Abstrakt

Flavonolignany jsou přírodní látky, které mají mj. chemoprotektivní, hepatoprotektivní, antioxidační, dermatoprotektivní účinky. Tyto přírodní látky se metabolizují zejména ve II. fázi biotransformace, přičemž jednou z dominantních metabolických drah je sulfatace. Detailní struktura většiny takto vzniklých metabolitů však není dosud známa a jejich standardy nejsou komerčně dostupné. Cílem této studie bylo připravit sulfatované deriváty flavonolignanů silymarinu - silybinu, 2,3-dehydrosilybinu, isosilybinu, silychristinu a silydianinu a různých flavonoidů - kvercetinu, isokvercitrinu, taxifolinu a rutinu, a tyto potenciální savčí metabolity plně charakterizovat. Pro tento účel byly použity dvě rekombinantní aryl sulfotransferasy: 1. z *Desulfitobacterium hafniense*, 2. z potkaních jater.

Sulfáty byly získány ve vysokých výtěžcích za použití *p*-nitrofenyl sulfátu jako donoru SO_3^- skupiny a PAPS (3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát)-independentní bakteriální aryl sulfotransferasy z *D. hafniense*. Flavonolignany tvořily zcela výlučně monosulfatované deriváty, kde pozice sulfátu byla určena na pozici C-20 (nebo C-19 v případě silychristinu). Pouze 2,3-dehydrosilybin podléhal další sulfataci a bylo možné isolovat také jeho 7,20-*O*-disulfatovaný derivát. Isoquercitrin a rutin byly selektivně sulfatované v poloze C-4' katecholové skupiny. Také taxifolin byl preferenčně sulfatován v této poloze (C-4'), ale bylo také zjištěno menší množství C-3´isomeru. Naopak sulfatace kvercetinu probíhala přednostně na C-3' poloze, ale opět byla prokázána přítomnost C-4' isomeru.

Naopak rekombinantní savčí aryl sulfotransferasa, která je PAPS-dependentním enzymem, byla méně katalyticky účinná s užší substrátovou specificitou; byly izolovány pouze sulfáty silybinu B (C-20), kvercetinu a taxifolinu (C-3´). Bylo prokázáno, že silybin A a glykosidy kvercetinu (rutin a isokvercitrin) nejsou tímto enzymem přeměňovány.

Sulfatované produkty studovaných látek připravené pomocí obou aryl sulfotransferas byly plně charakterizovány pomocí HRMS a NMR. Tyto sulfatované metabolity mohou být následně použity pro *in vitro* studie biologické aktivity a dále jako autentické standardy při metabolických studiích *in vivo*.