

说明书

发明名称: 一种农药原药或母药及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明属于农业技术领域，具体涉及一种农药原药或母药及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺(其中n表示L-赖氨酰的个数，取值为0-4中的任意整数)具有优异的杀菌性能，能抗革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、分枝杆菌、酵母菌及丝状真菌，是一种具有良好应用前景的农用抗生素。

[0003] 1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺目前在我国登记的原药或母药产品仅有一个，其活性成分含量为12%，活性成分含量较低、产品质量较差。

[0004] CN113896753A公开了一种从发酵液中高效分离该农用抗生素的方法，通过结合陶瓷膜过滤和阳离子树脂交换吸附等方法，获得1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺含量为25-65%的原药，其色泽和纯度比市场的12-24%产品大幅提高。但是本申请人试验发现，CN113896753A得到的原药在储藏过程中有效成分降解较快、抑菌活性下降较为明显。为了更好地满足实际生产的需要，亟需开发一种有效成分含量和抑菌效果均较为稳定的1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺原药或母药。

[0005] 发明内容

[0006] 为了解决上述技术问题，根据本申请的一个方面，提供一种农药原药或母药，所述农药原药或母药中含有1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少2种；

- [0007] 以原药或母药总质量计，所述1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%以上；
- [0008] 其中n表示L-赖氨酰的个数，取值为0-4中的任意整数。
- [0009] 可选地，以原药或母药总质量计，所述1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%-94%。
- [0010] 可选地，以原药或母药总质量计，所述1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%-90%。
- [0011] 可选地，所述原药或母药中含有1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少3种。
- [0012] 可选地，所述原药或母药中含有1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少4种。
- [0013] 可选地，所述原药或母药中含有1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少5种。
- [0014] 根据本申请的另一个方面，提供一种制备上述的农药原药或母药的方法，包括以下步骤：发酵步骤和纯化步骤。
- [0015] 根据本申请的另一个方面，提供上述的农药原药或母药或根据上述的方法得到的农药原药或母药在制备杀菌剂中的应用。
- [0016] 本发明的积极进步效果在于：
- [0017] 本申请所提供的农药原药或母药，以原药或母药总质量计，将1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量控制在70%以上，其在有效成分含量和抑菌效果方面的稳定性比含量较低的原药或母药具有更好的效果，更有利于延长原药或母药的货架期。进一步地，将1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量控制在70%-94%范围内，可以更好地保证原药或母药吸湿性较弱，同时还可以大大降低其有效成分的降解率，并且能更好地保持其抑菌能力，在加工性能、储藏便利性及储藏稳定性等方面具有更佳的综合性能。

附图说明

- [0018] 图1为实施例2所制备的农药原药或母药的液相图谱，其中数据表中颜色加深的为1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，保留时间从小到大n分别取值为0、1、2、3、4；
- [0019] 图2为实施例3所制备的农药原药或母药的液相图谱，其中数据表中颜色加深的为1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，保留时间从小到大n分别取值为0、1、2、3、4；
- [0020] 图3为实施例5所制备的农药原药或母药的液相图谱，其中数据表中颜色加深的为1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，保留时间从小到大n分别取值为0、1、2、3、4；
- [0021] 图4为实施例6所制备的农药原药或母药的液相图谱，其中数据表中颜色加深的为1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，保留时间从小到大n分别取值为0、1、2、3、4；
- [0022] 图5为实施例2、实施例3、实施例5、实施例6样品的吸湿情况图；
- [0023] 图6为实施例2、实施例3、实施例5、实施例6样品的抑菌效果图，其中图6A为未经60°C/25% RH条件处理的样品的抑菌效果，图6B为经60°C/25% RH条件处理后的样品的抑菌效果。

具体实施方式

- [0024] 出于本发明的目的，除非另外说明，本申请所使用的术语具有以下含义：
- [0025] “有效成分”是指农药产品中对病、虫、草等有毒杀活性的成分，在本申请中特指“1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺”。
- [0026] “1-N- β -D-呋喃基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺”是指中生菌素的B-F组分，当n=0时，为中生菌素F组分，当n=1时，为中生菌素E组分，当n=2时，为中生菌素D组分，当n=3时，为中生菌素C组分，当n=4时，为中生菌素B组分。
- [0027] “原药”是指在生产过程中得到的由有效成分及有关杂质组成的产品，必要时可加入少量的添加剂。

- [0028] “母药”是指在生产过程中得到的由有效成分及有关杂质组成的产品，可能含有少量必需的添加剂和适当的稀释剂。
- [0029] 在本申请中，原药或母药中除了1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺以外，剩余的为不同于1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的其他物质，这些物质可以是发酵液中提取出的除1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺以外的其他物质(例如有关杂质)，也可以是额外添加的其他物质(例如添加剂或稀释剂)。
- [0030] 以原药或母药总质量计，所述1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量”中的“总含量”是指，原药或母药中含有至少2种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，其中n取值为0-4中的任意整数，所含有的所有1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总质量占原药或母药总质量的百分比。
- [0031] 例如，原药或母药中总共含有2种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1，原药或母药的总质量为100g，这2种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺总质量为70g，那么，以原药或母药总质量计，所述1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%。在含有2种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的原药或母药中，还包括但不限于以下情景：n分别取值为0、2；或n分别取值为0、3；或n分别取值为0、4；或n分别取值为1、2；或n分别取值为1、3；或n分别取值为2、3；或n分别取值为2、4；或n分别取值为3、4；或其他组合。
- [0032] 或者，例如，原药或母药中总共含有3种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2，原药或母药的总质量为100g，这3种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺总质量为80g，那么，以原药或母药总质量计，所述1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为80%。在含有3种1-N甬基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的原药或母药

中,还包括但不限于以下情景: n 分别取值为0、1、3;或 n 分别取值为0、1、4;或 n 分别取值为1、2、3;或 n 分别取值为1、3、4;或其他组合。

[0033] 或者,例如,原药或母药中总共含有4种1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺, n 分别取值为0、1、2、3,原药或母药的总质量为100g,这4种1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺总质量为90g,那么,以原药或母药总质量计,所述1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为90%。在含有3种1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的原药或母药中,还包括但不限于以下情景: n 分别取值为0、1、2、4;或 n 分别取值为0、2、3、4;或 n 分别取值为1、2、3、4;或其他组合。

[0034] 又或者,例如,原药或母药中总共含有5种1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺, n 分别取值为0、1、2、3、4,原药或母药的总质量为100g,这5种1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺总质量为90g,那么,以原药或母药总质量计,所述1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为90%。

[0035] 在一个具体实施方案中,本申请所提供的农药原药或母药,有效成分总含量为70%以上。相比于有效成分含量较低的农药原药或母药,例如有效成分总含量为60%的原药或母药,本申请提供的原药或母药在储藏过程中,有效成分降解更慢,抑菌活性也得到更好地保持。

[0036] 进一步地,本申请的发明人发现,1-N甙基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺是一种具有吸湿性的化合物,尤其是在高含量时,其吸湿性较强,例如在含量为96%以上时。因此,本申请优选地,提供一种有效成分总含量为70%-94%的原药或母药,该含量范围在保证原药或母药吸湿性较弱的同时,还可以有效降低其有效成分的降解率,并且能更好地保持其抑菌能力等。进一步优选地,原药或母药中有效成分的总含量为70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、88.5%、89%、89.5%、90%、90.5%、91%、91.5%、92%、93%、94%中任意两个数值组成的范围值。更进一步优选

地，原药或母药中有效成分总含量为70%–94%、70%–90%、70%–85%、70%–83%、70%–80%、70%–75%中的任一种。

- [0037] 在一个具体实施方案中，本申请所提供的农药原药或母药，其制备方法包括：发酵步骤和纯化步骤。
- [0038] 在一个具体实施方案中，对发酵所采用的菌株不限定，可产生有效成分1-N苴基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺即可。优选为淡紫灰链霉菌海南变种(*Streptomyces lavendulae* var. *hainanensis*)。
- [0039] 本申请对从发酵液中纯化农药原药或母药的方法不进行限定，只要得到的有效成分总含量在本申请的范围内即可。优选地，纯化步骤包括：发酵液菌体分离步骤；树脂吸附、解析步骤；和/或浓缩步骤。所述菌体分离，包括但不限于离心、过滤等。所述树脂优选离子交换树脂，例如724弱酸性阳离子交换树脂；解析液优选酸性解析液，例如盐酸溶液。所述浓缩，包括但不限于纳滤浓缩等。
- [0040] 具体实施例：
- [0041] 以下实施例中所使用的试剂和溶剂可通过商业途径购得，或者通过本领域技术人员已知的常规方法制备得到。所有的市售试剂和溶剂均未进行进一步纯化。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，按照常规方法和条件。
- [0042] 实施例中的样品检测按照以下方法进行。
- [0043] 1、农药原药或母药中有效成分含量的测定
- [0044] (1)试样溶液的配制：
- [0045] 称取待测样品0.025g，置于50mL容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，过滤。
- [0046] (2)测试条件：
- [0047] 色谱柱：250mm × 4.6mm(i.d.)不锈钢柱，内装C18、5 μm填充物。
- [0048] 流动相：梯度洗脱条件见表1。
- [0049] 流速：1.0mL/min。
- [0050] 柱温：室温(温度变化应不大于2℃)。
- [0051] 检测波长：200nm。
- [0052] 进样体积：10 μL。
- [0053] 表1梯度洗脱条件

时间/min	乙腈	混合盐溶液
0	85	15
2	85	15
10	78	22
20	78	22
22	85	15
30	85	15

[0054] 上述操作参数是典型的，可根据不同仪器特点对给定的操作参数作适当调整，以期获得最佳效果，有效成分的各组分的保留时间用相应组分的标准品确认。

[0055] (3)结果计算

[0056] 通过面积归一化法计算有效成分的含量。

[0057] 2、农药原药或母药中有效成分的降解率测定

[0058] (1)试样溶液的配制：

[0059] 同上述“农药原药或母药中有效成分含量的测定”。

[0060] (2)测试条件：

[0061] 同上述“农药原药或母药中有效成分含量的测定”。

[0062] (3)结果计算

[0063] 结果按照以下公式进行计算：

[0064] $M = (A1 - A2) / A1 \times 100\%$

[0065] 式中：

[0066] M—有效成分的降解率；

[0067] A1—未经60℃/25% RH条件处理样品的有效成分的总峰面积；

[0068] A2—60℃/25% RH条件处理后样品的有效成分的总峰面积。

[0069] 制备实施例

[0070] 实施例1农药原药或母药的制备

[0071] 1、发酵液的制备

[0072] 发酵液由淡紫灰链霉菌海南变种在含有葡萄糖、玉米淀粉、玉米粉、黄豆粉、无机盐等组分的培养基中发酵得到。该发酵工艺由CN113896753A的申请人陕西

麦可罗生物科技有限公司(该公司为本申请的申请人远大产业控股股份有限公司的子公司)提供。

[0073] 2、纯化

[0074] 按照CN113896753A实施例3的步骤1)-4)，发酵液经过陶瓷膜过滤，分别收集高单位清液罐和低单位清液罐物料，低单位罐物料经过LX-731-X1改性树脂吸附、解析，高单位罐物料和洗脱液混合、浓缩、干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N貳基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2、3、4，以原药或母药总质量计，各组分总含量为48.8%。

[0075] 实施例2农药原药或母药的制备

[0076] 1、发酵液的制备

[0077] 同实施例1。

[0078] 2、纯化

[0079] 按照CN113896753A实施例1的步骤1)-4)，发酵液经过陶瓷膜过滤，分别收集高单位清液罐和低单位清液罐物料，低单位罐物料经过LX-731-X1改性树脂吸附、解析，解析液浓缩、干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N貳基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2、3、4，以原药或母药总质量计，各组分总含量为60.0%，液相色谱图如图1所示。

[0080] 实施例3农药原药或母药的制备

[0081] 1、发酵液的制备

[0082] 同实施例1。

[0083] 2、纯化

[0084] (1)发酵液酸化处理：将其酸化pH至3.5；

[0085] (2)菌体分离：酸化后的物料离心，所得清液经过2次超滤膜过滤；

[0086] (3)树脂吸附、解析：使用724弱酸性阳离子交换树脂吸附滤液，水冲洗至流出液无色，5%盐酸进行解析，解析液第0.5BV流出液舍弃后开始收样至第5BV后停止收样；

- [0087] (4)纳滤浓缩：解析液经过纳滤浓缩；
- [0088] (5)干燥：浓缩液喷雾干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N苄基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，以原药或母药总质量计，n分别取值为0、1、2、3、4，各组分总含量为72.9%，液相色谱图如图2所示。
- [0089] 实施例4农药原药或母药的制备
- [0090] 1、发酵液的制备
- [0091] 同实施例1。
- [0092] 2、纯化
- [0093] (1)发酵液酸化处理：将其酸化pH至3.5；
- [0094] (2)菌体分离：酸化后的物料离心，所得清液经过2次超滤膜过滤；
- [0095] (3)树脂吸附、解析：使用724弱酸性阳离子交换树脂吸附滤液，水冲洗至流出液无色，5%盐酸进行解析，解析液第0.5BV流出液舍弃后开始收样至第5BV后停止收样；收集得到的解析液再重复1次上述树脂吸附过程；
- [0096] (4)纳滤浓缩：解析液经纳滤浓缩；
- [0097] (5)干燥：浓缩液喷雾干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N苄基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2、3、4，以原药或母药总质量计，各组分总含量为82.3%。
- [0098] 实施例5农药原药或母药的制备
- [0099] 1、发酵液的制备
- [0100] 同实施例1。
- [0101] 2、纯化
- [0102] (1)发酵液酸化处理：将其酸化pH至3.5；
- [0103] (2)菌体分离：酸化后的物料离心，所得清液经过3次超滤膜过滤；
- [0104] (3)树脂吸附、解析：使用724弱酸性阳离子交换树脂吸附滤液，水冲洗至流出液无色，5%盐酸进行解析，解析液第1BV流出液舍弃后开始收样至第4BV后停止收样；收集得到的解析液再重复1次上述树脂吸附过程；

- [0105] (4)纳滤浓缩：解析液经纳滤浓缩；
- [0106] (5)干燥：浓缩液喷雾干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N𠙻基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2、3、4，以原药或母药总质量计，各组分总含量为89.2%，液相色谱图如图3所示。
- [0107] 实施例6农药原药或母药的制备
- [0108] 1、发酵液的制备
- [0109] 同实施例1。
- [0110] 2、纯化
- [0111] (1)发酵液酸化处理：将其酸化pH至3.5；
- [0112] (2)菌体分离：酸化后的物料离心，所得清液经过3次超滤膜过滤；
- [0113] (3)树脂吸附、解析：使用724弱酸性阳离子交换树脂吸附滤液，水冲洗至流出液无色，5%盐酸进行解析，解析液第1BV流出液舍弃后开始收样至第4BV后停止收样；收集得到的解析液再重复2次上述树脂吸附过程；
- [0114] (4)纳滤浓缩：解析液经纳滤浓缩；
- [0115] (5)干燥：将浓缩液喷雾干燥，得到农药原药或母药，经测定，所得农药原药或母药中含有1-N𠙻基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺，n分别取值为0、1、2、3、4，以原药或母药总质量计，各组分总含量为96.2%，液相色谱图如图4所示。
- [0116] 效果实施例：
- [0117] 将实施例2(有效成分含量60.0%)、实施例3(有效成分含量72.9%)、实施例5(有效成分含量89.2%)、实施例6(有效成分含量96.2%)的母药或原药于60℃/25%RH条件下放置30天，观察其吸湿情况，并检测其有效成分的降解率及其抑菌效果变化情况。
- [0118] 1、吸湿情况
- [0119] 经60℃/25%RH条件下放置30天后，实施例2、实施例3、实施例5、实施例6的吸湿情况如图5所示。由图中可知，实施例2、实施例3、实施例5的样品吸湿性较弱，实施例2、实施例3仅在样品堆外面一圈有非常少量样品略微湿润，实施例5

在样品堆外面一圈及表层有少量样品湿润，但这3个实施例的样品绝大部分仍为粉末状态，用玻璃棒将湿润部分除去，剩余的粉末状的样品仍然具有非常好的蓬松性，可以正常用于后续的制剂加工。而实施例6的样品大部分已变为糊状，非常容易粘在玻璃棒上。这种吸湿性较强的原药或母药在制剂加工过程中非常容易粘连在机器或传送装置上，操作不便，造成加工困难，而且对储藏的条件也提出巨大挑战。可见，实施例6的样品由于有效成分含量过高，吸湿性显著增强，加工性能差，储藏条件要求也更苛刻。1-N 𬝰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺具有吸湿性可能是由于其分子结构上具有较多的羟基导致的。

- [0120] 2、有效成分的降解率
- [0121] 待测样品：
- [0122] 未经60℃/25 % RH条件处理的实施例2、实施例3、实施例5和实施例6样品；
- [0123] 经60℃/25 % RH条件下放置30天的实施例2、实施例3、实施例5和实施例6样品(经干燥)。
- [0124] 各样品有效成分的降解率测定结果如表2所示。
- [0125] 表2各样品降解率

原药/母药样品	降解率%
实施例 2	7.69%
实施例 3	4.03%
实施例 5	3.27%
实施例 6	6.88%

- [0126] 由上述结果可以看出来，实施例2和实施例6的样品经60℃/25 % RH条件下放置30天后，有效成分降解率均在5%以上，较难满足生产的需求，其中，实施例2的样品降解率最大，可能是由于其有效成分含量较低，含有较多的其他杂质，影响有效成分的稳定性；其次是实施例6的样品，由上述吸湿性结果可以看出，实施例6有效成分含量过高，吸湿性较强，经60℃/25 % RH条件下放置30天，该样品大部分已变为糊状，高含水量的环境可能是导致其有效成分降解的重要

原因。而实施例3、实施例5有效成分降解率较小，在5%以下，其有效成分较稳定，更符合实际生产的需要。

[0127] 3、抑菌效果的测定

[0128] (1)待测样品

[0129] 将未经60℃/25% RH条件处理的实施例2、实施例3、实施例5和实施例6样品配制成如下溶液待用：

[0130] 取实施例2的样品0.1g，溶解于1.2L无菌水中，得到有效成分浓度为50 μg/mL的溶液，命名为溶液1(前)；

[0131] 取实施例3的样品0.1g，溶解于1.458L无菌水中，得到有效成分浓度为50 μg/mL的溶液，命名为溶液2(前)；

[0132] 取实施例5的样品0.1g，溶解于1.784L无菌水中，得到有效成分浓度为50 μg/mL的溶液，命名为溶液3(前)；

[0133] 取实施例6的样品0.1g，溶解于1.924L无菌水中，得到有效成分浓度为50 μg/mL的溶液，命名为溶液4(前)。

[0134] 将经60℃/25% RH条件下放置30天的实施例2、实施例3、实施例5和实施例6样品(经干燥)分别与未经60℃/25% RH条件处理的对应样品稀释相同倍数，配制成如下溶液待用：

[0135] 取实施例2的样品0.1g，溶解于1.2L无菌水中，得到的溶液命名为溶液1(后)；

[0136] 取实施例3的样品0.1g，溶解于1.458L无菌水中，得到的溶液命名为溶液2(后)；

[0137] 取实施例5的样品0.1g，溶解于1.784L无菌水中，得到的溶液命名为溶液3(后)。

[0138] 取实施例6的样品0.1g，溶解于1.924L无菌水中，得到的溶液命名为溶液4(后)。

[0139] (2)菌层的制备

[0140] 取200mL融化并降温至48℃~50℃后的培养基，加入1mL 1×10^{-8} CFU/mL的柑橘溃疡病菌悬液，摇匀，倒入培养皿中，静置凝固，得到菌层。

[0141] (3)药剂的滴加

[0142] 取一含有菌层的培养皿，加入4片无菌滤纸片，滤纸片上分别滴加10 μL的溶液1(前)、溶液2(前)、溶液3(前)、溶液4(前)。重复3次。

- [0143] 取另一含有菌层的培养皿，加入4片无菌滤纸片，滤纸片上分别滴加10 μ L的溶液1(后)、溶液2(后)、溶液3(后)、溶液4(后)。重复3次。
- [0144] 上述培养皿，在28℃培养箱中培养48h。
- [0145] (4)抑菌效果调查
- [0146] 培养结束后，用十字交叉法测量抑菌圈直径，计算平均值。结果如表3和图6所示，其中图6A为未经60℃/25 % RH条件处理的样品的抑菌圈图片，图6B为经60℃/25 % RH条件下放置30天后的样品的抑菌圈图片。
- [0147] 表3各样品抑菌效果

样品	抑菌圈平均直径 (mm)	样品	抑菌圈平均直径 (mm)
溶液 1（前）	27.3	溶液 1（后）	21.2
溶液 2（前）	27.9	溶液 2（后）	24.1
溶液 3（前）	28.2	溶液 3（后）	24.8
溶液 4（前）	28.7	溶液 4（后）	23.3

- [0148] 由上述结果可以看出，实施例2、实施例3、实施例5和实施例6样品在未经60℃/25 % RH条件处理时，其抑菌能力相差无几，经过60℃/25 % RH条件处理后，实施例2和实施例6的样品抑菌圈平均直径降低均在5mm以上，抑菌能力稳定性较差。其中实施例2的抑菌能力下降最明显，抑菌圈平均直径由27.3mm降至21.2 mm，降低了6.1mm；其次是实施例6的样品，抑菌圈平均直径由28.7mm降至23.3mm，降低了5.4mm。而实施例3、实施例5的样品的抑菌能力得到较好的保持，抑菌圈平均直径分别由27.9mm降低至24.1mm，仅降低了3.8mm，以及由28.2mm降至24.8mm，仅降低了3.4mm。
- [0149] 综合上述实验结果，实施例2的原药或母药(有效成分含量为60.0%)吸湿性较弱，方便后续的加工及储藏，但是其在有效成分的保持、抑菌效果的维持方面却表现最差，可能是由于其有效成分1-N甾基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的含量过低，其他杂质含量较高，有效成分的稳定性受到其他杂质影响大，容易降解。因此，只有将1-N甾基链里定基-2-氨基-

(L-赖氨酰)n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的含量提高至70%以上，才可以更好地保持有效成分及抑菌能力的稳定，满足实际生产的需要。

[0150] 进一步地，实施例6的原药或母药(有效成分含量高达96.2%)虽然受其他杂质影响小，但是由于其含量较高，吸湿性强，不但影响后面的制剂加工工艺、造成储藏困难，而且还会导致有效成分容易降解，因此，其在有效成分的保持和抑菌效果维持方面也表现较差。可见，将1-N苄基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酰)n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的含量控制在70%-94%范围内，不但可以保证其具备较低的吸湿性，还可以大大降低其有效成分的降解率并保持其抑菌能力，从而进一步提高原药或母药的综合性能。

[0151] 上述实施例为本发明较佳的实施方式，但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制，其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化，均应为等效的置换方式，都包含在本发明的保护范围之内。

权利要求书

- [权利要求 1] 一种农药原药或母药，其特征在于，所述农药原药或母药中含有1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少2种；
以原药或母药总质量计，所述1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%以上；
其中n表示L-赖氨酸的个数，取值为0-4中的任意整数。
- [权利要求 2] 根据权利要求1所述的农药原药或母药，其特征在于，以原药或母药总质量计，所述1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%-94%。
- [权利要求 3] 根据权利要求1所述的农药原药或母药，其特征在于，以原药或母药总质量计，所述1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺的总含量为70%-90%。
- [权利要求 4] 根据权利要求1-3任一项所述的农药原药或母药，其特征在于，所述原药或母药中含有1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少3种。
- [权利要求 5] 根据权利要求1-3任一项所述的农药原药或母药，其特征在于，所述原药或母药中含有1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少4种。
- [权利要求 6] 根据权利要求1-3任一项所述的农药原药或母药，其特征在于，所述原药或母药中含有1-N-酰基链里定基-2-氨基-(L-赖氨酸)_n-L-赖氨酸-2-脱氧古罗糖胺中的至少5种。
- [权利要求 7] 一种制备权利要求1-6任一项所述的农药原药或母药的方法，其特征在于，包括以下步骤：发酵步骤和纯化步骤。
- [权利要求 8] 权利要求1-6任一项所述的农药原药或母药或根据权利要求7所述的方法得到的农药原药或母药在制备杀菌剂中的应用。