

PACS numbers: 82.39.Jn, 82.39.Wj, 82.45.Tv, 87.16.D-, 87.16.Tb, 87.50.cj, 87.85.Rs

## Халкон-вмісні калікс[4]арени — нанорозмірні модулятори поляризації мембран мітохондрій та вмісту йонізованого Са в них

Л. Г. Бабіч<sup>1</sup>, С. Г. Шликов<sup>1</sup>, А. М. Кушнарєва<sup>1</sup>, О. А. Єсипенко<sup>2</sup>,  
С. О. Костерін<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України,  
вул. Леонтовича, 9,  
01030 Київ, Україна

<sup>2</sup>Інститут органічної хімії НАН України,  
вул. Мурманська, 5,  
02660 Київ, Україна

Мітохондрії виконують різноманітні есенціальні функції, отже, впливають на біологію клітини в цілому. Ключовим чинником у функціонуванні мітохондрій є поляризація внутрішньої мембрани цих органел. Отже, важливе значення як з теоретичної, так і практичної точки зору має пошук оборотних ефекторів, що здатні модифікувати рівень поляризації внутрішньої мембрани цих органел і концентрацію йонізованого Са у матриксі. Калікс[4]арени, завдяки їхній здатності утворювати комплекси з біологічно важливими молекулами та йонами, можуть впливати на перебіг різноманітних біохімічних процесів. Ми показали, що халкон-вмісні калікс[4]арени C-136 та C-137 збільшують поляризацію мембран мітохондрій міометрію та рівень йонізованого Са у матриксі цих органел. Ступінь впливу халкон-вмісних калікс[4]аренів на рівень йонізованого Са у матриксі мітохондрій залежить від Са<sup>2+</sup>-акумулювальної активності самих мітохондрій, а саме, чим активніше мітохондрії накопичують йони Са, тим більший вплив досліджуваних калікс[4]аренів. Автори припускають, що калікс[4]арени C-136 та C-137 можуть стати у нагоді за необхідності корекції рівня поляризації мембран мітохондрій та збільшення концентрації йонізованого Са у матриксі цих органел.

Mitochondria are known to be ‘power plants’ of cells, and thus, affect the biology of cells in general. A key factor in the mitochondria functioning is the polarization of the inner membrane. So, the search of effectors, which are able to modify the level of polarization of the inner mitochondrial membrane and the concentration of ionized Ca in the matrix of these organelles, is important from both theoretical and practical points of view. Calix[4]arenes, due to their ability to form complexes with biologically important molecules

and ions, can influence the course of various biochemical processes. As shown, the calix[4]arene chalcone amides C-136 and C-137 increase the polarization of myometrial mitochondria membranes and ionized-Ca concentration in the matrix of these organelles. The degree of calix[4]arene chalcone amides' influence on the ionized-Ca concentration within the matrix of mitochondria depends on  $\text{Ca}^{2+}$ -accumulating activity of the mitochondria, namely, if the mitochondria accumulate  $\text{Ca}^{2+}$  more actively, there is the greater calix[4]arene chalcone amides' impact. As suggested, the calix[4]arene chalcone amides C-136 and C-137 might be useful when mitochondria membrane potential and ionized-Ca concentration corrections are required.

Митохондрии выполняют разнообразные функции, что влияет на биологию клетки в целом. Ключевым параметром для функционирования митохондрий является поляризация внутренней мембраны этих органелл. Таким образом, с теоретической и практической точек зрения большое значение имеет поиск обратимых эффекторов, которые могут модулировать уровень поляризации внутренней мембраны этих органелл и концентрацию ионизированного Са в матриксе. Каликс[4]арены, благодаря их способности образовывать комплексы с биологически важными молекулами, могут оказывать влияние на ход разнообразных биохимических процессов. Мы показали, что халкон-содержащие каликс[4]арены С-136 и С-137 увеличивают поляризацию мембран митохондрий миометрии и уровень ионизированного Са в матриксе этих органелл. Степень влияния халкон-содержащих каликс[4]аренов на уровень ионизированного Са в матриксе митохондрий зависит от  $\text{Ca}^{2+}$ -аккумулирующей активности самих митохондрий, а именно, чем активнее митохондрии накапливают ионы Са, тем большее влияние оказывают исследуемые каликс[4]арены. Высказано предположение, что каликс[4]арены С-136 и С-137 могут быть использованы при необходимости коррекции уровня поляризации мембран митохондрий и увеличения концентрации ионизированного Са в матриксе этих органелл.

**Ключові слова:** калікс[4]арени, поляризація мембран мітохондрій, концентрація йонізованого Са у мітохондріях.

**Key words:** calix[4]arene, polarization of mitochondria membranes, ionized-Ca concentration within the mitochondria matrix.

**Ключевые слова:** каликс[4]арены, поляризация мембран митохондрий, концентрация ионизированного Са в митохондриях.

*(Отримано 1 грудня 2016 р.)*

## 1. ВСТУП

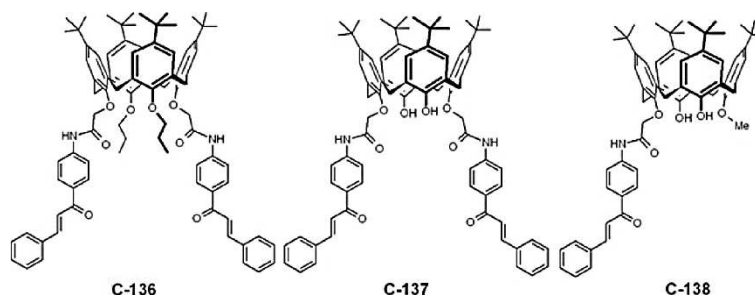
Калікс[4]арени — це макроциклічні сполуки з подібною до келиха конформацією, біологічні ефекти яких активно досліджуються, що зумовлене необхідністю пошуку альтернативних лікарських засобів. В контексті зазначеної тези виникає запитання: які

ж переваги дають саме калікс[4]арени у дослідженні властивостей клітини? По-перше, завдяки своїм гідрофобним властивостям вони здатні розчинятися у ліпідній фазі клітин, що забезпечує їм роль переносників функціонально активних груп. По-друге, є можливість приєднати до калікс[4]аренового келиха функціонально активні сполуки у різній кількості. До таких функціонально активних сполук належать, зокрема, балкони, — ароматичні кетони, — представники класу флавоноїдів, для яких властивий широкий спектр біологічної активності [1–5]. Ми досліджували вплив халкон-вмісних калікс[4]аренів на деякі найважливіші біохімічні показники мітохондрій гладенького м'яза матки. Показано, що калікс[4]арени C-136 та C-137 збільшують рівень поляризації мембран мітохондрій міометрію та концентрацію йонізованого Ca у матриксі цих органел.

## 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

### А. Синтез калікс[4]аренів C-136, C-137 та C-138

Синтез халкон-вмісних калікс[4]аренів C-136, C-137 та C-138 був проведений співробітниками Інституту органічної хімії НАН України (відділ хімії фосфоранів, завідувач відділу — чл.-кор. НАН України, проф. В. І. Кальченко, керівник групи — д.х.н., проф. В. І. Бойко). Сполуки C-136 та C-138 одержували за методом [6]. Синтез халкон-каліксарену C-137 проводили за аналогічною схемою із 25,27-біс(етоксикарбонілметокси)-26,28-дигідроксикалікс[4]арену [7].



Структурні формули халкон-вмісних калікс[4]аренів.

### Б. Біохімічні методи

Біохімічні дослідження були проведені у відділі біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України (завідувач

відділу — акад. НАН України, проф. С. О. Костерін).

Суспензію міоцитів одержували з міометрію невагітних щурів з використанням колагенази [8].

Ізольовані мітохондрії одержували з міометрію невагітних щурів за допомогою методу диференційного центрифугування [9]. Одержаний препарат суспендували у розчині такого складу: 10 мМ Нерес (pH 7,4), 250 мМ цукроза, 1 мМ EGTA, 0,1% бичачий сироватковий альбумін; температура — 4°C.

Визначення концентрації протеїну у фракції мітохондрій проводили за методом Бредфорд [10]. Вміст мітохондріального протеїну у пробі становив 25 мкг/мл.

Тестування відносних значень мембранного потенціалу  $\Delta\psi$  мітохондрій міометрію щурів проводили на протоковому цитометрі COULTER EPICS XLTM (Beckman Coulter, США) з використанням потенціалочутливого флуоресцентного зонда TMRM ( $\lambda_{\text{збуд.}} = 488$  нм,  $\lambda_{\text{фл.}} = 590$  нм) та суспензії клітин міометрію у середовищі такого складу (мМ): 20 Нерес (pH = 7,4), 125 KCl, 25 NaCl, 2 Pi (у вигляді  $\text{K}^+$ -фосфатного буфера, pH 7,4), 5 сукцинату натрію; 0,1 мг/мл дигітоніну. Суспензію міоцитів ( $2\text{--}5 \cdot 10^5$ /мл) навантажували у присутності 100 нМ TMRM в 1 мл середовища інкубації упродовж 5 хв. за кімнатної температури і відразу аналізували на протоковому цитометрі при довжині хвилі у 590 нм (FL-2 канал). Кожен вимір — це середнє значення інтенсивності флуоресценції 10000 подій. Результати вимірів наведено в умовних одиницях, а саме, «середнє значення інтенсивності флуоресценції проби» мінус «середнє значення інтенсивності флуоресценції проби після внесення 1 мкМ розчину протонофора СССР».

Зміни концентрації йонізованого Са у мітохондріях міометрію щурів досліджували із використанням спектрофлуориметра QuantaMaster™ 40 компанії Photon Technology International та флуоресцентного зонда Fluo 4AM ( $\lambda_{\text{збуд.}} = 490$  нм,  $\lambda_{\text{фл.}} = 520$  нм) у середовищі такого складу (мМ): 20 Нерес (pH = 7,4), 250 цукроза, 2Pi (у вигляді  $\text{K}^+$ -фосфатного буфера, pH = 7,4), 5 сукцинату натрію, 3  $\text{MgCl}_2$ ,  $\pm 3$  АТР. Тестування кожної проби завершувалось додаванням розчину 0,1% тритону X-100 та, за 1 хв., розчину 5 мМ EGTA (значення флуоресценції —  $F_{\text{max}}$  та  $F_{\text{min}}$  відповідно). У всіх дослідках калікс[4]арени використовували у концентрації 10 мкМ.

Концентрацію йонізованого Са в матриксі розраховували за формулою Грінкевича [11].

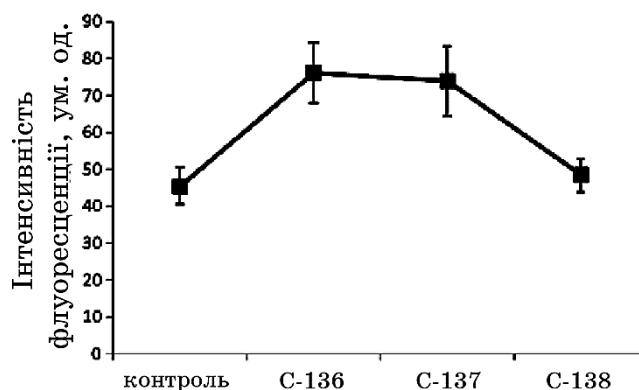
У роботі використовували такі реактиви: TMRM (tetramethyl-rhodamine methyl ester), протонофор СССР (карбонілціанід m-хлорфенілгідрозон), EGTA, Нерес, бичачий сироватковий альбумін, вільний від жирних кислот (BSA fatty acid free), D-(+)-цукроза, АТР — фірми 'Sigma' (США),  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливий зонд Fluo 4AM — фірми 'Invitrogen' (США) та інші реактиви вітчизняного

виробництва кваліфікації ч.д.а. та х.ч.

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Мембранний потенціал мітохондрій в пермеабілізованих дигітоніном міоцитах матки тестували з використанням проточного цитометра і флуоресцентного зонда TMRM. Суспензію міоцитів вносили в стандартне інкубаційне середовище, що містить 0,01% дигітоніну. Пермеабілізація плазматичної мембрани дигітоніном, поперше, знімає питання про внесок поляризації цієї мембрани в сигнал зонда, по-друге, надійно забезпечує проходження компонентів середовища інкубації всередину клітин. Суспензію клітин міометрію заздалегідь інкубували з калікс[4]аренами С-136, С-137 і С-138 (10 мкМ) упродовж 5 хв. в середовищі такого складу (мМ): 20 Hepes, 125 KCl, 25 NaCl, 5 сукцинату Na, 2 К-фосфат; 0,1 мг/мл дигітоніну. У разі контрольних проб проводили таку ж передінкубацію, але у відсутності калікс[4]аренів. Далі клітинну суспензію навантажували 100 нМ TMRM упродовж 5 хв. Як видно з наведених на рис. 1 результатів, інкубація клітин міометрію з 10 мкМ калікс[4]ареном С-136 і С-137 приводила до збільшення поляризації мітохондріальної мембрани. В той же час калікс[4]арен С-138 не впливав на рівень поляризації мембран мітохондрій.

Отже, ми показали, що попередня інкубація пермеабілізованих клітин міометрію з 10 мкМ калікс[4]ареном С-136 або С-137 веде до збільшення поляризації мітохондріальних мембран. Ми не виключаємо, що наявність двох амідохалконових груп на нижньому ободі калікс[4]аренового келиха (калікс[4]арен С-136 і калікс[4]арен С-137) (див. вище структурні формули) сприяє збільшенню поляризації мітохондріальної мембрани (рис. 1). Можли-



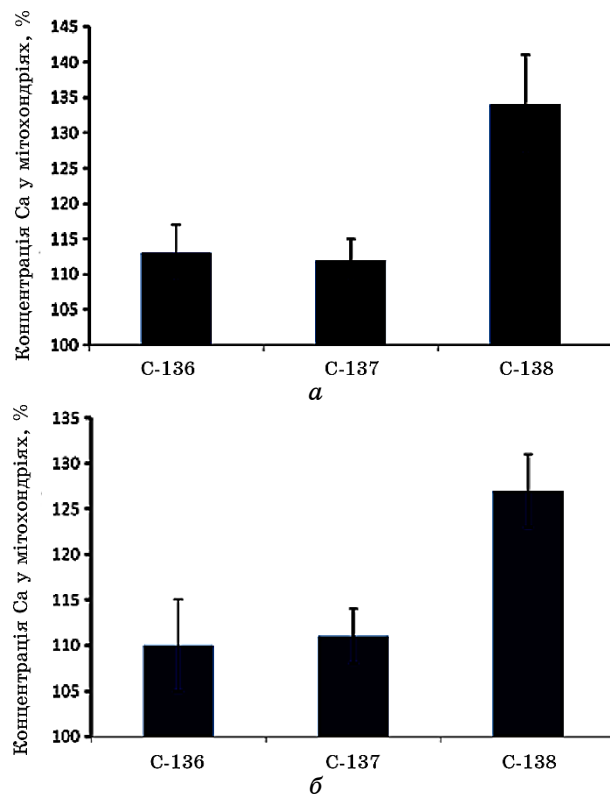
**Рис. 1.** Ефекти калікс[4]аренів С-136, С-137 та С-138 на поляризацію мембран мітохондрій міометрію щурів.  $M \pm m$ ,  $n = 8$ .<sup>1</sup>

во, це пов'язано з утворенням водневих зв'язків між NH-групами амідних фрагментів і певними функціональними групами в мітохондріальній мембрані (з тією ж амідною, карбонільною, гідроксильною та ін. і навіть з молекулами мембранозв'язаної води). Наявність же тільки однієї такої групи в молекулі калікс[4]арена С-138 не впливає на мембранний потенціал мітохондрій, тобто однієї амідохалконової групи мабуть недостатньо для гіперполяризації мітохондріальної мембрани.

У той же час, очевидно, що наявність або відсутність фенольних гідроксилів на вузькому ободі калікс[4]аренової платформи, здатних також утворювати водневі зв'язки (калікс[4]арени С-136 і С-137), не впливає на мембранний потенціал мітохондрій. Ймовірно, в цьому випадку вигідніше утворення внутрішньомолекулярних водневих зв'язків, ніж водневих зв'язків між гідроксильними групами вказаних калікс[4]аренів і мітохондріальною мембраною.

Потенціал на внутрішній мембрані мітохондрій є ключовим чинником в забезпеченні функціонування як самих мітохондрій, так і клітин в цілому [12, 13]. Зокрема, показано, що синтез АТР, транспорт йонів К і Са залежать від рівня поляризації мітохондріальних мембран. Добре відомо, що мітохондрії здатні акумулювати значну кількість йонів Са [14–16]. Са<sup>2+</sup>-акумулювальна активність мітохондрій залежить від багатьох чинників, серед яких рівень поляризації мітохондріальних мембран є одним з визначальних [14]. Раніше, з використанням ізотопної техніки (<sup>45</sup>Са<sup>2+</sup>), ми показали, що попередня інкубація пермеабілізованих дигітоніном клітин міометрію з калікс[4]аренхалконамідами, призводить до збільшення протонофорчувтливої акумуляції йонів Са в мітохондріях гладенького м'яза матки [6]. Проте функціонально активним у мітохондріальному матриксі є саме вільний Са. Отже подальші наші експерименти були спрямовані на дослідження ефектів обраних калікс[4]аренів на рівень йонізованого Са у матриксі мітохондрій.

Визначення концентрації йонізованого Са ( $[Ca^{2+}]_m$ ) у матриксі мітохондрій проводили за стандартною процедурою. Мітохондрії попередньо інкубували протягом 5 хв. у середовищі інкубації, склад якого наведено вище, та визначали рівень ендогенного Са<sup>2+</sup> у матриксі. Потім до середовища інкубації вносили 100 мкМ Са та тестували зміни рівня йонізованого Са у матриксі. Для стандартизації результати кожного експерименту нормували на 100% контрольної проби. Інкубацію мітохондрій проводили у середовищах двох типів: містить Mg<sup>2+</sup> або Mg<sup>2+</sup>, АТР. Калікс[4]арени у концентрації 10 мкМ вносили у середовище інкубації на етапі попередньої інкубації мітохондрій. Як видно з результатів, наведених на рис. 2, а, попередня інкубація мітохондрій з ка-



**Рис. 2.** Концентрація йонізованого Са у матриксі мітохондрій міомерію після 5 хв. інкубації у середовищі, що містить  $\text{Mg}^{2+}$ , за відсутності (контроль) та присутності 10 мкМ калікс[4]аренів С-136, С-137 та С-138 (а) та, відповідно, після внесення до середовища інкубації 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$  (б).  $M \pm m$ ,  $n = 6$ .<sup>2</sup>

лікс[4]аренами С-136 та С-137 супроводжується деяким незначним підвищенням рівня йонізованого Са у матриксі мітохондрій — на 12–13% у порівнянні з контролем; за інкубації з калікс[4]ареном С-138 — на 34%.

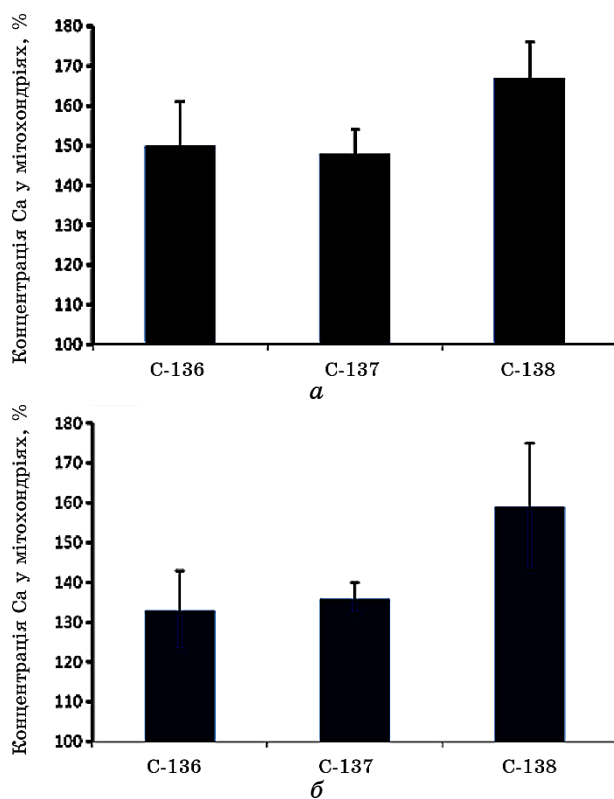
Після попередньої інкубації мітохондрій до середовища вносили 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$  та визначали  $[\text{Ca}^{2+}]_m$ . Як видно з рис. 2, б, за присутності 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$  у середовищі інкубації, калікс[4]арени С-136 та С-137 підвищували рівень йонізованого Са у матриксі мітохондрій в середньому на 10–11%; калікс[4]арен С-138 — на 27% по відношенню до контролю.

У попередніх роботах ми показали, що введення АТР до середовища інкубації, що містить  $\text{Mg}^{2+}$ , супроводжується зростанням рівня ендogenous Са у матриксі мітохондрій [17] та істотно збільшує загальний рівень акумуляції  $\text{Ca}^{2+}$  у цих структурах [16].

Отже наступну серію експериментів ми провели у середовищі, що містить  $Mg^{2+}$ , АТР. Як видно з результатів, наведених на рис. 3, а, попередня інкубація мітохондрій з калікс[4]аренами С-136 та С-137 супроводжується зростанням рівня йонізованого Са у матриксі мітохондрій в середньому на 50% у порівнянні з контролем; з калікс[4]ареном С-138 — на 67%.

За присутності 100 мкМ Са у середовищі інкубації та попередньої інкубації мітохондрій з калікс[4]аренами С-136 та С-137 зростання рівня йонізованого Са у матриксі мітохондрій в середньому сягає 33–36% у порівнянні з контролем; з калікс[4]ареном С-138 — 59% (рис. 3, б).

Калікс[4]арени, завдяки їх здатності утворювати комплекси з біологічно важливими молекулами та йонами, можуть впливати на перебіг різноманітних біохімічних процесів [18–21]. Ка-



**Рис. 3.** Концентрація йонізованого Са у матриксі мітохондрій міометрію після 5 хв. інкубації у середовищі, що містить  $Mg^{2+}$  + АТР, за відсутності (контроль) та присутності 10 мкМ калікс[4]аренів С-136, С-137 та С-138 (а) та, відповідно, після внесення до середовища інкубації 100 мкМ  $Ca^{2+}$  (б).  $M \pm m$ ,  $n = 6$ .<sup>3</sup>



лікс[4]арени сьогодні широко використовуються дослідниками як молекулярні платформи для розбудови нових біологічно активних супрамолекулярних сполук. Використані в наших дослідженнях калікс[4]арени містили халконові залишки. Халкони — це ароматичні кетони, що належать до класу флавоноїдів та мають широку біологічну активність [1–5]. Ми показали, що халкон-вмісні калікс[4]арени впливають на рівень йонізованого Са у матриксі мітохондрій. Цілком ймовірно, що за відсутності йонів Са у середовищі інкубації досліджувані сполуки інгібують вивільнення катіону з мітохондрій, що і призводить до збільшення його рівня у матриксі. Цікавим є той факт, що калікс[4]арени з більшою ефективністю проявили себе у середовищі, що містить  $Mg^{2+}$ , АТР. Наші попередні результати показали, що за таких умов мітохондрії мають найбільшу  $Ca^{2+}$ -акумуляуючу активність, що супроводжується як зростанням загального рівня накопичення  $Ca^{2+}$  [16], так і його йонізованої форми [17].

Таким чином, інкубація мітохондрій міометрію протягом 5 хв. у присутності 10 мкМ нанорозмірних супрамолекулярних сполук — калікс[4]аренів С-136, С-137 та С-138 впливає як на рівень поляризації мембран мітохондрій, так і на рівень йонізованого Са у матриксі мітохондрій. Ступінь впливу халкон-вмісних калікс[4]аренів на зазначені біохімічні характеристики залежить від  $Ca^{2+}$ -акумуляувальної активності самих мітохондрій, а саме: чим активніше мітохондрії накопичують йони Са, тим більший ефект досліджуваних калікс[4]аренів.

Автори припускають, що калікс[4]арени С-136 та С-137 можуть стати у нагоді за необхідності корекції рівня поляризації мембран мітохондрій та збільшення концентрації йонізованого Са у матриксі цих органел.

Автори висловлюють щиру вдячність чл.-кор. НАН України, проф. В. І. Кальченку та д.х.н., проф. В. І. Бойку за плідну творчу співпрацю та обговорення одержаних результатів.

## ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. B. Orlikova, D. Tasdemir, F. Golais, M. Dicato, and M. Diederich, *Genes Nutr.*, **6**, No. 2: 125 (2011).
2. D. K. Mahapatra and S. K. Bharti, *Life Sci.*, **148**: No. 154:72 (2016).
3. B. Zhou and C. Xing, *Med. Chem. (Los Angeles)*, **5**, No. 8: 388 (2015).
4. A. J. Leyn-González, N. Acero, D. Mucoz-Mingarro, I. Navarro, and C. Martín-Cordero, *Curr. Med. Chem.*, **22**, No. 30: 3407 (2015).
5. S. Zhang, T. Li, Y. Zhang, H. Xu, Y. Li, X. Zi, H. Yu, J. Li, C.-Y. Jin, and H.-M. Liu, *Toxicol Appl. Pharmacol.*, **309**: 77: 86 (2016).
6. M. A. Klyachina, V. I. Boyko, A. V. Yakovenko, L. G. Babich, S. G. Shlykov, S. O. Kosterin, V. P. Khilya, and V. I. Kalchenko, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **60**, Nos. 1–2: 131 (2008).

7. F. Arnaud-Neu, E. M. Collins, M. Deasy, G. Ferguson, S. J. Harris, B. Kaitner, A. J. Lough, M. A. McKervey, and E. Marques, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, No. 23: 8681 (1989).
8. P. Mollard, J. Mironneau, T. Amedee, and C. Mironneau, *Am. J. Physiol.*, **250**, No. 1, Pt. 1: C47 (1986).
9. S. A. Kosterin, N. F. Bratkova, and M. D. Kurskiĭ, *Biokhimiya*, **50**, No. 8: 1350 (1985) (in Russian).
10. M. M. Bradford, *Anal Biochem.*, **72**: 248 (1976).
11. G. Grynkiewicz, M. Poenie, and R. Y. Tsien, *J. Biol. Chem.*, **260**, No. 6: 3440 (1985).
12. Y. N. Antonenko, A. V. Avetisyan, D. A. Cherepanov, D. A. Knorre, G. A. Korshunova, O. V. Markova, S. M. Ojovan, I. V. Perevoshchikova, A. V. Pustovidko, T. I. Rokitskaya, I. I. Severina, R. A. Simonyan, E. A. Smirnova, A. A. Sobko, N. V. Sumbatyan, F. F. Severin, and V. P. Skulachev, *J. Biol. Chem.*, **286**, No. 20: 17831 (2011).
13. A. S. Divakaruni and M. D. Brand, *Physiology (Bethesda)*, **26**, No. 3: 192 (2011).
14. M. L. Olson, S. Chalmers, and J. G. McCarron, *Biochem. Soc. Trans.*, **40**, No. 1: 158 (2012).
15. G. Di Benedetto, D. Pendin, E. Greotti, P. Pizzo, and T. Pozzan, *J. Physiol.*, **592**: 305 (2014).
16. L. G. Babich, S. G. Shlykov, L. A. Borisova, and S. A. Kosterin, *Biokhimiya*, **59**, No. 8: 1218 (1994).
17. L. G. Babich, S. G. Shlykov, A. M. Kushnarova, and S. O. Kosterin, *Ukr. Biochem. J.*, **88**, No. 4: 5 (2016).
18. R. Rodik, V. Boiko, O. Danylyuk, K. Suwinska, I. Tsymbal, N. Slinchenko, L. Babich, S. Shlykov, S. Kosterin, J. Lipkowski, and V. Kalchenko, *Tetrahedron Lett.*, **46**, No. 43: 7459 (2005).
19. S. B. Nimse and T. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, **42**, No. 1: 366 (2013).
20. V. V. Trush, S. G. Kharchenko, V. Y. Tanchuk, V. I. Kalchenko, and A. I. Vovk, *Org. Biomol. Chem.*, **13**, No. 33: 8803 (2015).
21. S. G. Shlykov, L. G. Babich, N. M. Slichenko, R. V. Rodik, V. I. Boyko, V. I. Kal'chenko, and S. O. Kosterin, *Ukrains'kyi Biokhimichnyi Zhurnal*, **79**, No. 4: 28 (1999) (in Ukrainian).

<sup>1</sup>O. V. Palladin Institute of Biochemistry, N.A.S. of Ukraine,  
Leontovych Str., 9,  
UA-01030 Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Organic Chemistry, N.A.S. of Ukraine,  
Murmanska Str., 5,  
UA-02660 Kyiv, Ukraine

<sup>1</sup> Fig. 1. Calix[4]arene chalcone amides C-136, C-137 and C-138 effects on rat myometrial mitochondria membranes' polarization.  $M \pm m$ ,  $n = 8$ .

<sup>2</sup> Fig. 2. Ionized-Ca concentration in the myometrial mitochondria matrix after 5 min incubation in the  $Mg^{2+}$ -containing medium at the absence (control) and in the presence of 10  $\mu M$  calix[4]arenes C-136, C-137 and C-138 (a) and the same after the 100  $\mu M$   $Ca^{2+}$  (b) addition to the incubation medium.  $M \pm m$ ,  $n = 6$ .

<sup>3</sup> Fig. 3. Ionized-Ca concentration in the myometrial mitochondria matrix after 5 min incubation in the  $Mg^{2+}$ +ATP-containing medium at the absence (control) and in the presence of 10  $\mu M$  calix[4]arenes C-136, C-137 and C-138 (a) and the same after the 100  $\mu M$   $Ca^{2+}$  (b) addition to the incubation medium.  $M \pm m$ ,  $n = 6$ .