

**ФОТОДИССОЦІАЦІЯ МОЛЕКУЛ ОКСИ- И КАРБОКСИГЕМОГЛОБИНА В  
АРТЕРИАЛЬНОЙ КРОВИ**

**С. Мамилов<sup>1</sup>, С. Есман<sup>1</sup>, И. Глебова<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Інститут прикладних проблем фізики і біофізики НАН України*

*ул. Василя Степанченка, 3, Київ 03680, Україна*

*e-mail: tamilov@mail.ru*

*<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка*

*ул. Владимирская, 64/13, Київ 01601, Україна*

В работе приведены результаты исследований взаимодействия лазерного излучения с окси и карбоксигемоглобина. Показано, что под действием чрескожного облучения происходит процесс фотодиссоциации окси- и карбоксигемоглобина. Исследована зависимость величины фотодиссоциации от длины волны падающего излучения. Показано, что квантовый выход лазеростимулированной фотодиссоциации карбоксигемоглобина выше чем для оксигемоглобина.

*Ключевые слова:* фотодиссоциация, лазерное излучение, оксигемоглобин, карбоксигемоглобин.

УДК 577.352.4

**АКТИВНІСТЬ  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПЛАЗМАТИЧНОЇ МЕМБРАНИ  
ГЛАДЕНЬКОМ`ЯЗОВИХ КЛІТИН СЕЛЕКТИВНО ПРИГНІЧУЄТЬСЯ  
КАЛІКС[4]АРЕНОМ С-90**

**Т. Векліч\*, О. Шкрабак, Ю. Мазур**

*Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України*

*вул. Леонтовича, 9, Київ 01601, Україна*

*e-mail: kinet@biochem.kiev.ua*

В експериментах, виконаних на суспензії плазматичних мембран клітин міометрія, оброблених 0,1% розчином дигітоніну, досліджували дію калікс[4]арену С-90 (5,11,17,23-тетра(трифтор)метил(фенілсульфоніліміно)-метиламіно-25,26,27,28-петрапропосікалікс[4]арен) на  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРазну активність. Калікс[4]арен С-90

ефективно інгібує активність  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази (значення  $I_{0,5}$  для С-90 становить  $20,2 \pm 0,5$  мкМ). За результатами конфокальної мікроскопії С-90 (20 мкМ) транзійтно підвищує концентрацію внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ . Припускається, що одержані результати можуть бути перспективними для створення на основі калікс[4]арену С-90 нового фармакологічного препарату – стимулятора механічної напруги міометрія.

*Ключові слова:*  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРаза, плазматична мембрана, міометрій, калікс[4]арени.

Іони  $\text{Ca}^{2+}$  відіграють важливу роль у регуляції багатьох біохімічних і біофізичних процесів, виступаючи як цитоплазматичний сигнальний посередник, який передає інформацію від плазматичної мембрани (ПМ) до внутрішньоклітинних структур [6,14]. Втім, незважаючи на значну кількість експериментальних робіт, присвячених вивченню внутрішньоклітинних кальцієвих сигналів, механізми підтримання фізіологічно значимої концентрації іонів кальцію в клітині ( $[\text{Ca}^{2+}]_i < 1$  мкМ) все ще з'ясовані недостатньо. У випадку гладеньком'язових клітин (ГМК) кальцієвій помпі ПМ ( $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРаза, КФ 3.6.1.38) належить суттєва роль у забезпеченні зниження концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазмі [8, 9, 15].

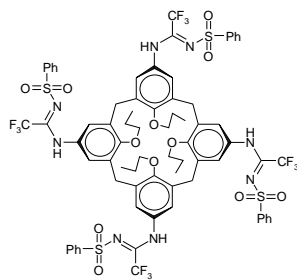
Зрозуміло, що для дослідження ролі  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази у регуляції внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  необхідно використання селективних, високоефективних інгібіторів, які на сьогодні, на відміну від кальцієвої помпи ендо(сарко)плазматичного ретикулуму [1], практично відсутні. Лише пептиди класу калоксинів можуть претендувати на роль таких специфічних інгібіторів  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ [10, 17, 18, 21]. Проте низькомолекулярні селективні інгібітори кальцієвої помпи ПМ невідомі.

Однак в останні роки було продемонстровано, що циклічні олігомери фенолів – каліксарени – можуть бути ефективними інгібіторами й активаторами ензиматичних, рецепторних і транспортних мембранозв'язаних білків. Каліксарени мають противірусні, бактерицидні, протипухлинні й антитромботичні властивості. Серед переваг каліксаренів можна відзначити їхню синтетичну доступність, низьку токсичність [11, 12] і можливість модифікації їхньої структури різноманітними функціональними групами [5]. Наші попередні дані, одержані разом з член-кор. НАНУ В.І. Кальченком та його колегами (ІОХ НАНУ), свідчать на користь того, що калікс[4]арен С-90 може претендувати на роль інгібітора транспортної  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ.

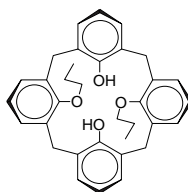
**Метою** цієї роботи було вивчити закономірності інгібуючої дії калікс[4]арену С-90 на  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичних мембран ГМК матки.

### Матеріали та методи

Калікс[4]арен С-90 (5,11,17,23-тетра(трифтор)метил(фенілсульфоніліміно)-метиламіно-25,26,27,28-тетрапропоксі-калікс[4]арен) (рис. 1) був синтезований та охарактеризований із використанням методів ЯМР та інфрачервоної спектроскопії у відділі хімії фосфоранів Інституту органічної хімії НАН України (зав. відділом – член-кор. НАНУ В.І. Кальченко). Методику синтезу зазначеного калікс[4]арену було описано раніше [20].



Калікс[4]арен С-90



«Калікс[4]аренова чаша» С-150

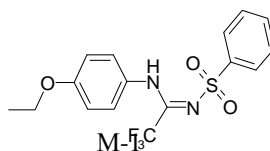


Рис. 1. Структурні формули досліджуваних речовин.

Ензиматичні дослідження були проведені у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (зав. відділом – член-кор. НАНУ С.О. Костерін).

Фракцію плазматичних мембран ГМК виділяли з міометрію свині, як було описано раніше [2, 4]. Вміст білка в мембранній фракції визначали методом М. Bredford [7].

АТРазну активність визначали у фракції ПМ при 37°C у стандартному середовищі (об'єм – 0,4 мл), яке містило (мМ): 3 АТР, 3 MgCl<sub>2</sub>, 25 NaCl, 125 KCl, 1 ЕГТА, 20 Hepes-tris-буфер (рН 7,4), 1 NaN<sub>3</sub> (інгібітор АТРази мітохондрій [13]), 1 убаїн (селективний інгібітор Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТРази [22,23]), 0,1 мкМ тапсигаргін (селективний інгібітор Ca<sup>2+</sup>,Mg<sup>2+</sup>-АТРази ендо(сарко)-плазматичного ретикулуму [13]) і 0,1% дигітонін (фактор перфорації ПМ [21]). Кількість білка мембранної фракції у пробі – 20–30 мкг. Час інкубації – 5 хв. Ензиматичну реакцію ініціювали введенням до середовища інкубації аліквоти (50 мкл) суспензії ПМ, а зупиняли – додаванням до інкубаційної суміші 1 мл “стоп”-розчину такого складу: 1,5 М натрій оцтовокислий, 3,7% формальдегід, 14% етанол, 5% трихлороцтова кислота, рН 4,3 (при 8°C).

$\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази активність розраховували по різниці між величинами АТРази активності за присутності й відсутності в середовищі інкубації (див. вище) 0,95 мМ  $\text{CaCl}_2$ . Кількість продукту реакції  $P_i$  визначали за методом W. Rathbun et V. Betlach [19].

У дослідях із вивчення впливу різних концентрацій калікс[4]арену С-90, С-150 та сполуки М-1 на  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази активність використовували стандартне середовище інкубації, що було описане вище, до якого додавали аліквоту розчину відповідної речовини у необхідній концентрації. У дослідях використовували концентровані (4 мМ) розчини калікс[4]аренів у диметилсульфоксиді, який далі розводили водою.

У разі вивчення концентраційних залежностей дії калікс[4]арену С-90 на ензиматичну активність значення уявних констант інгібування  $I_{0,5}$  та коефіцієнтів Хілла  $n_H$  розраховували з використанням лінеаризованих графіків Хілла відповідно до рівняння  $\lg[(A_0 - A)/A] = -n_H \lg I_{0,5} + n_H \lg [I]$ , де  $A_0$  і  $A$  – питомі ензиматичні активності за відсутності (“нульова точка”) та за присутності в середовищі інкубації калікс[4]арену С-90 у концентрації  $[I]$ .

Задля реєстрації зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у ГМК суспензію міоцитів, отриманих модифікованим методом Моларда [16], протягом 20 хв при кімнатній температурі навантажували  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливим зондом fluo-4 АМ, після чого наносили на скляну поверхню з полі-L-лізином. Отриманий препарат іммобілізованих клітин досліджували за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопа LSM 510 «МЕТА». Для ідентифікації саме гладеньком’язових клітин для аналізу обирали клітини веретеноподібної форми з чітко окресленим, профарбованим ДНК-чутливим флуоресцентним зондом Hoechst ядром. Для реєстрації відносних змін концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у цитоплазмі запускали серію послідовних знімків, під час якої вносили аліквоту розчину С-90 (у випадку проби) або С-150 (у випадку контролю) в концентрації 20 мкМ (2 мкл).

Статистичний аналіз одержаних даних проводили із залученням загальновідомих стандартних методів. Кінетичні та статистичні розрахунки здійснювали в режимі програмного забезпечення MS Excel.

### Результати і їхнє обговорення

Встановлено, що для сарколеми міометрію свині питома ензиматична активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази становить  $3,4 \pm 0,3$  мкмоль  $P_i$ /мг білка за 1 год відповідно ( $M \pm m$ ;  $n=7$ ).

Як показали результати проведених досліджень, калікс[4]арен С-90, використаний у концентрації 100 мкМ, пригнічує питому ензиматичну активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази до  $25,1 \pm 0,5\%$  щодо контрольного значення. Поряд із цим калікс[4]арен С-90 (100 мкМ) майже не впливав на ензиматичні активності “базальної”  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази,  $\text{Ca}^{2+}$ -АТРази і  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТРази: залишкові значення активностей становили  $107,7 \pm 1,0\%$ ,  $99,3 \pm 5,51\%$  і  $94,2 \pm 0,6\%$  відповідно щодо контролю (рис. 2).

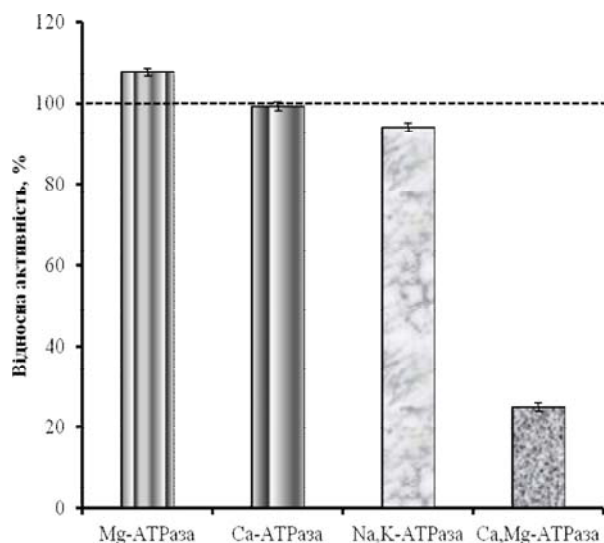


Рис. 2. АТФ-гідролазні активності у плазматичній мембрані клітин міометрію за присутності калікс[4]арену С-90 (100 мкМ) ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

За 100% прийнято значення питомої ензиматичної активності за відсутності калікс[4]арену в середовищі інкубації.

У подальших експериментах ми показали, що калікс[4]арен С-90, який використовували в інтервалі концентрацій від  $10^{-8}$  до  $10^{-4}$  М, ефективно та дозозалежно гальмує активність  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази. Величина уявної константи інгібування  $I_{0,5}$  для С-90 становить  $20,2 \pm 0,5$  мкМ, значення коефіцієнта Хілла  $n_H - 0,55 \pm 0,02$  ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ) (рис. 3).

Для визначення ролі хімічних угруповань у складі молекули калікс[4]арену С-90 (рис. 1) в інгібуванні активності  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФази були досліджені дві модельні сполуки: калікс[4]арен С-150 (суто «калікс[4]аренова чаша») та N-(4-етоксифеніл)-N'-фенілсульфоніл-трифторометилацетімідоамід М-1. Виходячи зі структурних формул досліджуваних сполук [4]аренів (рис. 1), видно, що калікс[4]арен С-150 не містить жодних додаткових хімічних угруповань на верхньому вінці макроциклу, тобто він є «калікс[4]ареновою чашею». Сполука М-1 містить один фенольний фрагмент і фенілсульфоніл-трифторометилацетімідоамідне угруповання аналогічне до такого ж у складі молекули калікс[4]арену С-90 (рис. 1).

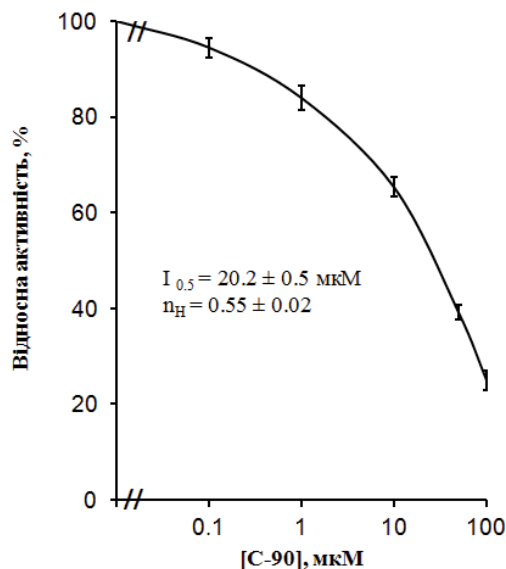


Рис. 3. Залежність ензиматичної активності  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази у плазматичній мембрані клітин міометрію від концентрації калікс[4]арену C-90 ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

За 100% прийнято значення питомої ензиматичної активності за відсутності каліксарену в середовищі інкубації.

Нами було показано, що структурний фрагмент C-150, використаний у концентрації 100 мкМ, незначно (на  $13,0 \pm 1,8\%$ ) знижує активність  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ) (рис. 4). Модельна сполука M-1 у концентрації 100 мкМ пригнічує  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази на  $9,3 \pm 2,4\%$ , використання її у концентрації 400 мкМ приводить до інгібування активності  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази на  $12,5 \pm 1,7\%$  щодо контрольного значення ( $M \pm m$ ;  $n=5$ ).

Отже, інгібувальна дія калікс[4]арену C-90 на активність  $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТРази передусім пов'язана саме з кооперативним впливом чотирьох просторово орієнтованих на каліксареновій платформі фенілсульфоніл-трифторометилацетімідоамідних груп, а не з дією тетрафенольного макроциклу як такого, або дією окремого фенілсульфоніл-трифторометилацетімідоамідного залишку.

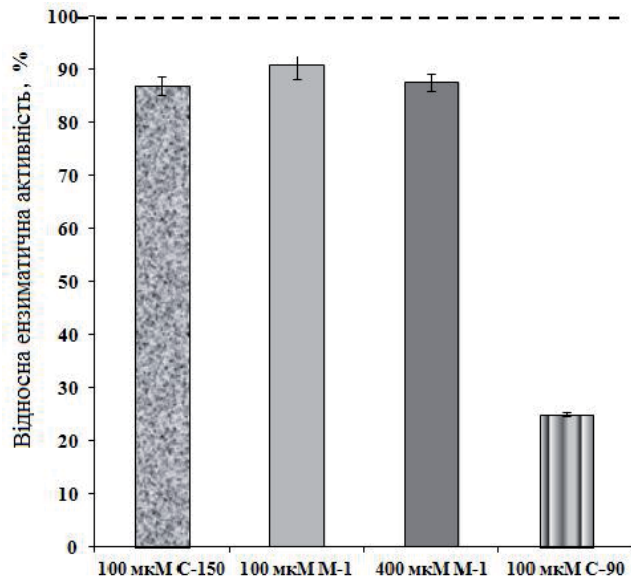


Рис. 4. Ензиматична активність транспортної  $\text{Ca}^{2+},\text{Mg}^{2+}$ -АТРази у фракції плазматичних мембран клітин міометрію за дії калікс[4]аренів С-90, С-150 і модельної сполуки М-1 ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

За 100% прийнято значення питомої ензиматичної активності за відсутності калікс[4]аренів та сполуки М-1 у середовищі інкубації.

За результатами конфокальної мікроскопії під впливом С-90 (20 мкМ) відбувається різке зростання флуоресцентної відповіді  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонду fluo-4 АМ у клітині (рис. 5), після чого відбувається зменшення квантового виходу зонду та повернення інтенсивності флуоресценції до початкового рівня. У контролі, де використовувався С-150 (20 мкМ), який, за нашими результатами, не має вираженого впливу на активність  $\text{Ca}^{2+},\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ, такого підвищення не спостерігалось (результати не наведено), також незмінним лишився рівень флуоресценції Hoechst, який був локалізований в основному в ядрі ГМК, та фону. Ці результати свідчать про те, що під впливом калікс[4]арену С-90 (20 мкМ) відбувається різке підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у клітині, яке пов'язано зі зниженням базальної активності  $\text{Ca}^{2+},\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ. Разом з тим, протягом наступних 100 с концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  знижується до початкового рівня, що може бути пов'язано з залученням компенсаторних  $\text{Ca}^{2+}$ -транспортуючих систем у міоцитах до релаксації кальцієвого сигналу, які мають нижчу афінність до  $\text{Ca}^{2+}$  та реагують, головним чином, на його високі концентрації в клітині ( $\text{Ca}^{2+}$ -уніпортер мітохондрій,  $\text{Na}^{+}-\text{Ca}^{2+}$ -обмінник ПМ).

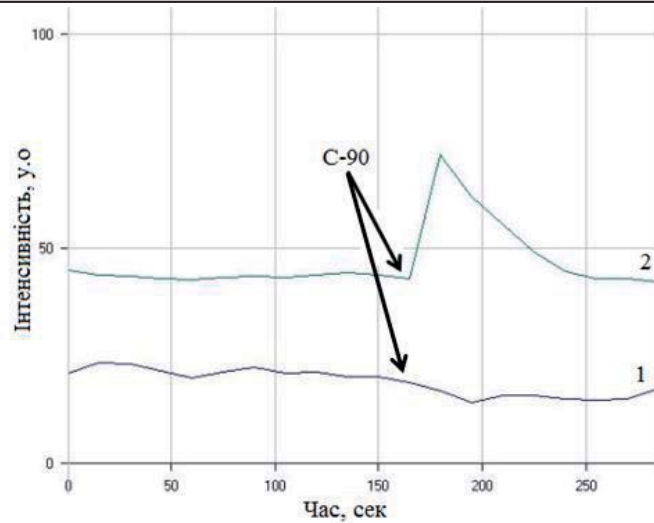


Рис. 5. Зміна флуоресценції зондів у міоциті матки, зареєстрована за допомогою конфокальної мікроскопії: ДНК-чутливого Ноехст (1) та  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого флюо-4 АМ (2). На 160 с було внесено аліквоту розчину С-90 (кінцева концентрація – 20 мкМ). Наведено результати типового експерименту.

Таким чином, дані цієї роботи можуть слугувати підґрунтям для наступної розробки, на основі калікс[4]арену С-90, ефективного інгібітора  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази ПМ, що, у свою чергу, матиме важливе значення для подальшого з'ясування мембранних механізмів  $\text{Ca}^{2+}$ -обміну у гладеньких м'язах, зокрема, під час вивчення ролі ПМ у забезпеченні електромеханічного спряження в них. Одержані результати можуть бути корисними для подальших досліджень, спрямованих на встановлення кореляції між структурою калікс[4]аренів і їхньою дією на різні катіон-транспортуючі ензиматичні системи, а також на використання каліксаренів як потенційних фармакологічних сполук, здатних модулювати скоротливу функцію матки при деяких патологіях скоротливої активності гладеньких м'язів.

*Автори вдячні член-кор. НАНУ проф. С.О. Костеріну за обговорення результатів дослідів і творчі дискусії.*

*Робота виконана за фінансової підтримки грантів № держреєстрації: 0110U005971, 0110U000988, 0110U005970, 0112U004262, 0111U007135, 0113U007570.*



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вац О. Ю., Клевець М. Ю., Федірко Н. В. Кінетичні характеристики  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази клітин підщелепної слинної залози щурів // Укр. біохім. журнал. 2004. Т. 76. № 6. С. 44–54.
2. Векліч Т. О., Костерін С. О. Порівняльне дослідження властивостей  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТРази та  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРази плазматичної мембрани міомеріа // Укр. біохім. журнал. 2005. Т. 77. № 2. С. 66–75.
3. Векліч Т. О., Костерін С. О., Шинлова О. П. Катіонна специфічність системи акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  в мітохондріях клітин міомеріа // Укр. біохім. журнал. 2002. Т. 74. № 1. С. 42–48.
4. Кондратюк Т. П., Быченко С. Ф., Прищепя Л. А. и др. Выделение и характеристика фракции плазматических мембран миометрия свинки // Укр. биохим. журнал. 1986. Т. 58. № 4. С. 50–56
5. Родік Р. В. Застосування каліксаренів для трансфекції ДНК у клітини // Укр. біохім. журнал. 2012. Т. 84. № 5. Р. 5–15.
6. Berchtold M. W., Brinkmeier H., Muntener M. Calcium ion in skeletal muscle: its crucial role for muscle function, plasticity, and disease // Am. Physiological Society. 2000. Vol. 80. N 3. P. 1215–1265.
7. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. N 1. P. 248–282.
8. Brini M., Carafoli E. Calcium pump in health and disease // Physiol Rev. 2009. Vol. 89. P. 1341–1378.
9. Burdyga T., Paul R. J. Calcium Homeostasis and Signaling in Smooth Muscle // Muscle. Fundamental Biology and Mechanisms of Disease. 2012. Vol. 2. P. 1155–1171.
10. Chen H. H., Lin Y. R., Peng Q. G., Chan M. H. Effects of trichloroethylene and perchloroethylene on muscle contractile responses and epithelial prostaglandin release and acetylcholinesterase activity in swine trachea // Toxicol. Sci. 2005. Vol. 83. N 1. P. 149–154.
11. Coleman A. W., Jebors S., Cecillon S. et al. Toxicity and biodistribution of para-sulfonato-calix[4]arene in mice // New J. Chem. 2008. Vol. 32. P. 780–782.
12. Da Silva E., Lazar A. N., Coleman A. W. Biopharmaceutical applications of calixarenes // J. Drug Delivery Science and Technology. 2004. Vol. 14. N 1. P. 3–20.
13. Flynn E. R. M., Bradley K. N., Muir T. C., McCarron J. G. Functionally separate intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  stores in smooth muscle // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. N 39. P.

36411–36418.

14. Koide M., Nystoriak M. A., Brayden J. E., Wellman G. C. Impact of subarachnoid hemorrhage on local and global calcium signaling in cerebral artery myocytes // *Acta Neurochir Suppl.* 2011. Vol. 110. Pt 1. P. 145–150.
15. Kosterin S. O. Kinetics and energetics of  $Mg^{2+}$ ,ATP-dependent  $Ca^{2+}$  transport in the plasma membrane of smooth muscle cells // *Neurophysiology.* 2003. Vol. 35. N 3–4. P. 215–228.
16. Mollard P., Mironneau J., Amedee T., Mironneau C. Electrophysiological characterization of single pregnant rat myometrial cells in short-term primary culture // *Am. J. Physiol: Cell Physiol.* 1986. Vol. 19. N 1. P. C47–C54.
17. Pande J., Mallhi K. K., Grover A. K. A novel plasma membrane  $Ca^{2+}$ -pump inhibitor: caloxin 1A1 // *Eur. J. Pharmacol.* 2005. Vol. 508. N 1–3. P. 1–6.
18. Pande J., Mallhi K. K., Grover A. K. Role of third extracellular domen of plasma membrane  $Ca^{2+}$ - $Mg^{2+}$ -ATPase based on novel inhibitor caloxin 3A1 // *Cell Calcium.* 2005. Vol. 37. N 3. P. 245–250.
19. Rathbun W., Betlach V. Estimation of enzymically produced orthophosphate in the presence of cystein and adenosine triphosphate // *Anal. Biochem.* 1969. Vol.28. N 1–3. P. 436–445.
20. Rodik R. V., Boyko V. I., Danylyuk O. B. et al. Calix[4]arenesulfonylamidines. Synthesis, structure and influence on  $Mg^{2+}$ ,ATP-dependent calcium pumps // *Tetrahedron Lett.* 2005. Vol. 46. P. 7459–7462.
21. Szewczyk M. M., Pande J., Akolkar G., Grover A. K. Caloxin 1b3: a novel plasma membrane  $Ca^{2+}$ -pump isoform 1 selective inhibitor that increases cytosolic  $Ca^{2+}$  in endothelial cells // *Cell Calcium.* 2010. Vol. 48. P. 352–357.
22. Valente R. C., Capella L. S., Monteiro R. Q. et al. Mechanisms of ouabain toxicity // *FASEB J.* 2003. Vol. 17. N 12. P. 1700–1702.
23. Wang H., Haas M., Liang M. et al. Ouabain assembles signaling cascades through the caveolar  $Na^+/K^+$ -ATPase // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. N 17. P. 17250–17259.

Стаття: надійшла до редакції 12.05.14

доопрацьована 22.09.14

прийнята до друку 22.09.14

**PLASMA MEMBRANE  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase ACTIVITY IS SELECTIVELY SUPPRESSED  
BY CALIX[4]ARENE C-90**

**T. Veklich, O. Shkrabak, Yu. Mazur**

*Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine*

*9, Leontovych St., Kyiv 01601, Ukraine*

*e-mail: kinet@biochem.kiev.ua*

In experiments, which were performed on myometrium plasma membrane suspension processed by 0,1% digitonin, effect of calix[4]arene C-90 (5,11,17,23-tetra(threephtor)methyl(phenilsulphonilimino)-methylamino-25,26,27,28-tetra propoxi-calix[4]arene) on  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase activity was investigated. Calix[4]arene C-90 effectively inhibited  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase activity ( $I_{0,5}$  was  $20,2 \pm 0,5 \mu\text{M}$ ). Confocal microscopy measurement showed that C-90 (20  $\mu\text{M}$ ) temporarily increase intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration. Obtained results allows to assume that calix[4]arene may be useful as a basis for creation of new pharmacological agent for basal uterus tonus stimulation.

*Keywords:*  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase, plasma membrane, myometrium, calix[4]arene.

**АКТИВНОСТЬ  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРАЗЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ  
ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СЕЛЕКТИВНО ПОДАВЛЯЕТСЯ  
КАЛИКС[4]АРЕНОМ С-90**

**Т. Веклич, А. Шкрабак, Ю. Мазур**

*Институт биохимии имени А.В. Палладина НАН Украины*

*ул. Леонтовича, 9, Киев 01601, Украина*

*e-mail: kinet@biochem.kiev.ua*

В экспериментах, выполненных на суспензии плазматических мембран клеток миометрия, обработанных 0,1% раствором дигитонина, исследовали действие каликс[4]арена С-90 (5,11,17,23-тетра(трифтор)метил(фенил-сульфонилимино)-метиламино-25,26,27,28-тетрапропокси-каликс[4]арен) на  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРазную активность. Каликс[4]арен С-90 эффективно ингибирует  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРазную активность (значение  $I_{0,5}$  для С-90 равно  $20,2 \pm 0,5 \text{ мкМ}$ ). Согласно результатам конфокальной микроскопии, С-90 (20  $\text{мкМ}$ ) транзистентно повышает концентрацию внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Предполагается, что полученные результаты могут быть перспективными для создания на основе каликс[4]арена С-90 нового фармакологического препарата – стимулятора сократительной активности матки.

*Ключевые слова:*  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -АТРаза, плазматическая мембрана, миометрий, каликс[4]арены.