

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 543.393:543.544.5.068.7

АНАЛИЗ ДИФЕНАКУМА В РОДЕНТИЦИДНЫХ КОМПОЗИЦИЯХ, СОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫЕ КУМАТЕТРАЛИЛА

Л.А. Носикова¹, доцент, А.Н. Кочетов^{2,@}, химик-аналитик

¹Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий),
Кафедра химии и технологии редких и рассеянных элементов,
наноразмерных и композиционных материалов им. К.А. Большакова,
Москва, 119571 Россия

²Испытательная аналитическая лаборатория ЗАО «МЕТТЭМ-Технологии»,
Балашиха, 143900 Россия

@ Автор для переписки, e-mail: kochchem@mail.ru

Рассмотрены возможности одновременного определения в родентицидных средствах титульного соединения и производных куматетралина (куматетралил, флорумафен и бродифакум). Адаптированы условия проведения непосредственно аналитического определения и стадии пробоподготовки, обеспечивающие определение изомерного состава дифенакума в родентицидных композициях. Использование менее полярных подвижных фаз на основе ацетонитрила предпочтительнее смесей на основе метанола. Подобраны условия, при которых достигается разделение энантиомеров при пределе чувствительности метода для дифенакума на уровне 0.0002%, что позволяет осуществлять мониторинг содержания более активных транс-изомеров для титульного соединения как в исходных родентицидных субстанциях, так и в конечных отравленных приманках. Реализация аналитической стадии определения изомерного состава дифенакума сопряжена с использованием аппаратно более простого оборудования за счет реализации изократического режима элюирования

Ключевые слова: дифенакум, родентициды, куматетралил, ОФ ВЭЖХ.

ANALYSIS OF DIFENACOUM IN RODENTICIDE COMPOSITIONS CONTAINING DERIVATIVES COUMATETRALYL

L.A. Nosikova¹, A.N. Kochetov^{2,@}

¹Moscow Technological University (Institute of Fine Chemical Technologies),
Moscow, 119571 Russia

²«МЕТТЕМ-Technology», 3, Parkovaya str., Balashikha, 43900 Russia

@ Corresponding author e-mail: vorfolomeeva.e.v@yandex.ru

The possibility of simultaneous determination of the title compounds and coumatetralyl derivatives (coumatetralyl, flocoumaphen and brodifacoum) in rodenticide means was considered. The conditions of direct analytical determination and stages of preparation were adapted, which will provide determination of the isomeric composition of difenacoum in rodenticide compositions. Using less polar mobile phases on the basis of acetonitrile is preferable as compared to mixtures on the basis of methanol. Conditions allowing the separation of enantiomers with the limit of sensitivity of the method for difenacoum level 0.0002% were found, which allows to monitor the content of more active trans isomers of the title compound both in the original rodenticide substances and in the end poisoned baits. Implementation of the analytical stage of the determination of the isomeric composition of difenacoum involves the use of simpler equipment due to the implementation of the isocratic mode afterwards.

Keywords: difenacoum, rodenticide, coumatetralyl, flocoumaphen, brodifacoum, RF-HPLC.

Дифенакум (I) наряду с другими синтетическими представителями 4-гидроксикумаринов обладает мощным антикоагулянтным действием [1]. Синтетические органические соединения, обладающие антикоагулянтными свойствами, активно используются с конца 40-х годов прошлого века в качестве родентицидов [2]. Их широкомасштабное использование в различных препаративных формах для нужд сельского хозяйства и в практике медицинской дератизации в первое время вселило уверенность в полном контроле за численностью грызунов, однако массовое применение родентицидных композиций на основе антикоагулянтов первого поколения привело к быстрому развитию резистентности (устойчивости) популяций грызунов к таким производным как варфарин (II) и куматетралил (III) спустя всего 10-15 лет.

Повышение резистентности заставило увеличивать используемые концентрации действующих веществ (ДВ) в приманках и активно искать более токсичные производные. С момента синтеза, на дифенакум I [3–5] как на субстанцию, являющуюся развитием производного III, возлагались большие надежды по преодолению барьера резистентности. Однако, ни титульное производное, ни более токсичные соединения, которые принято относить ко второму поколению родентицидов с антикоагулянтным механизмом действия (бродифакум (IV) [5, 6] и флюкумафен (V) [7, 8]), не смогли переломить ситуацию. Уже через 5-7 лет отмечались высокие уровни устойчивости к этим производным в Европе [9]. По-видимому, волна резистентности к большинству родентицидных препаратов докатилась до России. Ввиду сложности установления устойчивости популяции к тому или иному ДВ, мониторинг уровней резистентности в России не осуществляется, что не означает отсутствие резистентности. Последнее обстоятельство наиболее актуально для крупных городов, где в силу ряда причин обработки часто носят стихийный характер [10] при одинаковом с европейским рынком ассортименте средств дератизации [11].

Феномен быстрого генетического развития резистентности грызунов к антикоагулянтным препаратам до сих пор не нашел общепринятого объяснения [12]. Авторы работы [13] предполагают, что за отбор

резистентных к антикоагулянтам особой отвечает один из факторов свертываемости крови, наследование которого обеспечивает устойчивость к родентицидным препаратам с антикоагулянтным механизмом действия.

Одним из направлений увеличения эффективности существующих производных [14] является получение максимально активных изомерных форм производных подгруппы III. Поскольку изначально использовались схемы синтезов, не обеспечивающие региоселективность, то одновременно решались задачи уменьшения количества стадий, увеличения конечного выхода продуктов, разделения геометрических изомеров на стадии прекурсоров [15–17] и конечных производных [18] с переходом к стереоспецифичному синтезу этих соединений [19, 20] или же поиску новых родентицидных субстанций третьей генерации.

Производное III выступает как стартовый темплат при генерировании новых структур. Моделирование осуществляется исходя из ряда четких критериев при построении гипотетической модели: родство к витамин К(1)-2,3-эпоксидредуктазе, способность разрывать витамин К(1)-эпоксидный цикл более чем в одной точке, склонность к кумуляции (накапливанию) в организме за счет повышенной липофильности (жирорастворимости) [21–24].

Наличие двух хиральных центров в структурах производных III (рис. 1) обеспечивает существование четырех диастереомеров (S,S; R,R; S,R; R,S), которые можно сгруппировать по конфигурации объемных заместителей на *цис* (S,S; R,R) и *транс* (S,R; R,S). Токсичность (биологическая активность) изомерных форм отличается (таблица). Разница в токсикологических характеристиках энантиомеров титульного соединения накладывает на выполнение анализа по установлению его содержания в различных объектах дополнительное условие определения изомерного состава. Ввиду близких токсикологических характеристик подобные сведения не столь значимы при анализе других производных (бродифакума и флюкумафена), хотя принято считать более активными энантиомеры, обладающие *транс*-конфигурацией [18].

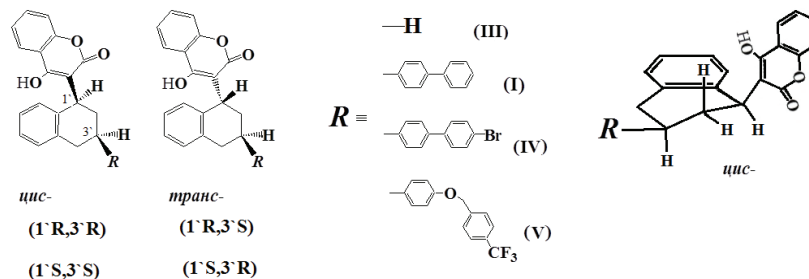


Рис. 1. Оптическая изомерия для производных подгруппы куматетралила (III).

Токсичность производных I–V 4-гидроксикумарина для крыс

Соединение	Энантиомерный состав	LD ₅₀ (мг/кг)	Литература
I	<i>цис</i> -(1'R,3'R)	2.5–5.0	[19]
	<i>цис</i> -(1'S,3'S)	0.8–1.5	
	<i>транс</i> -(1'S,3'R)	2.5–5.0	
	<i>транс</i> -(1'R,3'S)	0.3–0.9	
	Рацемат	0.3–1.8/0.9–0.7*	[5]
II	Рацемат	1.8	[7]
	Рацемат	37.5	[41]
III	Рацемат	15	[41]
IV	<i>цис</i> -(1'R,3'R)	0.5–0.8	[19]
	<i>цис</i> -(1'S,3'S)	0.4–0.9	
	<i>транс</i> -(1'S,3'R)	0.4–0.9	
	<i>транс</i> -(1'R,3'S)	0.5–0.8	
	Рацемат	0.20–0.37/0.30–0.63*	[5]
V	Рацемат	0.27	[7]
	Рацемат	0.47–0.53	[41]
	Рацемат	0.46	[7]

* для крыс/мышей

Установление полного энантиомерного состава производных **III** нельзя отнести к тривиальной задаче. Подобное разделение возможно с привлечением специального оборудования и хиральных неподвижных стационарных фаз и подходит скорее для выполнения исследовательских задач, чем для рутинных измерений. Разделение энантиомеров другой подгруппы производных 4-гидроксикумарина, родоначальником которой является соединение **II**, с разной степенью успешности было реализовано [25–32], однако исследовательский интерес к этим объектам объясняется существенно большей разницей в активности энантиомеров производных **II** по сравнению с установленными токсикологическими характеристиками для **I** [4, 33].

Определение содержания **I** в различных объектах успешно реализуется методом ВЭЖХ с различными вариантами детектирования [34–38]. Однако только в ряде случаев достигается разрешение энантиомеров с использованием градиентного элюирования и флуориметрического [39] и УФ-детектирования [40].

В последнее время для преодоления резистентности грызунов к антикоагулянтным родентицидам стали одновременно использовать несколько ДВ в готовых приманках. Примерами таких средств для титульного соединения являются препараты «Дерей Ультра» (композиция **I** + **VI**) и «Тридэвэ, МБ» (композиция **I** + **IV**) производства ООО «Валбрента Кемикалс», Россия, а также средство «СуперМОР – тестобрикет» (ООО «Ваше хозяйство», Россия), содержащее производные **I** и **III**. Анализ подобных смесевых форм представляет сложность ввиду относительно близких времен удерживания в условиях аналитического определения из-за наложения сигналов изомеров производных **I**, **IV** и **VI**.

Экспериментальная часть

Для проведения исследований использовали следующие аналитические стандарты: «Дифенакум» 99.2% (Fluka, Англия), «Варфарин» 97.5% (СОП 64-06, НПК «Блок-1», Россия), «Бродифакум» 97.8% (СОП 68-06, НПК «Блок-1», Россия), «Бромодиолон» 98.2% (СОП 65-06, НПК «Блок-1», Россия), «Куматетралил» 99.9% (Bayer AG, Германия), «Флокумафен» 98.0% (Waycome Pharmaceutical Co., Ltd, Китай).

Изопропанол (х. ч., ГОСТ 18300-87), метанол (для ВЭЖХ, «Lab-Scan analytical sciences», Польша), уксусная кислота (х. ч., ГОСТ 61-75), вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72) и ацетонитрил (для ВЭЖХ, «Panreac», Испания) использовались без предварительной очистки. Для приготовления модельной тестобразной приманки использовали «Дифенакум» (Hangzhou Yuhao Chemical Technology Co., Ltd, Китай) с содержанием основного компонента 98%.

Проведение ВЭЖХ в сочетании с УФ-детекцией проводили на хроматографе «Waters 490» (Waters Ltd., Watford, UK), оснащённом насосом Altex модели 110A, инжектором «Rheodyne» с объемом петли 20 мкл, УФ-детектором модели 490 с переменной длиной волны. Использовали колонки из нержавеющей стали: 4.0×150 мм, заполненную Сепарон SGX C18 Супер (RP-S), зернение 5 мкм («Элсико», Россия), и 4.6×250 мм, заполненную Zorbax ODS, зернение 5 мкм («Agilent Technologies Inc.», США). Подвижная фаза ацетонитрил – вода (60 : 40, 80 : 20) и метанол – вода – уксусная кислота (80 : 20 : 0.5), скорость потока 0.5 мл/мин (предварительно дегазировали при помощи ультразвуковой установки). Детекцию осуществляли на УФ-детекторе при 280 и 310 нм (температура комнатная). Запись хроматограмм проводили с помощью программы

«Мультихром» (Ampersand Ltd. версия 1,52i, Россия). Калибровку осуществляли, используя растворы аналитического стандарта (I) в изопропанол с концентрацией 0.72 мг/мл (см. рис. 2Б), разбавленным в 4, 8 и 20 раз соответственно. Исследовали модельный раствор смеси (I)-(VI) с концентрациями компонентов: (I) 0.0012 мг/мл (2.70 мкМ); (II) 0.0012 мг/мл (3.89 мкМ); (III) 0.0018 мг/мл (6.16 мкМ); (IV) 0.0040 мг/мл (7.58 мкМ); (V) 0.0015 мг/мл (27.6 мкМ) и (VI) 0.0017 мг/мл (32.5 мкМ), хроматограмма которого приведена на рис. 3.

В процессе исследования подвергались проверке на содержание ДВ оригинальная тестовая композиция на основе пшеничной муки [42], содержащая 0.005% титульного соединения, из которой было проведено извлечение I.

Определение I осуществляли, используя экстракционную систему и условия, ранее подобранные нами для одновременного извлечения II, IV и VI, для чего средство массой 5-6 г последовательно

взвешивали на аналитических весах, помещали в коническую колбу (100 см³), прибавляли 10 см³ дистиллированной воды и перемешивали на магнитной мешалке при комнатной температуре до полного распада образца (15 мин), затем прибавляли 40 см³ изопропанола и 0.2 см³ ледяной уксусной кислоты и экстрагировали при перемешивании (4 ч), экстракт фильтровали через бумажный фильтр (белая лента) и хроматографировали (см. рис. 2А).

Результаты и их обсуждение

Выполнение анализа содержания I в отсутствие других производных (рис. 2) позволяет дополнительно определить изомерный состав сырья в готовой композиции/стандарте, однако условия проведения подобного определения не подходят для установления состава при совместном присутствии других производных подгруппы III.

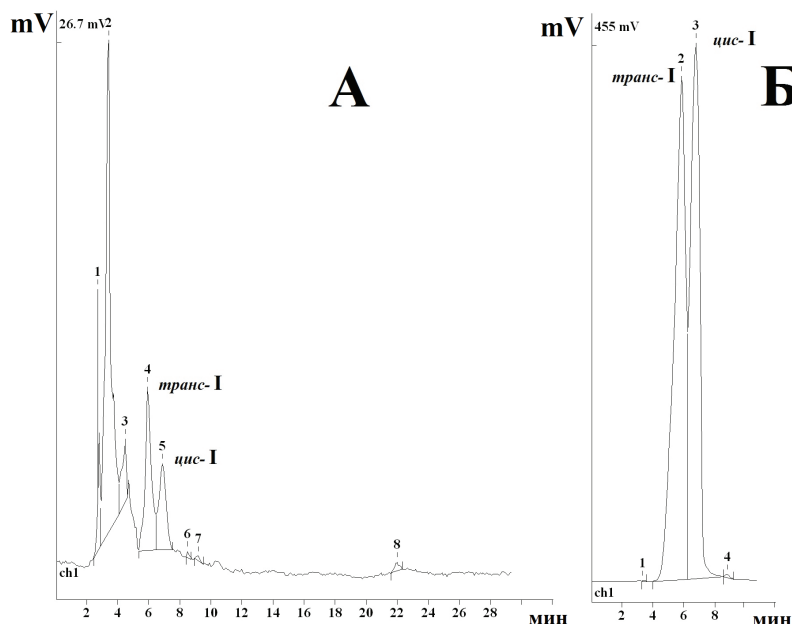


Рис. 2. Хроматограмма образца препарата, содержащего I (пробоподготовка осуществлена по методу [42]), (А) и стандартного раствора соединения (I) в изопропанол с концентрацией 0.72 мг/мл (1.62 мМ) (Б). Колонка 4.6×250 мм Zorbax ODS, 5 мкм. Система CH₃CN – H₂O, 80 : 20; 0.5 мл/мин; λ = 310 нм.

Ранее нами были подробно описаны [42] условия одновременного извлечения из модельных композиций на основе пшеничного теста с последующим определением методом ОФ ВЭЖХ трех производных данного класса: II, IV и VI. При совместном присутствии в составе таких модельных систем титульного соединения корректное определение в подобранных условиях [42] невозможно.

Использование более полярных элюирующих систем на основе ацетонитрила в изократическом режиме обеспечивает удовлетворительное разделение соединений изомерного состава (рис. 3) одновре-

менно с достаточной чувствительностью (на уровне 0.0002%) при проведении пробоподготовки по ранее описанной схеме [42]. Использование в качестве подвижных фаз систем на основе метанола не позволяет достигнуть низкой чувствительности и высокой селективности (рис. 4) компонентов I–VI модельного раствора. При этом для смещения таутомерного равновесия в сторону гемикетального производного в случае соединения II [43] необходимо подкислять элюирующую систему, что одновременно должно приводить к значительному упрощению хроматограмм [42], однако в нашем случае этого не происходит.

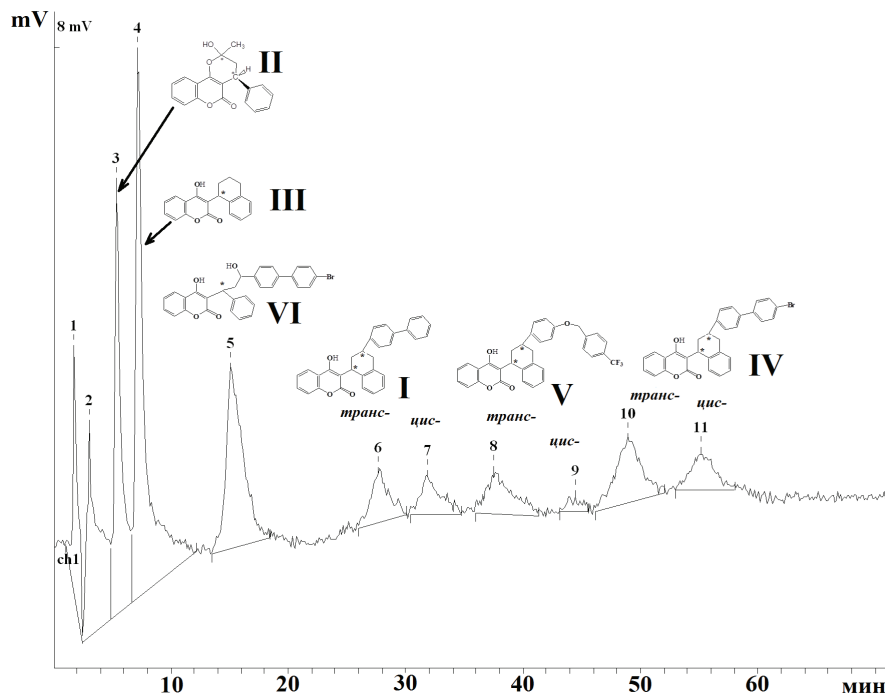


Рис. 3. Хроматограмма модельной смеси соединений I–VI (концентрации компонентов – см. Эксперимент. часть). Колонка 4.0×150 мм Сепарон SGX C18 Супер(RP-S), 5 мкм. Система CH₃CN – H₂O, 60 : 40; 0.5 мл/мин; λ = 280 нм.

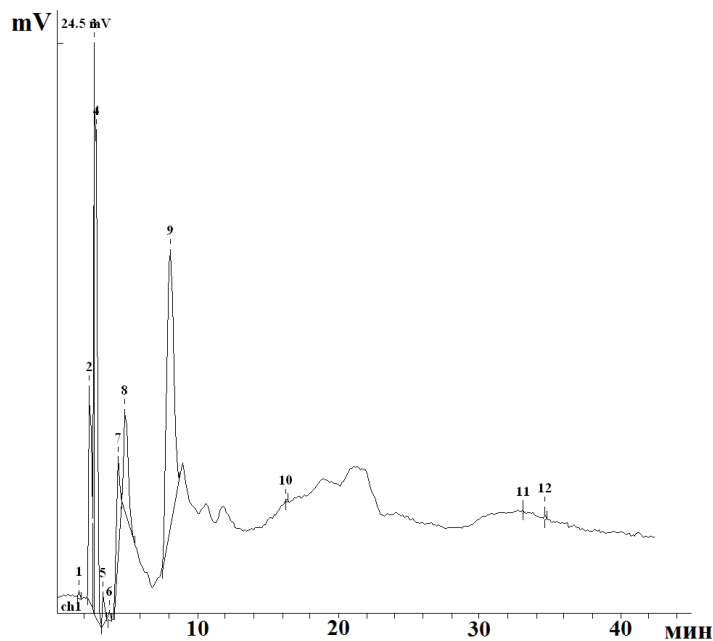


Рис. 4. Хроматограмма модельной смеси соединений I–VI (концентрации компонентов – см. Эксперимент. часть). Колонка 4.0×150 мм Сепарон SGX C18 Супер(RP-S), 5 мкм. Система MeOH – H₂O – AcOH, 80 : 20 : 0.5; 0,5 мл/мин; λ = 310 нм.

Для рутинного определения содержания I в готовых родентицидных композициях оптимально использование высокоэффективных колонок (в нашем случае Zorbax ODS 4.6×250 мм) с менее полярными элюентами на основе ацетонитрила (ацетонитрил – вода, 80 : 20), при этом извлекаемые из пищевой

матрицы компоненты не мешают идентификации изомеров титульного соединения, а полярность подвижной фазы оказывается достаточной для определения изомерного состава и вместе с тем обеспечивает большую робастность определения за счет сокращения времени для проведения стадии хрома-

тографического разделения и детектирования экстрактов проб средств. Соотношение *транс*-/*цис*-изомеров, найденное для субстанции **I** и аналитического стандарта, различно (60/40 и 54/46 соответственно), что позволяет судить об относительно более высокой токсичности (см. таблицу) приманок, приготовленных на основе технической субстанции по сравнению с гипотетической композицией, приготовленной с использованием аналитического стандарта.

Для одновременного определения всех производных подгруппы **III**, включая титульное соединение, необходимо использовать более полярную подвижную фазу, при одновременном сохранении селективности, чувствительности и относительно небольшом времени анализа. Оптимальные условия были получены при использовании меньшей колонки (Сепарон SGX C18 Супер (RP-S) 4.0×150 мм) и подвижной фазы на основе ацетонитрила (ацетонитрил – вода, 60 : 40), при этом возможно определение содержания **I** (включая установление изомерного состава) в модельном растворе на уровне менее 0.0002% в присутствии родственных производных **II–VI** (рис. 3).

Наличие информации об изомерном составе, помимо общего содержания ДВ, при входном контроле сырья в процессе производства или мониторинге готовой продукции на любых стадиях пути к конечному потребителю является своеобразным маркером, позволяющим оценить производителя исходной субстанции/готовых средств и служить дополнительной степенью защиты в случае фальсификации продукции или использовании более дешевого сырья с меньшим содержанием активного *транс*-изомера **I**. Следующим шагом может служить создание библиотек данных изомерного состава субстанций, что позволило бы осуществлять дополнительный контроль за родентицидными субстанциями, являющимися веществами первого класса опасности [41, 44]. Подобные сведения при размещении в открытом доступе на информационных ресурсах контролирующих (исследовательских) организаций стимулировали бы поставщиков субстанций использовать инновационные схемы синтеза (очистки), а производителей готовых средств на выходе получать более эффективные родентицидные композиции.

Список литературы:

- Jung J.-C., Park O.-S. // *Molecules*. 2009. V. 14. P. 4790–4803.
- O'Connor J.A. // *Research*. (London). 1948. № 1. P. 334–336.
- Hadler M.R., Shadbolt R.S. // *Nature*. 1975. V. 253. P. 275–277.
- Hadler M.R., Redfern R., Rowe F.P. // *J. Hygiene*. 1975. V. 74. P. 441–448.

- Redfern R., Gill J.E., Hadler M.R. // *J. Hygiene*. 1976. V. 77. P. 419–426.
- Shadbolt R.S., Woodward D.R., Birchwood P.J. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*. 1976. P. 1190–1195.
- Eutwistle I.D., Boehm P. Anti-coagulants of the 4-hydroxycoumarin type and rodenticidal compositions (baits) comprising such anti-coagulants: pat. 4520007 U.S. № 504348; filed 14.06.1983; publ. 28.05.1985, 15 p.
- Parshad V.R., Chopra G. // *J. Hygiene*. 1986. V. 96. P. 475–478.
- Myllymöki A. // *Pesticide Sci*. 1995. V. 43. P. 69–72.
- Рыльников В.А. // *Дезинфекционное дело*. 2006. № 3. С. 53–63.
- Назаров В.Ю., Дацкевич А.М., Кабай Л.И. // *Дезинфекционное дело*. 2011. № 3. С. 26–35.
- Pelz H.J., Rost S., Hünerberg M. [et al.] // *Genetics*. 2005. V. 170. № 4. P. 1839–1847.
- Kerins G.M. // *Compar. Hematol. Int*. 1999. V. 9. № 2. P. 70–82.
- Кочетов А.Н., Кузьмина Л.Г., Шестаков К.А. // *Дезинфекционное дело*. 2009. № 2. С. 68–77.
- Park O.S., Jang B.S. // *Arch. Pharm. Res*. 1995. V. 18. № 4. P. 277–281.
- van Heerden P.S., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*. 1997. P. 1141–1146.
- Jung J.-C., Jang S., Oh S., Park O.-S. // *J. Chem. Sci*. 2010. V. 122. № 6. P. 833–838.
- Whittle A.J. Separation of isomers: pat. 4788297 U.S. № 769492; filed 26.08.1985; publ. 29.11.1988, 3 p.
- van Heerden P.S., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D. // *Tetrahedron*. 1997. V. 53. № 17. P. 6045–6056.
- Jung J.-C., Lim E., Lee Y., Min D., Ricci J., Park O.-S., Jung M. // *Molecules*. 2012. V. 17. P. 2091–2102.
- Dolmella A., Gatto S., Girardi E., Bandoli G. // *J. Mol. Struct*. 1999. V. 513. P. 177–199.
- Chen D.-U., Kuo P.-Yu, Yang D.-Y. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett*. 2005. V. 15. P. 2665–2668.
- Gebauer M. // *Bioorg. & Med. Chem*. 2007. V. 15. P. 2414–2420.
- Wang M., Chen F., Guan J., Zhao J., Zhang J., Zhao R. // *Appl. Biochem. Biotechnol*. 2010. DOI 10.1007/s12010-009-8619-7.
- Jeyaray G.L., Porter W.R. // *J. Chromatogr*. 1984. V. 315. P. 378–383.
- Okamoto Y., Aburatani R., Hatano K., Hatada K. // *J. Liq. Chromatogr*. 1988. V. 11. № 9-10. P. 2147–2163.
- Chu Y.-Q., Wainer I.W. // *Pharm. Res*. 1988. V. 5. № 10. P. 680–683.
- Bargmann-Leyder N., Tambuté A., Bégos A. // *Chromatogr*. 1993. V. 37. № 7/8. P. 433–443.
- Svensson L.A., Owens P.K. // *Analyst*. 2000. V. 125. P. 1037–1039.
- Yarabe H.H., Billiot E., Warner I.M. // *J. Chromatogr*. 2000. V. 875(A). P. 179–206.

31. Karlsson C., Wikström H., Armstrong D.W., Owens P.K. // *J. Chromatogr.* 2000. V. 897(A). P. 349–363.
32. Abe I., Nagamatsu D., Nakahara T., Fabiany G. // *Chem. Lett.* 2004. V. 33. № 3. P. 260–261.
33. Fasco M.J., Principeg L.M. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. № 9. P. 4894–4901.
34. Fauconnet V., Pouliquen H., Pinault L. // *J. Analyt. Toxicol.* 1997. V. 21. P. 548–553.
35. Mundy D.E., Machin A.F. // *J. Chromatogr.* 1977. V. 139. № 2. P. 321–329.
36. Cai X.-X., Zhang X.-Y. // *Chin. J. Analyt. Chem.* 2010. V. 38. № 10. P. 1411–1416.
37. Breckenridge A.M., Cholerton S., Hart J.A.D., Park B.K., Scott A.K. // *Br. J. Pharmacol.* 1985. V. 84. P. 81–91.
38. Jones A. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1996. V. 56. P. 8–15.
39. Kelly M.J., Chambers J., MacNicol A.D. // *J. Chromatogr.* 1993. V. 620. № 1. P. 105–112.
40. Hunter K. // *J. Chromatogr.* 1985. V. 321. P. 255–272.
41. Заева Г.Н., Мальцева М.М., Березовский О.И. // *Дезинфекционное дело.* 2004. № 3. С. 58–64.
42. Кочетов А.Н., Шестаков К.А., Шпилевский Г.М., Кузьмина Л.Г. // *Хим.-фарм. журнал.* 2013. Т. 47. № 2. С. 41–50.
43. Кочетов А.Н., Кузьмина Л.Г. // *Хим.-фарм. журнал.* 2010. Т. 44. № 2. С. 9–14.
44. Заева Г.Н., Березовский О.И., Родионова Р.П., Рыльников В.А., Хляп Л.А. // *Дезинфекционное дело.* 1997. № 4. С. 24–28.
- № 3. P. 53–63.
11. Nazarov V.Yu., Dackevich A.M., Kabaj L.I. // *Disinfection Affairs* 2011. № 3. P. 26–35.
12. Pelz H.J., Rost S., Hünerberg M. [et al.] // *Genetics.* 2005. V. 170. № 4. P. 1839–1847.
13. Kerins G.M. // *Compar. Hematol. Int.* 1999. V. 9. № 2. P. 70–82.
14. Kochetov A.N., Kuz'mina L.G., Shestakov K.A. // *Disinfection Affairs* 2009. № 2. P. 68–77.
15. Park O.S., Jang B.S. // *Arch. Pharm. Res.* 1995. V. 18. № 4. P. 277–281.
16. van Heerden P.S., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D. // *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* 1997. P. 1141–1146.
17. Jung J.-C., Jang S., Oh S., Park O.-S. // *J. Chem. Sci.* 2010. V. 122. № 6. P. 833–838.
18. Whittle A.J. Separation of isomers: pat. 4788297 U.S. № 769492; filed 26.08.1985; publ. 29.11.1988, 3 p.
19. van Heerden P.S., Bezuidenhout B.C.B., Ferreira D. // *Tetrahedron.* 1997. V. 53. № 17. P. 6045–6056.
20. Jung J.-C., Lim E., Lee Y., Min D., Ricci J., Park O.-S., Jung M. // *Molecules.* 2012. V. 17. P. 2091–2102.
21. Dolmella A., Gatto S., Girardi E., Bandoli G. // *J. Mol. Struct.* 1999. V. 513. P. 177–199.
22. Chen D.-U., Kuo P.-Yu, Yang D.-Y. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 2005. V. 15. P. 2665–2668.
23. Gebauer M. // *Bioorg. & Med. Chem.* 2007. V. 15. P. 2414–2420.
24. Wang M., Chen F., Guan J., Zhao J., Zhang J., Zhao R. // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010. DOI 10.1007/s12010-009-8619-7.
25. Jeyaray G.L., Porter W.R. // *J. Chromatogr.* 1984. V. 315. P. 378–383.
26. Okamoto Y., Aburatani R., Hatano K., Hatada K. // *J. Liq. Chromatogr.* 1988. V. 11. № 9-10. P. 2147–2163.
27. Chu Y.-Q., Wainer I.W. // *Pharm. Res.* 1988. V. 5. № 10. P. 680–683.
28. Bargmann-Leyder N., Tambuté A., Bégos A. // *Chromatogr.* 1993. V. 37. № 7/8. P. 433–443.
29. Svensson L.A., Owens P.K. // *Analyst.* 2000. V. 125. P. 1037–1039.
30. Yarabe H.H., Billiot E., Warner I.M. // *J. Chromatogr.* 2000. V. 875(A). P. 179–206.
31. Karlsson C., Wikström H., Armstrong D.W., Owens P.K. // *J. Chromatogr.* 2000. V. 897(A). P. 349–363.
32. Abe I., Nagamatsu D., Nakahara T., Fabiany G. // *Chem. Lett.* 2004. V. 33. № 3. P. 260–261.
33. Fasco M.J., Principeg L.M. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. № 9. P. 4894–4901.
34. Fauconnet V., Pouliquen H., Pinault L. // *J. Analyt. Toxicol.* 1997. V. 21. P. 548–553.
35. Mundy D.E., Machin A.F. // *J. Chromatogr.* 1977. V. 139. № 2. P. 321–329.
36. Cai X.-X., Zhang X.-Y. // *Chin. J. Analyt. Chem.*

References:

1. Jung J.-C., Park O.-S. // *Molecules.* 2009. V. 14. P. 4790–4803.
2. O'Connor J.A. // *Research.* (London). 1948. № 1. P. 334–336.
3. Hadler M.R., Shadbolt R.S. // *Nature.* 1975. V. 253. P. 275–277.
4. Hadler M.R., Redfern R., Rowe F.P. // *J. Hygiene.* 1975. V. 74. P. 441–448.
5. Redfern R., Gill J.E., Hadler M.R. // *J. Hygiene.* 1976. V. 77. P. 419–426.
6. Shadbolt R.S., Woodward D.R., Birchwood P.J. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 1976. P. 1190–1195.
7. Eutwistle I.D., Boehm P. Anti-coagulants of the 4-hydroxycoumarin type and rodenticidal compositions (baits) comprising such anti-coagulants: pat. 4520007 U.S. № 504348; filed 14.06.1983; publ. 28.05.1985, 15 p.
8. Parshad V.R., Chopra G. // *J. Hygiene.* 1986. V. 96. P. 475–478.
9. Myllymöki A. // *Pesticide Sci.* 1995. V. 43. P. 69–72.
10. Ryln'nikov V.A. // *Disinfection Affairs* 2006.

2010. V. 38. № 10. P. 1411–1416.

37. Breckenridge A.M., Cholerton S., Hart J.A.D., Park B.K., Scott A.K. // *Br. J. Pharmac.* 1985. V. 84. P. 81–91.

38. Jones A. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1996. V. 56. P. 8–15.

39. Kelly M.J., Chambers J., MacNicoll A.D. // *J. Chromatogr.* 1993. V. 620. № 1. P. 105–112.

40. Hunter K. // *J. Chromatogr.* 1985. V. 321. P. 255–272.

41. Zaeva G.N., Mal'ceva M.M., Berezovskij O.I. // *Disinfection Affairs* 2004. № 3. P. 58–64.

42. Kochetov A.N., Shestakov K.A., Shpilevskij G.M., Kuz'mina L.G. // *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* 2013. V. 47. № 2. P. 41–50.

43. Kochetov A.N., Kuz'mina L.G. // *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2010. V. 44. № 2. P. 9–14.

44. Zaeva G.N., Berezovskij O.I., Rodionova R.P., Ryl'nikov V.A., Khlyap L.A. // *Disinfection Affairs*. 1997. № 4. P. 24–28.