



## Kinetic Characterization and Flavonoid Effect on Human Lymphocyte Protein Tyrosine Phosphatase

Telma M.A.M. LEMOS <sup>1\*</sup>, Márcio A. MIRANDA <sup>2</sup>, Alexandre D.M. CAVAGIS <sup>1</sup>,  
Hiroshi AOYAMA <sup>2</sup> & Carmen V. FERREIRA <sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) Natal, RN.*

<sup>2</sup> *Departamento de Bioquímica, Instituto de Biologia,  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) Campinas, São Paulo, Brasil.*

**SUMMARY.** The aim of this work was to determine the kinetic properties and evaluate the effect of some flavonoids on human lymphocyte protein tyrosine phosphatase. Tyrosine-, serine- and threonine-phosphate were hydrolyzed by this phosphatase 60%, 20% and 10%, respectively. In the kinetic studies the enzymatic activity was determined by using *p*-nitrophenylphosphate (pNPP) as substrate. The enzyme presented optimum pH around 5.0 and was inhibited by 100  $\mu$ M *p*-chloromercuribenzoate (pCMB) (80%), 10 mM fluoride (35%), 10 mM vanadate (100%), and 5mM Cu<sup>+2</sup> (85%). The enzyme was also strongly inhibited by a tyrosine phosphatase inhibitor cocktail, but was unaffected by okadaic acid. These results confirm that the major phosphatase activity in human lymphocytes is a protein tyrosine phosphatase. Among the bioflavonoids tested only fisetin showed an inhibitory effect in order of 80% on the enzymatic activity.

**RESUMEN.** "Caracterización Cinética y Efecto de los Flavonoides en la Proteína Linfocitaria Humana Tirosina Fosfatasa". El objetivo del trabajo fue determinar las propiedades cinéticas y evaluar el efecto de algunos bioflavonoides sobre la proteína humana linfocitaria tirosina fosfatasa. Tirosina-, serina- y treonina-fosfato fueron hidrolizadas por esta fosfatasa en un 60%, 20% y 10%, respectivamente. En los estudios cinéticos la actividad enzimática fue determinada usando *p*-nitrofenilfosfato (pNPP) como sustrato. La enzima presentó un pH óptimo cercano a 5.0 y fue inhibida por *p*-cloromercuribenzoato (pCMB) 100 (M (80%), fluoruro 10 mM (35%), vanadato 10 mM (100%), y Cu<sup>+2</sup> 5 mM (85%). La enzima fue también fuertemente inhibida por un cóctel de inhibidores de tirosina fosfatasa, pero fue insensible al ácido okadaico. Estos resultados confirman que la mayor actividad fosfatasa en los linfocitos humanos es una proteína tirosina fosfatasa. Entre los bioflavonoides ensayados solamente la fisetina presentó un efecto inhibitorio en el orden del 80% sobre la actividad enzimática.

**KEY WORDS:** Flavonoids, Human lymphocytes, Kinetics, Protein tyrosine phosphatase.

**PALABRAS CLAVE:** Flavonoides, Cinética, Linfocitos humanos, Proteína tirosina fosfatasa.

\* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* telmaml@yahoo.com.br