

**ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ *CISTANCHE DESERTICOLA* И АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ****Рахимжанова А.О.<sup>1</sup> , Беккужина С.С.<sup>1</sup> , Қали Б.Р.<sup>1</sup> , Аргумбаева А.К.<sup>1</sup>, Түсіпқан Д.<sup>1</sup> , Манабаева Ш.А.<sup>1,2\*</sup> **<sup>1</sup> Национальный центр биотехнологии, 010000, Казахстан, г. Астана, Кургальжинское шоссе, 13/5<sup>2</sup> Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, 010000, Казахстан, г. Астана, ул. К. Сатпаева, 2

\*manabayeva@biocenter.kz

**АБСТРАКТ**

Цистанхе пустынная (*Cistanche deserticola*) содержит значительное количество флавоноидов и других ценных биологически активных соединений, что делает её перспективным объектом для фармакологических исследований, а также разработки новых лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Введение цистанхе в культуру *in vitro* и получение суспензионных клеточных линий с высокой пролиферативной активностью открывает новые перспективы для устойчивого и эффективного производства биомассы с сохранением ее уникальных свойств. В результате наших исследований получены каллусные линии, различающиеся по окраске от светлой до темно-коричневой. Этот факт свидетельствует о гетерогенности клеточных масс, что связано с особенностями синтеза метаболитов в условиях *in vitro*. Впервые нами были получены клеточные линии цистанхе пустынной и изучена их устойчивая пролиферация в суспензионной культуре. Количественный анализ содержания биоактивных веществ в суспензионных культурах, проведенный методом ВЭЖХ-МС с использованием стандартов апигенина, рутина и кверцетина, выявил снижение содержания флавоноидов в клеточных культурах с более темной окраской. Это может свидетельствовать об изменении метаболической активности клеток по мере их дифференцировки. Полученные данные могут иметь значение для целенаправленного регулирования синтеза биоактивных соединений в культуре клеток цистанхе.

**Ключевые слова:** *Cistanche deserticola*, флавоноиды, *in vitro*, суспензионная клеточная культура, каллус, метаболиты, пролиферативная активность

**ВВЕДЕНИЕ**

Технология *in vitro* позволяет получать экологически чистое сырье в любое время года, независимо от климатических условий и сложности сбора, а также увеличивать выход биологически активных веществ за счет регулирования их накопления в культуре [1]. Однако, как и большинство паразитических растений, цистанхе пустынная (*C. deserticola*) остается малоизученной как в Казахстане, так и мире. Растение представляет значительный научный и практический интерес, как с точки зрения фундаментальных исследований, так и для разработки фармацевтических препаратов.

Цистанхе пустынная – многолетнее паразитическое растение, прикрепляющееся к корням псаммофитов, таких как саксаул зайсанский (*Haloxylon ammodendron*), саксаул персидский (*Haloxylon persicum*), кермек листовой (*Kochia foliatum*) и тамарикс (*Tamarix*). Псаммофиты — это растения, адаптированные к жизни в песчаных почвах засушливых и бедных питательными веществами регионов. Они обладают особыми приспособлениями, такими как развитая корневая система для добычи воды и высокая устойчивость к засухе и жаре [2]. Цистанхе пустынная содержит в пять раз больше биологически активных веществ (БАВ), чем женьшень, благодаря чему получила название «казахстанский женьшень» или «женьшень пустыни» [3]. В Казахстане представлены три вида цистанхе: желтая (*Cistanche flava*), солончаковая (*Cistanche salsa*) и сомнительная (*Cistanche ambigua*). В литературе *Cistanche ambigua* рассматривается как синоним *Cistanche deserticola*. Хотя по данным сайта Plants of the World Online (POWO) *C. deserticola* имеет только одного синонима *Cistanche deserticola* var. *flabellata* Cao & Q. Ma [4]. *C. flabellata* была впервые описана в 2011 году как отдельный вид, однако последующие

исследования показали, что она является синонимом *C. deserticola*, то есть оба названия обозначают один и тот же вид [5-6].

*C. deserticola* содержит широкий спектр химических компонентов, включая гликозиды фенилэтанола, иридоидные терпены, лигнаны и другие вещества, а также полисахариды, монотерпеновые и фенольные гликозиды, стерины, флавоноиды, алкалоиды, аминокислоты, минералы и микроэлементы [7]. Современные исследования подтверждают, что биологически активные соединения *C. deserticola* обладают широким спектром фармакологических свойств, включая геропротекторное, антидепрессивное, противоопухолевое и остеопротекторное действие [8-11]. Несмотря на то, что Казахстан является основным поставщиком цистанхе в КНР, ее использование внутри страны остается ограниченным из-за недостаточной изученности [12].

В частности, цистанхе содержит значительное количество флавоноидов, таких как рутин, обладающих антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Флавоноиды играют важную роль в защите клеток от окислительного стресса, уменьшают воспалительные процессы и способствуют профилактике различных заболеваний, включая сердечно-сосудистые. Различные классы флавоноидов, такие как флавоны, флавонолы, флаваноны и антоцианы, отличаются по структуре и биологическими свойствами. Например, кверцетин и мирицетин, относящиеся к флавонолам, известны своей способностью снижать воспаление в организме [13].

В последние годы исследования сосредоточены на изучении процессов роста клеточной массы и синтеза вторичных метаболитов в условиях культуры *in vitro*.

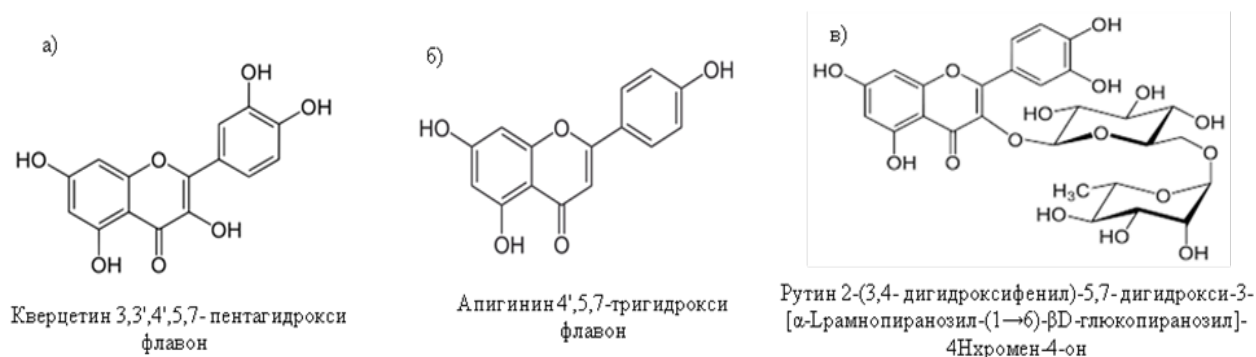


Рисунок 1 – Структурная формула флавоиоиов: а - Кверцетин, б – Апигинин, в - Рутин

Теоретические и прикладные аспекты культивирования клеток и тканей, а также успехи получения суспензионной культуры описаны во многих работах [14]. Клеточные культуры, особенно суспензионные, представляют собой перспективный метод получения растительных метаболитов. В отличие от каллусных культур, суспензионные культуры характеризуются большей однородностью и воспроизводимостью результатов, что облегчает изучение влияния различных факторов на их рост и метаболизм [15, 16].

Тем не менее, существуют случаи, когда синтез искоемых метаболитов в культуре клеток происходит на более низком уровне, чем в интактных растениях. Известны также случаи синтеза новых, ранее не обнаруженных в растениях соединений. Проллиферация клеток зависит от множества факторов, включая генетические и физиологические характеристики, а также условия культивирования, такие как соотношение объема среды и клеточной массы.

Целью данного исследования являлось изучение пролиферативной активности суспензионных клеточных культур *C. deserticola*, а также проведение количественного анализа содержания флавоиоиов для оценки метаболической активности клеток.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись растения *C. deserticola*, собранные в пустыне «Бетпак дала» Южно-Казахстанской области (46°02'00» с.ш., 70°12'00» в.д.) (рисунок 2). Сбор растительного материала проводили в периоды, соответствующие началу вегетации и завершению цветения.

Работы по культуре *in vitro* проводились с использованием общепринятых методов культуральных исследований. Для получения каллусных культур в качестве эксплантов использовали семена *C. deserticola*, стерилизованные последовательной обработкой 70% этанолом, 10% раствором гипохлорита натрия с добавлением твин-20.

В качестве питательной среды для индукции каллусогенеза и получения суспензионных культур клеток использовали минеральную основу по прописи Мурасиге Скуга (МСЦ) и Гамборга В5 [17, 18] с добавлением 800 мг/л гидролизата казеина. В качестве источника углерода использовали сахарозу в концентрации 30 г/л, рН 5,8. Культивирование каллусных культур проводили в темноте при температуре 25°C. Оптимизацию питательной среды [19] осуществляли путем введения экзогенных регуляторов роста: 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) в концентрации 1,0 мг/л, гибберелловой кислоты (ГК3) – 10,0 мг/л и бензиламинопурина (БАП) – 0,5 мг/л. Периодичность пересадки каллусных культур на свежую питательную среду составляла 28–30 суток.

Индекс роста каллусных культур определялся через 5 недель культивирования и вычислялся по формуле:

$$I = \frac{W_1 - W_0}{W_1} \times 100\%,$$

где  $W_0$  — начальная масса каллуса, мг;  $W_1$  — масса каллуса в конце цикла выращивания, мг.

Суспензионные клеточные культуры выращивали в плоскдонных колбах объемом 250 мл (рабочий объем 25 мл) на орбитальном шейкере при скорости 120 об/мин. Пассирование проводили каждые 14–16 дней, перенося инокулят на свежую питательную среду в соотношении



Рисунок 2 - Место сбора материала (а) и растение цистанхе, произрастающее в природе (б,в)

1:10.

Ростовую активность оценивали по динамике накопления сырой и сухой биомассы в течение полного цикла культивирования. Для этого в каждой временной точке (с интервалом в 5 суток после переноса инокулята на свежую питательную среду) отбирали 10 мл культуры и измеряли оптическую плотность (ОП) суспензии клеток при длине волны 560 нм. Массу сырой и сухой биомассы определяли до и после высушивания в сушильном шкафу при 60 °С. Дополнительно анализировали зависимости прироста биомассы от начального количества инокулята (10 мл, 20 мл, 30 мл) в суспензионных культурах трех линий клеток, отличающихся по цвету (светлые, темно-серые, коричневые).

Жизнеспособность каллусных тканей определяли методом окрашивания метиленовым синим в трехкратной повторности на трех независимых клеточных линиях. Количество жизнеспособных (неокрашенных) и погибших (окрашенных) клеток анализировали с использованием световой микроскопии [20].

Определение содержания флавоноидов в экстрактах суспензионной клеточной культуры цистанхе пустынной проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) марки (Agilent 1100) в изократическом режиме. В качестве аналитической колонки применяли Zorbax SB-C18 (5 мкм, 4,6 x 150 мм). Элюирование осуществляли в градиентном режиме с использованием подвижной фазы, состоящей из 1% раствора уксусной кислоты и ацетонитрила в соотношении 1:1. Детекция веществ, содержащих флавоноиды, осуществлялась при длинах волн 254 и 289 нм. Количественное содержание флавоноидов в образцах определяли методом сравнения с внешним стандартом (апигенин, рутин и кверцетин). Обработка данных была выполнена с помощью программного обеспечения Chem-Station.

В качестве контрольного образца использовали экстракт семян *C. deserticola*, из которых были индуцированы каллусные культуры. Идентификацию флавоноидных соединений осуществляли с применением стандартных образцов апигенина, рутина и кверцетина.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Особенности каллусогенеза *Cistanche deserticola*

В ходе эксперимента получены каллусные культуры *C. deserticola*, различающиеся по окраске от светло-жёлтого до темно-коричневого. Вариативность цветовой гаммы каллусных тканей указывает на гетерогенность клеточных популяций, что может отражать различия в их метаболической активности. Отбор каллусных тканей по окраске является значимым этапом при изучении синтеза

вторичных метаболитов, поскольку клетки разных популяций могут продуцировать различные биологически активные соединения. Предположительно, дубильные вещества, синтезируемые цистанхе, могут выступать ингибиторами целевых продуктов метаболизма культуры.

Полученные данные свидетельствуют о том, что морфологические особенности каллусных культур играют значимую роль в регуляции вторичного метаболизма. Для получения суспензионных культур отбирались каллусные ткани с менее плотной структурой, что обеспечивало более эффективную пролиферацию клеток в жидкой среде. В связи с выраженными различиями в окраске каллусов была проведена их условная классификация на три линии: I-линия: состояла из светлых каллусов, II-линия из темно-серых (промежуточные) и III-линия из темно-коричневых каллусов (рисунок 3).

Изученные линии каллусных культур *C. deserticola*



Рисунок 3 – Каллусные линии (I, II и III) *C. deserticola*

демонстрировали различия не только в морфологических, но и в физиологических характеристиках (таблица 1).

Через четыре недели культивирования отмечено значительное увеличение массы каллусов I-линии (78,76%), что свидетельствует о высокой пролиферативной активности клеток данной группы (таблица 1). В то же время установлено, что клетки III-линии характеризуются низкой пролиферативной активностью (54,42%), однако сохраняют жизнеспособность в течение длительного времени даже без регулярного пересева на свежую питательную среду. Данные результаты позволяют предположить, что клетки III-линии находятся в состоянии метаболического покоя, что может быть связано с особенностями синтеза вторичных метаболитов.

Анализ жизнеспособности клеточных популяций показал, что большинство темных каллусных линий, аналогично светлым, сохраняют высокий уровень клеточной жизнеспособности: доля неокрашенных (жизнеспособных) клеток составила более 70%.

Таким образом, в результате исследования были выделены три линии каллусных культур, из которых две активно делились, формируя рыхлые структуры различной окраски, от светло-бежевой до темно-коричневой. Полученные результаты позволяют предположить, что цветовая дифференциация каллусных тканей может быть связана с особенностями синтеза вторичных метаболитов и отражает различные уровни

Таблица 1 – Пролиферативная активность каллусной массы *C. deserticola*

| Отобранные линии | Начальная масса каллусов, мг. | Масса каллусов через 4 недели, мг. | Прирост каллусной массы, % |
|------------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| I                | 48,78±0,02                    | 229,63±0,22                        | 78,76                      |
| II               | 46,35±0,03                    | 172,27±0,18                        | 73,09                      |
| III              | 45,67±0,05                    | 100,19±0,37                        | 54,42                      |

метаболической активности клеток.

### Изучение пролиферативной активности суспензионных клеток *C. deserticola*

Оптимизация начальной плотности клеточной суспензии является ключевым фактором для получения суспензионных культур с высокой пролиферативной активностью. Данный параметр определяется не только составом питательной среды, но и критически зависит от соотношения объема питательной среды к количеству вносимой клеточной биомассы. Результаты экспериментов продемонстрировали существенное влияние объема инокулята на ростовые характеристики суспензионных культур. Согласно данным, представленным на рисунке 4, латентная фаза роста суспензионной культуры, состоящей из темно-серых клеток цистанхе, при объеме инокулята 10 мл продолжалась почти 15 суток. В то же время суспензионная культура с объемом инокулята 20 и 30 мл (II, III) демонстрировали резкое повышение ростовой активности, свидетельствующие о более резком переходе в логарифмическую фазу. При этом для культуры с объемом инокулята 20 мл логарифмическая фаза продолжалась до 15 суток, а для культур с объемом инокулята 30 мл - до 5 суток, после чего наступала стационарная фаза с незначительными изменениями оптической плотности.

Анализ динамики накопления сухой биомассы с интервалом в 5 суток после культивирования показал более высокий индекс роста в культурах с объемом

инокулята 20 и 30 мл (варианты II и III соответственно) по сравнению с культурой (10 мл, вариант I). Полученные данные позволили построить кривые роста, отражающие динамику развития культур в течение полного цикла культивирования (25 суток).

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, пролиферативная активность культур *C. deserticola* зависит от объема инокулята. Суспензионные культуры с исходным объемом инокулята 20 и 30 мл демонстрировали стабильную пролиферацию, тогда как при минимальном объеме инокулята (10 мл) отмечена специфическая динамика роста с резким увеличением оптической плотности на пятнадцатое сутки культивирования с последующим значительным снижением. Ускоренный рост на начальных этапах культивирования, вероятно обусловлен отсутствием лимитирующих факторов, тогда как резкое снижение может свидетельствовать о быстром истощении питательной среды и накоплении ингибирующих метаболитов в замкнутой системе культивирования.

### Анализ количественного содержания флавоноидов в суспензионной клеточной культуре *C. deserticola*

Флавоноиды – биологически активные полифенольные соединения, обладающие антиоксидантными, противовоспалительными и другими полезными свойствами. Содержание флавоноидов в различных клеточных линиях может отличаться в зависимости от ряда факторов, таких как тип клеток, условия их

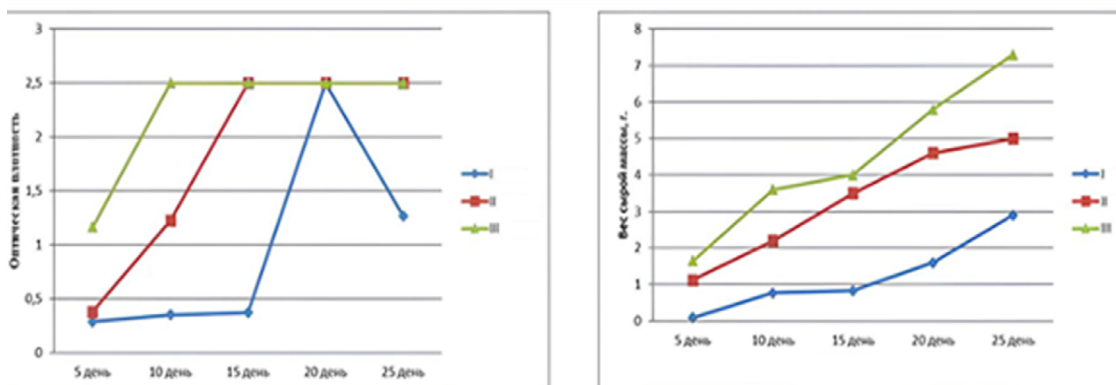


Рисунок 6 - Определение концентрации суспензионных культур с использованием оптической плотности и веса сухой массы

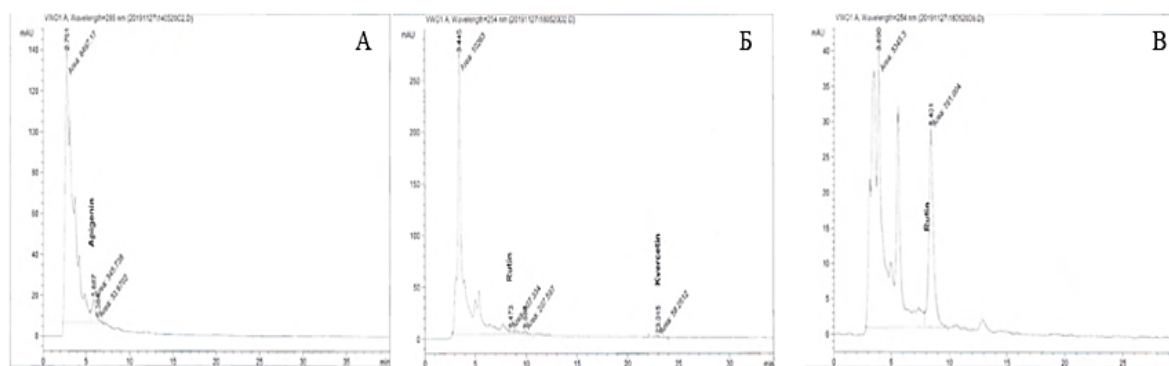


Рисунок 7 – ВЭЖХ-хроматограмма этанольных экстрактов цистанхе пустынной:

А - концентрация апигенина и рутина в экстракте из клеток суспензионной культуры (на примере линии III); Б- содержание апигенина, рутина и кверцетина в экстракте из клеток суспензионной культуры (на примере линии I);

В - содержание рутина в экстракте из семян

культивирования и особенности метаболических процессов. Некоторые клеточные линии могут синтезировать флавоноиды в больших количествах, что обусловлено различиями в активности ферментов, участвующих в их биосинтезе, или адаптацией клеток к определённым условиям окружающей среды. Масс-спектрометрический анализ демонстрировал структурные различия между изучаемыми соединениями (рисунок 7).

Результаты количественного содержания флавоноидов в исследуемых образцах приведены в таблице 2 и 3.

Количественный анализ показал значительную вариабельность содержания флавоноидов в исследуемых образцах - от 0,01% до 0,52% (таблица 2). Максимальная концентрация флавоноидов была зарегистрирована в экстрактах линии I, полученных из светлых клеточных культур. Наблюдалась четкая корреляция между морфологическими характеристиками клеточных культур и содержанием флавоноидов: отмечалось последовательное снижение их концентрации при переходе от светлых к коричневым клеточным культурам.

Хроматографический анализ выявил существенные различия в качественном составе флавоноидов. Рутин был идентифицирован как доминирующий флавоноид в экстрактах из семян цистанхе, тогда как апигенин и кверцетин в этих образцах обнаружены не были. Примечательно, что кверцетин регистрировался исключительно в экстрактах клеточных культур линии I.

Результаты ВЭЖХ-МС анализа, представленные в таблице 3 продемонстрировали значимые различия в хроматографическом поведении исследуемых флавоноидов. Апигенин характеризовался наиболее коротким временем удерживания (5,79-5,96 мин), что свидетельствует о его относительно низкой полярности и меньшей молекулярной массе по сравнению с другими соединениями данной группы.

Рутин проявлял промежуточные характеристики

с временем элюции в диапазоне 8,40-9,07 мин, тогда как кверцетин отличался максимальным временем удерживания (23,02 мин), что указывает на его более сложной молекулярной структуре и выраженной полярности по сравнению с другими исследуемыми соединениями. Для апигенина были зарегистрированы характерные ионы с  $m/z$  345,74; 97,53 и 56,23. Рутин проявлял пики при  $m/z$  125,58; 80,46 и 26,27 в клеточных культурах и 761,00 в семенах. Кверцетин идентифицировался по иону с  $m/z$  58,26. Полученные масс-спектры подтверждают молекулярную структуру соединений и демонстрируют различия в их фрагментационных паттернах.

Исходя из полученных данных, следует, что апигенин обладает наименьшей молекулярной массой и полярностью среди исследуемых флавоноидов. Рутин занимает промежуточное положение по изученным параметрам, имеет более высокую молекулярную массу и более сложную структуру, что отражается в его более позднем времени выхода и разнообразных значениях. Кверцетин характеризуется наиболее сложной структурой, что проявляется в его хроматографическом поведении и масс-спектральных характеристиках.

Таким образом, методом ВЭЖХ-МС установлено присутствие основных флавоноидных веществ в клеточной культуре *C. deserticola*. установлено количественное содержание апигенина, рутина и кверцетина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возрастающий интерес к источникам альтернативного сырья для получения лекарственных препаратов подчеркивает важность изучения вторичных метаболитов в культивируемых *in vitro* тканях растений. Получение новых клеточных культур и анализ содержания биологически активных веществ, а также

| №<br>п/п | Образец                      | Количественное содержание<br>по данным ВЭЖХ, % |       |           |
|----------|------------------------------|------------------------------------------------|-------|-----------|
|          |                              | Апигенин                                       | Рутин | Кверцетин |
| 1        | I линия (светлые)            | 0.52                                           | 0.07  | 0.03      |
| 2        | II линия (темно-серые)       | 0.26                                           | 0.07  | не обн.   |
| 3        | III линия (темно-коричневые) | 0.08                                           | 0.01  | не обн.   |
| 4        | Семена цистанхе              | не обн.                                        | 0.31  | не обн.   |

Таблица 3 - Основные флавоноиды идентифицированные методом ВЭЖХ-МС

| № | Наименование | Линия    | $R_t$ , мин. | Основные ионы<br>в масс-спектре,<br>$m/z$ . | УФ- спектр, $\lambda_{max}$<br>, нм. |
|---|--------------|----------|--------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Апигенин     | Стандарт | 5,66         | 7513,51                                     | 289                                  |
|   |              | I        | 5,89         | 345,74                                      | 289                                  |
|   |              | II       | 5,79         | 97,53                                       | 289                                  |
|   |              | III      | 5,96         | 56,23                                       | 289                                  |
| 2 | Рутин        | Стандарт | 8,76         | 37518,4                                     | 254                                  |
|   |              | I        | 8,79         | 125,58                                      | 254                                  |
|   |              | II       | 9,07         | 80,46                                       | 254                                  |
|   |              | III      | 9,03         | 26,27                                       | 254                                  |
|   |              | Семена   | 8,40         | 761,00                                      | 254                                  |
| 3 | Кверцетин    | Стандарт | 23,35        | 24669,7                                     | 254                                  |
|   |              | I        | 23,02        | 58,26                                       | 254                                  |

разработка высокопродуктивных клеточных линий-продуцентов, является важным направлением в области биотехнологий и фармацевтической промышленности. Совершенствование методов химического анализа также играет ключевую роль в обновлении и улучшении сырья для фармацевтического производства. Использование новых клеточных культур и высокопродуктивных линий клеток позволяет фармацевтическим компаниям обновлять сырьевые ресурсы, что важно для обеспечения качества и стабильности продукции. Разработка новых и улучшенных методов получения активных веществ помогает снизить зависимость от традиционных источников сырья, таких как природные растения, и повысить экономическую эффективность. Интеграция новых технологий в биотехнологическую и фармацевтическую промышленность открывает новые горизонты для разработки высококачественного и высокопродуктивного сырья. Использование современных методов получения клеточных культур и химического анализа помогает создать препараты с гарантированным качеством, что крайне важно для здравоохранения и фармацевтики.

Отбор каллусных линий в культуре *in vitro* представляет собой альтернативный метод получения фармацевтических веществ. Культивирование клеток и тканей связано с рядом экономических и экологических преимуществ, включая сохранение природных ресурсов. Впервые была получена устойчивая пролиферация суспензионных клеток цистанхе пустынной и определена стабильная пролиферативная активность из трех линий клеток. Установлено количественное содержание флавоноидов, как наиболее распространенных вторичных метаболитов в растительном мире, и являющихся основными действующими веществами во многих видах лекарственного растительного сырья.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках программы BR21882180 «Разработка программы сохранения и развития ресурсной базы перспективных для медицины и ветеринарии растений Казахстана в условиях изменяющегося климата» на 2023-2025 гг., поддержанной Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Schmauder H.P., Doebel P. *Nigella* spp.: In Vitro Culture, Regeneration, and the Formation of Secondary Metabolites // In: Medicinal and Aromatic Plants III. Springer. – 1991. – P. 311-338.
- Куркин В., Куркина А., Авдеева Е. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений // Фундаментальные исследования. – 2013. – Т.11, № 9. – С. 1897-1901.
- Турсунов Ж.И., Ибрагимов А.А. Флавоноидный состав стеблей и семян растения *Cistanche mongolica* g. Beck, произрастающего в ферганской области Узбекистана // Universum: химия и биология. – 2023. – Т. 107. – С.25-30.
- Jiang Y., Tu P.F. Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species // Journal of chromatography A. – 2009. – Vol. 1216, № 11. – P. 1970-1979.
- Каржаубекова Ж., Гемеджиева Н. Фитохимическое исследование растений рода цистанхе (*Cistanche hoffmngg. et Link*) // Вестник КазНУ: Серия биология – 2013. – Т 3, № 2. – С. 59.
- Govaerts, R., Nic Lughadha, E., Black, N., Turner, R. & Paton, A. (2021). The World Checklist of Vascular Plants, a continuously updated resource for exploring global plant diversity. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-00997-6>. Scientific Data 8: 215. [Cited as *Cistanche deserticola*.]
- Zhang S., Ma Y., Chen J., Yu M., Zhao Q., Jing B., Yang N., Ma X., Wang Y. Chemical composition, pharmacological effects, and parasitic mechanisms of *Cistanche deserticola* // An update. Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology. – 2024. – P. 155808.
- Wang N., Ji S., Zhang H., Mei S., Qiao L., Jin X. *Herba Cistanches*: Anti-aging // Aging and disease. – 2017. – Vol. 8, № 6. – P. 740-759.
- Wang D., Wang H., Gu L. The Antidepressant and Cognitive Improvement Activities of the Traditional Chinese Herb *Cistanche* // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2017. – P. 1-9.
- Zhang H., Xiang Z., Duan X., Jiang J.L., Xing Y.M., Zhu C., Song Q., Yu Q.R. Antitumor and anti-inflammatory effects of oligosaccharides from *Cistanche deserticola* extract on spinal cord injury // International journal of biological macromolecules. – 2019. – Vol. 124. – P. 360-367.
- Zhang B., Yang L.L., Ding S.Q., Liu J.J., Dong Y.H., Li Y.T., Li N., Zhao X.J., Hu C.L., Jiang Y. et. al. Anti-Osteoporotic Activity of an Edible Traditional Chinese Medicine *Cistanche deserticola* on Bone Metabolism of Ovariectomized Rats Through RANKL/RANK/TRAF6-Mediated Signaling Pathways // Frontiers in pharmacology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1412.
- Жакупова А., Сарсенбаев К. Некоторые особенности цистанхе пустынной (*Cistanche deserticola*). – 2013. – С. 1-2.
- Varma V. Advancements in the production of secondary metabolites // Journal of Natural Products. – 2010. – Vol.3. – P. 112-123.
- Huang T.K., Plesha M.A, Falk B.W., Dandekar A.M., McDonald K.A. Bioreactor strategies for improving production yield and functionality of a recombinant human protein in transgenic tobacco cell cultures // Biotechnology and Bioengineering. – 2009. – Vol. 102, № 2. – P. 508-520.
- Бутенко Р. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе // ФБк-Пресс. – 1999. – Т. 160. – С. 3.
- Носов А. Регуляция синтеза вторичных соединений в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. / М: Наука. – 1991. – С. 5-20.
- Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T.Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. — 1962. — Vol. 15. — P. 473-497
- Gamborg O. L. et al. Plant tissue culture media //In vi-

tro. – 1976. – Т. 12. – №. 7. – С. 473-478.

19. Беккужина С.С., Рахимжанова А.О., Талканбаева А.К., Манабаева Ш.А. Индукция каллусогенеза в культуре изолированных семян *Cistanche Deserticola* // Вестник ЕНУ имени Л.Н. Гумилева. Серия биологические науки. – 2020. – Том 4 (133). – С.44-52.

20. Носов А.М. Методы оценки и характеристики роста культур клеток высших растений // Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 487 с.

## REFERENCE

1. Schmauder H.P., Doebl P. Nigella spp.: In Vitro Culture, Regeneration, and the Formation of Secondary Metabolites // In: Medicinal and Aromatic Plants III. Springer. – 1991. – P. 311-338.

2. Kurkin V., Kurkina A., Avdeeva E. Flavonoids as biologically active compounds of medicinal plants /Kurkin V., Kurkina A., Avdeyeva Ye. Flavonoidy kak biologicheski aktivnyye soyedineniya lekarstvennykh rasteniy // Fundamental research. - 2013. – Vol.11, №. 9. – P. 1897-1901. [In Russian].

3. Tursunov Zh.I., Ibragimov A.A. Flavonoid composition of stems and seeds of the plant *Cistanche mongolica* g. Beck, growing in the Fergana region of Uzbekistan / Tursunov Zh.I., Ibragimov A.A. Flavonoidnyy sostav stebley i semyan rasteniya *Cistanche mongolica* g. Beck, proizrastayushchego v ferganskoy oblasti Uzbekistana // Universum: chemistry and biology. – 2023. – Vol. 107. – P.25-30. [In Russian].

4. Jiang Y., Tu P.F. Analysis of chemical constituents in *Cistanche* species // Journal of chromatography A. – 2009. – Vol. 1216, № 11. – P. 1970-1979.

5. Karzhaubekova Zh., Gemedzhieva N. Phytochemical study of plants of the genus *Cistanche* (*Cistanche hoffm. et Link*) /Karzhaubekova ZH., Gemedzhiyeva N. Fitokhimicheskoye issledovaniye rasteniy roda tsistankhe (*Cistanche hoffm. et Link*) // Bulletin of KazNU: Biology Series – 2013. – Vol. 3, №. 2. – P. 59. [In Russian].

6. Isabaev S.O. Biological characteristics of Kazakhstani species of *Cistanche*. Modern directions of studying botanical collections for conservation and rational use of plant biodiversity / Isabayev S.O. Biologicheskaya kharakteristika Kazakhstanskikh vidov tsistankhe. Sovremennyye napravleniya izucheniya botanicheskikh kollektsey dlya sokhraneniya i ratsional'nogo ispol'zovaniya bioraznoobraziya rastitel'nogo mira // Problems of conservation of biological diversity and use of biological resources. - 2015. – Vol. 2. – P. 376-379. [In Russian].

7. Zhang S., Ma Y., Chen J., Yu M., Zhao Q., Jing B., Yang N., Ma X., Wang Y. Chemical composition, pharmacological effects, and parasitic mechanisms of *Cistanche deserticola* // An update. Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology. – 2024. – P. 155808.

8. Wang N., Ji S., Zhang H., Mei S., Qiao L., Jin X. Herba Cistanches: Anti-aging // Aging and disease. – 2017. – Vol. 8, № 6. – P. 740-759.

9. Wang D., Wang H., Gu L. The Antidepressant and

Cognitive Improvement Activities of the Traditional Chinese Herb *Cistanche* // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2017. – P. 1-9.

10. Zhang H., Xiang Z., Duan X., Jiang J.L., Xing Y.M., Zhu C., Song Q., Yu Q.R. Antitumor and anti-inflammatory effects of oligosaccharides from *Cistanche deserticola* extract on spinal cord injury // International journal of biological macromolecules. – 2019. – Vol. 124. – P. 360-367.

11. Zhang B., Yang L.L., Ding S.Q., Liu J.J., Dong Y.H., Li Y.T., Li N., Zhao X.J., Hu C.L., Jiang Y. et. al. Anti-Osteoporotic Activity of an Edible Traditional Chinese Medicine *Cistanche deserticola* on Bone Metabolism of Ovariectomized Rats Through RANKL/RANK/TRAF6-Mediated Signaling Pathways // Frontiers in pharmacology. – 2019. – Vol. 10. – P. 1412.

12. Zhakupova A., Sarsenbaev K. Some features of the desert *cistanche* (*Cistanche deserticola*). / Zhakupova A., Sarsenbayev K. Nekotoryye osobennosti tsistankhe pustynnoy (*Cistanche deserticola*). – 2013. – P. 1-2. [In Russian].

13. Varma V. Advancements in the production of secondary metabolites // Journal of Natural Products. – 2010. – Vol.3. – P. 112-123.

14. Huang T.K., Plesha M.A., Falk B.W., Dandekar A.M., McDonald K.A. Bioreactor strategies for improving production yield and functionality of a recombinant human protein in transgenic tobacco cell cultures // Biotechnology and Bioengineering. – 2009. – Vol. 102, № 2. – P. 508-520.

15. Butenko R. Biology of higher plant cells in vitro and biotechnology based on them / Butenko R. Biologiya kletok vysshikh rasteniy in vitro i biotekhnologii na ikh osnove // FBk-Press. – 1999. – Vol. 160. – P. 3. [In Russian].

16. Nosov A. Regulation of the synthesis of secondary compounds in plant cell culture / Nosov A. Regulatsiya sinteza vtorichnykh soyedineniy v kul'ture kletok rasteniy // Biologiya kul'tiviruyemykh kletok i biotekhnologiya rasteniy // Biology of cultured cells and plant biotechnology. / M: Nauka. – 1991. – P. 5-20. [In Russian].

17. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T.Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. — 1962. — Vol. 15. — P. 473-497

18. Gamborg O. L. et al. Plant tissue culture media //In vitro. – 1976. – Т. 12. – №. 7. – С. 473-478.

19. Bekkuzhina S.S., Rakhimjanova A.O., Talkanbayeva A.K., Manabayeva Sh.A Induction of callusogenesis in a culture of isolated seeds of *Cistanche Deserticola*/ Bekkuzhina S.S., Rakhimjanova A.O., Talkanbayeva A.K., Manabayeva Sh.A. Induktsiya kallusogeneza v kulture izolirovannykh semyan *Cistanche Deserticola*// Bulletin of the L.N. Gumilyov Eurasian National University. Series Biological Sciences. — 2020.—Vol. 4 (133). —P.44-52. [In Russian].

20. Nosov A.M. Methods of evaluation and characteristics of growth of cell cultures of higher plants/ Nosov A.M. Metody otsenki i kharakteristiki rosta kul'tur kletok vysshikh rasteniy // Molekulyarno-geneticheskie i biokhimicheskie metody v sovremennoy biologii rasteniy.// Molecular genetic and biochemical methods in modern plant biology. - M.: BINOM. Laboratory of knowledge, 2012. - 487 p. [In Russian].

**CISTANCHE DESERTICOLA ПРОЛИФЕРАТИВТІ ҚАБІЛЕТТІЛІГІ ЖӘНЕ ЖАСУША КУЛЬТУРАСЫНДАҒЫ ФЛАВОНОИДТАРДЫҢ САНДЫҚ ҚҰРАМЫН ТАЛДАУ****Рахимжанова А.О.<sup>1</sup>, Беккужина С.С.<sup>1</sup>, Қали Б.Р.<sup>1</sup>, Аргумбаева А.К.<sup>1</sup>, Түсіпқан Д.<sup>1</sup>, Манабаева Ш.А.<sup>1,2\*</sup>**<sup>1</sup> Ұлттық биотехнология орталығы, Қорғалжын көшесі 13/5, Астана, 010000, Қазақстан<sup>2</sup> Л.Н.Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, Сәтбаев көшесі 2, Астана, 010000, Қазақстан

\*manabayeva@biocenter.kz

**АБСТРАКТ**

Шөлді цистанхе (*Cistanche deserticola*) құрамында флавоноидтар мен басқа да құнды биоактивті қосылыстардың едәуір мөлшері бар, бұл оны фармакологиялық зерттеулерге, сондай-ақ жаңа препараттар мен диеталық қоспаларды дайындауға перспективті нысан етеді. Цистанхені *in vitro* жағдайында өсіру үшін және жоғары пролиферативті белсенділігі бар суспензиялық жасуша линияларын алу оның бірегей қасиеттерін сақтай отырып, биомассаны тұрақты және тиімді өндіру үшін жаңа перспективалар ашады. Біздің зерттеулеріміздің нәтижесінде түсі ашық түстен қара-қоңыр түске дейін өзгеретін каллус линиялары алынды. Бұл факт *in vitro* жағдайында метаболит синтезінің ерекшеліктерімен байланысты жасуша массаларының гетерогенділігін көрсетеді. Біз алғаш рет *C. deserticola* жасушалық линияларын алып, олардың суспензия культурасындағы тұрақты пролиферациясын зерттедік. Апигенин, рутин және кверцетин стандарттарын пайдалана отырып, HPLC-MS әдісімен суспензия дақылдарындағы биоактивті заттардың құрамын сандық талдау нәтижесінде қара-қоңыр түсті каллустарда флавоноидтардың төмендеуі анықталды. Бұл жасушалардың метаболиттік белсенділігінің дифференциациялануына байланысты өзгеруін көрсетуі мүмкін. Нәтижелер цистанхе жасушаларының биоактивті қосылыстардың синтезін мақсатты реттеуге әсер етуі мүмкін.

**Түйін сөздер:** *Cistanche deserticola*, флавоноидтар, *in vitro*, суспензия жасушаларының культурасы, каллус, метаболиттер, пролиферативті белсенділік

**THE PROLIFERATIVE ABILITY OF CISTANCHE DESERTICOLA AND ANALYSIS OF THE QUANTITATIVE CONTENT OF FLAVONOIDS IN CELL CULTURE****Rakhimzhanova A.O.<sup>1</sup>, Bekkuzhina S.S.<sup>1</sup>, Kali B.R.<sup>1</sup>, Argumbayeva A.K.<sup>1</sup>, Tussipkan D.<sup>1</sup>, Manabayeva S.A.<sup>1,2\*</sup>**<sup>1</sup> National Center for Biotechnology, 13/5, Qorghalzhyn Hwy., Astana, 010000, Kazakhstan<sup>2</sup> L.N.Gumilyov Eurasian National University, Satpayev st. 2, Astana, 010000, Kazakhstan Corresponding author:

\*manabayeva@biocenter.kz

**ABSTRACT**

*Cistanche deserticola* contains a significant amount of flavonoids and other valuable bioactive compounds, making it a promising subject for pharmacological research, as well as the development of new pharmaceutical drugs and biologically active supplements. The introduction of *C. deserticola* into *in vitro* culture and the establishment of suspension cell lines with high proliferative activity opens new perspectives for sustainable and efficient biomass production while preserving its unique properties. As a result of our research, callus lines were obtained with varying colors, from light to dark brown. This fact indicates the heterogeneity of the cell masses, which is related to the peculiarities of metabolite synthesis under *in vitro* conditions. For the first time, we have obtained cell lines of *C. deserticola* and studied their stable proliferation in suspension culture. Quantitative analysis of the bioactive compounds content in the suspension cultures, performed by HPLC-MS using standards of apigenin, rutin, and quercetin, revealed a decrease in flavonoid content in the cell cultures with dark color. This may indicate changes in the metabolic activity of the cells as they differentiate. The obtained data may be significant for the targeted regulation of the synthesis of bioactive compounds in *C. deserticola* cell culture.

**Keywords:** *Cistanche deserticola*, flavonoids, *in vitro*, suspension cell culture, callus, proliferative activity