



СТРАТЕГИЯ ОЦЕНКИ РИСКОВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *SCUTELLARIA BAICALENSIS* GEORGI

Шмарова А.А., Пивоварова Н.С.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

Резюме

Пандемия коронавирусной инфекции способствовала увеличению интереса к использованию биологически активных компонентов шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi). Однако несанкционированный сбор растения в естественной среде обитания обозначил потенциальные угрозы для биоразнообразия флоры. В связи с чем особую актуальность приобретает культивирование клеток растений *in vitro*, что позволяет работать с растительным материалом без нанесения ущерба окружающей среде и независимо от сезона и климатических условий. Культивирование растительных клеток в контролируемых условиях является чувствительным процессом, который зависит от внутренних и внешних факторов. Для снижения вероятности ухудшения количественных и качественных показателей выращиваемой биомассы предложена стратегия оценки рисков.

Ключевые слова: культивирование растительных клеток, суспензионные культуры, вторичные метаболиты, критические точки, допустимый уровень риска, защищенность культуры, стратегия оценки риска

Цитирование: Шмарова А.А., Пивоварова Н.С. Стратегия оценки рисков при получении суспензионной культуры *Scutellaria baicalensis* Georgi // *Biomics*. 2022. Т.14(2). С.111-119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-

© Авторы

RISK ASSESSMENT STRATEGY DURING OBTAINING SUSPENSION CULTURE OF *SCUTELLARIA BAICALENSIS* GEORGI

Shmarova A.A., Pivovarova N.S.

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University
14 Professor Popov str., 197376, St. Petersburg, Russia, E-mail: shmarova.aleksandra@pharminnotech.com

Resume

The coronavirus pandemic led to increased interest toward using the biologically active components of *Scutellaria baicalensis* Georgi. However, the unauthorized harvesting of plants in their natural habitat has indicated potential threats to the floral biodiversity. Therefore, *in vitro* cultivation of plant cells becomes particularly relevant. That approach provides an opportunity to work with plant material without damaging the environment and regardless of the season and climatic conditions. Culturing plant cells under controlled conditions is a sensitive process depending on internal and external factors. In order to reduce the probability of deterioration of quantitative and qualitative indicators of the biomass, we suggest a risk assessment strategy.

Key words: plant cell cultivation, suspension cultures, secondary metabolites, critical points, acceptable risk level, culture protection, risk assessment strategy

Citation: Shmarova A.A., Pivovarova N.S. Risk assessment strategy during obtaining suspension culture of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biomics*. 2022. V.14(1). P. 111-119. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022- (In Russian)

© Authors

Введение

Вспыхнувшая в 2020 году пандемия COVID-19 обозначила вызовы для фармацевтической промышленности, спровоцировав введение карантинного режима в системе глобального здравоохранения [Patel, Jernigan, 2020].

Вирус SARS-CoV-2 относится к категории РНК-вирусов. Его особенностью является мозаичное поражение организма человека с относительно затяжным течением заболевания [Харченко (Kharchenko), 2020]. Механизм действия коронавируса связан с наличием в структуре S-белка, который способствует прикреплению и слиянию с клетками хозяина. После присоединения S-белка к рецептору (ангиотензин превращающему ферменту (АПФ2)) вирус проникает в клетку хозяина путем эндоцитоза, высвобождает геномную РНК с последующей трансляцией генетических кодов на неструктурные полипротеины, включая 3CLpro, PLpro и РНК-полимеразу (RdRp), а также прочие структурные белки (типов N, M, E и S) [Kumar et al., 2020]. В конечном итоге образовавшиеся вирусные компоненты реплицированной геномной РНК выходят наружу для заражения соседних органов и тканей [Remali, Aizat, 2020].

В первые месяцы вспышки заболевания человечество столкнулось с невозможностью направленного лечения вирусной инфекции, что обозначило в последующее время необходимость поиска и разработки эффективных лекарственных средств (ЛС). Известные в медицинской практике терапевтические подходы направлены на подавление симптомов (например, поддержка дыхания с помощью искусственной вентиляции легких, прием кортикостероидов для уменьшения отека легких, а также представленных на рынке противовирусных и антибиотических средств) [Cascella et al., 2020]. Тем не менее, эффективность таких методов лечения не всегда оказывается достаточной. Из-за разносторонних механизмов внедрения вируса в клетки человека с преодолением адаптивной иммунной системы обуславливается сложность подбора оптимального лекарственного препарата для снижения активности инфекционных частиц [Tay et al., 2020].

Стоит заметить, что за последние годы вектор фармацевтической промышленности постепенно смещается в сторону биотехнологических подходов, предполагающих использование сырья природного происхождения для создания ЛС. Так, например, ответом на вызовы пандемии стало появление на фармацевтическом рынке биологических лекарственных препаратов (БЛП) в виде вакцин. С одной стороны, подобные БЛП способствуют формированию коллективного иммунитета, но с другой – не полностью предотвращают возможность заражения. К тому же, создание абсолютно «безвредной» вакцины практически невозможно в виду индивидуальных генетических особенностей людей [Харченко (Kharchenko), 2020].

В связи с этим, по-прежнему, стоит задача разработки ЛС с действующим веществом (ДВ), участвующем не только в направленном ингибировании активности SARS-CoV-2, но и в реализации адаптогенного и иммунопротекторного эффекта для обеспечения реабилитации организма после перенесенного заболевания.

В попытках поиска альтернативных источников ценных химических веществ обращено внимание на сырье растительного происхождения. В состав растений входят биологически активные молекулы – вторичные метаболиты, которые не принимают непосредственного участия в процессах роста и развития, но при этом обуславливают жизнеобеспечивающие, репродуктивные, защитные и симбиотические свойства [Guerriero et al., 2018]. Сложная стереохимическая структура вторичных метаболитов определяет широкий спектр их фармакологической активности. К тому же, средство натуральных компонентов к человеческому организму выделяет БАВ растений среди ЛС с синтетическими аналогами.

В контексте подобных поисков особое значение приобретает растение Дальневосточного региона РФ – шлемник байкальский *Scutellaria baicalensis* Georgi). Подземные органы растения применяются в традиционной медицине под названием *Huang-Qin*, и с 2015 года являются официальным лекарственным растительным сырьем (ЛРС) в Китайской фармакопее [Xiang et al., 2022]. Входящие в состав корней растения вторичные

метаболиты, например, комплекс полифенольных соединений (байкалеин, байкалин, скутелларин), терпеноиды, эфирные масла, обладают выраженным противовирусным и антиоксидантным действием. В исследованиях китайских ученых отмечается, что этанольные экстракты на основе корней шлемника, а также выделенный в чистом виде флавоноид байкалеин, оказывают ингибирующее действие на репликацию вируса SARS-CoV-2 [Xiang et al., 2022; Liu et al., 2021].

В рецептурах китайской медицины *S. Baicalensis* составляет основу многих лекарственных средств, например, комбинированного отвара *Qingfei Paidu Decoction* (QPD). Ещё в 2020 году данный рецепт был рекомендован Национальной комиссией здравоохранения КНР для лечения легких, умеренных и тяжелых случаев инфекции COVID-19. Согласно данным клинических исследований смертность, связанная с COVID-19, составила всего 1,2% среди 2568 пациентов, получавших QPD, по сравнению с 4,8% смертности среди 6371 пациента, не принимавших данный отвар. Было установлено, что использование QPD способствует снижению внутрибольничной смертности, связанную с COVID-19, примерно на 50% [Pei et al., 2022].

В связи с чем, можно говорить о перспективности использования данного растительного сырья для создания средств, ингибирующих активность вируса SARS-CoV-2, и иммунопротекторных препаратов, нацеленных на реабилитацию организма после перенесенного заболевания.

Однако ценность данного растения провоцирует чрезмерный несанкционированный сбор и ненадлежащую заготовку подземных органов *S. baicalensis*. В свою очередь, это приводит к сокращению ареала распространения популяции в условиях естественной среды обитания и появлению угрозы исчезновения вида.

Повышение интереса к производству фитопрепаратов обозначает проблему сохранения биоразнообразия флоры. Поэтому в последние годы ведется направленный поиск альтернативных методов получения биологически активных соединений растительного происхождения без существенного вмешательства в окружающую среду.

Одной из многообещающих технологий становится культивирование клеток растений в контролируемых условиях *in vitro*. Такой подход способствует проведению необходимых исследований в области физиологии и биохимии растительных клеток, реализации направленной регуляции синтеза ценных вторичных метаболитов и отработки методов создания лекарственных средств [Eibl et al., 2018]. Возможность контроля физических и химических

параметров позволяет эмпирически подобрать наиболее оптимальные условия культивирования для конкретного вида [Motolinia-Alcantara et al., 2021].

Благодаря культивированию появляются принципиальные возможности создания био платформ для сохранения редких, в том числе исчезающих, видов растений. В подобных технологических растительных платформах происходит удвоение хромосом и искусственная индукция полиплоидии, что способствует сверхэкспрессии ключевых генов, ответственных за рост и развитие клеток, благодаря чему увеличивается уровень накопления высокоценных биоактивных соединений [Niazian, 2019].

Таким образом, обозначается востребованность введения в культуру *in vitro* шлемника байкальского с целью наработки клеточной биомассы, способной синтезировать ценные биологические соединения.

В общем случае, культивирование *in vitro* предполагает пересадку рыхлого каллуса в жидкую питательную среду и анализ свойств биомассы в течение цикла субкультивирования. Таким образом, полученные в результате пролиферации растительные клетки сохраняют генетическую информацию от растения-донора. На сегодняшний день известно несколько подходов в технологии культивирования: получение каллуса и иммобилизованных клеток, эмбрионов, «бородатых» корней, побегов и суспензий клеток [Motolinia-Alcantara et al., 2021; Narayani et al., 2017].

В контексте данного исследования выбор формы глубинного культивирования в виде суспензии связан со следующими факторами:

- улучшением пролиферации клеток,
- более адаптивным поступлением питательных веществ в клеточные структуры,
- простотой процессов субкультивирования и дальнейшего исследования цитологических, физиологических и ростовых параметров.

Однако, несмотря на преимущества технологии культивирования растительных клеток в контролируемых условиях, реализация подхода на практике связана с некоторыми трудностями. Подбор оптимальных условий выращивания биомассы представляет особую сложность в виду специфических особенностей клеток растений как объекта исследования. К тому же, процесс создания суспензионных культур зависит от действия сторонних факторов, поэтому может быть охарактеризован как вероятностный. С целью снижения рисков потери количества и качества получаемой клеточной биомассы предлагается разработка методологии оценки нежелательных событий и использование алгоритма для анализа защищенности модельных объектов.

Материалы и методы

Суспензионные культуры шлемника байкальского получены на основе рыхлых каллусов растения из коллекции лаборатории культуры клеток кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета.

Для этого фрагменты каллусной ткани помещались в жидкую питательную среду, приготовленную по прописи Мурасиге-Скуга (MS) с витаминно-минеральными добавками в виде кинетина (0,5 мг/л), глицина (2 мг/л), пиридоксина гидрохлорида (0,5 мг/л).

Диапазон допустимых значений pH варьировался в пределах 5,6-5,8.

Выращивание суспензионной культуры осуществлялось в конических плоскодонных колбах при постоянном перемешивании на качающейся платформе (шейкере) с частотой 100 ± 5 об/мин в условиях темноты при температуре 27-28°C и относительной влажности в диапазоне 60-70%.

Оценку состояния выращенной суспензионной культуры проводили по показателям

жизнеспособности с использованием метода микроскопии, а также посредством расчета ростовых характеристик: сухой биомассы ($M_{\text{сух}}$, г/л), удельной скорости роста (μ , сут⁻¹), времени удвоения (τ , сут) и безразмерного параметра – индекса роста (I), как отношения прироста биомассы к количеству биомассы в начале культивирования.

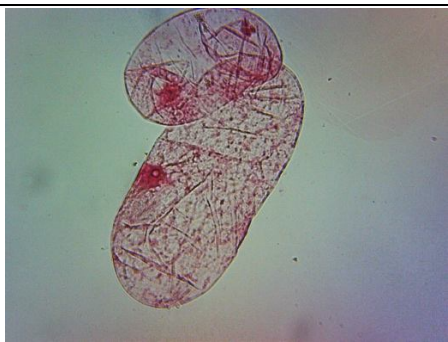
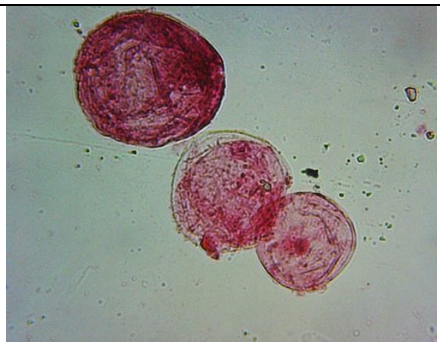
Для проведения процедуры классификации и категорирования рисков использовали диаграмму причинно-следственных связей.

Результаты и обсуждение

Выращиваемая суспензионная культура *S. baicalensis* характеризуется следующими признаками:

1. относительно крупными размерами клеток паренхимного типа с крупными ядрами и слабо выраженной вакуолизацией,
2. склонностью к агрегации (рис.1),
3. относительно высокой жизнеспособностью (80-89%).

Таблица 1. Физиологические параметры суспензий *S. baicalensis*
Table 1 - Physiological parameters of *S. baicalensis* suspensions

Параметры Parameters	Первичная суспензия Primary suspension	Суспензия 8-го цикла Eighth-pass suspension
Цвет Color	Темно-коричневый Deep-brown	Светло-коричневый Light brown
Число агрегатов, % Number of aggregates, %	73,0-75,0	52,0-54,0
Размер агрегатов, мм Aggregates size, mm	8,0-15,0	6,0-7,5
Форма клеток Cell shape	Вытянутая овальная (72%) Elongated oval (72%)	Округлая (81%) Round (81%)
		
Тип клеток Cell type	Прозенхимный Prosenchymal	Паренхимный Parenchymal
Размер клеток, мм Cell size, mm	35-40 (61%)	23-25 (79%)
Жизнеспособность, % Viability, %	$80,2 \pm 1,6$	$88,5 \pm 1,4$

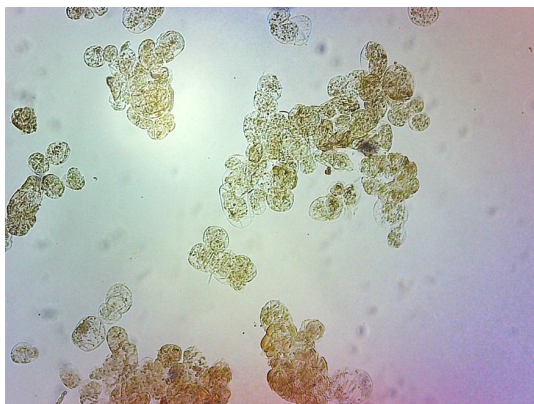


Рис.1. Агрегаты суспензионной культуры *S. baicalensis*
Figure 1. *S. baicalensis* suspension culture aggregates

Установлено, что цикл роста клеточной суспензии шлемника байкальского составляет 21 день.

Таблица 2. Ростовые характеристики суспензионной культуры *S. baicalensis*
Table 2. Growth characteristics of *S. baicalensis* suspension culture

Наименование культуры	$M_{\text{сух}}, \text{г/л}$ $M_{\text{dry}}, \text{g/l}$	I (индекс роста / growth index)	$\mu, \text{сут}^{-1}$ μ, day^{-1}	$\tau, \text{сут}$ τ, day
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	$6,09 \pm 1,43$	$5,99 \pm 1,19$	$0,06 \pm 0,02$	$6,11 \pm 1,17$

Анализ рисков технологии лабораторного культивирования шлемника байкальского на первом этапе предполагает категорирование рисков по ряду параметров. Можно предложить расширенную классификацию рисков в зависимости от решаемой задачи (табл. 3). Однако, в рамках разработки алгоритма защищенности культуры особый интерес представляют первые две категории: источник возникновения и уровень приемлемости.

Отметим, что растительные клетки являются крайне чувствительным объектом к действию сторонних факторов – рисков. По источнику возникновения риски могут быть классифицированы как экзогенные (внутренние) и эндогенные (внешние).

Рассчитанные ростовые характеристики приведены в таблице 2.

Также отмечена зависимость ростовых свойств биомассы от плотности вносимого инокулята (при уменьшении количества пересаживаемой биомассы клетки проявляли склонность к деградации). Увеличение времени экспозиции суспензии провоцировало торможение достижения максимальных весовых показателей сухой биомассы. При этом обнаруживалось значительное снижение показателей жизнеспособности, а также остановка роста клеток.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости анализа рисков лабораторной технологии суспензионного культивирования *S. baicalensis* с целью предотвращения снижения качества и количества получаемого продукта.

В качестве эндогенных воздействий рассматриваются такие параметры как:

- контаминация культуры микроорганизмами,
- физические и химические факторы (pH, состав питательного субстрата, тип сосуда для культивирования, уровень аэрации, скорость перемешивания (для суспензионных культур), действия исполнителя-оператора и пр.).

Возникновение экзогенных рисков связано с процессами, протекающими «внутри» клеток (случайная фенотипическая или генотипическая изменчивость).

Таблица 3. Классификация рисков в технологии получения суспензионной культуры растительных клеток
Table 3. Classification of risks in plant cell suspension culture technology

По источнику возникновения / By source of origin		
Экзогенные / Exogenous		Эндогенные / Endogenous
По уровню приемлемости / According to the level of acceptability		
Приемлемые / Acceptable	Опасные / Dangerous	Неприемлемые (критические) / Unacceptable (critical)
По частоте возникновения / By frequency of occurrence		
Вероятные (частые) / Probable (frequent)		Маловероятные (редкие) / Unlikely (rare)
По природе / By nature		
Физические / Physical	Химические / Chemical	Биологические / Biological
По составу / By composition		
Простые / Simple		Комплексные (сложные) / Complex

Появление нежелательных событий зависит от комплекса факторов. При этом вероятностное отклонение от нормального состояния объекта может быть приемлемым в установленных диапазонах, опасным и неприемлемым (критическим). Опасное состояние характеризуется высокими рисками для объекта, которые обуславливают в дальнейшем критические состояния, приводящие к полной деградации биомассы.

Для категорирования рисков по приемлемости необходимо ввести показатель допустимого уровня риска $[R(t)]$. Развитие рисков во времени может быть описано некой функцией R от времени, которая изменяется определенным образом в пределах допустимого уровня (ПДУ) по мере выращивания культуры. На основании этого, составляется так называемая карта развития риска, включающая несколько областей: «рабочий» квадрант (область приемлемых состояний), область опасных состояний и область критических состояний. По оси абсцисс откладывается длительность процесса культивирования (t), по оси ординат – уровни изменения категорий рисков (R) от приемлемых до

критических. Дополнительно изображается уровень ПДУ в виде прямой, параллельной оси X .

Приемлемой моделью развития риска является участок функции в диапазоне от начального момента времени до времени ПДУ. Возникновение критических последствий риска возможно в случае, когда функция выходит за пределы указанного интервала. Исходя из этого, делается вывод о необходимости снижения вероятности внешних воздействий на объект (суспензионную культуру).

Очевидно, что для снижения вероятности возникновения нежелательных последствий необходим структурный анализ защищенности объекта от рисков экзогенной и эндогенной природы. С этой целью предложено использование диаграммы причинно-следственных связей. Алгоритм оценки защищенности суспензии клеток шлемника основан на выявлении критических точек (значимых факторов): исходное сырье в виде каллуса; питательный субстрат; оборудование (колбы с укупорочными средствами, автоклав, шейкер); действия оператора; технология получения клеточных культур и отбора проб для анализа характеристик биомассы (рис.2).

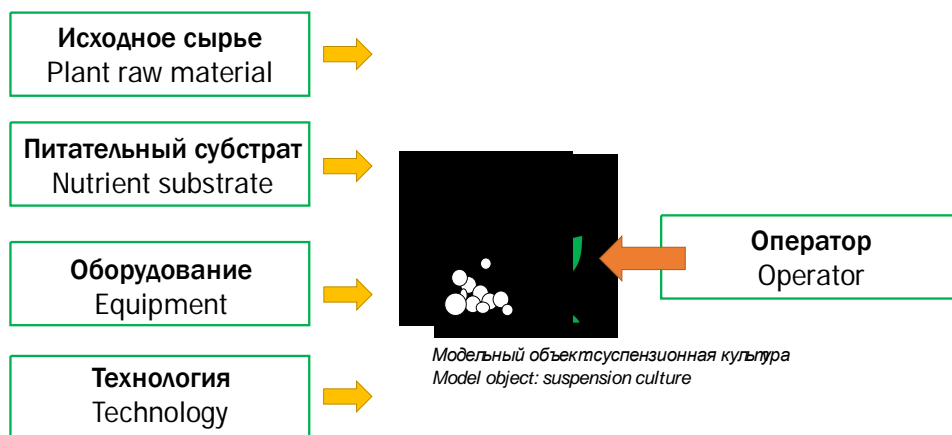


Рисунок 2. Критические точки процесса получения суспензионной культуры растительных клеток
Figure 2. Critical points of the plant cell suspension culture process

Существенное влияние на технологический процесс оказывает человеческий фактор. В частности, непосредственные действия оператора, выполняющего рутинные работы по пересадке суспензий, а также на этапе приготовления субстрата, внедрения и реализации технологии оказывают воздействие на защищенность объекта.

Поэтому появляется вероятность изменения категории риска, выходящего за пределы ПДУ. Для нивелирования нежелательных последствий целесообразной становится разработка стратегии оценки рисков культивирования растительных клеток

в лабораторных условиях. Преимуществами такого подхода являются соблюдение периодичности проведения процедуры на заданном уровне, а также обеспечение требуемых характеристик клеточной культуры.

Понятие «защищенность культуры» представляется как комплекс мер, который становится основной принятой решений по оптимизации процесса при риск-ориентированном подходе (рис.3). В качестве потенциальной модели рассматривается суспензия клеток растения.

Культивирование растительных клеток: оценка рисков

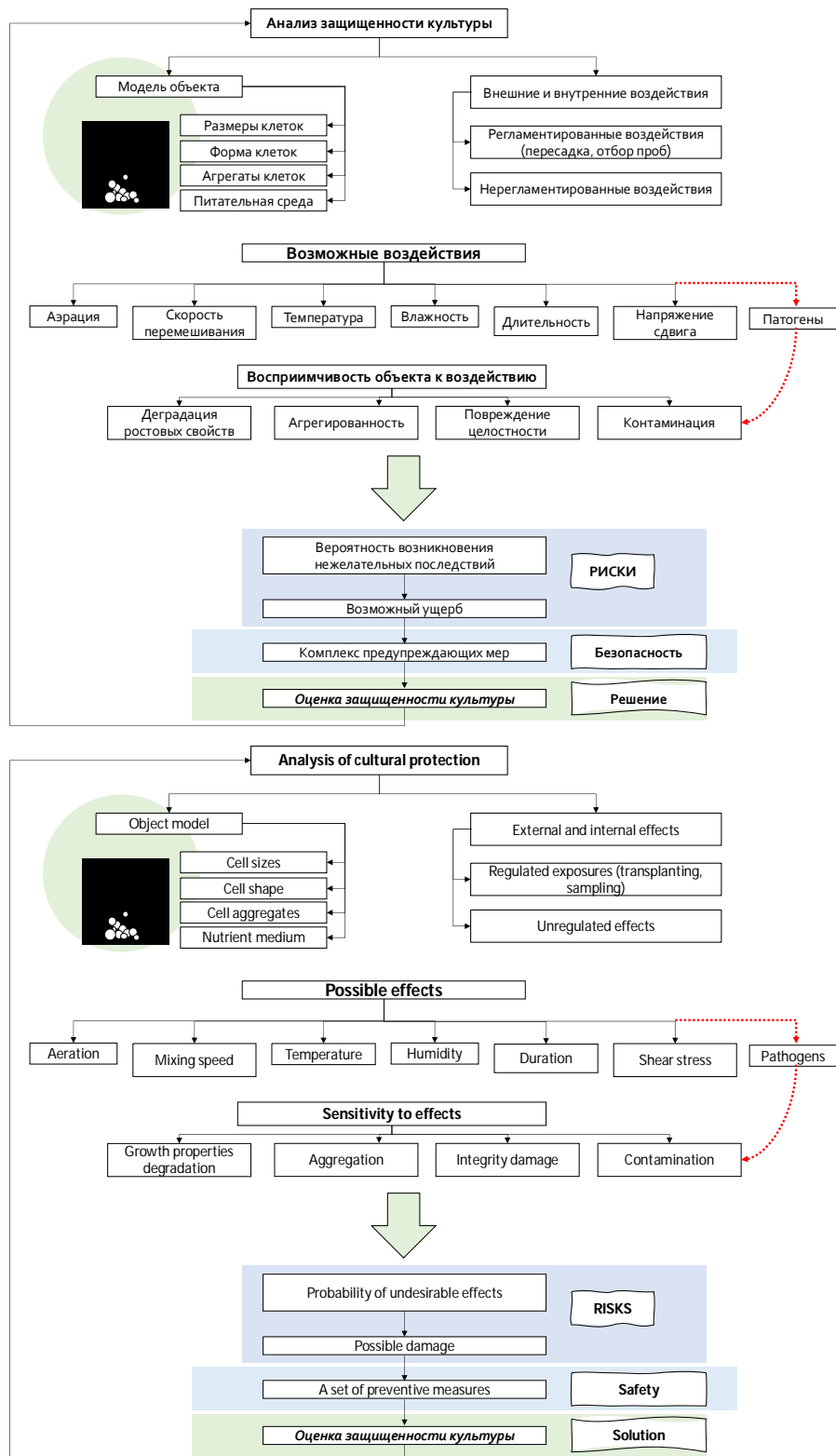


Рисунок 3. Алгоритм анализа защищенности суспензионной культуры
 Figure 3. Algorithm of suspension culture protection analysis

Для детализации и описания модели приводится перечень характеристик: размеры и форма клеток, наличие агрегатов и их габариты, состав питательной среды. Дополнительно отражаются условия экспозиции культуры: внешние регламентированные и внешние нерегламентированные. Для первой группы характерен выбор режима культивирования (условия аэрации, перемешивания, напряжения сдвига, температуры, влажности и освещенности). Группа внешних нерегламентированных условий подразумевает вероятность внесения патогенных микроорганизмов. Для оценки нежелательных последствий предлагаются следующие варианты:

1. деградация ростовых свойств биомассы,
2. высокая агрегированность,
3. нарушение целостности клеточных стенок,
4. контаминация.

После чего делаются выводы о вероятности возникновения нежелательных последствий, информируется комплекс предупреждающих мер.

Заключение

Таким образом, стратегия оценки рисков технологии лабораторного культивирования растительных клеток *in vitro* позволяет выявить вероятность возникновения нежелательных последствий с целью повышения качества продукта благодаря мониторингу критических точек процесса. Предложенный в контексте данной работы алгоритм анализа состояния суспензий клеток шлемника байкальского создает основу для модернизации существующей технологии и оптимизации процесса культивирования. Описанный подход соответствует направлению сохранения и поддержания природных ресурсов без нанесения существенного вреда окружающей среде. В конечном итоге, открываются возможности для направленного синтеза ценных вторичных метаболитов на основе биомассы из растительных клеток для создания препаратов, ингибирующих активность штаммов вируса SARS-CoV-2.

Литература

1. Харченко Е.П. Вакцины против COVID-19: сравнительная оценка рисков аденовирусных векторов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. №5. С.4-17. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-4-17
2. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-COV-2: сложности патогенеза, поиски вакцин и будущие пандемии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020. №3. С. 4-20. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20
3. Cascella M. et al. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>

4. Guerriero G. et al. Production of plant secondary metabolites: examples, tips and suggestions for biotechnologists // Genes (Basel). 2018. V.9. P. 309. DOI: 10.3390/genes9060309
5. Eibl R. et al. Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: Current state and future trends // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. V.102. P. 8661–8675. DOI: 10.1007/s00253-018-9279-8
6. Kumar R. et al. The Chronicle of COVID-19 and Possible Strategies to Curb the Pandemic // Curr Med Chem. 2021. V.28(15). P.2852-2886. doi: 10.2174/0929867327666200702151018
7. Liu H. et al. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2021. V. 36(1). P. 497-503. DOI: 10.1080/14756366.2021.1873977
8. Motolinia-Alcantara E.A. et al. Engineering considerations to produce bioactive compounds from plant cell suspension culture in bioreactors // Plants. 2021. V.10(12). P. 2762. DOI: 10.3390/plants10122762
9. Narayani M. et al. A stimulation of stress in in vitro plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production // Phytochem. Rev. 2017. V.16. P. 1227–1252. DOI: 10.1007/s11101-017-9534-0
10. Niazian M. Application of genetics and biotechnology for improving medicinal plants // Planta. 2019. V. 249. P. 953–973. DOI: 10.1007/s00425-019-03099-1
11. Patel A., Jernigan D.B. Initial public health response and interim clinical guidance for the 2019 novel coronavirus outbreak - United States, December 31, 2019-February 4, 2020 // MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2020. V.69(5). P. 140–146. DOI: 10.15585/mmwr.mm6905e1
12. Pei T. et al. Specific Flavonoids and Their Biosynthetic Pathway in *Scutellaria baicalensis* // Frontiers in Plant Science. 2022. V. 13. P. 866282. DOI: 10.3389/fpls.2022.866282
13. Remali J., Aizat W.M. A review on plant bioactive compounds and their modes of action against coronavirus infection // Front. Pharmacol. 2021. V.11. P. 589044. DOI: 10.3389/fphar.2020.589044
14. Tay M.Z. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention // Nat. Rev. Immunol. 2020. V.20(6). P. 363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8
15. Xiang L. et al. Therapeutic potential of *Scutellaria baicalensis* Georgi in lung cancer therapy // Phytomedicine. 2022. V.95. P. 153727. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153727

References

1. Cascella M. et al. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). In: StatPearls [Internet].

- Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
2. Guerriero G. et al. Production of plant secondary metabolites: examples, tips and suggestions for biotechnologists. *Genes (Basel)*. 2018. V.9. P. 309. DOI: 10.3390/genes9060309
 3. Eibl R. et al. Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: Current state and future trends. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102. P. 8661–8675. DOI: 10.1007/s00253-018-9279-8
 4. Kharchenko E.P. Vaccines against Covid-19: the Comparative Estimates of Risks in Adenovirus Vectors. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020. V.19(5). P.4-17. (In Russian) DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-4-17
 5. Kharchenko E.P. The Coronavirus SARS-Cov-2: the Complexity of Infection Pathogenesis, the Search of Vaccines and Possible Future Pandemics. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2020. V.19(3). P.4-20. (In Russian) DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-4-20
 6. Kumar R. et al. The Chronicle of COVID-19 and Possible Strategies to Curb the Pandemic. *Curr Med Chem*. 2021. V.28(15). P.2852-2886. doi: 10.2174/0929867327666200702151018
 7. Liu H. et al. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease *in vitro*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2021. V. 36(1). P. 497-503. DOI: 10.1080/14756366.2021.1873977
 8. Motolinia-Alcantara E.A. et al. Engineering considerations to produce bioactive compounds from plant cell suspension culture in bioreactors. *Plants*. 2021. V.10(12). P. 2762. DOI: 10.3390/plants10122762
 9. Narayani M. et al. A stimulation of stress in *in vitro* plant cell/tissue cultures for enhancement of secondary metabolite production. *Phytochem. Rev.* 2017. V.16. P. 1227–1252. DOI: 10.1007/s11101-017-9534-0
 10. Niazian M. Application of genetics and biotechnology for improving medicinal plants. *Planta*. 2019. V. 249. P. 953–973. DOI: 10.1007/s00425-019-03099-1
 11. Patel A., Jernigan D.B. Initial public health response and interim clinical guidance for the 2019 novel coronavirus outbreak - United States, December 31, 2019 - February 4, 2020. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2020. V.69(5). P. 140–146. DOI: 10.15585/mmwr.mm6905e1
 12. Pei T. et al. Specific Flavonoids and Their Biosynthetic Pathway in *Scutellaria baicalensis*. *Frontiers in Plant Science*. 2022. V. 13. P. 866282. DOI: 10.3389/fpls.2022.866282
 13. Remali J., Aizat W.M. A review on plant bioactive compounds and their modes of action against coronavirus infection. *Front. Pharmacol.* 2021. V.11. P. 589044. DOI: 10.3389/fphar.2020.589044
 14. Tay M.Z. et al. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat. Rev. Immunol.* 2020. V.20(6). P. 363–374. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8
 15. Xiang L. et al. Therapeutic potential of *Scutellaria baicalensis* Georgi in lung cancer therapy. *Phytomedicine*. 2022. V.95. 2021. P. 153727. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153727