

УДК 531/534: [57+61]

КИНЕТИЧЕСКАЯ СХЕМА ПРОЦЕССА БИОДЕСТРУКЦИИ ПАРАЦЕТАМОЛА С ИСТЕКШИМ СРОКОМ ГОДНОСТИ

Е.В. Вихарева*, А.А. Селянинов**, Ю.И. Няшин**, И.Б. Ившина***

* Кафедра фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии, Россия, 614990, Пермь, ул. Ленина, 48, e-mail: perm@pfa.ru

** Кафедра теоретической механики Пермского государственного технического университета, Россия, 614990, Пермь, Комсомольский проспект, 29, e-mail: luba@theormech.pstu.ac.ru

*** Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, Россия, 614081, Пермь, ул. Голева, 13, e-mail: ivshina@iegm.ru

Аннотация. Разработана кинетическая схема процесса биодеструкции парацетамола с истекшим сроком годности на основе использования клеток родококков. Даны кинетические уравнения и значения констант скорости реакции биокаталитического окисления парацетамола. Достигнуто совпадение результатов, полученных по теоретическим кинетическим уравнениям, с экспериментальными данными, добытыми при проведении процесса биодеструкции парацетамола в различных условиях.

Ключевые слова: парацетамол, биологическая деструкция, родококки, кинетическое уравнение, константа скорости реакции.

Введение

В настоящее время остро стоит проблема утилизации лекарственных средств с истекшим сроком годности. Данные лекарственные средства признаются фармацевтическими отходами и подлежат обязательному уничтожению [1]. Рекомендуемые методы их уничтожения (слив в канализацию, сжигание и захоронение на свалках) не являются экологически безопасными и требуют существенной доработки. Сегодня приоритет по показателям эффективности, безопасности и экономичности признается за биотехнологическими способами утилизации опасных отходов.

В основу многих лекарственных препаратов входят соединения, содержащие в молекуле фенольную гидроксильную группу. Как было показано авторами ранее [2, 3], для окислительной биодеструкции парацетамола перспективно использование актинобактерий рода *Rhodococcus*. Среди культур актинобактерий, поддерживаемых в Уральской региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, <http://www.iegm.ru/iegmcol>), отобраны штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 199, ИЭГМ 201, ИЭГМ 202, ИЭГМ 767; *R. ruber* ИЭГМ 77, ИЭГМ 231, ИЭГМ 235, ИЭГМ 325, ИЭГМ 759 – наиболее активные биокатализаторы процесса конверсии парацетамола. Разработана технологическая схема процесса биодеструкции парацетамола в виде фармацевтической субстанции и целых таблеток с использованием свободных и иммобилизованных клеток родококков с предварительно

индуцированным алканотрофным обменом. Определены условия интенсификации процесса биоконверсии парацетамола, предусматривающие использование иммобилизованных в криогеле поливинилового спирта клеток родококков. Исследовано влияние вспомогательных веществ (крахмала, талька, стеариновой кислоты, поливинилпирролидона), входящих в состав готовой лекарственной формы (целых таблеток), на процесс биоконверсии парацетамола иммобилизованными клетками родококков.

Для адекватного описания процесса с целью его интенсификации необходима разработка кинетической схемы биокаталитического окисления парацетамола. Цель настоящего исследования – теоретическая оценка основных параметров процесса окислительной биодеструкции парацетамола с истекшим сроком годности.

Разработка кинетических уравнений, определение значений констант скорости и порядка реакции окисления парацетамола

Считая, что скорость убывания парацетамола из среды культивирования бактерий пропорциональна его концентрации x (реакция первого порядка), получаем следующее дифференциальное уравнение, описывающее процесс биодеструкции парацетамола свободными клетками родококков

$$\frac{dx}{dt} = -k_1 x. \quad (1)$$

Интегрируя, получаем зависимость концентрации парацетамола от времени в виде соотношения

$$\ln x = -k_1 t + \ln x_0, \quad (2)$$

где x_0 – начальная концентрация парацетамола, k_1 – константа скорости реакции, определяемая экспериментально. В явном виде относительно x уравнение (2) можно записать следующим образом:

$$x = x_0 e^{-k_1 t}. \quad (3)$$

На рис. 1 приведена зависимость логарифма концентрации парацетамола от времени, которая практически аппроксимируется прямой, что соответствует уравнению (2). Из этого графика следует, что $\ln x_0 = -6,21$. Тогда константа скорости реакции биокаталитического окисления парацетамола с использованием свободных клеток родококков принимает значение

$$k_1 = \frac{-6,21 - (-7,18)}{5} = 0,194 \text{ сутки}^{-1}.$$

Уравнение (3) с учетом полученного значения константы скорости реакции и начальной концентрации $x_0 = 2 \cdot 10^{-3}$ г/мл принимает вид

$$x = 0,002 e^{-0,194t}, \quad (4)$$

где x в г/мл, t в сутках.

График зависимости (4) с экспериментальными точками приведен на рис. 2.

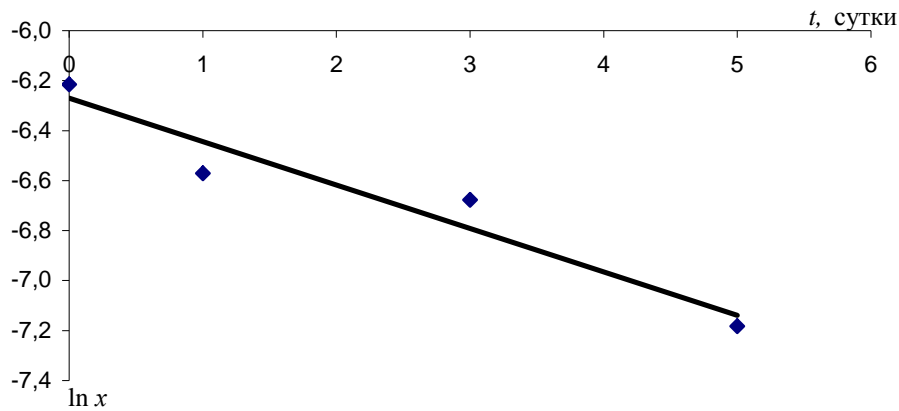


Рис. 1. Логарифмическая зависимость концентрации парацетамола от времени биодеструкции свободными клетками родококков, \blacklozenge – данные, полученные в результате проведенных экспериментов

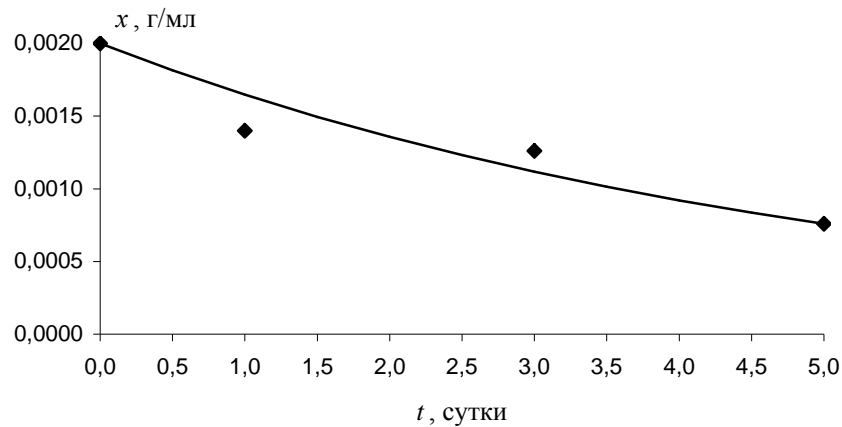


Рис. 2. Зависимость концентрации парацетамола от продолжительности процесса биодеструкции свободными клетками родококков, \blacklozenge – данные, полученные в результате проведенных экспериментов

Как видно из рис. 2, погрешность кинетического уравнения (4) по отношению к экспериментальным данным является удовлетворительной.

Далее рассматривается другой вариант математической модели процесса биодеструкции парацетамола.

Согласно полученной экспериментальным путем схеме биодеструкции парацетамола (рис. 3), его первичным метаболитом является *n*-аминофенол (*n*-АФ).

Как видно из рис. 4, содержание *n*-АФ увеличивается в первые - третьи сутки эксперимента, а затем резко падает по мере активного разложения *n*-АФ в результате каталитического воздействия родококков.

При этом можно предположить, что скорость распада парацетамола прямо пропорциональна его концентрации и обратно пропорциональна концентрации *n*-АФ и других метаболитов. Тогда кинетическое уравнение процесса биодеструкции парацетамола примет вид

$$\frac{dx}{dt} = -k_2 \frac{x}{y} = -k_2 \frac{x}{x_0 - x}, \quad (5)$$

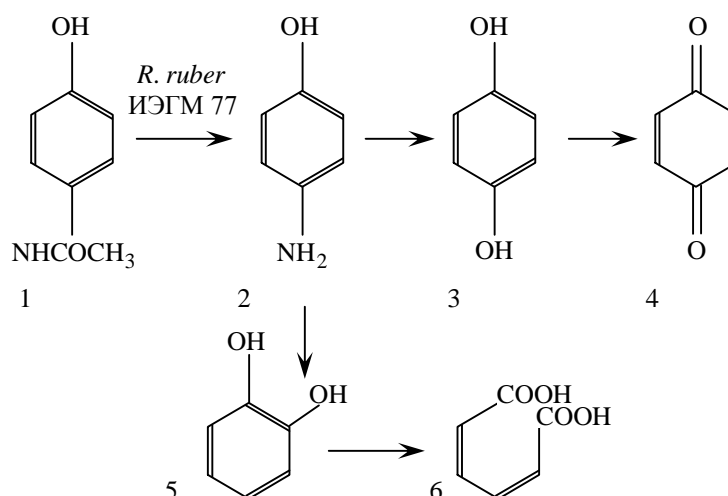


Рис. 3. Схема биодеструкции парацетамола: парацетамол (1), *n*-аминофенол (2), гидрохинон (3), бензохинон (4), пирокатехин (5), муконовая кислота (6)

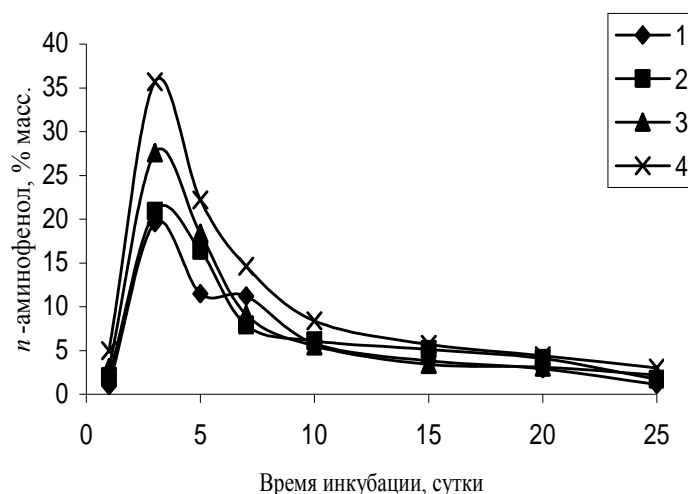


Рис. 4. Содержание *n*-аминофенола в процессе биодеградации парацетамола в виде субстанции (2, 4) и таблеток (1, 3) *R. ruber* ИЭГМ 77 (3, 4) и *R. erythropolis* ИЭГМ 767 (1, 2)

где $y = x_0 - x$ – концентрация *n*-АФ и других метаболитов, равная разности значений начальной и текущей концентрации парацетамола (согласно закону сохранения массы).

При этом можно предположить, что скорость распада парацетамола прямо пропорциональна его концентрации и обратно пропорциональна концентрации *n*-АФ и других метаболитов. Тогда кинетическое уравнение процесса биодеструкции парацетамола примет вид

$$\frac{dx}{dt} = -k_2 \frac{x}{y} = -k_2 \frac{x}{x_0 - x}, \quad (5)$$

где $y = x_0 - x$ – концентрация *n*-АФ и других метаболитов, равная разности значений начальной и текущей концентрации парацетамола (согласно закону сохранения массы).

Разделив переменные и интегрируя уравнение (5), получим зависимость

$$x_0 \ln \frac{x}{x_0} - x + x_0 = -k_2 t . \quad (6)$$

Явную зависимость $x(t)$ из (6) получить не представляется возможным, поэтому для построения кинетических кривых процесса биодеструкции парацетамола выразим $\frac{k_2 t}{x_0}$:

$$\frac{k_2 t}{x_0} = -\ln \frac{x}{x_0} + \frac{x}{x_0} - 1 . \quad (7)$$

Коэффициент k_2 определяется экспериментально. В табл. 1 приведены данные по изучению динамики биокаталитического окисления парацетамола свободными клетками родококков.

С помощью уравнения (7) по данным, приведенным в табл. 1, находим значение k_2 для каждой экспериментальной точки (табл. 1). В качестве k_2 предполагается взять среднее арифметическое значение: $k_2 = 0,000105$ г / (мл·сутки).

График зависимости (7) с экспериментальными точками представлен на рис. 5. Как видно из рис. 5, кинетическое уравнение (7) достаточно адекватно описывает процесс биодеструкции парацетамола с учетом остаточного содержания первичного метаболита *n*-АФ и других метаболитов.

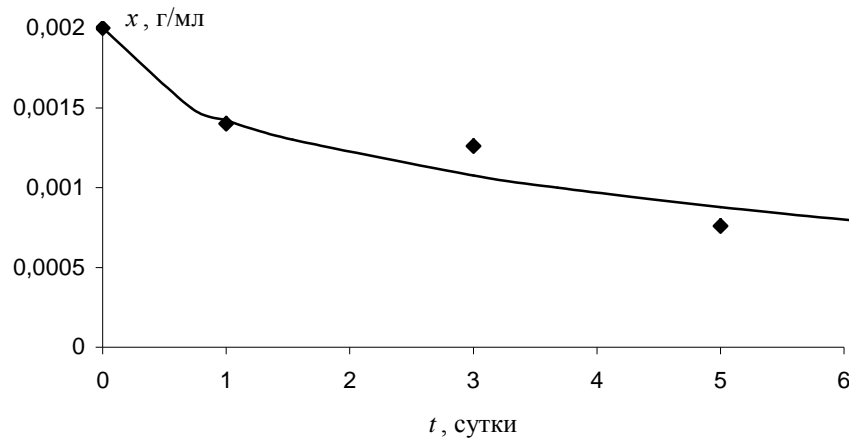


Рис. 5. Зависимость концентрации парацетамола от продолжительности процесса биодеструкции свободными клетками родококков с учетом остаточного содержания *n*-АФ и других метаболитов, \blacklozenge – данные, полученные в результате проведенных экспериментов

Таблица 1

Динамика процесса биодеструкции парацетамола и значения коэффициента k_2

t , сутки	x , г/мл	k_2 , г/(мл·сутки)
0	0,00200	–
1	0,00140	0,000113
3	0,00126	0,000061
5	0,00076	0,000139

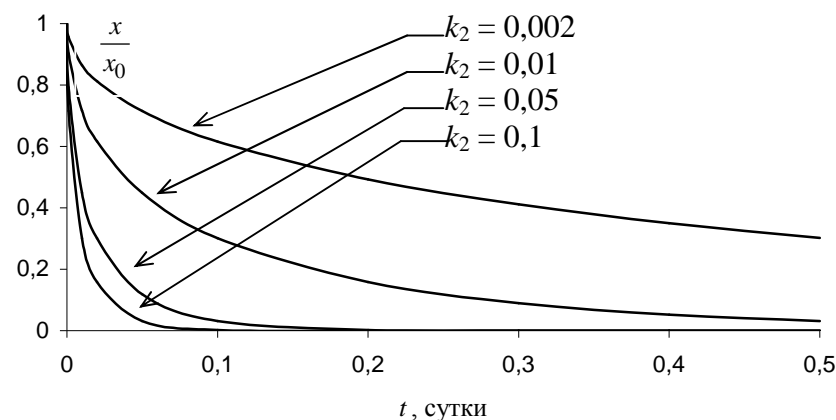


Рис. 6. Влияние коэффициента k_2 на зависимость относительного содержания парацетамола от продолжительности процесса биодеструкции

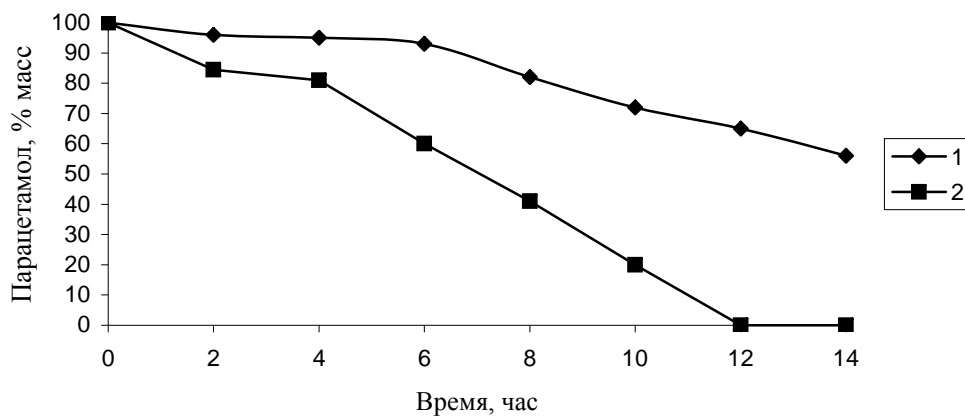


Рис. 7. Динамика убыли парацетамола с помощью иммобилизованных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 767: 1 – адаптированными к фенолу; 2 – адаптированными к *n*-гексадекану (согласно эксперименту)

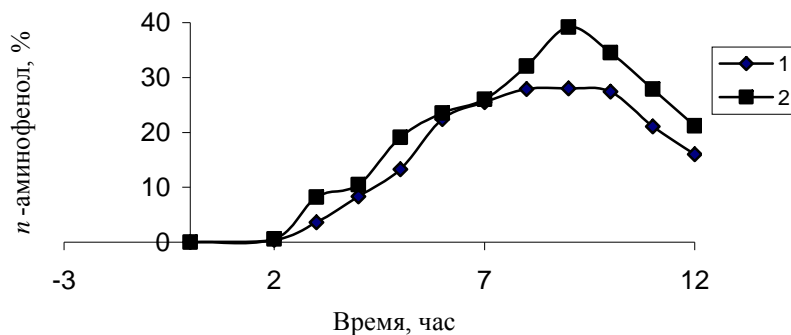


Рис. 8. Динамика изменения содержания *n*-аминофенола в процессе биодеструкции парацетамола в виде субстанции (1) и таблеток (2) с помощью иммобилизованных клеток *R. erythropolis* ИЭГМ 767

Представляет интерес изучить также влияние коэффициента k_2 на вид графиков зависимости (7). Для этого запишем уравнение (7) в следующем виде

$$t = \frac{x_0}{k_2} \left[\frac{x}{x_0} - \left(1 + \ln \frac{x}{x_0} \right) \right], \quad \frac{x}{x_0} \in (0; 1]. \quad (8)$$

При $x_0 = 0,002$ г/мл варьирование коэффициента $k_2 \in [0,002; 0,1]$ приводит к зависимостям (8), показанным на рис. 6.

Как видно из рис. 6, при малых значениях k_2 кривая деструкции парацетамола является пологой (см. также рис. 5), напоминающей экспоненту. Увеличение коэффициента k_2 приводит к быстрому уменьшению относительной концентрации $\frac{x}{x_0}$.

Кривые практически «упираются» в ось Ot , особенно с увеличением коэффициента k_2 , что позволяет описать с помощью кинетического уравнения (7) интенсивные процессы деструкции, протекающие до полного разложения вещества за более короткий промежуток времени. Как следует из рис. 7 и 8, полученных экспериментально, процесс биодеструкции парацетамола может быть интенсифицирован существенно (с 5 суток до 12 ч) за счет использования иммобилизованных клеток родококков.

После определения зависимости коэффициентов скорости реакции от технологических параметров (скорости перемешивания культуральной жидкости, температуры и пр.) полученные кинетические уравнения (4) и (7) можно непосредственно использовать для конструирования оборудования и оптимизации процесса биодеструкции парацетамола.

Заключение

Разработана кинетическая схема процесса биодеструкции парацетамола с истекшим сроком годности на основе использования клеток родококков. Даны кинетические уравнения и значения констант скорости реакции биокаталитического окисления парацетамола. Проведена теоретическая оценка основных кинетических параметров и продолжительности процесса биодеструкции парацетамола, совпадающая с данными экспериментальных исследований.

Благодарности

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 04-04-96057.

Список литературы

1. Приказ МЗ РФ № 382 от 15.12.2002 г. «Об утверждении Инструкции о порядке уничтожения лекарственных средств».
2. *Ившина, И.Б.* Деградация парацетамола с истекшим сроком годности свободными клетками актинобактерий / И.Б. Ившина, М.И. Рычкова, Е.В. Вихарева, Л.А. Чекрышкина, И.И. Мишенина // Катализ в промышленности. – 2006. – № 2. – С. 44–49.
3. *Ившина, И.Б.* Алканотрофные родококки как катализаторы процесса биодеструкции не пригодных к использованию лекарственных средств / И.Б. Ившина, М.И. Рычкова, Е.В. Вихарева,

Л.А. Чекрышкина, И.И. Мишенина // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – № 4. – С. 443–447.

KINETIC FLOW DIAGRAM OF EXPIRED PARACETAMOL BIODEGRADATION

E.V. Vikhareva, A.A. Selyaninov, Y.I. Nyashin, I.B. Ivshina (Perm, Russia)

Kinetic flow diagram of expired paracetamol biodegradation using rhodococci cells was developed. Kinetic equation and reaction rate constants of biocatalytic paracetamol oxidation were also suggested. The kinetic equation data were consistent with the results obtained in paracetamol biodegradation experimental studies under different conditions.

Key words: paracetamol, biological degradation, rhodococci, kinetic equation, constant of reaction rate.

Получено 1 июля 2006