

Определение антитромботической активности метилтиазол- и триазолсодержащих PPAR дельта/бета агонистов

Минин Д.В., Попков С.В., Бурдейный М.Л., Мантров С.Н., Гончаров В.М.,
Василевский С.В.

*Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева
125047 Москва, Миусская пл., 9, 8 (495) 496-60-58, popkovsv@rctu.ru*

Контактная информация: Минин Д.В. тел. 8-916-605-16-13, эл. адрес: minin30@mail.ru

Резюме

Исследована антитромботическая активность пяти синтезированных PPAR δ/β агонистов: (2-метил-4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилтио]-фенокси)уксусной кислоты, её двух метаболитов и двух триазольных аналогов, путем измерения агрегации тромбоцитов в обогащенной тромбоцитами плазме. Установлено, что самой высокой антитромботической активностью обладает сульфоновое производное метилтиазолсодержащей кислоты.

Ключевые слова: агонисты PPAR, антитромботическая активность, (2-метил-4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилтио]-фенокси)уксусная кислота, рецепторы пролиферации пероксисом, PPAR δ/β .

**Determination of antithrombotic activity of methylthiazole-and triazole-containing
PPAR delta / beta agonists**

Minin D.V., Popkov S.V., Burdeinyi M.L., Mantrov S.N., Goncharov V.M.,

Vasilevsky S.V.

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, 9 Miusskaya sq., 125047 Moscow,
Russian Federation. popkovsv@rctu.ru

Contact information: Minin D.V.: 8-916-605-16-13, e-mail: minin30@mail.ru

Abstract

The antithrombotic activity of five synthesized PPAR δ / β agonists (2-methyl-4-[4-methyl-2-(4-trifluoromethylphenyl)-1,3-thiazole-5-ylmethylthio]-phenoxy)acetic acid was investigated as well as its two metabolites and two triazole analogues by measuring platelet aggregation in platelet-rich plasma. It was established that the sulfonic derivative of methylthiazole-containing acid has the highest antithrombotic activity.

Key words: PPAR agonists, antithrombotic activity, (2-methyl-4-[4-methyl-2-(4-trifluoromethylphenyl)-1,3-thiazole-5-ylmethylthio]-phenoxy)acetic acid, peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR δ / β .

Введение

У животных и человека определены три вида ядерных рецепторов, активируемых пролифератором пероксисом (PPAR) — PPAR α , PPAR δ/β и PPAR γ [1]. PPAR ответственны за липидный, глюкозный гомеостаз, а также участвуют в ответе на провоспалительные стимулы. Нарушение функционирования PPAR приводит к развитию ожирения, диабета 2 типа и различным хроническим воспалительным процессам. Выше перечисленные состояния сопровождаются гипертензией, гипергликемией и дислипидемией [2].

В группе агонистов PPAR α известно тридцать одно соединение. Из них четыре соединения входят в состав лекарственных препаратов, обладающих гиполипидемическим действием: фенофибрат, безафибрат, гемфиброзил и клофибрат [3].

Группа агонистов PPAR γ самая большая и к ней относится пятьдесят одно соединение. Из них семь содержатся в лекарственных препаратах: росиглитазон, индометацин, троглитазон, пиоглитазон, месалазин, ибупрофен и диклофенак, обладающих гипогликемическим или противовоспалительным эффектами [3].

По статистическим данным группа агонистов PPAR δ/β самая малочисленная и недостаточно изученная. В данную группу входят восемь соединений [3]. Только одно соединение, *транс*-ретиноевая кислота, входит в состав препаратов для лечения острого промиелоцитарного лейкоза [4] и заболеваний кожи [5].

Синтетические агонисты PPAR δ/β открыты относительно недавно в девяностых годах двадцатого века. На начальном этапе в научно-исследовательских работах лиганды имели низкое сродство к PPAR δ/β . Проведенные исследования различных частей молекул агонистов PPAR δ/β на предмет зависимости активности от структуры: кислотного остатка, ароматического кольца, линкера, циклического «хвоста» привели к открытию мощного агониста PPAR δ/β - (2-метил-4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)-1,3-тиазол-5-илметилтио]-фенокси)уксусной кислоты (I) [6,7] (рис.1). Данное соединение было успешно использовано при лечении больных страдающих ожирением, сахарным диабетом 2 типа и атеросклерозом [1]. Однако, из-за побочного канцерогенного эффекта соединение (I) не допустили к выпуску в виде лекарственного препарата [8].

Агонисты PPAR δ/β обладают доказанным положительным действием при коррекции дислипидемии, нарушений регенерации тканей и ожирения. В связи с вышеизложенным, перспективным направлением является поиск, синтез и изучение биологической активности новых агонистов PPAR δ/β .

По литературным данным биологическую активность агонистов PPAR δ/β определяют несколькими способами:

- проводят исследование экспрессии генов самих ядерных PPAR рецепторов [9-14];
- используют линии лабораторных животных с наследственной индуцируемой стрессом гипертензией [15];
- создают модель ожирения [16] с последующим изучением динамики биохимических показателей, таких как глюкоза; липопротеины низкой, высокой плотности, триглицериды, общий холестерин;
- исследуют метаболизм ^{14}C изотопно-меченных жирных кислот в культуре клеток [17].

Все перечисленные модели являются сложными, трудозатратными, занимают много времени (от 2 недель до 2-3 месяцев) и не пригодны для быстрого скрининга новых соединений. Мы использовали для скрининга агонистов PPAR δ/β реакцию агрегации тромбоцитов, предложенную в работе [18].

В связи с тем, что в тромбоцитах отсутствуют ядра, понятие участия ядерных рецепторов в антитромботических эффектах ранее не рассматривалось. Тем не менее, PPAR δ/β присутствуют в цитоплазме тромбоцитов и могут изменять их агрегацию, проявляя антитромботическую активность. Это обусловлено тем, что тромбоцит формируется из клетки предшественника мегакариоцита, состоящего из ядра богатого транскрипционными факторами. При созревании тромбоцита три изотипа PPAR присутствуют в цитоплазме безъядерной клетки.

Общим для всех путей при действии на тромбоциты различных индукторов агрегации является повышение уровня свободного цитоплазматического кальция. При действии слабыми агонистами, такими как аденозиндифосфат (АДФ), происходит генерация тромбоксана А₂ и снижение уровня циклического аденозинмонофосфата. АДФ на тромбоцитарной мембране взаимодействует с тремя пуринаргическими рецепторами (P2X₁, P2Y₁ и P2Y₁₂). Первый из них, P2X₁, ответственен за вход в клетку экзогенного кальция. Рецепторы P2Y₁ и P2Y₁₂ сцеплены с G-протеинами, которые передают сигнал стимуляции внутрь клетки. Через P2Y₁ происходит включение полифосфоинозитидного пути, а через P2Y₁₂ активация тромбоксанового пути и ингибирование аденилатциклазы [19].

Авторами [18] установлено, что при инкубации тромбоцитов с GW0742 и L-165041 (агонисты PPAR δ/β) с конечной концентрацией 1×10^{-5} М в течение 5 минут и стимуляции

АДФ, содержание ионов кальция в клетке значительно не изменяется. Все это свидетельствует о снижении агрегации тромбоцитов. Показано, что при совместном воздействии простаглицлина, GW0742 и трепростинила натрия (донора оксида азота) синергетически усиливается антиагрегационный эффект. При действии агониста PPAR γ росиглитазона эффекта усиления не выявлено. Также антиагрегационный эффект агонистов PPAR δ/β был выявлен для стимуляторов, взаимодействующих с другими рецепторами клетки, таких как коллаген, тромбин и лизофосфатидная кислота. В связи с этим авторы предполагают, что комплексы PPAR δ/β с лигандом проявляют антитромботическую активность за счет способности активизировать или синергетически усиливать гуанилатциклазу в клетке.

Целью данной работы являлось выявление активности метаболитов соединения (I) и их триазольных аналогов в сравнении с исходным эталоном, путем исследования антитромботической активности с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы.

Получение образцов исследования

В рамках выполнения исследования нами были синтезированы пять соединений (рис. 1 и 2). Соединение (I), как наиболее изученный PPAR δ/β агонист, с доказанной биологической активностью [14-20], был использован в качестве образца сравнения.

Известные метаболиты соединения (I) сульфоксид (II) и сульфон (III) впервые были получены в результате окисления м-хлорпербензойной кислотой (рис. 1).

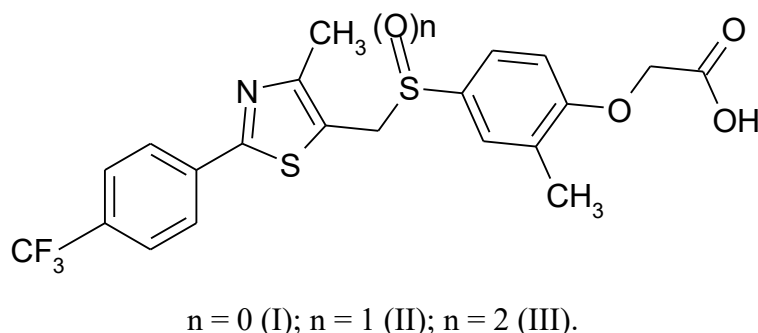
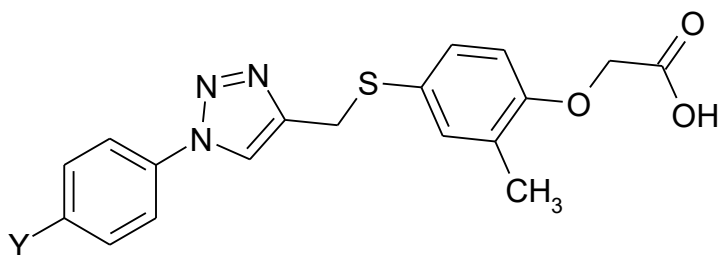


Рисунок 1. Метилтиазолсодержащие PPAR агонисты

Были синтезированы аналогичные соединения, в которых центральное метилтиазольное кольцо заменено на триазольное, а терминальный фрагмент содержит трифторметилфенильную (IV) или трифторметоксифенильную (V) группу (рис. 2) [22].



Y = CF₃ (IV); Y = OCF₃ (V).

Рисунок 2. Триазолсодержащие PPAR агонисты

На основании аналогии структур с (I) все соединения (II-V) возможно отнести к PPAR δ/β агонистам. Данные по биологической активности соединений (II-III) в литературе не описаны.

Методика измерения антитромботической активности

Плазму получали из цельной крови здоровых доноров, не принимавших лекарственных препаратов, которые могли бы препятствовать агрегации тромбоцитов. Забор крови проводили непосредственно перед исследованием, в вакуумные пробирки объемом 4,5 мл, используя в качестве антикоагулянта цитрат натрия (3,8 %). Соотношение антикоагулянт: кровь соответствовало 1:9. Все эксперименты проводили в течение 4 часов после забора крови. Все процедуры проводили в полистирольной посуде, обладающей тромборезистентными свойствами. В течение всего периода исследования обогащенная тромбоцитами и бестромбоцитарная плазма находилась при комнатной температуре.

Для приготовления обогащенной тромбоцитами плазмы кровь, после получения центрифугировали в течение 7 мин при 1000 об/мин, после чего верхний слой супернатанта толщиной 2,0-2,5 см переносили в другую пробирку, а остаток центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин для получения бестромбоцитарной плазмы.

Агрегацию тромбоцитов изучали с использованием агрегометра «Биола», турбидиметрическим методом Борна [23], основанным на изменении пропускания света через исследуемую плазму при ее постоянном перемешивании. В качестве образца сравнения использовали бестромбоцитарную плазму. Светопропускание через бестромбоцитарную плазму принимали за 100 %, а светопропускание через обогащенную тромбоцитами плазму принимали за 0 %. В качестве индуктора использовали АДФ. Полученные агрегатограммы представляют собой зависимость степени агрегации тромбоцитов от времени, прошедшего после добавления АДФ. Степень агрегации

определялась как максимальное приращение светопропускания и измерялась в процентах. Изменение светопропускания у здоровых доноров после добавления АДФ стремится к показателям безтромбоцитарной плазмы (100 %). При этом происходит формирование агрегатов тромбоцитов, повышается прозрачность плазмы и увеличивается поток проходящего через кювету света. Препараты, обладающие антитромботической активностью, снижают агрегацию тромбоцитов и значение светопропускания. После добавления АДФ, значения измеряемых показателей стремятся к значениям обогащенной тромбоцитами плазмы (0 %).

Все исследуемые соединения растворяли в водном растворе ДМСО (0,2 %) с добавкой метанола и TRIS-буфера (pH = 8,8) в следующих соотношениях 94,5:5:0,5 (далее по тексту водный раствор ДМСО 0,2 %). Готовили растворы каждого из соединений в концентрациях: $2,2 \times 10^{-2} \text{M}$, $2,2 \times 10^{-3} \text{M}$, $2,2 \times 10^{-4} \text{M}$. В ходе исследования антитромботической активности в плазму вносили 15 мкл раствора и получали конечные концентрации исследуемых соединений: $1 \times 10^{-3} \text{M}$, $1 \times 10^{-4} \text{M}$, $1 \times 10^{-5} \text{M}$.

Путем смешивания и разбавления физиологическим раствором навески АДФ массой 5,0 мг (торговой марки НПФ «Биола»), готовили растворы АДФ с концентрациями $1 \times 10^{-5} \text{M}$, $2 \times 10^{-5} \text{M}$, 1×10^{-4} . При исследовании в плазму вносили по 15 мкл каждого из растворов АДФ, что соответствовало концентрациям $1 \times 10^{-7} \text{M}$, $1 \times 10^{-6} \text{M}$, $5 \times 10^{-6} \text{M}$.

Для приготовления опытной пробы в кювету вносили 0,3 мл обогащенной плазмы, приливали 15 мкл исследуемого образца (для каждой серии с конечной концентрацией $1 \times 10^{-3} \text{M}$, $1 \times 10^{-4} \text{M}$, $1 \times 10^{-5} \text{M}$) в водном растворе ДМСО (0,2 %) и термостатировали в течение 5 мин при 37 °C. Кювету устанавливали в агрегометр, затем вносили 15 мкл АДФ (для каждой серии с конечной концентрацией АДФ $1 \times 10^{-7} \text{M}$, $1 \times 10^{-6} \text{M}$, $5 \times 10^{-6} \text{M}$) и снимали агрегатограмму при температуре 37 °C со скоростью 800 об/мин в течение 5 мин.

Контрольную пробу готовили следующим образом. В кювету вносили 0,3 мл обогащенной плазмы, добавляли 15 мкл водного раствора ДМСО (0,2 %) и термостатировали в течение 5 мин при 37 °C. Кювету устанавливали в агрегометр, вносили 15 мкл АДФ (для каждой серии с конечной концентрацией АДФ $1 \times 10^{-7} \text{M}$, $1 \times 10^{-6} \text{M}$, $5 \times 10^{-6} \text{M}$) и снимали агрегатограмму в течение 5 мин при аналогичных условиях.

Результаты исследования

Значения максимального светопропускания плазмы в образцах при различных концентрациях исследуемых соединений (I-V) и АДФ представлены в таблицах 1-3.

Каждую точку измеряли не менее чем в 3 повторах. Статистическую обработку проводили при помощи статистического модуля программы Excel. Достоверность полученных различий оценивали критерием Стьюдента при $P=0.95$ ($\alpha=0.05$).

Таблица 1 – Максимальные значения светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы после инкубации исследуемых образцов (концентрация соединений в плазме 1×10^{-5} М).

Концентрация АДФ, М	Максимальные значения светопропускания плазмы, %.					
	Контроль	Соед. (I)	Соед. (II)	Соед. (III)	Соед. (IV)	Соед. (V)
1×10^{-7}	12,2±1,6	15,8±2,5	12,8±1,9	13,5±2,0	11,1±1,6	15,7±2,5
1×10^{-6}	72,0±9,2	58,0±8,1	68,8±7,3	43,3±6,4	58,1±7,6	65,4±8,6
5×10^{-6}	75,7±6,8	70,6±9,0	67,3±6,2	61,0±7,3	57,3±6,0	66,3±8,3

Таблица 2 – Максимальные значения светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы после инкубации исследуемых образцов (концентрация соединений в плазме 1×10^{-4} М).

Концентрация АДФ, М	Максимальные значения светопропускания плазмы, %.					
	Контроль	Соед. (I)	Соед. (II)	Соед. (III)	Соед. (IV)	Соед. (V)
1×10^{-7}	12,2±1,6	10,6±1,7	12,0±1,8	10,8±1,5	14,0±2,1	11,3±1,7
1×10^{-6}	72,0±9,2	47,4±6,9	61,5±6,4	27,6±3,5	40,6±5,1	48,6±7,2
5×10^{-6}	75,7±6,8	70,5±7,2	68,3±6,5	49,1±5,3	56,7±5,4	68,1±8,4

Таблица 3 – Максимальные значения светопропускания обогащенной тромбоцитами плазмы после инкубации исследуемых образцов (концентрация соединений в плазме 1×10^{-3} М).

Концентрация АДФ, М	Максимальные значения светопропускания плазмы, %.					
	Контроль	Соед. (I)	Соед. (II)	Соед. (III)	Соед. (IV)	Соед. (V)
1×10^{-7}	12,2±1,6	10,7±1,5	11,8±1,8	12,7±1,9	13,7±2,0	13,1±2,1
1×10^{-6}	72,0±9,2	18,8±2,3	36,9±4,8	14,2±1,9	29,7±3,8	24,4±3,3
5×10^{-6}	75,7±6,8	52,6±5,7	58,7±5,4	46,4±5,0	56,1±6,3	60,7±7,7

Обсуждение исследования

Анализ данных, представленных в таблицах 1-3 показывает, что использование инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-7} М недостаточно, чтобы инициировать процесс агрегации тромбоцитов. Наиболее сильно антитромбическая активность выражена при использовании инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-6} М. При использовании АДФ в количестве 5×10^{-6} М активность соединений выражена слабо, в связи с большой концентрацией инициатора реакции.

Оценка значений светопропускания, приведенных в таблице 1 показывает, что при использовании инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-6} М антитромботическую

активность проявило соединение (III). Антитромботическая активность соединения (III) выше на 40 % относительно контрольного измерения и на 25 % образца сравнения (I). В образцах (I), (II), (IV) и (V) антитромботическая активность, относительно контроля, не проявляется.

При анализе данных таблицы 2 выявлено, что при использовании инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-6} М антитромботическую активность, относительно контроля, проявили соединения (I), (III), (IV) и (V). Образец (III) превышает контроль на 62 %, образец (I) на 34 %, образец (IV) на 44 % и образец (V) на 33 %. Антитромботическая активность образца (III), относительно образца сравнения (I), выше на 42 %. Образец (II) антитромботическую активность, относительно контроля, не проявляет.

Анализ и оценка данных, приведенных в таблице 3, позволили выявить, что при использовании инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-6} М антитромботическую активность проявили все соединения. Образец (I) превышает контроль на 74 %, образец (II) на 49 %, образец (III) на 80 %, образец (IV) на 59 % и образец (V) на 66 %. При сопоставлении результатов с образцом сравнения установлено, что антитромботическая активность соединения (III) выше на 24 %. Антитромботическая активность других соединений ниже активности образца сравнения: (II) на 96 %, (IV) на 58 % и (V) на 30 %.

По значениям, приведенным в таблицах 1-3, построена зависимость антитромботической активности от концентрации соединений I-V в обогащенной тромбоцитами плазме при использовании инициатора реакции АДФ в количестве 1×10^{-6} М.

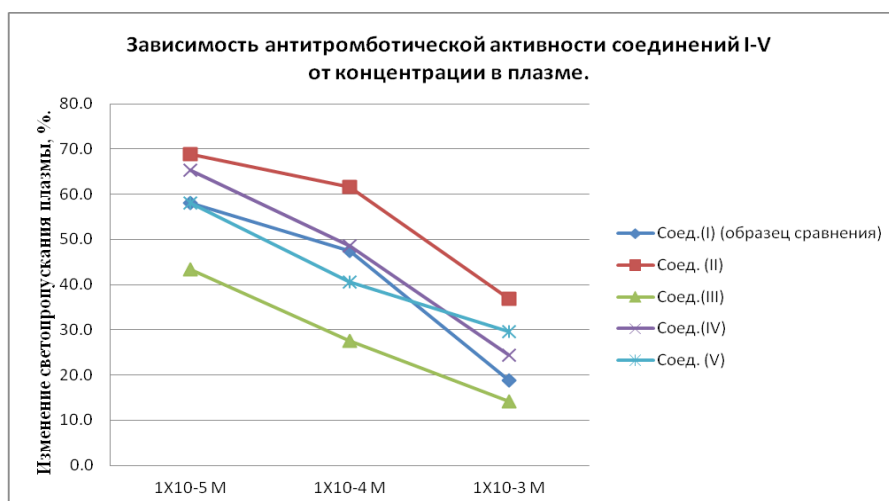


Рисунок 3. Антитромботическая активность соединений I-V в концентрации $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, $1 \times 10^{-4} \text{ M}$, $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ в обогащенной тромбоцитами плазме с содержанием АДФ $1 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Зависимость показывает, что соединение III, обладает более активной антитромботической активностью во всех измеренных концентрациях относительно образца сравнения. Слабую активность проявляет соединение II.

На основании данных таблицы 3 построена гистограмма антитромботической активности при использовании инициатора реакции АДФ в количестве $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ и концентрации исследуемых образцов $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, представленная на рисунке 4.

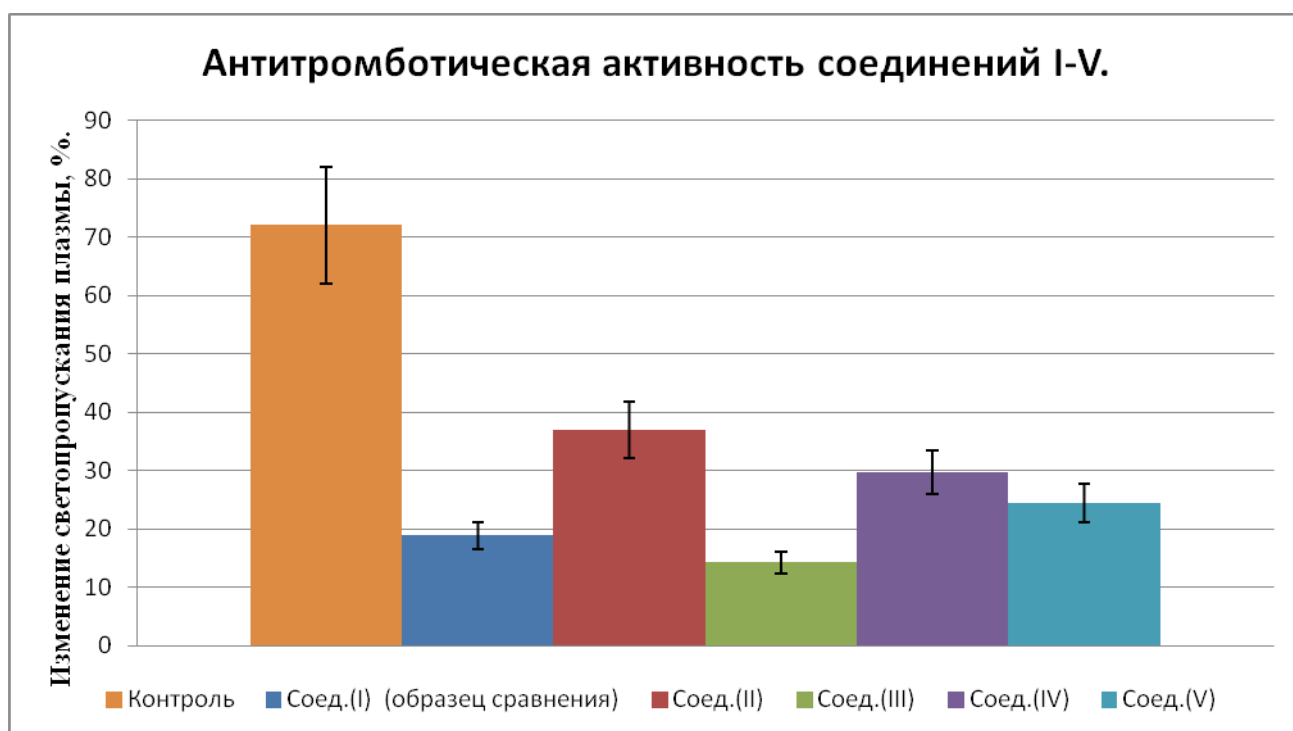


Рисунок 4. Антитромботическая активность образцов (концентрация образца в плазме $1 \times 10^{-3} \text{ M}$, содержание АДФ $1 \times 10^{-6} \text{ M}$).

Как следует из гистограммы, все исследуемые образцы обладают антитромботической активностью в сравнении с контрольными измерениями при концентрации $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ образца в плазме и содержании АДФ $1 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Показано, что все исследуемые соединения обладают антитромботической активностью. Наиболее активным является [2-метил-4-[[[4-метил-2-[4-(трифторметил)фенил]-тиазол-5-ил]метил]сульфонил]фенокси] уксусная кислота (III), наименее активным [2-метил-4-[[[4-метил-2-[4-(трифторметил)фенил]-тиазол-5-ил]метил]сульфинил] фенокси]уксусная кислота (II).

Заключение

В результате эксперимента подтверждено, что PPAR δ / β агонисты способны изменять агрегационную активность тромбоцитов. Достоинством данного метода является простота, экономичность и короткое время исследования, что обеспечивает быструю оценку активности синтезируемых PPAR δ / β агонистов.

По результатам исследования установлено, что при полном окислении серы до сульфона (III) повышается антитромбическая активность соединения. Антитромбическая активность снижается при замене метилтиазольного кольца (I) на триазольное (IV). Соединения содержащие в качестве промежуточного фрагмента триазольное кольцо, независимо от замены терминальной трифторметильной группы (IV) на трифторметокси-группу (V), проявляют практически одинаковую антитромботическую активность, уступая эталонному соединению (I).

Список литературы

1. Ахметов И.И., Астратенкова И.В. и Рогозкин В.А. Ассоциация полиморфизма гена PPARG с деятельностью человека // Молек. биол. 2007, 5, 852.
2. Ивашкин В.Т. и Маевская М.В. Липотоксичность и метаболические нарушения при ожирении // РЖГГК. 2010, 1(1), 4-13.
3. Базы данных фармакологических рецепторов и действующие на них соединения «The IUPHAR / BPS Guide to Pharmacology» [сайт]. URL: <http://www.guidetopharmacology.org>
4. Karthick T., Tandon P. and Singh S. Evaluation of structural isomers, molecular interactions, reactivity descriptors and vibrational analysis of tretinoin // Anal. Sci. 2017, 33, 83-87.
5. Thacher S. M., Vasudevan J. and Chandraratna R. A. Therapeutic applications for ligands of retinoid receptors // Curr. Pharm. 2000, Des., 6, 25-58.
6. Shen L., Zhang Y., Wang A., Sieber-McMaster E., Chen X., Pelton P., Xu J.Z., Yang M., Zhu P., Zhou L., Reuman M., Hu Z., Russell R., Gibbs A.C., Ross H., Demarest K., Murray W.V. and Kuo G.H. Synthesis and identification of [1,2,4]thiadiazole derivatives as a new series of potent and orally active dual agonists of peroxisome proliferator-activated receptors α and δ // J. Med. Chem. 2007, 50, 3954-3963.
7. [Shen L.](#), [Zhang Y.](#), [Wang A.](#), [Sieber-McMaster E.](#), [Chen X.](#), [Pelton P.](#), [Xu J.Z.](#), [Yang M.](#), [Zhu P.](#), [Zhou L.](#), [Reuman M.](#), [Hu Z.](#), [Russell R.](#), [Gibbs A.C.](#), [Ross H.](#), [Demarest K.](#), [Murray W.V.](#) and [Kuo G.H.](#) Synthesis and structure-activity relationships of thiadiazole-derivatives as potent and orally active peroxisome proliferator-activated receptors α/δ dual agonists // Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 3321-3341.
8. Yin Y., Russell R.G., Dettin L.E., Bai R., Wei Z.L., Kozikowski A.P., Kopleovich L. and Glazer R.I. Peroxisome proliferator-activated receptor δ and γ agonists differentially alter tumor differentiation and progression during mammary carcinogenesis // J. Cancer Res. 2005, 65 (9), 3950-3957.
9. Inoue H., Tanabe T. and Umesono K. Feedback Control of Cyclooxygenase-2 Expression through PPAR γ // Biol. Chem. 2000, 275(36), 28028-32.
10. Huang J.T., Welch J.S., Ricote M., Binder C.J., Willson T.M., Kelly C., Witztum J.L., Funk C.D., Conrad D. and Glass C.K. Interleukin-4-dependent production of PPAR- δ ligands in macrophages by 12/15-lipoxygenase // Nature. 1999, 400(6742), 378-82.

11. Becker J., Delayre-Orthez C., Frossard N. and Pons F. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor- α expression during lung inflammation // *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 21(2), 324-30.
12. Necela B.M., Su W. and Thompson E.A. Toll-like receptor 4 mediates cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor γ and nuclear factor- κ B in macrophages // *Immunol.* 2008, 125(3), 344-358.
13. Barish G.D., Downes M., Alaynick W.A., Yu R.T., Ocampo C.B., Bookout A.L., Mangelsdorf D.J. and Evans R.M. A Nuclear Receptor Atlas: Macrophage Activation // *J. Mol. Endocrinol.* 2005 19(10), 2466-77.
14. Leininger M.T., Portocarrero C.P. and Houseknecht K.L. Peroxisome proliferator-activated receptor γ 1 expression in porcine white blood cells: dynamic regulation with acute endotoxemia *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 263(3), 749-53.
15. [Bojic L.A.](#), [Burke A.C.](#), [Chhoker S.S.](#), [Telford D.E.](#), [Sutherland B.G.](#), [Edwards J.Y.](#), [Sawyez C.G.](#), [Tirona R.G.](#), [Yin H.](#), [Pickering J.G.](#), and [Huff M.W.](#) Peroxisome proliferator-activated receptor δ agonist GW1516 attenuates diet-induced aortic inflammation, insulin resistance, and atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knockout mice *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2014, 34, 52-60.
16. Пивоварова Е.Н., Душкин М.И., Перепечаева М.Л., Кобзев В.Ф., Труфакин В.А. и Маркель А.Л. Все признаки метаболического синдрома у гипертензивной линии крыс НИСАГ ассоциируются с повышенной активностью факторов транскрипции PPAR, LXR, PXR и CAR γ в печени // *Биомедицинская химия.* 2011, 57 (4), 435-445.
17. Wensaas A.J., Rustan A., Lovstedt K., Kull B., Wikstrom S., Drevon C. and Hallen S. Cell-based multiwell assays for the detection of substrate accumulation and oxidation // *J. Lipid Res.* 2007, 48, 961-967.
18. Ferhana Y.A., Matthew G.H., Desvergne B., Warner T.D. and Mitchell J.A. PPAR β/δ Agonists Modulate Platelet Function via a Mechanism Involving PPAR Receptors and Specific Association/Repression of PKC α —Brief Report // *ArteriosclerThrombVasc Biol.* 2009, 29, 1871-1873.
19. Васина Л.В., Веселкина О.С. и Петрищев Н.Н. Механизмы влияния препарата «Озагрел» на агрегационную активность тромбоцитов // *Региональное кровообращение и микроциркуляция.* 2012, 11, 3 (43), 76-80.

20. Thevis M., Moller I., Thomas A., Beuck S., Rodchenkov G., Bornatsch W., Geyer H. and Schanzer W. Characterization of two major urinary metabolites of the PPAR δ -agonist GW1516 and implementation of the drug in routine doping controls // *Anal BioanalChem.* 2010, 396, 2479–2491.
21. Virus E. and Rodchenkov G. Detection of PPAR δ agonists GW1516 and GW0742 and their metabolites in human urine // *Drug Test. Analysis.* 2012, 4, 754–760.
22. Ciocoiu C.C., Nikolic N., Nguyen H.H., G. Thoresen H., Aasen A.J. and Hansen T.V. Synthesis and dual PPAR α/δ agonist effects of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazole analogues of GW 501516 *J. Med. Chim.* 2010, 45, 7, 3047-3055.
23. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // *Nature.* 1962, 194, 927-929.