农药学学报 2018, 20(3): 259-269
Chinese Journal of Pesticide Science http://nyxxb.alljournal.cn

·专论与综述· **DOI**: 10.16801/j.issn.1008-7303.2018.0035

香根草挥发性成分提取分离及其农用生物活性研究进展

李中珊, 程敬丽, 李安邦, 赵金浩*, 杜永均, 朱国念

(浙江大学 农业部作物病虫分子生物学重点实验室/农药与环境毒理研究所，杭州 310029)

摘 要: 随着植物源农药的发展，具有优良农用活性的禾本科植物香根草 *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash 越来越受到重视。文章首先介绍了香根草中挥发性成分的提取分离方法及结构鉴定，列举了其主要挥发物的结构；进而综述了其对二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 等螟蛾科害虫的引诱作用、家白蚁 *Coptotermes formosanus* Shiraki 等白蚁的驱避及拒食作用、对蜈木曲脉木虱 *Macrotermes barneyi* Light 等的毒杀作用，对水稻纹枯病菌 *Rhizoctorzia solani*、香蕉炭疽病菌 *Calletotrichum musae* 等多种真菌和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* Rosenbach 等多种细菌的抑菌活性，以及对藜 *Chenopodium album* L.、豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L.等常见杂草的除草活性等；最后总结了香根草中活性化合物诺卡酮的化学及生物合成方法。可为进一步将香根草应用于植物源农药研究和开发利用提供参考。

关键词: 植物源农药；香根草；活性成分；提取分离；农用生物活性；诺卡酮；研究进展

中图分类号：TQ458.2 **文献标志码**：A **文章编号**：1008-7303(2018)03-0259-11

Research progress on extraction, separation and agro-bioactivities of volatile substances in *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash

LI Zhongshan, CHENG Jingli, LI Anbang, ZHAO Jinhao*, DU Yongjun, ZHU Guonian

(*Ministry of Agriculture Key Lab of Molecular Biology of Crop Pathogens and Insects*, *Institute of Pesticide and Environmental Toxicology*, *Zhejiang University*, *Hangzhou* 310029, *China*)

Abstract: With the recent advances in the field of botanical pesticides, more effort has been devoted to the study of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash which exhibited excellent agricultural activity. The extraction and separation methods and the structures of odor substances in *V. zizanioides* have been reviewed. Then, it summarized the trapping effect of the volatile compounds against pyralidae, such as *Chilo suppressalis*(Walker), the avoidant and antifeedant effect against termite, such as *Coptotermes formosanus* Shiraki, and the toxic effect against ticks, such as *Macrotermes barneyi* Light; the rebacteriostatic activity against various bacteria, such as *Rhizoctorzia solani*, *Calletotrichum musae* and *Staphylococcus aureus* Rosenbach and the herbicidal activity against common weeds, such as *Chenopodium album* L. and *Ambrosia artemisiifolia* L.. The chemical and biological synthesis routes of

收稿日期：2017-10-18；**录用日期**：2018-03-14.

基金项目：国家重点研发计划项目 (2017YFD0201805；SQ2017ZY060059)；浙江省重点研发计划项目 (2017C02G2010922).

作者简介：李中珊，女，在读硕士研究生，**E-mail**：21616178@zju.edu.cn；*赵金浩，通信作者 (Author for correspondence)，男，博士，副教授，主要研究方向为农药化学生物学和农药应用化学，**E-mail**：jinhaozhao@zju.edu.cn

nootkatone, the active ingredient of *V. zizanioides*, have also been reviewed. This review will contribute to the further application of *V. zizanioides* in the field of botanical pesticide development.

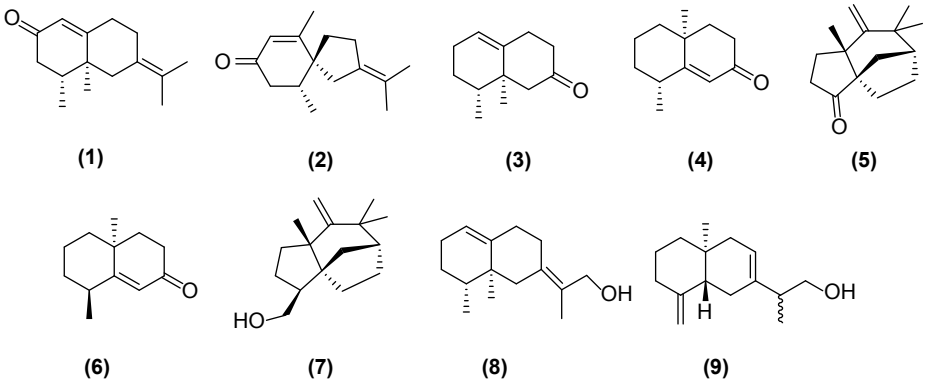
Keywords: botanical pesticides; *Vetiveria zizanioides*; active ingredient; extraction and separation; agro-bioactivity; nootkatone; research progress

随着植物源农药的发展及绿色防控的需求，具有农用生物活性的植物越来越受到重视。香根草 *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash，又名岩兰草，禾本目 (Poales)、禾本科 (Gramineae)、黍亚科 (Subfam)、香根草属 (*Vetiveria Bory*) 多年生植物。最初在印度、巴西等热带、亚热带国家种植，用于治理酸性硫酸盐土壤及吸附土壤中各种污染物[1]。因其具有特殊香味，中国于 20 世纪 50 年代开始从印尼、印度等国引种栽培以提炼精油，现已在中国南方广泛种植[2]。香根草具有生态适应性强、生长速度快、繁殖力强及抗逆性强等特点，具备防风固沙、吸附重金属污染物、防治病虫草害和增强土壤肥力等作用，被誉为“21 世纪最有价值的生态工程技术”之一[3]。本文拟主要综述香根草中挥发性成分的提取分离方法及其在杀虫、抑菌和除草等农业生物活性方面应用的研究进展，同时对其中重要活性物质——诺卡酮的人工合成方法进行综述，以期为香根草在植物源农药研究和开发的充分利用提供参考。

1 香根草中挥发性物质的探究

1939 年，Pfau 等[4]从香根草油中提取分离得到结晶的缩氨基脲衍生物 *α*-岩兰酮 (*α*-vetivone, **1**) 和 *β*-岩兰酮 (*β*-vetivone, **2**)，这也是最早从香根草中得到的化合物。1967 年 Marshall 等[5]确定了其构型及气味，除化合物 **1** 和 **2** 外，Maurer 等[6]还证明 (8*R*, 8a*S*)-8,8a 二甲基 3,4,6,7,8,8a-六氢-2(1*H*)-酮 ((8*R*, 8a*S*)-8,8a-dimethyl-3,4,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-2(1*H*)-one，**3**)、(4a*S*, 8R)-4a,8-二甲基甲基-4,4a,5,6,7,8-六氢-2(3*H*)-酮 ((4a*S*, 8*R*)-4a,8-dimethyl-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphthalen-2(3*H*)-one, **4**)、客烯酮 (khusimone, **5**) 和 (4a*S*, 8*S*)-4a,8-二甲基甲基-4,4a,5,6,7,8-六氢-2(3*H*)-酮 ((4a*S*, 8*S*)-4a,8-dimethyl-4,4a,5,6,7,8-hexahydronaphthalen-2(3*H*)-one, **6**) 等也具有特殊的气味。Weyerstahl 等[7]鉴定出了香根草中的 155 种化学成分，发现除上述酮类物质外，客烯醇 (khusimol, **7**)、(*E*)-异戊烯醇 (isovalencenol, **8**) 和 2-((4a*S*，8a*R*)-4a-甲基-8-亚甲基-1,4,4a,5,6,7,8,8a-八氢化萘-2-基) 丙-1-醇 (vetiselinenol, **9**) 等醇类物质也是产生气味的重要组成部分。香根草中主要产生气味物质的结构见图式 1。

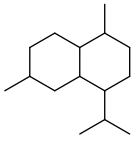
对于香根草中化合物组分的探究一直是研究的重点，尤其是对于有香味的挥发性成分的研究。自 1939 年 Pfau 等从香根草中提取分离得到化合物 **1** 和 **2** 开始，科学家不断改良其分离及鉴定方法，目前已从香根草中分离得到 300 多种化合物，大多数为萜类物质，其中超过 150 种为倍半烯萜类化合物。1997 年，龚德慎等[8]对贵州省所产香根油的化学成分做了初步分析，鉴定出 26 种化学成分，几乎全部为倍半萜及其氧化物，其中含量最高的为化合物 **7**，占总含量的 19.03%。



图式 1 香根草中主要的产生气味的物质

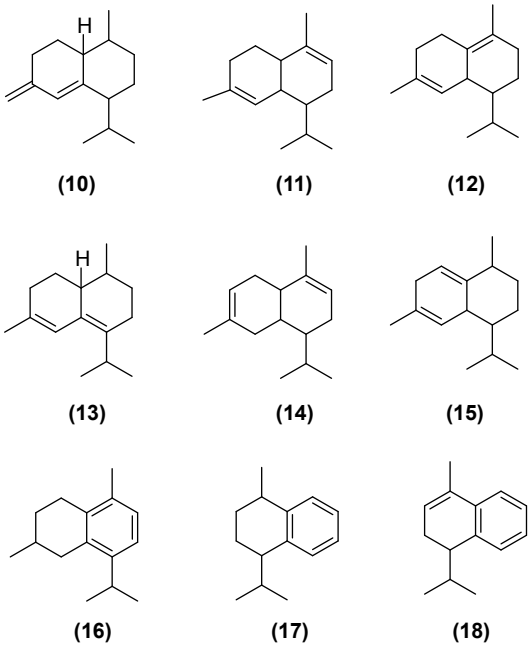
Scheme 1 The main odor substances in *V. zizanioides*

黄京华等[9]采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分别对香根草茎、叶和根中的化学成分进行了分析。从茎、叶中鉴定出 19 种化合物，包括醛类、醇类、酸类、酯类和烷类，其中主要成分是 9-十八烯酰胺，质量分数达 33%，其次是 2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四烯和 1,2-二羧酸苯二异辛酯；从根部挥发物中鉴定出 30 种化合物，主要是萜烯、酮类和醇类，其中缬草烯含量最高，为 30.36%。2009 年，王飞生等[10]通过水蒸气蒸馏法、微波辅助乙醇法及微波辅助乙醚法等提取方法，结合 GC-MS 分析方法，比较分析了香根油中主要成分杜松烷 (cadinane) 型倍半萜类的含量及组成 (结构式见图式 2 和图式 3)，共鉴定出 5a-杜松烯 (5a-cadinane, **10**)、1,6-杜松二烯 (1,6-diene juniper, **11**)、1a,5-杜松二烯 (1a,5-diene juniper, **12**)、4,5-杜松二烯 (4,5-diene juniper, **13**)、1,6-杜松二烯 (1,6-diene juniper, **14**)、5,8-杜松二烯 (5,8-diene juniper, **15**)、1a,2,4-杜松二烯 (1a,2,4-



图式 2　杜松烷型倍半萜基本骨架

Scheme 2　Core skeleton of cadinane sesquiterpenoidnene



图式 3　香根草中主要杜松烷倍半萜成分的化学结构式

Scheme 3　Chemical structural formula of the main cadinane sesquiterpenoidnene composition in *V. zizanioides*

1a,2,4, **16**)、5,7,9-杜松三烯 (5,7,9-three alkene juniper，**17**) 和 1,5,7,9-杜松四烯 (1,5,7,9-four alkene juniper, **18**) 9 种杜松烷型萜类化合物。

香根草中化合物种类繁多，包括烃类、酮醛类、醚类、醇类、酸类和酯类等，不同种植地区以及采用不同的提取方法所得化合物差别显著。

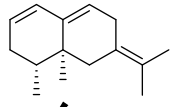
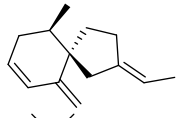
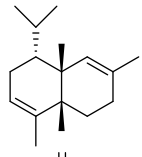
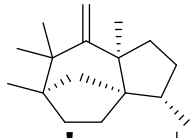
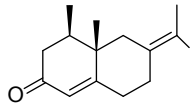
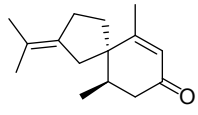
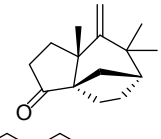
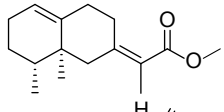
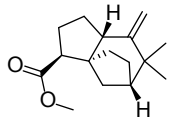
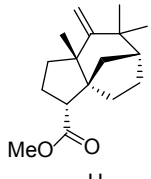
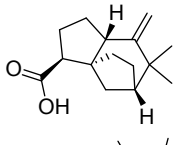
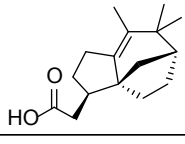
醇类是香根草精油中的主要成分，约占精油含量的 18%~49%，平均含量为 41.2%。其中含量最高的成分为客烯醇 (**7**) 和 2-((4a*S*, 8a*R*)-4a-甲基-8-亚甲基-1,4,4a,5,6,7,8,8a-八氢化萘-2-基) 丙-1-醇 (**9**)，分别占香根草精油总含量的 9.0% 和 4.9%[11]。烃类化合物的含量仅次于醇类，占总量的 17%~28%[12]，其中最主要的成分为 (8*R*, 8a*S*)-8,8a 二甲基-2-(丙-2-亚基)-1,2,3,7,8,8a-六氢萘 (*α*-vetivenene, **19**)，其在不同产地香根草精油中的平均含量为 3.1%，(5*R*, 10*R*, *E*)-2-亚乙基-10-甲基-6-甲基烯并[4.5]癸-7-烯 (*β*-vetispirene, **20**) 的平均含量为 2.6%，α-紫穗槐烯 (*α*-amorphene, **21**) 的平均含量为 2.4%。酮类化合物在香根草精油中所占比例为 9%~14%，虽然占比不高，但其对香根草挥发油的气味具有重要贡献。酮类中含量最高的组分化合物 **1** 占 4.1%，化合物 **2** 和 **5** 的平均含量为 3.2% 和 0.8%[13]。酯类在不同地区香根草精油中的含量不同，多数情况下，它是由其他物质降解而得[14]。

香根草精油酸值的变化与其产地有极大关系，不同地区所产香根草中酸类物质含量不同，但在各地所产的香根草中，(3*S*, 3a*R*, 6*S*, 8a*S*)-八氢-7,7-二甲基-8-亚甲基-1*H*-3a,6-甲酸亚甲基-3-甲酸 (zizanoic acid, **26**) 和 2-((3*R*, 3a*S*, 6*R*)-7,7,8-三甲基-2,3,4,5,6,7-六氢-1*H*-3a，6-甲亚唑-3-基) 乙酸 (isohusenic acid, **27**) 都是其中的主要成分[15]。香根草中各类主要化合物含量及结构见表 1。

2000 年，Miyazawa 等[16]发现益智 *Alpinia oxyphylla* miq. 对黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 成虫和幼虫均具有诱杀作用，对益智中的活性物质进行提取分离，并经 GC、GC-MS、^{1}H NMR 和^{13}C NMR 等分析方法，鉴定出其具有杀虫作用的物质为诺卡酮[16]。诺卡酮 (nootkatone, **28**)(图式 4)，化学名称为 5,6-二甲基-8-异丙烯基双环[4.4.0]癸-1-烯-3-酮，是香根草精油中的重要组分，不仅对黑腹果蝇具有诱杀作用，对白蚁、蟑螂和蜱虫均有良好的毒杀作用，是一种有效的驱避剂和诱杀剂[17]。

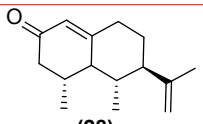
表 1 香根草中各类主要化合物含量及结构式

Table 1 The content and chemical structural formula of main compounds in *V. zizanioides*

化合物分类 Compound classification	含量 (质量分数) Content/%	名称及编号 Name and number	结构式 Structural formula	参考文献 Literature cited
烃类化合物 Hydrocarbon compounds	17~28	*α*-vetivenene (**19**)		[13]
		β-vetispirene (**20**)		[13]
		α-amorphene (**21**)		[13]
		khusimene (**22**)		[13]
酮类化合物 Ketone compounds	9~14	*α*-vetivone (**1**)		[7, 14]
		β-vetivone (**2**)		[7, 14]
		khusimone (**3**)		[8, 14]
酯类化合物 Ester compounds	不确定 Indeter-minacy	(*E*)-methyl isovalencenate (**23**)		[15]
		methyl khusenate (**24**)		[15]
		methyl 2-epi-ziza- 6(13)-en-12-oate (**25**)		[15]
酸类化合物 Acid compounds	不确定 Indeter-minacy	zizanoic acid (**26**)		[16]
		isohusenic acid (**27**)		[16]

2 香根草中挥发性成分的杀虫作用

萜类化合物是挥发油的主要成分，是从植物的花、果、叶、茎和根中得到的有挥发性和香味的油状物，具有一定的生理活性，如祛痰、止咳、驱风、发汗、驱虫及镇痛作用等。许多研究表明，香根草内的萜类提取物对多种害虫具有引诱、毒杀作用 (图 1)。



(28)

图式 4　诺卡酮的结构式

Scheme 4　The structural formula of nootkatone

2.1　对螟蛾的诱杀作用

螟蛾总科 (Pyraloidea) 昆虫是比较常见的中、小型蛾类，已定名的大约 16 000 种[18]，分为螟蛾科 (Pyralidae) 和草螟科 (Crambidae)，是鳞翅目中较大的一个类群，包括二化螟 *Chilo suppressalis* Walker、亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*、欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* Hubner、稻纵卷叶野螟 *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee, 1854) 和印度谷螟 *Plodia interpunctella* (Hübener) 等常见的农、林业和仓储害虫。螟蛾类害虫种类多且为害方式各异，化学防治困难，因而绿色高效的生物农药在其防治中受到重视。

郑许松等[19]在室内测试了香根草对二化螟产卵时在香根草和水稻间的选择性及幼虫存活的影响，并在田间进行了香根草对害虫防治效果的初步试验。结果发现，在香根草和水稻之间，二化螟将 82.03% 的卵产在了香根草上，表明香根草对二化螟雌蛾有强烈的产卵吸引力。采用单管饲养的方法测定二化螟幼虫在香根草上的存活率。结果显示：4 龄时幼虫存活率为 0，而在水稻上有 31.14% 的幼虫能正常化蛹，可见香根草对螟虫幼虫具有毒杀作用，使其不能完成生活史。在田间试验中，分别设置在水稻四周种植香根草的试验小区和仅种水稻的对照小区，发现试验小区的水稻枯心率显著低于对照小区。陈先茂等[20]在盆栽试验中发现，水稻螟虫在香根草上的卵块数及着卵密度是水稻上的 4.7 倍；在随后的大田试验中，也发现香根草上的着卵密度远大于水稻上的着卵密度。Berg 等[21]发现，在玉米与香根草共同种植的区域也有类似现象发生。

为了探究具有诱杀活性的化合物，高广春等[22]将香根草地上部分用不同极性溶剂 (石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水) 萃取，再将不同极性段的提取物加入到人工饲料中饲喂二化螟幼虫，以探究提取物对二化螟初孵幼虫的毒杀作用，以及对 3 龄幼虫生长发育的抑制作用。结果表明，香根草石油醚提取物和乙酸乙酯提取物对初孵幼虫的毒杀作用较强，7 d 后试虫存活率为 0。同时，其对 3 龄幼虫生长发育的抑制作用也很明显。继续对二化螟体内保护酶[超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD)]进行测定分析，结果显示，不同极性溶剂 (石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水) 提取物对二化螟体内的 3 种保护酶均有不同程度的影响，其中石油醚提取物的影响最大，可使 3 种酶的含量显著升高或降低，影响二化螟体内自由基的清除，从而影响二化螟的生长发育甚至导致其死亡。

香根草作为二化螟的致死型诱集植物，对二化螟幼虫的致死作用主要表现在两方面：一是香

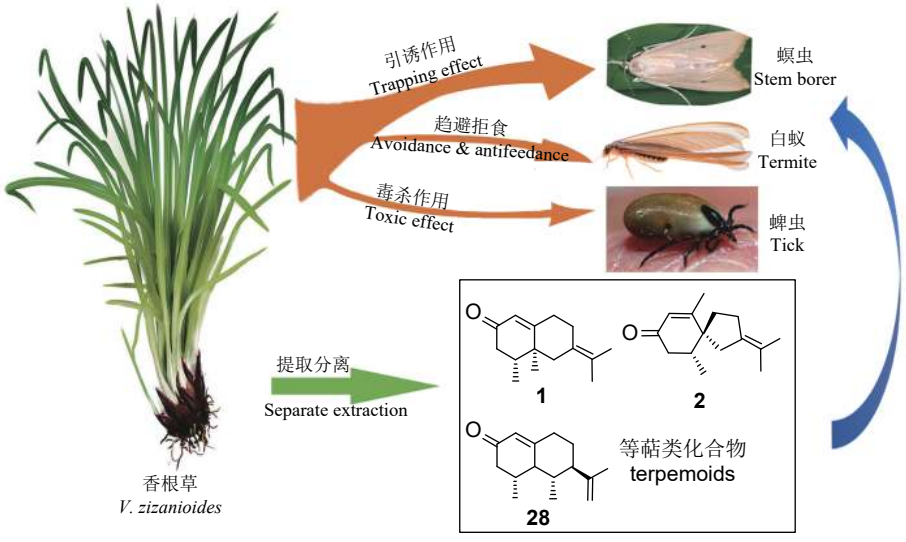


图 1　香根草的杀虫作用

Fig. 1　The insecticidal effect in *V. zizanioides*

根草中含有对二化螟幼虫具有致死作用的活性物质，这些物质通过抑制幼虫体内解毒酶 CarE 和 P450 酶的活性，使幼虫逐渐丧失解毒代谢能力，最终死亡；二是香根草相对于水稻而言营养物质匮乏，二化螟幼虫取食香根草后营养不均衡，从而影响体内消化酶活性，造成消化功能紊乱，影响其正常生理活动，最终死亡[23]。进一步的作用机理研究表明：香根草精油主要作用于螟虫的章鱼胺，章鱼胺在螟虫神经组织中可作为神经递质、神经激素或神经传递因子，对螟虫的取食、迁飞和繁殖等生理过程起调节作用。由于香根草破坏了章鱼胺系统，使得螟虫神经传递紊乱，最终导致其死亡。而由于脊椎动物没有章鱼胺受体，因而香根草精油对脊椎动物尤其是哺乳动物毒性低[24]。

2.2 对白蚁的驱避和拒食作用

白蚁为害十分广泛，如房屋建筑、园林绿化苗木、铁道枕木、船舶桥梁、江河堤围、水库土坝、地下电缆、经济林木、名胜古迹、仓库物资、文物档案、家具衣服和室内装饰物等，不仅如此，白蚁对非纤维素物质如塑料、橡胶、沥青和金属等也常常进行蛀蚀为害[25]。香根草精油具有挥发性，对许多昆虫具有驱避和熏蒸活性[26]，因此可以尝试用其防治白蚁。

Maistrello 等[27]研究发现，沙子中混入香根草精油，可以明显减少白蚁在其中的爬行距离，驱避作用可长达 21 d。Zhu 等[28]发现，当每克土壤中香根草精油的含量超过 2 μg 时，其对白蚁的驱避活性持效期可达 24 d。另外，Henderson 等[29]研究发现，香根草提取物可以明显减少台湾白蚁的进食量 (进食量仅为空白对照的 1/4)，比较 21 d 后白蚁的存活率，发现空白对照组的存活率 (55.33%) 显著高于香根草处理组的 (11.39%)。Soderberg[30] 发现，以香根草堆肥处理可可植株，不仅可以促进其生长，而且可以显著减少可可植株上白蚁的为害，至于是何种化合物起作用，该研究并未深入说明。Bajwa 等[31]将香根草精油添加到木材中，发现其可以显著减轻木材被白蚁取食的程度。采用 GC-MS 法分析其成分，共分析出 50 余种化合物，大多数为倍半萜类化合物，主要有丁香烯、化合物 **1**、**2** 和 **3** 等[31]。

2.3 对蜱虫的毒杀作用

在热带和亚热带地区，因蜱虫感染和吸血引起的疾病造成了巨大的经济损失[32]。传统的蜱虫防控方法是使用合成农药，包括拟除虫菊酯类、有机磷酸酯类和双甲脒等[33-34]。化学杀螨剂的滥用易引起害虫耐药性增强[35]，同时也容易污染环境、危害人类健康。Campos 等[36]研究发现，香根草精油可以通过减少雌性蜱虫的产卵量以及卵的孵化率而导致蜱虫的生殖效率降低，且其生殖效率降低值高于参考的商品化药剂如溴氰菊酯等，此外，与其他化合物相比，香根草精油的杀幼虫活性更高。Facey 等[37]研究发现，单萜和倍半萜具有良好的杀螨活性，而香根草中含有超过 150 种的萜类化合物，它们在引诱雌蜱产卵等方面发挥着重要作用。蚬木曲脉木虱 *Macrotermes barneyi* Light 属于蜱虫的一种，是蚬木苗期和幼林的主要害虫。陈尚文等[38]采用香根草的乙醇和乙醚热提取物对蚬木曲脉木虱进行室内毒力测定，发现其乙醚热提物对蚬木曲脉木虱的毒杀作用较好，LC_{50} 值为 1.77 mg/L；同时在野外试验中发现，施药 7 d 后，香根草乙醚热提物对蚬木曲脉木虱的校正防效最高，为 97.4%。

3 香根草的抑菌作用

据报道，香根草精油对芽孢杆菌 *Bacillus* spp.、副伤寒沙门氏菌 *Salmonella paratiphy* 和野油菜黄单胞菌 *Xanthomonas campestris* 都具有较强的抑制作用[39]；对真菌如曲霉属 *Aspergillus* sp.[40]、灰霉 *Botrytis cinerea*、疫霉 *Phytophthora* 等植物病原真菌[41]、癣菌属镰孢 *Trichophyton* sp.[42]和青霉属 *Penicillium* sp.[43]都具有较强抑制作用。

2007 年，Champagnat 等[44]研究发现，香根草精油对粪肠球菌 *Enterococcus faecalis* 和金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 有较强的抑制作用；香根草精油中含有高浓度的醇和酮类化合物，可进入细菌的细胞质中起作用。通过 GC-MS 分析出 22 种化合物，其中最主要的成分为邻苯二甲酸二乙酯，占总含量的 87.73%[45]。高广春等[46]采用菌丝生长速率法测定了香根草茎叶提取物对水稻纹枯病菌 *Rhizoctorzia solani* 等 5 种植物病原真菌的抑制作用。结果 (表 2) 表明，其石油醚和乙酸乙酯提取物对水稻纹枯病菌的抑制效果最好，EC_{50} 值分别为 1.844 和 3.470 mg/mL。

室外盆栽试验结果显示：香根草石油醚提取物在 25 mg/mL 时对水稻纹枯病菌的保护防治效果

达到 66.70%，治疗防治效果为 14.16%。表明香根草提取物不仅对细菌具有良好的抑制作用，也可以抑制真菌的生长。

表 2　香根草对植物病原真菌的抑制活性[46]

Table 2　Inhibition of vetiver extract on plant pathogenic fungi[46]

供试植物病原真菌 Test plant fungus	EC_{50}/(mg/mL)	
	石油醚提取物 PE extracts	乙酸乙酯提取物 EA extracts
水稻纹枯病菌 *Rhizoctorzia solani*	1.844	3.470
香蕉炭疽病菌 *Calletotrichum musae*	33.369	8.094
葡萄炭疽病菌 *Glomerella cingulate*	5.824	6.607
黄瓜枯萎病菌 *Fusarium oxysporium*	31.774	8.036
番茄早疫病菌 *Alternaria solani*	24.640	169.209

4　香根草的除草活性

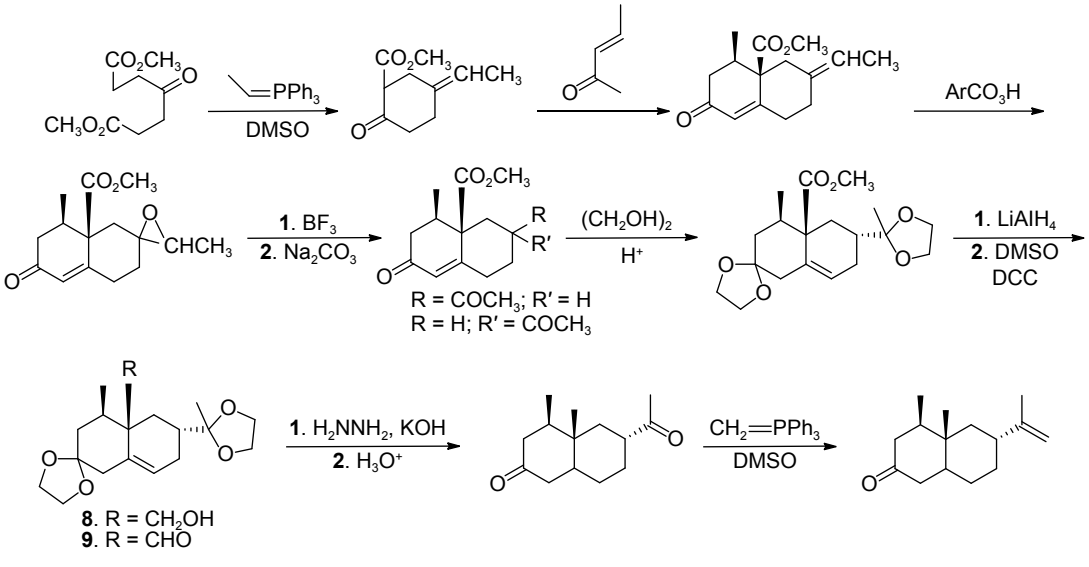
Mao 等[47]研究发现，在一定浓度下，香根草精油可抑制藜 *Chenopodium album* L.、豚草 *Ambrosia artemisiifolia* L.、牵牛 *Pharbitis nil* (Linn.)Choisy、苋菜 *Amaranthus tricolor* L.和蓖麻 *Abutilon theophrasti* Medic 种子的萌发，也可抑制藜和苋菜幼苗的生长，并进一步明确了起抑制作用的主要是香根草中的关键化合物诺卡酮 (**28**)。但诺卡酮在香根草油中的含量少于 1%，且其抑制杂草的种类范围较窄[7]。香根草精油中的其他组分对杂草同样具有抑制作用，其中倍半萜类化合物是已知的几种植物毒素之一[48]，其在抑制植物种子萌发和植物生长方面具有重要作用，而倍半烯萜又是香根草精油的重要组成成分，这可能是决定香根草精油具有除草活性的另一类重要化合物。

5　诺卡酮的合成研究进展

诺卡酮是香根草中重要的倍半萜类化合物，已被证明具有优良的杀虫、抗菌和除草等活性。但植物中诺卡酮的含量极低，从天然植物中提取分离的诺卡酮不足以满足工业上的大量应用，因而，关于诺卡酮的合成研究早在 20 世纪 70 年代就有报道。

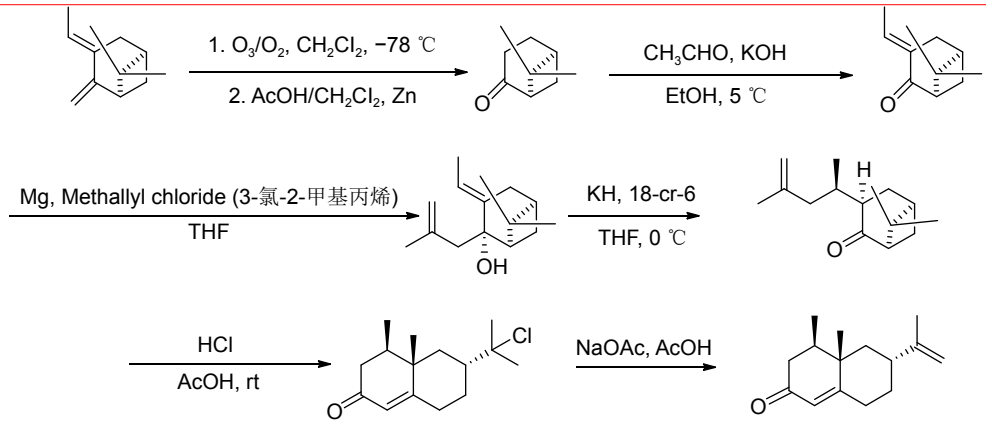
1) 早期关于诺卡酮的合成路线 (图式 5)[49]包含两步 Wittig 反应，CH_2=PPh_3 为磷叶立德试剂，该试剂参与反应易产生磷废水而污染环境；H_2NNH_2 具有基因毒性；$LiAlH_4$ 价格昂贵，从而增加合成成本。此外该合成路线长，工艺复杂，收率低，导致难以工业放大。

2)Laine[50]以 GRAS (generally recognized as safe) 的材料 *β*-蒎烯 (*β*-pinene) 为原料合成了诺卡酮 (图式 6)，利用臭氧分解，改变 *β*-pinene 的结构，减少了化学试剂的使用。Sauer 等[51]也以 *β*-pinene 为原料合成了诺卡酮 (图式 7)，在氧化 *β*-pinene 时使用 $KMnO_4$ 和 Al_2O_3 等氧化剂，与臭氧催化反应 (图式 6) 相比，反应条件更加温和可控，且生成的产物为醛、醇混合物，在格式试剂的催化下，反应具有高度的选择性和转化率。



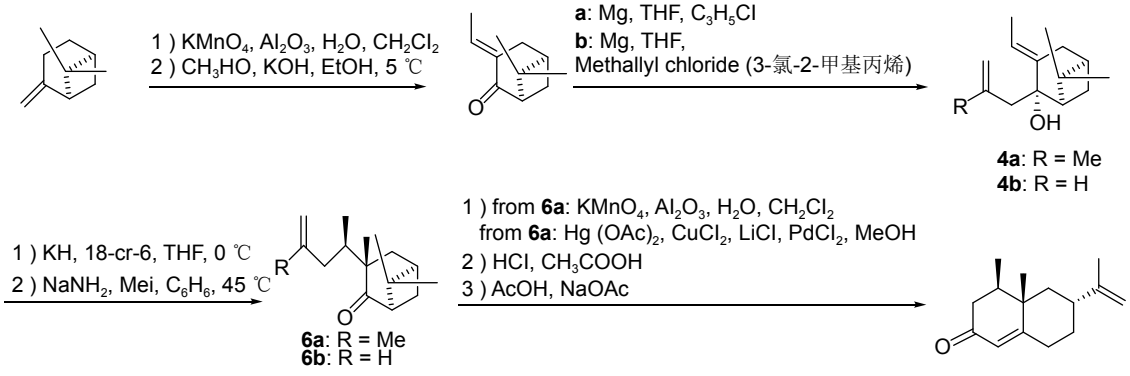
图式 5　立体选择性全合成外消旋诺卡酮[49]

Scheme 5　The stereoselective total synthesis of racemic nootkatone[49]



图式 6　以 *β*-蒎烯为原料采用臭氧分解法合成诺卡酮[50]

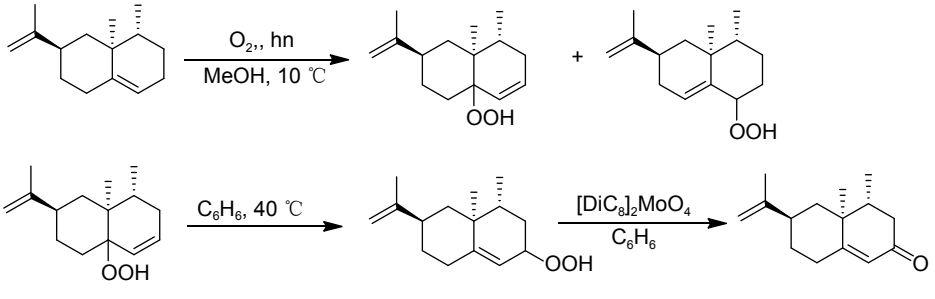
Scheme 6　Nocalone synthesis using *β*-pinene as starting material *via* ozonolysis[50]



图式 7　以 *β*-蒎烯为原料高效合成诺卡酮[51]

Scheme 7　Nootkatone synthesis from *β*-pinene[51]

3) Hong 等[52]以两性分子的钼酸盐作催化剂，通过瓦伦烯的单线氧合一锅法合成了诺卡酮。将瓦伦烯单线态氧化，使反应所得过氧化物重排、脱水可得诺卡酮 (图式 8)。该反应条件温和，产品回收率高。



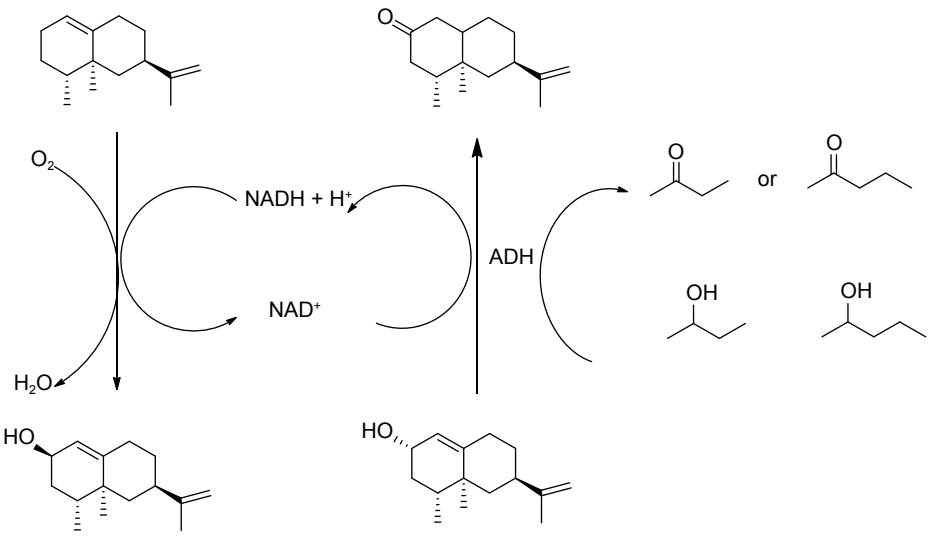
图式 8　瓦伦烯的单线氧合一锅法合成诺卡酮[52]

Scheme 8　One-Pot synthesis of (+)-nootkatone via dark singlet oxygenation of valencene[52]

4) 为解决化学合成诺卡酮过程中易产生有毒或致癌物质的问题，Schulz 等[53]以两种酶为生物催化剂，采用选择性酶促反应一锅法合成了诺卡酮。首先，由细胞色素 P450 单加氧酶催化倍半萜烯 (+)-瓦伦烯的选择性烯丙基发生羟化反应，生成中间体诺卡托醇；然后，通过醇脱氢酶 (ADH) 将诺卡托醇进一步氧化成 (+)-诺卡酮 (图式 9)。

6　总结与展望

从最初发现化合物 **1** 和 **2** 至今，对于香根草中活性物质提取分离的研究已有近百年历史，目前已从香根草中提取分离出 300 余种化合物，其中大部分为倍半萜类。倍半萜类物质具有重要的生理活性，例如：脱落酸，对植物生长发育具有调节作用；昆虫保幼激素，可以控制昆虫的生长



图式 9　诺卡酮的选择性酶促合成[53]

Scheme 9　Selective enzymatic synthesis of the nootkatone[53]

发育循环。另外，倍半萜类物质还对害虫具有拒食、引诱及驱避作用，如青蒿素等具有驱虫和杀虫作用[54]。

对于香根草农用活性的研究，目前大多集中在诱集雌蛾产卵或者对幼虫的毒杀作用、对白蚁的驱避活性、对蜱虫的毒杀作用，以及抑制真菌和杂草生长等方面。关于香根草中活性物质的研究，主要集中在其不同极性溶剂提取物上。至于其活性物质，目前仅发现化合物 **34**、**1** 和 **2** 等萜类挥发性物质起重要作用，但有关这些化合物活性的强弱，以及化合物的复配等并未进行深入的研究。

在作用机理研究方面，除高广春等[22]发现香根草提取物会影响二化螟体内的保护酶，鲁艳辉等[23]发现其可以抑制幼虫体内解毒酶 CarE 和 P450 酶活性，Champagnat[44]等发现醇和酮类化合物可以进入细菌的细胞质中起作用外，香根草对其他昆虫、细菌、真菌和杂草作用机理的研究尚未见报道。

诺卡酮是香根草中重要的活性化合物，但在香根草中含量少，远不能满足实际需要，因而诺卡酮的合成尤为重要。减少有毒物质的使用，提高反应收率是改进其合成工艺的重要目标。

基于此，深入研究香根草中的生物活性物质及其作用机理，探索其活性成分的高效绿色合成，建立一套基于香根草活性物质的绿色防控手段，并率先用于水稻二化螟等农作物害虫防治，将是化学农药减量减施综合技术的核心内容之一。

参考文献 (Reference):

[1] ADAMS R P, NGUYEN S, JOHNSTON D A, et al. Comparison of vetiver root essential oils from cleansed (bacteria-and fungus-free) vs. non-cleansed (normal) vetiver plants[J/OL]. Biochem Syst Ecol, 2008, 36(3): 177-182[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/j.bse.2004.03.013.

[2] 毛萍, 杨宏, 马欣荣. 香根草的研究及利用进展[J]. 中国农业科技导报, 2011, 13(1): 88-93.
MAO P, YANG H, MA X R. Progress in research and utilization of *Vetiveria zizanioides*[J]. J Agric Sci Technol, 2011, 13(1): 88-93.

[3] 高广春, 徐红星, 郑许松, 等. 香根草提取物在防治植物病害中的应用[C]//中国植物保护学会. 公共植保与绿色防控. 2010.
GAO G, XU H X, ZHENG X S, et al. Application of vetiver extract in plant disease prevention and control [C]//China Society of Plant Protection. Public plant protection and green prevention and control. 2010.

[4] PFAU A S, PLATTNER P A. Volatile plant constituents X. The vetivones, odorous constituents of the essential oils of vetiver[J]. Helv Chimica Acta, 1939, 22(1): 640-654.

[5] MARSHALL J A, JOHNSON P C. Structure of *β*-vetivone and related vetivane sesquiterpenes [J/OL]. J Am Chem Soc, 1967, 89(11): 2750-2751[2017-10-17]. https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00987a051

[6] MAURER B, FRACHEBOUD M, GRIEDER A, et al. Zur Kenntnis der sesquiterpenoiden C_{12} - ketone des ätherischen Öls von *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash[J/OL]. Helvetica Chimica Acta, 1972, 55(7): 2371-2382[2017-10-17]. https://doi.org/10.1002/hlca.19720550712.

[7] WEYERSTAHL P, MARSCHALL H, SPLITTGERBER U, et al. Constituents of Haitian vetiver oil[J/OL]. Flavour Fragr J, 2000, 15(6): 395-412[2017-10-17].https://doi.org/10.1002/1099-

1026(200011/12)15:6<395::AID-FFJ930>3.0.CO;2-9.

[8] 龚德慎, 魏德生, 钟雁, 等. 黔产香根油的研究[J]. 贵州科学, 1997, 15(2): 126-130.
GONG D S, WEI D S, ZHONG Y, et al. Research on Guizhou vetiver oil[J]. Guizhou Sci, 1997, 15(2): 126-130.

[9] 黄京华, 黎华寿, 杨军, 等. 香根草挥发物化学成分的分析[J]. 应用生态学报, 2004, 15(1): 170-172.
HUANG J H, LI H S, YANG J, et al. Chemical components of *Vetiveria zizanioides* volatiles[J]. Chin J Appl Ecol, 2004, 15(1): 170-172.

[10] 王飞生, 文媛, 龙高峰. 香根草杜松烷型倍半萜成分分析[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(12): 5636-5638.
WANG F S, WEN Y, LONG G F. Analysis on cadinane sesquiterpenoidnene composition in *Vetiveria zizanioides*[J]. J Anhui Agric Sci, 2009, 37(12): 5636-5638.

[11] BELHASSEN E, FILIPPI J J, BRÉVARD H, et al. Volatile constituents of vetiver: a review[J/OL]. Flavour Fragr J, 2015, 30(1): 26-82[2017-10-17]. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ffj.3227.

[12] LEMBERG S, HALLEY R B. Vetiver oils of different geographical origins[J]. Perfum Flav, 1978, 3: 23-27.

[13] BELHASSEN E, BALDOVINI N, BREVARD H, et al. Unravelling the scent of vetiver: identification of character-impact compounds[J/OL]. Chem Biodivers, 2014, 11(11): 1821-1842[2017-10-17]. https://doi.org/10.1002/cbdv.201400079.

[14] ANDERSEN N H. The structures of zizanol and vetiselinenol[J/OL]. Tetrahed Lett, 1970, 11(21): 1755-1758[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)98075-X.

[15] FILIPPI J J, BELHASSEN E, BALDOVINI N, et al. Qualitative and quantitative analysis of vetiver essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry[J/OL]. J Chrom A, 2013, 1288: 127-148[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.03.002.

[16] MIYAZAWA M, NAKAMURA Y, ISHIKAWA Y. Insecticidal sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster*[J/OL]. J Agric Food Chem, 2000, 48(8): 3639-3641[2017-10-17]. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000325z.

[17] HENDERSON G, HEUMANN D O, LAINE R A, et al. Extracts of vetiver oil as repellent and toxicant to ants, ticks, and cockroaches: US6906108[P/OL]. 2005-06-05[2017-10-17]. http://www.freepatentsonline.com/6906108.html.

[18] ZHANG Z Q. Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness (Addenda 2013)[J/OL]. Zootaxa, 2013, 3703: 1-82[2017-10-17]. doi: 10.11646/zootaxa.3703.1.1

[19] 郑许松, 徐红星, 陈桂华, 等. 苏丹草和香根草作为诱虫植物对稻田二化螟种群的抑制作用评估[J].中国生物防治, 2009, 25(4): 299-303.
ZHENG X S, XU H X, CHEN G H, et al. Potential function of Sudan grass and vetiver grass as trap crops for suppressing population of stripped stem borer, *Chilo suppressalis* in rice[J]. Chin J Biol Control, 2009, 25(4): 299-303.

[20] 陈先茂, 彭春瑞, 姚锋先, 等. 利用香根草诱杀水稻螟虫的技术及效果研究[J]. 江西农业学报, 2007, 19(12): 51-52.
CHEN X M, PENG C R, YAO F X, et al. Study on technique and effect of vetiver for trapping and killing rice borer[J]. Acta Agric Jiangxi, 2007, 19(12): 51-52.

[21] Van den BERG J, MIDEGA C, WADHAMS L J, et al. Can vetiver grass be used to manage insect pests on crops?[C]//Proceedings of the Third International Vetiver Conference. Guangzhou, China: International Vetiver Conference, 2003.

[22] 高广春, 李军, 郑许松, 等. 香根草提取物对二化螟生长发育及体内保护酶活力的影响[J]. 科技通报, 2015, 31(5): 97-101.
GAO G C, LI J, ZHENG X S, et al. Effects of extracts from *Vetiveria zizanioides* on growth and development, activities of protective enzymes of *C. Supperssalis*[J]. Bull Sci Technol, 2015, 31(5): 97-101.

[23] 鲁艳辉, 高广春, 郑许松, 等. 诱集植物香根草对二化螟幼虫致死的作用机制[J]. 中国农业科学, 2017, 50(3): 486-495.
LU Y H, GAO G C, ZHENG X S, et al. The lethal mechanism of trap plant *Vetiveria zizanioides* against the larvae of *Chilo suppressalis*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(3): 486-495.

[24] RATTAN R S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin[J/OL]. Crop Protect, 2010, 29(9): 913-920[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008.

[25] 刘晓燕, 钟国华. 白蚁防治剂的现状和未来[J]. 农药学学报, 2002, 4(2): 14-22.
LIU X Y, ZHONG G H. Current situation and future of termite control agents[J]. Chi J Pestici Sci, 2002, 4(2): 14-22.

[26] ISMAN M. Pesticides based on plant essential oils-these oils and their terpenoidal constituents could have a role in pest and disease management[J]. Pestic Outlook, 1999, 10(2): 68-72.

[27] MAISTRELLO L, HENDERSON G, LAINE R A. Efficacy of vetiver oil and nootkatone as soil barriers against *Formosan subterranean* termite (Isoptera: Rhinotermitidae)[J/OL]. J Econ Entomol, 2001, 94(6): 1532-1537[2017-10-17]. https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.6.1532.

[28] ZHU B C R, HENDERSON G, CHEN F, et al. Evaluation of vetiver oil and seven insect-active essential oils against the *Formosan subterranean* termite[J/OL]. J Chem Ecol, 2001, 27(8): 1617-1625[2017-10-17]. https://doi.org/10.1023/A:1010410325174.

[29] HENDERSON G, LAINE R A, HEUMANN D O, et al. Vetiver oil extracts as termite repellent and toxicant: US6890960[P/OL]. 2005-05-10[2017-10-17]. http://www.freepatentsonline.com/6890960.html.

[30] Soderberg C. Vegetable agroforestry and Cashew-Cacao Systems in Vietanam[J]. Appropriate Technology, 2014, 41(1): 46.

[31] BAJWA D S, HOLT G A, BAJWA S G, et al. Enhancement of termite (*Reticulitermes flavipes* L.) resistance in mycelium reinforced biofiber-composites[J/OL]. Ind Crops Prod, 2017, 107: 420-

426[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.032

[32] GRISI L, MASSARD C, MOYA-BORJA G E, et al. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil[J]. A Hora Vet, 2002, 21(125): 8-10.

[33] 梁茂茂. 蜱虫的危害及防治[J]. 吉林畜牧兽医, 2011, 32(9): 43-43.
LIANG M M. Harm and control of ticks[J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2011, 32(9): 43-43.

[34] GAZIM Z C, DEMARCHI I G, LONARDONI M V C, et al. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari; Ixodidae)[J/OL]. Exp Parasitol, 2011, 129(2): 175-178[2017-10-17].https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.06.011.

[35] 华乃震. 新型高效、低毒杀螨剂产品的综述[J]. 世界农药, 2016, 38(3): 25-34.
HUA N Z. A review of new and highly effective and low toxic acaric products[J]. World Pestic, 2016, 38(3): 25-34.

[36] De SANTANA CAMPOS R N, LIMA C B N, OLIVEIRA A P, et al. Acaricidal properties of vetiver essential oil from *Chrysopogon zizanioides* (Poaceae) against the tick species *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae)[J/OL]. Vet Parasitol, 2015, 212(3-4): 324-330[2017-10-17]. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.022.

[37] FACEY P C, PORTER R B R, REESE P B, et al. Biological activity and chemical composition of the essential oil from Jamaican *Hyptis verticillata* jacq[J/OL]. J Agric Food Chem, 2005, 53(12): 4774-4777[2017-10-17]. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf050008y

[38] 陈尚文, 胡华宇. 香根草提取物对蚬木曲脉木虱作用的初步研究[C]//中国昆虫学会成立 60 周年纪念大会暨学术讨论会. 2004.
CHEN S W, HU H Y. Preliminary study on the effect of vetiver extract on *Sinuonemopsylla excetrodendri* Li et Yang[C]//The 60th Anniversary Symposium and Symposium on the establishment of the Entomological Society of China, 2004.

[39] JITENDRAKINDRA K, SATYANARAYANA T. Inhibitory activity of essential oils of some plants against pathogenic bacteria[J]. Indian Drugs, 1978.

[40] SRIDHAR S R, RAJAGOPAL R V, RAJAVEL R, et al. Antifungal activity of some essential oils[J/OL]. J Agric Food Chem, 2003, 51(26): 7596-7599. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf0344082

[41] RAO B G V N, JOSEPH P L. Activity of some essential oils towards phytopathogenic fungi[J]. Riechest Aromas Koffler, 1971, 21: 405-410.

[42] DIKSHIT A, HUSAIN A. Antifungal action of some essential oils against animal pathogens[J]. Fitoterapia, 1984, 55(3): 171-176.

[43] GANGRADE S K, SHRIVASTAVA R D, SHARMA O P, et al. *In vitro* antifungal effect of the essential oils[J]. Indian Perfumer, 1991, 35(1): 46-49.

[44] CHAMPAGNAT P, SIDIBÉ L, FORESTIER C, et al. Antimicrobial activity of essential oils from *Vetiveria nigritana* and *Vetiveria zizanioides* roots[J]. J Essent Oil Bearing Plants, 2007, 10(6): 519-524, doi: 10.1080/0972060X.2007.10643589.

[45] NAIKWADI S, SANNAPAPAMMA K, VENUGOPAL C K. Optimization of vetiver root extract for textile finishing[J]. Int J Curr Microbiol App Sci, 2017, 6(10): 2009-2022, doi: 10.20546/ijcmas.2017.610.238.

[46] 高广春, 徐红星, 郑许松, 等. 香根草提取物对植物病原真菌的抑制作用[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(3): 568-571.
GAO G C, XU H X, ZHENG X S, et al. The antifungal activity of *Vetiveria zizanioides* extract against plant pathogenic fungi[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2011, 23(3): 568-571.

[47] MAO L X, HENDERSON G, LAINE R A. Germination of various weed species in response to vetiver oil and nootkatone[J]. Weed Technol, 2004, 18(2): 263-267, doi: 10.1614/WT-03-034R2.

[48] FISCHER N H. The function of mono and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators[M]//PUTNAM A R, TANG C S. Science of allelopathy. London: Wiley, 1986.

[49] MARSHALL J A, RUDEN R A. The stereoselective total synthesis of racemic nootkatone[J]. Tetrahed Lett, 1970, 11(15): 1239-1242, doi: 10.1016/S0040-4039(01)91598-9.

[50] LAINE R. Reaction sequence for the synthesis of nootkatone, dihydronootkatone, and tetrahydronootkatone: WO 2017/100437[P]. 2017-06-15. http://www.freepatentsonline.com/WO 2017100437A1.html.

[51] SAUER A M, CROWE W E, HENDERSON G, et al. An efficient and economic asymmetric synthesis of (+)-nootkatone, tetrahydronootkatone, and derivatives[J]. Org Lett, 2009, 11(16): 3530-3533.

[52] HONG B, LEBEUF R, DELBAERE S, et al. One-pot synthesis of (+)-nootkatone via dark singlet oxygenation of valencene: the triple role of the amphiphilic molybdate catalyst[J]. Catalysts, 2016, 6(12): 184.

[53] SCHULZ S, GIRHARD M, GAßMEYER S K, et al. Selective enzymatic synthesis of the grapefruit flavor (+)-nootkatone[J]. ChemCatChem, 2015, 7(4): 601-604.

[54] 刘晓漫. 紫茎泽兰中倍半萜化合物的抗菌活性、作用机理及水解规律研究[D].北京: 中国农业科学院, 2016.
LIU X M. Antimicrobial activity, mechanism against pathogen and hydrolysis of sesquiterpenoids from *Eupatorium adenophorum* spreng[D]: Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016.

(责任编辑: 金淑惠)