PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:
310 287
(13) Druh dokumentu: **B6**
(51) Int. Cl.:

C07C 275/28	(2006.01)
A01N 37/18	(2006.01)
A01P 21/00	(2006.01)

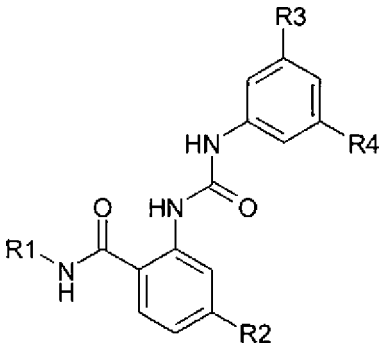
(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2020-143**
(22) Přihlášeno: **16.03.2020**
(40) Zveřejněno: **29.09.2021**
(Věstník č. 39/2021)
(47) Uděleno: **18.12.2024**
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: **29.01.2025**
(Věstník č. 5/2025)

(56) Relevantní dokumenty:
KOPEČNÝ, David, et al. Phenyl-and benzylurea cytokinins as competitive inhibitors of cytokinin oxidase/dehydrogenase: a structural study. Biochimie, 2010, 92.8: 1052-1062; ISSN: 0300-9084; HOLUB, Jan, et al. Biological activity of cytokinins derived from ortho-and meta-hydroxybenzyladenine. Plant Growth Regulation, 1998, 26.2: 109-115; ISSN: 0167-6903; NISLER, Jaroslav, et al. Novel thidiazuron-derived inhibitors of cytokinin oxidase/ dehydrogenase. Plant Molecular Biology, 2016, 92.1-2: 235-248; ISSN: 0167-4412; KOPEČNÝ, David, et al. Kinetic and structural investigation of the cytokinin oxidase/ dehydrogenase active site. The FEBS Journal, 2016, 283.2: 361-377; ISSN:1742-464X; BILYEU, Kristin D., et al. Molecular and biochemical characterization of a cytokinin oxidase from maize. Plant Physiology, 2001, 125.1: 378-386; ISSN: 0032-0889; Yavari, Issa and Beheshti, Saeideh. Reaction of primary alkylamines, heterocumulenes, and isatoic anhydride, catalyzed by magnetic Fe3O4 nanoparticles in H2O. Helvetica Chimica Acta. Wiley Online Library, 2011-01-01, Vol. 94, No. 10, p. 1825-1830, ISSN 1522-2675, on-line; Jing, YuFeng and Liu, RuiTing and Lin, YangHui and Zhou, XiGeng. Lanthanide-catalyzed cyclocarbonylation and cyclothiocarbonylation: a facile synthesis of benzannulated 1,3-diheteroatom five-and six-membered heterocycles. Science China Chemistry. Springer, 2014-06-21, Vol. 57, No. 8, p. 1117-1125, ISSN 1674-7291.
WO 9745400 A1.

(73) Majitel patentu:
Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, CZ
(72) Původce:
Mgr. Jaroslav Nisler, Ph.D., Praha 4, Podolí, CZ
Mgr. David Kopečný, Ph.D., Prostějov, CZ
Mgr. Lukáš Spíchal, Ph.D., Bystročice, CZ
prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc., DSc., Olomouc, Neředín, CZ
(74) Zástupce:
HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52, 170 00 Praha 7, Holešovice



(54) Název vynálezu:
Inhibitory cytokinin oxidázy na bázi sloučenin 2-(3-fenylureido)benzamidu, přípravky je obsahující a jejich použití

(57) Anotace:
Vynález se týká substituovaných derivátů 2-(3-fenyl-ureido)-benzamidu obecného vzorce I, kde R1 je vodík, amino skupina, (C1 až C5)alkyl, (C2 až C5)alkenyl nebo (C2 až C5)alkynyl, popřípadě substituovaný hydroxy nebo amino skupinou, R2 je vodík, halogen, methoxy skupina nebo halogenovaná methoxy skupina a R3 je vybraný ze skupiny zahrnující vodík, halogen, methoxy skupinu nebo trifluoromethoxy skupinu, R4 je vybraný ze skupiny zahrnující halogen, methoxy skupinu nebo trifluoromethoxy skupinu, které inhibují jeden z klíčových rostlinných enzymů cytokinin oxidázu/dehydrogenázu (CKX). Dále se popisuje použití těchto látek v zemědělství jako biostimulátorů růstu, vývoje a výnosu rostlin, ke zvýšení jejich rezistence vůči stresu a oddálení senescence rostlin a přípravků obsahujících tyto sloučeniny.

CZ 310287 B6

Inhibitory cytokinin oxidázy na bázi sloučenin 2-(3-fenylureido)benzamidu, přípravky je obsahující a jejich použití

Oblast techniky

Vynález se týká substituovaných sloučenin 2-(3-fenylureido)benzamidu a přípravků tyto sloučeniny obsahující, pro použití v zemědělství ke zvýšení výnosu semen.

Dosavadní stav techniky

Rostlinné hormony cytokininy regulují růst a vývoj rostlin. Cytokininy byly hojně testovány v polních podmínkách a bylo prokázáno, že zvyšují výnos zemědělsky významných plodin. Pozitivní efekt na výnos byl pozorován jak v optimálních, tak i ve stresových podmínkách (přehledně shrnuto v Koprna R. *et al*., 2016, Bioorg. Med. Chem. 24, 484-492).

Cytokinin oxidasa/dehydrogenasa (CKX, EC 1.5.99.12) je enzym, který cytokininy rozkládá ve všech rostlinách. Inhibice tohoto enzymu tedy vede k vylepšení výnosu různých zemědělsky významných plodin. Např. došlo ke zvýšení obsahu vlákniny a výnosu u bavlníku (Zhao J. *et al*., 2015, Mol. Breed. 35, 60-71). Podařilo se také zvýšit odnožování a celkový výnos rýže (Ashikari M. *et al*., 2005, Science 309, 741-745; Yeh S.Y. *et al*., 2015, Rice (N Y). 8, 36-49). U modelové rostliny huseníčku thalova (*Arabidopsis thaliana*) vede inhibice CKX také ke zvýšení násady květů, a následně i lusků což vedlo ke zvýšení celkového výnosu (Bartrina I. *et al*., 2011, The Plant Cell 23, 69-80). Inhibice CKX enzymu vede jednoznačně ke zvýšení obsahu endogenních cytokininů v rostlinách což má positivní vliv na jejich výnos.

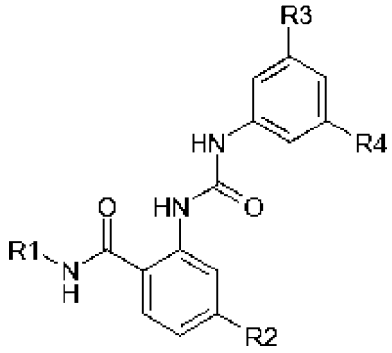
Inhibiční síla inhibitoru CKX je velmi důležitá. Čím silnější je inhibitor, tím menší množství je ho potřeba na poli k dosažení požadovaného účinku. Silnější inhibitor by vedl k nižším nákladům a ke snížení ekologické zátěže. Z tohoto důvodu, je potřeba poskytnout nové skupiny látek, které by měly vyšší inhibiční sílu.

Několik skupin sloučenin majících CKX inhibiční aktivitu bylo vyvinuto v minulosti. Patří mezi ně zejména anilinopuriny (Zatloukal M. *et al*., 2008, Bioorg. Med. Chem. 16, 9268-9275), thidiazuron a jeho deriváty (Nisler J. *et al*., 2016, Plant Mol. Biol. 92, 235-248) nebo (1-(2-chlor-pyridin-4-yl)-3-fenylmočovina) (CPPU) a její deriváty (Kopečný D. *et al*., 2010, Biochimie 92, 1052-62).

Podstata vynálezu

Podstatou předkládaného vynálezu jsou substituované sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu, vykazující nejvyšší známou inhibiční aktivitu vůči Cytokinin oxidase/dehydrogenase (CKX, EC 1.5.99.12). Jejich aplikace na rostliny vede k vyšším výnosům jak ve stresových, tak i v optimálních podmínkách.

Předmětem předloženého vynálezu jsou sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I,



(I),

kde

R1 je vodík, aminoskupina, (C1 až C5)alkyl, (C2 až C5)alkenyl nebo (C2 až C5)alkynyl, přičemž (C1 až C5)alkyl, může být popřípadě substituovaný hydroxy nebo aminoskupinou;

R2 je vodík, halogen, methoxyskupina nebo halogenovaná methoxyskupina; přičemž halogenovaná methoxyskupina může být zejména trifluormethoxyskupina;

R3 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující vodík, halogen, methyl, methoxy nebo trifluormethoxyskupinu,

R4 je nezávisle vybrán ze skupiny zahrnující halogen, methyl, methoxy nebo trifluormethoxyskupinu,

přičemž z rozsahu sloučenin 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I je vyloučen 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]benzamid.

Generické názvy substituentů mají významy, jak je definováno níže:
alkyl znamená rozvětvenou nebo lineární alkylovou skupinu;

(C1 až C5)alkyl znamená rozvětvenou nebo lineární alkylovou skupinu o počtu uhlíkových atomů od 1 do 5;

alkenyl znamená rozvětvený nebo lineární uhlovodíkový řetězec s alespoň jednou dvojnou vazbou;

alkynyl znamená rozvětvený nebo lineární uhlovodíkový řetězec s alespoň jednou trojnou vazbou;

halogen je vybrán ze skupiny zahrnující fluor, chlor, brom a jod;

hydroxy označuje skupinu -OH;

amino označuje skupinu $-NH_2$;

methoxy označuje skupinu $-O-CH_3$;

halogenovaná methoxyskupina je -O-halogenovaný methyl a s výhodou je to trifluormethoxyskupina $-O-CF_3$.

Pokud sloučeniny podle tohoto vynálezu obsahují chirální centrum, pak všechny enantiomery, směsi enantiomerů a racemátů spadají do rámce tohoto vynálezu. Předkládaný vynález dále zahrnuje rovněž sloučeniny obecného vzorce I ve formě solí s alkalickými kovy a kovy alkalických zemin, amonné soli nebo aminy, jakož i ve formě adičních solí s kyselinami.

V jednom výhodném provedení je R1 vodík, methyl, ethyl, propyl, $-NH_2$, 2-hydoxyethyl, 3-hydoxypropyl nebo 2-aminoethyl.

V jednom výhodném provedení je R2 H, F, Cl, Br, $-OCH_3$ nebo $-OCF_3$.

V jednom výhodném provedení je alespoň jeden ze substituentů R3 a R4 halogen. Výhodněji jsou R3 i R4 oba zároveň halogeny, vybrány nezávisle na sobě ze skupiny sestávající z F, Cl a Br, nebo R3 je halogen a R4 je methyl, methoxyskupina či trifluormethoxyskupina nebo R4 je halogen a R3 je vodík, methyl, methoxyskupina či trifluormethoxyskupina.

V jednom výhodném provedení je R1 vybraný ze skupiny, sestávající z H, $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, $-NH_2$, $-CH_2CH_2(OH)$, $-CH_2CH_2CH_2(OH)$ a $-CH_2CH_2(NH_2)$;

R2 je vybraný ze skupiny, sestávající z H, F, Cl, Br, $-OCH_3$ a $-OCF_3$;

a R3 i R4 jsou oba zároveň halogeny, vybrány nezávisle na sobě ze skupiny sestávající z F, Cl a Br, nebo R3 je halogen a R4 je $-CH_3$, $-OCH_3$ či $-OCF_3$ nebo R4 je halogen a R3 je H, $-CH_3$, $-OCH_3$ či $-OCF_3$.

V dalším výhodném provedení je sloučenina 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I vybrána ze skupiny, sestávající z:

1. R1 je vodík a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)ureido]benzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)ureido]-4-fluorbenzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlorbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)ureido]-4-chlorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)ureido]-4-chlorbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]-4-chlorbenzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-

brombenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)ureido]benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]benzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid; 2-[3-(3-chlor-5-methylfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid,

2. R1 je NH_2 a

R2-H: 1-(3-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina,

R2-F: 1-(3-fluorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(5-fluor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina,

R2-Cl: 1-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(5-chlor-2-hydrazinokarbonylfenyl)močovina,

R2-Br: 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-bromfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(5-brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

R2-OCH_3: 1-(3-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-

methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-methoxyfenyl)močovina,

R2-OCF_3: 1-(3-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl) -3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-tri-fluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(2-hydrazinokarbonyl-5-trifluormethoxyfenyl)močovina,

3. R1 je methyl a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-methylbenzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-methylbenzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-methylbenzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-methylbenzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-

trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-methylbenzamid;

4. R1 je ethyl a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-N-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-ethylbenzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-ethylbenzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-ethylbenzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-ethylbenzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-ethylbenzamid;

5. R1 je propyl a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-propylbenzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-propylbenzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-propylbenzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-propylbenzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-propylbenzamid;

6. R1 je $-CH_2CH_2OH$ a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-

hydroxyethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid;

7. R1 je $-CH_2CH_2CH_2OH$ a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlor-fenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)-benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(3-hydroxypropyl)benzamid;

8. R1 je $CH_2CH_2NH_2$ a

R2-H: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid,

R2-F: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-fluor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid,

R2-Cl: 4-chlor-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-amino-ethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-chlor-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-chlor-*N*-(2-aminoethyl)benzamid,

R2-Br: 4-brom-2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 4-brom-2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-brom-*N*-(2-aminoethyl)benzamid,

R2-OCH_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid,

R2-OCF_3: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-bromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluor-methoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3,5-dibromfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)-benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid, 2-[3-(3-brom-5-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxy-*N*-(2-aminoethyl)benzamid.

V nejvýhodnějším provedení je látka obecného vzorce I vybraná ze skupiny: 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid.

Předmětem předloženého vynálezu je dále použití sloučeniny obecného vzorce I v zemědělství pro zvýšení výnosu plodin a zvýšení jejich odolnosti proti stresu, jako je sucho, horko, chlad, mráz a salinita.

Sloučeniny obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu vykazují nejvyšší známou CKX inhibiční aktivitu. Díky tomu efektivněji zvedají hladiny cytokininů v rostlinách, což vede k jejich vyšší životaschopnosti a vyššímu výnosu.

Sloučeniny obecného vzorce I lze použít pro oddálení degradace chlorfylu a senescence rostlinných pletiv. Tím se také zvýší životaschopnost rotlin ve stresových podmínkách a výnos hospodářsky významných částí rostlin, např. semen, plodů, bulev, hlíz a dalších. Tento jedinečný efekt je dosažen vlivem účinku sloučeniny obecného vzorce I na zvýšení endogenních hladin cytokininů v rostlinách.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou aplikovat na celé rostliny, rostlinné orgány, nebo na rostlinné buňky a pletiva, např. v tkáňových kulturách. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou vhodné i pro použití v tkáňových kulturách, kde brání rozkladu cytokininů a zvyšují tak životaschopnost nových rostlin, regeneraci pupenů a výhonů z explantátů, růst kalusů, a vykazují velmi silnou mikropropagační aktivitu.

Dalším aspektem tohoto vynálezu je použití sloučenin obecného vzorce I jako inhibitorů stresu a stresem indukované senescence v produkci plodin, zejména obilovin (pšenice, ječmen, rýže, kukuřice, žito, oves, čirok a příbuzné druhy), řepa (cukrová řepa a krmná řepa); malvice, peckovice a měkké ovoce (jablka, hrušky, švestky, broskve, mandle, třešně, jahody a ostružiny); luštěniny (fazole, čočka, hrách, sójové boby); olejniny (řepka, hořčice, mák, olivy, slunečnice, kokos, ricinus, kakaové boby, podzemnice olejná); okurky (dýně, okurky, melouny); vláknité rostliny (bavlna, len, konopí, juta); citrusové plody (pomeranče, citrony, grapefruity, mandarinky); zelenina (špenát, skořicovník, kafr) nebo rostliny, jako je tabák, ořechy, lilek,

cukrová třtina, čaj, vinná réva, chmel, banány a přírodní kaučuk a léčivé rostliny, stejně jako okrasné rostliny. Stresem může být zejména stres způsobený suchem, horkem a salinitou (salinní stres).

Předmětem předkládaného vynálezu jsou dále anti-senescenční a/nebo anti-stresové přípravky pro rostliny, rostlinné orgány a rostlinné buňky, obsahující alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I a alespoň jednu pomocnou látku. Pomocné látky mohou být pevné nebo kapalné. Pomocnou látkou se rozumí rozpouštědla, pevné nosiče, povrchově aktivní látky (surfaktanty), emulgátory, dispergační látky, zvlhčovadla, smáčedla, stabilizátory, odpěňovače, konzervační přípravky, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a také hnojiva a další aktivní přísady.

Vhodnými rozpouštědly jsou například aromatické uhlovodíky o počtu uhlíků 8 až 12 (deriváty xylenu nebo naftalenu), ftaláty (například dibutylftalát, dioktylftalát), alifatické uhlovodíky (cyklohexan, parafin), alkoholy, glykoly a jejich ethery a estery (ethanol, ethylenglykol, 2-methoxyethanol, 2-ethoxyethanol), ketony (cyklohexanon, *N*-methyl-2-pyrrolidon, DMSO, DMF), rostlinné oleje a voda.

Pevnými nosiču jsou typicky kalcit, talek, kaolin, montmorillonit nebo attapulgit, kyselina křemičitá, polymery, drcený vápenec.

Vhodnými povrchově aktivními látkami jsou neiontové, kationtové nebo aniontové surfaktanty (soli alkalických kovů, soli kovů alkalických zemin nebo amonné soli vyšších mastných kyselin o počtu uhlíků 10 až 20, zejména sodné nebo draselné soli kyseliny olejové nebo stearové, sulfonované mastné kyseliny, sulfonované deriváty benzimidazolu, alkylsulfonáty, estery kyseliny fosforečné). Niontovými surfaktanty jsou typicky deriváty polyglykoletheru a alifatických nebo cykloalifatických alkoholů nebo saturovaných či nesaturovaných mastných kyselin a alkylfenolů, vodorozpustné adukty polyethylenoxidu s polyethylenglykolem.

Stabilizátory jsou např. rostlinné oleje nebo epoxidované rostlinné oleje (epoxidovaný palmový olej, řepkový nebo olivový olej).

Odpěňovačem je např. silikonový olej.

Příklady dalších vhodných aniontových, neiontových a kationtových smáčedel jsou shrnuty například ve WO 97/34485.

Sloučeniny obecného vzorce I se používají v nemodifikované formě nebo výhodně společně s pomocnými látkami běžně používanými pro formulaci přípravků. Za tímto účelem jsou přípravky výhodně formulovány jako koncentráty účinných látek, jakož i suspenze a disperze, s výhodou izotonické vodné roztoky, suspenze a disperze, zředěné emulze, rozpustné prášky, poprašky, granuláty, krémy, gely, olejové suspenze a také obalované formulace, např. polymerními látkami. Stejně jako u typu přípravku, způsoby aplikace, jako je postřik, rozprašování, práškování, rozptyl, natírání nebo zalévání, se volí v souladu se zamýšlenými cíli a převažujícími okolnostmi. Přípravky mohou být sterilizovány a/nebo mohou obsahovat další pomocné látky neutrální povahy, jako jsou konzervační činidla, stabilizátory, smáčedla nebo emulgátory, solubilizační činidla, stejně jako hnojiva, donory stopových prvků nebo jiných prostředků k dosažení speciálních efektů.

Vynález se dále týká způsobu inhibice stresu a/nebo senescence v rostlinách, rostlinných orgánech a/nebo v rostlinných buňkách, který zahrnuje aplikaci alespoň jedné sloučeniny obecného vzorce I nebo přípravku, obsahujícího alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I, na rostlinu, rostlinný orgán a/nebo rostlinnou buňku.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou být připraveny odborníku známými chemickými způsoby (Schema 1). Způsob přípravy látek obecného vzorce I spočívá v reakci 1 ekvivalentu

substituovaného isokyanatobenzenu s 1 ekvivalentem (substituované) 2-aminobenzoové kyseliny (Krok B). S výhodou může být isokyanatobenzen připraven z derivátu fenylaminu konvenční metodou za použití difosgenu (Krok A, Kurita K. a Iwakura Y., 1976, J. Org. Chem. 41, 2070-71). Získaný isokyanát (nebo komerčně dostupný isokyanát) se pak nechá reagovat se (substituovanou) 2-aminobenzoovou kyselinou, čímž se získá derivát 2-(3-fenylureido)benzoové kyseliny (Krok B), který lze převést na sloučeninu 2-(3-fenylureido)benzamidu (Krok C) některou ze známých reakcí.

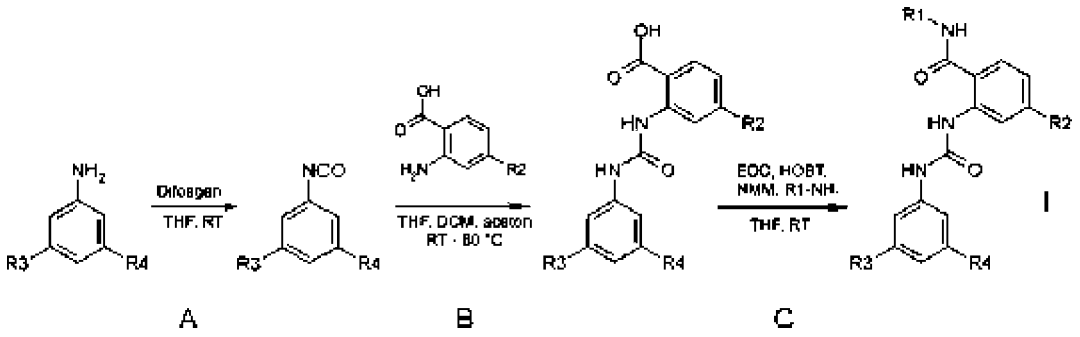


Schéma 1.

Přípravky

Přípravky obsahující sloučeniny obecného vzorce I (aktivní složka) nebo jejich soli, a pokud je třeba, jednu nebo více pevných nebo kapalných pomocných látek, jsou připraveny známými způsoby, například smísením nebo mletím účinné látky s pomocnými látkami, jako jsou např. rozpouštědla nebo pevné nosiče. Do přípravků mohou být přidávány povrchově aktivní látky (surfaktanty), emulgátory, dispergační látky, zvlhčovadla, smáčedla, stabilizátory, odpěňovače, konzervační přípravky, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a také hnojiva a další aktivní přísady.

Také vhodné pro přípravu kompozic, které obsahují sloučeniny odvozené od obecného vzorce I podle vynálezu, jsou povrchově aktivní látky běžně používané při formulaci prostředků, které jsou popsány např. v "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" MC Publishing Corp., Ridgewood New Jersey, 1981, Stache, H., "Tensid- Taschenbuch", Carl Hanser Verlag, Munich Nienna, 1981 and M. and J. Ash, "Encyclopedia of Surfactants", Vol-lll, Chemical Publishing Co., New York, 1980-81.

Formulace přípravku obsahuje váhově od 0,01 do 99,09 % (w/w), s výhodou pak od 0,1 do 95 % (w/w) aktivní složky odpovídající látce nebo směsi látek obecného vzorce I, přičemž dále obsahuje od 99,09 do 0,01 % (w/w) výše definované pomocné látky, s výhodou obsahuje od 5 do 99,9 % směsi přísad či jiných nosičů, a to v závislosti na způsobech aplikace, a popřípadě obsahuje od 0,1 do 25 % (w/w) smáčedla.

Komerční produkty obvykle připravovány ve formě koncentrátů a konečný uživatel upotřebí naředěný přípravek. S výhodou jsou používány přípravky následujícího složení: (% = hmotnostní procento).

Emulgované koncentráty:
aktivní složka: 0,01 až 90 %, smáčedlo: 1 až 30 %, kapalný nosič: 5 až 94%

Prášky:
aktivní složka: 0,1 až 10 %, pevný nosič: 99,9 až 90 %,

Suspenzní koncentráty:

aktivní složka: 0,5 až 75 %, voda: 94 až 24 %, smáčedlo:1 až 40 %,

Smáčivé prášky:
aktivní složka: 0,5 až 90 %, smáčedlo: 0,5 až 20 %, pevný nosič: 5 až 95 %,

Granule:
aktivní složka: 0,1 až 30 %, pevný nosič: 99,9 až 70 %.

Pro použití sloučenin obecného vzorce I nebo jejich solí, nebo přípravků (kompozic) je obsahujících, se používají rozdílné metody a technologie, kterými jsou například následující:

i) Obalování osiva

a) Obalování osiva smáčivou práškovou formulací sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, a to mícháním v nádobě až do stejnorodé distribuce na povrchu semen (suché obalování). Při takové proceduře je přibližně 1 až 500 g sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, (4 g až 2 kg smáčivého prášku) používáno na 100 kg osiva.

b) Obalování osiva emulzifikovaným koncentrátem sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, v souladu s metodou a) (mokré obalování).

c) Obalování osiva cestou máčení semen po dobu 1 až 72 h v tekutině obsahující od 100 do 1000 ppm sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, a s výhodou následného usušení semen (imerzní obalování).

Obecně jsou látky vzorce I nebo jejich soli používány v množství od 1 do 1000 g, s výhodou od 5 do 250 g, na 100 kg semen, avšak v závislosti na metodice, která rovněž umožňuje přidání dalších aktivních látek nebo mikroživin; určené koncentrační limity se mohou pohybovat nahoru nebo dolů (opakované obalování).

ii) Aplikace cisternové směsi

Kapalná formulace je aplikována v množství od 0,005 do 5,0 kg na hektar. Taková cisternová aplikace se provádí před anebo po setí.

iii) Aplikace do semenné brázdy

Sloučenina obecného vzorce I nebo její sůl ve formě emulzifikovaného koncentrátu, smáčivého prášku nebo granulí, je zavedena do otevřené brázdy oseté semenem. Jakmile je semenná brázda zaklopena, je růstový stimulátor aplikován cestou obvykle používanou při pre-emergentním procesu.

iv) Kontrolované uvolňování aktivních látek

Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich soli jsou aplikovány v roztoku k minerálním granulovaným nosičům nebo polymerizovaným granulím (močovina, formaldehyd) a jsou vysušeny. V případě, že je to žádoucí, tak se provádí obalování, které umožňuje postupné uvolňování látky v měřitelných množstvích po určitou specifickou periodu (obalované granule).

Příklady uskutečnění vynálezu

Všechny látky, které byly syntetizovány a spadají do obecného vzorce I, byly připraveny reakcí 1 ekvivalentu substituovaného isokyanáto-benzenu s 1 ekvivalentem (substituované) 2-aminobenzoové kyseliny dle Schématu 1 (krok B). Močovinový derivát s karboxylovou skupinou byl pak převeden na močovinový derivát s amidovou nebo *N*-substituovanou amidovou skupinou dle Schematu 1 (krok C). Komerčně dostupné isokyanáty využité v tomto vynálezu: 3-fluorfenylisokyanát, 3-chlorfenylisokyanát, 3-bromfenylisokyanát, 3,5-difluorfenylisokyanát, 1,3-dichlor-5-isokyanatobenzen, 3,5-dibromfenylisokyanát. Pokud isokyanát není komerčně dostupný, byl připraven známou reakcí substituovaného aromatického aminu s difosgenem v THF (Kurita K. a Iwakura Y., 1976, J. Org. Chem. 41, 2070-71) dle Schématu 1 (krok A). Takto připravený izokyanát byl v surové podobě použit do další syntézy (Schéma 1, krok B). Všechny aromatické aminy pro přípravu isokyanátu jsou komerčně dostupné.

Příklad 1. Popis syntézy isokyanátů

1 Ekvivalent substituovaného fenylaminu byl rozpuštěn v suchém THF (10 ml) a smíchán s 2 ekvivalenty trietylaminu. Tato směs byla pomalu přikapána do roztoku difosgenu (0,6 ekvivalentu) v THF (10 ml) při -20 °C. Teplota reakční směsi byla potom přivedena až k teplotě 60 °C. Po ochlazení byl vysrážený trietylamin hydrochlorid odfiltrován a filtrát byl odpařen do sucha. V reakční nádobě zůstal surový izokyanát, který byl použit do další syntézy. Touto metodou byly připraveny následující izokyanáty: 1-chlor-3-isokyanato-5-trifluormethoxybenzen, 1-chlor-3-fluor-5-isokyanatobenzen, 1-brom-3-chlor-5-isokyanatobenzen. Tyto izokyanáty a isokyanáty zakoupené byly použity k syntéze všech ostatních látek.

Příklad 2. 2-[3-(3,5-Dichlorfenyl)ureido]benzamid (6)

1,3-Dichlor-5-isokyanatobenzen (84 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byl přidán 2-amino-benzamid (68 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala přes noc při 55 °C. Produkt krystaloval z DCM. Izolováno 97 mg, 60%. EM 323. HPLC: čistota 99,7 %, *R*t = 25,8 min. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,01 (1H, t, *J*=7,7 Hz, ArH), 7,12 (1H, t, *J*=1,8 Hz, ArH), 7,42 (1H, t, *J*=7,7 Hz, ArH), 7,56 (2H, d, *J*=1,8 Hz, ArH), 7,67 (1H, s (br), $CONH_2$), 7,70 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 8,19-8,23 (2H, d, *J*=8,0 Hz, ArH + 1H, s (br), $CONH_2$), 10,06 (1H, *s*, NH-močovina), 10,81 (1H, *s*, NH-močovina). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 346,0 $[M+Na]^+$ (100), 348,0 $[M+Na]^+$ (100). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 321,8 $[M-H]^-$ (100), 323,7 $[M-H]^-$ (70). UV (MeOH), λ (nm): 214 (max1), 238 (min1), 265 (max2), 288 (min2), 305 (max3).

Příklad 3. 2-[3-(3-Chlor-5-fluorfenyl)ureido]benzamid (8)

1-Chlor-3-fluor-5-isokyanatobenzen (86 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v DCM a za míchání byl přidán 2-amino-benzamid (68 mg, 0,5 mmol) v acetonu. Reakční směs se míchala přes noc při 55°C. THF a aceton byl odpařen a do bílého zbytku byl přidán metanol. Produkt krystaloval a byl zfiltrován. Bílý krystal (95 mg, 62 %). EM 307. HPLC: čistota 98,6 %, *R*t = 25,2 min.

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): 6,95 (1H, td, *Jd*=8,6 Hz, *Jt*=1,7 Hz, ArH), 7,02 (1H, t, *J*=7,7 Hz, ArH), 7,34 (1H, td, *Jd*=11,5 Hz, *Jt*=1,7 Hz, ArH), 7,39-7,45 (2H, m, ArH), 7,66 (1H, s(br), $CONH_2$), 7,70 (1H, d, *J*=6,9 Hz, ArH), 8,18-8,23 (2H, d+s(br), *Jd*=8,0 Hz, ArH a $CONH_2$), 10,07 (1H, s, NH), 10,79 (1H, s, NH). ESI-MS$^+$ CV 30 V, m/z (rel. int.): 330,0 a 332,0 $[M+Na]^+$ (100 a 30). ESI-MS$^-$ CV 15 V, m/z (rel. int.): 306,0 a 308,0 $[M-H]^-$ (100 a 30), 342,0 $[M+Cl]^-$ (40), 352,0 $[M+HCOOH]^-$ (50).

Příklad 4. 2-[3-(3-Chlor-5-trifluormethoxyfenyl)ureido]benzamid (11)

1-Chlor-3-isokyanato-5-trifluormethoxybenzen (118 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v acetonu, přidán 2-aminobenzamid (68 mg, 0,5 mmol) a tato reakční směs byla míchána 5 h při 70 °C. Po reakci byl aceton odpařen a do zbytku byl přidán DCM, ze kterého produkt krystaloval. Bílý krystal (120 mg, 64 %). EM 373. HPLC: čistota 98,3 %, *R*t = 26,2 min. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,02 (1H, t, *J*=7,3 Hz, ArH), 7,07 (1H, s, ArH), 7,43 (1H, t, *J*=7,3 Hz, ArH), 7,54 (1H, s, ArH), 7,61 (1H, s, ArH), 7,67 (1H, s (br), $CONH_2$), 7,71 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 8,21 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 8,23 (1H, s (br), $CONH_2$), 10,17 (1H, *s*, NH), 10,86 (1H, *s*, NH). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 395,8 a 397,8 $[M+Na]^+$ (100 a 40). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 371,8 $[M-H]^-$ (100), 373,6 $[M-H]^-$ (40). UV (MeOH), λ (nm): 212 (max1), 235 (min), 264 (max2), 309 (sh).

Příklad 5. Syntéza amidů z karboxylových kyselin

Některé látky obsahující amidovou skupinu, nebo *N*-substituovanou amidovou skupinu byly připraveny z karboxylových kyselin metodou používající 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-karbodiimid hydrochlorid (EDC), hydroxybenztriazol (HOBt) a N-metylmorfolin (NMM) (Schema 1, krok C). Detailně: derivát benzoové kyseliny (1 ekvivalent) je rozpuštěn v THF, pak je postupně přidáno EDC (1,1 ekvivalentu), HOBt (1 ekvivalent) a NMM (1,1 ekvivalentu). Tato směs je míchána 30 minut za teploty místnosti a pak je přidán nadbytek roztoku amoniaku nebo jiného alifatického aminu či aminoalkoholu (v THF, ve vodě nebo v jiném rozpouštědle). Reakční směs je míchána přes noc při teplotě místnosti. Po reakci je THF odpařen a zbytek je rozdělen mezi vodu a etylacetát. V organické vrstvě je žádaný produkt, který po odpaření většinou poskytl čistý krystalický produkt.

Příklad 6. 4-Chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid (16)

1,3-Dichlor-5-isokyanatobenzen (94 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byla přidána 2-amino-4-chlorbenzoová kyselina (86 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala přes noc při 55 °C. Po reakci byl aceton odpařen a do zbytku byl přidán DCM, ze kterého krystaloval produkt. 4-Chlor-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoová kyselina byla zfiltrován na fritě a vysušena. Izolováno 155 mg (86 %). EM 358. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,00 (1H, dd, *J1*=8,6 Hz, *J2*=2,3Hz, ArH), 7,12 (1H, t, *J*=1,9 Hz, ArH), 7,60 (2H, d, *J*=2.3 Hz, ArH), 7,94 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 8,38 (1H, d, *J*=2,3 Hz, ArH), 10,20 (1H, s, NH), 12,06 (1H, s, NH). Finální amid byl získán dle Příkladu 5. Izolováno 141 mg (91%). EM 357. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,10 (1H, dd, *J1*=8,6 Hz, *J2*=2,3 Hz, ArH), 7,15 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,73 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 7,76 (1H, s (br), $CONH_2$), 8,29 (1H, s (br), $CONH_2$), 8,37 (1H, d, *J*=2,3 Hz, ArH), 10,18 (1H, s, NH), 11,03 (1H, s, NH). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 359,9 $[M+H]^+$ (40), 379,8 $[M+Na]^+$ (100), 738,7 $[2M+Na]^+$ (40). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 355,8 $[M-H]^-$ (100), 358,0 $[M-H]^-$ (70), 359,3 $[M-H]^-$ (20).

Příklad 7. 4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid (19)

1,3-Dichlor-5-isokyanatobenzen (188 mg, 1 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byla přidána 2-amino-4-brombenzoová kyselina (216,4 mg, 1 mmol). Reakční směs se míchala přes noc při 55 °C. Po reakci byl aceton odpařen a do zbytku byla přidána voda. Bílý krystal 4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoové kyseliny byl zfiltrován, vysušen na fritě a následně promyt DCM. Izolováno 380 mg, 94 %. EM 403. ESI-MS$^-$ CV 15 V, m/z (rel. int.): 400,8, 402,7 a 404,7 $[M-H]^-$ (50, 100 a 50). Finální produkt ve formě amidu byl získán dle příkladu 5. Nasazeno 0,12 mmol (50 mg), izolováno 45 mg, 90 %. EM 402. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,14 (1H, t (br), ArH), 7,23 (1H, dd, *J1*=8,6 Hz, *J2*=1,7 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,66 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 7,77 (1H, s (br), $CONH_2$), 8,29 (1H, s (br), $CONH_2$), 8,51 (1H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 10,18 (1H, s, NH), 10,98 (1H, s, NH). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 400,8 $[M+H]^+$ (30), 402,8 $[M+H]^+$ (50), 423,8 $[M+Na]^+$ (70), 425,8 $[M+Na]^+$ (100), 427,7 $[M+Na]^+$ (45). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 399,7 $[M-H]^-$ (45), 401,7 $[M-H]^-$ (100), 403,8 $[M-H]^-$ (40).

Příklad 8. 2-[3-(3,5-Dichlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid (24)

1,3-Dichlor-5-isokyanatobenzen (94 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byla přidána 2-amino-4-methoxybenzoová kyselina (84 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala přes noc při teplotě místnosti. Po reakci byl aceton odpařen a do zbytku byl přidán DCM. Produkt byl získán krystalizací z DCM při 4 °C. Bílý krystal 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzoové kyseliny byl zfiltrován a vysušen. Izolováno 160 mg, 90 %. Finální produkt ve formě amidu byl získán dle Příkladu 5. Izolován bílý krystal 145 mg, 90 %. EM 353. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 3,76 (3H, s, OCH_3), 6,57 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,12 (1H, s (br), ArH), 7,47 (1H, s (br), $CONH_2$), 7,57 (2H, s, ArH), 7,71 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 7,94 (1H, s, ArH), 8,07 (1H, s (br), $CONH_2$), 10,66 (1H, s, NH), 11,43 (1H, s, NH). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 351,8 $[M-H]^-$ (100), 353,7 $[M-H]^-$ (75).

Příklad 9. 2-[3-(3,5-Dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid (28)

1,3-Dichlor-5-isokyanatobenzen (94 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byl přidán 2-amino-4-trifluormethoxybenzamid (110 mg, 0,5 mmol), který byl získán z komerčně dostupného 2-amino-4-trifluormethoxybenzonitrilu parciální bazickou hydrolýzou (v etanolu a vodě, 1:1, 4 ekvivalenty NaOH, teplota místnosti, přes noc). EM 220, ESI-MS$^+$ CV 15 V, m/z (rel. int.): 204,0 $[M-NH_3]^+$ (100), 221,0 $[M+H]^+$ (60). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 218,9 $[M-H]^-$ (100). Reakční směs se míchala přes noc při teplotě místnosti. Po reakci byl aceton odpařen a do zbytku byl přidán chlorform, ze kterého produkt krystaloval. Bílý krystal, izolováno 157 mg, 77 %. EM 407. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 7,01 (1H, d, *J*=8,5 Hz, ArH), 7,15 (1H, t, *J*=2,3 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=2,3 Hz, ArH), 7,80 (1H, s, ArH), 7,84 (1H, d, *J*=8,5 Hz, ArH), 8,32 (2H, s, $CONH_2$), 10,26 (1H, s, NH), 11,05 (1H, s, NH). ESI-MS$^+$ CV 25 V, m/z (rel. int.): 429,9 a 431,9 $[M+Na]^+$ (100 a 70). ESI-MS$^-$ CV 25 V, m/z (rel. int.): 405,8 a 307,8 $[M-H]^-$ (100 a 70).

Příklad 10. 4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-ethylbenzamid (35)

4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoová kyselina připravená dle příkladu 7 (60 mg, 0,15 mmol) byla rozpuštěna v THF a postupně bylo přidáno EDC, HOBt, NMM a čerstvě připravený roztok THF a vody (1:0,3) obsahující etylamin hydrobromid (1,5 mmol) a trietylamin (1,5 mmol) dle příkladu 5. Čistý produkt byl získán sloupcovou chromatografií (20% metanol v chlorformu). Izolováno 20 mg, 33 %. EM 430. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 1,06 (3H, t, *J*=7,5 Hz, CH_3), 3,27 (2H, m, *J*=5,8 Hz, CH_2), 7,15 (1H, t, *J*=1,5 Hz, ArH), 7,25 (1H, dd, *J1*=8,5 Hz, *J2*=2,0 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=2,0 Hz, ArH), 7,60 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 8,5 (1H, d, *J*=2,0 Hz, ArH), 8,80 (1H, t, *J*=5,7 Hz, CONH), 10,19 (1H, s, NH), 10,78 (1H, s, NH). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 430,0 $[M+H]^+$ (75), 431,9 $[M+H]^+$ (100), 433,9 $[M+H]^+$ (70). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 427,8 $[M-H]^-$ (50), 429,8 $[M-H]^-$ (100), 431,7 $[M-H]^-$ (40).

Příklad 11. 1-(5-Brom-2-hydrazinokarbonylfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina (45)

4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoová kyselina připravená dle příkladu 7 (50 mg, 0,12 mmol) byla rozpuštěna v THF a postupně bylo přidáno EDC, HOBt, NMM a hydrazin (3 mmol) dle příkladu 5. Surový produkt byl opláchnut zásaditým roztokem vody. Izolováno 30 mg, 60 %. EM 417. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 4,62 (2H, s (br), $NHNH_2$), 7,14 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,23 (1H, dd, *J1*=8,6 Hz, *J2*=1,7 Hz, ArH), 7,52 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 7,54 (2H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 8,45 (1H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 10,01 (1H, s (br), $CONHNH_2$), 10,22 (1H, s, NH-urea), 10.53 (1H, s (br), NH-urea). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 416,8 $[M+H]^+$ (50), 418,8 $[M+H]^+$ (100), 440,8 $[M+Na]^+$ (80), 443,0 $[M+Na]^+$ (45). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 414,4 $[M-H]^-$ (45), 416,6 $[M-H]^-$ (100), 418,3 $[M-H]^-$ (45).

Příklad 12. 4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-*N*-(2-hydroxyethyl)benzamid (48)

4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoová kyselina připravená dle příkladu 7 (60 mg, 0,15 mmol) byla rozpuštěna v THF a postupně bylo přidáno EDC, HOBt, NMM a etanolamin (1,5 mmol) dle příkladu 5. Izolováno 55 mg, 92 %. EM 446. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 3,38 (2H, q, *J*=4,7 Hz, $NHCH_2$), 3,51 (2H, q, *J*=4,7 Hz, CH_2OH), 7,76 (1H, t (br), OH), 7,14 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,25 (1H, dd, *J1*=8,6 Hz, *J2*=2,3 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,64 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 8,50 (1H, d, *J*=2,3 Hz, ArH), 8,77 (1H, t (br), CONH), 10,19 (1H, s, NH), 10,74 (1H, s (br), NH). ESI-MS$^+$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 446,0, 447,9 a 450,0 $[M+H]^+$ (70, 100 a 65). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 327,8 $[M-H]^-$ (50), 445,9 a 447,9 $[M-H]^-$ (100, 40).

Příklad 13. *N*-(2-Amino-ethyl)-4-brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid (55)

4-Brom-2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzoová kyselina připravená dle příkladu 7 (50 mg, 0,12 mmol) byla rozpuštěna v THF a postupně bylo přidáno EDC, HOBt, NMM a 1,2-diaminoetan (1 mL) dle příkladu 5. Čistý produkt byl získán krystalizací z chlorformu. Izolováno 44 mg, 88 %. EM 445. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ 2,67 (2H, t, *J*=6,8 Hz, CH_2), 3,25 (2H, t, *J*=6,3 Hz, CH_2), 7,14 (1H, t, *J*=1,8 Hz, ArH), 7,25 (1H, dd, *J1*=8,0 Hz, *J2*=2,0 Hz, ArH), 7,55 (2H, d, *J*=1,8 Hz, ArH), 7,64 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 8,48 (1H, d, *J*=2,0 Hz, ArH), 8,76 (1H, s (br), NH), 10,17 (1H, s (br), NH). ESI-MS$^+$ CV 12 V, m/z (rel. int.): 444,9, 446,9 a 448,9 $[M+H]^+$ (60, 100 a 50). ESI-MS$^-$ CV 20 V, m/z (rel. int.): 442,6, 444,8 a 446,5 $[M-H]^-$ (40, 100 a 30).

Dle uvedených postupů z příkladů 1 až 13 byly připraveny další látky, které jsou v tabulce 1.

Tabulka 1. Přehled substituentů v polohách R1 až R4 pro syntetizované látky, jejich hodnoty ES-MS $[M+H]^+$ a IC_{50} v jednotkách mikromolů s enzymem ZmCKX1.

Vysvětlivky: D – di, F – fluor, Cl – chlor, Br – brom, Me – methyl, OMe – methoxyskupina, TFM – trifluormethoxy skupina, AD – amido skupina, MAD – *N*-methylamido skupina, EAD – *N*-ethylamido skupina, PAD – *N*-propylamido skupina, HD – hydrazido skupina, HED – *N*-(2-hydroxyethyl)amidoskupina, HPD – *N*-(3-hydroxypropyl)amidoskupina, AED – *N*-(2-aminoethyl)amidoskupina. CPPU je *N*-(2-chlor-4-pyridyl)-N′-fenylmočovina, DCPPU je 1-(2,6-dichlor-pyridin-4-yl)-3-fenylmočovina, F-INCYDE je 2-fluor-9*H*-purin-6-yl)-(3-methoxyfenyl)amin, 3,5DCl-Ph-U je 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-fenylmočovina. Číslice označuje polohu substituentu na fenylu, pomlčka odděluje dvě fenylová jádra. Zkratky začínají jádrem, které nese amidovou skupinu. Zkratky neobsahují písmena pro slova fenyl a močovina (močovina) (kromě standardu – 3,5DCl-Ph-U).

č.	zkratka látky	R1	R2	R4	R3	ES MS [M+H]	IC_{50} (μM) ZmCKX1
	CPPU	standard					18
	DCPPU	standard					4,5
	F-INCYDE	standard					1
	3,5DCl-Ph-U	standard					0,84
1	2AD-3F	H	H	F	H	274,2	0.450
2	2AD-3Br	H	H	Br	H	335,1	0.340
3	2AD-3OMe	H	H	OCH_3	H	286,3	0.320
4	2AD-3TFM	H	H	OCF_3	H	340,1	0.210
5	2AD-3,5DF	H	H	F	F	292,0	0.160
6	2AD-3,5DCl	H	H	Cl	Cl	324,1	0.022
7	2AD-3,5DBr	H	H	Br	Br	414,3	0.047
8	2AD-3Cl,5F	H	H	F	Cl	308,1	0.110
9	2AD-3Br,5Cl	H	H	Br	Cl	367,0	0.040
10	2AD-3Cl,5Me	H	H	Cl	CH_3	304,1	0.070
11	2AD-3Cl,5TFM	H	H	Cl	OCF_3	375,3	0.120
12	2AD,5F-3Cl	H	F	Cl	H	309,2	0.090
13	2AD,5F-3,5DCl	H	F	Cl	Cl	342,3	0.018
14	2AD,5F-3Cl,5OMe	H	F	Cl	OCH_3	338,1	0.028
15	2AD,5Cl-3Cl	H	Cl	Cl	H	324,0	0.035
16	2AD,5Cl-3,5DCl	H	Cl	Cl	Cl	358,2	0.002
17	2AD,5Cl-3Br,5Cl	H	Cl	Br	Cl	403,3	0.001
18	2AD,5Br-3Cl	H	Br	Cl	H	367,1	0.011
19	2AD,5Br-3,5DCl	H	Br	Cl	Cl	403,0	0.001
20	2AD,5Br-3Cl,5OMe	H	Br	Cl	OCH_3	399,1	0.034
21	2AD,5OMe-3F	H	OCH_3	F	H	304,2	0.058
22	2AD,5OMe-3Cl	H	OCH_3	Cl	H	320,3	0.035
23	2AD,5OMe-3Br	H	OCH_3	Br	H	365,3	0.033

24	2AD,5OMe-3,5DCl	H	OCH_3	Cl	Cl	354,1	0.001
25	2AD,5OMe-3Br,5Cl	H	OCH_3	Br	Cl	399,4	0.001
26	2AD,5TFM-3Cl	H	OCF_3	Cl	H	374,3	0.009
27	2AD,5TFM-3Br	H	OCF_3	Br	H	419,2	0.007
28	2AD,5TFM-3,5DCl	H	OCF_3	Cl	Cl	407,1	0.001
29	2MAD-3,5DCl	CH_3	H	Cl	Cl	338,0	0.030
30	2MAD,5F-3,5DCl	CH_3	F	Cl	Cl	356,2	0.021
31	2MAD,5Cl-3,5DCl	CH_3	Cl	Cl	Cl	372,3	0.014
32	2MAD,5Br-3,5DCl	CH_3	Br	Cl	Cl	417,2	0.010
33	2MAD,5OMe-3Cl	CH_3	OCH_3	Cl	H	334,1	0.006
34	2EAD-3,5DCl	CH_2CH_3	H	Cl	Cl	352,1	0.038
35	2EAD,5Br-3,5DCl	CH_2CH_3	Br	Cl	Cl	431,2	0.003
36	2EAD,5OMe-3Cl	CH_2CH_3	OCH_3	Cl	H	348,2	0.021
37	2EAD,5OMe-3,5DCl	CH_2CH_3	OCH_3	Cl	H	382,3	0.002
38	2EAD,5TFM-3Cl,5F	CH_2CH_3	OCF_3	Cl	F	420,1	0.001
39	2PAD-3F	$CH_2CH_2CH_3$	H	F	H	316,2	0,17
40	2PAD-3,5DF	$CH_2CH_2CH_3$	H	F	F	334,1	0.062
41	2PAD-3,5DCl	$CH_2CH_2CH_3$	H	Cl	Cl	366,0	0.030
42	2PAD,5Cl-3,5DF	$CH_2CH_2CH_3$	Cl	F	F	367,1	0.022
43	2PAD,5OMe-3,5DCl	$CH_2CH_2CH_3$	OCH_3	Cl	Cl	396,1	0.004
44	2HD-3,5DCl	NH_2	H	Cl	Cl	339,2	0.074
45	2HD,5Br-3,5DCl	NH_2	Br	Cl	Cl	418,1	0.020
46	2HD,5OMe-3,5DCl	NH_2	OCH_3	Cl	Cl	369,3	0.018
47	2HED-3,5DCl	CH_2CH_2OH	H	Cl	Cl	368,3	0.022
48	2HED,5Br-3,5DCl	CH_2CH_2OH	Br	Cl	Cl	447,1	0.005
49	2HED,5OMe-3F	CH_2CH_2OH	OCH_3	F	H	348,2	0.040
50	2HED,5OMe-3,5DCl	CH_2CH_2OH	OCH_3	Cl	Cl	398,1	0.003
51	2HPD-3Cl	$CH_2CH_2CH_2OH$	H	Cl	H	348,3	0.150
52	2HPD,5Br-3Cl	$CH_2CH_2CH_2OH$	Br	Cl	H	427,1	0.080
53	2HPD,5OMe-3,5DCl	$CH_2CH_2CH_2OH$	OCH_3	Cl	Cl	412,1	0.020
54	2AED,5Br-3Cl	$CH_2CH_2NH_2$	Br	Cl	H	412,0	0.035
55	2AED,5Br-3,5DCl	$CH_2CH_2NH_2$	Br	Cl	Cl	446,2	0.010
56	2AED,5OMe-3,5DCl	$CH_2CH_2NH_2$	OCH_3	Cl	Cl	397,1	0.013
57	2AED,5TFM-3,5DCl	$CH_2CH_2NH_2$	OCF_3	Cl	Cl	451,2	0.008

Příklad 14. Látky inhibují aktivitu kukuřičného enzymu cytokinin oxidázy/dehydrogenázy 1 (ZmCKX1)

Metodou PMS/MTT [fenazin methosulfát/3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid] bylo měřeno IC_{50} (koncentrace látky, která působí 50% inhibici enzymu). Test byl prováděn v 96-jamkových mikrotitračních deskách. Každá jamka obsahovala reakční směs o finální koncentraci: 0,1 M KH_2PO_4, pH 7,4, 1 mM MTT, 0,2 mM PMS, testovanou látku od koncentrace 0,1 nM až 1 μM a 10 μM N^6-isopentenyladenin (iP) jako substrát. Do této reakční směsi bylo přidáno 100 μL média obsahující aktivní enzym ZmCKX1. Enzym byl produkován kvasinkami Yarrowia lipolytica a izolován podle protokolu (Kopečný D et al., 2005, Biochimie 87, 1011–1022). Desky byly inkubovány 30 min při 37 °C a enzymatická reakce byla zastavena přídavkem 25 μl 35% kyseliny octové. Poté byla měřena absorbance při 578 nm na spektrofotometru, absorbance vzorku bez substrátu byla odečtena jako referenční hodnota. Hodnota IC_{50} byla odečtena z koncentračně závislých křivek. Hodnoty zobrazené v tabulce 1 jsou průměrem minimálně dvou měření. Všechny uvedené deriváty mají výrazně nižší hodnoty IC_{50} než známé CKX inhibitory CPPU, DCPPU a 3,5DCl-Ph-U. Pro srovnání uvádíme i hodnotu IC_{50} pro známý CKX inhibitor F-INCYDE (Zatloukal M. *et al.*, 2008, Bioorganic & Medicinal Chemistry 16, 9268-9275), který je ovšem fenyl-adeninový derivát. Látkou 3,5DCl-Ph-U je 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-fenylmočovina, kterou jsme připravili pro srovnání její inhibiční aktivity s lákymi předkládanými v tomto vynálezu. Přidáním amidové skupiny na nesubstituovaný fenyl této látky, vznikne derivát 2AD-3,5DC, který má 42x lepší inhibiční aktivitu na enzymu ZmCKX1 než látka 3,5DCl-Ph-U. F-INCYDE ((2-fluor-9H-purin-6-yl)-(3-methoxyfenyl)amin), CPPU (1-(2-chlor-pyridin-4-yl)-3-fenylmočovina), a DCPPU (1-(2,6-dichlorpyridin-4-yl)-3-fenylmočovina) jsou látky známé ze stavu techniky. Tyto látky jsou méně účinné než nová generace močovinových derivátů z tohoto vynálezu.

Příklad 15. Listová aplikace látky 24 zvyšuje výnos semen *Arabidopsis thaliana*

Již dříve bylo ukázáno, že snížení aktivity enzymů CKX v Arabidopsis vedlo ke zvýšení počtu květů/šešulí a zvýšení množství semen v jednotlivých šešulích. Výsledkem bylo 55% zvýšení celkového výnosu semen oproti kontrolním rostlinám (Bartrina I. *et al.*, 2011, Plant Cell 23, 69-80). V našem experimentu byly mladé rostlinky *Arabidopsis thaliana,* pěstované v malých květináčích ve hlíně, postříkány 0,01 μm vodným roztokem látky 24 ve fázi 4 pravých listů (do 14 dnů po zasetí). Kontrolní rostliny byly postříkány vodným roztokem DMSO (c=0,01% (v/v)) a silwetu (c=0,001% (v/v)). Ošetřené (n=25) i kontrolní rostliny (n=25) byly dále pěstovány za optimálních podmínek až do fáze jejich přirozené smrti. Následně byla sklizena semena ze všech rostlin a byl vyhodnocen výnos (tabulka 2). Zatímco kontrolní rostliny měly v průměru 41 (±8) semen v jedné šešuli a celkový výnos semen na jednu rostlinu činil 122 (±16) mg, ošetřené rostliny měly v průměru 50 (±5) semen v jedné šešuli a celkový výnos semen na jednu rostlinu činil 148 (±17) mg. To znamená zvýšení celkového výnosu semen o 21 %. Celý tento experiment byl opakován s podobným výsledkem: kontrolní rostliny měly v průměru 43 (±6) semen v jedné šešuli a celkový výnos semen na jednu rostlinu činil 115 (±12) mg, ošetřené rostliny měly v průměru 52 (±7) semen v jedné šešuli a celkový výnos semen na jednu rostlinu činil 135 (±13) mg. To znamená zvýšení celkového výnosu semen o 17 %.

Tabulka 2. Listová aplikace látky 24 zvyšuje výnos semen *Arabidopsis thaliana*

	Výnos (mg)	Výnos (%)	benefit
Kontrola	122 ± 16	100 %	
0.01 μM látka 24	148 ± 17	121 %	+ 21 %
Kontrola	115 ± 12	100 %	
0.01 μM látka 24	135 ± 13	117 %	+ 17 %

Příklad 16. Listová aplikace látky 24 prodlužuje délku života *Arabidopsis thaliana* ve stresových podmínkách za sucha a snižuje ztráty na výnosu

Mladé rostlinky *Arabidopsis thaliana,* pěstované v malých květináčích ve hlíně byly postříkány 0,01 μM vodným roztokem látky 24 ve fázi 4 pravých listů (do 14 až 20 dnů po zasetí). Kontrolní rostliny byly postříkány vodným roztokem DMSO (c=0,01% (v/v)) a silwetu (c=0,001% (v/v)). Kontrolní rostliny byly dále rozděleny na zalévané a rostliny s redukovanou zálivkou (stresované suchem). Ošetřené rostliny látkou 24 měly stejně redukovanou zálivku (stresované suchem). Všechny rostliny byly pěstovány až do fáze jejich přirozené smrti. Kontrolní zalévané rostliny žily v průměru 85 dní, než samovolně uschly. Jejich výnos semen byl v průměru 141 (±22) mg. Kontrolní rostliny s redukovanou zálivkou žily v průměru pouze 61 dní a průměrný výnos byl 95 (±14) mg. Rostliny ošetřené látkou 24 a s redukovanou zálivkou žily v průměru 75 dní a jejich průměrný výnos byl 117 (±16) mg. Tato data jasně ukazují (tabulka 3), že CKX inhibitory signifikantně zvyšují výnos a žiotaschopnost rostlin Arabidopsis, které byly vystaveny stresu životního prostředí.

Tabulka 3. Listová aplikace látky 24 redukuje ztráty na výnosu semen *Arabidopsis thaliana*

	Výnos (mg)	Výnos (%)	benefit
Kontrola zalévaná	141 ± 22	100 %	
Kontrola s redukovanou zálivkou	95 = 14	67 %	
Rostliny s redukovanou zálivkou + 0.01 μM látka 24	117 ± 16	83 %	+ 16 %

Příklad 17. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene ječmene v polních podmínkách

V polním pokusu byl zkoumán vliv látky 24 na výnos semen ječmene a na jeho fenotyp. Všechny polní pokusy byly provedeny dle kritérií platných pro Dobrou agrikulturní praxi (Good agricultural practises), tzn. šest ploch o 10 m^2 bylo použito na jednu variantu. Plodina dále nebyla ošetřena žádným jiným růstovým regulátorem (jen látkou 24) ani fungicidem. Látka 24 byla aplikována na semena v koncentraci 10 μm před výsevem. Takto ošetřená semena ječmene byla pěstována na poli v roce 2016 a výnos těchto rostlin byl srovnán s neošetřenou kontrolou (tabulka 4). Ošetřené rostliny měly výnos semene 105,3 % oproti kontrole (100 %). Analýza fenotypu dále ukázala, že vyšší výnos mohl být způsoben větším počtem odnoží, kterých ošetřené rostliny měly o 14 % více než kontrolní rostliny.

V roce 2017 byl v polních podmínkách testován vliv listové aplikace látky 24 na výnos ječmene. Látka 24 byla aplikována na listy ječmene v koncentraci 5 μM (v objemu 200 L na hektar) ve dvou různých období – BBCH 21 až 23 a BBCH 51. Obě aplikace vedly ke zvýšení výnosu semene, a to na 106, 3% a 106,8 % oproti kontrole (100 %), respektive (tabulka 4).

Tabulka 4. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene ječmene v polních podmínkách

	fáze růstu	Výnos (%)	benefit
Kontrola		100 %	
10 μM látka 24 (aplikace na semena)		105,3 %	+ 5,3 %
5 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 21-23	106,3 %	+ 6,3 %
5 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 51	106,8 %	+ 6,8 %

Příklad 18. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene ozimé řepky v polních podmínkách

V roce 2018 byl sledován vliv listové aplikace látky 24 (koncentrace 1 μm v objemu 300 l na hektar) na výnos ozimé řepky v polních podmínkách. Polní pokusy byly opět provedeny dle kritérií platných pro Dobrou agrikulturní praxi. Látka 24 byla aplikována na rostliny ve dvou různých období – BBCH 30 a BBCH 33 až 35. V prvním případě došlo ke zvýšení výnosu semene řepky na 106,2 % oproti kontrole a v druhém případě došlo ke zvýšení výnosu semene na 108,8 % oproti kontrole (100 %) (tabulka 5). Dále bylo zjištěno, že semena ošetřených rostlin byla mírně těžší, hmotnost tisíce semen u kontroly byla 5,38 g. Hmotnost tisíce semen u ošetřených rostlin byla 5,6 g (BBCH 30) a 5,8 g (BBCH 33 až 35). Tento jev se také podílel na zvýšení celkového výnosu semen.

Tabulka 5. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene ozimé řepky v polních podmínkách

	fáze růstu	Výnos (%)	benefit
Kontrola		100 %	
1 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 30	106,2%	+ 6,2 %
1 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 33-35	108,8%	+ 8,8 %

Příklad 19. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene pšenice v polních podmínkách

V roce 2017 byl sledován vliv aplikace látky 24 na výnos pšenice v polních podmínkách. Látka byla opět aplikována buď na semena pšenice před výsevem (= moření semen látkou 24 v koncentraci 50 μM) nebo na listy (= postřik látkou 24 v koncentraci 5 μm) ve dvou různých období – BBCH 25 a BBCH 51. Všechny polní pokusy byly provedeny dle kritérií platných pro Dobrou agrikulturní praxi. V případě moření semen byl výnos zvýšen na 104,0 % oproti kontrole (100 %). V případě listové aplikace byl výnos zvýšen na 105,9 (BBCH 21) a na 105,0 % (BBCH 51) oproti kontrole (100 %) (tabulka 6). Analýza fenotypu zjistila, že ošetřené rostliny měly zhruba o 7 % více odnoží než kontrolní rostliny.

Tabulka 6. Aplikace látky 24 zvyšuje výnos semene pšenice v polních podmínkách

	fáze růstu	Výnos (%)	benefit
Kontrola		100 %	
50 μM látka 24 (aplikace na semena)		104,0%	+ 4,0 %
5 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 25	105,9	+ 5,9 %
5 μM látka 24 (listová aplikace)	BBCH 51	105,0%	+ 5,0 %

Příklad 20. Přípravky

Aktivní složkou v přípravcích může být kterákoliv sloučenina obecného vzorce I. Uvedená procenta jsou hmotnostní procenta, pokud není uvedeno jinak.

A1. Emulgovatelné koncentráty	a)	b)	c)	d)
Aktivní složka	5%	10%	25%	50%
dodecylbenzensulfonan vápenatý	6%	8%	6%	8%
polyoxyethylovaný ricinový olej (polyglykol ether ricinového oleje) (36 mol ethylenoxid)	4%	-	4%	4%
oktylfenolpolyglykolether (7 až 8 mol ethylen oxid)	-	2 %	-	2 %

cyklohexanon	-	-	10 %	20 %
směs aromatických uhlovodíků C_9-C_{12}	83 %	82 %	53 %	18 %

Emulze o vyžadované finální koncentraci mohou být získány z takového koncentrátu zředěním vodou.

A2. Roztoky	a)	b)	c)	d)
Aktivní složka	5 %	10 %	50%	90%
1-methoxy-3-(3-methoxy-propoxy)propan	-	20 %	20%	-
polyethylenglykol MW 400	20%	10 %	-	-
N-methyl-2-pyrrolidon	-	-	30%	10%
směs aromatických uhlovodíků C_9-C_{12}	75 %	60 %	-	-

Roztoky jsou vhodné k aplikaci ve formě mikrokapének.

A3. Smáčivé prášky	a)	b)	c)	d)
Aktivní složka	5 %	25 %	50 %	80 %
ligninsulfonan sodný	4 %	-	3 %	-
laurylsulfát sodný	2 %	3 %	-	4 %
diisobutylnaftalensulfonát sodný	-	6 %	5 %	6 %
oktylfenolpolyglykolether (7 až 8 mol ethylenoxid)	-	1 %	2 %	-
vysoce disperzní kyselina křemičitá	1 %	3 %	5 %	10 %
kaolin	87 %	61 %	37 %	-

Aktivní složka je důkladně promísena s pomocnými látkami a směs je důkladně rozemleta ve vhodném mlýnu. Suspenzi libovolné koncentrace je možné získat smísením vzniklého prachu s vodou.

A4. Potahované granule	a)	b)	c)
Aktivní složka	0,1 %	5%	15%
vysoce disperzní kyselina křemičitá	0,9 %	2 %	2 %
anorganický nosič (0,1 až 1 mm) např. $CaCO_3$ nebo SiO_2	99,0 %	93 %	83 %

Aktivní složka je rozpuštěna v methylenchloridu a nasprejována na nosič. Rozpouštědlo je odpařeno ve vakuu.

A5. Potahované granule	a)	b)	c)
Aktivní složka	0,1 %	5 %	15 %
polyethylenglykol MW 200	1,0 %	2 %	3 %
vysoce disperzní kyselina křemičitá	0,9 %	1 %	2 %
anorganický nosič (AE 0,1 až 1 mm) např. $CaCO_3$ nebo SiO_2	98,0 %	92 %	80 %

Jemně rozemletá aktivní složka je v mixéru stejnoměrně nanesena na nosič zvlhčený polyethylenglykolem. Takto jsou získány neprašné granule.

A6. Extrudované granule	a)	b)	c)	d)

Aktivní složka	0,1 %	3 %	5 %	15 %
ligninsulfonan sodný	1,5 %	2 %	3 %	4 %
karboxymethylcelulosa	1,4 %	2 %	2 %	2 %
kaolin	97,0 %	93 %	90 %	79 %

Aktivní složka je smísena a rozemleta s pomocnými látkami a složka je zvlhčena vodou. Směs je extrudována a usušena v proudu vzduchu.

A7. Prachy	a)	b)	c)
Aktivní složka	0,1 %	1 %	5 %
talek	39,9 %	49 %	35 %
kaolin	60,0 %	50 %	60 %

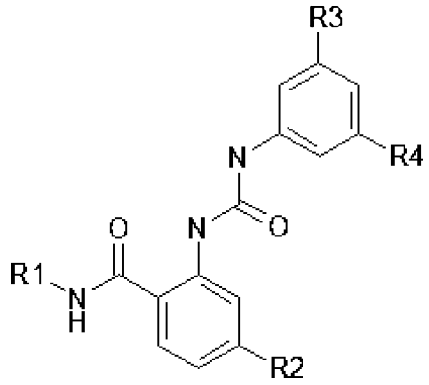
Prachy k přímému použití jsou získány rozemletím aktivní složky s nosičem ve vhodném mlýnu.

A8. Suspenzní koncentrát	a)	b)	c)	d)
Aktivní složka	3%	10%	25%	50%
ethylenglykol	5 %	5 %	5 %	5%
nonylfenolpolyglykolether (15 mol ethylenoxid)	–	1 %	2 %	–
lignosulfonát sodný	3 %	3 %	4 %	5 %
karboxymethylcelulosa	1 %	1 %	1 %	1%
37% vodný roztok formaldehydu	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2%
emulse silikonového oleje	0,8 %	0.8 %	0,8 %	0,8%
voda	86 %	78 %	64 %	38%

Jemně rozemletá aktivní složka je smíchána s pomocnými látkami. Vzniklý suspenzní koncentrát umožňuje přípravu suspenze o požadované koncentraci zředěním vodou.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I,



(I)

kde
R1 je vybraný ze skupiny zahrnující vodík, amino skupinu, (C1 až C5)alkyl, (C2 až C5)alkenyl a (C2 až C5)alkynyl, přičemž (C1 až C5)alkyl může být popřípadě substituovaný hydroxy nebo amino skupinou;
R2 je vybraný ze skupiny zahrnující vodík, halogen, methoxy skupinu a halogenovanou methoxy skupinu;
R3 je vybraný ze skupiny zahrnující vodík, halogen, methyl, methoxy skupinu a trifluormethoxy skupinu;
R4 je vybraný ze skupiny zahrnující halogen, methyl, methoxy skupinu a trifluormethoxy skupinu;
a jejich soli s alkalickými kovy, amonné soli nebo aminy, ve formě racemátů nebo opticky aktivních isomerů, stejně jako jejich adiční soli s kyselinami;
přičemž z rozsahu nároku je vyloučen 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]benzamid.

2. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle nároku 1, kde R1 je vybraný ze skupiny sestávající z vodíku, methylu, ethylu, propylu, $-NH_2$, 2-hydroxyethylu, 3-hydroxypropylu a 2-aminoethylu.

3. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle nároku 1 nebo 2, kde R2 je vybraný ze skupiny sestávající z H, F, Cl, Br, $-OCH_3$ a $-OCF_3$.

4. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1, 2 nebo 3, kde alespoň jeden z R3 a R4 je halogen, s výhodou R3 i R4 jsou nezávisle na sobě halogeny, vybrané ze skupiny sestávající z F, Cl a Br.

5. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1, 2 nebo 3, kde R3 je halogen, vybraný ze skupiny, sestávající z F, Cl a Br, a současně R4 je vybraný ze skupiny, sestávající z $-CH_3$, $-OCH_3$ a $-OCF_3$.

6. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1, 2 nebo 3, kde R4 je halogen, vybraný ze skupiny, sestávající z F, Cl a Br, a současně R3 je vybraný ze skupiny, sestávající z H, $-CH_3$, $-OCH_3$ a $-OCF_3$.

7. Sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle nároku 1 vybrané ze skupiny zahrnující 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]benzamid, 2-[3-(3-

fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-methoxybenzamid, 2-[3-(3-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-difluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3,5-dichlorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid, 2-[3-(3-chlor-5-fluorfenyl)ureido]-4-trifluormethoxybenzamid.

8. Přípravek pro ošetření rostlin, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň jednu sloučeninu 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7 a alespoň jednu pomocnou látku, vybranou ze skupiny zahrnující rozpouštědla, pevné nosiče, povrchově aktivní látky, emulgátory, dispergační látky, zvlhčovadla, smáčedla, stabilizátory, odpěňovače, konzervační přípravky, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a hnojiva.

9. Přípravek podle nároku 8, **vyznačující se tím**, že obsahuje od 0,01 do 99,09 % (w/w) sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I a dále obsahuje od 99,09 do 0,01 % (w/w) alespoň jedné pomocné látky, s výhodou obsahuje od 0,1 do 95 % (w/w) sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I a od 5 do 99,9 % (w/w) alespoň jedné pomocné látky.

10. Přípravek podle nároku 8 nebo 9, **vyznačující se tím, že** je ve formě roztoku, s výhodou izotonického vodného roztoku; suspenze; disperze; emulze; prášku; poprašku; granulátu; krému; gelu; olejové suspenze nebo obalované formulace.

11. Použití sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7 a/nebo přípravku pro ošetření rostlin podle kteréhokoliv z nároků 8 až 10 v zemědělství pro zvýšení výnosu plodin, a/nebo zvýšení jejich odolnosti proti stresu.

12. Použití sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7 a/nebo přípravku pro ošetření rostlin podle kteréhokoliv z nároků 8 až 10 jako inhibitoru cytokinin oxidasy při produkci užitkových rostlin.

13. Použití sloučeniny 2-(3-fenylureido)benzamidu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 7 a/nebo přípravku pro ošetření rostlin podle kteréhokoliv z nároků 8 až 10 pro inhibici stresu v celých rostlinách, v rostlinných orgánech, pletivech a/nebo buňkách.