



DOI: 10.15593/RZhBiomeh/2017.1.07  
УДК 616.284-004

## ВЕРОЯТНОСТНАЯ ПОСТАНОВКА И РЕШЕНИЕ ЗАДАЧИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

А.А. Селянинов<sup>1</sup>, Е.В. Вихарева<sup>2</sup>, А.А. Баранова<sup>3</sup>, И.И. Мишенина<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Кафедра теоретической механики и биомеханики Пермского национального исследовательского политехнического университета, Россия, 614990, Пермь, Комсомольский проспект, 29, e-mail: Prof.Selyaninov@yandex.ru

<sup>2</sup> Кафедра аналитической химии Пермской государственной фармацевтической академии, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2, e-mail: Vihareva@pfa.ru

<sup>3</sup> Кафедра физики и математики Пермской государственной фармацевтической академии, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2, e-mail: aabaranova20@gmail.com

<sup>4</sup> Кафедра фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2, e-mail: irin-mishenin@yandex.ru

**Аннотация.** С позиции биомеханики интересуют однородность условий по объему культуральной жидкости в колбе при проведении экспериментов по биологической деградации лекарственных средств. Однородности условий способствуют незначительный объем отбираемых проб и разница в масштабах времени перемешивания и процесса биодеструкции: доли секунды и сутки соответственно. Биодеструкция связана с жизнедеятельностью актинобактерий, что изначально предполагает случайность процесса. Интенсивность процесса определяется временем достижения заданной концентрации лекарственных средств. Случайный характер приводит к неоднозначности течения реализаций биодеструкции, поэтому прогнозировать время достижения заданной концентрации лекарственных средств следует с заданной вероятностью. С целью прогноза времени завершения с заданной вероятностью предлагается проведение серии экспериментов на повторяемость. Изменение концентрации лекарственных средств при биодеструкции в качестве случайного процесса представлено обыкновенной функцией системы ограниченного числа случайных параметров кинетической модели для реализаций. Важным является вопрос о достоверности закона распределения системы случайных величин. В данной работе использованы предложенные ранее авторами критерий достоверности закона распределения случайных параметров в условиях малой выборки и методика определения времени завершения биодеструкции лекарственных средств с заданной вероятностью. Это позволило разработать вероятностную постановку задачи интенсификации биодеструкции лекарственных средств и методику ее реализации на основе экспериментов на повторяемость, которая применена для биодеструкции дротаверина гидрохлорида. Установлено, что при одинаковых условиях проведения экспериментов минимальное время достижения заданной концентрации дротаверина гидрохлорида, равной 1 % от начальной величины, с заданной вероятностью 95 % становится на 55,5 % больше соответствующего времени, полученного при решении задачи в детерминированной постановке.

---

© Селянинов А.А., Вихарева Е.В., Баранова А.А., Мишенина И.И., 2017

Селянинов Александр Анатольевич, д.т.н., профессор кафедры теоретической механики и биомеханики, Пермь

Вихарева Елена Владимировна, д.фарм.н., заведующая кафедрой аналитической химии, Пермь

Баранова Анна Александровна, ассистент кафедры физики и математики, Пермь

Мишенина Ирина Ивановна, к.фарм.н., ст. преподаватель кафедры фармацевтической технологии, Пермь

**Ключевые слова:** биодеструкция лекарственных средств, кинетическое моделирование, малая выборка, достоверность закона распределения, время завершения с заданной вероятностью, интенсификация процесса, вероятностная постановка задачи, дротаверина гидрохлорид.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблема загрязнения окружающей среды лекарственными средствами и продуктами их разложения привлекает все большее внимание исследователей. Попадая в окружающую среду и накапливаясь, фармполлютанты оказывают хроническое необратимое воздействие на биоту, способствуют нарушению экологического баланса. В природных условиях эти высокостабильные биологически активные соединения подвергаются медленной деструкции в результате химических и биохимических процессов. Последние осуществляются с участием микроорганизмов, в частности актинобактерий рода *Rhodococcus*. Следует отметить, что данные процессы практически не изучены.

Экспериментальные исследования по биодеструкции лекарственных средств проводятся с целью поиска эффективных штаммов-биодеструкторов и условий для интенсификации процессов разложения данных опасных ксенобиотиков. Для этих целей применяются лабораторные шейкеры – качалки, поддерживающие определенную температуру и угловую скорость движения. На плиту шейкера устанавливаются колбы Эрленмейера, содержащие среду культивирования бактерий, бактериальные клетки и лекарственное вещество. С позиции биомеханики представляет интерес однородность условий по объему культуральной жидкости в колбе, что определяет корректность результатов проводимых экспериментов.

Для биологических и биотехнологических процессов, связанных с жизнедеятельностью микроорганизмов, характерна неоднозначность течения и результатов их реализаций. В связи с этим необходим прогноз динамики содержания деструктурируемого вещества и времени окончания процесса. Течение процесса с прогнозом завершения можно считать детерминированным, если за его ходом производится непрерывное или дискретное во времени наблюдение с регистрацией определяющих параметров. Если контролируются исходные условия и определяющие процесс параметры для группы подобных реализаций, тогда необходим вероятностный подход. Для применения последнего требуются эксперименты на повторяемость и решение проблемы анализа в условиях малой выборки.

В работе [14] сформирован класс кинетически моделируемых биомеханических процессов, основным требованием принадлежности к которому является монотонность течения и гладкость реализаций, а также наличие данных по изменению определяющих параметров во времени. В работах Пермской школы биомехаников произведен анализ ряда процессов из этого класса [1, 9], к которым относится биодеструкция лекарственных средств [4–6, 11, 15–17]. Соответствующие математические модели основаны на кинетических уравнениях различного порядка по классификации из области химической кинетики [9] и биотехнологии [2].

В работах [15, 17] разработан вероятностный подход к определению времени завершения биомеханического процесса, в частности биодеструкции лекарственных средств по верхней границе доверительного интервала с заданной вероятностью.

Целью данной работы является анализ однородности условий по объему культуральной жидкости в колбе Эрленмейера с позиции биомеханики и разработка постановки и методики решения вероятностной задачи интенсификации процесса биодеструкции лекарственных средств.

### БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

При иммобилизации бактериальные клетки неподвижно закрепляются на носителях, например, древесных опилках с размером частиц 1–3 мм. Свободные клетки формируют в культуральной жидкости конгломераты меньшего размера. Культуральная жидкость омывает данные конгломераты и просачивается внутрь них за счет относительного движения. В механическом плане за счет перемешивания культуральной жидкости лекарственное средство подается бактериальным клеткам и захватывается ими. Интенсивность жизнедеятельности (дыхания) клеток зависит от интенсивности перемешивания, которая зависит от угловой скорости привода плиты шейкера.

При малой угловой скорости движения клетки ощущают недостаток питания, что ведет к снижению скорости процесса биодеструкции. При большой – микроорганизмы не успевают захватывать лекарственное средство. Отсюда следует наличие ограничений на интервал изменения параметра скорости перемешивания и наличие максимума интенсивности жизнедеятельности микроорганизмов на этом интервале. Для дротаверина гидрохлорида, например, процесс биодеструкции активно протекает в интервале значений угловой скорости привода  $n = 160–180$  об/мин. Качественный характер зависимости скорости биодеструкции от угловой скорости привода плиты шейкера приведен на рис. 1, а.

Зависимость параметра скорости биодеструкции от угловой скорости привода плиты шейкера существенна, что показано экспериментально в работе [4] на примере биодеструкции парацетамола актинобактериями рода *Rhodococcus*. Изменение  $n$  от 160 до 200 об/мин приводит к изменению параметра скорости биодеструкции парацетамола  $k$  от 0,649 до 1,086 сут<sup>-1</sup>.

Жизнедеятельность микроорганизмов существенно зависит от температуры культуральной жидкости. В диапазоне температур 20–40 °С наблюдается хорошая активность микроорганизмов-мезофилов. Для используемых актинобактерий она соответствует экспериментально установленному диапазону температур 18–35 °С. Известный закон Аррениуса описывает экспоненциальный рост активности микроорганизмов с повышением температуры. Однако при этом растет энергия активации распада клеток, которая сравнивается с энергией синтеза клеточного материала и затем превышает ее. В результате зависимость активности микроорганизмов от температуры, которая выражается максимальной удельной скоростью роста  $\mu$ , имеет максимум на указанном температурном интервале (см. рис. 1, б) [2].

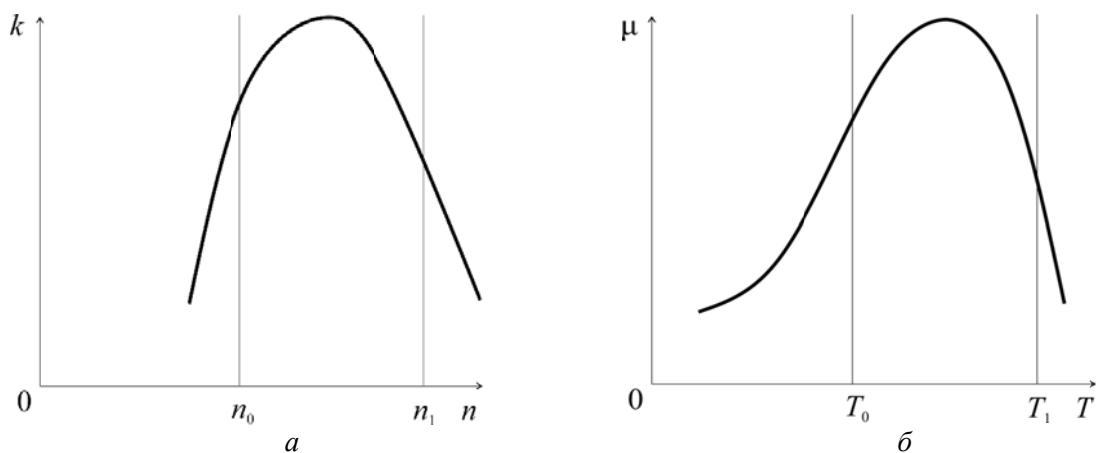


Рис. 1. Зависимость активности микроорганизмов: а – от угловой скорости привода плиты шейкера; б – от температуры;  $(n_0, n_1)$  и  $(T_0, T_1)$  – соответствующие пределы параметров биодеструкции

Для корректности результатов экспериментов по биодеструкции необходима однородность процесса во времени и по объему жидкости в колбе. Объем культуральной жидкости в колбе конической формы составляет 250 мл. Угловая скорость привода и температура поддерживаются оборудованием шейкера. Отбор проб объемом 1 мл незначительно изменяет объем жидкости. Основным вопросом заключается в однородности условий по объему жидкости. Из-за конструктивной особенности шейкера плита с колбами совершает поступательное движение, причем каждая точка плиты и, соответственно, колб движется по окружности. При этом жидкость захватывается стенками колбы и приводится во вращательное движение.

Из-за разности окружных скоростей по радиусу начинается перемешивание культуральной жидкости. Вследствие конического сечения колбы центробежные силы изменяются по высоте жидкости и возрастают ко дну колбы. В результате, помимо неравномерного вращательного движения жидкости, появляется неравномерное вертикальное движение. Кроме того, в работе [12] показано, что свободная поверхность жидкости в колбе на плите шейкера не горизонтальна, а принимает форму эллипса, плоскость которого находится под углом к вертикальной оси, который возрастает с увеличением угловой скорости привода плиты шейкера.

В результате происходят интенсивное перемешивание культуральной жидкости в колбе и ее непрерывная подача внутрь клеточных конгломератов. Очевидная неравномерность подачи при движении конгломератов по линиям тока сглаживается тем, что механический процесс и процесс биодеструкции имеют разные масштабы по времени: для движения жидкости в колбе – доли секунды, для процесса биодеструкции – сутки. По этим же причинам активный массоперенос выравнивает температурное поле по объему культуральной жидкости в колбе. Таким образом, условия процесса биодеструкции лекарственных средств однородны по объему жидкости, что определяет корректность проводимых экспериментов.

### КРИТЕРИЙ ИНТЕНСИВНОСТИ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Обозначим величину концентрации лекарственного средства в процессе биодеструкции через  $x$ .

При инструментальном контроле можно сопровождать течение процесса с прогнозом завершения. Математическое моделирование позволило прогнозировать время завершения процесса при меньшем количестве экспериментальных данных. В качестве математической модели биодеструкции лекарственных средств предложено кинетическое уравнение вида

$$\frac{dx}{dt} = -Kx. \quad (1)$$

В зависимости от вида так называемой «константы реакции»  $K$  в кинетическом уравнении предлагается различать экстенсивный и интенсивный типы процесса биологической деструкции. Это деление на типы не является обычной констатацией степени интенсивности процесса, а связано с особенностями изменения скорости в начальный период времени, т.е. с результатами жизнедеятельности актинобактерий. Интенсивные процессы хорошо описываются при  $K = k = \text{const}$ , а для экстенсивных нами предложена линейная зависимость от времени  $K = b + at$ , где  $b$  отвечает за скорость,  $a$  – за ускорение изменения концентрации лекарственного средства. В частности, исследования показали, что биодеструкция дротаверина гидрохлорида протекает по экстенсивному типу (в кинетическом уравнении два параметра –  $b$  и  $a$ ), что не противоречит общему подходу, так как при интенсивном типе процесса  $a = 0$ .

При таком детерминированном подходе время завершения биодеструкции лекарственного средства  $t_p(x_{np})$  в данной реализации определяется временем достижения концентрацией предельного значения  $x_{np}$  и определяется из кинетического уравнения [4–6, 11, 16, 17] выражением

$$t_p(x_{np}) = \frac{-b + \sqrt{b^2 - 2a \ln(x_{np} / x_0)}}{a}. \quad (2)$$

Однако выражение (2) не дает ответа на вопрос, когда завершится биологическая деструкция данного лекарственного средства при тех же условиях для новых реализаций.

В силу особенностей жизнедеятельности микроорганизмов процесс биодеструкции будет случайным, в результате чего время завершения можно прогнозировать только с определенной вероятностью. В данном случае необходим вероятностный подход, для реализации которого предлагается проведение экспериментов на повторяемость при тех же условиях. В силу сложностей различного плана по контролю концентрации лекарственного средства при биодеструкции имеет место вероятностный подход в условиях малой выборки.

В вероятностном подходе время завершения процесса биодеструкции лекарственного средства  $t_{np}(x_{np}, p^*)$  определяется временем достижения параметром предельного значения  $x_{np}$  с заданной вероятностью  $p^*$ .

В качестве случайного процесс биодеструкции  $X(t)$  представлен обычной функцией системы случайных величин [13], которые являются параметрами кинетической модели для реализаций (1), т.е.

$$X(t) = f(a, b, t), \quad (3)$$

где  $a$  и  $b$  становятся случайными величинами.

Для определения времени  $t_{np}(x_{np}, p^*)$  предлагается использовать верхнюю границу доверительного интервала [15] для изменения концентрации лекарственного средства при биодеструкции с заданной вероятностью, например,  $p^* = P = 0,95$  (рис. 2).

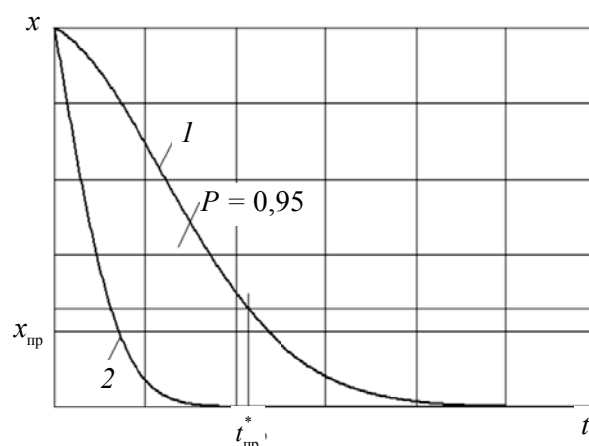


Рис. 2. Доверительный интервал:  $1$  – нижняя граница;  $2$  – верхняя граница; значение времени завершения процесса биодеструкции  $t_{np}^* = t_{np}(x_{np}, p^*)$

Границы доверительного интервала связаны с выборочной дисперсией случайного процесса. Выборочную дисперсию случайного процесса, представленного выражением (3), определяют выборочные дисперсии случайных параметров кинетической модели для реализаций в экспериментах на повторяемость.

Вероятность попадания в доверительный интервал определяет закон распределения системы случайных параметров кинетической модели. Особо важен вопрос о достоверности применяемого закона распределения системы случайных параметров  $a$  и  $b$  в условиях малой выборки.

Для выбора достоверного закона распределения системы случайных величин в условиях малой выборки предложен критерий, основанный на выборочной дисперсии случайного процесса как наиболее чувствительной к выборочным дисперсиям параметров кинетического уравнения характеристике случайного процесса:

$$\sum_{i=1}^m \left| D_x^{(k)}(t_i) - D_{x_i} \right| \xrightarrow{k=1,2,3,\dots} \min, \quad (4)$$

$$t_i \in (0, \infty)$$

где отклонение выборочных дисперсий, полученных на основе гипотез о распределениях, от выборочных дисперсий случайного процесса, найденных по экспериментальным данным, должно быть минимальным.

Здесь  $i$  – номер сечения процесса по времени с шагом экспериментальных данных;  $m$  – количество сечений с экспериментальными данными;  $t_{\text{пр}}$  – время процесса;  $D_x(t_i)$  – выборочная дисперсия, полученная из представления случайного процесса функцией системы случайных параметров в кинетических уравнениях;  $D_{x_i}$  – выборочная дисперсия, полученная из экспериментальных данных в  $i$ -м временном сечении случайного процесса;  $k$  – номер приближенного метода анализа случайного процесса, основанного на гипотезе о законе распределения.

Исходя из предложенного критерия определяется достоверный закон распределения исходной системы случайных величин. Параметрами этого закона являются выборочные дисперсии и средние выборки системы исходных случайных величин, определенные по выборке параметров кинетических кривых для реализаций процесса биодеструкции в экспериментах на повторяемость.

Интегрирование полученного закона распределения позволяет найти пределы изменения исходных случайных величин исходя из требуемой вероятности. Полученные значения случайных величин определяют согласно выражению (1) нижнюю и верхнюю границы доверительного интервала течения процесса с заданной вероятностью  $p^*$ .

Время завершения биодеструкции  $t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, p^*)$  предлагается определять моментом времени  $t$ , когда концентрация лекарственного средства  $X_t$  достигнет предельного значения  $x_{\text{пр}}$  с заданной вероятностью  $p^*$  по верхней границе соответствующего доверительного интервала (см. рис. 2), т.е.

$$t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, p^*) = \min_{t \in (0, \infty)} t \Big|_{P(X_t < x_{\text{пр}}) = p^*} = \frac{-b_1 + \sqrt{b_1^2 - 2a_1 \ln(x_{\text{пр}} / x_0)}}{a_1}, \quad (5)$$

где  $a_1$  и  $b_1$  – параметры кинетической кривой, соответствующей верхней границе доверительного интервала.

Используя выражения (5) и (2) в качестве критериев интенсивности, можно разработать и реализовать вероятностную и детерминированную постановки задач интенсификации процесса биодеструкции лекарственных средств.

## ВЕРОЯТНОСТНАЯ ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Интенсивность биодеструкции существенно зависит от интенсивности перемешивания, которая определяется угловой скоростью привода плиты шейкера  $n$  и температурой культуральной жидкости  $T$ . Возьмем их в качестве управляющих параметров.

В вероятностной постановке под критерием интенсивности процесса биодеструкции (5) понимается зависимость  $t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, p^*)$ , в которой заложены верхняя граница доверительного интервала течения процесса и параметры управления. Поэтому в развернутом виде эта зависимость принимает вид  $t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, a_1(n, T, p^*), b_1(n, T, p^*))$ , величину  $t_{\text{пр}}$  в целях интенсификации процесса следует устремить к минимуму по параметрам управления.

Постановка задачи интенсификации процесса биодеструкции принимает вид

$$t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, a_1(n, T, p^*), b_1(n, T, p^*)) \rightarrow \min_{n, T \in R}, \quad (6)$$

где  $n$  и  $T$  в пределах  $n_0 \leq n \leq n_1$ ,  $T_0 \leq T \leq T_1$  – управляющие параметры, которыми можно влиять на процесс биодеструкции лекарственных средств.

Величина предельной концентрации лекарственного средства назначается исходя из целей проведения биодеструкции: для исследовательских работ следует добиться стократного уменьшения начальной концентрации ( $x_0 = 100$  %, т.е.  $x_{\text{пр}} = 1$  %); при биологической очистке сточных вод – это предельно допустимая концентрация (ПДК); при наработке полезного побочного продукта – назначаемая величина для  $x_{\text{пр}}$  лекарственного средства как первичного субстрата определяется из целесообразности дальнейшего проведения процесса.

Величина необходимой вероятности для доверительного интервала течения процесса биодеструкции  $p^* = 95$  % исходя из требований фармакопеи.

Рассмотрим интенсификацию биологической деструкции лекарственных средств при исследовательских работах на примере дротаверина гидрохлорида («Но-Шпы») с использованием клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 647. Экспериментально установлено, что в данном случае при  $n > 180$  и  $n < 160$  об/мин скорость биодеструкции падает.

Вероятностная постановка задачи интенсификации биологической деструкции дротаверина гидрохлорида принимает вид

$$t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, a_1(n, T, p^*), b_1(n, T, p^*)) = \frac{-b_1 + \sqrt{b_1^2 - 2a_1 \ln(x_{\text{пр}} / x_0)}}{a_1} \rightarrow \min_{n, T \in R}, \quad (7)$$

где  $a_1(n, T, p^*)$  и  $b_1(n, T, p^*)$  – параметры кинетической кривой, соответствующей верхней границе доверительного интервала с заданной вероятностью  $p^* = 95$  %, зависящие от параметров состояния, основные из которых:

- начальная концентрация ( $x_0 = 0,02$  мг/мл, взята за 100 %);
  - клетки *R. rhodochrous* ИЭГМ 647;
  - предварительное культивирование клеток при низких (0,002 мг/мл) концентрациях;
  - оптическая плотность (ОПТ = 1);
  - среда культивирования (RS + глюкоза),
- и параметров управления:

- температура культуральной жидкости  $T$ , °C;
- угловая скорость привода плиты шейкера  $n$ , об/мин при ограничениях типа равенства (1) и типа неравенств  $160 \leq n \leq 180$  об/мин;  $18 \leq T \leq 35$  °C.

### МЕТОДИКА РЕШЕНИЯ ВЕРОЯТНОСТНОЙ ЗАДАЧИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Традиционный подход к решению поставленной вероятностной задачи можно реализовать по следующему алгоритму:

- составить план согласно методу планирования эксперимента для двух управляющих параметров;
- в каждой точке плана произвести эксперименты по биодеструкции на повторяемость процесса;
- с применением выражений (1)–(5) в каждой точке плана определить время завершения биодеструкции  $t_{пр}(x_{пр}, p^*)$  с заданной вероятностью  $p^*$  по верхней границе соответствующего доверительного интервала;
- методом планирования эксперимента определить зависимость времени завершения процесса биодеструкции от управляющих параметров;
- с применением методов нелинейного программирования с учетом ограничений (например, методом штрафных функций) определить оптимальные значения управляющих параметров, доставляющих минимум времени процесса биодеструкции лекарственного средства.

Однако, учитывая длительность процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида порядка 15 суток для каждой точки плана и значительную стоимость анализа порядка 30 проб для каждой точки с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии, такой подход является нецелесообразным.

В данной работе предлагается альтернативный подход, который состоит из трех этапов:

- 1) решение аналогичной (7) задачи в детерминированной постановке, которое дает начальное приближение для реализации вероятностной постановки и требует в 10 раз меньшее количество проб для анализа;
- 2) проведение экспериментов на повторяемость оптимального решения в детерминированной постановке и определение времени завершения процесса с заданной вероятностью в начальном приближении с анализом 30 проб;
- 3) при необходимости, в частности для процесса биодеструкции с целью наработки полезного побочного продукта, уточнение решения задачи (7) в вероятностной постановке в окрестности начального приближения с применением метода планирования эксперимента или с эвристическим подходом.

Замечание. Данная методика дает возможность сузить область изменения управляющих параметров, что позволяет при одинаковой точности решения значительно уменьшить количество экспериментов на повторяемость процесса биодеструкции.

Рассмотрим альтернативный подход к реализации вероятностной постановки задачи интенсификации процесса биодеструкции лекарственных средств на примере дротаверина гидрохлорида.

1. Детерминированная постановка задачи интенсификации процесса биодеструкции.

В детерминированной постановке критерий интенсивности процесса биодеструкции – время завершения реализации  $t_p(x_{пр})$  согласно (2). Значения некоторых параметров (здесь  $n$  и  $T$ ) можно варьировать.



Детерминированная постановка задачи интенсификации процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида имеет вид

$$t_p(x_{np}, a(n, T), b(n, T)) \rightarrow \min_{n, T \in R} \quad (8)$$

где  $n$  и  $T$  в пределах  $n_0 \leq n \leq n_1$ ,  $T_0 \leq T \leq T_1$  – управляющие параметры, изменяя которые, можно влиять на процесс.

Связь критерия  $t_p$  с управляющими параметрами  $n$  и  $T$  определяется на основе экспериментальных данных. По значениям  $a$  и  $b$  при различных  $n$  и  $T$  строятся аппроксимирующие поверхности  $a(n, T)$  и  $b(n, T)$ , затем поверхность  $t_p(x_{np}, a(n, T), b(n, T))$ , откуда определяется минимум  $t_p(x_{np})$ . При этом для определения параметров процесса  $a$  и  $b$  разработана программа обработки экспериментальных данных («*Biodestructia*»).

Биодеструкция дротаверина гидрохлорида проходит по экстенсивному типу процесса, изменять можно температуру культуральной жидкости с лекарственным средством и угловую скорость привода плиты шейкера с колбами.

В табл. 1 приведены экспериментальные значения остаточной концентрации ( $x$ , %) при биодеструкции дротаверина гидрохлорида на 15-е сутки при различных комбинациях значений угловой скорости привода плиты шейкера ( $n$ , об/мин) и температуры культуральной жидкости ( $T$ , °C), а также соответствующие расчетные значения параметров кинетического уравнения  $a$  и  $b$ .

Интенсивность процесса биодеструкции при параллельном эксперименту моделировании характеризуется временем достижения заданной концентрации  $x_{np} = 1$  %.

С целью интенсификации биодеструкции дротаверина гидрохлорида детерминированная постановка задачи оптимизации имеет вид

$$t_p(x_{np}) = \frac{-b + \sqrt{b^2 - 2a \ln(x_{np} / x_0)}}{a} \xrightarrow{n, T \in R} \min, \quad (9)$$

где параметры кинетического уравнения (1)  $a(n, T)$  и  $b(n, T)$  зависят от параметров состояния и параметров управления при ограничениях типа равенств и типа неравенств, приведенных в постановке вероятностной задачи (7).

Оптимальное решение найдено графически с применением выражения (9) в качестве критерия оптимальности. Сначала с помощью линейной аппроксимации построены поверхности параметров кинетического уравнения  $a$  и  $b$  в пределах ограничений, указанных выше. Затем по значениям  $a$  и  $b$  согласно выражению (9) построена поверхность для времени окончания биологической деструкции  $t_p$  в зависимости от управляющих параметров  $n$  и  $T$  (рис. 3).

Таблица 1

**Влияние температуры и угловой скорости привода плиты шейкера на концентрацию дротаверина гидрохлорида при биодеструкции**

$T$ , °C	18		28		35	
$n$ , об/мин	160	180	160	180	160	180
$x$ , %	50	54,4	1,02	37,7	90,25	95,6
$a$ , 1/сут <sup>2</sup>	0,0383	0,0359	0,0341	0,0041	0,0010	0,0002
$b$ , 1/сут	0,0003	0,0002	0,1014	0,0332	0,0009	0,0020

Минимальное значение времени процесса находится в допустимой области и при угловой скорости привода плиты шейкера  $n^* = 160$  об/мин и температуре культуральной жидкости  $T^* = 28$  °С составляет  $t_p^* = 13,7$  сут.

2. Время завершения процесса биодеструкции с заданной вероятностью на основе экспериментов на повторяемость.

Число реализаций в эксперименте на повторяемость ограничено количеством колб с культуральной жидкостью, устанавливаемых на плиту шейкера. В табл. 2 приведены результаты биодеструкции дротаверина гидрохлорида в эксперименте на повторяемость в десяти реализациях для оптимального в детерминированной постановке варианта управляющих параметров.

Для каждой реализации определены кинетические параметры  $a$  и  $b$ , после чего с применением статистики малой выборки [3, 7] найдены выборочные аналоги математического ожидания  $m_a$ ,  $m_b$ , дисперсии  $D_a$ ,  $D_b$  и среднего квадратичного отклонения  $\sigma_a$ ,  $\sigma_b$ , а также корреляционная связь между случайными величинами из системы  $K_{ab}$ . Эти числовые характеристики системы случайных параметров  $a$  и  $b$  определены при значениях управляющих параметров  $(n^*, T^*)$ .

Исходя из представления процесса биодеструкции функцией (3) системы случайных параметров в кинетических уравнениях для реализаций и применяя критерий достоверности закона распределения этой системы (4), получили параметры кинетической кривой  $a_1(n^*, T^*, p^*)$  и  $b_1(n^*, T^*, p^*)$ , определяющей верхнюю границу доверительного интервала для течения процесса. Согласно схеме, приведенной на рис. 2, определено время завершения процесса биодеструкции дротаверина гидрохлорида по выражению (5), которое является начальным приближением решения задачи интенсификации в вероятностной постановке (7):  $t_{np}^*(x_{np}, a_1(n^*, T^*, p^*), b_1(n^*, T^*, p^*)) = 21,3$  сут. Подробнее процедура определения времени процесса биодеструкции рассмотрена в работе [15]. При этом для дротаверина гидрохлорида («Но-Шпы») достоверным согласно критерию (4) является логнормальный закон распределения, а для биодеструкции парацетамола таким является нормальный закон распределения.

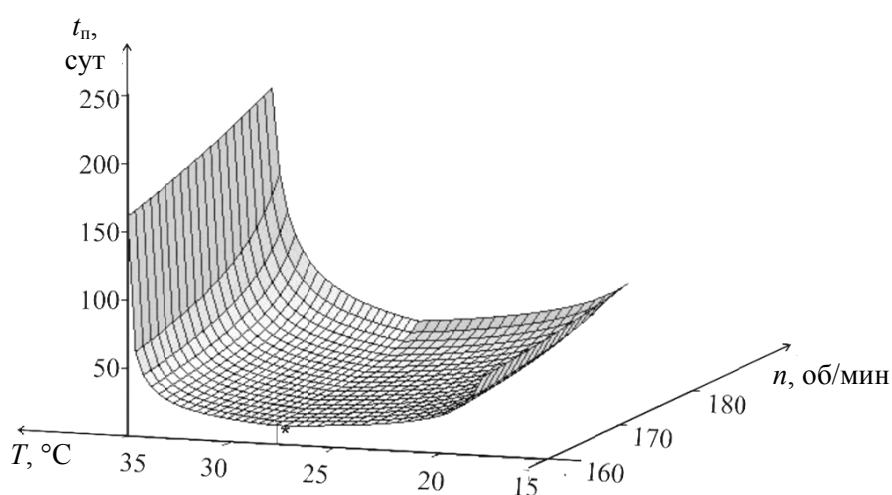


Рис. 3. Зависимость времени биодеструкции дротаверина гидрохлорида клетками *R. rhodochrous* ИЭГМ 647 от угловой скорости привода плиты шейкера и температуры культуральной жидкости: \* – минимальное значение времени процесса

Таблица 2

**Изменение концентрации ( $x$ , %) дротаверина гидрохлорида в эксперименте  
на повторяемость процесса биодеструкции**

№ реализации п/п	Время $t$ , сут			
	0	5	10	15
1	100	39,46	8,24	0,29
2	100	43,14	5,49	0,25
3	100	35,82	9,89	0,50
4	100	40,21	10,99	0,52
5	100	42,53	3,30	0,15
6	100	58,51	11,54	1,01
7	100	33,25	10,44	0,32
8	100	21,39	1,10	0,02
9	100	64,18	5,49	1,10
10	100	50,26	1,00	0,08

3. Решение задачи интенсификации биодеструкции в стохастической постановке в окрестности начального приближения.

При необходимости уточнения решения задачи интенсификации биодеструкции в вероятностной постановке (7), несмотря на материальные затраты, следует применить метод планирования эксперимента, который позволяет определить зависимость для времени завершения процесса, например вида

$$t_{\text{пр}}(n, T) = a_0 + a_1 n + a_2 T + a_3 n T, \quad (10)$$

от управляющих параметров  $n$  и  $T$  из окрестности начального приближения  $(n^*, T^*)$ .

Для этого согласно методу планирования эксперимента в каждой точке  $(n, T)$  следует провести эксперименты на повторяемость (как минимум с доведением количества реализаций до 30), повторить в каждой точке обработку результатов по предложенной методике для определения значений  $t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, a_1(n, T, p^*), b_1(n, T, p^*))$  и найти минимум времени (10) с применением одного из методов нелинейного программирования [10, 18].

**РЕЗУЛЬТАТ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ  
ДРОТАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА**

При биодеструкции дротаверина гидрохлорида время достижения заданной концентрации  $x_{\text{пр}} = 1$  % от начальной в зависимости от параметров процесса  $n$  и  $T$  имеет ярко выраженный минимум по температуре культуральной жидкости  $T$  и находится на ограничении по угловой скорости привода плиты шейкера с колбами  $n$ . Учитывая, что вся случайность процесса заложена в параметрах состояния и нет оснований предполагать значительное изменение выборочной дисперсии в окрестности детерминированного решения  $(n^*, T^*)$ , решение детерминированной задачи можно практически считать решением задачи оптимизации в вероятностной постановке. Тем более это выборочная аналогия времени окончания процесса, которая требует коррекции с появлением каждой новой реализации при данных условиях.

Результатом решения задачи интенсификации биодеструкции дротаверина гидрохлорида являются следующие характеристики: при  $x_{\text{пр}} = 1$  % от начальной концентрации минимальное время завершения биодеструкции в детерминированной постановке составляет  $t_p(x_{\text{пр}}, n^*, T^*) = 13,7$  сут, время завершения биодеструкции с заданной вероятностью  $p^* = 95$  % составляет  $t_{\text{пр}}(x_{\text{пр}}, n^*, T^*, p^*) = 21,3$  сут при угловой скорости привода плиты шейкера  $n^* = 160$  об/мин и температуре культуральной жидкости  $T^* = 28$  °С.

## Выводы

1. С позиции биомеханики показана однородность условий по объему культуральной жидкости в колбе при проведении экспериментов по биологической деструкции лекарственных средств. Поступательное движение плиты шейкера, при котором каждая точка самой колбы движется по окружности, приводит к интенсивному перемешиванию жидкости, что позволяет подавать компоненты культуральной жидкости предварительно иммобилизованным клеткам либо конгломератам адаптированных свободных клеток. Однородности условий способствуют незначительный объем отбираемых проб и разница в масштабах времени перемешивания и процесса биодеструкции: доли секунды и сутки соответственно.

2. Разработан критерий интенсивности процесса биодеструкции лекарственных средств на основе экспериментов на повторяемость. Разработаны вероятностная постановка задачи интенсификации процесса биодеструкции и методика ее решения, включающая поиск начального приближения путем решения соответствующей задачи в детерминированной постановке, определение времени завершения процесса с заданной вероятностью в условиях малой выборки по верхней границе доверительного интервала и дальнейшее уточнение решения методом планирования эксперимента или с применением эвристического подхода. Для этого применен разработанный ранее критерий достоверного закона распределения случайных параметров кинетического уравнения для реализаций процесса.

3. Вероятностная постановка задачи интенсификации процесса биодеструкции лекарственных средств и методика ее решения реализованы для процесса биологической деструкции дротаверина гидрохлорида с использованием клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 647. Установлено, что при одинаковых условиях проведения экспериментов минимальное время достижения заданной концентрации дротаверина гидрохлорида, равной 1 % от начальной величины, с заданной вероятностью 95 % становится на 55,5 % больше соответствующего времени, полученного при решении задачи в детерминированной постановке. Этот вывод свидетельствует о необходимости проведения стохастического анализа процесса биодеструкции лекарственных средств.

## Благодарность

Авторы выражают благодарность научному руководителю кафедры теоретической механики и биомеханики Пермского национального исследовательского политехнического университета, основателю Пермской школы биомеханики профессору Ю.И. Няшину за помощь в постановке задач и обсуждении результатов исследований, а также заведующему лабораторией алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН академику РАН, профессору И.Б. Ившиной за помощь в проведении экспериментальных исследований.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранова А.А., Селянинов А.А., Вихарева Е.В. Кинетическое моделирование биомеханических процессов // Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Механика. – 2012. – № 3. – С. 7–25.
2. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.
3. Вентцель Е.С., Овчаров Л.А. Теория случайных процессов и ее инженерные приложения. – М.: Наука, 1991. – 384 с.
4. Вихарева Е.В., Селянинов А.А., Данилов Ю.Л., Рудакова И.П., Нечухина Т.А., Ившина И.Б., Няшин Ю.И. Математическая модель процесса биодеструкции парацетамола как открытой системы // Российский журнал биомеханики. – 2008. – Т. 12, № 2. – С. 41–54.
5. Вихарева Е.В., Селянинов А.А., Ившина И.Б., Няшин Ю.И. Математическое моделирование процесса биодеструкции парацетамола актинобактериями рода *Rhodococcus* // Российский журнал биомеханики. – 2007. – Т. 11, № 2. – С. 93–100.
6. Вихарева Е.В., Селянинов А.А., Няшин Ю.И., Ившина И.Б. Кинетическая схема процесса биодеструкции парацетамола с истекшим сроком годности // Российский журнал биомеханики. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 72–79.
7. Гмурман Е.В. Теория вероятностей и математическая статистика. – М.: Высшая школа, 1997. – 479 с.
8. Денисов Е.Т. Кинетика гомогенных химических реакций. – М.: Высшая школа, 1988. – 390 с.
9. Иванова Н.А., Вихарева Е.В., Баранова А.А., Селянинов А.А. Влажность оболочки и прочностные характеристики мягких желатиновых капсул с гидрофильными наполнителями // Фармация. – 2013. – № 2. – С. 36–38.
10. Иванова Н.А., Разепина Я.А., Самбулова А.А., Баранова А.А., Вихарева Е.В., Сульдин А.В., Селянинов А.А. Выбор оптимального состава мягких желатиновых капсул с использованием нормированной целевой функции // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 3/1 (37). – С. 81.
11. Карпенко Ю.Н., Селянинов А.А., Мухутдинова А.Н., Рычкова М.И., Баранова А.А., Вихарева Е.В., Ившина И.Б. Хроматографическое определение дротаверина гидрохлорида и кинетическое моделирование процесса его биодеструкции в культуральной жидкости *R. rhodochrous* // Журнал аналитической химии. – 2014. – Т. 69, № 7. – С. 750–755.
12. Куюкина М.С., Ившина И.Б., Осипенко М.А., Няшин Ю.И., Тюленёва А.Н., Серебренникова М.К. Об учете формы свободной поверхности жидкости при моделировании процесса иммобилизации бактериальных клеток на твердом носителе // Российский журнал биомеханики. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 7–14.
13. Пугачев В.С. Теория случайных функций и ее применение к задачам автоматического управления. – М.: Гостехиздат, 1957. – 659 с.
14. Селянинов А.А. Класс кинетически моделируемых биомеханических случайных процессов // Российский журнал биомеханики. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 22–35.
15. Селянинов А.А., Баранова А.А., Вихарева Е.В. Время завершения кинетически моделируемых биомеханических процессов // Российский журнал биомеханики. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 368–377.
16. Селянинов А.А., Вихарева Е.В. Кинетика биодеструкции лекарственных средств – производных фенола, изохинолина и карбоновых кислот // Российский журнал биомеханики. – 2010. – Т. 14, № 3. – С. 79–91.
17. Селянинов А.А., Вихарева Е.В., Ившина И.Б., Баранова А.А., Карпенко Ю.Н. Стохастический анализ повторяемости процесса биологической деструкции дротаверина гидрохлорида // Российский журнал биомеханики. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 41–54.
18. Химмельблау Д. Прикладное нелинейное программирование. – М.: Мир, 1975. – 535 с.

## THE PROBABILISTIC FORMULATION AND ITS SOLUTION FOR THE PROBLEM OF INTENSIFICATION OF THE PHARMACEUTICAL PROCESS OF BIODEGRADATION

A.A. Selyaninov, E.V. Vikhareva, A.A. Baranova, I.I. Mishenina (Perm, Russia)

From the standpoint of biomechanics is of interest the study of uniformity conditions in the moving volume of the cultural liquid at conducting experiments on biological degradation of pharmaceuticals. Uniformity of conditions is related to low volume selected for analysis, and the difference in scale of the time of mixing (fraction of second) and the duration of the process of biodegradation (day). Biological degradation is caused by bacteria that can relate this process to the random class. The intensity of the process is determined by the time to reach a given concentration of destructuring drugs. The random nature leads to the ambiguity of the current implementations of the process of biodegradation. Therefore, we can predict the time to achieve a given drug concentration, it is necessary to obtain it with a given probability. To forecast the time of completion of the process with a given probability, it is proposed to conduct a series of experiments on repeatability. The change in the concentration of drugs in a result of biodegradation as a random process is represented by an ordinary function of the system of a limited number of random parameters of a kinetic model for implementations. Important is the question of the reliability of the law for distribution of system of random variables. In this paper, we used previously proposed by the authors the validity of the law of distribution of random parameters in a small sample and method of determining the time for completion of the process of pharmaceutical biodegradation with a given probability. It is possible to develop a probabilistic formulation of the problem for intensification of the process of biodegradation of pharmaceuticals and methodology of its solution on the basis of experiments on the repeatability, which is implemented on the example of drotaverine hydrochloride. It is established that under identical conditions of experiments the minimum time to achieve a concentration of drotaverine hydrochloride is equal to 1 % of the initial value, with a given probability of 95 % that is on 55.5 % more than time obtained in solving the problem in a deterministic setting.

**Key words:** biodegradation of pharmaceuticals, kinetic modelling, small sample, validity of distribution law, completion time of a process with a given probability, intensification of the process, probabilistic formulation of the problem, drotaverine hydrochloride.

*Получено 20 декабря 2016*