



«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт физики высоких технологий

Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология, профиль Химия и технология
биологически активных веществ

Кафедра биотехнологии и органической химии

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы

Получение и исследование новых гибридных биоматериалов на основе полимолочной и
полиакриловой кислот

УДК 661.746.2: 604

Студент

| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
|--------|------------------------------|---------|------------|
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна | | 27.05.2016 |

Руководитель

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|---------|------------|
| Ведущий научный сотрудник | Филимонов В.Д. | д.х.н., профессор | | 02.06.16г. |
| Доцент | Твердохлебов С.И. | к.ф.-м.н. | | 02.06.16г. |

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|-----------|-----------------|---------------------------|---------|--------------|
| Доцент | Меньшикова Е.В. | к.ф.н. | | 27.05.2016г. |

По разделу «Социальная ответственность»

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|-----------|---------------|---------------------------|---------|------------|
| Профессор | Федорчук Ю.М. | д.т.н. | | 27.05.16г. |

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

| Зав. кафедрой | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|---------------|--------------------|---------------------------|---------|------------|
| БИОХ | Краснокутская Е.А. | д.х.н., профессор | | 02.06.2016 |

Планируемые результаты обучения
по ООП 18.04.01 «Химическая технология» (магистр)
профиль «Химия и технология биологически активных веществ»

| Код результ ата | Результат обучения (выпускник должен быть готов) |
|--|--|
| <i>Профессиональные компетенции</i> | |
| P1 | Применять <i>глубокие</i> естественно-научные, математические и инженерные знания для создания <i>новых</i> материалов |
| P2 | Применять <i>глубокие</i> знания в области современных технологий химического производства для решения <i>междисциплинарных</i> инженерных задач |
| P3 | Ставить и решать <i>инновационные</i> задачи <i>инженерного анализа</i> , связанные с созданием материалов и изделий, с использованием системного анализа и моделирования объектов и процессов химической технологии |
| P4 | Разрабатывать химико-технологические процессы, <i>проектировать</i> и использовать <i>новое</i> оборудование для создания материалов, конкурентоспособных на <i>мировом</i> рынке |
| P5 | Проводить теоретические и экспериментальные <i>исследования</i> в области создания <i>новых</i> материалов, современных химических технологий, нанотехнологий |
| P6 | Внедрять, <i>эксплуатировать</i> современные высокотехнологичные линии автоматизированного производства, обеспечивать их <i>высокую эффективность</i> , соблюдать правила охраны здоровья и безопасности труда на химическом производстве, выполнять требования по защите окружающей среды |
| <i>Универсальные компетенции</i> | |
| P7 | Использовать <i>глубокие</i> знания по <i>проектному менеджменту</i> для ведения <i>инновационной</i> инженерной деятельности с учетом юридических аспектов защиты интеллектуальной собственности |
| P8 | <i>Активно</i> владеть <i>иностранным языком</i> на уровне, позволяющем работать в иноязычной среде, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инновационной инженерной деятельности |
| P9 | Эффективно работать индивидуально, в качестве <i>члена и руководителя группы</i> , состоящей из специалистов различных направлений и квалификаций, демонстрировать ответственность за результаты работы и готовность <i>следовать корпоративной культуре</i> организации |
| P10 | Демонстрировать <i>глубокие</i> знания <i>социальных, этических и культурных аспектов</i> инновационной инженерной деятельности, компетентность в вопросах <i>устойчивого развития</i> |
| P11 | <i>Самостоятельно учиться</i> и непрерывно <i>повышать квалификацию</i> в течение всего периода профессиональной деятельности |

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



Институт физики высоких технологий
Направление подготовки 18.04.01 Химическая технология, профиль Химия и технология биологически активных веществ
Кафедра биотехнологии и органической химии

УТВЕРЖДАЮ:

Зав. кафедрой БИОХ

 14.03.16 Краснокутская Е.А.
(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 |
|--------|------------------------------|
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна |

Тема работы:

Получение и исследование новых гибридных биоматериалов на основе полимолочной и полиакриловой кислот

Утверждена приказом директора (дата, номер)

А.Н. Яковлев от 25.04.2016
№3086/с

Срок сдачи студентом выполненной работы:

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

Исходные данные к работе

(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.).

Биодеградируемый материал на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты, полиакриловая кислота, литературные данные по методам поверхностной модификации полимолочной кислоты

| | |
|--|---|
| <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; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i></p> | <p>Литературный обзор, постановка задач исследования, материалы и методы, обсуждение результатов выполненной работы, заключение</p> |
| <p>Перечень графического материала</p> <p><i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i></p> | <p>22 рисунка</p> |

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы
(с указанием разделов)

| Раздел | Консультант |
|--|------------------------|
| <p>Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</p> | <p>Меньшикова Е.В.</p> |
| <p>Социальная ответственность</p> | <p>Федорчук Ю.М.</p> |
| <p>Раздел на английском языке</p> | <p>Сумцова О.В.</p> |
| <p>Раздел на английском языке, консультант от кафедры БИОХ</p> | <p>Потапов А.С.</p> |

Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:

Результаты проведенного исследования

| | |
|--|---------------------|
| <p>Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику</p> | <p>14.03.2016 г</p> |
|--|---------------------|

Задание выдал руководитель:

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|----------------------------------|--------------------------|--------------------------|---|-------------------|
| <p>Ведущий научный сотрудник</p> | <p>Филимонов В.Д.</p> | <p>д.х.н., профессор</p> |  | <p>14.03.16г.</p> |
| <p>Доцент</p> | <p>Твердохлебов С.И.</p> | <p>к.ф.-м.н.</p> |  | <p>14.03.16.</p> |

Задание принял к исполнению студент:

| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
|--------------|-----------------------|---|-------------------|
| <p>4ГМ4А</p> | <p>Даниленко Н.В.</p> |  | <p>14.03.2016</p> |

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

| | |
|--------|------------------------------|
| Группа | ФИО |
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна |

| | | | |
|---------------------|---------------------------|-------------|------------------------------------|
| Институт | физики высоких технологий | Кафедра | биотехнологии и органической химии |
| Уровень образования | магистр | Направление | 18.04.01 Химическая технология |

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

| | |
|--|---|
| 1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих | Себестоимость ресурсов научного исследования составила 34652,9 рублей, амортизация специального оборудования 7271,57 рублей, основная з/п 194744,5 итоговая себестоимость НИ 358748,53 рублей |
| 2. Нормы и нормативы расходования ресурсов | Отчисления на социальные нужды 27,1% составили 59108,9 рублей |

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

| | |
|---|--|
| 1. Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ | 1.1 Потенциальные потребители результатов исследования 1.2. Анализ конкурентных технических решений 1.3. Диаграмма Исикавы 1.4. Оценка готовности проекта к коммерциализации 1.5. Методы коммерциализации результатов научно-технического исследования |
| 2. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок | 3.1. План проекта 3.2. Бюджет научного исследования 3.3. График Ганта 3.3. Реестр рисков проекта |
| 3. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности | 4.1 Интегральный финансовый показатель разработки - 0,99; Интегральный показатель ресурсоэффективности разработки - 4,2; Сравнительная эффективность вариантов исполнения 0,94 |

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

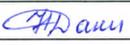
| |
|---|
| 1. Сегментирование рынка |
| 2. Оценка конкурентоспособности технических решений |
| 3. Диаграмма Исикавы |
| 4. Матрица SWOT |
| 5. График проведения и бюджет НТИ |
| 6. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НТИ |
| 7. Потенциальные риски |

| | |
|--|--|
| Дата выдачи задания для раздела по линейному графику | |
|--|--|

Задание выдал консультант:

| | | | | |
|-----------|-----------------|------------------------|---|------------|
| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
| Доцент | Меньшикова Е.В. | к.ф.н. |  | 10.02.2016 |

Задание принял к исполнению студент:

| | | | |
|--------|------------------------------|---|------------|
| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна |  | 10.02.2016 |

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

| | |
|--------|------------------------------|
| Группа | ФИО |
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна |

| | | | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| Институт | Физики высоких технологий | Кафедра | Биотехнологии и органической химии |
| Уровень образования | магистр | Направление/специальность | Химическая технология |

Тема дипломной работы: Получение и исследование новых гибридных биоматериалов на основе полимолочной и полиакриловой кислот

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:

1. Целью данной работы является создание новых гибридных биоматериалов на основе полимолочной и полиакриловой кислот для использования в медицинских целях
2. Описание рабочего места на предмет возникновения:

- вредных проявлений факторов производственной среды
(для обслуживающего персонала необходимо обеспечить оптимальные, в крайнем случае, допустимые значения метеоусловий на рабочем месте, исключить контакт с вредными, токсичными веществами – толуол, хлороформ и др., которые используются в процессе работы, обеспечить комфортную освещенность рабочего места, уменьшить до допустимых пределов шум от вентиляции, обеспечить безопасные значения электромагнитных полей);
- опасных проявлений факторов производственной среды
(в связи с присутствием электричества для питания электрооборудования и освещенности лаборатории, наличии горючих и взрывоопасных газов, необходимо предусмотреть, если есть, то перечислить средства коллективной и индивидуальной защиты от электро-, пожаро- и взрывоопасности);
- необходимо предусмотреть мероприятия по предотвращению негативного воздействия на окружающую природную среду используемых энергетических проявлений и образующихся отходов;
- необходимо обеспечить устойчивую работу вашего производственного участка при возникновении чрезвычайных ситуаций, характерных для Сибири – сильные морозы, пурга, человеческий фактор, диверсия (рассмотреть минимум 2 ЧС – 1 природную, 1 техногенную).

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. Анализ выявленных вредных факторов проектируемой производственной среды в следующей последовательности:
 - а) приводится перечень всех используемых в работе реагентов, их агрегатное состояние, класс опасности (токсичности), механизм воздействия их на организм человека, единицы измерения количества (концентрации); приводится перечень средств коллективной и индивидуальной защиты персонала, а также защиты окружающей среды;
 - б) приводятся данные по оптимальным и допустимым значениям микроклимата на рабочем месте, перечисляются методы обеспечения этих значений; приводится 1 из расчетов (расчет освещенности на рабочем месте, расчет необходимого воздухообмена на рабочем месте, расчет необходимого времени эвакуации рабочего персонала);
 - в) приводятся данные по реальным значениям шума на рабочем месте, разрабатываются или, если уже есть, перечисляются мероприятия по защите персонала от шума, при этом приводятся значения ПДУ, средства коллективной защиты, СИЗ;
 - г) приводятся данные по реальным значениям электромагнитных полей на рабочем месте, в том числе от компьютера или процессора, если они используются, перечисляются СКЗ и СИЗ; приведение допустимых норм с необходимой размерностью (с ссылкой на соответствующий нормативно-технический документ); предлагаемые средства защиты (сначала коллективной защиты, затем – индивидуальные защитные средства)
2. Анализ выявленных опасных факторов проектируемой производственной среды в следующей последовательности
 - а) приводятся данные по значениям напряжения используемого оборудования, классификация помещения по электробезопасности, допустимые безопасные для человека значения напряжения, тока и заземления (в т.ч. статическое электричество, молниезащита - источники, средства защиты); перечисляются СКЗ и СИЗ;
 - б) приводится классификация пожароопасности помещений, указывается класс пожароопасности вашего помещения, перечисляются средства пожаробнаружения и принцип их работы, средства пожаротушения, принцип работы, назначение (какие пожары можно тушить, какие – нет), маркировка; пожаровзрывобезопасность (причины, профилактические мероприятия).

3. *Охрана окружающей среды:*
 анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы); анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы); анализ воздействия объекта на литосферу (отходы);

4. *Защита в чрезвычайных ситуациях:*
 а) Приводятся возможные для Сибири ЧС; Возможные ЧС: морозы, диверсия
 разрабатываются превентивные меры по предупреждению ЧС;
 разработка мер по повышению устойчивости объекта к данной ЧС;
 разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий

5. *Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:*
 специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства (приводится перечень ГОСТов, СНиПов и др. законодательных документов, использованных в своей работе);

Перечень графического материала:
 1) Пути эвакуации
 2) План размещения светильников на потолке рабочего помещения

| | |
|--|--|
| Дата выдачи задания для раздела по линейному графику | |
|--|--|

Задание выдал консультант:

| Должность | ФИО | Ученая степень, звание | Подпись | Дата |
|-----------|----------------------------|------------------------|---|------------|
| Профессор | Федорчук Юрий Митрофанович | д.т.н. |  | 10.02.16г. |

Задание принял к исполнению студент:

| Группа | ФИО | Подпись | Дата |
|--------|------------------------------|---|------------|
| 4ГМ4А | Даниленко Надежда Викторовна |  | 10.02.16г. |

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа 107 с., 22 рис., 33 табл., 68 источников, 1 прил.

Ключевые слова: биodeградируемые материалы, полимолочная кислота, полиакриловая кислота, модификация поверхности, биосовместимость.

Актуальность работы: разработка метода нанесения полиакриловой кислоты на поверхность полимолочной кислоты, для создания биоматериалов

Объектом исследования являются биodeградируемые материалы медицинского назначения на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты.

Цель работы – получение композитного биоматериала на основе полимолочной и полиакриловой кислот методом нековалентного нанесения полиакриловой кислоты на поверхность биоматериала на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты без разрушающей обработки или использования присоединяющих реагентов.

В процессе работы проводились литературный анализ методов модификации высокомолекулярной полимолочной кислоты полиакриловой кислотой, поверхностной модификации, разработка методик модификации с использованием методологии «хороший/плохой растворитель»; исследование свойств полученных материалов, оценка биосовместимости полученных модифицированных материалов, оценка ресурсоэффективности проекта, разработка мероприятий по охране труда и защите окружающей среды.

В результате исследования разработан метод модифицирования поверхности высокомолекулярной полимолочной кислоты полиакриловой кислотой, получены экспериментальные данные о поверхностной модификации материалов, спектральные и физико-химические характеристики модифицированных материалов и результаты их медико-биологических испытаний.

Степень внедрения: полученные материалы с модифицированной поверхностью были исследованы на биосовместимость и иммунный ответ на кафедре Врожденного иммунитета и иммунной толерантности Медицинского факультета г.Мангейм, Университета г.Гейдельберг, Германия, была подана заявка на патент - регистрационный номер 2015154342, основные результаты работы докладывались на XVI Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» в г. Томске, на Всероссийской школе-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» в г Казань.

Область применения: регенеративная медицина и трансплантология.

Экономическая эффективность/значимость работы: использование биodeградируемых полимеров вносит вклад в решение проблем ресурсоэффективности и устойчивого развития, предотвращая загрязнение окружающей среды и минимизируя расходы на рекуперацию.

В будущем планируется расширить спектр биомолекул для иммобилизации на поверхности биodeградируемых материалов медицинского назначения.

Определения, обозначения, сокращения, нормативные ссылки

Обозначения и сокращения

ПМК – полимолочная кислота;

ПАК – полиакриловая кислота;

ABO – 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амин;

AcABO – ацилированный 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амин;

BSA – бычий сывороточный альбумин;

IL – интерлейкин;

CD – кластер дифференцировки;

IFN γ – интерферон гамма;

LPS – липополисахарид;

PBS – натрий-фосфатный буфер;

TNF α – фактор некроза опухоли.

Оглавление

| | |
|---|------------|
| Введение | 12 |
| 1. Обзор литературы | 15 |
| 1.1 Методы получения композитов ПМК-ПАК | 15 |
| 1.2 Методы нанесения ПАК на поверхность ПМК | 16 |
| 1.3 Практическое применение композитов ПМК-ПАК | 19 |
| 2. Объект и методы исследования | 24 |
| 2.1 Объект исследования | 24 |
| 2.2 Материалы и методы | 25 |
| 3. Расчеты и аналитика | 33 |
| 4. Результаты проведенного исследования | 34 |
| 4.1 Получение композиционных материалов на основе ПМК-ПАК | 34 |
| 4.2 Исследование свойств композиционных материалов на основе ПМК-ПАК | 35 |
| 4.3. Исследование биосовместимости композитных материалов | 50 |
| 5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение | 55 |
| 5.1 Предпроектный анализ | 55 |
| 5.2 Инициация проекта | 64 |
| 5.3 Планирование управления научно-техническим проектом | 68 |
| 5.4 Определение ресурсной эффективности исследования | 80 |
| 6. Социальная ответственность | 83 |
| 6.1 Описание рабочего места | 83 |
| 6.2 Анализ выявленных вредных факторов проектируемой производственной среды | 83 |
| 6.3 Анализ выявленных опасных факторов проектируемой производственной среды | 91 |
| 6.4 Охрана окружающей среды | 95 |
| 6.5 Защита в чрезвычайных ситуациях | 96 |
| Заключение | 98 |
| Список публикаций студента | 99 |
| Список используемых источников | 101 |
| Приложение А. Результаты проведенного исследования | 108 |

Введение

Свойства поверхности биоматериала имеют решающее значение при взаимодействии тела и имплантата [1]. Топография, химические свойства поверхности, наличие лигандов, а также пористость являются одними из наиболее важных параметров, которые могут влиять на клеточный ответ [2-5]. Многие методы модификации поверхности биоматериала были разработаны для того, чтобы управлять прикреплением клеток, их ростом и дифференцировкой [1,6]. Большинство таких стратегий связано с биоразлагаемыми полимерными материалами. В последние десятилетия эти биоматериалы были признаны самыми перспективными материалами для регенеративной медицины и тканевой инженерии [7-9].

Поли (молочная кислота) (ПМК) является биоразлагаемым полимером, который повсеместно используется для производства рассасывающихся швов, клипс, пластин, винтов и в качестве устройств доставки лекарств и покрытий для имплантатов, вследствие его биосовместимости и удобства при производстве медицинских материалов [10]. Однако ПМК имеет несколько недостатков, таких как гидрофобность, снижающая эффективность взаимодействия поверхности материала с клетками, небольшое количество реакционноспособных групп/сигнальных групп, обеспечивающих клеточное распознавание, на поверхности материала и затрудняющих химическую модификацию [11].

Прямые методы модификации поверхности биоматериала на основе ПМК включают в себя как физические, так и химические подходы. Нанесение покрытий [11-13], обработка плазмой [14,15], химическая модификация [16], в том числе обработка солями диазония в присутствии восстановителей [17], прививка биомолекул [18-20], а также их комбинации [21] являются одними из наиболее распространенных подходов. Тем не менее, поверхностные свойства ПМК не могут быть легко изменены и модификации часто приводят к разрушению поверхности цепи.

Альтернативным подходом к объемному модифицированию, который позволяет обеспечить желаемые физико-химические и биологические свойства для биоматериалов на основе ПМК является присоединение биологически активных соединений на их поверхность с помощью вставки сшивающего агента между ПМК и целевым модифицирующим агентом. Сшивающий реагент должен обладать реакционноспособными группами, такими как: карбоксильные, гидроксильные или амино- группы, или их сочетание. Например, бифункциональный сшивающий реагент - 4-аминобензойной кислоты использовали для ковалентной иммобилизации хитозана на поверхности материала ПМК через ацилирование амино-группы хитозана с помощью линкера, с последующим образованием соли диазония, которая затем подвергают реакции с ПМК под воздействием УФ-излучения [22].

Идеальный сшивающий агент, должен быть нетоксичным, показывать равномерное распределение активных групп на единицу площади, а также повышать гидрофильность поверхности ПМК. Поли (акриловая) кислота (ПАК) имеет одну карбоксильную группу на мономер, является биологически совместимым и гидрофильным полимером, таким образом, она имеет хороший потенциал для использования в качестве кросс-линкера [23]. ПАК является полианионом и ранее было установлено, что анионные поверхности демонстрируют меньшую цитотоксичность по сравнению с такими же катионными [3]. Мукоадгезивные свойства и способность к комплексообразованию также делает ПАК хорошим материалом для применения при заживлении ран и доставки целевого биологически активного соединения [24, 25].

Таким образом, актуальной задачей является разработка метода нанесения ПАК на ПМК.

Целью нашей работы является получение композитного биоматериала ПМК-ПАК методом нековалентного нанесения ПАК на поверхность биоматериала на основе ПМК без разрушающей обработки или использования присоединяющих реагентов.

Объектом исследования являются биodeградируемые материалы медицинского назначения на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты. Предмет исследования – метод нанесения полиакриловой кислоты на поверхность материалов на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты с использованием подхода «хороший/плохой растворитель».

Научная новизна данной работы заключается в том, что впервые разработан метод, позволяющий наносить полиакриловую кислоту на поверхность материалов на основе высокомолекулярной полимолочной кислоты (средняя молекулярная масса ПМК 1646000 г/моль). Заявка на патент регистрационный номер 2015154342

Практическая значимость результатов работы состоит в том, что представленный метод модифицирования может быть использован в качестве основы для иммобилизации широкого спектра биологически активных соединений на поверхности ПМК, например, цитокинов с целью модулирования иммунного ответа.

1. Обзор литературы

1.1. Методы получения композитов ПМК-ПАК

Для получения композитов ПМК-ПАК ранее применялось несколько подходов. Известен метод, включающий растворение ПМК в акриловой кислоте с последующей полимеризацией с использованием или без использования инициаторов полимеризации [26]. Данный способ получения композитов заключается в том, что полимолочную кислоту растворяют в акриловой кислоте и оставляют на определенное время при перемешивании до гомогенизации раствора, после чего раствор выливают в воду. Этот же метод усовершенствован добавлением в смесь инициатора полимеризации или воздействия излучения[26].

Недостатком описанного способа является то, что он позволяет получать изделия из полимолочной кислоты, содержащие полиакриловую кислоту в объеме, а не только на поверхности. Также недостатком является необходимости использования инициаторов полимеризации, которые могут диффундировать из материала имплантата в организм. Кроме того, при таких методах получения композита меняются механические свойства имплантатов на основе полимолочной кислоты, что является нежелательным.

Другой способ получения композиций из производных полиметилметакрилата и полимолочной кислоты, включает следующие стадии: раствор полимолочной кислоты в диоксане концентрацией 1% смешивают с определенным количеством раствора полиметилметакрилата в диоксане концентрацией 1%, смесь перемешивают в течение определенного времени, после чего добавляют пятикратный избыток петролейного эфира, в результате выпадает осадок полимера, который отделяют от петролейного эфира и высушивают в вакууме в течение 48 ч при 50 °С [27].

Недостатком описанного способа является то, что он позволяет получать композиции в виде гранул полимера из полимолочной кислоты, содержащие полиметилметакрилат в объеме, а не только на поверхности. Кроме того, при

использовании полиметилметакрилата в получаемом композите отсутствуют свободные карбоксильные группы, что затрудняет дальнейшее модифицирование поверхности имплантатов. Использование данного способа для налива пленок из 1%раствора полимолочной кислоты и полиметилметакрилата показало, что полимеры имеют ограниченную смешиваемость

Таким образом, данные подходы получения композитов ПМК-ПАК имеют ряд существенных недостатков, главный из которых – наличие полиакриловой кислоты в объеме композита и изменение тем самым свойств изделий, поэтому были разработаны подходы нанесения полиакриловой кислоты на поверхность полимолочной кислоты.

1.2. Методы нанесения ПАК на поверхность ПМК

Существует способ нанесения полиакриловой кислоты и ее соединений на поверхность изделий из полимолочной кислоты [28], который исключает такой недостаток, как содержание полиакриловой кислоты в объеме материала. Данный способ включает следующие стадии: образец пленки из полимолочной кислоты размером 0.5 на 3 см поливают 5% раствором бензофенона в этаноле, оставляют при комнатной температуре на 30 мин, затем помещают в находящуюся в атмосфере азота кварцевую кювету УФ-процессора с ртутной лампой мощностью 100 Вт и облучают образец в кювете УФ-излучением интенсивностью 25 мВт/см² при длине волны 365 нм в течение 10 мин; после облучения образец достают из кюветы, помещают в этанол и обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин. Образец пленки из полимолочной кислоты, покрытый бензофеноном, помещают в пробирку, содержащую 10% раствор акриловой кислоты в этаноле, создают атмосферу азота, облучают образец УФ-светом в течение 3 ч; после облучения образец помещают в этанол и обрабатывают ультразвуком в течение 5 мин, далее высушивают в течение 24 ч.

Данная методика относится к методам ковалентной «прививки» активированных радикалов под действием УФ-излучения. Существует два варианта ковалентной «прививки» активированных радикалов под действием УФ-излучения: «прививка к» и «прививка от». В первом случае к поверхности полимолочной кислоты ковалентно присоединяют полимер с заранее известной молекулярной массой, структурой и химическим составом. В альтернативном варианте наращивание полимерной цепи, а также химический дизайн происходят прямо во время модификации. Данные процессы можно осуществлять как в жидкой, так и в газовой фазе.

Метод «прививка от» был использован для создания полиакрилатных и полиакриламидных слоев на поверхности полимолочной кислоты [28]. Данный процесс проводился в два этапа: на первом ковалентно под действием УФ-излучения к поверхности полимолочной кислоты методом «прививка к» прививали бензофенон. На втором этапе модифицированную ПМК повторно подвергали воздействию УФ-излучения в присутствии мономера полиакриловой кислоты. В результате фотолабильный бензофенон переходил в состояние свободного радикала, инициируя радикальную полимеризацию акриловой кислоты на поверхности полимолочной кислоты (рис.1). Подобный процесс, но в один шаг, был проведен и в газовой фазе [29].

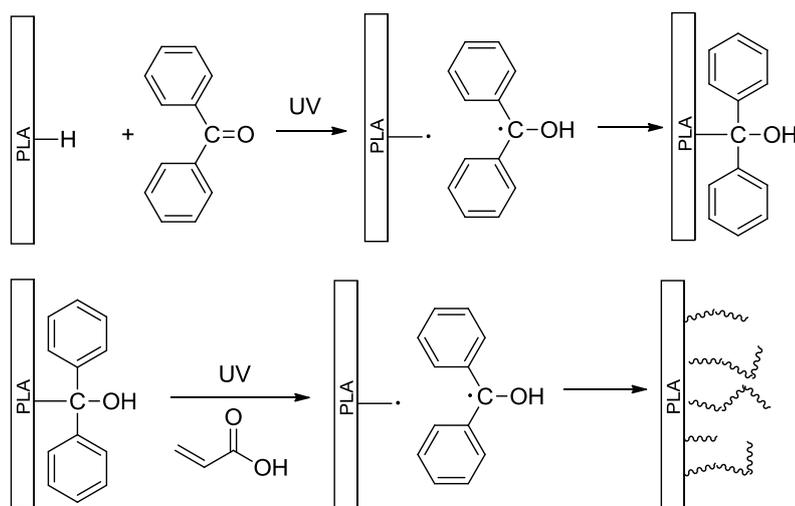


Рисунок 1. Ковалентное присоединение бензофенона к поверхности ПМК с последующей полимеризацией акриловой кислоты

Описанный способ имеет ряд недостатков. Трудность определения молекулярной массы образующегося слоя полиакриловой кислоты и ее регулирование, необходимость использования инициаторов фотополимеризации, которые не являются биологически инертными веществами. Для проведения реакции фотополимеризации необходимо создавать атмосферу азота, что значительно затрудняет масштабирование данного способа. Другим недостатком является использование УФ-излучения. Известно, что УФ-облучение изделий из полимолочной кислоты приводит к деградации полимерных цепей полимолочной кислоты, находящихся на поверхности, в результате изменяются свойства изделия [30]. Кроме того, указанный способ пригоден для модифицирования поверхности пленок полимолочной кислоты, и его трудно или невозможно осуществить для равномерной модификации поверхности объемных изделий, которые чаще всего и используются в качестве имплантатов.

Рассмотрим также другой способ модифицирования поверхности, который основан на идее обработки полимера смесью растворитель / нерастворитель с последующим поглощением поверхностью ПМК желаемых соединений. Во время такой обработки поверхность биоматериала на основе ПМК обратимо набухает, и в то время как она находится в набухом состоянии, она может поглощать различные соединения. Когда поверхность высохнет эти соединения остаются захваченными на поверхности биоматериала. Ранее было показано, что данный подход успешно применим для улавливания поли (этиленгликоля) [31-33], желатина, альгината, хитозана [34], поли (аспарагиновой кислоты) [35] и бриллиантового зеленого [36] поверхностью биоматериалов на основе ПМК.

Достоинством данного метода является возможность модификации поверхности сложного объемного изделия. Также немаловажным является тот факт, что при «захвате» молекул не происходит разрушения полимерных цепей на поверхности и в объеме изделия, что сохраняет механические свойства имплантата.

1.3. Практическое применение композитов ПМК-ПАК

Возможность регулировать поверхностные свойства материалов медицинского назначения является одним из ключевых аспектов при их создании. Процесс биораспознавания в организме происходит путем связывания соответствующих лигандов с рецепторами на поверхности клетки. На начальном этапе взаимодействия с клетками определяющим является состояние поверхности материала.

Основной проблемой для химической прививки желаемых биомолекул к поверхности полимолочной кислоты является отсутствие в структуре полимолочной кислоты функциональных групп, которые могли бы взаимодействовать с химическими реагентами без деструкции основной полимерной цепи.

Самый простой способ создания активных реакционных групп, таких как $-\text{COOH}$ и $-\text{OH}$, на поверхности ПМК – щелочной гидролиз поверхности [37]. Образовавшиеся карбоксильные группы могут легко взаимодействовать с биологически активными веществами, имеющими в своей структуре амино- или гидроксильные группы. Как правило, карбоксильные группы на поверхности полимолочной кислоты сначала активируют с помощью пентахлорида фосфора [38], тионилхлорида [39] или водорастворимых карбодиимидов [40], и уже затем проводят реакцию с соответствующими биологически активными молекулами. На рис. 2 представлена общая схема, такого подхода.

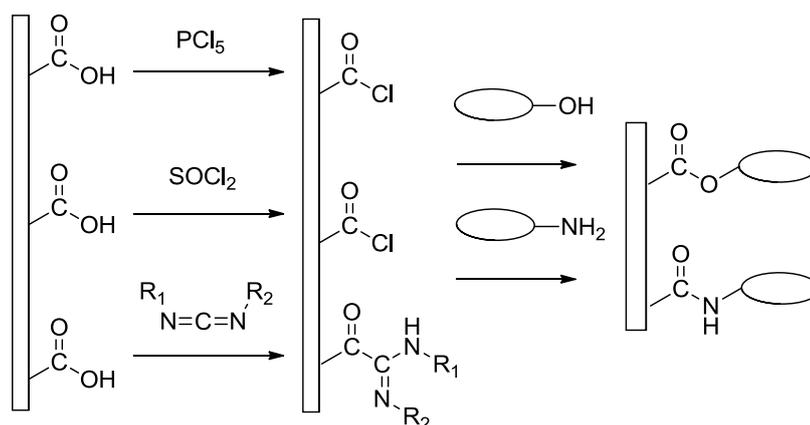


Рисунок 2. Общая схема функционализации поверхности ПМК с помощью активации карбоксильных групп после гидролиза пентахлоридом фосфора, тионилхлоридом и водорастворимым карбодиимидом

Приведенные методы модификации связаны с использованием агрессивных реагентов, что приводит к частичной деградации поверхностных полимерных цепей и снижению молекулярной массы полимера. Таким образом, изменяются механические характеристики поверхностных слоев, а также скорость их деградации в условиях *in vivo*. Также при ковалентном присоединении белков, например, коллагена возможно нарушение их нативной конформации и, как следствие, биологической активности.

Реакционноспособные группы могут быть получены на поверхности биоматериала после плазменной обработки материала. Плазменная обработка поверхности полимерных пленок заключается в воздействии на поверхность материала смеси положительных ионов и электронов, образующихся в процессе образования плазмы. В зависимости от типа плазмы (атмосферная, азотная, кислородная) на поверхности полимолочной кислоты могут быть получены $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ группы, которые являются реакционноспособными и позволяют провести последующую функционализацию полимера. Было показано, что после обработки пористой подложки из полимолочной кислоты аммиачной плазмой на поверхности образовались аминогруппы, которые в дальнейшем вступили в реакцию с коллагеном с образованием коллагенового слоя [41]. В результате увеличилась гидрофильность поверхности и клеточная адгезия (исследования проводились в культуре человеческих фибробластов).

Основными недостатками данного метода является термическая деструкция поверхностных слоев материала в процессе обработки, а также возможная поверхностная перестройка в сторону уменьшения поверхностной энергии [42]. Это делает результат модификации нестабильным.

Альтернативный метод, который позволяет обеспечить желаемые физико-химические и биологические свойства для биоматериалов на основе ПМК является присоединение биологически активных соединений на их поверхность с помощью вставки сшивающего агента между ПМК и целевым модифицирующим агентом. Сшивающий реагент должен обладать реакционноспособными группами, такими как: $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ или $-\text{NH}_2$ группы, или их сочетание. Например, бифункциональный сшивающий реагент - 4-аминобензойной кислоты использовали для ковалентной иммобилизации хитозана на поверхности материала ПМК. Предварительно проводилась реакция между хитозаном и 4-азидобензойной кислотой с образованием связи С-N между аминогруппой хитозана и карбоксильной группой 4-азидобензойной кислоты. После проведения реакции полученный реагент растворяли, обрабатывали им поверхность полимолочной кислоты и подвергали УФ-облучению. Известно, что под действием ультрафиолета азиды разлагаются до нитренов, которые являются высоко реакционноспособными соединениями. Образовавшийся нитрен вступал в реакцию внедрения в С-N связь со вторичным атомом углерода основной цепи полимолочной кислоты, связанным с метильной группой. В результате, образовывался хитозановый слой, связанный с ПМК через бифункциональный кросс-линкер (рис.3).

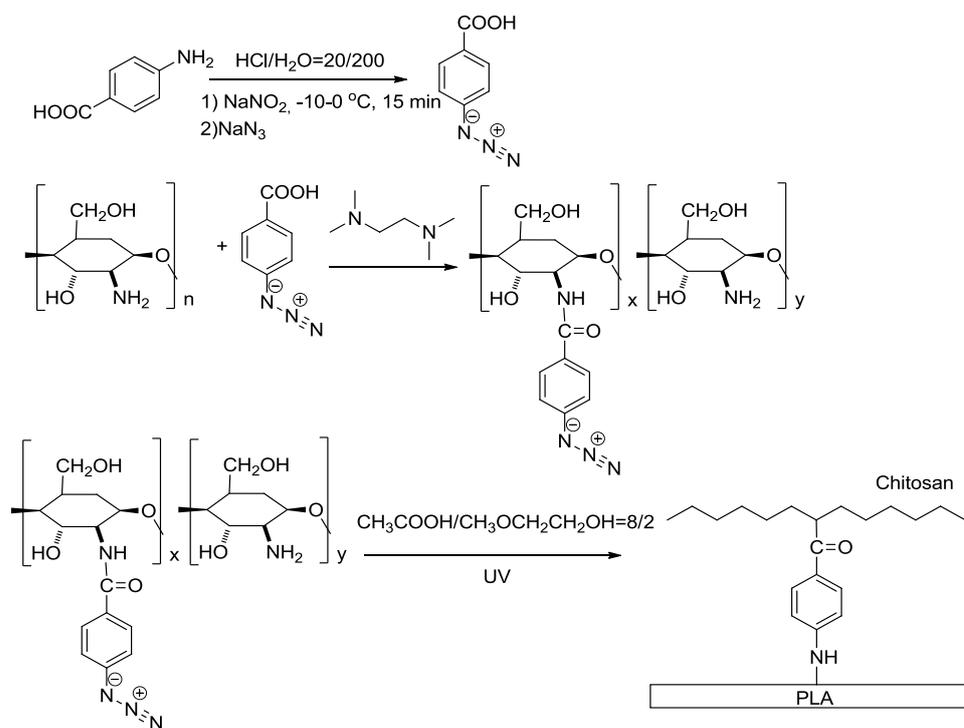


Рисунок 3. Создание хитозанового слоя на поверхности ПМК методом «привика к» с использованием 2-азидобензойной кислоты в качестве бифункционального кросс-линкера

Идеальный сшивающий агент, должен быть нетоксичным, показывать равномерное распределение активных групп на единицу площади, а также повышать гидрофильность поверхности ПМК. Поли (акриловая) кислота (ПАК) имеет одну карбоксильную группу на мономер, является биологически совместимым и гидрофильным полимером, таким образом, она имеет хороший потенциал для использования в качестве кросс-линкера [23].

Было показано, что полиакриловую кислоту можно использовать в качестве кросс-линкера для прививки протеинов и пептидов. Ковалентная прививка белка и пептида проводилась за счет химической реакции между амино-группами белка/пептида и карбоксильными группами ПАК с использованием в качестве активаторов водорастворимого карбодиимида и N-гидроксисукцинимид. Преимущество данного метода заключается в том, что формируется достаточно плотный слой белка на поверхности, что позволяет регулировать поверхностные свойства материала.

Таким образом, сочетание преимуществ использования ПАК, как кросс-линкера, и метода формирования активного слоя за счет «захвата» молекул ПАК может стать оптимальным решением для создания активных реакционных групп на поверхности биоматериала на основе ПМК.

2. Объект и методы исследования

2.1. Объект исследования

Объектом исследования являются материалы пленочного типа на основе высокомолекулярной поли(L-молочной) кислоты PL65 (PURAC, Нидерланды). Основные физико-химические характеристики полимера представлены в табл. 1 [43].

Таблица 1 – Основные физико-химические характеристики поли(L-молочной) кислоты PL65

| Параметр | Значение/описание |
|--|-------------------------------------|
| Внешний вид | Гранулы, цвет от белого до бежевого |
| Средняя молекулярная масса (данные гель-хроматографии) | 1646000 г/моль |
| Характеристическая вязкость (хлороформ, 25°C, c=0,001 г/см ³) | 0,692 м ³ /кг |
| Характерный угол поворота плоскости поляризации света (хлороформ, 20°C) | -158,5°C |
| Диапазон температур плавления (данные дифференциальной сканирующей калориметрии, 10°C/мин) | 177,8-189,8°C |
| Содержание воды (калориметрический метод) | Макс. 0,5% |
| Содержание олова | Макс. 50 ppm |
| Содержание остаточного растворителя | Макс. 0,01% |
| Содержание остаточного мономера | Макс. 0,1% |
| Содержание тяжелых металлов | Менее 10 ppm |

В качестве модифицирующего агента использовали высоко- и низкомолекулярную полиакриловую кислоты. Основные физико-химические характеристики низкомолекулярного полимера (олигомера CAS Number 9003-01-4) представлены в табл. 2

Таблица 2 – Основные физико-химические характеристики полиакриловой кислоты

| Параметр | Значение/описание |
|-------------------------------|----------------------|
| Внешний вид | Порошок белого цвета |
| Средняя молекулярная масса | 12000 г/моль |
| Вязкость по Брукфильду (25°C) | ≤ 2000 сП |
| Диапазон температур плавления | 106 °C |

Высокомолекулярную ПАК получали по методике [44]. Полимеризацию акриловой кислоты проводили в воде с использованием в качестве инициатора перекиси водорода.

2.2. Материалы и методы

2.2.1 Получение пленок из полимолочной кислоты

В качестве исследуемого материала были выбраны пленки из ПМК. Для получения пленок использовали ПМК PL65. Навеску из ПМК растворяли в смеси $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CHCl}_3=40:60$ (об.)(PANREAC, Испания) для получения раствора концентрацией 1,7% (масс.). Время гомогенизации раствора – 12 ч. После этого 18 ± 1 г раствора наливали в сухую чашку Петри диаметром 10 см, закрывали и высушивали в парах растворителя в течение 72 ч.

2.2.2 Метод нанесения полиакриловой кислоты на поверхность пленок на основе ПМК

Для проведения модификации сухую пленку из полимолочной кислоты размером 2x2 см и толщиной 35 мкм помещали на 10 мин в 10 мл смешивающихся между собой растворителей, один из которых хорошо растворяет полимолочную кислоту (относится к классу ароматических углеводородов, или галогенпроизводных углеводородов, или амидов), а второй – не растворяет (относится к классу спиртов, или сложных эфиров, или кетонов, или является водой). В качестве таких систем были выбраны: 1) толуол/этанол=3/7 (об.), 2) дихлорметан/ацетон=1:9 (об.), 3) трихлорметан/этилацетат=1:9(об.). После этого, быстро переносили в стабилизирующий раствор, представляющий собой 0,1% раствор полиакриловой кислоты в воде объемом 10 мл; выдерживали в стабилизирующем растворе в течение 3 ч. После этого пленки высушивали в течение 1 ч, промывали водой для удаления излишек полиакриловой кислоты, после чего высушивали под вакуумом в течение 12 ч.

2.2.3. Ковалентное модифицирование пленок ПМК-ПАК флуоресцентным 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амином

Сухие пленки из полимолочной кислоты размером 2x2 см и толщиной 35 мкм, модифицированные полиакриловой кислотой, помещали в смесь тионилхлорид:гексан=1:10 (об.) на 1 ч, после вынимали и интенсивно промывали в гексане, сушили под вакуумом в течение 6ч. После этого пленки помещали в растворы 2-фенил-1,3-бензоксазол-5амина в этиловом спирте с концентрацией $1 \cdot 10^{-6}$ М, $1 \cdot 10^{-5}$ М, $1 \cdot 10^{-4}$ Мили $1 \cdot 10^{-3}$ на 5 часов, затем сушили и промывали этиловым спиртом.

2.2.4. Нековалентное модифицирование пленок ПМК флуоресцентным амином 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амином

Для проведения модификации сухую пленку из полимолочной кислоты размером 2x2 см и толщиной 35 мкм помещали на 10 мин в 10 мл смеси толуол/этанол=3/7 (об.). После этого, быстро переносили в стабилизирующий раствор, представляющий собой 0,001 М раствор 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амина или ацилированного 2-фенил-1,3-бензоксазол-5 амина в этаноле объемом 10 мл; выдерживали в стабилизирующем растворе в течение 5 ч. После этого пленки высушивали в течение 1 ч, промывали этанолом для удаления излишек амина, после чего высушивали под вакуумом в течение 12 ч.

Методы качественной и количественной оценки

2.2.5. АСМ

Изучение поверхности пленок проводили с использованием атомно-силового микроскопа (Solver HV, Россия). В качестве зондовых датчиков использовались кантилеверы НА_HR серии ETALON, производства НТ-МДТ. Измерения рельефа поверхности производили в полуконтактном режиме сканирования с параллельным исследованием фазового контраста (изменения фазы колебаний кантилевера). Не зависимо от ширины области сканирования количество точек измерения поддерживалось равным 1024x1024. Все измерения проводились в условиях низкого вакуума, давление составляло 10^{-7} - 10^{-6} Torr.

2.2.6. Raman

Измерения спектров комбинационного рассеяния были проведены посредством рамановского спектрометра Nicolet NXR 9650 (ThermoScientific, США) с использованием первой гармоники Nd-YAG лазера (1,06 мкм). Диапазон $100 - 3100 \text{ см}^{-1}$

2.2.7. ИК-спектроскопия

Измерения ИК-спектров проведены посредством ИК-спектрометра Nicolet 6700 (ThermoScientific, США), методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Кристалл – алмаз. Спектры были преобразованы в формат отражения посредством программного обеспечения OMNIC. Диапазон 300-1700см⁻¹

2.2.8. Смачиваемость поверхности

Смачиваемость пленок исследовали на установке «EasyDrop» (Krüss, Германия) методом «сидячей» капли (объем 20мкл), помещенной на исследуемую поверхность, путем измерения краевого угла смачивания. Измерения проводили по воде спустя 1 мин после помещения жидкости на исследуемую поверхность.

2.2.9. Исследование прочности пленок на растяжение

Механические свойства: прочность на растяжение, относительное удлинение изделия до и после нанесения полиакриловой кислоты исследовали на испытательной машине ZwickRoellz2.5 (ZwickGmbH&Co.KG, Германия) согласно стандарту ISO 527-3.

2.2.10. Определение концентрации ПАК на поверхности

Концентрацию полиакриловой кислоты на поверхности изделия определяют путем титрования раствора полиакриловой кислоты в воде до и после погружения изделия 0.1 н гидроксидом натрия в присутствии индикатора бромтимолового синего.

2.2.11. Определение количества COOH-групп

Число карбоксильных групп на единицу поверхности изделия определяют индикаторным способом с использованием в качестве индикатора бромтимолового синего. Для этого образец изделия в виде навески массой 0.02 г инкубируют в водном растворе бромтимолового синего концентрацией 0.05% (5 мл) до установления равновесия (3-4 ч), параллельно проводят холостой опыт, учитывающий влияние взаимодействия образца с растворителем на изменение оптической плотности в процессе адсорбции красителя. Для этого заливают навески образца раствором растворителя. Определяют оптическую плотность исходных растворов, растворов, в которые были погружены образцы, и растворов из холостого опыта (предварительно добавив индикатор). Растворы фотометрируют при длине волны 420 нм на приборе SPECORD 200 PLUS (AnalytikJena, Германия), принимая в качестве базовой линии спектр чистой воды.

Число карбоксильных групп на единицу поверхности изделия определяют индикаторным способом с использованием в качестве индикатора бромтимолового синего.

Концентрацию активных центров (моль/г), эквивалентную количеству адсорбированного красителя, рассчитывают по формуле 1:

$$q = \frac{C_{ind} \cdot V_{ind}}{D_0} \cdot \left[\frac{D_0 - D_1}{a_1} \pm \frac{D_0 - D_2}{a_2} \right], \quad (1)$$

где q – концентрация активных центров, моль/г;

C_{ind} – концентрация индикатора, моль/л;

V_{ind} – объем индикатора, взятого для анализа, мл;

D_0 – оптическая плотность раствора индикатора до сорбции;

D_1 – оптическая плотность раствора индикатора после сорбции;

D_2 – оптическая плотность раствора индикатора в «холостом» опыте;

a_1 – навеска образца в рабочем опыте, г;

a_2 – навеска образца в «холостом» опыте, г;

Знак «-» соответствует однонаправленному изменению D_1 и D_2 относительно D_0 .

Число карбоксильных групп на единицу поверхности изделия рассчитывают по формуле 2:

$$q_S = \frac{q \cdot a_1 \cdot N_A}{S}, \quad (2)$$

где q_S – число карбоксильных групп на единицу поверхности изделия, групп/см²;

q – концентрация карбоксильных групп, моль/г;

a_1 – навеска образца в рабочем опыте, г;

S – площадь поверхности образца, см²;

N_A – число Авогадро, моль⁻¹.

2.2.12. Определение количества карбоксильных групп с помощью флуоресцентных аминов

Емкость модифицированного слоя определяли путем измерения интенсивности флуоресценции растворов АВО до и после погружения пленок ПМК-РАА при длине волны возбуждения 340 нм. Количественное определение проводили с использованием различных калибровочных кривых, полученных для разведенных (концентрации диапазоне от $5 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ М, регистрация длина волны 500 нм) и концентрированную (концентрация диапазоне от $1 \cdot 10^{-4}$ - $1 \cdot 10^{-3}$ М, регистрация длина волны 550 нм) этанольных растворов АВО. Для каждого эксперимента повторяли 3 раза с 3 повторами; значение представлено как среднее \pm стандартное отклонение ($n = 9$).

2.2.13. Модифицирование бычьим сывороточным альбумином (BSA)

пленок ПМК-ПАК

В качестве белка для иммобилизации был выбран BSA (Panreac, Испания), $M_r=68000$ г/моль. Образцы материала ПМК-ПАК размером 0,5 на 0,5 см помещали в 96-луночный планшет, добавляли по 200 мкл 40 ммоль фосфатного буфера (pH=6,7), инкубировали в течение 3 ч. После этого трижды промывали 0,1% Tween 20 в $1 \times$ PBS.

Для проведения адсорбции растворяли BSA до концентрации 100 мг/мл в 10 ммоль ацетатном буфере (pH=5,6). Добавляли 200 мкл раствора BSA на лунку. Инкубировали образцы в растворе в течение суток при комнатной температуре.

Для проведения ковалентного модифицирования карбоксильные группы на поверхности пленок активировали смесью дициклогексилкарбодиимид/N-гидроксисукцинимид (DCC/NHS) (молярное соотношение 2/1) в ДМСО с добавлением 5% TEA при комнатной температуре в течение 2 ч. После этого пленки переносили в лунки с 200 мкл раствора BSA концентрацией 100 мг/мл в 10 ммоль ацетатном буфере (pH=5,6). Инкубировали образцы в растворе в течение суток при комнатной температуре.

В качестве контроля использовали раствор белка без материала. Все эксперименты проводили в трипликатах.

Остаточную концентрацию белка в растворе определяли с методом Брэдфорд (BioRad)[45] согласно инструкции производителя. Предварительно строили калибровочный график для растворов BSA в 10 ммоль ацетатном буфере (pH=5,6) в диапазоне концентраций 3.125-20 мг/мл. Исследуемые растворы разводили перед анализом. Поглощение растворов измеряли при длине волны 595 нм на микропланшетном ридере Tecan Infinite 200 (Швейцария).

Для расчета ковалентно присоединенного BSAиз концентрации общего белка вычитали концентрации адсорбированного. Результаты представлены в виде г/см² или моль/см² материала.

2.2.14. Исследование биосовместимости композитных материалов

Для исследования биосовместимости полученных композитных материалов ПМК-ПАК выделяли первичные макрофаги человека из лейкоцитарно-тромбоцитарной массы индивидуальных здоровых доноров, как описано в [36]. Для выделения использовали набор CD14+ микросфер с последующей магнитной сортировкой клеток. Моноциты ресуспендировали до концентрации 10⁶ клеток/мл в X-VIVO 10 (Lonza, Бельгия) с добавлением 10⁻⁸М дексаметазона (Sigma-Aldrich, Германия) и 5 нг/мл m-CSF (Peprotech, Германия) и кокультивировали в 12-луночной планшете с исследуемыми материалами. В качестве контроля культивировали моноциты без исследуемых материалов. Выделенные моноциты были сразу же простимулированы цитокинами: IL4 – 10 нг/мл (Peprotech, Германия), IFN γ – 100 нг/мл (Peprotech, Германия) и культивировались в течение 6 дней в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С.

Жизнеспособность клеток определяли на 6 день кокультивирования определяли с использованием флуоресцирующего красителя AlamarBlue(Sigma, США).

Концентрацию провоспалительных цитокинов TNF α , IL1 β и IL6 в супернатантах на 6 день кокультивирования измеряли методом сэндвич-ELISA (R&DSystems, США) согласно инструкции производителя.

Жизнеспособность клеток и концентрацию провоспалительных цитокинов исследовали на 3 донорах.

2.2.15. Статистика

Для оценки статистической значимости различий в данных, полученных для различных групп материалов, использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (U-тест). Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Критерий Манна-Уитни рассчитывали в программе Prism (GraphPad, США).

5. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

5.1. Предпроектный анализ

5.1.1. Потенциальные потребители результатов исследования

В настоящее время возрастает интерес к увеличению качества и продолжительности человеческой жизни. Достижение подобной цели предполагает, в частности, создание биоматериалов для замены или восстановления поврежденных или пораженных заболеванием органов и тканей. В мире сейчас используется более 40 типов различных биоматериалов (керамических, металлических, полимерных биоматериалов), а также различных покрытий, увеличивающих биосовместимость, для лечения, восстановления и замены более 50 различных частей человеческого тела, включая кожные покровы, мышечную ткань, кровеносные сосуды, нервные волокна, костную ткань.

Среди наиболее динамично развивающихся сегментов данного рынка: биоматериалы для заживления ран, пластической хирургии, тканевой инженерии, офтальмологии, неврологии. Важными факторами являются огромное количество кардиологических больных в Азии, рост рынка биоматериалов в Китае.

С точки зрения географического распределения крупнейшим рынком производства и сбыта биоматериалов являются США, затем - страны Европы, Азии и остального мира. Североамериканский рынок останется доминирующим в ближайшие годы. Это будет обусловлено увеличением государственных инвестиций в данный сегмент, компенсациями, предлагаемыми федеральными центрами Medicare и Medicaid Services и ростом численности стареющего населения, которые являются основными потребителями биоматериалов. Североамериканский рынок, как ожидается, получит значительный толчок в связи с феноменальным ростом числа разработок новых продуктов.

Рассмотрим сегментацию мирового рынка биоматериалов по сфере приложения биоматериалов и объему соответствующего рыночного сегмента на ключевых рынках - США, ЕС, BRICS (рис. 17).

Таким образом, на мировом рынке биоматериалов США занимает лидирующую позицию, но наибольшие темпы роста ожидаются в странах BRICS, особенно в России. Крупнейшими сегментами рынка являются ортопедические биоматериалы для восстановления костно-мышечной системы, прежде всего – материалы для вертебрологии, другие ортопедические биоматериалы, а также костные трансплантаты. Большой сегмент рынка – биоматериалы для сердечно-сосудистой хирургии.

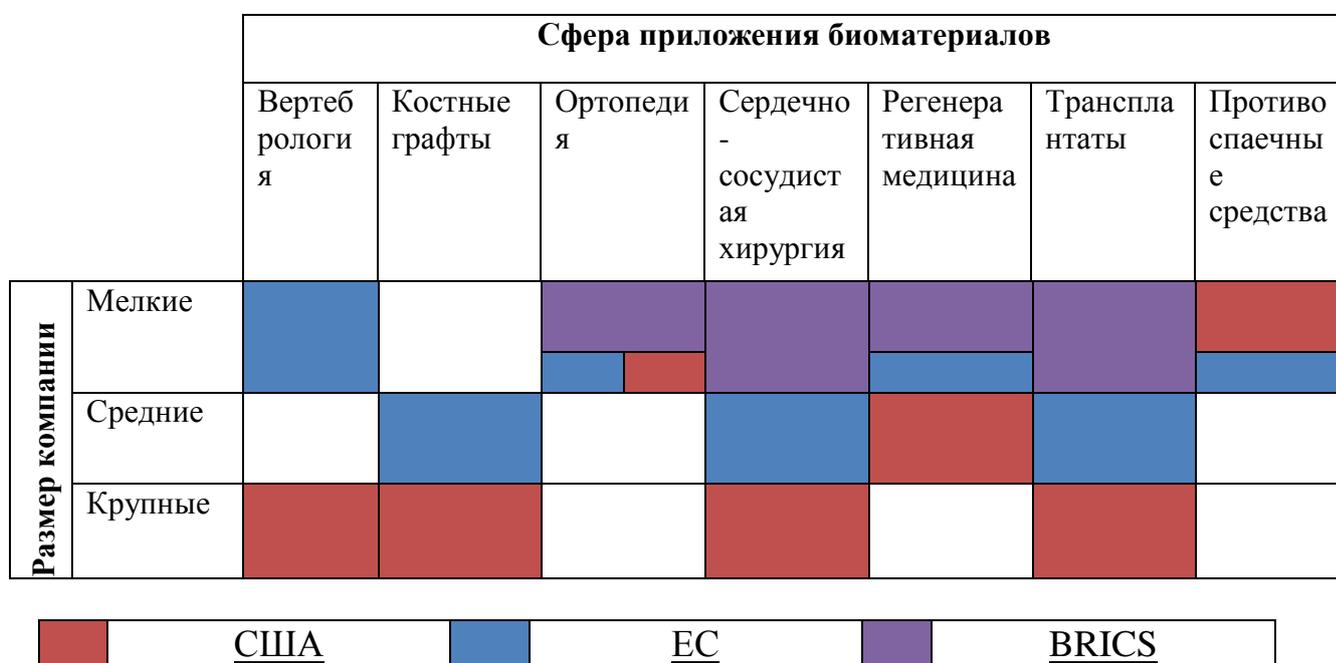


Рисунок 17. Карта сегментирования рынка биоматериалов по сфере приложения

Сегмент материалов для регенеративной медицины сейчас относительно невелик, но самый быстрорастущий (прогноз на 2018 - \$4,0 млрд.). Разработанное нами полимерное покрытие для биоматериалов перспективно для продвижения сразу на нескольких ключевых сегментах рынка: регенеративная медицина, костные графты (трансплантаты), ортопедические материалы.

5.1.2. Анализ конкурентных технических решений

Коммерческий интерес в России вызывают именно имплантаты с покрытиями вследствие достаточно частого возникновения реакций отторжения (индивидуальной непереносимости), сенсбилизации или токсико-химических (аллергических) реакций.

Помимо разработанного нами полимерного покрытия, на рынке представлены и другие виды покрытий, увеличивающие биосовместимость, такие как кальций-фосфатное покрытие, нашедшее широкое применение в сегменте костных графтов и ортопедических трансплантатов, композитное покрытие, представляющее собой смесь органических полимеров и неорганических веществ, также широко применяемое в регенеративной медицине.

Оценим конкурентоспособность нашей разработки на существующем рынке, составив оценочную карту сравнения (табл. 8).

Таблица 8 - Оценочная карта для сравнения конкурентных технических решений (разработок)

| Критерии оценки | Вес критерия | Баллы | | | Конкурентоспособность | | |
|---|--------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| | | Б _ф | Б _{к1} | Б _{к2} | К _ф | К _{к1} | К _{к2} |
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Технические критерии оценки ресурсоэффективности | | | | | | | |
| 1. Возможность индивидуального подбора типа покрытия | 0,1 | 5 | 3 | 3 | 0,5 | 0,3 | 0,3 |
| 2. Биосовместимость | 0,12 | 4 | 4 | 4 | 0,4 8 | 0,4 8 | 0,48 |
| 3. Надежность | 0,09 | 5 | 4 | 5 | 0,4 5 | 0,3 6 | 0,45 |
| 4. Безопасность | 0,1 | 4 | 4 | 4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |

Продолжение таблицы 8.

| | | | | | | | |
|--|----------|-----------|-----------|-----------|------------------|------------------|-------------|
| 5. Простота в производстве | 0,12 | 5 | 4 | 4 | 0,6 | 0,4 8 | 0,48 |
| Экономические критерии оценки эффективности | | | | | | | |
| 1. Конкурентоспособность продукта | 0,05 | 5 | 4 | 4 | 0,2 5 | 0,2 | 0,2 |
| 2. Уровень проникновения на рынок | 0,05 | 3 | 5 | 5 | 0,1 5 | 0,2 5 | 0,25 |
| 3. Цена | 0,08 | 3 | 5 | 4 | 0,2 4 | 0,4 | 0,32 |
| 4. Предполагаемый срок эксплуатации | 0,09 | 5 | 4 | 4 | 0,4 5 | 0,3 6 | 0,36 |
| 5. Финансирование научной разработки | 0,09 | 5 | 4 | 4 | 0,4 5 | 0,3 6 | 0,36 |
| 6. Срок выхода на рынок | 0,05 | 4 | 5 | 5 | 0,2 | 0,2 5 | 0,25 |
| 7. Наличие сертификации разработки | 0,06 | 5 | 5 | 5 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Итого | 1 | 53 | 51 | 51 | 4,4 7 | 4,1 4 | 4,15 |

К₁ – кальций-фосфатное покрытие

К₂ – композитное покрытие

Таким образом, разработанное покрытие является конкурентноспособным и превосходит существующие аналоги по таким параметрам, как возможность индивидуального подбора типа покрытия, надежность, простота в производстве.

Конкурентными преимуществами разработанного синтетического покрытия на основе полимолочной кислоты с модифицированной поверхностью, можно назвать:

- отсутствие воспалительных осложнений после имплантации нового поколения изделий (биосовместимость);
- наличие разработанной тест системы для оценки иммунного ответа каждого конкретного пациента (персонализированность);
- возможность не только замещать, но и лечить окружающие имплантат ткани, направляя рост клеток (повышение качества жизни пациента в послеоперационный период);
- перспектива служить средством доставки лекарств, цитостатиков, антибиотиков, клеток (безопасность).

Однако разработанные покрытия уступают конкурентам в отношении стоимости, а именно имплантат с полимерным покрытием, обладающим высокой биосовместимостью стоит дороже, чем достаточно биосовместимый имплантат с кальций-фосфатным или композитным покрытием. Тем не менее, предложенная разработка отличается мультифункциональностью и надежностью, что оправдывает более высокий уровень потенциальных затрат потребителей.

5.1.3. SWOT-анализ

Для проведения комплексной оценки научно-исследовательского проекта воспользуемся инструментом SWOT-анализа и интерактивной матрицей проекта. SWOT позволяет оценить Strengths (сильные стороны), Weaknesses (слабые стороны), Opportunities (возможности) и Threats (угрозы) [53]. Полученные результаты представлены в табл. 9.

Таблица 9 – SWOT-анализ

| | | |
|---|--|---|
| | <p>Сильные стороны научно-исследовательского проекта:</p> <p>С1. Получение нового типа мультифункциональных полимерных покрытий на имплантаты.</p> <p>С2. Наличие тест-системы для проверки биосовместимости.</p> <p>С3. Наличие бюджетного финансирования.</p> <p>С4. Квалифицированный персонал.</p> <p>С5. Простота в производстве</p> | <p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</p> <p>Сл1. Отсутствие необходимых реактивов для проведения эксперимента</p> <p>Сл2. Зависимость в выполнении данной работы от специального оборудования</p> <p>Сл4. Высокая цена на реактивы</p> <p>Сл5. Большой срок поставок реактивов используемых при проведении научного исследования</p> |
| <p>Возможности:</p> <p>В1. Использование инновационной инфраструктуры ТПУ</p> <p>В2. Использование оборудования кафедры БИОХ</p> <p>В3. Участие в грантах</p> | <p>СиВ</p> <p>Разработка метода по производству и экспресс-оценке биосовместимости полученных мультифункциональных полимерных покрытий на имплантаты.</p> | <p>СЛиВ</p> <p>1. Приобретение необходимых реактивов для проведения эксперимента</p> <p>2. Участие в грантах дает возможность получения дополнительного финансирования для приобретения реактивов.</p> |
| <p>Угрозы:</p> <p>У1. Снижение цены у конкурентных разработок</p> <p>У2. Развитая конкуренция технологий производства</p> <p>У4. Введение дополнительных государственных требований к сертификации продукции</p> <p>У5. Отсутствие предприятия в Томске, которое могло бы провести масштабирование и опробовать метод.</p> | <p>СиУ</p> <p>1. Создание спроса на новые технологии в производства.</p> <p>2. Доработка метода по ее конкурентным преимуществам</p> <p>4. Продвижение метода по получению покрытий на заявленных рыночных сегментах.</p> | <p>СЛиУ</p> <p>1. Участие в грантах дает возможность получения дополнительного финансирования для приобретения реактивов</p> <p>2.Создание спроса на новые технологии в производства</p> <p>3.Патент на методику</p> |

5.1.4. Диаграмма Исикавы

Диаграмма Исикавы — это способ позволяет графически изображать исследования и определения, с помощью которых можно выражать взаимосвязей между факторами и последствиями какого-нибудь проекта, ситуации, проблемы [53]. С помощью данной диаграммы были рассмотрены все факторы данной работы (рис. 18).

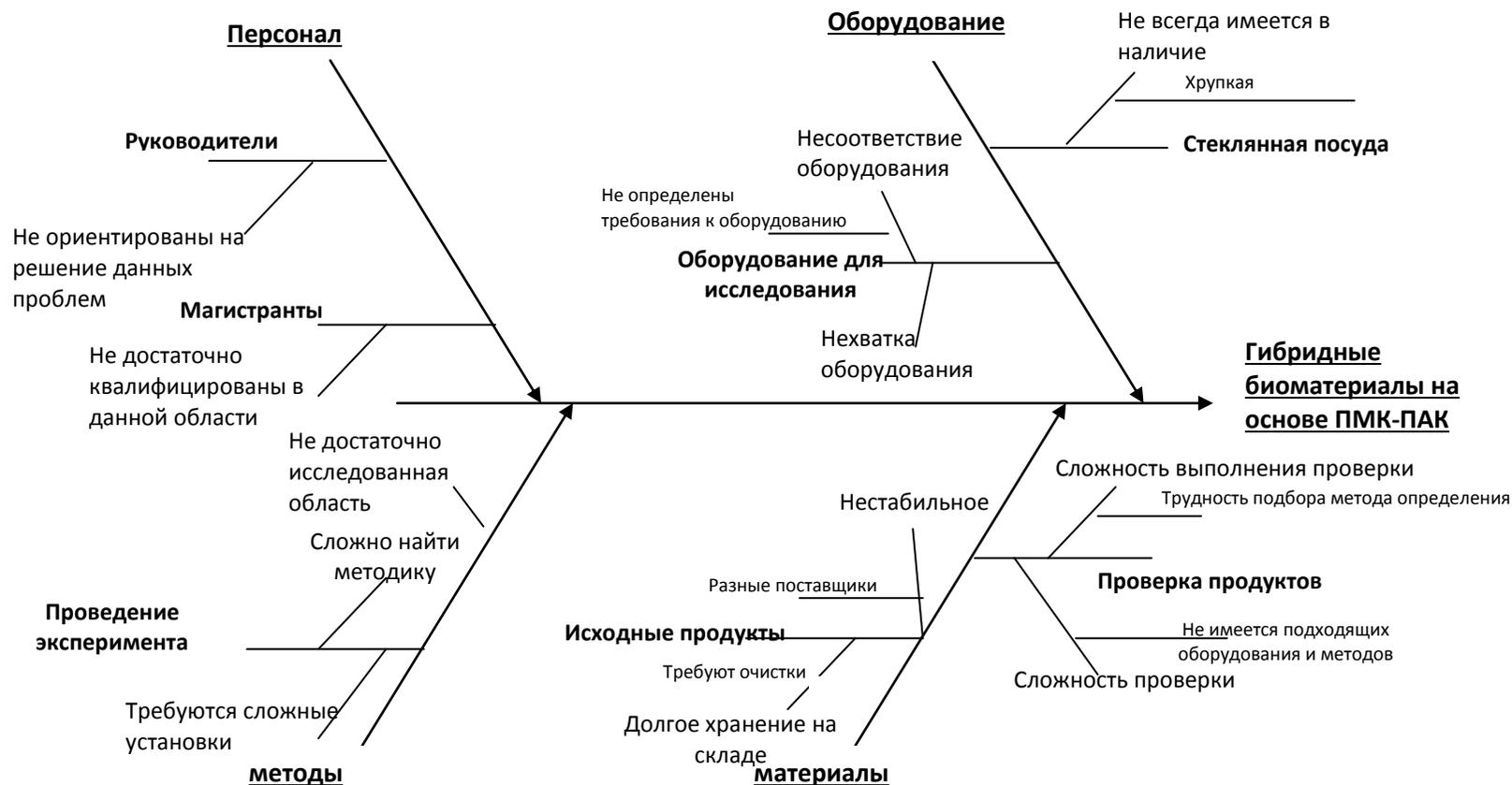


Рисунок 18 – Общий вид диаграммы Исикавы для получения и исследования новых гибридных материалов на основе ПМК-ПАК

5.1.5. Оценка готовности проекта к коммерциализации

Степень готовности научного проекта к коммерциализацию можно оценить с помощью нескольких критериев. Для оценивания есть специальный бланк оценки. Бланк оценки данного научного проекта предоставлен в таблице 10.

Таблица 10 – Бланк оценки степени готовности научного проекта к коммерциализации

| п/п | Наименование | Степень проработанности научного проекта | Уровень имеющихся знаний у разработчика |
|-----|--|--|---|
| 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 |
| 9. | Определены пути продвижения научной разработки на рынок | 2 | 2 |
| 10. | Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки | 5 | 5 |

Продолжение таблицы 10

| | | | |
|-----|---|----|----|
| 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. Недостаток - не проработанность стратегии внедрения данной технологии на широкий рынок.

5.1.6. 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.

5.2. Инициация проекта

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 11). Ниже указаны, изначальные цели и результат проекта (таблица 12), рабочая группа данного проекта (таблица 13) приведены ниже:

Таблица 11 – Заинтересованные стороны проекта

| Заинтересованные стороны проекта | Ожидания заинтересованных сторон |
|----------------------------------|---|
| Научный руководитель | Получение новых гибридных биоматериалов на основе ПМК-ПАК |
| Магистрант | |

Таблица 12 – Цели и результат проекта

| | |
|---|--|
| Цели проекта: | Получение композитного биоматериала ПМК-ПАК методом нековалентного присоединения ПАК на поверхность биоматериала на основе ПМК без разрушающей обработки или использования присоединяющий реагентов. |
| Ожидаемые результаты проекта: | Новые гибридные биоматериалы на основе ПМК-ПАК, методика получения гибридных маатриалов |
| Критерии приемки результата проекта: | Результаты АСМ, исследование прочности пленок на растяжение, Ramn-спектры, титрование, смачиваемость |
| Требования к результату проекта: | Требование: |
| | Минимальное изменение механических свойств ПМК после нанесения ПАК |
| | Наличие достаточного количества карбоксильных групп на поверхности материала |
| | Увеличение гидрофильности поверхности |

Таблица 13 – Рабочая группа проекта

| п/п | Фамилия И.О. место работы, должность | Функции в проекте | Основные обязанности |
|------------|---|--------------------------|--|
| 1 | Филимонов Виктор Дмитриевич, д.х.н. профессор | Руководитель проекта | Осуществляет детальное планирование проекта; информацию для создания и актуализации планов работ; контролирует сроки выполнения работ по проекту |
| 2 | Даниленко Надежда Викторовна, магистр | Исполнитель проекта | Выполняет проект |

Продолжение таблицы 13.

| | | | |
|---|--|--|---|
| 3 | Меньшикова Екатерина Валентиновна, к.ф.н., доцент | Консультант раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» | Оказание методической помощи при работе над разделом «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» в магистерской диссертации |
| 4 | Федорчук Юрий Митрофанович, д.т.н., профессор | Консультант раздела «Социальная ответственность» | Оказание методической помощи при работе над разделом «Социальная ответственность» |
| 5 | Сумцова Ольга Витальевна, старший преподаватель | Консультант – лингвист | Оказание методической помощи при работе над переводом одной из глав магистерской диссертации на иностранный язык |

5.2.2. 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 14 – Ограничения проекта

| Фактор | Ограничения/ допущения |
|---|---|
| 3.1. Бюджет проекта | 500 000 руб. |
| 3.1.1. Источник финансирования | Госзадание «Наука» № 2387 (г/б тема 3.1333 .2014) |
| 3.2. Сроки проекта: | 10.09.2015 – 5.06.2016 |
| 3.2.1. Дата утверждения плана управления проектом | 5.09.2015 |
| 3.2.2. Дата завершения проекта | 1.06.2016 |
| 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.

5.2.3. Определение возможных альтернатив проведения научных исследований

Рассмотрим возможные способы создания полимерного покрытия с модифицированной биоактивной поверхностью. Для этого построим морфологическую матрицу проекта (табл. 15).

Таблица 15 – Морфологическая матрица для методов получения биологически-активного покрытия на имплантаты на основе полимолочной кислоты

| | 1 | 2 | 3 |
|--|--|--|--|
| А. Тип полимолочной кислоты для создания основы покрытия | PL65 | PL65 | PL65 |
| Б. Модифицирующий агент | Полиакриловая кислота, 0,1% водный раствор | Полиакриловая кислота, 0,1% водный раствор | Полиакриловая кислота, 0,1% водный раствор |
| В. Состав смеси для проведения модифицирования | Этанол/толуол=3/7 | Ацетон/дихлорметан=9/1 | Этилацетат/хлороформ=9/1 |
| Г. Время обработки желатинизирующей смесью | 10 минут | 10 минут | 10 минут |

Предложенные варианты реализации проекта будут далее оценены с позиции ресурсоэффективности.

5.3. Планирование управления научно-техническим проектом

5.3.1. Планирование управления научно-техническим проектом

Планирование научного проекта состоит из процессов определения цели работы, разработка последовательности действий и общего содержания работы требуемых для достижения определенных целей.

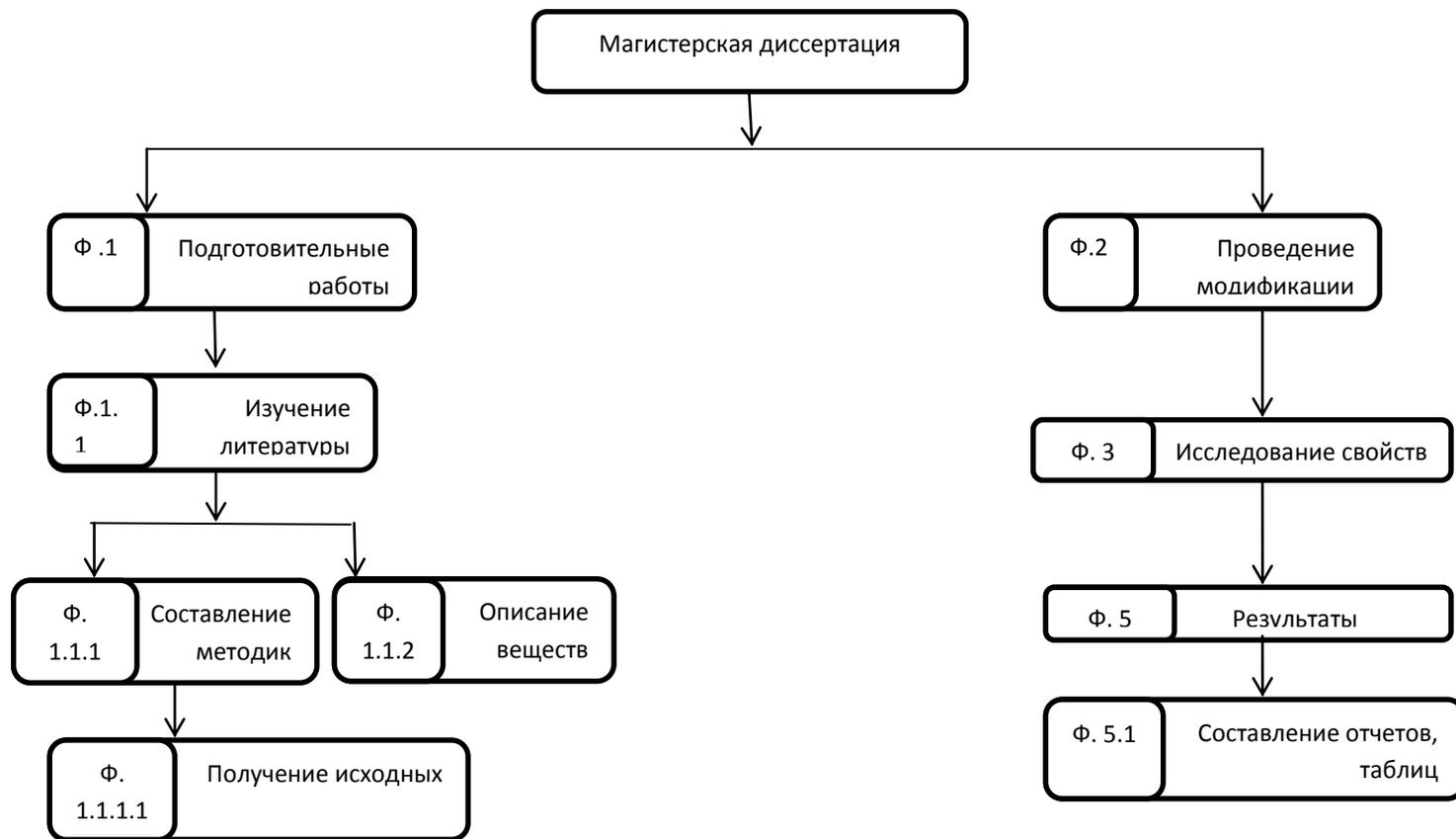


Рисунок 19 - Иерархическая структура работ по проекту

5.3.2. Контрольные события проекта

Таблица 16 – Контрольные события проекта

| № п/п | Контрольное событие | Дата | Результат |
|-------|--------------------------------------|---------------------------|---|
| 1 | Изучение литературных источников | 10.09.2015- 20.10.2015 | Составление литературного обзора |
| 2 | Проведение подготовительных работ | 22.10.2015- 30.12.2015 | Проведение подготовительных синтезов: получение исходных материалов, необходимых для дальнейшего модифицирования |
| 3 | Работа над магистерской диссертацией | 01.02.2016- 30.04.2016 | Проведение модифицирования, исследование и редактирование методик, получение необходимых биоматериалов, исследование их свойств |
| 4 | | 01.05.2016- 14.06.2016 | Написание магистерской диссертации |

5.3.3. План проекта

Для планирования научного проекта необходимо построить календарный план проекта. Календарный план данного проекта отображен в таблице 17.

Таблица 17 – Календарный план проекта

| Код работы (из ИСР) | Название | Длительность, дни | Дата начала работ | Дата окончания работ | Состав участников (ФИО ответственных исполнителей) |
|---------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------------|--|
| 01 | Литературный обзор | 18 | 10.09.2015 | 30.09.2015 | Даниленко Н.В. |

Продолжение таблицы 17

| | | | | | |
|-------------------|--|-----|------------|------------|----------------------------------|
| 02 | Составление методик работы | 18 | 01.10.2015 | 21.10.2016 | Филимонов В.Д. |
| 03 | Получение вспомогательных материалов для модификации | 22 | 22.10.2015 | 30.11.2015 | Даниленко Н.В. |
| 04 | Получение гибридных биоматериалов на основе ПМК-ПАК | 54 | 01.12.2015 | 01.03.2016 | Даниленко Н.В. |
| 05 | Исследование свойств | 50 | 02.03.2016 | 30.04.2016 | Даниленко Н.В. |
| 06 | Составление отчета | 25 | 03.05.2016 | 14.06.2016 | Даниленко Н.В. Филимонов В.Д. |
| 07 | Защита работы | 1 | 15.06.2016 | 15.06.2016 | Даниленко Н.В. |
| И т о г о: | | 240 | | | |

| 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 | | | |
| 1 | Литературный обзор | Инженер (магистрант) | 18 | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | Составление методик работы | Руководитель | 18 | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Получение вспомогательных материалов | Инженер (магистрант) | 22 | | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Получение гибридных биоматериалов на основе ПМК-ПАК | Инженер (магистрант) | 54 | | | | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Исследование свойств | Инженер (магистрант) | 50 | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | Составление отчета | Руководитель, инженер (магистрант) | 25 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | ■ | | |
| 7 | Защита работы | Инженер (магистрант) | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | | | |
| <i>i</i> | | | 188 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |



Руководитель



Инженер (магистрант)

Рисунок 20. Календарный план-график проведения НИОКР по теме

5.3.4. Бюджет научного исследования

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

5.3.5. Сырье, материалы, покупные изделия (за вычетом отходов)

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

Таблица 18 – Материальные затраты

| Наименование | Единица измерения | Количество | | | Цена за ед., руб. | | | Затраты на материалы, (З _м), руб. | | |
|----------------------------|-------------------|------------|-------|-------|-------------------|----------|----------|---|----------|----------|
| | | Исп.1 | Исп.2 | Исп.3 | Исп.1 | Исп.2 | Исп.3 | Исп.1 | Исп.2 | Исп.3 |
| Полимолочная кислота, PL65 | г | 5 | 5 | 5 | 33796,78 | 33796,78 | 33796,78 | 33796,78 | 33796,78 | 33796,78 |
| Дихлорметан | л | 1 | 1 | 1 | 291 | 291 | 291 | 291 | 436,5 | 291 |
| Трихлорметан | л | 1 | 1 | 1 | 310 | 310 | 310 | 310 | 310 | 465 |
| Толуол | л | 1 | 1 | 1 | 145,12 | 145,12 | 145,12 | 145,12 | - | - |
| Этанол | л | 1 | 1 | 1 | 140 | 140 | 140 | 140 | - | - |
| Ацетон | л | 1 | 1 | 1 | 109 | 109 | 109 | - | 109 | - |
| Этилацетат | л | 1 | 1 | 1 | 152 | 152 | 152 | - | - | 152 |
| Итого: | | | | | | | | 34652,9 | 34652,28 | 34704,78 |

5.3.6. Расчет затрат на оборудование для научно-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 19- Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ

| № | Наименование | Кол-во | Цена единицы | Общая стоимость |
|-----|------------------------|--------------|--------------------|-------------------|
| п/п | оборудования | оборудования | оборудования, руб. | оборудования,руб. |
| 1. | Чашка Петри | 6 | 30 | 180 |
| 2. | Цилиндр | 3 | 120 | 360 |
| 3. | Штатив | 1 | 1800 | 1800 |
| 4. | Колба круглодонная | 2 | 97 | 194 |
| 5. | Стакан | 6 | 91 | 546 |
| 6. | Колба плоскодонная | 3 | 65 | 195 |
| 7. | Палочки стеклянные | 3 | 13 | 39 |
| 8. | Термометр | 1 | 200 | 200 |
| 9. | Прямой холодильник | 1 | 260 | 260 |
| 10. | Дефлегматор | 1 | 1190 | 1190 |
| 11. | Пипетка мерная, 0,1 мл | 1 | 171,9 | 171,9 |
| 12. | Пипетка мерная, 1 мл | 3 | 54 | 162 |
| 13. | Пипетка мерная, 10 мл | 3 | 46 | 138 |
| | Итого | | | 5435,9 |

Расчет амортизационных отчислений:

Затраты определяются в виде амортизации по формуле:

$$E_{\text{ам}} = \frac{\sum K_{\text{оби}} \cdot H_{\text{оби}} \cdot T_{\text{оби}}}{365 \cdot 100}$$

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

$N_{амі}$ – норма амортизации прибора или оборудования, %;

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

Таблица 20 – Расчет бюджета затрат на приобретение спецоборудования для научных работ

| № | Наименование оборудования | Цена единицы оборудования, $K_{обі}$, руб | Время использования, $T_{обі}$, дни | Норма амортизации, $N_{амі}$, % | Сумма амортизационных отчислений, $E_{ам}$, руб. |
|---|--|--|--------------------------------------|----------------------------------|---|
| 1 | Электроплитка с магнитной мешалкой HP-20D-Unit | 18500 | 90 | 10,4 | 474,4 |
| 2 | Весы аналитические HTR-120CEShinko | 40120 | 1 | 8,8 | 9,67 |
| 3 | Аквадистилятор ДЭ-4-2М | 19467 | 50 | 10 | 266,67 |
| 4 | УФ-спектрометр СФ-102 Аквилон | 360000 | 10 | 11 | 1084,93 |
| 5 | Итого | | | | 1835,67 |

5.3.7. Расчет фонда заработной платы

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.

1) 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. профессор, составляет 33162,87 руб. Рассчитываем месячный должностной оклад руководителя:

$$Z_m = 33162,87 \cdot 1,3 = 43111,73 \text{ руб.}$$

Среднедневная ЗП руководителя:

$$Z_{\text{дн.}} = 43111,73 \cdot 10,4 / 251 = 1786,3 \text{ руб.}$$

2) Базовый оклад Z_b инженера, как 4 ур. ПКГ специалистов составляет 12684,03 руб. Рассчитываем месячный должностной оклад инженера:

$$Z_m = 12684,03 \cdot 1,3 = 16489,239 \text{ руб.}$$

Среднедневная ЗП инженера:

$$Z_{\text{дн.}} = 16489,239 \cdot 10,4 / 188 = 683,3 \text{ руб.}$$

Таблица 21 – 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 22 – 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 | Составление методик работы | Филимонов В.Д. | 18 | 1,7863 | 78,5972 |
| 2 | Составление отчета. Защита работы | Филимонов В.Д. | 26 | | |
| 1 | Литературный обзор | Даниленко Н.В. | 18 | 0,683 | 116,1473 |
| 2 | Получение вспомогательных материалов для модификации | | 22 | | |
| 4 | Получение гибридных биоматериалов на основе ПМК-ПАК | | 54 | | |
| 5 | Исследование свойств | | 50 | | |
| 8 | Составление отчета | | 25 | | |
| 9 | Защита работы | | 1 | | |
| Итого: | | | | | |

Таблица 23 – 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 | 33162,87 | 0 | 0 | 1,3 | 43111,73 | 251 | 1786,3 | 44 | 78597,2 |
| Инженер (магистрант) | 12684,03 | 0 | 0 | 1,3 | 16489,24 | 251 | 683,3 | 170 | 116147,3 |

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

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

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

k_{доп} – коэффициент дополнительной зарплаты;

Z_{осн} – основная заработная плата, руб.

Таблица 24 – Дополнительная заработная плата

| Заработная плата | Руководитель | Инженер (магистрант) |
|-------------------------|--------------|----------------------|
| Основная зарплата | 78597,2 | 116147,3 |
| Дополнительная зарплата | 9431,7 | 13937,7 |

5.3.8. 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 магнитной мешалки 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%.

$$C_{внеб} = 0,271 \times (194744,5 + 23369,4) = 59108,9 \text{ руб.}$$

Таблица 25 – Бюджет научного исследования

| Наименование статьи | Сумма, руб. | | |
|--|-------------|----------|----------|
| | Исп.1 | Исп.2 | Исп.3 |
| 1. Материальные затраты НТИ | 34652,9 | 34652,28 | 34704,78 |
| 2. Затраты на специальное оборудование для научных (экспериментальных) работ | 7271,57 | 7271,57 | 7271,57 |
| 3. Затраты по основной заработной плате исполнителей темы | 194744,5 | 194744,5 | 194744,5 |
| 4. Затраты по дополнительной заработной плате исполнителей темы | 23369,4 | 23369,4 | 23369,4 |
| 5. Отчисления во внебюджетные фонды | 59108,9 | 59108,9 | 59108,9 |

Продолжение таблицы 25.

| | | | |
|---|-----------|-----------|-----------|
| 6. Затраты на научные и производственные командировки | - | - | - |
| 7. Контрагентские расходы | 6100 | 6100 | 6100 |
| 8. Накладные расходы | 68154,2 | 68154,2 | 68154,2 |
| Итого: | 358748,53 | 358747,91 | 358800,42 |

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.

5.3.9. 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 26.

Таблица 26 – Возможные риски проекта

| № | Риск | Вероятность наступления (1-5) | Влияние риска (1-5) | Уровень риска | Способы смягчения риска |
|---|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------|---------------|---|
| 1 | Расслоение полученного материала | 2 | 5 | высокий | Точное выполнение всех пунктов методики |
| 2 | Загрязнение поверхности материала | 3 | 5 | высокий | Работа в перчатках, стерильные условия |

5.4. 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 [53].

Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}}$$

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:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i$$

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 (табл. 27).

Таблица 27 - Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

| Объект исследования Критерии | Весовой коэффициент параметра | Исп.1 | Исп.2 | Исп.3 |
|--|-------------------------------|-------|-------|-------|
| 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:

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

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

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

Таблица 28 - Сравнительная эффективность разработки

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

1. Заявка на патент регистрационный номер 2015154342
2. Даниленко Н. В. , Станкевич К. С. , Филимонов В. Д. , Твердохлебов С. И. Новые материалы на основе поликапролактона с гидрофильной и гидрофобной поверхностью // Материалы и технологии XXI века: сборник тезисов всероссийской школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Казань, 11-12 Декабря 2014. - Казань: КФУ, 2014 - С. 29
3. Filimonov V. D. , Stankevich K. S. , Goreninsky S. I. , Danilenko N. V. , Tverdokhlebov S. I. Novel Multilayer Functional Hybrid Biomaterials on the Base of Polylactic Acid // 3rd International Conference on Chemical Technology: Book of Abstracts, Mikulov, April 13-15, 2015. - Prague: CSIC, 2015 - p. 49
4. Даниленко Н. В. , Станкевич К. С. Модифицирование поверхности поликапролактона для увеличения гидрофильных свойств // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 25-29 Мая 2015. - Томск: ТПУ, 2015 - Т. 2 - С. 267-268
5. Станкевич К. С. , Даниленко Н. В. Многослойные функциональные биоматериалы на основе полимолочной кислоты // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 25-29 Мая 2015. - Томск: ТПУ, 2015 - Т. 2 - С. 307-309
6. Goreninsky S. I. , Stankevich K. S. , Efimova E. V. , Danilenko N. V. , Tverdokhlebov S. I. , Filimonov V. D. New preparation method of PLA-based biomaterials containing molecular iodine layer on their surface // Recent advances on Mathematical Models for Engineering Science : Proceedings of the 12th International Conference on Mathematical Biology and Ecology, East Lansing, September 20-22, 2015. - Greece: WSEAS Press, 2015 - p. 25-30

7. Efimova E. V. , Stankevich K. S. , Goreninsky S. I. , Danilenko N. V. , Surgutskaya N. S. , Bolbasov E. N. , Akhmedov S. D. , Tverdokhlebov S. I. Investigation of the temperature treatment influence on the composite material made of polylactic acid and magnetic nanoparticles // International Conference on Nanoscience, Nanotechnology and Advanced Materials: Abstracts, Rushikobda, December 14-17, 2015. - Rushikobda: Gitam University, 2015 - p. 69
8. Danilenko N. V. , Kuksyonok V. Y. Getting benzhydrylamine by reduction reaction of benzophenone oxime // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XV Международной научно- практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва: в 2 т., Томск, 26-29 Мая 2014. - Томск: ТПУ, 2014 - Т. 2 - С. 209-210
9. Danilenko N. V. , Kuksyonok V. Y. , Belyaeva V. E. Preparation de Formamide la Benzophenone Oxime et les O-Derivs [Electronic resorces] // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XI Международной конференция студентов и молодых ученых, Томск, 22-25 Апреля 2014. - Томск: ТПУ, 2014 - С. 339-341. - Mode of access: http://science-persp.tpu.ru/Previous%20Materials/Konf_2014.pdf