

Effect of brazilin on phosphatase activity in isolated rat epididymal adipocytes

Lee-Yong Khil^o, Dhong Soo So and Chang-Kiu Moon

College of pharmacy, Seoul National University

Brazilin은 포도당 수송을 증가시키는 물질로 autooxidation에 의하여 산화되면서 hydrogen peroxide를 생성할 것으로 추정되었으며, hydrogen peroxide는 phosphatase를 억제하여 포도당 수송을 증가시키는 것으로 보고되었다. 따라서 본 실험에서는 brazilin의 산화에 의한 hydrogen peroxide의 생성여부를 확인하고 phosphatase 활성에 미치는 brazilin의 작용을 살펴보았다.

먼저 UV absorption spectra를 이용하여 brazilin이 반응액중에서 구조적인 변화를 일으키는 지 확인하였다. Hydrogen peroxide의 생성은 rhodamine 123를 이용한 형광측정법으로 측정하였으며, phosphatase의 활성은 pH에 따른 phosphatase의 활성을 p-NPP의 탈인산화의 UV 흡광도 변화로 측정하였다. PP2A의 활성은 phosphorylase a를 기질로 하여 측정하였다.

Brazilin은 반응액중에서 UV absorption band의 변화를 일으켰다. 즉, 시간의 경과에 따라 480nm에서의 흡광도가 증가하여 반응액중에서 brazilin이 구조적인 변화를 일으키는 것으로 확인되었다. 형광측정법을 이용하여 brazilin에 의한 hydrogen peroxide의 생성을 측정한 결과 brazilin의 autooxidation에 의해서 약 10pmol/ml (10nM) 정도의 hydrogen peroxide가 생성됨을 확인하였다. Brazilin은 또한 모든 pH에서 활성을 나타내는 phosphatase를 억제하였다. Phosphatase 중 대표적인 효소인 PP2A에 대해서도 억제작용을 나타내었으며 PP2A를 억제하는 okadaic acid의 처리에 의하여 brazilin에 의한 포도당 수송이 크게 증가하였다.

이상의 결과로부터 brazilin에 의한 포도당 수송의 증가는 부분적으로 hydrogen peroxide 생성에 의한 phosphatase활성의 억제를 통해 일어나는 것으로 사료된다.