

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-47-56>
УДК 57.086.834



Оригинальная статья / Research article

Риск-ориентированный подход при получении и анализе свойств суспензионных культур клеток шлемника байкальского

А. А. Шмарова✉, Н. С. Пивоварова, О. Н. Абросимова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14А

✉ Контактное лицо: Шмарова Александра Артёмовна. E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

ORCID: А. А. Шмарова – <https://orcid.org/0000-0002-0191-7342>; Н. С. Пивоварова – <https://orcid.org/0000-0003-3020-8526>; О. Н. Абросимова – <https://orcid.org/0000-0002-0274-0139>.

Статья поступила: 07.06.2022

Статья принята в печать: 09.08.2022

Статья опубликована: 25.08.2022

Резюме

Введение. В условиях пандемии использование биологически активных компонентов шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) приобретает особое значение. Ценность растения становится причиной чрезмерной эксплуатации подземных органов шлемника, что приводит к сокращению ареала распространения популяции и ненадлежащих условий сбора и заготовки. Для предотвращения угрозы исчезновения вида перспективной технологией становится культивирование клеток растения в условиях *in vitro*. Благодаря этому появляются перспективы исследования физиологии и биохимии растительных клеток, направленной регуляции синтеза ценных вторичных метаболитов и создания лекарственных средств без вмешательства в естественную среду обитания. Современные технологии открывают возможности автоматизации культивирования клеток с целью сведения к минимуму вмешательства человека на протекание процесса. Тем не менее, культивирование растительных клеток – вероятностный процесс, зависящий от ряда факторов. Использование инструментов риск-менеджмента позволит снизить число нежелательных последствий, приводящих к опасным и критическим состояниям клеточных культур.

Цель. Анализ рисков, возникающих при культивировании *in vitro* шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi).

Материалы и методы. Объект исследования – суспензионные культуры *Scutellaria baicalensis*, полученные из рыхлых каллусов растения. Выращивание суспензий клеток шлемника проводили в плоскодонных конических колбах объемом 250 мл в условиях постоянного перемешивания на шейкере (скорость вращения 100 об/мин). Цикл субкультивирования составляет 21 сутки. Для микроскопии клеточной биомассы использовали прижизненный краситель 0,1 % нейтральный красный (НК) и 0,025 % раствор Эванса голубого (ЭГ). Оценку рисков процесса проводили с помощью диаграммы причинно-следственных связей (диаграммы Исикавы).

Результаты и обсуждение. Установлено, что для клеток в суспензионных культурах шлемника характерна вытянутая овальная форма. Первичные суспензии характеризовались наличием клеток преимущественно паренхимного типа ($70 \pm 2,0$ %). Для первичных суспензий характерна крупная агрегированность. Диаметр агрегатов достигал порядка 8–15 мм. Отмечена зависимость ростовых свойств суспензии шлемника байкальского от плотности инокулята. При уменьшении количества пересаживаемой биомассы клетки проявляли склонность к деструкции. Полученные результаты обозначили необходимость анализа рисков лабораторной технологии суспензионного культивирования шлемника байкальского. Выделено пять наиболее значимых факторов при культивировании растительных клеток: качество каллуса, качество приготовленной жидкой питательной среды, исправность и пригодность оборудования, действия оператора и пригодность технологии получения клеточных культур и отбора проб для анализа показателей жизнеспособности биомассы.

Заключение. Предложен алгоритм анализа защищенности суспензионной культуры шлемника байкальского. На основании оценки рисков можно сделать вывод о вероятности нежелательных последствий и их влиянии на процесс. Инструментарий риск-менеджмента создает основу для модернизации существующей технологии и автоматического оснащения процесса.

Ключевые слова: шлемник байкальский, культивирование растительных клеток, суспензионная культура, анализ рисков, критические точки

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Н. С. Пивоварова осуществила постановку задачи. А. А. Шмарова выполнила эксперимент, обработку полученных данных. А. А. Шмарова, Н. С. Пивоварова, О. Н. Абросимова обсудили результаты и написали текст статьи.

Финансирование. Результаты работы получены с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России» в рамках соглашения № 075-15-2021-685 от 26 июля 2021 года при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Для цитирования: Шмарова А. А., Пивоварова Н. С., Абросимова О. Н. Риск-ориентированный подход при получении и анализе свойств суспензионных культур клеток шлемника байкальского. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):47–56. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-47-56>

Risk-based Approach in Obtaining and Analysing the Characteristics of Baikal Skullcap Suspension Cultures

Alexandra A. Shmarova✉, Nadezhda S. Pivovarova, Olesya N. Abrosimova

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

✉ Corresponding author: Alexandra A. Shmarova. E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

© Шмарова А. А., Пивоварова Н. С., Абросимова О. Н., 2022

© Shmarova A. A., Pivovarova N. S., Abrosimova O. N., 2022

ORCID: Alexandra A. Shmarova – <https://orcid.org/0000-0002-0191-7342>; Nadezhda S. Pivovarova – <https://orcid.org/0000-0003-3020-8526>;
Olesya N. Abrosimova – <https://orcid.org/0000-0002-0274-0139>.

Received: 07.06.2022 Revised: 09.08.2022 Published: 25.08.2022

Abstract

Introduction. The use of biologically active compounds of Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) becomes especially important under pandemic conditions. The plant's value becomes the cause of overexploitation of the skullcap subterranean parts, which leads to the reduction of the population distribution range and inappropriate conditions of collection and harvesting. To prevent the extinction hazard of the species, in vitro cultivation of the plant's cells becomes a promising technology. This opens up the prospect of studying the physiology and biochemistry of plant cells, regulating the direction of valuable secondary metabolites synthesis and creating medicines without interfering with the natural habitat. Modern technologies provide opportunities to automate cell cultivation in order to minimize human involvement in the process. However, cultivation of plant cells is a probabilistic process that is influenced by a range of factors. The use of risk management tools will reduce the number of unintended consequences leading to dangerous and critical cell culture conditions.

Aim. Risk analysis resulting from in vitro cultivation of Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi).

Materials and methods. The object of the study was suspension cultures of *Scutellaria baicalensis* obtained from loose plant callus. Suspensions of *Scutellaria baicalensis* cells were grown in 250 ml flat-bottomed conical flasks under conditions of constant mixing on a shaker (rotation speed 100 rpm). The subculture cycle was 21 days. For microscopy of cell biomass, we used 0.1 % neutral red (NK) and 0,025 % Evans blue (EG) solution. Process risks were assessed using a cause-and-effect diagram (Ishikawa diagram).

Results and discussion. It was found that the cells in the suspension cultures of skullcap were characterized by an elongated oval shape. Primary suspensions were distinguished by the presence of predominantly parenchymal cells ($70 \pm 2,0$ %). A large aggregation was observed in the primary suspensions. The diameter of the aggregates reached about 8–15 mm. The growth properties of Baikal skullcap suspension depended on the density of the inoculum. As the amount of transplanted biomass decreased, cells showed a tendency to destruction. The results indicated the need for risk analysis of the laboratory technology of Baikal skullcap suspension cultivation. Five most important factors in plant cell cultivation were identified: callus quality, quality of prepared liquid nutrient medium, equipment serviceability and suitability, operator actions, and suitability of cell culture technology and biomass viability index sampling.

Conclusion. An algorithm for analyzing the security of a Baikal skullcap suspension culture is proposed. The risk assessment can be used to make a conclusion about the probability of undesirable effects and their impact on the process. Risk management tools provide the basis for modernization of the available technology and automatic outfitting of the process.

Keywords: baikal skullcap, plant cell culture, suspension culture, risk analysis, critical points

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Nadezhda S. Pivovarova carried out the formulation of the problem. Alexandra A. Shmarova performed the experiment, processing the data obtained. Alexandra A. Shmarova, Nadezhda S. Pivovarova, Olesya N. Abrosimova discussed the results and writing the text of the article.

Funding. The results of the work were obtained using the equipment of the CCP "Analytical Center of the Federal State Budgetary Educational Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation" under the agreement No. 075-15-2021-685 dated July 26, 2021 with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

For citation: Shmarova A. A., Pivovarova N. S., Abrosimova O. N. Risk-based approach in obtaining and analysing the characteristics of baikal skullcap suspension cultures. *Drug development & registration*. 2022;11(3):47–56. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-47-56>

ВВЕДЕНИЕ

В условиях пандемии Covid-19 одной из ключевых задач фармации становится поиск эффективных средств для профилактики, лечения, снижения риска осложнений тяжелой острой респираторно-вирусной инфекции и последующего восстановления организма человека после перенесенного заболевания [1–3]. В связи с этим, особое значение приобретают лекарственные растения, содержащие комплекс биологически активных веществ (БАВ) иммуномодулирующего и адаптогенного действия.

Одним из таких растений является шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis*). Подземные органы шлемника представляют ценность для создания лекарственных средств (ЛС). На сегодняшний день из разных частей шлемника выделено и идентифицировано порядка 40 соединений, в том числе флавонои-

ды, терпеноиды, летучие масла и полисахариды [4–6]. Экстракты на основе корней растения проявляют широкий спектр фармакологической активности, включая действие на нервную и иммунную систему, обладают выраженным противоопухолевым, антибактериальным, противовирусным и антиоксидантным эффектом [4, 8–10]. Исследования корейских ученых показали противовирусную активность скутелларина, выделенного из корней шлемника. В условиях *in vitro* этот флавоноид оказывает ингибирующее действие на фермент хеликазу, который отвечает за нормальное протекание клеточных процессов с участием молекул РНК и ДНК при развитии вируса SARS-CoV-2 [11, 12].

В поисках эффективного ЛС для лечения вирусных заболеваний в последние годы резко увеличился спрос на *S. baicalensis*. Неправильный сбор сырья, а также чрезмерная эксплуатация растения в естест-

венной среде обитания приводят к постепенному сокращению диких популяций шлемника [13].

Увеличение степени использования растительных ресурсов ставит под угрозу биоразнообразие флоры. Влияние антропогенного фактора, а также глобальное изменение климата сказывается на сокращении численности видов растений. Восстановление генофонда исчезающих биоресурсов традиционными методами *ex situ* длительно, трудоемко и экономически не целесообразно. Поэтому на сегодняшний день востребованным направлением становится создание культур растительных клеток. Культура *in vitro* – платформа для сохранения редких и исчезающих видов, не зависящая от внешних факторов: географических условий, климата и сезонных изменений. Культивирование клеток позволяет решать задачи генетики и селекции растительных клеток, получения ценных биологически активных веществ (БАВ) и создания технологии фитопрепаратов без нанесения вреда растениям в естественной среде обитания.

Обобщая вышеперечисленное, можно говорить о перспективности введения в культуру *in vitro* шлемника байкальского.

Однако, культивирование растительных клеток сопряжено с рядом рисков. По источнику возникновения риски классифицируются на эндогенные и экзогенные. К эндогенным (внешним) рискам относятся контаминация культуры микроорганизмами, физические и химические факторы: показатель pH, состав питательной среды, тип сосуда для культивирования, аэрация, скорость перемешивания (для суспензионных культур), действия оператора и пр. Экзогенные риски связаны с процессами, протекающими «внутри» клеток, например, случайная фенотипическая или генотипическая изменчивость.

Вероятность возникновения риска может стать причиной дальнейших потерь: количества и качества продукта на выходе. Для предотвращения нежелательных последствий внедряются средства интеллектуального моделирования и системы автоматизации процесса на лабораторном уровне [14]. Такой прогрессивный подход становится тенденцией при планировании эксперимента, гарантируя стабильное, воспроизводимое и безопасное протекание культивирования растительных клеток, тем самым давая возможность повысить качество результатов исследований.

Получение эффективной платформы для синтеза вторичных метаболитов является приоритетной задачей в области фармации [15]. Для переноса технологии лабораторного культивирования на автоматизированные платформы целесообразно выявлять и оценивать риски в контексте протекающего процесса. Риск-ориентированный подход даёт возможность сформировать концепцию качества получаемой клеточной биомассы и предотвратить потери ресурсов.

Цель. Анализ рисков, возникающих при получении суспензионной культуры клеток шлемника байкальского в лабораторных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектом исследования служили суспензионные культуры *Scutellaria baicalensis*, выращиваемые в условиях *in vitro*. Для получения суспензионной культуры использовали рыхлые каллусы *S. baicalensis*, предоставленные лабораторией культур растительных клеток кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета.

Калий азотнокислый (CAS № 7757-79-1, АО «БЕКТОН», Россия), аммоний азотнокислый (CAS № 6484-52-2, АО «БЕКТОН», Россия), калий фосфорнокислый 1-замещенный (CAS № 7778-77-0, АО «БЕКТОН», Россия), магний сернокислый, 7-водный (CAS № 10034-99-8, АО «БЕКТОН», Россия), кальций хлористый, 2-водный (CAS № 10035-04-8, АО «БЕКТОН», Россия), натрий молибденовокислый, 2-водный (CAS № 10102-40-6, АО «БЕКТОН», Россия), медь сернокислая(II), 5-водная (CAS № 7758-99-8, АО «БЕКТОН», Россия), борная кислота (CAS № 10043-35-3, АО «БЕКТОН», Россия), марганец сернокислый(II), 5-водный (CAS № 15244-36-7, АО «БЕКТОН», Россия), цинк сернокислый, 7-водный (CAS № 7446-20-0, АО «БЕКТОН», Россия), калий иодистый (CAS № 7681-11-0, АО «БЕКТОН», Россия), кобальт хлористый без никеля(II), 6-водный (АО «БЕКТОН», Россия), железо сернокислое(II), безводное (АО «БЕКТОН», Россия), трилон Б (CAS № 6381-92-6, АО «БЕКТОН», Россия), тиамин гидрохлорид (CAS № 67-03-8, Merck KGaA, Германия), пиридоксин (CAS № 65-23-6, Merck KGaA, Германия), никотиновая кислота (CAS № 59-67-6, АО «БЕКТОН», Россия), мезо-инозит (CAS № 87-89-8, Merck KGaA, Германия), сахароза (CAS № 57-50-1, АО «БЕКТОН», Россия), 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) (CAS № 94-75-7, Merck KGaA, Германия), кинетин (CAS № 525-79-1, Merck KGaA, Германия), Эванс голубой (CAS № 314-13-6, ООО «Диаэм», Россия), нейтральный красный (CAS № 553-24-2, АО «БЕКТОН», Россия).

МЕТОДЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Получение и культивирование суспензионной культуры шлемника байкальского

Пересадка рыхлого каллуса с твердой агаризированной среды осуществлялась в условиях ламинарного бокса «Ламинар-С»-1,2 (ЗАО «Ламинарные системы», Россия) с соблюдением асептических условий. Культивирование проводили на жидкой питательной среде. Состав среды по прописи Мурасиге – Скуга (МС) приведен в таблице 1. Показатель pH контроли-

ровали с помощью pH-метра PB-11-P11 (Sartorius, Германия), который до автоклавирования поддерживался в диапазоне 5,6–5,8.

Таблица 1. Среда МС для культур растительных клеток [16]

Table 1. Medium MS for plant cell cultures [16]

№ п/п item no.	Компоненты Ingredients	Содержание Content
1	Сахароза Sucrose	30 г/л 30 g/l
2	Мезо-инозит Meso-Inositol	100 мг/л 100 mg/l
3	Кинетин Kinetin	0,5 мг/л 0.5 mg/l
4	2,4 – дихлорфеноксиуксусная кислота 2,4 – dichlorophenoxyacetic acid	1 мг/л 1 mg/l
5	Маточный раствор макросолей Concentrated solution of macrosalts	50 мг/л 50 mg/l
6	Маточный раствор микросолей Concentrated solution of microsalts	1 мг/л 1 mg/l
7	Тиамин гидрохлорид Thiamine hydrochloride	1 мг/л 1 mg/l
8	Глицин Glycine	2 мг/л 2 mg/l
9	Хелат железа Ferrous chelate	5 мг/л 5 mg/l
10	Пиридоксин гидрохлорид Pyridoxine hydrochloride	0,5 мг/л 0.5 mg/l
11	Никотиновая кислота Nicotinic acid	0,5 мг/л 0.5 mg/l

Стерилизацию питательной среды осуществляли в стерилизаторе паровом СПВА-75-1-НН (ЗАО «Транс-Сигнал», Россия) при температуре 120 ± 1 °C в течение 15 минут.

Выращивание суспензионной культуры проводили в плоскодонных конических колбах Эрленмейера на 250 мл, закупоренных двойным слоем фольги, в условиях постоянного перемешивания при помощи шейкера лабораторного ПЭ-6410 (ООО «ПКФ ЭКО-ХИМ», Россия) при скорости вращения 100 об/мин. Цикл субкультивирования составлял 21 сутки в темноте при температуре 27–28 °C и относительной влажности 60–70 %.

Определение жизнеспособности и степени агрегированности клеток суспензионной культуры [17]

Жизнеспособность культур клеток определяли, используя прижизненные красители 0,1%-й нейтральный красный (НК) и 0,025%-й раствор Эванса голубого (ЭГ), путем подсчета живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) культивируемых единиц под микроскопом поляризационным «Биомед-5П»

(ООО «Биомед», Россия). Жизнеспособность культуры выражали как процент живых культивируемых единиц к общему числу просчитанных агрегатов (не менее 200). Подсчет клеток проводили с использованием камеры Горяева.

Оценка рисков

Оценку рисков процесса проводили с помощью диаграммы причинно-следственных связей (диаграммы Исакавы).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Культивирование *in vitro* предполагает пересадку рыхлого каллуса на жидкую питательную среду и анализ свойств биомассы в течение цикла субкультивирования (рисунок 1). На основании полученных результатов подобраны условия процесса, которые способствуют улучшению выживаемости и продуктивности клеток. Задача оптимизации в конечном итоге сводится к получению однородной, воспроизводимой и стабильной суспензии клеток.

Первым этапом исследования стало изучение физиологических параметров суспензионной культуры *S. baicalensis*: размеров клеток и степени агрегированности.

Установлено, что для клеток шлемника в суспензионных культурах характерна вытянутая овальная форма. Первичные суспензии характеризовались наличием клеток преимущественно прозенхимного типа ($70 \pm 2,0$ %). В последующих циклах субкультивирования наблюдалось уменьшения числа прозенхимных клеток и увеличение количества одиночных паренхимных клеток с крупными ядрами и слабо выраженной вакуолизацией (рисунок 2).

Размер клеток достигал 35–40 мкм (61 %). Также встречались крупные вытянутые клетки размером до 100 мкм (10 %).

Для первичных суспензий характерна крупная агрегированность (рисунок 3). Диаметр агрегатов достигал порядка 8–15 мм. В ходе последующих пассажей агрегированность сохранялась. Размер клеточных скоплений уменьшился (не превышал 5 мм), наблюдалось появление одиночных клеток.

Отмечена зависимость ростовых свойств суспензии шлемника байкальского от плотности вносимого инокулята. При уменьшении количества пересаживаемой биомассы клетки в агрегатах и в одиночном состоянии проявляли склонность к деструкции (рисунок 4).

Полученные результаты показали необходимость анализа рисков лабораторной технологии суспензионного культивирования шлемника байкальского.

Риски $R(t)$ зависят от комплекса факторов. Вероятность отклонения от «нормы» может быть приемлемой и неприемлемой (критической). С целью раз-

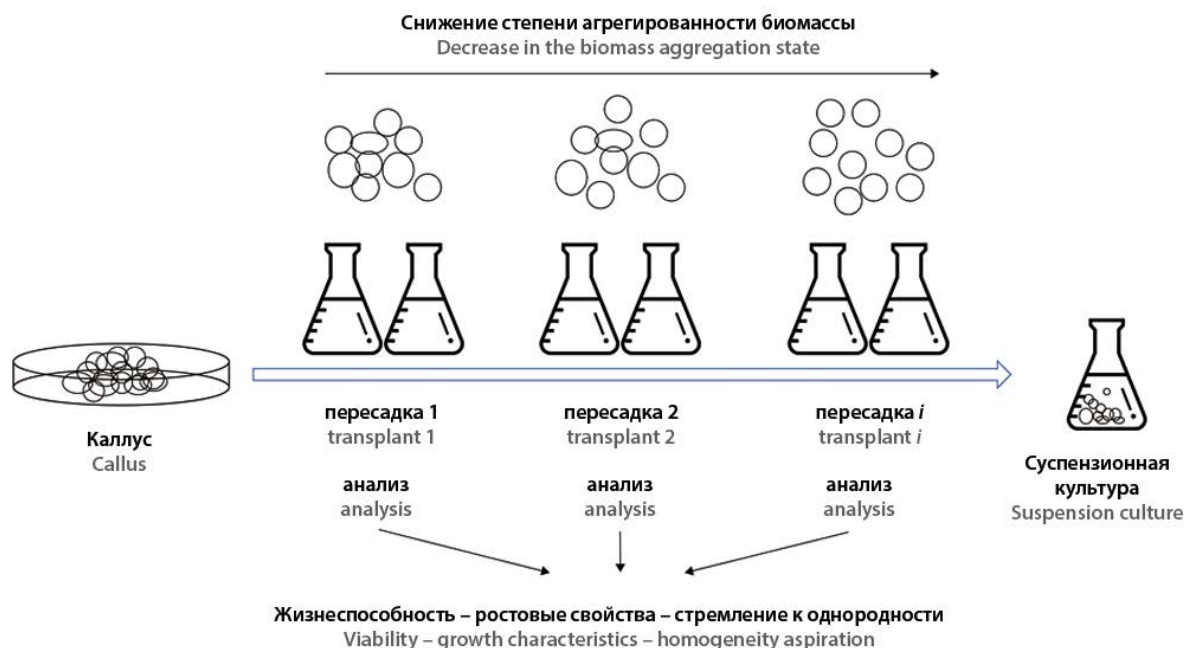


Рисунок 1. Схема получения суспензионной культуры *in vitro*

Figure 1. Schematic of obtaining *in vitro* suspension cultures

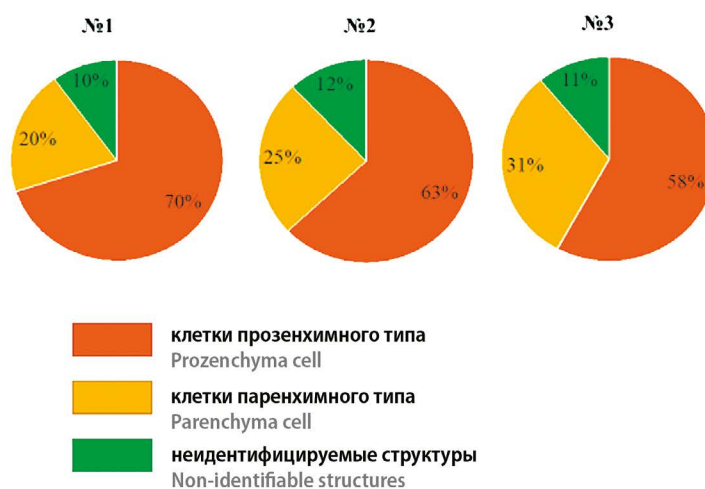


Рисунок 2. Динамика изменения типа клеток в суспензии шлемника байкальского в пассажах № 1, № 2, № 3

Figure 2. Dynamics of cell type changes in Baikal skullcap suspension at passages No. 1, No. 2, No. 3

граничения категорий рисков вводится показатель допустимого уровня риска $[R(t)]$. Развитие рисков во времени можно охарактеризовать как некую функцию R от времени, которая изменяется определенным образом в пределах допустимого уровня (ПДУ) по мере протекания процесса [18]. Карта развития риска представлена на рисунке 5.

Приемлемой моделью развития риска является участок функции в диапазоне $(t_0; [t])$. Если функция выходит за пределы участка «1» (зеленого квадрата), последствия риска становятся опасными или

критическими для процесса. Следовательно, возникает необходимость минимизации вероятности внешних воздействий на объект (модель – суспензионную культуру).

Для решения задач по снижению вероятных рисков до уровня приемлемых необходим структурный анализ защищенности объекта от эндогенных и экзогенных воздействий. Алгоритм оценки защищенности суспензионной культуры шлемника реализуется посредством контроля «критических» точек процесса. Можно выделить пять наиболее значимых факто-

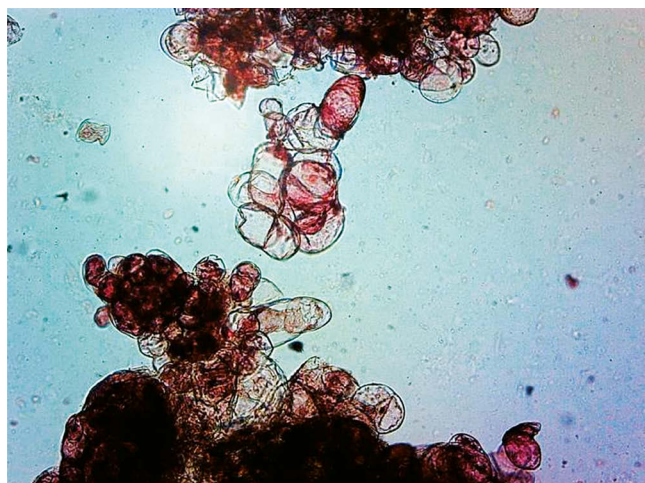


Рисунок 3. Агрегаты в суспензии шлемника байкальского

Figure 3. Aggregates in a Baikal skullcap suspension

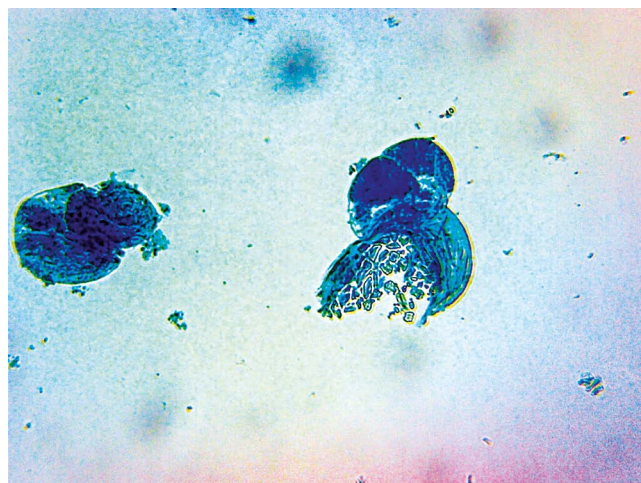


Рисунок 4. Деструкция клеток в суспензионной культуре шлемника байкальского

Figure 4. Cell Destruction in a Baikal Skullcap Suspension Culture

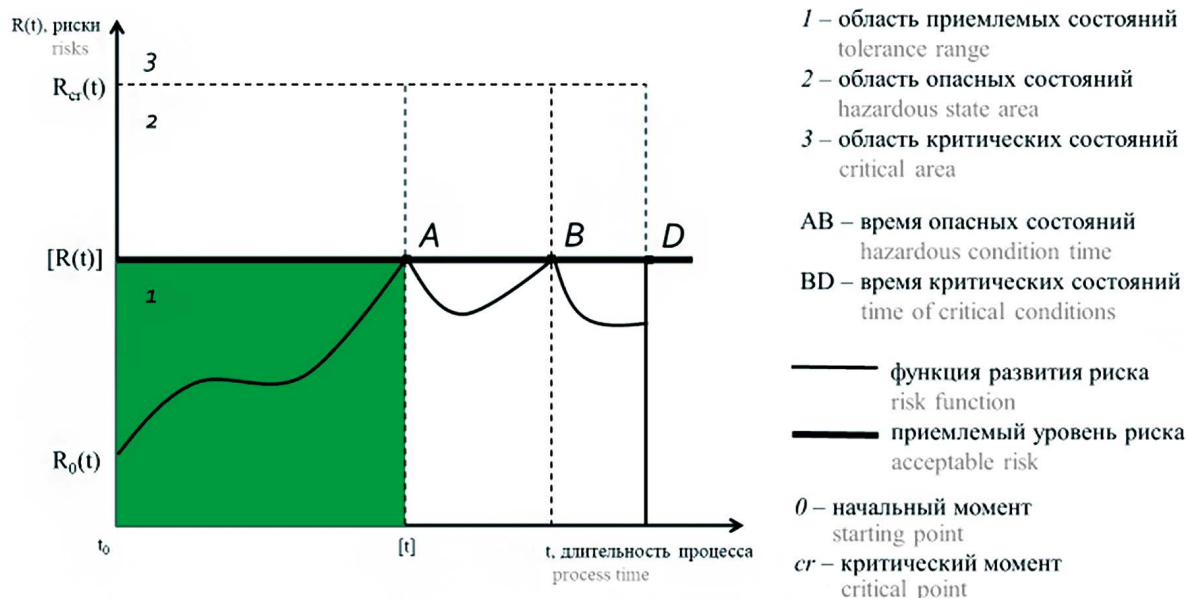


Рисунок 5. Карта развития риска

Figure 5. Risk profile

ров при лабораторном культивировании растительных клеток: качество исходного сырья (каллуса), качество приготовленной жидкой питательной среды, исправность и пригодность оборудования (колб с укупорочными средствами, автоклава, шейкера), действия оператора и пригодность технологии получения клеточных культур и отбора проб для анализа показателей жизнеспособности биомассы. Анализ рисков можно представить в виде диаграммы Исикавы (рисунок 6).

Существенное влияние на технологический процесс оказывает человеческий фактор. Его воздействие наблюдается в непосредственных действиях опе-

ратора, выполняющего рутинные работы, а также на этапе приготовления субстрата, внедрения и реализации технологии. Вероятность перехода риска за пределы ПДУ достаточно велика. Чтобы нивелировать влияние потенциального источника контаминации продукта (снизить вероятность риска), часть процедур благодаря современным технологиям можно перевести на автоматизированный уровень. Достоинствами подхода становятся возможности проведения процедуры с заданной частотой и периодичностью и обеспечении требуемых характеристик культуры растительных клеток.

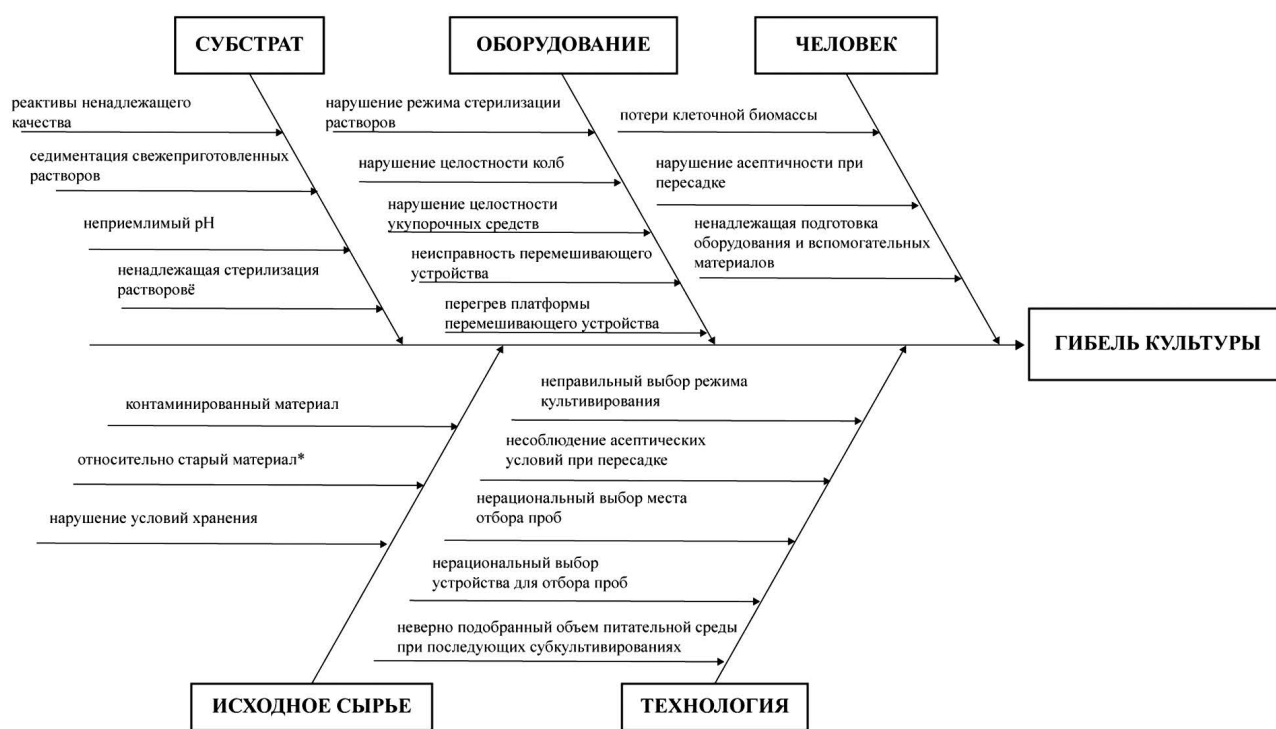


Рисунок 6. Диаграмма причинно-следственных связей для оценки рисков гибели суспензионной культуры шлемника байкальского

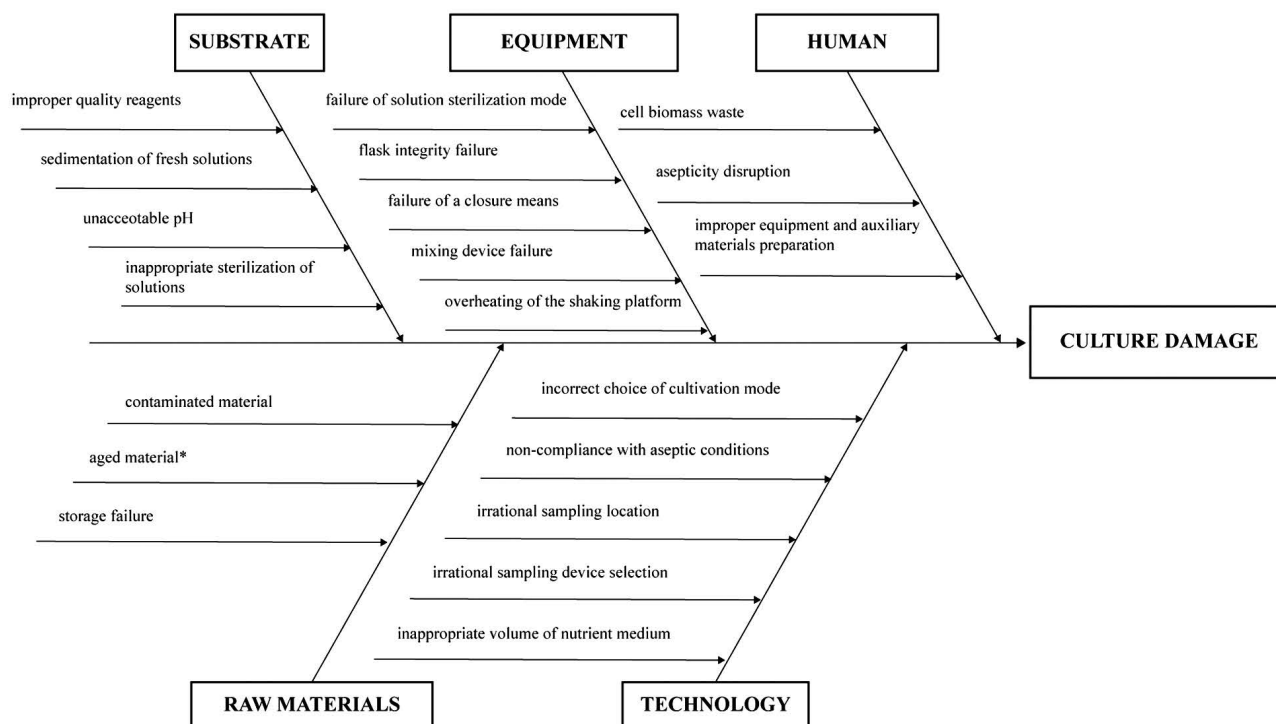


Figure 6. Cause-effect diagram for risk assessment for Baical skullcap suspension culture mortality

Внедрение мер, обеспечивающих защищенность культуры от действия внешних факторов, является основной принятой решений при риск-ориентированном подходе. За модель принимается суспензионная культура.

Можно предложить следующий алгоритм анализа защищенности модели (рисунок 7).

Характеристиками объекта являются размеры и форма клеток, наличие агрегатов и их габариты, а также состав питательной среды. В качестве возможных условий экспозиции культуры рассматриваются внешние регламентированные (выбор режима культивирования: аэрация, перемешивание, напряжение сдвига, температура, влажность, освещенность) и внешние нерегламентированные (внесение патогенных микроорганизмов). Восприимчивость культуры к воздействиям оценивается следующими нежелательными последствиями: деградацией ростовых свойств клеток, высокой степенью агрегированности, повреждением клеточных стенок или контаминацией. На основании данной оценки делаются выводы о вероятности возникновения нежелательных последствий, после чего формулируется комплекс предупреждающих мер – конечная цель анализа защищенности культуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, благодаря риск-ориентированному подходу появляется возможность предотвращения снижения качества продукта путем контроля критических точек процесса. Принцип анализа и оценки рисков становится одним из ключевых направлений. Предложенный алгоритм анализа состояния суспензий способствует обеспечению безопасности и защищенности модели. Инструментарий риск-менеджмента создает основу для модернизации существующей технологии и автоматического оснащения процесса. Данная тенденция становится перспективной для формирования платформы культур клеток редких и исчезающих видов растений, что в конечном счете отвечает направлению сохранения и поддержания природных ресурсов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гудима Г. О., Хаитов Р. М., Кудлай Д. А., Хаитов М. Р. Молекулярно-иммунологические аспекты диагностики, профилактики и лечения коронавирусной инфекции. *Иммунология*. 2021;42(3):198–210. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-3-198-210.

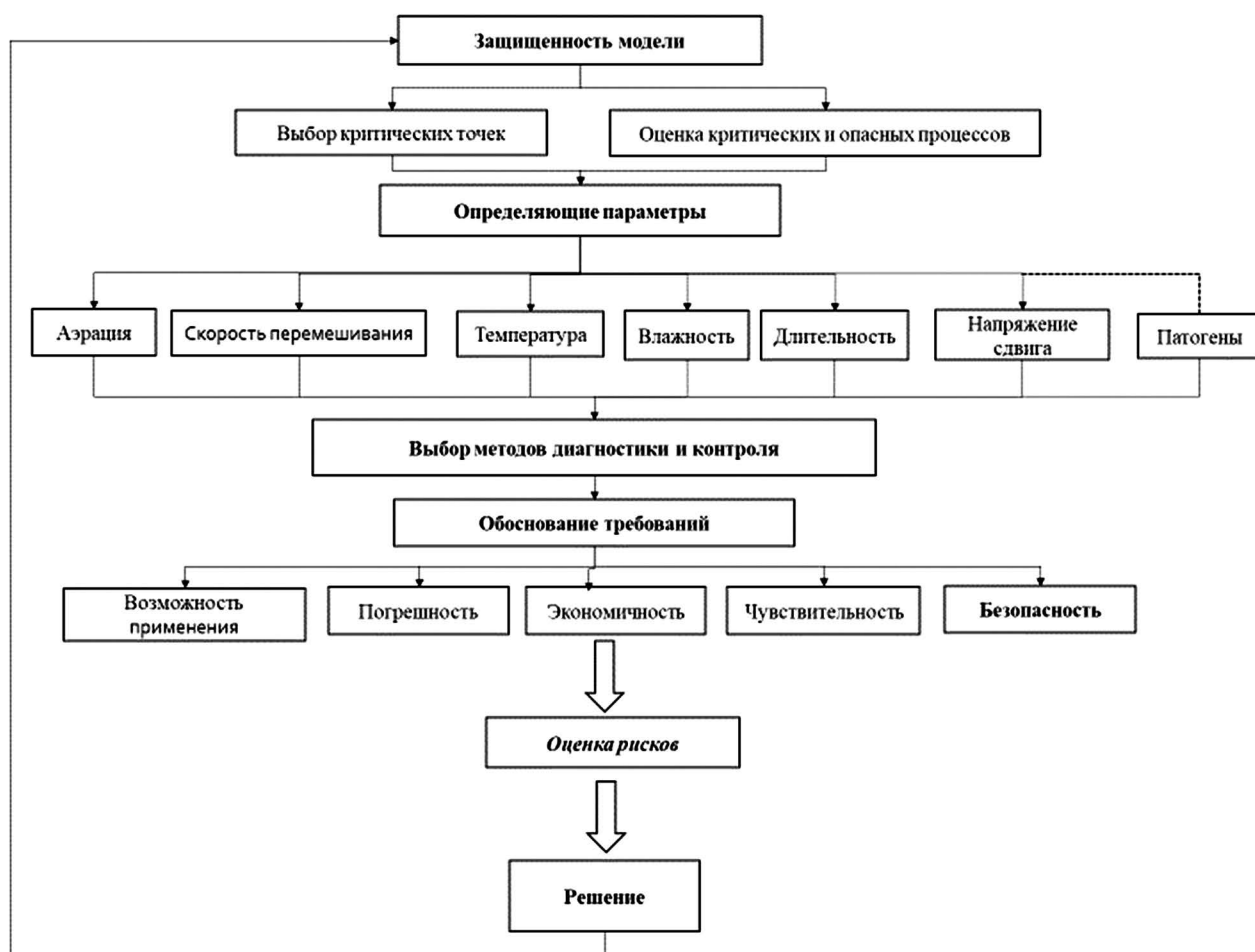


Рисунок 7. Алгоритм анализа защищенности суспензионной культуры шлемника байкальского

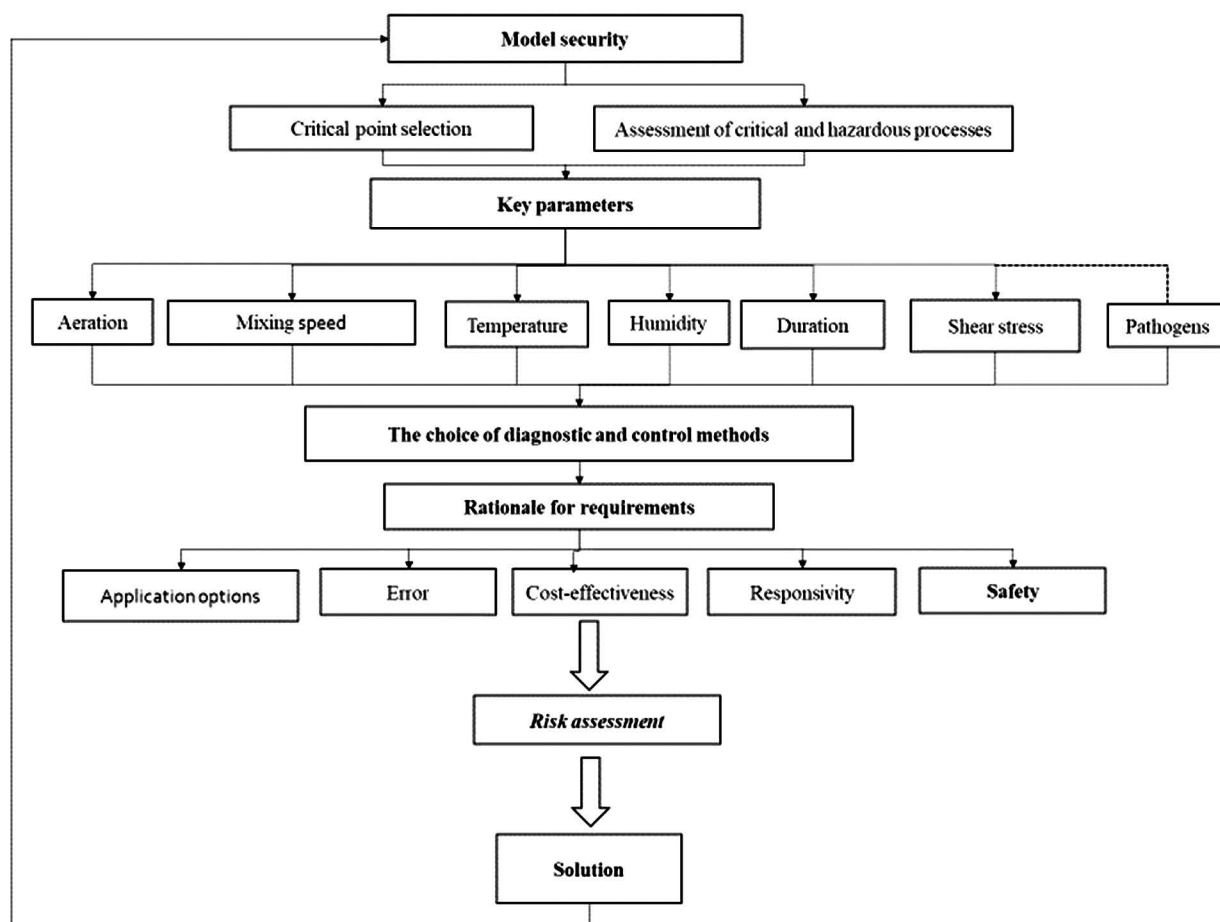


Figure 7. Algorithm of baikal skullcap suspension culture security analysis

- Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):275–277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441.
- Смолянова Т. И., Багаева Н. С., Колганова М. А., Шохин И. Е., Николаева А. М., Вязникова Т. В., Панкратова А. А., Быкова Е. А. Изучение фармакокинетики препарата «КОВИД-глобулин» (специфический иммуноглобулин человека против COVID-19) (АО «Нацимбио», Россия) в рамках фазы I клинического исследования. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(2):180–186. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-180-186.
- Zhao T., Tang H., Xie L., Zheng Y., Ma Z., Sun Q., Li X. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019;71(9):1353–1369. DOI: 10.1111/jphp.13129.
- Yan B., Xu W., Su S., Zhu S., Zhu Z., Zeng H., Zhao M., Qian D., Duan J. A., Duan J. Comparative analysis of 15 chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf from different regions in China by ultra-high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 2017;40:3570–3581.
- Zhao Q., Yang J., Cui M. Y. The reference genome sequence of *Scutellaria baicalensis* provides insights into the evolution of Wogonin biosynthesis. *Molecular Plant*. 2019;12:935–950.
- Wang Z.-L., Wang S., Kuang Y. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*. *Pharmaceutical Biology*. 2018;56(1):465–484. DOI: 10.1080/13880209.2018.1492620.
- Dinda B., Dinda S., Dassharma S., Banik R., Chakraborty A., Dinda M. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalin against inflammatory disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;131:68–80. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.03.004.
- Hassanin M., Tolba M., Tadros M. Wogonin a Promising Component of *Scutellaria baicalensis*: A Review on its Chemistry, Pharmacokinetics and Biological Activities. *Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University*. 2019;3(2):170–179. DOI: 10.21608/aps.2019.18854.1016.
- Кунакова Р. В., Зайнуллин Р. А. Природные соединения растительного происхождения в борьбе с коронавирусом. *Вестник Академии наук Республики Башкортостан*. 2020;2(98):87–92. DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10210.
- Lawson S. K., Satyal P., Setzer W. N. Phytochemical Analysis of the Essential Oils From Aerial Parts of Four *Scutellaria* "Skullcap" Species Cultivated in South Alabama: *Scutellaria baicalensis* Georgi, *S. Barbata* D. Don, *S. Incana* Biehler, and *S. Lateriflora* L. *Natural Product Communications*. 2021;16(8):1934578X2110259. DOI: 10.1177/1934578X211025930.
- Song J.-W., Long J.-Y., Xie L., Zhang L.-L., Xie Q.-X., Chen H.-J., Deng M., Li X.-F. Applications, phytochemistry, pharmacological effects, pharmacokinetics, toxicity of *Scutellaria baicalensis* Georgi. and its probably potential therapeutic effects on COVID-19: a review. *Chinese Medicine*. 2020;15(1):102. DOI: 10.1186/s13020-020-00384-0.
- Xu N., Meng F., Zhou G., Li Yu., Wang B., Lu H. Assessing the suitable cultivation areas for *Scutellaria baicalensis* in China using the Maxent model and multiple linear regression. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2020;90:104052. DOI: 10.1016/j.bse.2020.104052.

14. Ивашук О. А., Щербинина Н. В., Забнин С. А. Нейросетевой подход при автоматизации подбора питательной среды для выращивания растений в условиях *in vitro*. *Современные наукоемкие технологии*. 2019;7:30–34.
15. Дзержинская А. А., Спиридонова А. А., Хомутова Е. Г. Системный подход к управлению рисками перекрестной контаминации при производстве лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(1):149–158. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-1-149-158.
16. Titova M. V., Popova E. V., Konstantinova S. V., Kochkin D. V., Ivanov I. M., Klyushin A. G., Titova E. G., Nebera E. A., Vasilevs-kaya E. R., Tolmacheva G. S., Kotenkova E. A., Nosov A. M., Paek K.-Y. Suspension Cell Culture of *Dioscorea deltoidea*—A Renewable Source of Biomass and Furostanol Glycosides for Food and Pharmaceutical Industry. *Agronomy*. 2021;11(2):394. DOI: 10.3390/agronomy11020394.
17. Glagoleva E. S., Konstantinova S. V., Kochkin D. V., Ossipov V., Titova M. V., Popova E. V., Nosov A. M., Paek K.-Y. Predominance of oleanane-type ginsenoside R0 and malonyl esters of protopanaxadiol-type ginsenosides in the 20-year-old suspension cell culture of *Panax japonicus* C.A. Meyer. *Industrial Crops and Products*. 2022;177:114417. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.114417.
18. Махутов Н. А., Гаденин М. М., Юдина О. Н. Научный анализ рисков в жизнеобеспечении человека, общества и государства. *Проблемы анализа риска*. 2019;16(2):70–86. DOI: 10.32686/1812-5220-2019-16-2-70-86.
10. Kunakova R. V., Zainullin R. A. Natural chemicals derived from plants against coronaviruses. *Bulletin of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan*. 2020;2(98):87–92. (In Russ.) DOI: 10.24411/1728-5283-2020-10210.
11. Lawson S. K., Satyal P., Setzer W. N. Phytochemical Analysis of the Essential Oils From Aerial Parts of Four *Scutellaria* "Skullcap" Species Cultivated in South Alabama: *Scutellaria baicalensis* Georgi, *S. Barbata* D. Don, *S. Incana* Biehler, and *S. Lateriflora* L. *Natural Product Communications*. 2021;16(8):1934578X2110259. DOI: 10.1177/1934578X211025930.
12. Song J.-W., Long J.-Y., Xie L., Zhang L.-L., Xie Q.-X., Chen H.-J., Deng M., Li X.-F. Applications, phytochemistry, pharmacological effects, pharmacokinetics, toxicity of *Scutellaria baicalensis* Georgi. and its probably potential therapeutic effects on COVID-19: a review. *Chinese Medicine*. 2020;15(1):102. DOI: 10.1186/s13020-020-00384-0.
13. Xu N., Meng F., Zhou G., Li Yu., Wang B., Lu H. Assessing the suitable cultivation areas for *Scutellaria baicalensis* in China using the Maxent model and multiple linear regression. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2020;90:104052. DOI: 10.1016/j.bse.2020.104052.
14. Ivaschuk O. A., Shcherbinina N. V., Zabnin S. A. Neural network approach to automating the selection of nutrient environment for cultivation of plants under *in vitro* conditions. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2019;7:30–34. (In Russ.)
15. Dzerzhinskaya A. A., Spiridonova A. A., Khomutova E. G. Systematic approach to cross-contamination risk management in the production of medicinal products. *Drug development & registration*. 2022;11(1):149–158. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-1-149-158.

REFERENCES

1. Gudima G. O., Khaitov R. M., Kudlay D. A., Khaitov M. R. Molecular and immunological aspects of diagnosis, prevention, and treatment of coronavirus infection. *Immunologiya*. 2021;42(3):198–210. (In Russ.) DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-3-198-210
2. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):275–277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441.
3. Smolyanova T. I., Bagaeva N. S., Kolganova M. A., Shohin I. E., Nikolaeva A. M., Vyaznikova T. V., Pankratova A. A., Bykova E. A. Phase I Pharmacokinetics Study of Drug «COVID-globulin» (Specific Human Immunoglobulin Against COVID-19). *Drug development & registration*. 2022;11(2):180–186. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-180-186.
4. Zhao T., Tang H., Xie L., Zheng Y., Ma Z., Sun Q., Li X. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2019;71(9):1353–1369. DOI: 10.1111/jphp.13129.
5. Yan B., Xu W., Su S., Zhu S., Zhu Z., Zeng H., Zhao M., Qian D., Duan J. A., Duan J. Comparative analysis of 15 chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* stem-leaf from different regions in China by ultra-high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*. 2017;40:3570–3581.
6. Zhao Q., Yang J., Cui M. Y. The reference genome sequence of *Scutellaria baicalensis* provides insights into the evolution of Wogonin biosynthesis. *Molecular Plant*. 2019;12:935–950.
7. Wang Z.-L., Wang S., Kuang Y. A comprehensive review on phytochemistry, pharmacology, and flavonoid biosynthesis of *Scutellaria baicalensis*. *Pharmaceutical Biology*. 2018;56(1):465–484. DOI: 10.1080/13880209.2018.1492620.
8. Dinda B., Dinda S., Dassharma S., Banik R., Chakraborty A., Dinda M. Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalin against inflammatory disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;131:68–80. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.03.004.
9. Hassanin M., Tolba M., Tadros M. Wogonin a Promising Component of *Scutellaria baicalensis*: A Review on its Chemistry, Pharmacokinetics and Biological Activities. *Archives of Pharmaceutical Sciences Ain Shams University*. 2019;3(2):170–179, DOI: 10.21608/aps.2019.18854.1016.
16. Titova M. V., Popova E. V., Konstantinova S. V., Kochkin D. V., Ivanov I. M., Klyushin A. G., Titova E. G., Nebera E. A., Vasilevs-kaya E. R., Tolmacheva G. S., Kotenkova E. A., Nosov A. M., Paek K.-Y. Suspension Cell Culture of *Dioscorea deltoidea*—A Renewable Source of Biomass and Furostanol Glycosides for Food and Pharmaceutical Industry. *Agronomy*. 2021;11(2):394. DOI: 10.3390/agronomy11020394.
17. Glagoleva E. S., Konstantinova S. V., Kochkin D. V., Ossipov V., Titova M. V., Popova E. V., Nosov A. M., Paek K.-Y. Predominance of oleanane-type ginsenoside R0 and malonyl esters of protopanaxadiol-type ginsenosides in the 20-year-old suspension cell culture of *Panax japonicus* C.A. Meyer. *Industrial Crops and Products*. 2022;177:114417. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.114417.
18. Makhutov N. A., Gadenin M. M., Yudina O. N. The scientific analysis of risks in life-support of a person, a society and the state. *Issues of Risk Analysis*. 2019;16(2):70–86. (In Russ.) DOI: 10.32686/1812-5220-2019-16-2-70-86