

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKAÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2020-559
 (22) Přihlášeno: 13.10.2020
 (40) Zveřejněno: 27.04.2022
 (Věstník č. 17/2022)
 (47) Uděleno: 16.03.2022
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: 27.04.2022
 (Věstník č. 17/2022)

C07C 275/28 (2006.01)
 C07C 275/30 (2006.01)
 C07C 275/32 (2006.01)
 A01N 37/28 (2006.01)
 A01P 21/00 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

NISLER, Jaroslav, et al. Diphenylurea-derived cytokinin oxidase/dehydrogenase inhibitors for biotechnology and agriculture. *Journal of experimental botany*, 2021, 72.2: 355-370; publ. online: 2020-09-18; E-ISSN: 1460-2431. L-ISSN: 0022-0957; VELAPPAN, Anand Babu, et al. Attenuation of *Mycobacterium* species through direct and macrophage mediated pathway by unsymmetrical diaryl urea. *European Journal of Medicinal Chemistry* (20170105), 125, pp. 825-841; ISSN: 0223-5234, DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.083; REKUNGE, Deelip S. et al. Sulfated polyborate-catalyzed efficient and expeditious synthesis of (un)symmetrical ureas and benzimidazolones. *Tetrahedron Letters* (20171108), 58(45), pp. 4304-4307, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/j.tetlet.2017.10.001; SVIRIPA, Vitaliy, et al. Fluorinated N,N'-diarylureas as AMPK activators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (20130315), 23(6), pp. 1600-1603, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.01.096; LI, Bin, et al. Solution-phase synthesis of combinatorial urea library. *Nongyao* (19990531), 38(5), pp. 16-18, ISSN: 1006-0413, (abstract) C.Aplus [online]: Columbus, OH, USA [retrieved on 2 November 2021]. Retrieved from <STN new, C.Aplus Accession No. 1999:424214 (DN 131:184740)>; RICCI, Ada, et al. Effect of Cl-substitution on rooting- or cytokinin-like activity of diphenylurea derivatives. *Journal of Plant Growth Regulation* (2005), Volume Date: 2004, 23(4), pp. 261-268, ISSN: 0721-7595, DOI: 10.1007/s00344-004-0016-4. US 4193788 A; US 4279639 A; US 4308054 A; ES 2201909 A1; US 3469965 A; WO 0205638 A1.

(73) Majitel patentu:

Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i.,
 Praha 6, Lysolaje, CZ

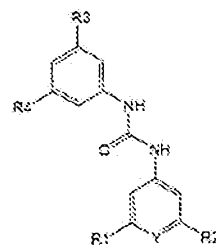
(72) Původce:

Mgr. Jaroslav Nisler, Ph.D., Praha 4, Podolí, CZ
 prof. Ing. Miroslav Strnad, CSc.DSc., Olomouc,
 Neředín, CZ

Mgr. Lukáš Spíchal, Ph.D., Bystrčice, CZ
 Stefaan Werbrouck, 8530 Harelbeke, BE
 Nino Murvanidze, 9000 Gent, BE

(74) Zástupce:

HARBER IP s.r.o., Dukelských hrdinů 567/52,
 170 00 Praha 7, Holešovice



(54) Název vynálezu:

**Látky pro rostlinné biotechnologie na bázi
 1-fenyl-3-yl-močoviny, přípravky je
 obsahující a jejich použití**

(57) Anotace:

Řešení se týká substituovaných derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I a přípravků tyto deriváty obsahující, přičemž Y je uhlík; R1 je halogen, methoxy skupina, methylsulfanylová skupina, popřípadě mohou být vodíky methoxy skupiny a methylsulfanylové skupiny substituovány halogenem, R2 je vodík, fluor, chlor, brom nebo methylová skupina, R3 je skupina odpovídající R1 a R4 je fluor, chlor, brom nebo methylová skupina. Řešení se dále týká použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích pro zvýšení regenerace a životaschopnosti nových rostlin, zejména při produkci užitkových rostlin, a přípravků obsahujících tyto deriváty.

Látky pro rostlinné biotechnologie na bázi 1-fenyl-3-yl-močoviny, přípravky je obsahující a jejich použití

5 Oblast techniky

Vynález se týká substituovaných derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny a přípravků tyto deriváty obsahující. Vynález se dále týká použití těchto látek v rostlinných biotechnologiích.

10

Dosavadní stav techniky

Rostlinné biotechnologie mohou být definovány jako soubor technik, které s použitím tkáňových kultur a/nebo genetického inženýrství vedou k produkci rostlin, které vykazují nové nebo zlepšené

15

žadoucí vlastnosti.

Rostlinné tkáňové kultury slouží především k rychlému namnožení rostlinného materiálu *in vitro* a dnes se používají k pěstování velkého množství rostlinných druhů, které nelze (nebo je to drahé) pěstovat ze semen. Příkladem mohou být například běžně dostupné banány. Nové rostlinky se získávají z různých částí původní mateřské rostliny (z jejího kalusu, orgánů, z různých druhů pletiv atd.). K tomu, aby mohlo docházet k vývoji (regeneraci) nové rostliny, je potřeba do média, na kterém se nové rostliny regenerují, přidávat rostlinné hormony, které regeneraci indukují. Naprosto

20

25

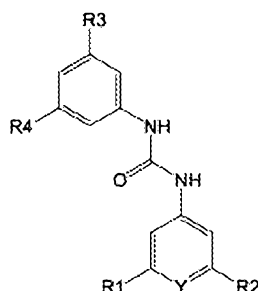
Podstata vynálezu

30

Cílem předkládaného vynálezu je poskytnout nové látky ze skupiny fytohormonů, které by zvýšily regeneraci rostlin *in vitro* a *in vivo*. Podstatou předkládaného vynálezu jsou substituované deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny, vykazující pozitivní synergický účinek při regeneraci rostlin ve tkáňových kulturách.

35

Předmětem předloženého vynálezu jsou deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I,



(I)

40

kde

Y je uhlík (=C(H)-);

45

R1 je vybraný ze skupiny sestávající z halogenu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny,

příčemž vodíky methoxyskupiny a methylsulfanylové skupiny mohou být nezávisle substituovány halogenem;

R2 je vodík, halogen nebo methyl;

R3 je vybraný ze skupiny sestávající z halogenu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, příčemž vodíky methoxyskupiny a methylsulfanylové skupiny mohou být nezávisle substituovány halogenem;

R4 je halogen nebo methyl;

a příčemž z rozsahu derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I jsou vyloučeny 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-(trifluormethylsulfanyl)fenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-(trifluormethylsulfanyl)fenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3,5-difluorfenyl)močovina.

Generické názvy substituentů mají významy, jak je definováno níže:

halogen znamená fluor, chlor, brom nebo jód;

methylová skupina je -CH₃;

methoxyskupina je -OCH₃;

methylsulfanylová skupina je -SCH₃;

trifluormethoxyskupina je -OCF₃;

trifluormethylsulfanylová skupina je -SCF₃.

Případnou substitucí vodíků methoxyskupiny a methylsulfanylové skupiny halogenem se rozumí substituce jednoho, dvou nebo třech atomů vodíku jedním nebo více atomy halogenů (F, Cl, Br, I). Atomy halogenu mohou být stejné nebo různé. Výsledný substituent R1 a/nebo R3, odvozený od methoxyskupiny nebo od methylsulfanylové skupiny, tak může být například:

-OCCl₃; -OCBr₃; -OCI₃;

-OCFCl₂; -OCFBr₂; -OCFI₂; -OCCIF₂; -OCCIBr₂; -OCCII₂; -OCBrF₂; -OCBrCl₂; -OCBrI₂;

-OCIF₂; -OCICl₂; -OCIBr₂;

-OCFCIBr; -OCFCII; -OCCIBrI;

-OCHF₂; -OCHCl₂; -OCHBr₂; -OCHI₂;

-OCHFCl; -OCHFBr; -OCHFI; -OCHCIBr; -OCHCII; -OCHBrI;

-OCH₂Cl; -OCH₂Br; -OCH₂I; -OCH₂F;

-SCCl₃; -SCBr₃; -SCI₃;

-SCFCl₂; -SCFBr₂; -SCFI₂; -SCCIF₂; -SCCIBr₂; -SCCII₂; -SCBrF₂; -SCBrCl₂; -SCBrI₂; -SCIF₂;

-SCICl₂; -SCIBr₂;

-SCFCIBr; -SCFCII; -SCCIBrI;

-SCHF₂; -SCHCl₂; -SCHBr₂; -SCHI₂;

-SCHFCl; -SCHFBr; -SCHFI; -SCHCIBr; -SCHCII; -SCHBrI;

-SCH₂Cl; -SCH₂Br; -SCH₂I; -SCH₂F.

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.

Ve výhodném provedení je R1 vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, trifluormethoxyskupiny nebo trifluormethylsulfanylové skupiny.

Ve výhodném provedení je R2 vybraný ze skupiny sestávající z vodíku, fluoru, chloru, bromu a

methylu.

Ve výhodném provedení je R3 vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxy skupiny, methylsulfanylové skupiny, trifluormethoxy skupiny nebo trifluormethylsulfanylové skupiny.

Ve výhodném provedení je R4 vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu nebo methylové skupiny.

V jednom výhodném provedení je Y uhlík; R1 je vybrané ze skupiny sestávající z F, Cl, Br, -OCH₃, -OCF₃, -SCH₃ a -SCF₃; a R2 je vybrané ze skupiny sestávající z H, F, Cl a Br.

V jednom provedení je Y uhlík a derivát 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I je vybraný ze skupiny, sestávající z níže uvedených látek, kde:

R1 je SCF₃ a R2 je H: 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-trifluormethylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-trifluormethylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-trifluormethylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-methylfenyl)-3-(3-trifluormethylsulfanylfenyl)močovina,

R1 je SCH₃ a R2 je H: 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-methylfenyl)-3-(3-methylsulfanylfenyl)močovina,

R1 je OCF₃ a R2 je H: 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-trifluormethoxyfenyl)močovina,

R1 je OCF₃ a R2 je F: 1-(3-fluorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-fluor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina,

R1 je OCF₃ a R2 je Cl: 1-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-trifluormethoxyfenyl)močovina,

R1 je OCF₃ a R2 je Br: 1-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-brom-5-trifluormethoxyfenyl)močovina,

R1 je OCH₃ a R2 je H: 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina,

5

R1 je OCH₃ a R2 je F: 1-(3-fluorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-fluor-5-methoxyfenyl)močovina,

10

R1 je OCH₃ a R2 je Cl: 1-(3-chlor-5-methoxyfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-methoxyfenyl)močovina,

15

R1 je OCH₃ a R2 je Br: 1-(3-fluorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-methoxyfenyl)-3-(3-bromfenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-brom-5-methoxyfenyl)močovina,

20

25

R1 je Br a R2 je H: 1-(3-bromfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3-bromfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

30

R1 je Br a R2 je F: 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3-bromfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-fluorfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

35

R1 je Br a R2 je Cl: 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-bromfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

40

R1 a R2 jsou Br: 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-dichlorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-bromfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

45

R1 je Cl a R2 je H: 1-(3-chlorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3-chlorfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

50

R1 je Cl a R2 je F: 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-3-bis-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-brom-5-

55

chlorfenyl)močovina,

R1 a R2 jsou Cl: 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3,5-dibromfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-chlor-5-fluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-brom-5-chlorfenyl)močovina,

R1 je F a R2 je H: 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3,5-dibromfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina, 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3-fluorfenyl)močovina,

R1 a R2 jsou F: 1-(3-brom-5-chlorfenyl)-3-(3,5-difluorfenyl)močovina.

Dalším aspektem tohoto vynálezu je použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích, s výhodou pro zvýšení regenerace a životaschopnosti nových rostlin ve tkáňových kulturách, zejména při produkci užitkových rostlin.

Ve výhodném provedení použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích je R1 vybrán ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, trifluormethoxyskupiny nebo trifluormethylsulfanylové skupiny.

Ve výhodném provedení použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích je R2 vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, fluoru, chloru, nebo bromu.

Ve výhodném provedení použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích je R3 vybrán ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, trifluormethoxyskupiny nebo trifluormethylsulfanylové skupiny.

Ve výhodném provedení použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích je R4 vybrán ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu nebo methylové skupiny.

V jednom výhodném provedení použití látky obecného vzorce I v rostlinných biotechnologiích je Y uhlík; R1 je vybrán ze skupiny sestávající z F, Cl, Br, -OCH₃, -OCF₃, -SCH₃ a -SCF₃; a R2 je vybrán ze skupiny sestávající z H, F, Cl a Br.

Ve výhodném provedení použití látky obecného vzorce Ia v rostlinných biotechnologiích je látka obecného vzorce Ia vybrána ze skupiny sestávající z: 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-((trifluormethyl)thio)fenyl)močovina (19), 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (23), 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (24), 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)-močovina (25), 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-fluor-5-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (26), 1-(3-chlor-5-(trifluormethoxy)fenyl)-3-(3-chlorfenyl)močovina (27).

Bylo pozorováno, že sloučeniny obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu vykazují pozitivní synergický efekt při regeneraci rostlin ve tkáňových kulturách v přítomnosti N⁶-isopentenyladeninu (iP), což zvyšuje regenerační index rostlin a tím snižuje náklady na jejich regeneraci (produkci). Dále bylo pozorováno, že sloučeniny obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu vykazují pozitivní synergický efekt s cytokininem *trans*-zeatinem (tZ) na oddálení rozpadu chlorofylu v oddělených listech pšenice.

Sloučeniny obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu mohou být při použití v rostlinných biotechnologiích aplikovány na celé rostliny, rostlinné orgány, nebo na rostlinné buňky a pletiva. Sloučeniny obecného vzorce I podle předkládaného vynálezu jsou vhodné pro použití v tkáňových kulturách, kde zvyšují regeneraci a životaschopnost nových rostlin, regeneraci pupenů a výhonů z explantátů, růst kalusů, snižují hyperhydricitu rostlin pěstovaných *in vitro* a vykazují velmi silnou mikropropační a anti-senescenční aktivitu.

Vynález dále zahrnuje anti-senescenční nebo anti-stresové přípravky pro rostliny, rostlinné orgány a rostlinné buňky, obsahující látky alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I a alespoň jednu pomocnou látku. Pomocné látky mohou být pevné nebo kapalné.

5

Pomocnou látkou se rozumí rozpouštědla, pevné nosiče, povrchově aktivní látky (surfaktanty), emulgátory, dispergační látky, zvlhčovačla, smáčedla, stabilizátory, odpěňovače, konzervační přípravky, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a také hnojiva a další aktivní přísady.

10

Vhodnými rozpouštědly jsou například aromatické uhlovodíky (deriváty xylenu nebo naftalenu), ftaláty (například dibutylftalát, dioktylftalát), alifatické uhlovodíky (cyklohexan, parafín), 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.

15

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

20

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). Neiontovými surfaktanty jsou typicky deriváty polyglykoletheru a alifatických nebo cykloalifatických alkoholů nebo satureovaných či nesatureovaných mastných kyselin a alkylfenolů, vodorozpustné adukty polyethylenoxidu s polyethylenglykolem.

25

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.

30

Vynález se dále týká způsobu inhibice stresu a/nebo senescence v rostlinách, rostlinných orgánech a/nebo v rostlinných buňkách, který zahrnuje aplikaci látky s cytokininovou aktivitou vybrané ze skupiny zahrnující: *cis*-zeatin, *trans*-zeatin, *N*⁶-isopentenyladenin, *N*⁶-benzyladenin, kinetin, *meta*-topolin, jejich nukleosidy a/nebo nukleotidy a alespoň jednu sloučeninu obecného vzorce I na rostlinu, rostlinný orgán a/nebo rostlinnou buňku.

35

Sloučeniny obecného vzorce I se používají v nemodifikované formě (přidáním sloučeniny obecného vzorce I přímo do růstového média) 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, rozptýl, 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.

40

45

Přípravky

50

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).

55

V závislosti na povaze sloučeniny obecného vzorce I nebo její soli, která má být formulována, vhodné povrchově aktivní látky jsou neiontové, kationtové a/nebo aniontové povrchově aktivní látky a jejich směsi mající dobré emulzifikační, dispergační a zvlhčovací vlastnosti. Příklady vhodných aniontových, neiontových a kationtových smáčedel jsou shrnuty například ve WO 97/34485.

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-III, Chemical Publishing Co., New York, 1980-81.

Formulace přípravku obsahuje váhově od 0,01 do 99,09 % (w/w), zejména pak od 0,1 do 95 % (w/w) aktivní složky odpovídající látce nebo směsi látek obecného vzorce I nebo Ia, přičemž dále obsahuje od 0,01 do 99,09 % (w/w) směsi přísad či jiných nosičů, a to v závislosti na způsobech aplikace, s výhodou od 5 do 99,9 % (w/w) směsi přísad či jiných nosičů; a popřípadě může dále obsahovat i váhově od 0,1 do 40 % (w/w) smáčedla, s výhodou 0,5 až 30 % (w/w) smáčedla, výhodněji 1 až 20 % (w/w) smáčedla.

Ačkoliv jsou komerční produkty obvykle připravovány ve formě koncentrátů, konečný uživatel upotřebí naředěný přípravek. Kompozice může proto obsahovat i další přísady, jakými jsou stabilizátory, např. rostlinné oleje nebo epoxidované rostlinné oleje (epoxidovaný palmový olej, řepkový nebo olivový olej), odpěňovače, např. silikonový olej, konzervační přípravky, stabilizátory, zvlhčovačla anebo emulgátory, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a také hnojiva a další aktivní přísady. 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 %,

Suspenní 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 %.

Kompozice mohou rovněž obsahovat další příměsi, jakými jsou stabilizátory, například rostlinné oleje nebo epoxidované rostlinné oleje (epoxidovaný kokosový olej, řepkový olej nebo sójový olej), odpěňovače, např. silikonový olej, konzervační látky, regulátory viskozity, pojiva, zahušťovačla, a také hnojiva a další aktivní látky. Pro použití sloučenin obecného vzorce I nebo jejich solí, nebo kompozic je obsahujících, se mohou používat rozdílné metody a technologie.

Sloučeniny obecného vzorce I podle tohoto vynálezu mohou být připraveny způsobem, ve kterém se isokyanatobenzen nesoucí R₃ a R₄ nechá reagovat s pyridin-4-aminem nebo anilinem nesoucím R₁ a R₂ v inertním rozpouštědle (jako je tetrahydrofuran (THF), dichlormethan (DCM) atd.), čímž se získá požadovaný produkt v kvantitativním výtěžku (schéma 1, krok B). Všechny substituované pyridin-4-aminy a aniliny použité v tomto popisu vynálezu jsou komerčně dostupné. Téměř všechny substituované isokyanatobenzeny použité v tomto popisu vynálezu jsou komerčně dostupné. Ty nedostupné – 1-chlor-3-isokyanato-5-(trifluormethoxy)benzen, 1-brom-3-isokyanato-5-(trifluormethoxy)benzen, nebo špatně dostupné a velice drahé – 1-chlor-3-isokyanato-5-methoxybenzen, 1-brom-3-isokyanato-5-methoxybenzen byly připraveny konvenční metodou z komerčně dostupného substituovaného anilinu za použití difosgenu (Kurita K. et al., (1976) J. Org. Chem. 41, 2070-71, schéma 1, krok A).

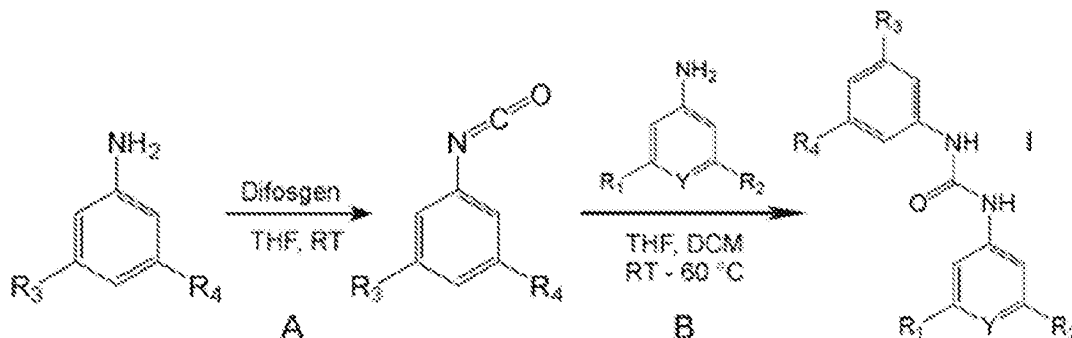


Schéma 1.

Objasnění výkresů

Obrázek 1 znázorňuje: vliv látky 24 (0,01 μ M) na regeneraci nových rostlin z explantátu tabáku v přítomnosti 0,01 μ M iP.

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1 Příprava prekursoru 1-brom-3-isokyanato-5-(trifluormethoxy)benzenu

3-Brom-5-(trifluormethoxy)anilin (1 ekvivalent) byl rozpuštěn v suchém THF a smíchán s triethylaminem (2 ekvivalenty). Tato směs byla pomalu přikapána do roztoku difosgenu (0,6 ekvivalentu) v THF při -20 °C. Následně byla teplota reakční směsi postupně přivedena až k teplotě místnosti nebo vyšší (do 60 °C). Po ochlazení na 4 °C byl odfiltrován vysrážený triethylaminhydrochlorid a filtrát byl odpařen do sucha. V reakční nádobě zůstal surový izokyanát-1-brom-3-isokyanato-5-(trifluormethoxy)benzen, který byl použit do další syntézy. Dle tohoto příkladu byly připravené i ostatní izokyanáty použité v popisu tohoto vynálezu.

Příklad 2 1-(2-Chlorpyridin-4-yl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina (7) - není předmětem vynálezu

1-Isokyanato-3-methoxybenzen (75 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v DCM (5 ml) a za míchání byl přidán 2-chlorpyridin-4-amin (64 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Bílý krystalický produkt z DCM vykristalizoval, a po ochlazení reakční směsi na 4 °C byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 115 mg, 82 %). EM 277. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,69 (3H, s, OCH₃), 6,56 (1H, dd, *J*₁=8,5 Hz, *J*₂=2,0 Hz, ArH), 6,91 (1H, dd, *J*₁=8,0 Hz, *J*₂=1,0 Hz, ArH), 7,12 (1H, t, *J*=2,5 Hz, ArH), 7,16 (1H, t, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,27 (1H, dd, *J*₁=6,0 Hz, *J*₂=2,5 Hz, ArH), 7,60 (1H, ds, *J*=1,5 Hz, ArH), 8,13 (1H, d, *J*=6,0 Hz, ArH), 8,95 (1H, s, NH), 9,30 (1H, s, NH). MS-ESI⁺: 278,1 [M+H]⁺ (100), 280,0 [M+H]⁺ (55).

Příklad 3 1-(2-Chlorpyridin-4-yl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (8) - není předmětem vynálezu

- 5 1-Isokyanato-3-(trifluormethoxy)benzen (101 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v DCM (5 ml) a za míchání byl přidán 2-chlorpyridin-4-amin (64 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Bílý krystalický produkt z DCM vykristalizoval, a po ochlazení reakční směsi na 4 °C byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 132 mg, 80 %). EM 331. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,97 (1H, d, *J*=8,25 Hz, ArH), 7,29-7,33 (2H, m, ArH), 7,40 (1H, dt, *J*=8,25 Hz, *J*_d=2,75 Hz, ArH), 7,61-7,65 (2H, m, ArH), 8,16 (1H, dd, *J*₁=5,81 Hz, *J*₂=2,45 Hz, ArH), 9,29 (1H, s, NH), 9,43 (1H, s, NH). MS-ESI⁺: 353,8, 355,8 [M+Na]⁺ (100, 35). MS-ESI⁻: 329,9, 331,9 [M-H]⁻ (100, 40).

15 Příklad 4 1-(2,6-Dichlorpyridin-4-yl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina (13) - není předmětem vynálezu

- 20 1-Isokyanato-3-methoxybenzen (75 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v DCM (5 ml) a za míchání byl přidán 2,6-dichlorpyridin-4-amin (81 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Bílý krystalický produkt z DCM vykristalizoval, a po ochlazení reakční směsi na 4 °C byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 118 mg, 76 %). EM 311. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,69 (3H, s, OCH₃), 6,58 (1H, dd, *J*₁=7,5 Hz, *J*₂=2,5 Hz, ArH), 6,92 (1H, dd, *J*₁=7,5 Hz, *J*₂=1,0 Hz, ArH), 7,12 (1H, t, *J*=2,0 Hz, ArH), 7,17 (1H, t, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,51 (2H, s, ArH), 9,11 (1H, s, NH), 9,49 (1H, s, NH). MS-ESI⁻: 310,1, 311,8 [M-H]⁻ (100, 70).

25 Příklad 5 1-(2,6-Dichlorpyridin-4-yl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (14) - není předmětem vynálezu

- 30 1-Isokyanato-3-(trifluormethoxy)benzen (101 mg, 0,5 mmol) byl rozpuštěn v DCM (5 ml) a za míchání byl přidán 2,6-dichlorpyridin-4-amin (81 mg, 0,5 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Bílý krystalický produkt z DCM vykristalizoval, a po ochlazení reakční směsi na 4 °C byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 144 mg, 79 %). EM 365. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,98 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,31 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,40 (1H, t, *J*=9,0 Hz, ArH), 7,52 (2H, s, ArH), 7,61 (1H, s, ArH), 9,45 (1H, s, NH), 9,63 (1H, s, NH). MS-ESI⁺: 387,8, 389,8 [M+Na]⁺ (100, 70). MS-ESI⁻: 363,9, 365,8 [M-H]⁻ (100, 70).

35 Příklad 6 1-(3,5-Dichlorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močovina (24)

- 40 3,5-Dichlorfenylisokyanát (40 mg, 0,21 mmol) byl rozpuštěn v DCM (2 ml) a za míchání byl přidán 3-trifluormethoxyanilin (38 mg, 0,21 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Bílý krystalický produkt z DCM vykristalizoval, pak byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 50 mg, 64 %). EM 364. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,94 (1H, d, *J*=8,6 Hz, ArH), 7,16 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,29 (1H, d, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,37 (1H, t, *J*=8,0 Hz, ArH), 7,50 (2H, d, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,63 (1H, s(br), ArH), 9,11 (1H, s (br), NH), 9,18 (1H, s (br), NH). MS-ESI⁺ CV 20 V, *m/z* (rel. int.): 365,0 a 367,0 [M+H]⁺ (100 a 70). MS-ESI⁻ CV 20 V, *m/z* (rel. int.): 363,0 a 365,0 [M-H]⁻ (100 a 70).

Příklad 7 1-(3-Chlor-5-(trifluormethoxy)fenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina (28)

- 50 3,5-Dichlorfenylisokyanát (40 mg, 0,21 mmol) byl rozpuštěn v DCM a za míchání byl přidán 3-chlor-5-trifluormethoxy-fenylamin (45 mg, 0,21 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. DCM byl odpařen a do zbytku byl přidán chloroform (1 ml). Bílý krystalický produkt byl izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 65 mg, 76 %). EM 398. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,12 (1H, s(br), ArH), 7,18 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 7,50 (3H, d, *J*_d=1,7 Hz, 3xArH), 7,54 (1H, t, *J*=1,7 Hz, ArH), 9,25 (1H, s, NH), 9,36 (1H, s, NH). MS-ESI⁻ CV 20 V, *m/z* (rel. int.): 397,0, 399,0 a 400,8 [M-H]⁻ (100, 80 a 30), 795,0, 796,8 a 799,2 [2M-H]⁻ (50, 100 a 50).

Příklad 8 1-(3-Brom-5-(trifluormethoxy)fenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina (29)

3,5-Dichlorfenylisokyanát (37 mg, 0,2 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byl přidán 3-brom-5-trifluormethoxy-fenylamin (51 mg, 0,2 mmol). Reakční směs se míchala přes noc za teploty místnosti. Aceton byl odpařen a do zbytku byl přidán chloroform (1 ml) a směs byla uložena v lednici (4 °C) přes noc. Bílý krystalický produkt byl poté izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 70 mg, 80 %). EM 443. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,18 (1H, t, J=1,7 Hz, ArH), 7,22 (1H, s (br), ArH), 7,51 (2H, d, J=1,7 Hz, ArH), 7,53 (1H, s (br), ArH), 7,67 (1H, t, J=1,7 Hz, ArH), 9,24 (1H, s, NH), 9,34 (1H, s, NH). MS-ESI⁺: 443,0, 445,0, 446,9 [M+H]⁺ (60, 100, 50).

Příklad 9 1-(3,5-Dibromfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina (37)

3,5-Dichlorfenylisokyanát (56 mg, 0,3 mmol) byl rozpuštěn v acetonu a za míchání byl přidán 3,5-dibrom-aniline (75 mg, 0,3 mmol). Reakční směs se míchala 3 h za teploty místnosti. Produkt z acetonu krystaloval. Směs byla uložena v lednici (4 °C) přes noc. Bílý krystalický produkt byl poté izolován na fritě a vysušen v exikátoru (izolováno 85 mg, 65 %). EM 438. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,17 (1H, t, J=1,7 Hz, ArH), 7,39 (1H, t, J=1,7 Hz, ArH), 7,50 (2H, d, J=1,7 Hz, ArH), 7,67 (2H, d, J=1,7 Hz, ArH), 9,23 (1H, s (br), NH), 9,26 (1H, s (br), NH). MS-ESI⁺: 436,9, 438,9, 440,9, 443,0 [M+H]⁺ (40, 100, 90, 40).

Příklad 10 1,3-Bis-(3,5-dichlorfenyl)močovina (39)

3,5-Dichlorfenylisokyanát (188 mg, 1 mmol) byl rozpuštěn v THF a za míchání byl přidán 3,5-dichloranilin (162 mg, 1 mmol). Reakční směs se míchala 2 h za teploty místnosti. Pak byl THF odpařen do sucha a bílý produkt re-suspendován v DCM. Bílý krystal byl zfiltrován (izolováno 310 mg, 88 %). EM 348. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,17 (2H, t, J=1,7 Hz, ArH), 7,50 (4H, d, J=1,7 Hz, ArH), 9,24 (2H, s, NH), MS-ESI⁺ CV 20 V, *m/z* (rel. int.): 348,8 [M+H]⁺ (80), 350,8 [M+H]⁺ (100), 352,8 [M+H]⁺ (60). MS-ESI⁻ CV 20 V, *m/z* (rel. int.): 346,8 [M-H]⁻ (60), 348,7 [M-H]⁻ (100), 350,7 [M-H]⁻ (50), 696,8 [2M-H]⁻ (50), 698,8 [2M-H]⁻ (60), 700,8 [2M-H]⁻ (50).

Dle uvedených postupů z příkladů 1 až 10 byly připraveny další látky, které jsou v Tabulce 1.

Tabulka 1

Přehled substituentů v polohách R1-R4 pro syntetizované látky a jejich hodnoty MS-ESI [M+H]⁺. Pokud substituent není uveden (-) je v dané poloze vodík (H). Vysvětlivky: CP –chlorpyridyl, P – pyridyl, D – di, F – fluor, Cl (C) – chlor, Br – brom, Me – methyl, MeO – methoxyskupina, MeS – methylthioskupina, TFM – trifluormethoxyskupina, TFS – trifluormethylsulfanylová skupina. Číslice označuje polohu substituentu na fenylu (pyridylu), pomlčka odděluje dva aromatické cykly močoviny. Zkratky neobsahují slova fenyl a močovina. Zkratky začínají jádrem, které nese R1 a R2.

číslo látky	Zkratka látky	R1	R2	R3	R4	ES MS [M+H]
Látky kde Y = N – nejsou předmětem vynálezu						
1	2FP-3,5DF	F	-	F	F	268,1
2	2,6DFP-3Cl	F	F	Cl	-	284,2
3	2,6DFP-3,5DCl	F	F	Cl	Cl	317,9
4	2,6DFP-3MeO	F	F	OCH ₃	-	280,0
5	2CP-3,5DCl	Cl	-	Cl	Cl	284,2
6	2CP-3,5DBr	Cl	-	Br	Br	404,7
7	2CP-3MeO	Cl	-	OCH ₃	-	278,0
8	2CP-3TFM	Cl	-	OCF ₃	-	331,9
9	2,6DCP-3F	Cl	Cl	-	F	300,2
10	2,6DCP-3Cl,5Me	Cl	Cl	Me	Cl	330,4
11	2,6DCP-3,5DBr	Cl	Cl	Br	Br	438,0
12	2,6DCP-3MeO	Cl	Cl	OCH ₃	-	312,1
13	2,6DCP-3TFM	Cl	Cl	OCF ₃	-	366,1
14	2,6DCP-3TFM,5Br	Cl	Cl	OCF ₃	Br	444,3
15	BrP-3,5DF	Br	-	F	F	327,9
16	BrP-3TFS	Br	-	SCF ₃	-	391,0
17	MeOP-3,5DF	OCH ₃	-	F	F	280,0
18	MeOP-3,5DCl	OCH ₃	-	Cl	Cl	312,2
Látky kde Y = C						
19	3TFS-3,5DCl	SCF ₃	-	Cl	Cl	381,1
20	3TFS-3Cl,5Me	SCF ₃	-	Cl	Me	361,1

21	3MeS-3,5DF	SCH ₃	-	F	F	295,0
22	3MeS-3,5DBr	SCH ₃	-	Br	Br	415,1
23	3TFM-3Cl,5F	OCF ₃	-	Cl	F	349,1
24	3TFM-3,5DCI	OCF ₃	-	Cl	Cl	365,0
25	3TFM-3,5DF	OCF ₃	-	F	F	333,1
26	3TFM,5F-3,5DCI	OCF ₃	F	Cl	Cl	382,9
27	3TFM,5Cl-3Cl	OCF ₃	Cl	Cl	-	365,0
28	3TFM,5Cl-3,5DCI	OCF ₃	Cl	Cl	Cl	399,2
29	3TFM,5Br-3,5DCI	OCF ₃	Br	Cl	Cl	443,4
30	3MeO-3,5DCI	OCH ₃	-	Cl	Cl	311,1
31	3MeO,5F-3,5DF	OCH ₃	F	F	F	297,1
32	3MeO,5Cl-3,5DF	OCH ₃	Cl	F	F	313,0
33	3MeO,5Br-3,5DCI	OCH ₃	Br	Cl	Cl	389,3
34	3Br-3,5DCI	Br	-	Cl	Cl	359,0
35	3Br,5F-3,5DF	Br	F	F	F	345,1
36	3Br,5Cl-3,5DCI	Br	Cl	Cl	Cl	393,2
37	3,5DBr-3,5DCI	Br	Br	Cl	Cl	436,9
38	3Cl-3,5DF	Cl	-	F	F	283,0
39	3,5DCI-3,5DCI	Cl	Cl	Cl	Cl	348,8
40	3,5DF-3Br,5Cl	F	F	Cl	Br	361,0

Příklad 11 Synergický efekt látek obecného vzorce I s cytokininem iP na zvýšení Regeneračního indexu rostlin tabáku.

5

Tabákové listy byly rozděleny na malé kruhové disky ($d = 0,5$ cm) a umístěny do Petriho misek s 10 ml Murashige a Skoog média. (sacharóza 30 g/l, rostlinný agar 7 g/l, pH 5,8). Toto médium dále obsahovalo 0,1 μM *N*⁶-isopentenyladenin (iP) nebo kombinaci 0,1 μM iP a 0,1 μM látky 1 až 40. Každá kombinace byla provedena ve 3 opakováních s 15 explantáty na 1 kombinaci. Regenerace rostlin se hodnotila po 3 týdnech. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. Z výsledků je patrné, že všechny látky 1 až 40 podle předkládaného vynálezu zvyšují regenerační index rostlin tabáku ošetřených 0,1 μM iP. Zatímco samotné 0,1 μM iP vede k regeneraci asi 5 rostlin z jednoho disku (explantátu), látky 1 až 40 byly schopné tuto regeneraci zvýšit na přibližně 7 až 12 rostlin. Nejlepší látky tak zdvojnásobily počet regenerovaných rostlin z jednoho explantátu. V extrémním případě, 0,01 μM látka 25 pozitivně ovlivnila regeneraci nových rostlin z explantátu tabáku v přítomnosti 0,01 μM iP (obr. 1). Látky 1 až 40 aplikované samotné (bez iP) nemají na regeneraci nových rostlin z listu tabáku žádný vliv (regenerační index je 0), nicméně v kombinaci s iP působí překvapivě synergicky a zvyšují účinnost standardně používaného iP.

20 Tabulka 2

25 Efekt látek na regenerační index (počet nových rostlin na explantát) tabáku a množství zachovaného chlorofylu v listech pšenice (v %). Hodnoty regeneračního indexu jsou u látek 1 až 40 výsledkem synergického účinku těchto látek v 0,1 μM koncentraci a cytokininu iP v téže koncentraci. Hodnota regeneračního indexu je průměrem z 15 explantátů ($\pm$ standardní chyba).

Hodnota obsahu chlorofylu (viz příklad 12) je průměrem z 5 měření obsahu chlorofylu v 5 listech ($\pm$ standardní chyba). nt. – netestováno. – nerelevantní. Látky 1 až 18 nejsou předmětem vynálezu.

číslo látky	Zkratka látky	Regenerační index (iP 0,1 μ M + látky 0,1 μ M)	Obsah chlorofylu (%) (10 μ M látky)	Obsah chlorofylu (%) (10 μ M rZ + 1 μ M látky)
	iP samotné (0,1 μ M)	5,1$\pm$0,5	-	-
	rZ (10 μ M)	-	28	-
1	2FP-3,5DF	7,5 $\pm$ 0,5	nt.	nt.
2	2,6DFP-3Cl	7,0 $\pm$ 0,3	nt.	nt.
3	2,6DFP-3,5DCI	7,7 $\pm$ 0,8	5 $\pm$ 2	40 $\pm$ 3
4	2,6DFP-3MeO	8,4 $\pm$ 1,2	7 $\pm$ 1	47 $\pm$ 4
5	2CP-3,5DCI	7,9 $\pm$ 0,4	7 $\pm$ 2	43 $\pm$ 2
6	2CP-3,5DBr	7,1 $\pm$ 0,5	nt.	nt.
7	2CP-3MeO	7,8 $\pm$ 0,2	nt.	nt.
8	2CP-3TFM	9,2 $\pm$ 0,6	10 $\pm$ 1	44 $\pm$ 3
9	2,6DCP-3F	8,7 $\pm$ 0,6	9 $\pm$ 2	48 $\pm$ 3
10	2,6DCP-3Cl,5Me	7,9 $\pm$ 0,4	nt.	nt.
11	2,6DCP-3,5DBr	8,8 $\pm$ 0,9	9 $\pm$ 3	49 $\pm$ 5
12	2,6DCP-3MeO	8,3 $\pm$ 0,7	nt.	nt.
13	2,6DCP-3TFM	10,7 $\pm$ 0,8	12 $\pm$ 2	48 $\pm$ 4
14	2,6DCP-3TFM,5Br	9,1 $\pm$ 1,0	10 $\pm$ 4	38 $\pm$ 2
15	BrP-3,5DF	8,0 $\pm$ 0,3	nt.	nt.
16	BrP-3TFS	9,6 $\pm$ 0,7	14 $\pm$ 1	58 $\pm$ 4

17	MeOP-3,5DF	$7,6 \pm 0,7$	nt.	nt.
18	MeOP-3,5DCI	$8,9 \pm 0,9$	11 ± 5	48 ± 3
19	3TFS-3,5DCI	$11,5 \pm 1,2$	13 ± 2	52 ± 3
20	3TFS-3Cl5Me	$9,3 \pm 0,7$	8 ± 3	45 ± 2
21	3MeS-3,5DF	$9,0 \pm 0,8$	7 ± 1	46 ± 3
22	3MeS-3,5DBr	$9,9 \pm 1,3$	10 ± 1	41 ± 2
23	3TFM-3Cl5F	$10,8 \pm 0,5$	13 ± 4	50 ± 4
24	3TFM-3,5DCI	$11,9 \pm 0,6$	14 ± 2	56 ± 4
25	3TFM-3,5DF	$11,4 \pm 0,7$	15 ± 3	52 ± 3
26	3TFM,5F-3,5DCI	$12,5 \pm 0,8$	16 ± 3	48 ± 3
27	3TFM,5Cl-3Cl	$10,2 \pm 0,6$	15 ± 2	42 ± 2
28	3TFM,5Cl-3,5DCI	$9,7 \pm 0,4$	8 ± 3	44 ± 2
29	3TFM,5Br-3,5DCI	$7,2 \pm 0,8$	nt.	nt.
30	3MeO-3,5DCI	$8,9 \pm 0,6$	7 ± 3	42 ± 6
31	3MeO,5F-3,5DF	$9,0 \pm 0,5$	7 ± 3	35 ± 2
32	3MeO,5Cl-3,5DF	$8,8 \pm 0,7$	6 ± 2	36 ± 3
33	3MeO,5Br-3,5DCI	$9,4 \pm 0,5$	11 ± 3	38 ± 2
34	3Br-3,5DCI	$7,1 \pm 0,4$	nt.	nt.
35	3Br,5F-3,5DF	$7,6 \pm 0,4$	nt.	nt.
36	3Br,5Cl-3,5DCI	$8,3 \pm 0,5$	7 ± 3	38 ± 3
37	3,5DBr-3,5DCI	$8,2 \pm 0,8$	nt.	nt.
38	3Cl-3,5DF	$7,5 \pm 0,6$	nt.	nt.
39	3,5DCI-3,5DCI	$8,5 \pm 1,1$	6 ± 2	35 ± 2
40	3,5DF-3Br,5Cl	$9,6 \pm 0,8$	8 ± 2	36 ± 3

Příklad 12 Anti-senesescenční synergický efekt látek obecného vzorce I s trans-zeatinem v senescenčním testu na listových segmentech pšenice kultivovaných ve tmě.

5

Semena ozimé pšenice *Triticum aestivum* cv. Hereward byla promývána pod tekoucí vodou 4 hodiny a poté byla vyseta do vermikulitu nasyceného Knopovým živným roztokem ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , KNO_3 , KH_2PO_4 , vše < 1%). Nádoby se semeny byly umístěny do klimatizované růstové komory s 16/8 hodinovou světelnou periodou (světelná intenzita $50 \text{ pmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) a teplotou 15°C . Po 7 dnech měly semenáčky vyvinutý první praporcový list a druhý list začínal prorůstat.

10

Vrcholové sekce prvních listů byly odebrány tak aby jejich váha byla 25 mg. Bazální konce těchto listových segmentů byly umístěny do jamek mikrotitračních polystyrenových destiček obsahujících 150 μl roztoku testovaného derivátu obecného vzorce I (1 list na jamku) nebo jeho kombinace s trans-zeatinem. Destičky byly umístěny do plastového boxu vystlaného filtračním papírem, který byl nasycen vodou za účelem maximální vzdušné vlhkosti. Po 96 hodinách inkubace

15

ve tmě při 25 °C byly listové sekce vyjmuty a chlorofyl extrahován v 5 ml 80% ethanolu zahřátím při 80 °C po dobu 1 hodiny. Objem vzorku byl poté doplněn na 5 ml přidáním 80% ethanolu. Absorbance extraktů byla měřena při 665 nm. Jako zelená kontrola sloužily čerstvě odřezané listy, z nichž byl stejným způsobem extrahován chlorofyl a změřen jeho obsah (tato hodnota představuje 100 %). Jako negativní kontrola sloužily listy inkubované pouze v deionizované vodě (obsah chlorofylu v těchto listech byl stanoven jako 0 %). Vypočtené hodnoty jsou průměrem z 5 opakování a celý experiment byl zopakován minimálně 2-krát. Efekt látek obecného vzorce I a *trans*-zeatinu byl nejdříve testován v 1 a 10 mikromolární koncentraci.

- 10 *Trans*-zeatin samotný v 1 mikromolární koncentraci, stejně tak jako samotné látky obecného vzorce I v 1 mikromolární koncentraci nevykazovaly výrazný pozitivní efekt na obsah chlorofylu v listech pšenice (0 až 3 %). *Trans*-zeatin samotný v 10 mikromolární koncentraci byl schopen zadržet 28 % chlorofylu (viz tabulka 2) v porovnání s negativní kontrolou. Látky obecného vzorce I samotné v koncentraci 10 mikromolární byly schopny zadržet mezi 5 až 16 % chlorofylu (viz 15 tabulka 2). Všechny testované sloučeniny obecného vzorce I tak vykazují pozitivní vliv na oddálení senescence v segmentech listů pšenice vyvolané působením tmy.

Dále byl otestován vliv kombinace *trans*-zeatinu v 10 mikromolární koncentraci a jednotlivých látek obecného vzorce I v 1 mikromolární koncentraci (v této koncentraci nebyly látky samy 20 aktivní) na obsah chlorofylu v oddělených listech pšenice a inkubovaných ve tmě. Všechny nově připravené a testované látky obecného vzorce I v 1 mikromolární koncentraci vykazovaly synergický efekt s *trans*-zeatinem v 10 mikromolární koncentraci (viz tabulka 2).

Příklad 13 Přípravky

- 25 Aktivní složkou v přípravcích může být kterákoliv sloučenina obecného vzorce I.

A1. Emulgovatelné koncentráty		a)	b)	c)	d)
30	Aktivní složka	5 %	10 %	25 %	50 %
	dodecylbenzensulfonan vápenatý	6 %	8 %	6 %	8 %
	polyoxyetylovaný ricinový olej (polyglykol ether ricinového oleje)	4 %	-	4 %	4 %
	(36 mol ethylen oxid)				
35	oktylfenol polyglykol ether	-	2 %	-	2 %
	(7-8 mol ethylen oxid)				
	cyklohexanon	-	-	10 %	20 %
	směs aromatických uhlovodíků C ₉ -C ₁₂	83 %	82 %	53 %	18 %

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

A2. Roztoky		a)	b)	c)	d)
45	Aktivní složka	5 %	10 %	50 %	90 %
	1-methoxy-3-(3-methoxy- propoxy)-propan	-	20 %	20 %	-
	polyethylenglykol MW 400	20 %	10 %	-	-
50	N-methyl-2-pyrrolidon	-	-	30 %	10 %
	směs aromatických uhlovodíků C ₉ -C ₁₂	75 %	60 %	-	-

- 55 Roztoky jsou vhodné k aplikaci ve formě mikrokapelek.

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

15 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)
20	Aktivní složka	0,1 %	5 %	15 %
	vysoce disperzní kyselina křemičitá	0,9 %	2 %	2 %
	anorganický nosič (0,1 až 1 mm)	99,0 %	93 %	83 %
	např. CaCO ₃ nebo SiO ₂			
25	Aktivní složka je rozpuštěna v methylenchloridu a nasprejována na nosič. Rozpouštědlo je odpařeno ve vakuu.			

A5. Potahované granule		a)	b)	c)
30	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)	98,0 %	92 %	80 %
35	např. CaCO ₃ nebo SiO ₂			

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

40	A6. Extrudované granule	a)	b)	c)	d)
45	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.

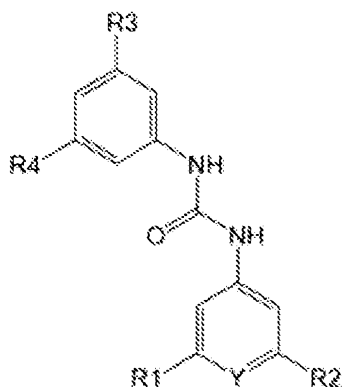
50	A7. Prachy	a)	b)	c)
55	Aktivní složka	0,1 %	1 %	5 %
	talek	39,9 %	49 %	35 %
	kaolin	60,0 %	50 %	60 %

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

A8. Suspenzní koncentrát		a)	b)	c)	d)
5	Aktivní složka	3 %	10 %	25 %	50 %
	ethylenglykol	5 %	5 %	5 %	5 %
	nonylphenolpolyglykoether (15 mol ethylenoxid)	-	1 %	2 %	-
	lignosulfonát sodný	3 %	3 %	4 %	5 %
10	karboxymethylcelulosa	1 %	1 %	1 %	1 %
	37% vodný roztok formaldehydu	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %
	emulze silikonového oleje	0,8 %	0,8 %	0,8 %	0,8 %
	voda	86 %	78 %	64 %	38 %
15	Jemně rozemletá aktivní složka je smíchána s pomocnými látkami. Vzniklý suspenzní koncentrát umožňuje přípravu suspenze o požadované koncentraci zředěním vodou.				

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I,



(I)

kde

Y je uhlík;

R1 je vybráný ze skupiny sestávající z halogenu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, přičemž vodíky methoxyskupiny a methylsulfanylové skupiny mohou být nezávisle substituovány halogenem;

R2 je vodík, halogen nebo methyl;

R3 je vybráný ze skupiny sestávající z halogenu, methoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny, přičemž vodíky methoxyskupiny a methylsulfanylové skupiny mohou být nezávisle substituovány halogenem;

R4 je halogen nebo methyl;

a přičemž z rozsahu derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I jsou vyloučeny 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-(trifluormethylsulfanyl)fenyl)močovina, 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-(trifluormethylsulfanyl)fenyl)močovina, 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-methoxyfenyl)močovina, 1-(3-

bromfenyl)-3-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3,5-dichlorfenyl)močovina, 1,3-bis-(3,5-difluorfenyl)močovina.

2. Deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle nároku 1, kde R1 je vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxyskupiny, trifluormethoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny a trifluormethylsulfanylové skupiny.

3. Deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle nároku 1 nebo 2, kde R2 je vybraný ze skupiny sestávající z vodíku, fluoru, chloru, bromu a methylové skupiny.

4. Deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle nároku 1, 2 nebo 3, kde R3 je vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu, methoxyskupiny, trifluormethoxyskupiny, methylsulfanylové skupiny a trifluormethylsulfanylové skupiny.

5. Deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1 až 4, kde R4 je vybraný ze skupiny sestávající z fluoru, chloru, bromu a methylové skupiny.

6. Použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv z předchozích nároků 1 až 5 v rostlinných biotechnologiích, zejména pro regeneraci rostlinných tkáňových kultur.

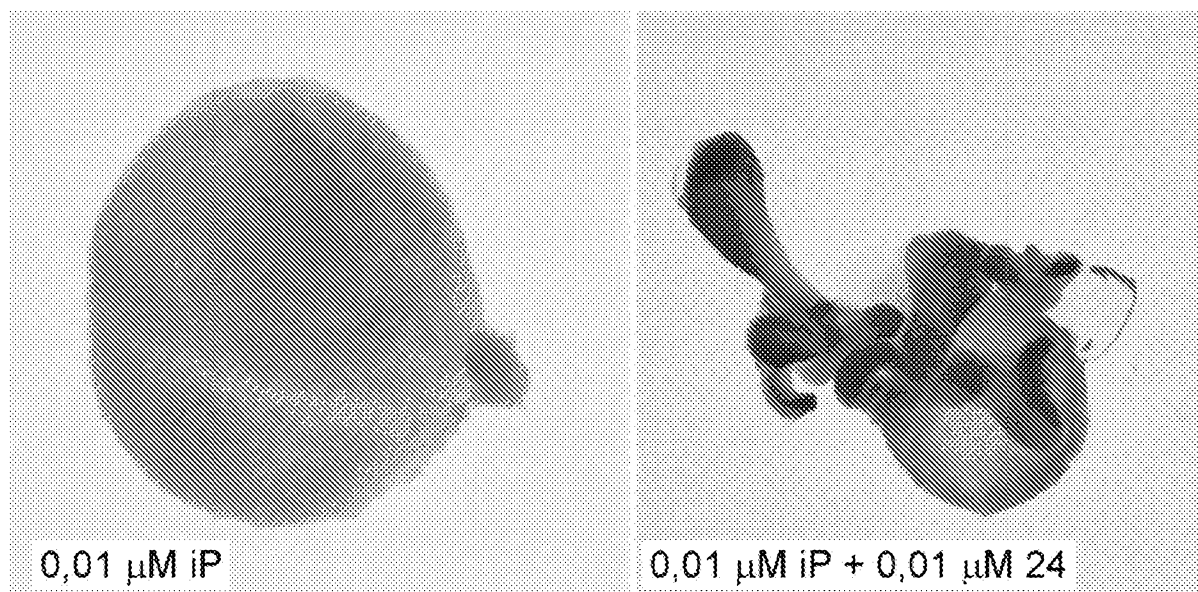
7. Použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle nároku 6, přičemž deriváty 1-fenyl-3-yl-močoviny jsou vybrané ze skupiny sestávající z 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-((trifluormethyl)thio)fenyl)močoviny (19), 1-(3-chlor-5-fluorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)-močoviny (23), 1-(3,5-difluorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)močoviny (24), 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-(trifluormethoxy)fenyl)-močoviny (25), 1-(3,5-dichlorfenyl)-3-(3-fluor-5-(trifluormethoxy)fenyl)močoviny (26), 1-(3-chlor-5-(trifluormethoxy)fenyl)-3-(3-chlorfenyl)-močoviny (27).

8. Použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv nároku 1 až 5 pro inhibici senescence v celých rostlinách, v rostlinných orgánech, pletivech a/nebo buňkách.

9. Použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv nároku 1 až 5 pro stimulaci růstu semenáčků a růstu a vývoje rostlin.

10. Použití derivátů 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv nároku 1 až 5 v přípravcích určených pro klonování rostlinných buněk, pletiv, orgánů a rostlin.

11. Přípravek pro ošetření rostlin, **vyznačující se tím**, že obsahuje alespoň jeden derivát 1-fenyl-3-yl-močoviny obecného vzorce I podle kteréhokoliv nároku 1 až 5 nebo jeho sůl s alkalickým kovem, amoniakem či aminem, nebo jeho adiční soli s kyselinou; a alespoň jednu pomocnou látku, vybranou ze skupiny zahrnující rozpouštědla, pevné nosiče, povrchově aktivní látky, emulgátory, dispergační látky, zvlhčovačla, smáčedla, stabilizátory, odpěňovače, konzervační přípravky, viskozitní činidla, pojiva, lepidla, a hnojiva.



Obr. 1