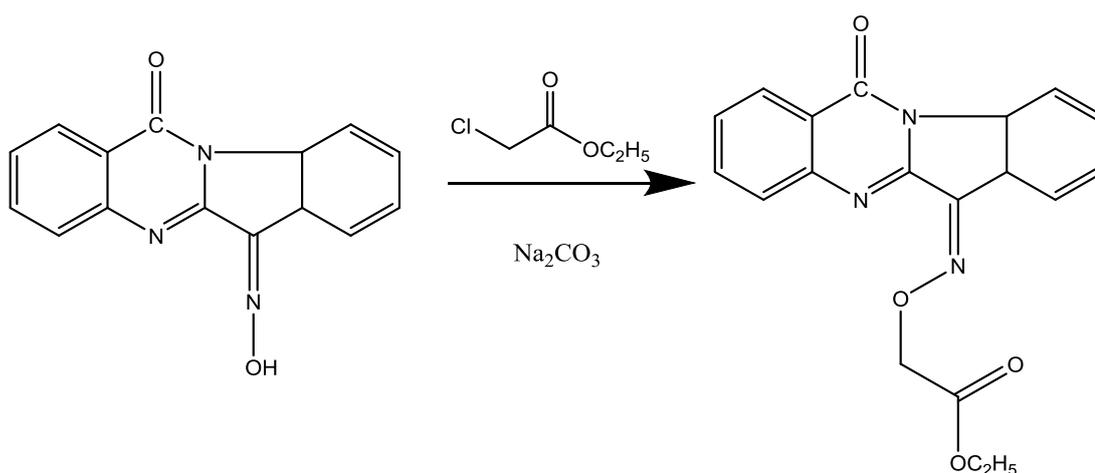
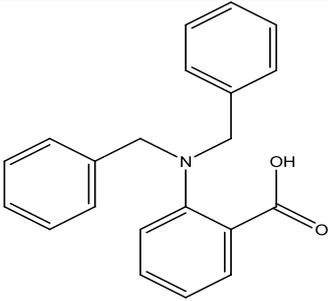
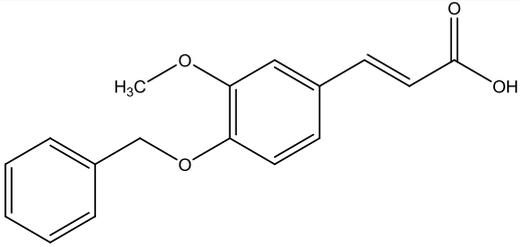
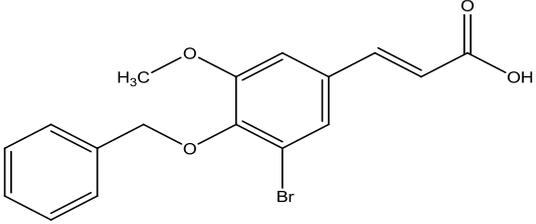
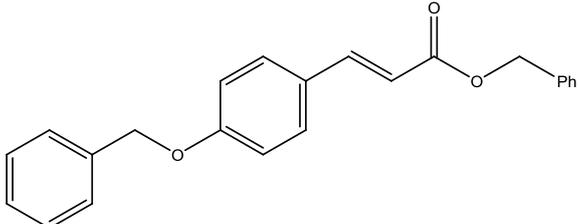
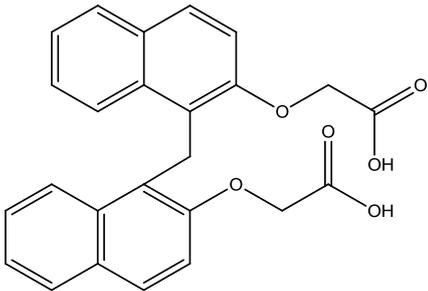
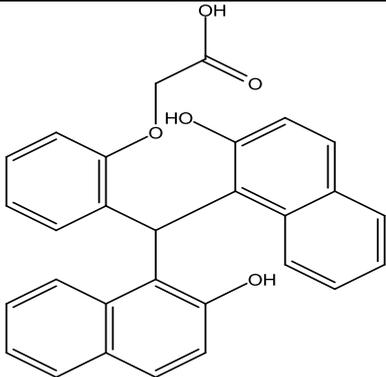
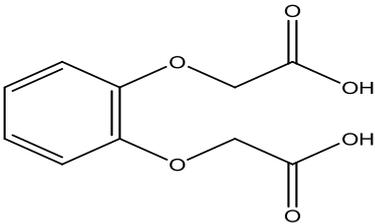
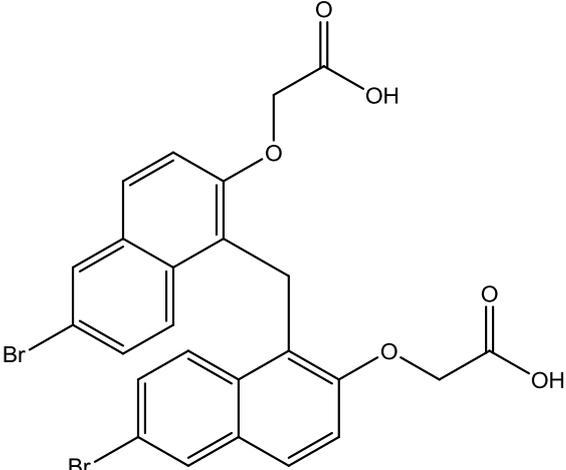


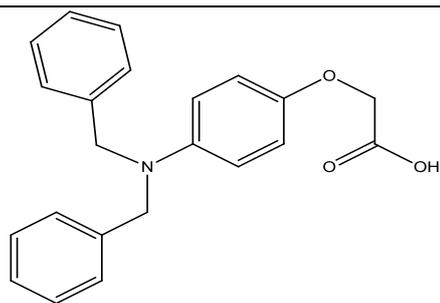
Таблица 1 - Структуры протестированных соединений

| | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| <p>1. Бензоилгидрохинон</p> | <p>2. Бензоиларбутин</p> |
| <p>3. Бензилгидрохинон</p> | <p>4. Бензиларбутин</p> |

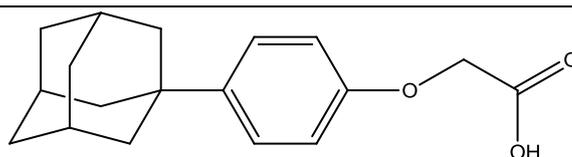
Продолжение таблицы 1

| | |
|---|--|
|  <p>5. 2-(дибензиламино) бензойная кислота</p> |  <p>6. 4- (бензилокси) -3-метоксикоричная кислота</p> |
|  <p>7. 4- (бензилокси)-3-бром-5-метоксикоричная кислота</p> |  <p>8. 3- (4-феноксифенил) бензил-акрилат</p> |
|  <p>9. 2,2' - ((метиленбис (нафталин-1,2 диил)) бис (окси)) диуксусная кислота</p> |  <p>10. 2- (2- (бис (2-гидрокси-нафталин-1-ил) метил) фенокси) уксусная кислота</p> |
|  <p>11. 1,2-фенилендиоксиди уксусная кислота</p> |  <p>12. 6,6-дибром - (2,2' - ((метиленбис (нафталин-1,2-диил)) бис (окси)) диуксусная кислота</p> |

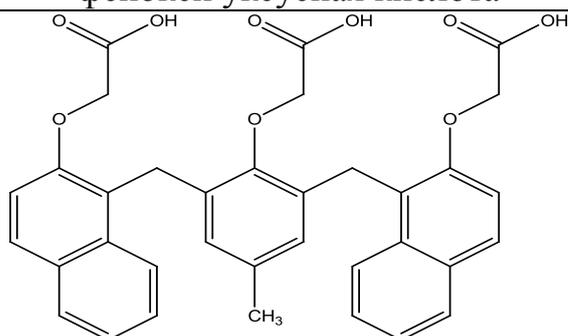
Продолжение таблицы 1



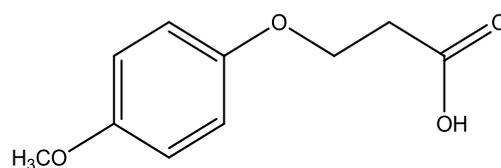
13. 4-(N, N – дибензиламино)-
фенокси уксусная кислота



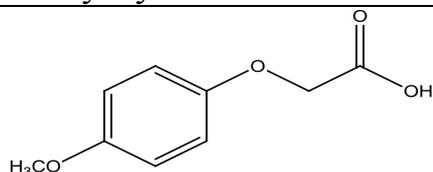
14. 4-адамантилфеноксиуксусная
кислота



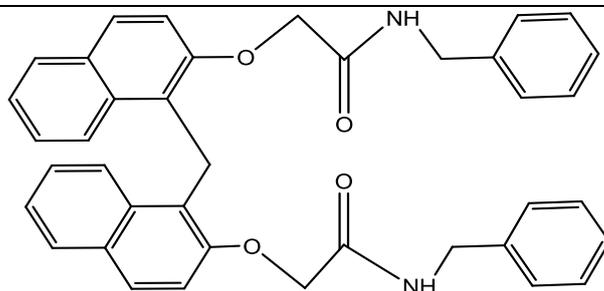
15. 2,2' - (1,1' - (2-
(карбоксиметокси) -5-метил-1,3-
фенилен) бис (метилен) бис
(нафталин-2,1-диил)) бис (окси)
уксусная кислота



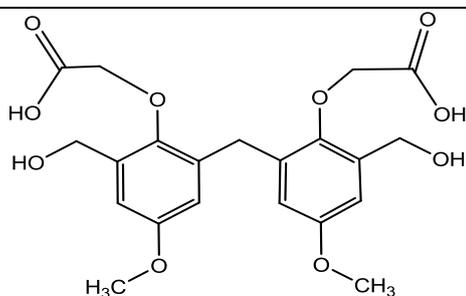
16. 3- (4-метоксифенокси) пропановая
кислота



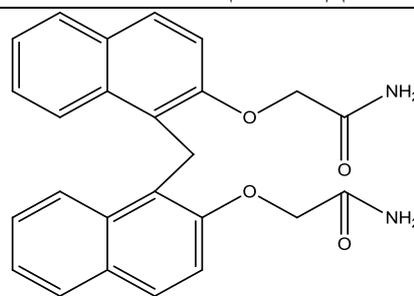
17. 2- (4-метоксифенокси) уксусная
кислота



18. 2,2' - (1,1'-метиленбис (нафталин-
2,1-диил)) бис (окси) бис (N-
бензилацетамид

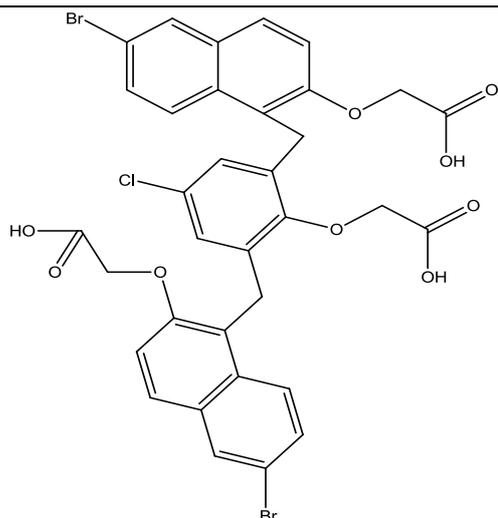


19. 2,2' - (6,6'-метиленбис (2-
(гидроксиметил) -4-метокси-6,1-
фенилен)) бис (окси) уксусная
кислота

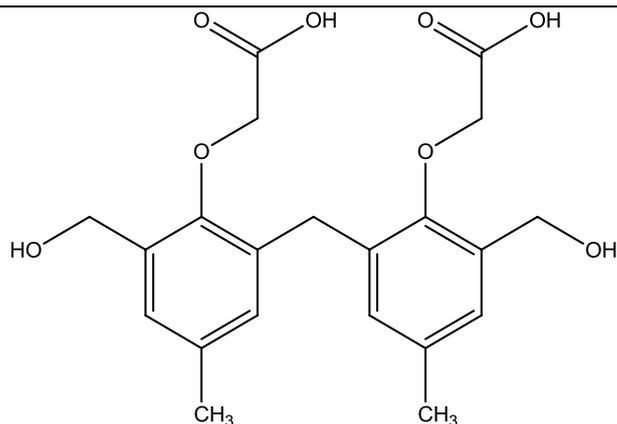


20. 2,2' - (1,1'-метилен-бис (нафталин-
2,1-диил)) бис (окси) диацетамид

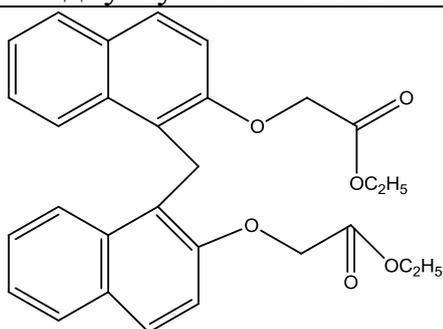
Продолжение таблицы 1



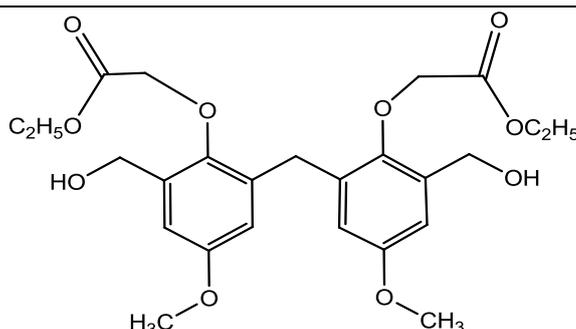
21. 2,2'- (1,1'- (2- (карбоксиметокси) -5-хлор-1,3- фенилен) бис (метилен) бис (6- бромнафталин-2,1-диил)) бис (окси) диуксусной кислота



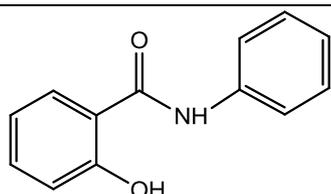
22. 2,2'- (6,6'-метиленбис (2- (гидроксиметил) -4-метил-6,1-фенилен)) бис (окси) уксусная кислота



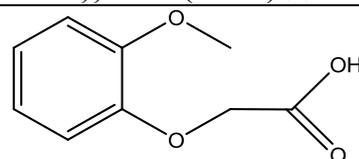
23. диэтил 2,2'- (1,1'-метиленбис (нафталин-2,1-диил)) бис (окси) диацетат



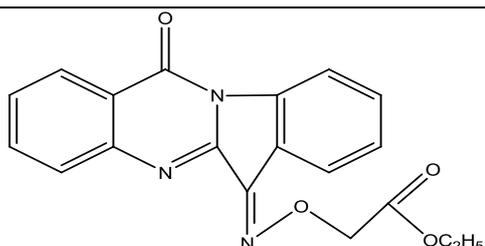
24. диэтил 2,2'- (6,6'-метиленбис (2- (гидроксиметил) -4-метокси-6,1- фенилен)) бис (окси) диацетат



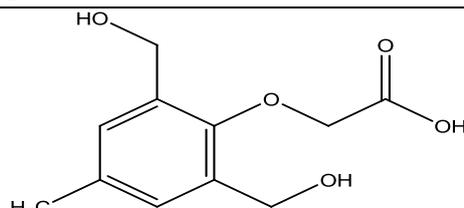
25. 2-гидрокси-N-фенилбензамид



26. 2- (2-метоксифенокси) уксусная кислота

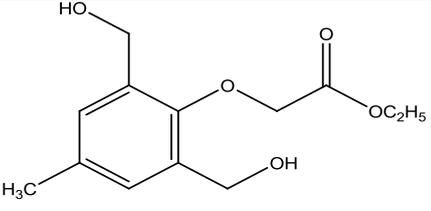
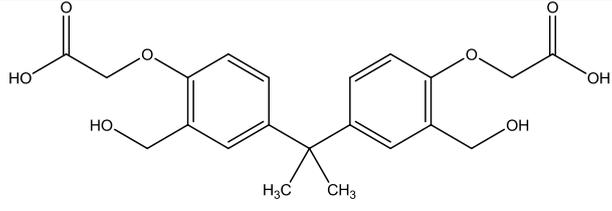
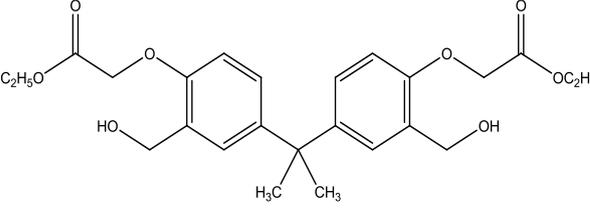
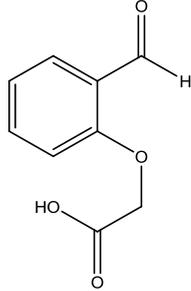
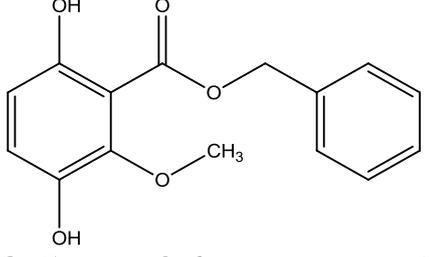
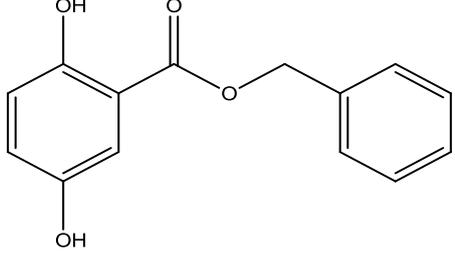
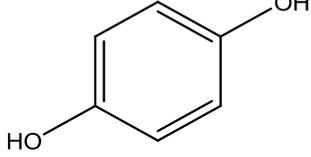
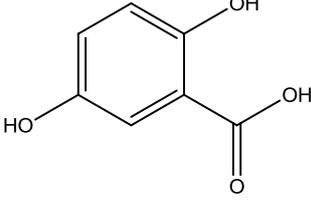
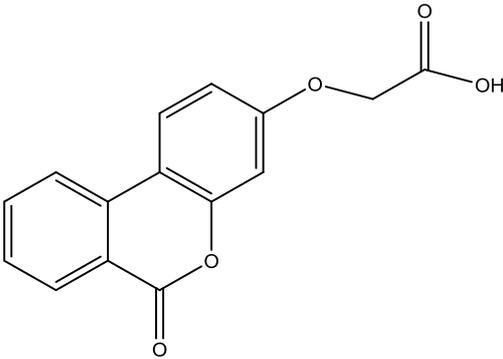
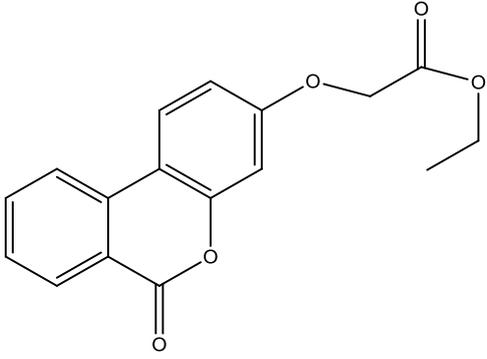


27. (E) -этил 2- (12-оксоиндоло [2,1- b] хиназолин-6 (12Н) - илиденаминоокси) ацетат

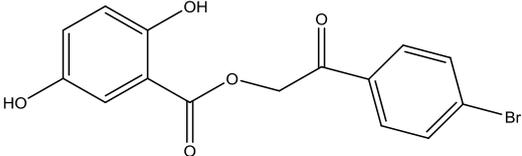
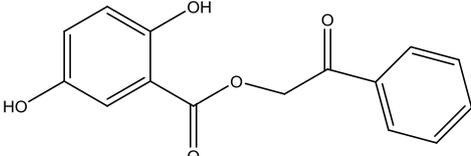
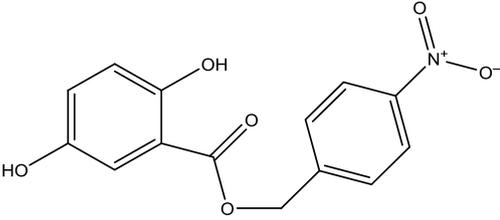
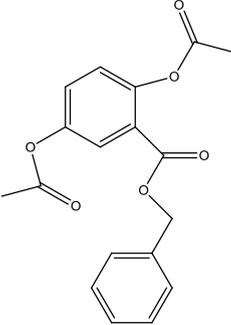
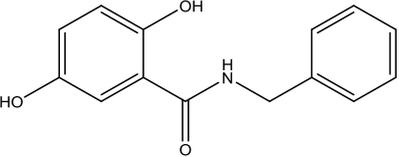
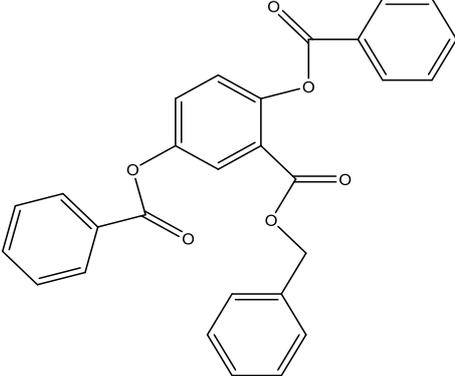
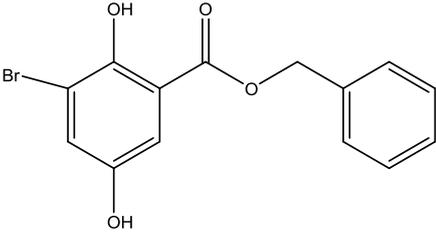
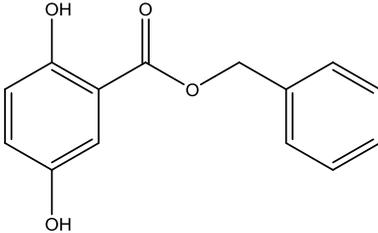
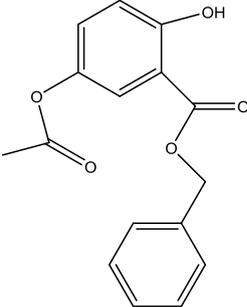
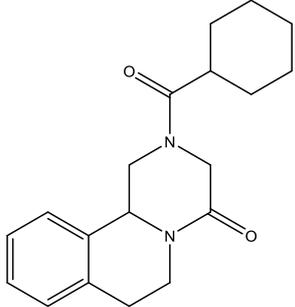


28. 2- (2,6-бис (гидроксиметил) -4- метилфенокси) уксусная кислота

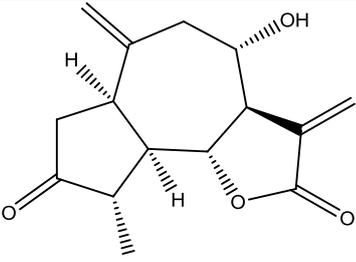
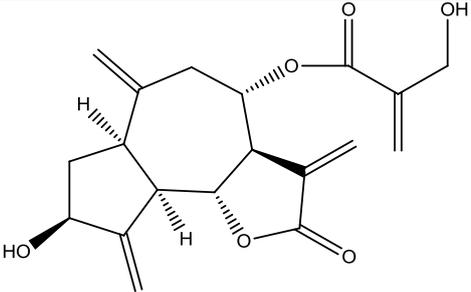
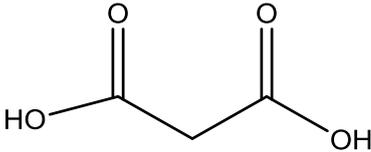
Продолжение таблицы 1

| | |
|--|--|
|  <p>29. этил 2- (2,6-бис (гидроксиметил) -4-метилфенокси) ацетат</p> |  <p>30. 2,2' - (4,4' - (пропан-2,2-диил) бис (2- (гидроксиметил) -4,1-фенилен)) бис (окси) диуксусную кислоту</p> |
|  <p>31. Диэтил 2,2' - (4,4' - (пропан-2,2-диил) бис (2- (гидроксиметил) -4,1-фенилен)) бис (окси) диацетат</p> |  <p>32. 2- (2-формилфенокси) уксусная кислота</p> |
|  <p>33. бензил 3,6-дигидрокси-2-метоксибензоат</p> |  <p>34. бензил 2,5-дигидроксибензоат</p> |
|  <p>35. Гидрохинон</p> |  <p>36. 2,5-дигидроксибензойная кислота</p> |
|  <p>37. 2 - ((6-оксо-6Н-бензо [с] хромен-3-ил) окси) уксусная кислота</p> |  <p>38. этоксиметил 2 - ((6-оксо-6Н-бензо [с] хромен-3-ил) окси) ацетат</p> |

Продолжение таблицы 1

| | |
|---|---|
|  <p>39. 2-(4-бромфенил)-2-оксоэтил-2,5-дигидроксибензоат</p> |  <p>40. 2-оксо-2-фенилэтил 2,5-дигидроксибензоат</p> |
|  <p>41. 2-оксо-2-фенилэтил 2,5-дигидроксибензоат</p> |  <p>42. диацетил-бензилгентизат</p> |
|  <p>43. N-бензил-2,5-дигидроксибензамид</p> |  <p>44. 2 - ((бензилокси) карбонил) -1,4-фенилендобензоат</p> |
|  <p>45. 2 - ((бензилокси) карбонил) -1,4-фенилендобензоат</p> |  <p>46. бензил 2,5-дигидроксибензоат</p> |
|  <p>47. бензил-5-ацетокси-2-гидроксибензоата</p> |  <p>48. Празиквантель</p> |

Продолжение таблицы 1

| | |
|--|---|
|  <p>49. Гроссгемин</p> |  <p>50. Цинаропикрин</p> |
|  <p>51. Малоновая кислота</p> | |

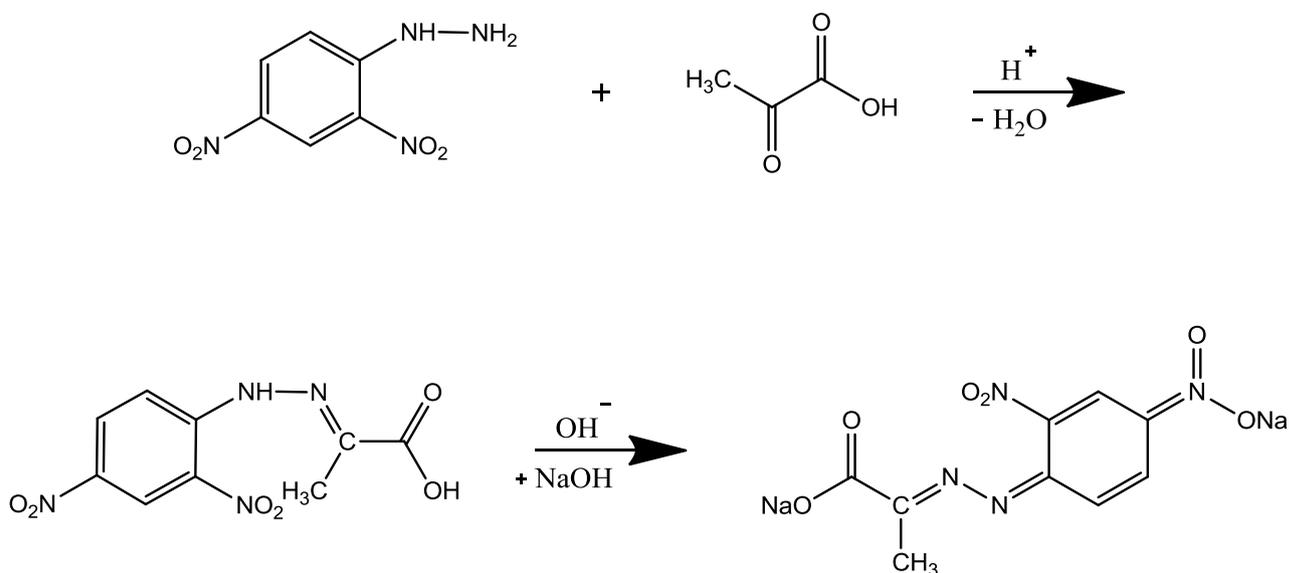
Количество этилового спирта определяли методом газо-жидкостной хроматографии. Для этого, сухие дрожжи в количестве 150 мг измельчали в фарфоровой ступке в присутствии песка. Добавляли 1 мл –калий-фосфатного буфера (0.4М, рН 7.4) и 4 мл воды и центрифугировали 5 мин при 14 000 об/мин. В полученный центрифугат добавляли 1,5 мл раствора глюкозы с концентрацией 10 мг/мл и 180 мкл – хлорида магния 0.2 М. Полученный экстракт использовали в качестве источника ферментов гликолиза (ФГ).

Исследуемые соединения предварительно растворяли в ДМСО и в виде раствора вносили в 500 мкл ФГ. Инкубация осуществлялась при комнатной температуре в течение 20 часов. Количество образовавшегося этанола определяли методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) (Приложение А). В качестве внутреннего стандарта был использован водный раствор бутанола.

Таким образом получали хроматограммы, где сравнивали площади пиков, соответствующих по времени удерживания этиловому спирту, относительно площади пика бутанола (Приложение А).

Эксперименты проводили три раза. Таблица 1 содержит средние значения процентного содержания этилового спирта относительно контроля (инкубация без добавок тест-соединений).

Способ определения пирувической кислоты. Относительное изменение концентрации пирувата определяли методом фотометрии. В основе фотометрических методов лежит измерение при помощи фотометров интенсивности окраски веществ, образующихся при взаимодействии образуемых соединений со специфическими реагентами, добавленными в пробу, как правило, после остановки ферментативной реакции. Пирувическая кислота взаимодействует с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием гидразона, который в щелочной среде приобретает красно-бордовую окраску, интенсивность которой прямо пропорциональна концентрации пирувической кислоты.



Сухие дрожжи в количестве 250 мг измельчали в фарфоровой ступке в присутствии силикагеля. Добавляли 2 мл –калий-фосфатного буфера (0.4М, рН 7.4) и 4 мл воды и центрифугировали 5 мин при 14 000 об/мин. В полученный центрифугат добавили 180 мкл – хлорида магния 0.2 М. Полученный экстракт использовали в качестве источника ферментов гликолиза (ФГ). В кюветы планшета наливали по 100 мкл полученного экстракта и добавляли по 10 мкл раствора глюкозы, АТФ, АДФ и НАД с концентрацией 10 мг/мл (проверка скорости образования пирувата) или пируват 0,4М и НАД (проверка скорости утилизации пирувата).

Исследуемые соединения предварительно растворяли в ДМСО и в виде раствора и вносили по 2-4 мкл в ФГ. Инкубация осуществлялась при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем добавили 20 мкл 0,1 % раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 1Н НСl. Пробу оставили на 30 минут. Затем приливали 100 мкл 2*n* едкого натрия (NaOH) и измеряли оптическую плотность в фотометре при волне 450 нм (Приложение Б).

Эксперименты проводили в дублях. Таблица 2 содержит средние значения процентного содержания пирувата относительно контроля (инкубация без добавок тест-соединений).

5.1 Потенциальные потребители результатов исследования

В настоящее время в Российской Федерации, в том числе особенно в Томской области, отмечаются тенденции к расширению ареала многих природно-очаговых гельминтозов. По этому, в нашей работе исследуются соединения, обладающих способностью воздействовать на жизненно важные системы гельминтов. В дальнейшем результаты этих исследований могут быть использованы в производстве противогельминтных и противоопухолевых лекарств.

Продукт: антигельминтные препараты

Целевой рынок: предприятия фармацевтической отрасли и медицинские учреждения

Исходя из сегментирования, выявлено, что основными сегментами рынка антигельминтных препаратов являются медицинские учреждения (средние - аптеки, больницы, крупные - НИИ), а также малые химико - фармацевтические предприятия (так как производство веществ с фармакологическими свойствами является малотоннажным) (Рисунок 13).

| Размер компании | Предприятия фармацевтической отрасли и медицинские учреждения | | |
|-----------------|---|-----------------|----------------------|
| | ВУЗы | мед.учереждения | Хим-фарм предприятия |
| малые | | | |
| средние | | | |
| крупные | | | |

Антигельминтные препараты

Рисунок 13 - Карта сегментирования рынка

5.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Для внесения коррективов в научное исследование чтобы лучшего противостоять конкурентам, необходимо выявить и проанализировать сильные и слабые стороны разработок конкурентов.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле:

$$K = \sum V_i \cdot B_i, \quad (1)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

V_i – вес показателя (в долях единицы);

B_i – балл i -го показателя.

Таблица 7 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

| Критерии оценки | Вес критерия | Баллы | | | Конкурентоспособность | | |
|--|--------------|------------|----------|----------|-----------------------|----------|----------|
| | | B_{ϕ} | B_{k1} | B_{k2} | K_{ϕ} | K_{k1} | K_{k2} |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Технические критерии оценки ресурсоэффективности | | | | | | | |
| 1. Экологичность | 0,1 | 4 | 5 | 4 | 0,4 | 0,5 | 0,4 |
| 2. Удобство в эксплуатации | 0,05 | 5 | 2 | 3 | 0,25 | 0,1 | 0,15 |
| 3. Безопасность | 0,11 | 4 | 4 | 3 | 0,2 | 0,2 | 0,15 |
| 4. Надежность | 0,11 | 5 | 5 | 3 | 0,25 | 0,25 | 0,15 |
| 5. Выход целевого продукта | 0,1 | 4 | 5 | 4 | 0,4 | 0,5 | 0,4 |
| 6. Длительность реакции | 0,08 | 4 | 5 | 4 | 0,2 | 0,25 | 0,2 |
| 7. Условия реакции | 0,02 | 5 | 3 | 4 | 0,05 | 0,03 | 0,04 |
| Экономические критерии оценки эффективности | | | | | | | |
| 1. Конкурентоспособность продукта | 0,15 | 5 | 4 | 4 | 0,25 | 0,2 | 0,2 |
| 2. Цена | 0,1 | 4 | 2 | 4 | 0,4 | 0,2 | 0,4 |

Продолжение таблицы 7

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|---|------|---|---|---|------|------|------|
| 5.Уровень проникновения на рынок | 0,1 | 3 | 3 | 4 | 0,15 | 0,15 | 0,2 |
| 6.Финансирование научной разработки | 0,03 | 5 | 3 | 3 | 0,1 | 0,06 | 0,06 |
| 7.Срок выхода на рынок | 0,05 | 4 | 5 | 4 | 0,2 | 0,25 | 0,2 |
| Итого | 1 | | | | 2,85 | 2,69 | 2,55 |
| <p>K_1 – Одностадийное иодирование аминопиридинов в присутствии ангидрида трифторметансульфокислоты. K_2 – Этоксילирование галогенпиридинов.</p> | | | | | | | |

Исходя из таблицы 7, разрабатываемая нами методика более конкурентоспособна, чем разработки конкурентов. Она более удобна в эксплуатации, а так же наносит меньший вред окружающей среде, так как используемые реагенты почти не токсичны и легко извлекаются. Также цены реагентов нашей методики достаточно низки.

5.3 Диаграмма Исикавы

Для выявления различных причинно-следственных связей был использован метод диаграмм Исикавы.

Диаграмма Исикавы — это способ позволяет графически изображать исследования и определения, с помощью которых можно выразить взаимосвязей между факторами и последствиями какого-нибудь проекта, ситуации, проблемы. С помощью данной диаграммы были рассмотрены все факторы данной работы (Рисунок 14).

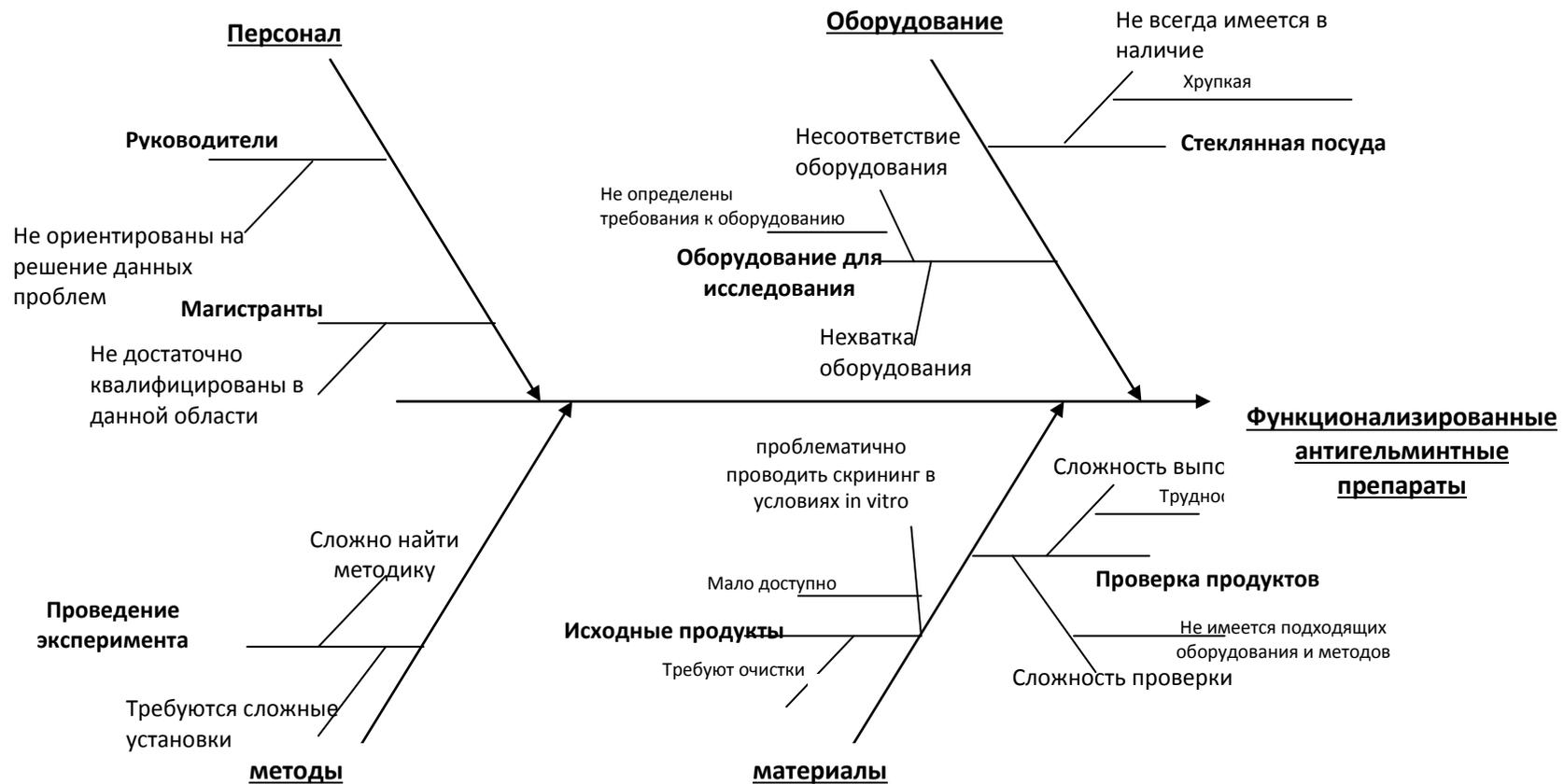


Рисунок 14 - Общий вид диаграммы Исикавы для функционализации антигельминтных препаратов.

5.4. Оценка готовности проекта к коммерциализации

На какой бы стадии жизненного цикла не находилась научная разработка полезно оценить степень ее готовности к коммерциализации и выяснить уровень собственных знаний для ее проведения. Для этого была заполнена специальная таблица, которая содержит показатели о степени проработанности проекта с позиции коммерциализации и компетенциям разработчика научного проекта (Таблица 8).

Таблица 8 - Бланк оценки степени готовности научного 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 | 3 |
| 2. | Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела | 3 | 2 |
| 3. | Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке | 2 | 2 |
| 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 | 2 | 2 |
| 7. | Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта | 3 | 3 |
| 8. | Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки | 2 | 3 |

Продолжение таблицы 8

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|-----|---|-----------|-----------|
| 9. | Определены пути продвижения научной разработки на рынок | 2 | 2 |
| 10. | Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки | 5 | 5 |
| 11. | Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок | 4 | 3 |
| 12. | Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот | 4 | 4 |
| 13. | Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной разработки | 3 | 3 |
| 14. | Имеется команда для коммерциализации научной разработки | 3 | 2 |
| 15. | Проработан механизм реализации научного проекта | 5 | 4 |
| | ИТОГО БАЛЛОВ | 51 | 46 |

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) равна

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i$$

$$B_{\text{сум}}=46$$

Значение $B_{\text{сум}}$ получилось 46, что говорит, что перспектива коммерциализация данной разработки выше среднего.

5.5 Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования

Для коммерциализации результатов научно-технического исследования можно использовать торговлю патентными лицензиями, то

есть, это продажа разработки исследования третьим лицам, а также с помощью организации совместных предприятий, работающих по схеме «российское производство – зарубежное распространение».

Использование торговли патентными лицензиями, приведет нас к сотрудничеству с зарубежными странами, что повысит эффективность исследования и будет осуществляться технологический и научно-технический обмен, обмен опытом работы. При технологическом обмене происходит экономическое развитие страны и происходит развитие международных экономических отношений.

При совместном предприятии будет происходить привлечение в страну передовых технологий, управленческого опыта, дополнительные и материальные и финансовые ресурсы, привлекают иностранный капитал в отечественную экономику расширение экспортной базы, сокращение импорта, расширение рынков сбыта.

5.6 Инициация проекта

Для определения нового проекта или новой фазы существующего выполняется группа процессов инициации. Инициация проекта определяет изначальные цели проекта или содержание работы. Также, в данном разделе определяются изначальные экономические – финансовые затраты. По данной работе также надо определить внутренние и внешние заинтересованные стороны проекта, которые влияют на общий результат научного проекта. Для этого научного проекта тоже имеются заинтересованные группы (Таблица 9). Ниже указаны, изначальные цели и результат проекта (Таблица 10), рабочая группа данного проекта (Таблица 11) приведены ниже.

1. Цели и результат проекта. В данном разделе необходимо привести информацию о заинтересованных сторонах проекта, иерархии целей проекта и критериях достижения целей.

Таблица 9 – Заинтересованные стороны проекта

| Заинтересованные стороны проекта | Ожидания заинтересованных сторон |
|----------------------------------|---|
| Научный руководитель | Разработка методик получения противогельминтных лекарств. |
| Магистрант | |

Таблица 10 – Цели и результат проекта

| | |
|--------------------------------------|---|
| Цели проекта: | Разработка методик получения антигельминтных лекарств, оценивая влияния тестируемых соединений (фенолгликозиды и их агликаны, и некоторые производные фенолкарбоновых и коричных кислот) на процесс гликолиза, осуществляемый бесклеточной средой <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . |
| Ожидаемые результаты проекта: | Новые соединения, обладающие антигельминтной активностью. |
| Критерии приемки результата проекта: | Повторяемость методик: ТСХ и ВЭЖХ, ГЖХ, фотометр. |
| Требования к результату проекта: | Требование: Разработанная методика должна иметь противогельминтные препараты с широким спектром действия. Высокие выходы целевых биопрепаратов по методике |

2. Организационная структура проекта. В данном этапе инициации проекта приведена вся рабочая группа данного проекта, определена роль каждого участника в данном проекте, а также прописаны функции, выполняемые каждым из участников и их трудозатраты в проекте.

Таблица 11 – Рабочая группа проекта

| № п/п | Ф.И.О. место работы, должность | Функции в проекте | Основные обязанности |
|-------|---------------------------------------|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | Белянин Максим Львович, к.х.н. доцент | Руководитель проекта | Осуществляет детальное планирование проекта; Информацию для создания и актуализации планов работ; контролирует сроки выполнения работ по проекту |
| 2 | Болат Акерке Болаткызы, магистр | Исполнитель проекта | Выполняет проект |
| 3 | Креницына Зоя Васильевна | Консультант раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» | Оказание методической помощи при работе над разделом «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» в магистерской диссертации |
| 4 | Ахмеджанов Рафик Равильевич | Консультант раздела «Социальная ответственность» | Оказание методической помощи при работе над разделом «Социальная ответственность» |
| 5 | Кобзева Надежда Александровна | Консультант – лингвист | Оказание методической помощи при работе над переводом одной из глав магистерской диссертации на иностранный язык |

3. Ограничения и допущения проекта. Ограничения проекта – это все факторы, которые могут послужить ограничением степени свободы участников команды проекта, а так же «границы проекта» - параметры проекта или его продукта, которые не будут реализованных в рамках данного проекта.

Таблица 12 – Ограничения проекта

| Фактор | Ограничения/ допущения |
|---|------------------------|
| 3.1. Бюджет проекта | - |
| 3.1.1. Источник финансирования | - |
| 3.2. Сроки проекта: | 11.09.2017 – 4.06.2018 |
| 3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом | 4.09.2017 |
| 3.2.2. Дата завершения проекта | 4.06.2018 |
| 3.3. Прочие ограничения и допущения* | Не имеются |

Таким образом, мы определили в рамках инициации проекта изначальные цели и финансовые ресурсы, заинтересованные стороны проекта, действия которых направлены на достижение общего результата. Также провели анализ всех ограничительных факторов проекта.

5.7 Планирование управления научно-техническим проектом

5.7.1 Иерархическая структура работ проекта

Иерархическая структура работ (ИСР) – детализация укрупненной структуры работ. Планирование научного проекта состоит из процессов

определения цели работы, разработка последовательности действий и общего содержания работы требуемых для достижения определенных целей.

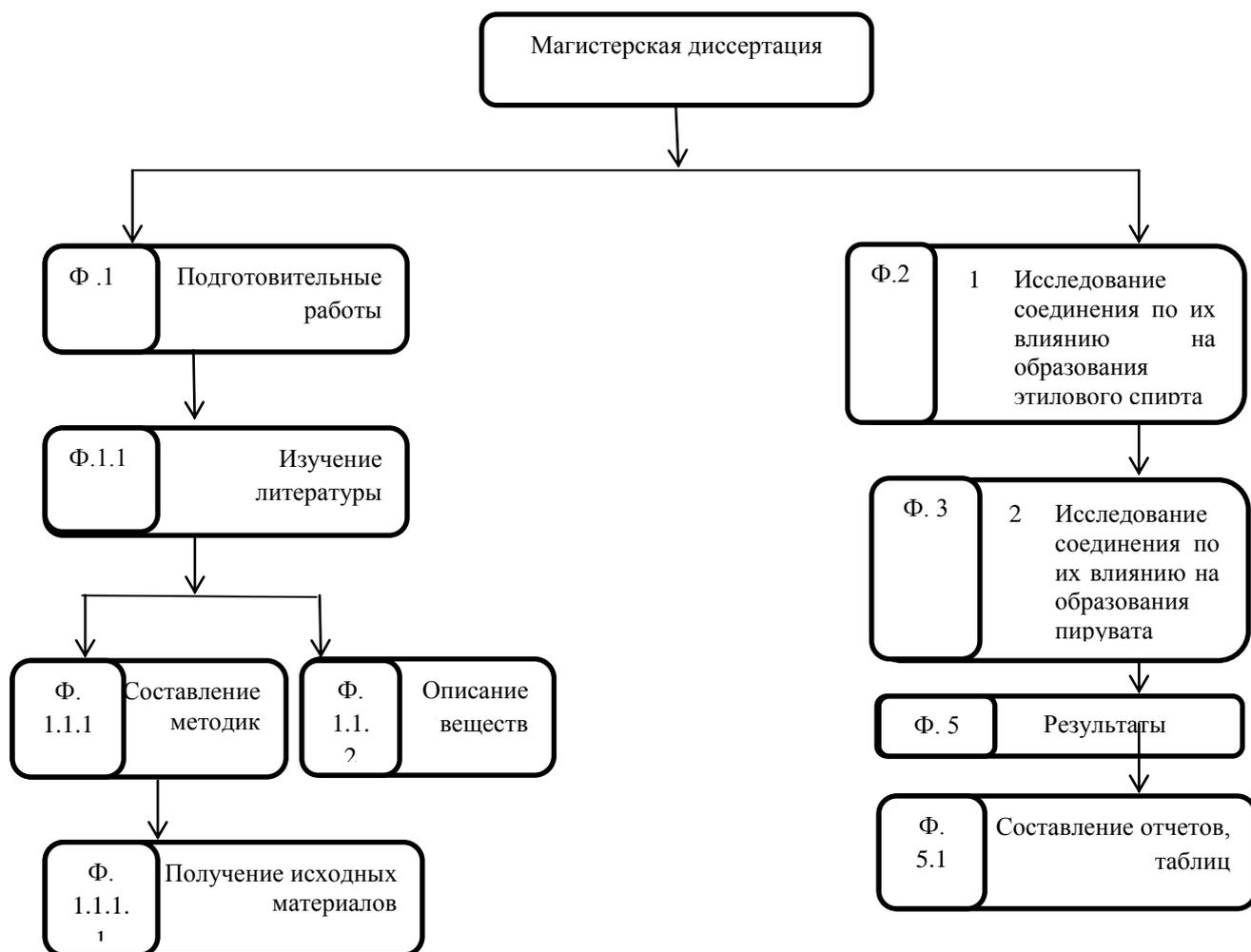


Рисунок 15 - Иерархическая структура работ по проекту

5.7.2 Контрольные события проекта

Таблица 13 – Контрольные события проекта

| № п/п | Контрольное событие | Дата | Результат |
|-------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | Изучение литературных источников | 11.09.2017-20.10.2017 | Составление литературного обзора |

Продолжение таблицы 13

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|--------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 3 | Работа над магистерской диссертацией | 23.10.2017-30.04.2018 | Исследование и редактирование методик |
| 4 | | 01.05.2018-04.06.2018 | Написание магистерской диссертации |

5.7.3 План проекта

Для планирования научного проекта необходимо построить календарный план проекта. Календарный план данного проекта отображен в таблице 14.

Таблица 14 – Календарный план проекта

| Код работы (из ИСР) | Название | Длительность, дни | Дата начала работ | Дата окончания работ | Состав участников (ФИО ответственных исполнителей) |
|---------------------|---|-------------------|-------------------|----------------------|--|
| 1 | Литературный обзор | 24 | 11.09.2017 | 20.10.2017 | Болат А.Б. |
| 2 | Составление методик работы | 18 | 01.10.2017 | 23.10.2017 | Белянин М.Л. |
| 03 | Проведение исследований по влиянию тестируемых соединений на процесс гликолиз | 93 | 23.10.2017 | 05.03.2018 | Болат А.Б. |
| 04 | Исследование свойств | 50 | 05.03.2018 | 30.04.2018 | Болат А.Б. |
| 05 | Составление отчета | 30 | 30.04.2018 | 11.06.2018 | Болат А.Б. Белянин М.Л. |
| 06 | Защита работы | 1 | 14.06.2018 | 14.06.2018 | Болат А.Б. |
| Итого: | | 216 | | | |

Таблица 15 - Календарный план-график проведения НИОКР по теме

| Код работ (из ИСР) | Вид работ | Исполнители | Т _к , кал, дн. | Продолжительность выполнения работ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---|------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|---|---------|---|---|--------|---|---|---------|---|---|--------|---|---|---------|---|---|------|---|---|--------|---|---|-----|---|---|------|---|--|--|--|
| | | | | сентябрь | | октябрь | | | ноябрь | | | декабрь | | | январь | | | февраль | | | март | | | апрель | | | май | | | июнь | | | | |
| | | | | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | | | |
| 1 | Литературный обзор | Инженер (магистрант) | 24 | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | Составление методик работы | Руководитель | 18 | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Проведение исследований по влиянию тестируемых соединений на процесс гликолиз | Инженер (магистрант) | 93 | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Исследование войств | Инженер (магистрант) | 50 | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Составление отчета | Руководитель, инженер (магистрант) | 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | | | | | | | |
| 6 | Защита работы | Инженер (магистрант) | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | | | | |
| <i>i</i> | | | 216 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

5.7.4 Бюджет научного исследования

При планировании бюджета научного исследования должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов планируемых расходов, необходимых для его выполнения.

Сырье, материалы, покупные изделия (за вычетом отходов)

В этом разделе включаются затраты на сырьевые материалы, комплектующих полуфабрикатов и изделий, необходимых для выполнения работы (Таблица 16). Потребность сырьевых материалов определяется по количеству их расхода.

Таблица 16 – Материальные затраты

| Наименование | Единица измерения | Количество | Цена за ед., руб. | Затраты на материалы, (З _м), руб. |
|-------------------|-------------------|------------|-------------------|---|
| Диметилсульфоксид | л | 0,1 л | 4231,5 | 4231,5 |
| Бутанол | л | 1 л | 109 | 109 |
| Фосфатный буфер | г | 9,2 | 54,5 | 5,9 |
| Глюкоза | г | 100 | 124 | 0,8 |
| АТФ | г | 50 | 2200 | 2200 |
| АДФ | г | 50 | 1200 | 1200 |
| НАД | г | 25 | 1300 | 1300 |
| Итого: | | | | 9046,9 |

Специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ. В данную статью включаются все затраты, связанные с приобретением специального оборудования. Определение стоимости спецоборудования производится по действующим прейскурантам. Стоимость оборудования

имеющегося в научно-технической организации, учитываем в калькуляции в виде амортизационных отчислений (Таблица 17,18).

Таблица 17 - Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ

| № п/ п | Наименование оборудования | Кол-во единиц оборуд ования | Цена единицы оборудовани я, руб. | Общая стоимость оборудования,ру б. |
|--------------|------------------------------|--------------------------------------|---|---|
| 1. | Цилиндр | 3 | 120 | 360 |
| 2. | Штатив | 1 | 1800 | 1800 |
| 3. | Колба круглодонная | 2 | 97 | 194 |
| 4. | Стакан | 6 | 91 | 546 |
| 5. | Колба плоскодонная | 3 | 65 | 195 |
| 6. | Палочки стеклянные | 3 | 13 | 39 |
| 7. | Термометр | 1 | 200 | 200 |
| 8. | Прямой холодильник | 1 | 260 | 260 |
| 9. | Дефлегматор | 1 | 1190 | 1190 |
| 10. | Пипетка мерная, 0,1 мл | 1 | 171,9 | 171,9 |
| 11. | Пипетка мерная, 1 мл | 3 | 54 | 162 |
| 12. | Пипетка мерная, 10 мл | 3 | 46 | 138 |
| | Итого | | | 5255,9 |

Расчет амортизационных отчислений:

Затраты определяются в виде амортизации по формуле:

$$E_{ам} = \frac{\sum K_{обі} \cdot H_{обі} \cdot T_{обі}}{365 \cdot 100} \quad (2)$$

где $K_{обі}$ —стоимость ед. прибора или оборудования, руб.;

$H_{амі}$ -норма амортизации прибора или оборудования, %;

$T_{обі}$ —время использования оборудования, дни.

Таблица 18 – Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ

| № | Наименование оборудования | Цена единицы оборудования, К _{об} , руб | Время использования, Т _{об} , дни | Норма амортизации, Нам, % | Сумма амортизационных отчислений, Еам, руб. |
|-------|--|--|--|---------------------------|---|
| 1 | Электроплитка с магнитной мешалкой HP-20D-Unit | 18500 | 90 | 10,4 | 474,4 |
| 2 | Весы аналитические HTR-120CEShinko | 40120 | 5 | 8,8 | 9,67 |
| 3 | Весы лабораторные | 44200 | 90 | 8,8 | 9,67 |
| 4 | Газовый хроматограф Agilent 7890A | 3727994 | 10 | 11 | 11235,05 |
| 5 | Центрифуга | 98430 | 90 | 9,5 | 1640,5 |
| 6 | Фотометр -iMark MicroplateReader | 177500 | 90 | 10 | 2958,33 |
| Итого | | | | | 16327,62 |

Основная заработная плата. В данном заголовке включены основная заработная плата научных и инженерно-технических работников, которые участвуют в выполнении работы по магистерской теме. Расходы по заработной плате определяется исходя из трудоемкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда.

Месячный должностной оклад работника

$$Z_m = Z_b \cdot k_p$$

где Z_b – базовый оклад, руб.;

k_p – районный коэффициент, равный 1,3.

Базовый оклад Z_b такого руководителя, как д.х.н. доцент, составляет 31000 руб. Рассчитываем месячный должностной оклад руководителя:

$$Z_{\text{м.}} = 31000 \cdot 1,3 = 40300 \text{ руб.}$$

Среднедневная ЗП руководителя:

$$Z_{\text{дн.}} = 40300 \cdot 10,4 / 251 = 1669,8 \text{ руб.}$$

2) Базовый оклад Z_6 магистранта, составляет 1750 руб. Рассчитываем месячный должностной оклад инженера:

$$Z_{\text{м.}} = 1750 \cdot 1,3 = 2275 \text{ руб.}$$

Среднедневная ЗП инженера:

$$Z_{\text{дн.}} = 2275 \cdot 10,4 / 188 = 125,9 \text{ руб.}$$

Таблица 19 – Баланс рабочего времени

| Показатели рабочего времени | Руководитель | Магистрант |
|---|--------------|------------|
| Число дней (календарное) | 365 | 365 |
| Число дней(нерабочих) | | |
| - выходные | 52 | 52 |
| - праздничные дни | 14 | 14 |
| Потери рабочего времени | | |
| - отпуск или невыходы по болезни | 48 | 48 |
| Действительный годовой фонд рабочего времени | 251 | 251 |
| Действительное рабочее время реализуемого проекта | 188 | 188 |

Таблица 20 – Расчет основной заработной платы

| № п/п | Наименование этапов | Исполнители по категориям | Трудо-емкость, чел.-дн. | Заработная плата, приходящаяся на один чел.-дн., тыс.руб. | Всего заработная плата по тарифу (окладам), тыс. руб. |
|-------|--|---------------------------|-------------------------|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | Составление методик работы | Белянин М.Л. | 18 | 1,6698 | 73,471 |
| 2 | Составление отчета. Проверка работы | Белянин М.Л. | 26 | | |

Продолжение таблицы 20

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|--------|---|------------|----|--------|--------|
| 3 | Литературный обзор | Болат А.Б. | 24 | 0,1259 | 21,403 |
| 4 | Проведение исследований по влиянию тестируемых соединений на процесс гликолиз | | 93 | | |
| 5 | Составление отчета | | 30 | | |
| 6 | Защита работы | | 1 | | |
| Итого: | | | | | 94,874 |

Таблица 21 – Расчёт основной заработной платы

| Исполнители | З _б , руб. | k _{пр} | k _д | k _р | З _м , руб | F _д раб.дн. | З _{дн} , руб. | T _р , раб.дн. | З _{осн} , руб. |
|-------------------------|--------------------------|-----------------|----------------|----------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Руководитель | 31000 | 0 | 0 | 1,3 | 403000 | 251 | 1669,8 | 44 | 73471 |
| Инженер (магистрант) | 1750 | 0 | 0 | 1,3 | 2275 | 251 | 125,9 | 170 | 21403 |

Дополнительная заработная плата рассчитывается исходя из 10-15% от основной заработной платы, работников, непосредственно участвующих в выполнении темы (Таблица 22):

$$Z_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} \cdot Z_{\text{осн}}$$

где $Z_{\text{доп}}$ – дополнительная заработная плата, руб.;

$k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной зарплаты;

$Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата, руб.

Таблица 22 – Дополнительная заработная плата

| Заработная плата | Руководитель | Инженер (магистрант) |
|-------------------------|--------------|----------------------|
| Основная зарплата | 73471 | 21403 |
| Дополнительная зарплата | 8816,5 | 2568,4 |

5.7.5. Накладные расходы

В эту статью включаются затраты на управление и хозяйственное обслуживание, которые могут быть отнесены непосредственно на конкретную тему.

А) Расход электроэнергии в час для ГЖХ составляет 1,3 кВт/ч. Длительность использования: 105 дней по 5 часов в среднем

$$E = 105 * 5 * 1,3 = 682,5 \text{ кВт.}$$

Б) Расход электроэнергии для персонального компьютера равен 0,16 кВт/ч

Длительность использования: 4 месяца (компьютер работал в среднем 22 дня в месяц по 6 часов).

$$E = 4 \text{ мес} * 22 \text{ дня} * 6 \text{ часов} * 0,16 = 84,48 \text{ кВт.}$$

Д) Освещение (4 лампы по 100 Вт)

7 месяцев * 22 дня * 8 часов

$$E = (7 * 22 * 8) * 0,4 = 492,8 \text{ кВт.}$$

Общая сумма затрат на электроэнергию составляет, согласно действующему тарифу (5,10 руб. за 1 кВт/ч):

$$C_{\text{эл}} = (682,5 + 84,48 + 492,8) * 5,10 = 6424,88 \text{ руб.}$$

В) Затраты на водоснабжение

Тариф на водоснабжение – 34,14 р на м³. Примерный расход воды за время исследований составляет – 30 м³.

Затраты на водоснабжение за весь период исследования составляет – 1024,2 руб.

Вода использовалась для конденсации паров жидкостей при перегонке или нагревании (кипячении). Так же вода использовалась для мытья химической посуды.

Итого расходы:

$$C_1 = C_v + C_{эл} = 1024,2 + 6424,88 = 7449,08 \text{ руб.}$$

Отчисления на социальные нужды

Статья включает в себя отчисления во внебюджетные фонды.

$$C_{внеб} = k_{внеб} \cdot (З_{осн} + З_{доп})$$

где, $k_{внеб}$ – коэффициент отчислений на уплату во внебюджетные фонды (пенсионный фонд, фонд обязательного медицинского страхования и пр.).

Отчисления на социальные нужды составляет 27,1%.

$$C_{внеб} = 0,271 \times (94874 + 11384,9) = 28796,16 \text{ руб.}$$

Таблица 23 – Бюджет научного исследования

| Наименование статьи | Сумма, руб. |
|--|-------------|
| 1. Материальные затраты НТИ | 9046,9 |
| 2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ | 16327,62 |
| 3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы | 94874 |
| 4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы | 11384,9 |
| 5. Отчисления во внебюджетные фонды | 28796,5 |
| 6. Затраты на научные и производственные командировки | - |
| 7. Контрагентские расходы | 6100 |
| 8. Накладные расходы | 75899,2 |
| Итого: | 247345,9 |

Таким образом, сделав указанные расчеты, можно сделать следующий вывод, что данный исследовательский проект эффективен. Экономические затраты по расчетам считается приемлемыми. Срок реализации данного проекта полностью совпадают.

5.7.6. Реестр рисков проекта

На пути реализации проекта могут возникнуть разного рода риски, представляющие опасность того, что поставленные цели проекта могут быть не достигнуты полностью или частично. Полностью избежать риска практически невозможно, но снизить их угрозу можно, уменьшая действие неблагоприятных факторов. Возможные риски представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Возможные риски проекта

| № | Риск | Вероятность наступления (1-5) | Влияние риска (1-5) | Уровень риска | Способы смягчения риска |
|---|--|-------------------------------|---------------------|---------------|------------------------------------|
| 1 | Низкий выход целевого продукта | 4 | 5 | высокий | Точное следование методики синтеза |
| 2 | Образование большого количества побочных продуктов | 3 | 5 | высокий | Точное следование методики синтеза |

5.7.7 Определение ресурсной эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности научного исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности

Интегральный показатель финансовой эффективности научного исследования получают в ходе оценки бюджета затрат трех (или более) вариантов исполнения научного исследования. Для этого наибольший интегральный показатель реализации технической задачи принимается за базу расчета (как знаменатель), с которым соотносятся финансовые значения по всем вариантам исполнения.

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}} \quad (3)$$

где $I_{\text{финр}}^{\text{исп}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

Φ_{pi} – стоимость i -го варианта исполнения;

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

Полученная величина интегрального финансового показателя разработки отражает соответствующее численное увеличение бюджета затрат разработки в размах (значение больше единицы), либо соответствующее численное удешевление стоимости разработки в размах (значение меньше единицы, но больше нуля).

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

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i \quad (4)$$

где I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки;

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i^a, b_i^p – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания;

n – число параметров сравнения.

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности приведен в форме таблицы (Таблица 25).

Таблица 25 - Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

| Объект исследования Критерии | Весовой коэффициент параметра | Исп. | Аналог 1 | Аналог 2 |
|--|-------------------------------|------|----------|----------|
| 1. Способствует росту производительности труда | 0,1 | 4 | 5 | 5 |
| 2. Удобство в эксплуатации | 0,15 | 4 | 5 | 5 |
| 3. Энергосбережение | 0,15 | 4 | 4 | 4 |
| 4. Надежность | 0,20 | 5 | 5 | 5 |
| 5. Воспроизводимость | 0,25 | 4 | 4 | 5 |
| 6. Материалоемкость | 0,15 | 4 | 4 | 4 |
| ИТОГО | 1 | 4,2 | 4,45 | 4,7 |

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки ($I_{испi}$) определяется на основании интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя по формуле:

$$I_{исп.1} = \frac{I_{р-исп1}}{I_{финр}^{исп1}}, I_{исп.2} = \frac{I_{р-исп2}}{I_{финр}^{исп2}} \text{ и т.д.} \quad (4)$$

Сравнение интегрального показателя эффективности вариантов исполнения разработки позволит определить сравнительную эффективность проекта и выбрать наиболее целесообразный вариант из предложенных (Таблица 26). Сравнительная эффективность проекта ($\mathcal{E}_{ср}$):

$$\mathcal{E}_{ср} = \frac{I_{исп.1}}{I_{исп.2}}$$

Таблица 26 - Сравнительная эффективность разработки

| № п/п | Показатели | Исп. | Аналог 1 | Аналог 2 |
|-------|---|-------|----------|----------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Интегральный финансовый показатель разработки | 0,999 | 0,999 | 1,000 |

Продолжение таблицы 26

| | | | | |
|---|---|------|------|------|
| 2 | Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки | 4,2 | 4,45 | 4,7 |
| 3 | Интегральный показатель эффективности | 4,2 | 4,45 | 4,7 |
| 4 | Сравнительная эффективность вариантов исполнения | 0,94 | 0,95 | 1,00 |

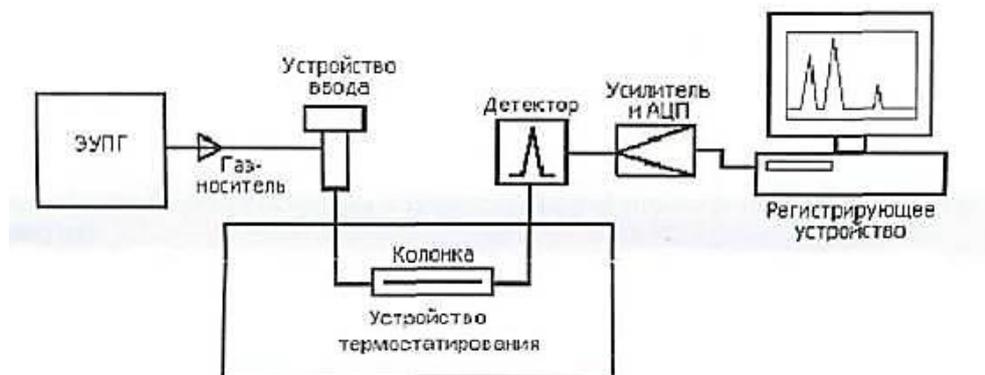
Таким образом, сравнение значений интегральных показателей эффективности показало, что все варианты исполнения являются равнозначными с точки зрения финансовой и ресурсной эффективности.

Список публикаций

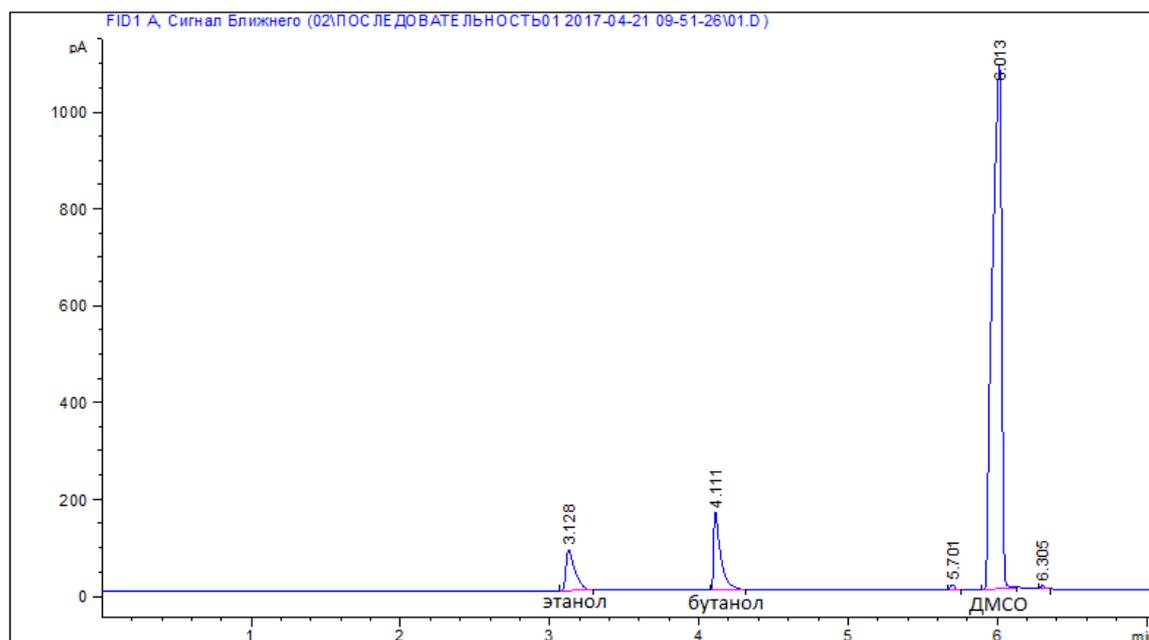
Материалы докладов:

Белянин М.Л. Болат А.Б. Поиск соединений с антигельминтной активностью. I International Conference on Research, Learning and Development (USA, Los Angeles): сборник научных трудов, 31 марта 2018 г.: НОО «Профессиональная наука», 2018. - 235 с.

Газо-жидкостный хроматограф – Agilent– 7820



Хроматограмма с площадями пика этилового спирта и бутанола



Фотометр - iMark Microplate Reader

