



MD 4663 B1 2019.12.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4663** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A01N 59/20* (2006.01)
A01N 47/34 (2006.01)
A01P 1/00 (2006.01)
C07F 1/08 (2006.01)
C07C 281/14 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2019 0004 (22) Data depozit: 2019.01.28	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2019.12.31, BOPI nr. 12/2019
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII, MD (72) Inventatori: LUPAȘCU Lucian, MD; JOVMIR Tudor, MD; POPA Tatiana, MD; LOZAN Vasile, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE CHIMIE, MINISTERUL EDUCAȚIEI, CULTURII ȘI CERCETĂRII, MD (74) Mandatar autorizat: JOVMIR Tudor	

(54) Aplicare a 2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru-hidrat in calitate de remediu contra bacteriilor fitopatogene

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la aplicarea compușilor coordinativi de cupru în bază de izotiosemicarbazone în calitate de remediu antibacterian și poate fi utilizată în agricultură.

Conform invenției, compusul binuclear de cupru(II) hidrosolubil 2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru-hidrat manifestă

2
o activitate bactericidă față de bacteriile fitopatogene și poate fi utilizat sub formă de soluții apoase cu concentrații minime de 0,007% mas. pentru combaterea bacteriozei la plante.

Revendicări: 2

Figuri: 1

MD 4663 B1 2019.12.31

(54) Use of 2,6-bis(S-methylisothiosemicarbazidomethylidene)-4-methylphenolato-trichloro-dicopper-hydrate as an agent against phytopathogenic bacteria

(57) Abstract:

1
The invention relates to the use of coordination compounds of copper based on isothiosemicarbazones as an antibacterial agent and can be used in agriculture.

According to the invention, the binuclear water-soluble compound of copper(II) 2,6-bis(S-methylisothiosemicarbazidomethylidene)-4-methylphenolato-

2
trichloro-dicopper-hydrate exhibits bactericidal activity against phytopathogenic bacteria and can be used in the form of aqueous solutions with minimum concentrations of 0.007 wt.% to combat bacteriosis in plants.

Claims: 2

Fig.: 1

(54) Применение 2,6-бис(S-метилизотиосемикарбазидометилиден)-4-метилфенолато-трихлор-димедь-гидрата в качестве средства против фитопатогенных бактерий

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к применению координационных соединений меди на основе изотиосемикарбазонов в качестве антибактериального средства и может быть использовано в сельском хозяйстве.

Согласно изобретению, биядерное водорастворимое соединение меди(II) 2,6-бис(S-метилизотиосемикарбазидометил-

2
иден)-4-метилфенолато-трихлор-димедь-гидрат проявляет бактерицидную активность по отношению к фитопатогенным бактериям и может быть использовано в виде водных растворов с минимальной концентрацией 0,007 мас. % для борьбы с бактериозом у растений.

П. формулы: 2

Фиг.: 1

Descriere:

Invenția se referă la aplicarea compușilor coordinativi de cupru în bază de izotiosemicarbazone în calitate de remediu antibacterian și poate fi utilizată în agricultură.

5 Speciile de bacterii fitopatogene pot provoca diferite boli ale plantelor agricole (bacterioze). De exemplu, *Erwinia amylovora*, bacteria gram-negativă din familia Enterobacteriaceae, este agentul cauzal al focului bacterian, o boală devastatoare a plantelor care afectează o gamă largă de specii din cadrul genului Rosaceae și este o amenințare globală majoră pentru producția comercială de mere și pere (Pique N., Minana-Galbis D., Merino S. M. Tomas J. Virulence Factors of *Erwinia amylovora*: A Review. Int. J. Mol. Sci., 10 Jun. 2015, 16(6), p. 12836–12854). Altă specie *E. carotovora* cauzează putregaiul moale la culturile economico-importante, așa ca cartofi, roșii, castraveți. În cazul cartofului se produce putregaiul moale al tulpinii și tuberculilor până și după recoltare, astfel reducând considerabil randamentul roadei (Benada M., Boumaaza B., Boudalia S., Khaladi O., Guessas B. 15 Variability of aggressiveness and virulence of *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovorum* causing the soft rot on potato tubers in the western of Algeria. Int. J. of Plant Biology 2018, vol. 9:7568, p. 52-56). *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* este o bacterie gram-negativă biotrofică și este agentul care provoacă pătarea bacteriană a tomatelor (*Solanum lycopersicum* L.) și a ardeiului (*Capsicum annuum*), o boala prezentă la nivel mondial. 20 Simptomele infectării bacteriene includ defolierea și leziunile necrotice clorotice pe frunze, tulpini, fructe și flori, care conduc ulterior la un randament redus al roadei (Tamir-Ariel D., Navon N. and Burdman S. Identification of Genes in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Induced during Its Interaction with Tomato. J. Bacteriol., Sep. 2007, 189(17), p. 6359–6371).

25 Tiosemicarbazonele și complexii lor cu unele metale de tranziție în unele cazuri manifestă un spectru larg de acivitate biologică, inclusiv antibacteriană, în special în domeniul medical [1,2,3].

 Pentru combaterea microorganismelor fitopatogene, inclusiv bacterii, au fost propuse compoziții biocide care cuprind tiosemicarbazone nealchilate pe sulf în baza 30 diverșilor derivați ai 2-acetil- și 2-formilpiridină, cât și compușii lor coordinativi (complexi) cu cupru și alte metale [4]. Dezavantajul acestor agenți antimicrobieni constă în faptul că sunt insolubili sau foarte puțin solubili în apă, fapt ce necesită introducerea în compoziții a aditivilor de solubilizare sau umectare a prafului de tiosemicarbazona sau respectiv de complex.

35 Activitatea biologică a tiosemicarbazonelor și complexilor lor variază foarte puternic în funcție de metal, structura ligandului sau a complexului, natura substituenților atât din nucleul carbonilic cât și la fragmentul tiosemicarbazidic. Acest fragment poate fi derivatizat prin substituție la atomii de azot.

40 Ca o ilustrare a dependenței activității biologice de structura ligandului și a complexului de metal pot servi complexii binucleari de cupru(II) cu tiosemicarbazonele N₄-substituite a hidroxiacetofenonei. Dimerii de cupru nu posedă o activitate de inhibare față de *Aspergillus niger*, dar în schimb sunt activi față de *Paecilomyces variotii* [5].

 Complexii binucleari (dimeri) de cupru(II) în baza ligandului binucleabil bis(4-feniltiosemicarbazona) 2,6-diformil-4-metilfenolului sunt inactivi față de diferite specii de 45 bacterii sau fungi [6].

 O altă cale de derivatizare a tiosemicarbazidelor constă în alchilarea atomului de sulf tionic cu obținerea S-alchilizotiosemicarbazidelor. Din datele din stadiul tehnicii reiese că alchilarea sulfului din fragmentul tiosemicarbazidic nu contribuie la ridicarea activității biologice a tiosemicarbazonelor și complexilor lor. De exemplu, pentru derivații S-alchilați 50 ai 1,4-benzochinon-izotiosemicarbazon-guanilhidrazona s-a stabilit că alchilarea sulfului duce la micșorarea activității antibacteriene [7].

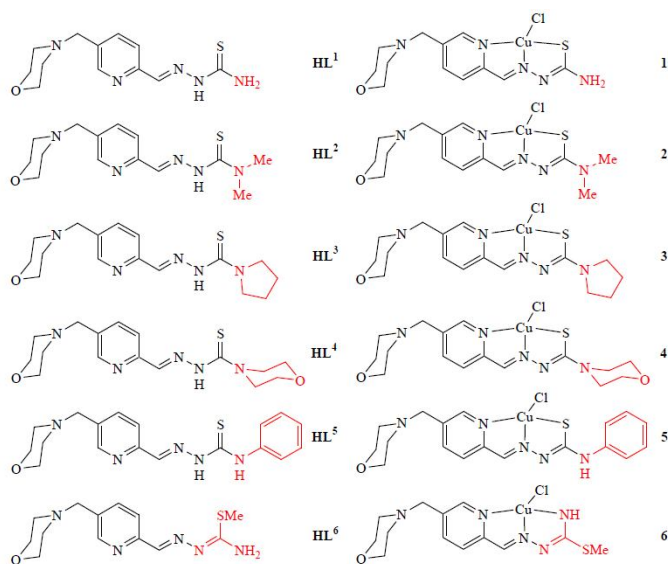
 Având în vedere că apa reprezintă mediul biologic de bază din componența organismelor vii, inclusiv a plantelor, și reieșind din considerentele practice de pregătire și aplicare a remediilor antimicrobiene, este de dorit de a elabora ingrediente activi hidrosolubili. Aceasta ar permite de a utiliza efectiv remediile antibacteriene sub formă de soluții apoase, evitând folosirea solvenților organici, agenților de solubilizare sau umectare, 55 cu toate consecințele pozitive pentru mediu, tehnica securității, costuri economice, etc.

Majoritatea absolută de tiosemicarbazone și complexii lor sunt insolubili în apă. O metodă de a conferi hidrosolubilitate constă în introducerea în ligandul organic a unor grupe hidrofile ca grupa sulfonică (-SO₃H) sau carboxilică (-COOH). Aceste grupe ușor se ionizează în mediul bazic cu formarea sărurilor respective ale metalelor alcaline sau de amoniu, care de regulă conferă solubilitate în apă ligandului sau complexului respectiv.

Pe această cale au fost obținuți complecși de cupru, zinc și nichel hidrosolubili cu unele tiosemicarbazone ale aldehydelor aromatice sulfonate [8]. Solubilitatea lor în apă a permis testarea *in vivo* a activității biologice, în special a citotoxicității contra celulelor de leucemie cronică mieloidă umană. Un dezavantaj al acestor compuși este că introducerea grupei sulfonice necesită stadii suplimentare de sinteză organică, în plus grupa sulfonică poate influența negativ asupra activității biologice.

În scopul de a obține tiosemicarbazone heteroaromatice și complecși de cupru(II) hidrosolubili cu activitate antiproliferativă contra celulelor anticanceroase, în nucleul heteroaromatic s-a introdus grupa morfolinică, care poate conferi hidrosolubilitate și o activitate biologică compușilor pe care o conțin [9].

Au fost sintetizate diverse tiosemicarbazone pe bază de 5-metilmorfolin-piridin-2-carboxaldehidă (HL¹-HL⁶) și complecși respectivi de cupru hidrosolubili (1-6):



S-a determinat că o parte de complecși formează dimeri slabi (asociați) în stare solidă, care în soluție apoasă se scindează în monomerii reprezentați mai sus. Totodată liganzii și complecșii lor de cupru au fost testați și pentru activitate antibacteriană față de microorganismele Gram-pozitive *S.aureus* și Gram-negative *P. aeruginosa*. HL¹-HL⁵ împreună cu complecșii 1-5 au arătat o activitate antibacteriană considerabilă față de bacteriile *S.aureus*.

Complexul hidrosolubil de cupru 6 pe bază de S-metilizotiosemicarbazidă poate fi considerat cel mai aproape din punct de vedere structural de compusul utilizat în invenția revendicată. Dezavantajul analogului proxim constă în faptul că ligandul HL⁶ și complexul 6, spre deosebire de ceilalți compuși, au arătat un nivel foarte redus de activitate antibacteriană. Alt dezavantaj este că sinteza 5-metilmorfolin-piridin-2-carboxaldehidei, care conferă în final hidrosolubilitate complecșilor, este destul de anevoioasă și necesită șapte stadii de sinteză.

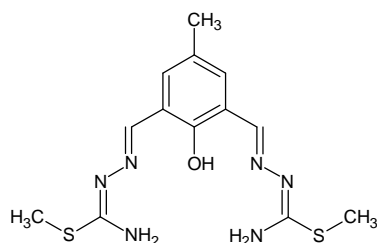
Problema soluționată de invenție constă în extinderea gamei de remedii antibacterieni contra speciilor fitopatogene în bază de complecși hidrosolubili ai cuprului(II) cu tiosemicarbazone.

Problema s-a soluționat printr-o analiză și selecție neevidentă dintre compuși complecși binucleari (dimeri) ai cuprului hidrosolubili cu derivați de tiosemicarbazone aromatice binucleabile, urmată de sinteza și investigații microbiologice corespunzătoare.

Rezultatul atins de invenție constă în faptul că pentru un compus binuclear al cuprului(II) hidrosolubil în bază de derivat S-alkilat al tiosemicarbazidei, și anume pentru dimerul cuprului coordonat cu bis(S-metilizotiosemicarbazona)-2,6-diformil-4-metilfenolului

(H₃DF-T₁), s-a depistat o activitate antibacteriană față de speciile fitopatogene în soluții apoase cu concentrații minime bactericide de 0,007% mas. (130 μM).

- 5 Ligandul H₃DF-T₁ din componența complexului este unul binucleabil, adică poate coordona doi ioni de cupru cu utilizarea punții de fenolat și a patru atomi donori de azot N1 și N4 ale ambelor „brațe” tiosemicarbazidice, totodată în medii neutre ligandul se coordonează monodeprotonizat, iar în medii bazice trideprotonizat. Structura lui este redată mai jos:



- 10 Compusul se obține la interacțiunea H₃DF-T₁ cu clorură de cupru(II) în mediu alcoolic, reprezintă un dimer de cupru, conține trei ioni de clor și o moleculă de apă de cristalizare - 2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru hidrat. Conform datelor analizei elementale, spectrale și proprietăților chimice și magnetochimice dimerul de cupru foarte probabil că are următoarea structură [Cu₂(H₂DF-T₁)-μ-Cl]Cl₂·H₂O, unde H₂DF-T₁ reprezintă ligandul inițial monodeprotonizat la atomul
- 15 punte de oxigen fenolic, iar μ-Cl denotă faptul că un ion de clor are rolul de a doua punte între ionii de Cu(II). Conform regulilor de nomenclatură chimică denumirea desfășurată a compusului poate fi {μ-cloro-[2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-N₁,N₄,N₁?,N₄?,μ-O]dicupru(II)}-dicloro-hidrat. Din considerente practice dimerul de cupru
- 20 utilizat în continuare va fi notat prin C1.

- Complexul C1 este cunoscut din stadiul tehnicii (Gerbelev N.V., Revenko M.D., Zhovmir F.K., Kuyavskaia B.Ya. Binuclear compounds of copper(II) with ligands based on chalcogensemicarbazides and 2,6-diformyl-4-methylphenol. Zhurn. Neorg. Khimii (J. Inorg.Chem. USSR), 1986, 31, Nr. 8, p. 2017-2022), iar activitatea lui biologică nu a fost
- 25 cercetată.

[Cu₂(H₂DF-T₁)-μ-Cl]Cl₂·H₂O este solubil în apă și formează soluții verde-intens la concentrații relativ mici. Această hidrosolubilitate este una mai puțin obișnuită, deoarece dimerul analog de cupru cu tiosemicarbazona nealchilată, tot cu trei ioni de clor în componența sa este insolubil în apă.

- 30 În calitate de microorganisme-test pentru evaluarea activității antimicrobiene au fost selectate tulpinile fitopatogene de *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* și *Xanthomonas campestris*. Pentru a confirma posibilitatea extinderii activității antibacteriene a dimerului de cupru au fost incluse în testări și tulpinile nepatogene de bacterii de *Bacillus subtilis* CNMN BB-01, *Pseudomonas fluorescens* CNMN-PFB-01. Evaluarea activității antibacteriene s-a efectuat prin metoda diluțiilor succesive duble.

- Pentru evaluarea corectă a efectului antibacterian s-a testat și activitatea unor compuși de referință. În calitate de compuși de referință s-au selectat compușii inițiali (precursorii) din care s-a sintetizat complexul binuclear de cupru - clorura de cupru dihidrat și ligandul binucleabil bis(S-metilzotiosemicarbazon)-2,6-diformil-4-metilfenolul (H₃DFT₁). Ligandul, fiind insolubil în apă, a fost dizolvat inițial în dimetilsulfoxid (DMSO), care s-a
- 40 supus ulterior diluțiilor succesive duble cu apă distilată.

- După cum reiese din rezultatele testării activității antibacteriene soluțiile apoase puternic diluate ale dimerului de cupru selectat posedă o activitate antibacteriană înaltă față de bacteriile fitopatogene, concentrația minimă bactericidă fiind de 130 μM (0,007%). Pentru speciile nepatogene concentrația minimă bactericidă este la nivelul de 520 μM. Faptul că C1 este activ și față de bacteriile nepatogene indică la aceea că acțiunea antibacteriană a C1 nu se limitează doar la speciile fitopatogene testate în invenție.

- Precursorul clorura de cupru(II) manifestă un efect bactericid la concentrații de 2100..4200 μM, iar activitatea bactericidă a ligandului precursor H₃DFT₁ se află la nivelul solventului DMSO. Datele obținute pentru compușii de referință indică univoc că apariția
- 50

proprietăților antibacteriene la C1 se datorează efectului sinergetic în urma coordonării dintre cupru și această izotiosemicarbazonă specifică.

5 Din stadiul tehnicii se cunoaște că S-alchilarea tiosemicarbazidei diminuează activitatea antibacteriană a izotiosemicarbazonelor. De aceea activitatea bactericidă față de bacteriile fitopatogene a C1, care face parte din grupa de complecși cu izotiosemicarbazone, este una neașteptată.

În concluzie din cercetările microbiologice rezultă că dimerul de cupru C1 poate fi aplicat în agricultură sub formă de soluții apoase diluate la combaterea bacteriozelor la plante.

10 În continuare invenția se explică prin fotografiile reprezentative din figură, care se referă la acțiunea antibacteriană asupra tulpinii de *Erwinia carotovora* la patru diluții în jurul concentrației minime bactericide (% mas.) a C1 ("Cu₂LCl₃") și a sării precursoră CuCl₂·2H₂O.

Exemple de realizare a invenției

15 Exemplul 1: Sinteza compușilor investigați

Ligandul bis(S-metilizotiosemicarbazona) de 2,6-diformil-4-metilfenol (H₃DF-T₁) și complexul de cupru testați au fost descriși anterior (Gerbelev N.V., Revenko M.D., Zhovmir F.K., Kuyavskaia B.Ya. Binuclear compounds of copper(II) with ligands based on chalcogensemicarbazides and 2,6-diformyl-4-methylphenol. Zhurn. Neorg. Khimii (J. Inorg.Chem. USSR), 1986, 31, Nr. 8, p. 2017-2022). Conform procedurii cunoscută a fost sintetizată hidriodura de S-metilizotiosemicarbazidă prin alchilarea tiosemicarbazidei cu iodmetan în mediu de etanol. În continuare hidriodura de izotiosemicarbazidă a fost condensată în mediu etanol-apă, în prezență de carbonat de sodiu, cu 2,6-diformil-4-metilfenol.

25 Ligandul este insolubil în apă, solubil în DMSO sau DMF și se caracterizează prin următoarele caracteristici. P.t. 208...211 °C, benzi reprezentative în spectrul IR înregistrat cu spectrometrul FT-IR PerkinElmer Spectrum 100 (disc KBr, cm⁻¹): 3484s, 3404s, asc, 3081s, 1636p, asc, 1607p, 1517fp, asc, 1299p, asc, 1016m, asc, 757p, asc, 691m, asc (unde s semnifică slab, m – mediu, p – puternic, fp – foarte puternic și asc – ascuțit).

30 Complexul de cupru s-a obținut conform unui procedeu modificat.

La suspensia de H₃DFT₁ (1,70 g, 5 mmoli) în metanol (100 mL) se adaugă la temperatura camerei CuCl₂·2H₂O (1,70 g, 10 mmoli). Amestecul se agită magnetic timp de cca 15 min până dispare ligandul inițial de culoare galbenă, apoi se încălzește la temperatura de 50...60°C timp de 0,5 ore. După răcire, peste 4...6 ore produsul cristalin verde se filtrează, se spală cu metanol, apoi cu eter și se usucă la aer. Se obțin 2,86 g (97%) de produs cristalin (microace) de culoare verde.

35 Produsul este solubil în apă, DMSO sau DMF cu formarea unor soluții limpezi de culoare verde-intens. Soluțiile apoase peste 24 de ore încep să capete o nuanță nucărie fără a se forma un careva precipitat în decurs de 6 luni.

40 Spectrul IR (disc KBr, cm⁻¹): 3503s, 3419s, asc., 3300s, 2797m, 1555fp, asc, 1315p, asc, 1144p, asc, 904m, asc, 713m.

Exemplul 2: Evaluarea activității antibacteriene a compușilor

Pentru evaluarea activității antibacteriene a fost utilizată metoda diluțiilor succesive duble, care constă în aceea că la etapa inițială se iau șiruri de 10 eprubete în care se introduc câte 1 ml de bulion peptonat. Ulterior se picură 1 mL de preparat în prima eprubeta (din șirul de 10 eprubete), după care 1 mL din aceasta se transferă în eprubeta următoare, astfel că procedura se repetă până la eprubeta nr.10 a șirului. În așa mod, concentrația preparatului inițial se micșorează de 2 ori în fiecare eprubetă următoare. În același timp, se prepară culturi de 24 de ore de bacterii-test. Se prepară inițial suspensii de culturi bacteriene cu densitățile optice de 2,0 în conformitate cu indicele McFarland. Ulterior, se transferă 1 mL de suspensie bacteriană obținută într-o eprubetă ce conține 9 mL de apă distilată sterilă. Se amestecă conținutul obținut, după care se transferă 1 mL în eprubeta cu nr.2 din șirul de 5 eprubete ce conțin câte 9 mL de apă distilată sterilă. Din eprubeta cu nr.5 a șirului se ia câte 0,1 mL de suspensie bacteriană, ceea ce reprezintă doza de însămânțare, și se adaugă în fiecare eprubetă care conține preparatele titrate. Ulterior, eprubetele cu preparatele titrate în care s-au introdus dozele de însămânțare ale bacteriilor se plasează în termostat la temperatura de 35°C timp de 24 de ore. A 2-a zi se analizează preliminar rezultatele obținute. Ultima eprubetă din șir în care nu se atestă o creștere vizibilă a bacteriilor se consideră a fi concentrația minimă inhibitorie (CMI) a preparatului. Pentru aprecierea concentrației minime

bactericide (CMB), conținutul eprubetelor cu CMI și a eprubetelor cu concentrații mai înalte ale preparatelor se însămânțează pe agarul peptonat solid din cutiile Petri cu ajutorul ansei bacteriologice. Cutiile însămânțate se plasează în termostaț la temperatura de 35°C pentru 24 de ore. Concentrația preparatelor care nu permit creșterea nici a unei colonii bacteriene se consideră a fi concentrația minimă bactericidă a compusului.

Pentru evaluare s-au pregătit soluții proaspete de C1 în apă distilată de 0,5% (8400 μM). În calitate de compuși de referință s-au selectat compușii inițiali (precursori) din care s-a sintetizat C1: clorura de cupru dihidrat și ligandul binucleabil H₃DFT₁. Ligandul, fiind insolubil în apă, a fost dizolvat inițial în dimetilsulfoxid (DMSO), concentrația fiind de 0,40% (0,012 M), care s-a supus ulterior diluțiilor succesive duble cu apă distilată.

Este bine cunoscut că solvenții organici utilizați la pregătirea soluțiilor inițiale de compuși pentru testare, de exemplu, etanolul sau DMSO, însuși posedă o activitate antimicrobiană. Pentru a evalua corect activitatea bactericidă a ligandului dizolvat inițial în DMSO și apoi diluat cu apă s-a determinat concentrația minimă bactericidă a DMSO pur în apă distilată.

Valorile concentrațiilor molare (μM) minime bactericide în apă distilată pentru dimerul de cupru testat (C1) și compușii de referință sunt prezentate în tabelul de mai jos:

Tabel

Tulpina	CuCl ₂ ·2H ₂ O	H ₃ DFT ₁	C1
<i>E. carotovora</i>	4100	n/a	130
<i>E. amylovora</i>	2100	n/a	130
<i>X. campestris</i>	4100	n/a	130
<i>P. fluorescens</i>	4100	n/a	520
<i>B. subtilis</i>	4100	n/a	520

n/a – la nivelul solventului DMSO (formal >1500 μM)

Activitatea bactericidă a ligandului H₃DFT₁ din care se obține complexul este foarte joasă, de fapt ea practic lipsește deoarece efectul bactericid se observă la aceeași diluție (a treia) ca și pentru DMSO, adică efectul bactericid al DMSO se manifestă la concentrații mai mari de 12,5%. De aici rezultă că în cazuri speciale C1 poate fi utilizat și sub formă de soluție inițială în DMSO pentru diluția ulterioară cu apă, deoarece în soluțiile apoase finale aportul bactericid al DMSO va fi neglijabil.

În concluzie, compusul dimer de cupru cu formula [Cu₂(H₂DFT₁)-μ-Cl]Cl₂·H₂O (C1) poate fi aplicat în agricultură sub formă de soluții apoase cu o concentrație nu mai mică de 130 μM (0,007%) la combaterea bolilor cauzate de bacteriile fitopatogene.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Lobana T.S., Sharma R., Bawa G., Khanna S. Bonding and structure trends of thiosemicarbazone derivatives of metals - An overview. *Coordination Chemistry Revs.*, 2009, 253, p. 977-1055
2. Pelosi G. Thiosemicarbazone Metal Complexes: From Structure to Activity. *The Open Crystallography Journal*, 2010, vol. 3, p. 16-28
3. West D.X., Liberta A.E., Padhye S.B., Chikate R.C., Sonawane P.B., Kumbhar A.S., Yerande R.G. Thiosemicarbazone complexes of copper(II): structural and biological studies. *Coordination Chemistry Revs.*, 1993, 123, p. 49-71
4. WO 8500955 A1 1985.03.14
5. West D.X., Yang Y., Klein T.L., Goldberg K.I., Liberta A.E., Valdes-Martinez J., Toscano R.A. Binuclear copper(II) complexes of 2-hydroxyacetophenone 4N-substituted thiosemicarbazones. *Polyhedron*, 1995, vol. 14, nr. 12, p. 1681-1693
6. Naik A.D., Revankar V.K. Exchange coupled dicopper(II) complexes of thiosemicarbazones. *Indian J. Chem. Vol. 43A*, July 2004, p. 1447-1453
7. Schulze W., Gutsche W., Wohlrabe K., Fleck W., Tresselt D. Zur Synthese und biologischen Wirksamkeit von Analogen des 1,4-Benzochinon-guanylhydrazon-thiosemicarbazons. *Farmazie*, 1985, 40(8), p. 540-541
8. Hosseini-Yazdi S., Mirzaahmadi A., Khandar A.A., Eigner V., Dusek M., Lotfipour F., Mahdavi M., Soltani S., Dehghan G. Synthesis, characterization and in vitro biological activities of new water-soluble copper(II), zinc(II), and nickel(II) complexes with sulfonato-substituted Schiff base ligand. *Inorganica Chimica Acta*, 2017, v. 458, p. 171-180
9. Ohui K., Afanasenko E., Bacher F., Ting R., Zafar A., BlancoCabra N., Torrents E., Domotor O., May N.V., Darvasiova D., Enyedy E.A., Popovic-Bijelic A.D., Reynisson J., Rapta P., Babak M., Pastorin G. and Arion V.B. New Water-Soluble Copper(II) Complexes with Morpholine-Thiosemicarbazone Hybrids: Insights into the Anticancer and Antibacterial Mode of Action. *J. Med. Chem.*, Publication Date (Web): 03.12.2018, p. 512-530

(57) Revendicări:

1. Aplicare a compusului 2,6-bis(S-metilzotiosemicarbazidometiliden)-4-metilfenolato-tricloro-dicupru-hidrat în calitate de remediu contra bacteriilor fitopatogene.
2. Aplicare, conform revendicării 1, în care compusul se utilizează sub formă de soluție apoasă cu concentrație nu mai joasă de 0,007% mas.

