



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

215 331

Int.Cl.³

3(51) C 12 N 1/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 12 N/ 2518 431

(22) 09.06.83

(44) 07.11.84

(71) KARL-MARX-UNIVERSITAET LEIPZIG;DD;

(72) STENZ, ECKART, DR.SC.NAT.; SCHUSTER, GOTTFRIED, O. PROF. DR.SC.NAT.; KERN, EDGAR, DIPL.-CHEM.; KOCHMANN, WERNER, APL. PROF. DR.RER.NAT.; STEINKE, WALTER, DR.RER.NAT., DD

(54) MITTEL ZUR STABILISIERUNG PHAGENGEFAEHRDETER MIKROBIOLOGISCH-TECHNISCHER PRODUKTIONSPROZESSE

(57) Die Erfindung betrifft Mittel zur Stabilisierung mikrobiologischer Produktionsprozesse durch Bekämpfung von Phagen, die Mikroorganismen-Produktionsstämme befallen und damit zu unterschiedlichen Prozeßstörungen führen können. Diese Mittel sind dadurch gekennzeichnet, daß sie Verbindungen der allgemeinen Formel (I) enthalten, worin in beliebiger Variation $R_1 = Cl$,

CH_3S oder CH_3O R_2 und $R_3 =$ Morpholino und/oder N $\begin{matrix} \nearrow R_4 \\ \searrow R_5 \end{matrix}$
mit $R_4 = H$ oder Alkyl und $R_5 =$ Alkyl oder

durch CH_3O oder CN substituiertes Alkyl bedeuten und daß sie neben den erfindungsgemäßen Verbindungen Lösungsvermittler und/oder weitere Formulierungsmittel enthalten können. Die Mittel werden Fermentationsansätzen direkt oder in gelöster Form zugesetzt. Sie wirken gegen verschiedene Phagen in unterschiedlichen Wirten und sind zur Stabilisierung der Zuwachsraten von phagengefährdeten Produktionsstämmen geeignet. Formel I

Titel der Erfindung

Mittel zur Stabilisierung phagengefährdeter mikrobiologisch-technischer Produktionsprozesse

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf die Stabilisierung der Produktion in phagengefährdeten biotechnologischen Prozessen, soweit diese unter Verwendung oder Gewinn von prokaryontischen Organismen (Bakterien, Cyanobakterien) betrieben werden. Phagen (Bakteriophagen bzw. Cyanophagen) können durch Abtöten der für sie als Wirte fungierenden Mikroorganismen, durch Verringerung ihrer Vermehrungsrate oder durch Veränderung anderer für den Nutzer wesentlicher Leistungen erhebliche Produktionsausfälle herbeiführen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Maßnahmen zur Verringerung oder Aussetzung des Phagenrisikos in mikrobiologisch-biotechnologischen Prozessen, z.B. der pharmazeutischen und Lebensmittelindustrie, der Biomasseproduktion, kommen erhebliche Bedeutung zu. Phageninfektionen in bakteriellen Produktionsverfahren können bisher nur in "sterilen" (aseptischen) Verfahren mit einer gewissen Sicherheit vermieden werden. Das bedeutet jedoch, daß Fermentoren, Nährmedien, zugeführte Luft usw. sterilisiert und unter mikrobiologisch kontrollierten Bedingungen gehalten werden müssen. Wegen der damit verbundenen beträchtlichen Kosten kann ein solches Verfahren nur für Produkte, bei denen ein höherer Preis tolerierbar ist (z.B. Antibiotika), angewendet werden, für viele andere Produkte verbietet sich seine Nutzung. Darüber hinaus sind auch in Sterilverfahren Phageneinbrüche, z.B. durch technische Mängel oder lysogene Stämme, die Phagen in Form von Prophagen in den Bakterienzellen selbst enthalten, möglich.

Eine weitere Möglichkeit zur Verringerung des Phagenrisikos besteht in der Gewinnung und Nutzung von Bakterien-Mutanten, die sich durch Resistenz gegenüber einem oder mehreren Phagen auszeichnen. Die Grenzen dieser Methode liegen darin,

- daß es keine Resistenz gegen alle Phagen eines Bakterienstammes gibt,
- daß die resistenten Mutanten zumeist keine Hochleistungsstämme sind, das heißt, die für die Produktion erforderliche Leistung nicht oder nur ungenügend erbringen, und
- daß auch die Phagen ihrerseits wieder mutieren und somit die Resistenz der Wirtsorganismen durchbrechen können (z.B. S. Seto, T. Osawa und S. Yamamoto, Agr. Biol. Chem. 32, 261-266, 1968; T. Oki und A. Ozaki, Agr. Biol. Chem. 32, 320-328, 1968).

Analog zur Virus-Chemotherapie bzw. -Prophylaxe bei anderen Organismen ist auch für Mikroorganismen die direkte Bekämpfung der Phagen mittels geeigneter Chemikalien vorgeschlagen worden, was bisher nur zu Teilerfolgen geführt hat. Beispiele dieser Art sind der Einsatz von Calcium-bindenden bzw. chelatisierenden Substanzen, reduzierenden Chemikalien, Basenanaloga, Aminosäuren, Antibiotika oder anderen Verbindungen gegen Phagen, die als Schadfaktoren bei der mikrobiellen Herstellung von Aceton und Butanol, Aminosäuren, Nukleinsäuren, Antibiotika, Milchprodukten, Biomasse u. a. aufgetreten waren (Übersicht bei V. Rudolph, Process Biochem. 1978, S. 16 u. 26; weitere Beispiele: N. Kashima et al., Agr. Biol. Chem. 40, 41-47, 1976; H. Lipavská et al., Folia microbiol. 23, 60-63, 1978). Der Anwendung dieser Mittel steht entgegen, daß die Substanzen in der phagenwirksamen Konzentration oftmals auch den jeweiligen Bakterien-Produktionsstamm hemmend beeinflussen. Ein weiterer Nachteil besteht in der Phagenspezifität der Mittel. Die aufgeführten Verbindungen wirkten jeweils nur gegen einige industriell bedeutsame Phagen. Beispielsweise hat das als Phageninhibitor für *Bacillus subtilis* angegebene Indol (T. Ukita und K. Kusai, Jap. Pat. No. 32-1097, 1957) nach eigenen Untersuchungen keinen Einfluß auf die Vermehrung von PZ-Phagen in einem Produktionsstamm dieser Bakterienart.

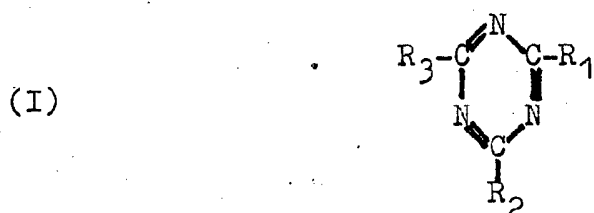
Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, das bei mikrobiellen Produktionsverfahren bestehende Phagenrisiko und die damit verbundenen Produktionsausfälle bzw. -minderungen durch den Einsatz neuartiger chemischer Phageninhibitoren zu verringern, die sich besonders durch eine gewisse Breitbandwirkung gegenüber Bakteriophagen vieler Wirtsorganismen auszeichnen, überdies gut wirtsverträglich sind und somit eine breite Anwendung in der technischen Mikrobiologie ermöglichen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, chemische Wirkstoffe aufzufinden, die auf Grund ihrer chemischen Konstitution die Phagenvermehrung hemmen, hierdurch eine antiphagale Therapie ermöglichen und die Erträge von mikrobiellen Syntheseprozessen stabilisieren. Auf Grund eines breiten Wirkungsspektrums der Hemmstoffe gegen unterschiedliche Phagen soll ein phagengefährdeter Produktionsstamm wirksam geschützt sein und darüber hinaus soll das Verfahren auch zum Schutz unterschiedlicher mikrobieller Produktionen einsetzbar sein.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß zur Bakteriophagenbekämpfung in mikrobiologisch-technischen Produktionsprozessen Mittel verwendet werden, die Verbindungen der allgemeinen Formel



enthalten,

worin in beliebiger Variation

R₁ = Cl, CH₃S oder CH₃O

R₂ und R₃ = Morpholino und/oder N $\begin{matrix} \nearrow R_4 \\ \searrow R_5 \end{matrix}$

R₄ = H oder Alkyl

R₅ = Alkyl oder durch CH₃O oder CN substituiertes

Alkyl bedeuten.

Die Verbindungen werden zusammen mit Lösungsvermittlern und/oder weiteren Formulierungshilfsmitteln angewendet. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, wenn der Wirkstoffgehalt 50 bis 95 % des Mittels ausmacht.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen in unterschiedlichen Phagen/Prokaryonten-Systemen ausgeprägte antiphagale Wirkungen, z.B. in den Systemen

$\phi 105$ / *Bacillus subtilis*

PZ-A / *Bacillus subtilis*

PZ-B / *Bacillus subtilis*

λ / *Escherichia coli*

LPP-1 / *Plectonema boryanum*.

Um die Schadwirkung von Phagen in Flüssigkulturen (Fermentationssubstraten) von Bakterien-Produktionsstämmen (Stagnieren bzw. Abnahme der Zellkonzentration) aufzuheben, werden die Mittel in solchen Mengen den Kulturmedien zugesetzt, daß sich eine Konzentration der erfindungsgemäßen Verbindungen von 10^{-6} bis 10^{-3} g/ml ergibt.

Ausführungsbeispiele

Zur Kennzeichnung der antiphagalen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen wurden unterschiedliche Verfahren eingesetzt, und zwar in Versuchsreihe A Plaquehemmtests mit Agarkulturen (Diffusions-Lochplatten) und in Versuchsreihe B Trübungstests mit Flüssigkulturen.

Versuchsreihe A: Plaquehemmtests

Bei der Auswahl der Testsysteme wurden möglichst unterschiedliche Phagen berücksichtigt (virulent oder temperent, Zugehörigkeit zu unterschiedlichen morphologischen Gruppen, zur Phagenvermehrung notwendige Wirtsorganismen heterotroph oder autotroph), wobei auch in Produktionsprozessen als Schadfaktoren aufgetretene Phagen mit einbezogen wurden. Demgemäß fanden im wesentlichen die folgenden Phagen/Wirt-Systeme Verwendung:

$\phi 105$ / *Bacillus subtilis*

Phage temperent, morphologische Gruppe B,

PZ-A / *Bacillus subtilis*

Phage virulent, morphologische Gruppe C,

Wirt heterotroph, Produktionsstamm

PZ-B / *Bacillus subtilis*

Phage virulent, morphologische Gruppe A,
Wirt heterotroph, Produktionsstamm

λ / *Escherichia coli*

Phage temperent, morphologische Gruppe B,
Wirt heterotroph

LPP-1 / *Plectonema boryanum*

Phage virulent, morphologische Gruppe C,
Wirt photoautotroph, Cyanobakterium

Der Plaquehemmtest wurde als Agardiffusions-Lochtest ausgeführt. Zur Herstellung der Doppelschichtplatten wurde der noch flüssige Deckschichtagar bei 48°C mit Phagen und Wirtsorganismen beimpft und auf die bei 37°C für 30 min vorgetrocknete Grundschrift aufgegossen. In die Nährböden wurden nach ihrem Erstarren Löcher von 10 mm Durchmesser gestanzt und mit 0,05 ml einer 1%igen Lösung der Testsubstanzen gefüllt. Nach einstündiger Diffusionszeit bei Zimmertemperatur wurden die Platten inkubiert (ϕ 105 und λ bei 37°C, PZ-Phagen bei 28°C und LPP-1 bei 25°C und 1400 lx). Durch die Diffusion der Testverbindungen im Agarsubstrat bildet sich in radialer Richtung ein Konzentrationsgradient aus, in dessen wirksamen Bereichen eine Phagenhemmung als plaquefreie Zone bzw. Zone mit weniger und/oder kleineren Plaques erkannt werden kann. Die Auswertung erfolgte durch Ausmessen der radialen Breite dieser Plaquehemmzonen. Alle Ansätze bestanden aus drei Parallelen und wurden meist mehrfach wiederholt.

Die in der beschriebenen Weise durchgeführten und ausgewerteten Versuche zeigen, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen in den unterschiedlichen Testsystemen Plaquehemmzonen (also Zonen mit Hemmung der Phagenvermehrung) von beachtlicher Breite hervorruufen und somit erhebliche antiphagale Wirkungen entwickelt haben. In Beispielsreihe 1 sind einige diesbezügliche Ergebnisse zusammengefaßt.

Versuchsreihe B: Trübungstests

Zur Prüfung der Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen unter praxisnahen Bedingungen wurden Untersuchungen in Trübungstests vorgenommen. Flüssigkulturen eines Produktionsstammes von *B. subtilis* wurden etwa drei Stunden vor Erreichen der stationären Wachstumsphase mit dem Bakteriophagen PZ-A massiv infiziert

(Infektionsmultiplizität etwa 0,1). Zuvor waren die Testsubstanzen den Bakteriensuspensionen in Konzentrationen zwischen 10^{-5} und 10^{-3} g/ml in gelöster Form zugesetzt worden. Danach wurde im Verlauf von 4,5 bis 5,5 Stunden bei einer Bebrütungstemperatur von 37°C die Bakterienvermehrung ständig durch Trübungsmessungen verfolgt. Zur Kontrolle dienten Kulturen ohne Phagen- und Substanzzusatz, Kulturen ohne Phagen-, aber mit Substanzzusatz sowie Kulturen mit Phagen-, aber ohne Substanzzusatz. In letzteren beginnt nach 2,5 Stunden die phagenbedingte Lyse der Bakterien, das heißt, es kommt zu einem zunehmenden Absinken der Trübungswerte in den Kulturen. Das Ausmaß der Verhinderung dieser Lyse durch die erfindungsgemäßen Verbindungen entspricht mithin ihrer antiphagalen Wirkung. An den phagenfreien Kontrollkulturen wurden eventuelle bakterienhemmende Einflüsse der Verbindungen erfaßt.

Die in Trübungstests erzielten Ergebnisse zeigen, daß unter den dem Produktionsprozeß angenäherten Bedingungen die antiphagalen Wirkungen der erfindungsgemäßen Verbindungen sich in einem Ausmaß manifestiert, der z.T. vollen kurativen Wirkungen gleichkommt. Von außerordentlicher Bedeutung ist dabei die aus den in der stationären Wachstumsphase erreichten Zelldichten der Wirtsbakterien abzuleitende völlige Unschädlichkeit der Mittel, die darüber hinaus zum Teil sogar einen leichten stimulatorischen Einfluß auf die Bakterien ausüben. In Beispielsreihe 2 sind einige diesbezügliche Ergebnisse zusammengefaßt.

Wird der zeitliche Verlauf des Wachstums und der Lyse der Bakterien verfolgt (vgl. Beispielsreihe 3), so zeigt sich unter dem Einfluß der erfindungsgemäßen Verbindungen deutlich ihre lyseverhindernde Wirkung. Während unbehandelte Bakterienkulturen etwa 2,5 Stunden nach Phagenzugabe zu lysieren beginnen und nach 4 bis 4,5 Stunden fast klar sind, steigen demgegenüber die Trübungswerte von Bakterienkulturen mit Phagen und mit Substanzzusatz weiter an. Sie übersteigen oder erreichen die Werte phagenfreier Kontrollkulturen. Es ist deutlich erkennbar, daß eine gegebenenfalls auftretende Verzögerung des Bakterienwachstums unter Einfluß der Mittel vorübergehend ist, das heißt, auch in solchen Kulturen erfolgt ein kontinuierlicher Zuwachs, der meist schon nach 4 bis 5 Stunden mindestens wieder zur normalen Zelldichte führt.

Selbst solche unter den antiphagalen, erfindungsgemäßen Verbindungen, die in dem in Versuchsreihe B angewendeten Bakterien/Phagen-System und unter den angegebenen Bedingungen keinen vollen kurativen Effekt erzielen, rufen eine bemerkenswerte Verzögerung der Phagenwirkungen hervor (vgl. Beispielsreihe 4). Derartige Verbindungen können

- weniger massive Phageninfektionen abblocken
- die Anreicherung von Phagen bis zu einer kritischen, die gesamte Bakterienpopulation vernichtenden Phagenmenge verhindern
- kurzzeitige Fermentationsprozesse selbst vor massiven Phageninfektionen schützen.

Auch bezüglich dieser Mittel ist ihre völlige Unschädlichkeit für das Wirtsbakterium hervorzuheben,

Beispielreihe 1: Plaquehemmzonen in unterschiedlichen Phagen/Wirt-Kombinationen nach Applikation erfindungsgemäßer Verbindungen

Verbindung	Plaquehemmzone (mm)				
	LPP-1	ϕ 105	PZ-A	PZ-B	λ
2-Chlor-4,6-bis-dimethylamino-1,3,5-triazin	11,0 $\pm$ 0,6	0	4,3 $\pm$ 0,6	1,7 $\pm$ 1,7	3,8 $\pm$ 0,8
2-Chlor-4-dimethylamino-6-diäthylamino-1,3,5-triazin	4,0 $\pm$ 0,6	10 $\pm$ 0	3,3 $\pm$ 0,3	0	1,2 $\pm$ 0,4
2-Chlor-4-dimethylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	0 +)	7 $\pm$ 1	5,7 $\pm$ 0,3	3,3 $\pm$ 0,3	2,8 $\pm$ 0,4
2-Chlor-4-dimethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	17,3 $\pm$ 0,9	7 $\pm$ 1	4,7 $\pm$ 0,3	2,7 $\pm$ 1,7	3,7 $\pm$ 0,5
2-Chlor-4,6-bis-äthylamino-1,3,5-triazin	14,3 $\pm$ 2,0	0	4,7 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,3	2,3 $\pm$ 0,2
2-Chlor-4-diäthylamino-6-methoxyäthylamino-1,3,5-triazin	4,7 $\pm$ 1,7	7 $\pm$ 1	4,3 $\pm$ 0,3	0	0
2-Chlor-4,6-bis-isopropylamino-1,3,5-triazin	11,5 $\pm$ 0,9	0	5,3 $\pm$ 0,3	8,0 $\pm$ 1,2	3,0 $\pm$ 0,8
2-Mercapto-4-dimethylamino-6-methoxypropylamino-1,3,5-triazin	0	8 $\pm$ 1	3,7 $\pm$ 0,3	0	0
2-Methylmercapto-4-methylamino-6-dimethylamino-1,3,5-triazin	0	0	5,0 $\pm$ 0	5,0 $\pm$ 0	1,8 $\pm$ 0,4
2-Methylmercapto-4-dimethylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	0 +)	16 $\pm$ 2	4,0 $\pm$ 0	4,0 $\pm$ 0	1,8 $\pm$ 0,2
2-Methylmercapto-4-dimethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	9,7 $\pm$ 0,7	1 $\pm$ 0	4,7 $\pm$ 0,3	0	0
2-Methylmercapto-4-äthylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	27,7 $\pm$ 2,6	8 $\pm$ 1	0	8,7 $\pm$ 0,7	2,6 $\pm$ 0,7
2-Methylmercapto-4,6-bis-isopropylamino-1,3,5-triazin	17,4 $\pm$ 1,9	0	8,0 $\pm$ 0	7,7 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,6
2-Methylmercapto-4,6-bis-(N-methyl-N-cyanäthylamino)-1,3,5-triazin	7,3 $\pm$ 0,7 +)	0	3,7 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,3	2,0 $\pm$ 0,6
2-Methoxy-4-methylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	0 +)	9 $\pm$ 1	4,7 $\pm$ 0,3	0	1,2 $\pm$ 0,3
2-Methoxy-4-dimethylamino-6-methoxypropylamino-1,3,5-triazin	15,8 $\pm$ 2,0	0	3,0 $\pm$ 0,6	3,7 $\pm$ 0,3	0
2-Methoxy-4-diäthylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	4,7 $\pm$ 0,7	0	0	3,0 $\pm$ 0	1,4 $\pm$ 0,4
2-Methoxy-4-diäthylamino-6-methoxyäthylamino-1,3,5-triazin	19,3 $\pm$ 1,2	3 $\pm$ 1	0	4,3 $\pm$ 0,7	4,3 $\pm$ 0,2

+) Testkonzentration 0,05 %

Beispielsreihe 2: Nachweis der kurativen Wirkungen und der fehlenden oder positiven Bakterienbeeinflussung durch erfindungsgemäße Verbindungen in Flüssigkulturen durch Trübungsmessungen

Verbindung	kurative Wirkung (%) ¹⁾	Bakterienbeeinflussung (%) ²⁾
2-Chlor-4,6-bis-dimethylamino-1,3,5-triazin	103,6	+ 3,6
2-Chlor-4-dimethylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	99,0	+ 14,0
2-Chlor-4-dimethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	102,0	+ 6,0
2-Chlor-4-diäthylamino-6-methoxyäthylamino-1,3,5-triazin	98,0	+ 2,0
2-Mercapto-4-dimethylamino-6-methoxypropylamino-1,3,5-triazin	100,0	+ 2,0
2-Methylmercapto-4-dimethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	102,1	+ 9,3
2-Methylmercapto-4,6-bis-isopropylamino-1,3,5-triazin	99,0	+ 5,2
2-Methylmercapto-4,6-bis-(N-methyl-N-cyanäthylamino)-1,3,5-triazin	102,8	+ 5,6

1) Trübung phageninfizierter Kulturen mit Substanz in Prozent der Trübung einer unbehandelten Bakterienkultur ohne Phagen

2) Differenz der Trübung von Bakterienkulturen mit und ohne Substanz in Prozent der Trübung der Bakterienkultur ohne Substanz

Beispielsreihe. 4: Nachweis der Verzögerung der Phagenwirkung und der fehlenden oder positiven Bakterienbeeinflussung durch erfindungsgemäße Verbindungen in Flüssigkulturen durch Trübungsmessungen

Verbindung	Verzögerung der Phagenwirkung (min) ¹⁾	Bakterienbeeinflussung (%) ²⁾
2-Chlor-4-dimethylamino-6-diäthylamino-1,3,5-triazin	75	+ 5,9
2-Methylmercapto-4-methylamino-6-dimethylamino-1,3,5-triazin	60	+ 0,8
2-Methylmercapto-4-dimethylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	55	+ 5,9
2-Methoxy-4-methylamino-6-morpholino-1,3,5-triazin	130	0
2-Methoxy-4-dimethylamino-6-methoxypropylamino-1,3,5-triazin	150	0

1) Zeit zwischen Lysebeginn in einer phageninfizierten Bakterienkultur und dem Beginn von Lyseerscheinungen in einer phageninfizierten Bakterienkultur mit Substanzzusatz

2) wie in Beispielsreihe 2

Legende zu Beispielsreihe 3:

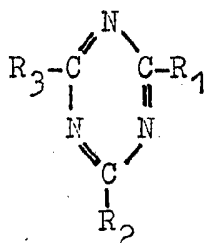
Nachweis der Verhinderung phagenbedingter Lyse und der Gewährleistung des Wachstums der Bakterien in Flüssigkulturen unter dem Einfluß erfindungsgemäßer Verbindungen. Dargestellt ist der in Trübungsmessungen festgestellte zeitliche Verlauf der Veränderungen der Zelldichte in Bakterienkulturen ohne Phagen (ausgezogene Linien), mit Phagen (unterbrochene Linien), ohne Substanzzusatz (punktförmige Meßwerte) und mit Substanzzusatz (kreuzförmige Meßwerte).

Angewendete Substanzen und Konzentrationen:

- 3.1. 2-Chlor-4,6-bis-dimethylamino-1,3,5-triazin
1 · 10⁻³ g/ml
- 3.2. 2-Chlor-4-dimethylamino-6-isopropylamino-1,3,5-triazin
8 · 10⁻⁴ g/ml
- 3.3. 2-Mercapto-4-dimethylamino-6-methoxypropylamino-1,3,5-triazin
5 · 10⁻⁴ g/ml
- 3.4. 2-Methylmercapto-4,6-bis-(N-methyl-N-cyanäthylamino)-1,3,5-triazin
1 · 10⁻³ g/ml

Erfindungsansprüche:

Mittel zur Stabilisierung phagengefährdeter mikrobiologisch-technischer Syntheseprozesse, gekennzeichnet dadurch, daß Wirkstoffe der allgemeinen Formel (I)



eingesetzt werden,
worin in beliebiger Variation

$\text{R}_1 = \text{Cl}, \text{CH}_3\text{S}$ oder CH_3O

R_2 und $\text{R}_3 = \text{Morpholino}$ und/oder $\text{N} \begin{array}{l} \text{R}_4 \\ \text{R}_5 \end{array}$

$\text{R}_4 = \text{H}$ oder Alkyl

$\text{R}_5 = \text{Alkyl}$ oder durch CH_3O oder CN substituiertes Alkyl

bedeuten und daß neben den erfindungsgemäßen Wirkstoffen Lösungsvermittler und/oder weitere Formulierungshilfsmittel enthalten sein können.

Hierzu 1 Seite Zeichnungen

100
- 10 -

Beispielsreihe 3 (Legende s. folgende Seite)

