

С.А. Петрова, А.А. Селянинов
S.A. Petrova, A.A. Selyaninov

Пермский национальный исследовательский политехнический университет
Perm National Research Polytechnic University

**ПРИМЕНЕНИЕ КИНЕТИЧЕСКИХ УРАВНЕНИЙ
ПРИ АНАЛИЗЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ
ДРОТАВЕРИНА ГИДРОХЛОРИДА**

**APPLICATION OF KINETIC EQUATIONS
IN THE ANALYSIS OF BIOLOGICAL DESTRUCTION
OF THE DROTAVERINE HYDROCHLORIDE**

Рассматривается кинетический подход и кинетическая модель в биодеструкции. Решена краевая задача, связанная с кинетическим уравнением. Для реализации процесса биодеструкции клеток в промышленных условиях была построена схема биореактора с заданными геометрическими характеристиками и уравнениями гидродинамики с граничными условиями. Исследовано 12 опытов на повторяемость биологической деструкции дротаверина гидрохлорида. Для них построены кинетические кривые с различными коэффициентами в кинетическом уравнении.

The kinetic approach and the kinetic model of biodegradation are studied. Boundary value problem associated with the kinetic equation is solved. To implement the biodegradation process of cells in an industrial environment has been constructed with the given diagram of the bioreactor and the geometric characteristics of the hydrodynamic equations with boundary conditions. 12 experiments were carried to investigate repeatability of the drotaverine hydrochloride biodegradation. For them, the kinetic curves constructed with different coefficients in the kinetic equation.

Ключевые слова: утилизация лекарственных средств, биологическая деструкция, дротаверина гидрохлорид, кинетическое моделирование, случайный процесс.

Keywords: medicines recycle, biological degradation, drotaverine hydrochloride, kinetic modeling, random process.

Разработан целый класс кинетически моделируемых биомеханических случайных процессов [1]. Эти процессы моделируются кинетическими уравнениями первого порядка. К таким процессам относятся процессы биологической деструкции лекарственных средств, математическое моделирование и биомеханический подход к описанию развития, диагностики и лечения онкологических заболеваний [2], процесс перемещения зубов в ортодонтическом аппарате, восстановления слуха в послеоперационный период.

Кинетические уравнения при возможности мониторинга параметров позволяют прогнозировать различные биомеханические процессы, в результате чего, например, становится возможным поставить диагноз на более раннем сроке, а также спланировать лечение конкретного пациента.

Кинетические уравнения с определенной скоростью реакции позволяют описать ряд процессов, в частности биологическую деструкцию. Биодеструкция (биоразрушение) – это превращение сложных веществ с помощью биологической активности [3]. Это широкое понятие включает в себя три момента:

- 1) трансформацию, или незначительные изменения молекулы;
- 2) фрагментацию, или разложение сложной молекулы на более простые соединения;
- 3) минерализацию, или превращение сложного вещества в самые простые (H_2O , CO_2 , H_2 , NH_3 , CH_4 и т.д.).

Механизм действия бактерий следующий: в шейкер с раствором дротаверина гидрохлорида помещают актинобактерии рода *Rhodococcus*. Бактерии захватывают молекулы лекарственного средства из культуральной жидкости и с выработкой ферментов способствуют разложению дротаверина гидрохлорида. Результатом этой реакции являются простые экологически безопасные составляющие.

Эксперимент проводят в лабораторных условиях в шейкере, который устанавливают на плиту. Плита совершает поступательное движение, при котором каждая точка движется по окружности. Таким образом равномерно по объему колбы перемешивается культуральная жидкость.

На рис. 1 приведена схема, отражающая движение колоний актинобактерий в колбе. Колония будет совершать сложное движение, таким образом, к актинобактериям будет постоянно поступать лекарственное средство. В этом заключается биомеханическая составляющая процесса биодеструкции клеток актинобактерий рода *Rhodococcus*.

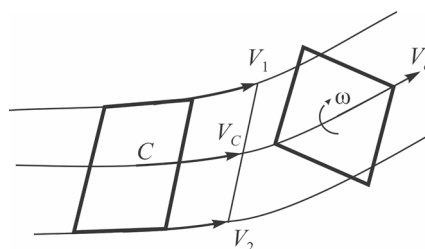


Рис. 1. Движение тела в слоях жидкости

Важен переход от лабораторных исследований к промышленной утилизации в большом объеме и с большой неравномерностью по объему как по скорости движения культуральной жидкости, так и по концентрации утилизируемого лекарственного средства.

Кинетическая модель биодеструкции. Идеи кинетического моделирования относятся к области химической кинетики.

Одной из задач, стоящих перед химической кинетикой, является определение состава реакционной смеси, т.е. концентраций всех реагентов, в любой момент времени, для чего необходимо знать зависимость скорости реакции от концентраций. В общем случае, чем больше концентрация реагирующих веществ, тем больше скорость химической реакции [4]. В основе химической кинетики лежит основной постулат химической кинетики: скорость химической реакции прямо пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ, взятых в некоторых степенях [5]:

$$V = k \cdot C_A^x \cdot C_B^y \cdot C_D^z \dots$$

Кинетические уравнения в химии зависят только от условий процесса. Реакции первого порядка характеризуются кинетическим уравнением вида

$$V = k_1 C_A. \quad (1)$$

Подставим в него выражение $V_{\text{ист}} = \pm \frac{dC}{dT}$, тогда

$$V = k_1 C_A = -\frac{dC}{dt}.$$

Еще одной кинетической характеристикой реакции является период полупревращения $t_{1/2}$ – время, за которое концентрация исходного вещества уменьшается вдвое по сравнению с исходной [6]. Выразим $t_{1/2}$ для реакции первого порядка, учитывая, что $C = 1/2 C_0$:

$$\ln\left(\frac{1}{2} C_0\right) = \ln C_0 - k_1 t,$$

отсюда

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_1}.$$

Как следует из полученного выражения, период полупревращения реакции первого порядка не зависит от начальной концентрации исходного вещества.

Сравним кинетический подход в биомеханике и химии на основе кинетической схемы процесса биодеструкции одного из лекарственных средств – парацетамола. При биодеструкции парацетамола справедливо кинетическое уравнение первого порядка [7–9].

Для экстенсивных процессов

$$\frac{dx}{dt} = -k(t)x, \quad (2)$$

где $k(t) = at + b$, $x|_{t=0} = x_0$, где x_0 – начальная концентрация субстрата.

Пример экстенсивного процесса биодеструкции приведен на рис. 2. Интегрируя, получаем

$$x = x_0 e^{-\left(b + \frac{a}{2}\right)t}$$

Параметры кинетического уравнения a и b определяются на основании экспериментальных данных по процессу [8].

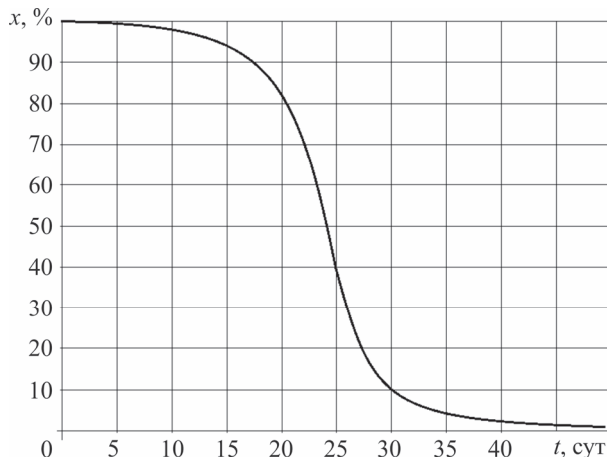


Рис. 2. Экстенсивный процесс биологической деструкции

Экстенсивный процесс характеризуется слабым уменьшением концентрации утилизируемого лекарственного средства в начальный период из-за адаптации актинобактерий в культуральной жидкости. Затем скорость процесса нарастает с дальнейшим уменьшением до нуля.

Для интенсивных процессов: $a = 0$, т.е. [7]. На рис. 3 отражен вариант прохождения интенсивного процесса.

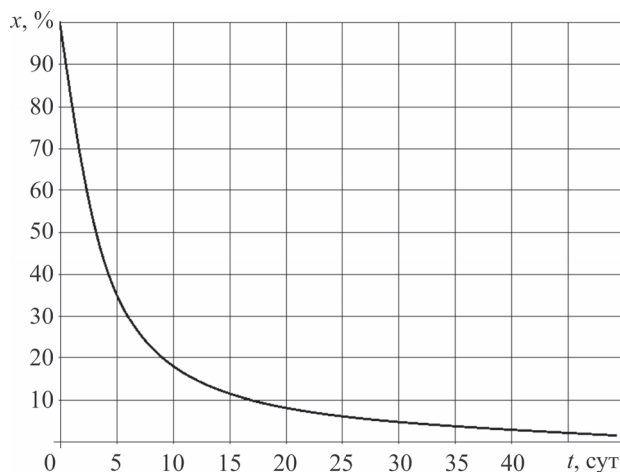


Рис. 3. Интенсивный процесс биологической деструкции

Интенсивные процессы характеризуются максимальной скоростью в начале биодеструкции с постепенным уменьшением до нуля.

Краевая задача, связанная с кинетическим уравнением. Краевая задача может определять параметры кинетического уравнения, и наоборот, параметры кинетического уравнения могут определять параметры краевой задачи, в частности граничные условия.

Рассмотрим связь краевой задачи с кинетическим уравнением на примере задачи Стефана. Фазовый переход может быть связан с кристаллизацией жидкости при ее охлаждении. В этом случае задачу обычно называют задачей о промерзании, имея в виду, что процесс замерзания воды при ее охлаждении относится к процессам такого класса. Рассмотрим постановку этой задачи, представленную Мартисоном и Маловым [10]. Расчетная схема приведена на рис. 4.

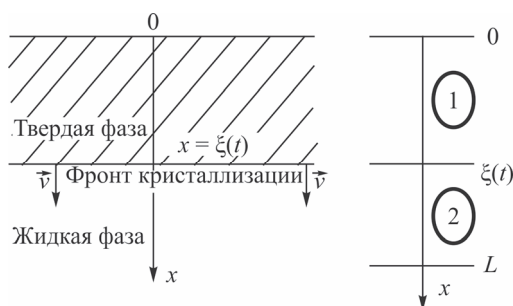


Рис. 4. Область решения задачи

Теплота фазового перехода, выделяющаяся при кристаллизации жидкости, отводится вследствие теплопроводности твердой фазы через граничную поверхность $x = 0$ [10].

Явно выделяя движущийся фронт кристаллизации, обозначим индексом 1 величины, относящиеся к твердой фазе, а индексом 2 – к жидкой фазе. Считая, что свойства среды при фазовом переходе изменяются скачком, запишем уравнение теплопроводности для двух фаз:

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} = a_1^2 \frac{\partial^2 u_1}{\partial x^2}, t > 0, 0 < x < \xi(t), \quad (3)$$

$$\frac{\partial u_2}{\partial t} = a_2^2 \frac{\partial^2 u_2}{\partial x^2}, t > 0, \xi(t) < x < \infty, \quad (4)$$

где a_1^2 и a_2^2 – коэффициенты теплопроводности твердой и жидкой фаз соответственно.

Учитывая, что в начальный момент времени существует только жидкая фаза, начальное условие для задачи запишем в виде

$$u_2(x, 0) = u_0 = \text{const}, x > 0. \quad (5)$$

Краевые условия задачи сформулируем следующим образом:

– на границах области

$$u_1 = u_c = \text{const} < 0 \text{ при } x = 0, \quad (6)$$

$$u_2 \rightarrow u_0 = \text{const} > 0 \text{ при } x \rightarrow \infty; \quad (7)$$

– на фронте фазового перехода

$$u_1|_{x=\xi-0} = u_2|_{x=\xi+0} = 0, \quad (8)$$

$$k_1 \frac{\partial u_1}{\partial x} \Big|_{x=\xi-0} - k_2 \frac{\partial u_2}{\partial x} \Big|_{x=\xi+0} = \rho_1 q^* \frac{\partial \xi}{\partial t},$$

где q^* – скрытая теплота кристаллизации, отнесенная к единице массы твердой фазы [10].

С помощью автомодельной переменной $\eta = \frac{x}{\sqrt{t}}$ (преобразование Больцмана) приведем уравнения (3) и (4) к обыкновенным дифференциальным уравнениям для функции $u_1(\eta)$ и $u_2(\eta)$:

$$\frac{1}{2} \eta \frac{du_i}{d\eta} + a_i^2 \frac{d^2 u_i}{d\eta^2} = 0, \quad i = 1, 2. \quad (9)$$

Полагая $w_i = \frac{du_i}{d\eta}$, запишем уравнение (9) в виде

$$\frac{1}{w_i} \frac{dw_i}{d\eta} = -\frac{1}{2a_i^2} \eta. \quad (10)$$

Интегрируя выражение (10), получаем

$$w_i(\eta) = \tilde{B}_i \exp\left(-\frac{\eta^2}{4a_i^2}\right), \quad \tilde{B}_i = \text{const.}$$

Интегрируя (1) еще один раз, находим общее решение уравнений (9) для $i = 1$ и $i = 2$:

$$u_i(\eta) = A_i + \tilde{B}_i \int_0^\eta \exp\left(-\frac{\xi^2}{4a_i^2}\right) d\xi = A_i + B_i \Phi\left(\frac{\eta}{2a_i}\right),$$

где $\Phi(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z e^{-\xi^2} d\xi$, $A_i, B_i = \text{const.}$

Функцию $\Phi(z) = \text{erf}(z)$ называют интегралом ошибок (функцией ошибок) [10]. Она часто встречается в задачах математической физики и поэтому затабулирована, как и ее производные и интеграл от нее.

Возвращаясь к переменным x и t , запишем найденные решения уравнений (3) и (4) в виде

$$u_1(x, t) = A_1 + B_1 \Phi\left(\frac{x}{2a_1\sqrt{t}}\right), \quad t > 0, \quad 0 < x < \xi(t),$$

$$u_2(x, t) = A_2 + B_2 \Phi\left(\frac{x}{2a_2\sqrt{t}}\right), \quad t > 0, \quad \xi(t) < x < \infty.$$

Выполняя далее граничные условия (6) и (7), находим

$$A_1 = u_c, \quad A_2 + B_2 = u_0,$$

где u_c – температура твердой фазы; u_0 – температура жидкой фазы.

При этом замечаем, что начальное условие (4) также будет выполнено [8].

Из условия (8) на фронте фазового перехода, т.е. при $x = \xi(t)$, следует, что

$$A_1 + B_1 \Phi\left(\frac{\xi(t)}{2a_1\sqrt{t}}\right) = 0, \quad A_2 + B_2 \Phi\left(\frac{\xi(t)}{2a_2\sqrt{t}}\right) = 0.$$

Каждое из этих уравнений может быть выполнено для любого $t > 0$ только в этом случае, если аргументы функции $\Phi(z)$ в этих равенствах не зависят от времени. Это возможно, если $\frac{\xi(t)}{\sqrt{t}} = \alpha = \text{const}$.

В результате решения можно определить движение фронта кристаллизации, где x определяет положение фронта:

$$x = \xi(t) = \alpha\sqrt{t}.$$

Для определения скорости движения фронта эта задача решена. В результате кинетическая зависимость имеет вид

$$v = \frac{d\xi}{dt} = \frac{\alpha}{2\sqrt{t}}.$$

Скорость уменьшается со временем, т.е. по мере утолщения слоя твердой фазы [10].

На основе численного решения и его аппроксимации для фронта получен параметр $\alpha = 4,035 \text{ м/с}^{0,5}$ для условия данной задачи.

Оказалось, что если знать заранее кинетическое уравнение, то задача решается намного проще. В этом случае отсутствует внутренняя процедура итерации. Таким образом, использование кинетического уравнения в краевой задаче позволяет элегантно и точно решить задачу о фронте затвердевания.

При эксперименте по биологической деструкции лекарственного средства условия перемешивания в колбе практически одинаковы по объему культуральной жидкости, поэтому кинетическое уравнение для концентрации лекарственного средства связано с гидродинамикой жидкости в колбе одним параметром – интенсивностью перемешивания, от которого зависит скорость

биологической деструкции. В промышленных условиях определенный объем культуральной жидкости переходит из областей высокой интенсивности перемешивания в области низкой интенсивности и наоборот. Для перехода от анализа биодеструкции в лабораторных условиях к биодеструкции в промышленных условиях необходимо кинетику биодеструкции в переменных условиях связать с движением жидкости.

Биологическая деструкция в промышленных условиях. Для реализации процесса биодеструкции с актинобактериями рода *Rhodococcus* в промышленных условиях была построена расчетная область биореактора с заданными геометрическими характеристиками (рис. 5). Поверхность емкости с культуральной жидкостью закрывается крышкой, над которой находится электродвигатель малой мощности. Электродвигатель ЭД вращает мешалку, и тем самым перемешивается вся культуральная жидкость.

Для решения этой задачи использована схема с границами (рис. 6).

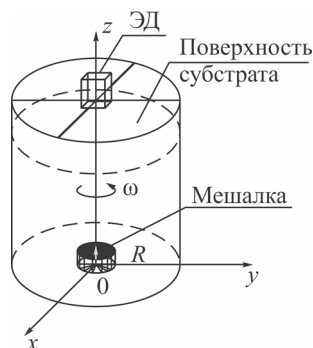


Рис. 5. Расчетная область биореактора

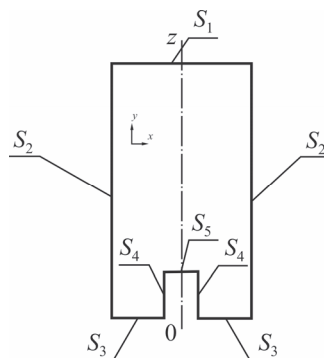


Рис. 6. Схема границ биореактора

Для определения поля скоростей в биореакторе необходимо поставить задачу течения жидкости. Для этого воспользуемся уравнениями гидродинамики [12]:

- уравнение движения $\frac{\partial v}{\partial t} + (v \nabla) v = -\frac{1}{\rho} \text{grad} p + \frac{\eta}{\rho} \Delta v$;
- определяющее соотношение $\tilde{\sigma} = -p \tilde{I} + \eta \xi$;
- уравнение несжимаемости $\text{div} v = 0$;
- геометрическое соотношение Коши $\xi = \frac{1}{2} \dot{\gamma} = \frac{1}{2} (\overline{v u} + u \overline{v})$.

Граничные условия имеют вид (см. рис. 6):

- на свободной поверхности S_1 : $\tilde{\sigma} \cdot \bar{n} = \bar{p}$, $p_i = 0$, $i = x, y, z$;
- на боковой поверхности S_1 : $\tilde{\sigma} \cdot \bar{n} = \hat{T}$, $v_i = 0$, $i = \overline{1,3}$;

- на дне S_3 : $v_i = 0, i = \overline{1,3}$;
- на боковой поверхности мешалки S_4 : $v_z = 0, v_r = 0, v_\varphi = \hat{v}$;
- на торце мешалки S_5 : $v_z = 0, v_r = 0, v_\varphi = \frac{\hat{v}}{R_M} r$,

где \hat{v} – окружная скорость на поверхности мешалки; R_M – радиус мешалки; r – текущий радиус на торце мешалки.

Пока не определена связь между кинетическим уравнением (2) и краевой задачей. Эта связь должна быть заложена в зависимость $k(v)$ и $k(w)$, в частности от $\text{grad}v$ в поперечном направлении к линиям тока.

Реализации биодеструкции в лабораторных условиях при эксперименте на повторяемость идут по различным траекториям, т.е. процесс биодеструкции представляет собой случайный процесс. Следовательно, говорить о промышленной биодеструкции необходимо с учетом стохастического анализа.

Таким образом, необходимо проведение специальной серии экспериментов по влиянию на биодеструкцию скорости перемешивания, а также на повторяемость биодеструкции в лабораторных условиях. Исследовалась кинетика биодеструкции при изменении скорости. В кинетическом уравнении должна быть заложена зависимость k от интенсивности перемешивания ω . Это является первым аспектом.

Вторым аспектом является случайность процесса. Необходимо оценить с позиции теории вероятности гарантию утилизации в биореакторе с заданной вероятностью.

В таблице приведены результаты 12 опытов на повторяемость биологической деструкции дротаверина гидрохлорида, проведенных в Институте экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. В начальный момент (0 сут) концентрация во всех случаях составляет 100 %.

Повторяемость биологической деструкции дротаверина гидрохлорида
(эксперимент от 14.02.14 г.)

| Номер опыта | 5 сут | 10 сут | $k_1(0; 5),$ сут ⁻¹ | $k_2(0; 10),$ сут ⁻¹ | $k_{\text{ср}},$ сут ⁻¹ |
|-------------|-------|--------|-----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 39,46 | 8,24 | 0,19 | 0,25 | 0,22 |
| 2 | 43,14 | 5,49 | 0,17 | 0,29 | 0,23 |
| 3 | 35,82 | 9,89 | 0,21 | 0,23 | 0,22 |
| 4 | 40,21 | 10,99 | 0,18 | 0,22 | 0,20 |
| 5 | 42,53 | 3,30 | 0,17 | 0,34 | 0,26 |
| 6 | 58,51 | 11,54 | 0,12 | 0,22 | 0,16 |
| 7 | 33,25 | 10,44 | 0,22 | 0,23 | 0,22 |
| 8 | 21,39 | 1,10 | 0,31 | 0,45 | 0,38 |
| 9 | 64,18 | 5,49 | 0,09 | 0,29 | 0,19 |
| 10 | 50,20 | ≈ 0 | 0,14 | ∞ | – |
| 11 | 83,51 | 2,25 | 0,04 | 0,38 | 0,21 |
| 12 | 80,41 | 5,49 | 0,04 | 0,29 | 0,17 |

В ходе эксперимента показания снимались на 5-е и 10-е сутки. Для этих показаний рассчитаны константы реакций, с помощью различной методики.

На рис. 7–9 приведены кинетические кривые биологической деструкции дротаверина гидрохлорида, полученные в эксперименте на повторяемость с различными коэффициентами в кинетическом уравнении (2).

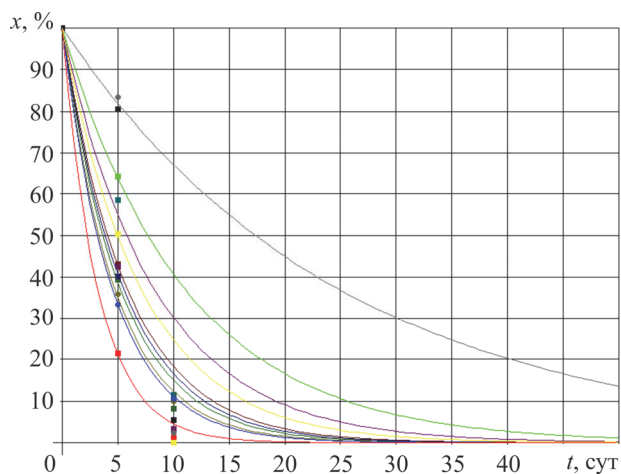


Рис. 7. Процесс биологической деструкции дротаверина гидрохлорида: $x = x_0 \cdot e^{-k_1 t}$, кинетические кривые с коэффициентом k_1 , определенным по данным на 5-е сутки эксперимента

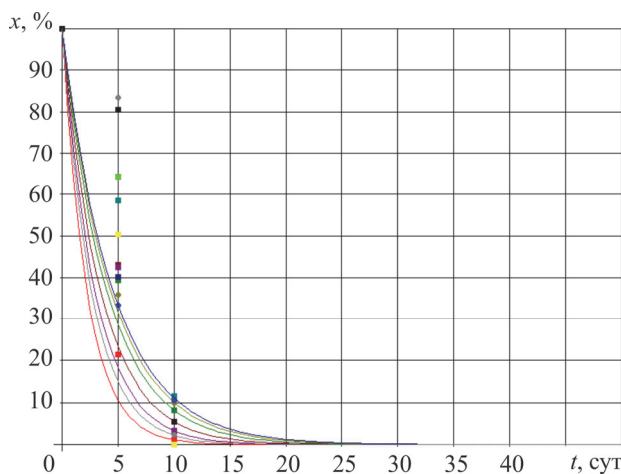


Рис. 8. Процесс биологической деструкции дротаверина гидрохлорида: $x = x_0 \cdot e^{-k_2 t}$, кинетические кривые с коэффициентом k_2 , определенным по данным на 10-е сутки эксперимента

На рис. 9 приведены кинетические кривые по усредненным коэффициентам на 5-е и 10-е сутки эксперимента (см. таблицу).

Все кинетические кривые относятся к интенсивным процессам, которые характеризуются максимальной скоростью в начале процесса с постепенным уменьшением до нуля. При большем значении k биодеструкция идет быстрее. Кривые на рис. 9 дают наиболее адекватную эксперименту картину развития процесса биологической деструкции в сравнении с кривыми рис. 7, 8, т.е. следует использовать усредненное значение $k_{\text{ср}}$ параметра кинетического уравнения.

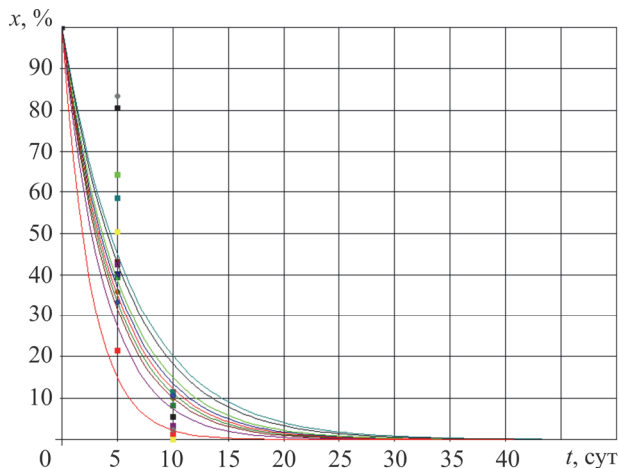


Рис. 9. Процесс биологической деструкции дротаверина гидрохлорида: $x = x_0 \cdot e^{-k \cdot t}$

Сделаем следующие выводы:

1. Поставлена связанная с кинетическим уравнением биологической деструкции краевая задача утилизации лекарственных средств в биореакторе.

2. Применение кинетического уравнения в совместной постановке с краевой задачей позволяет получить новый подход к решению (затвердевание жидкости) или более полную информацию о процессе (среднеинтегральная остаточная концентрация лекарственных средств в биореакторе в зависимости от времени процесса).

3. Произведен анализ кинетики биологической деструкции дротаверина гидрохлорида в эксперименте на повторяемость в лабораторных условиях. Исследована выборка из 12 реализаций, пригодная для стохастического анализа.

Список литературы

1. Селянинов А.А. Класс кинетически моделируемых биомеханических случайных процессов // Российский журнал биомеханики. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 22–35.

2. Кучумов А.Г. Математическое моделирование и биомеханический подход к описанию развития, диагностики и лечения онкологических заболеваний // Российский журнал биомеханики. – 2010. – Т. 14, № 4. – С. 42–69.
3. Селянинов А.А., Вихарева Е.В. Кинетика биодеструкции лекарственных средств – производных фенола, изохинолина и карбоновых кислот // Российский журнал биомеханики. – 2010. – Т. 14, № 2. – С. 79–91.
4. Новоженев В.А. Введение в неорганическую химию: учеб. пособие. Барнаул: Изд-во Алтайск. ун-та, 2001. – 650 с.
5. Березин И.В., Клесов А.А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. – 320 с.
6. Кабанова Л.Ф. Кинетика химических реакций: метод. указ. для лаборат.-практ. занятий и самостоятельной работы. – Новосибирск: Изд-во СГУПС, 2007. – 38 с.
7. Кинетическая схема процесса биодеструкции парацетамола с истекшим сроком годности / Е.В. Вихарева, А.А. Селянинов, Ю.И. Няшин, И.Б. Ившина // Российский журнал биомеханики. – 2006. – Т. 10, № 3. – С. 72–79.
8. Вихарева Е.В. Научно-методологический подход к утилизации фармацевтических отходов на основе биотехнологий и математического моделирования // Российский журнал биомеханики. – 2008. – Т. 12, № 3. – С. 15–23.
9. Математическая модель процесса биодеструкции парацетамола как открытой системы / Е.В. Вихарева, А.А. Селянинов, Ю.Л. Данилов, И.П. Рудакова, Т.А. Нечехина, И.Б. Ившина, Ю.И. Няшин // Российский журнал биомеханики. – 2008. – Т. 12, № 2. – С. 41–54.
10. Мартинсон Л.К., Малов Ю.И. Дифференциальные уравнения математической физики. – М.: Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2002. – 368 с.
11. Седов Л.И. Механика сплошной среды: в 2 т. – 6-е изд., стер. – СПб.: Лань, 2004. – Т. 1. – 528 с.

Получено 1.09.2014

Петрова Светлана Александровна – магистрант, ПНИПУ, ФПММ, гр. БМ-13-1м, e-mail: svetlana_bm@bk.ru.

Селянинов Александр Анатольевич – доктор технических наук, профессор, ПНИПУ, ФПММ, e-mail: Prof.Selyaninov@yandex.ru.