

美国山核桃叶的抗菌作用

叶申怡, 阮夏云, 樊莹, 张欢帅, 井长怡, 毛胜凤, 张爱莲

(浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 对美国山核桃 *Carya illinoensis* 叶进行体外抗菌作用研究, 以期开发出一种新型的天然杀菌剂。美国山核桃叶经体积分数为 75% 乙醇提取后, 采用系统溶剂法将抽提物分为石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇和水等 5 个不同极性的提取物。采用滤纸片法, 检测以上提取物对黄曲霉菌 *Aspergillus flavus*, 根霉菌 *Rhizopus oryzae*, 青霉菌 *Penicillium sp.*, 酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae*, 大肠埃希菌 *Escherichia coli* 和枯草杆菌 *Bacillus subtilis* 等的抑菌效果, 并计算各提取物对真菌的半数抑菌质量浓度 (C_{E50})。结果表明: 乙酸乙酯提取物对青霉菌、根霉菌、黄曲霉菌和枯草杆菌均表现出明显的抑菌效果且差异显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 抑菌圈直径均值分别为 9.18, 10.86, 8.26, 10.18 mm, 但对于黄曲霉菌石油醚提取物 ($C_{E50} 0.91 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的抑菌效果优于乙酸乙酯提取物 ($C_{E50} > 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$); 而正丁醇提取物对酵母菌和大肠埃希菌表现出明显的抑菌效果且差异显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其抑菌圈直径均值分别为 11.13, 8.83 mm, 但对于大肠埃希菌水提物的抑菌效果优于正丁醇提取物, 其抑菌圈直径均值为 9.13 mm。综上, 美国山核桃叶的正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物抑菌效果最佳。针对这一实验结果, 可以根据防治对象不同, 采用不同的提取方法和工艺, 研发专菌专治的天然杀菌剂, 以提升杀菌剂的作用效果。表 2 参 12

关键词: 森林保护学; 美国山核桃叶; 提取物; 抑菌作用; 半数抑菌质量浓度

中图分类号: S789.4

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2014)04-0658-05

Antimicrobial activity of *Carya illinoensis* leaves

YE Shenyi, RUAN Xiayun, FAN Ying, ZHANG Huanshuai, JING Changyi,

MAO Shengfeng, ZHANG Ailian

(School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: The purpose is to provide theoretical basis for developing a new type of natural antiseptic products. The antimicrobial activity of *Carya illinoensis* leaves was determined through extraction, in vitro, with 75% ethanol and then fractionated with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, and water in turn. The cup plate method was used to determine antimicrobial activity of the extract and extractants with cultures of *Aspergillus flavus*, *Rhizopus oryzae*, *Penicillium sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, and *Bacillus subtilis*. Then, the half inhibitory concentration (C_{E50}) were calculated. Results showed that the mean inhibition zone diameter for the ethyl acetate extract of *Penicillium sp.* was 9.18 mm, of *R. oryzae* was 10.86 mm, of *A. flavus* was 8.26 mm, and of *B. subtilis* was 10.18 mm exhibiting a strong inhibitory effect ($P < 0.05$, $P < 0.01$). However, for *A. flavus*, the inhibitory effect of the petroleum ether extract ($C_{E50} 0.91 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) was better than the ethyl acetate extract ($C_{E50} > 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). The mean inhibition zone diameter for the n-butanol extract of *S. cerevisiae* (11.13 mm) and *E. coli* (8.83 mm) also showed a strong inhibitory effect ($P < 0.05$, $P < 0.01$); nevertheless, the inhibitory effect of the aqueous extract (9.13 mm) for *E. coli* was better than the n-butanol extract (8.83 mm). Thus, the n-butanol extract and the ethyl acetate extract of *Carya illinoensis* leaves have the best

收稿日期: 2013-07-29; 修回日期: 2013-12-02

基金项目: 浙江农林大学大学生科技创新项目(201202011)

作者简介: 叶申怡, 从事微生物农药研究。E-mail: 844190417@qq.com。通信作者: 张爱莲, 讲师, 从事生物农药研究。E-mail: zhangaillian@126.com

inhibitory effect. For the experimental results, according to different control object, we can use different extraction methods and technology to research and develop the exclusive antiseptic, in order to improve the effect of antiseptic. [Ch, 2 tab. 12 ref.]

Key words: forest protection; *Carya illinoensis*; extract; antimicrobial activity; half inhibitory concentration

美国山核桃 *Carya illinoensis*，又名薄壳山核桃或长山核桃，原产于美国和墨西哥北部，世界多个国家都有引种栽培。中国江苏省于 20 世纪引入栽培于淮安、南京、泰州、江阴等地。近年来，浙江农林大学开展了薄壳山核桃引种、育种与推广栽培。胡桃科 Juglandaceae 植物含有黄酮类、萜类、萜醌苷类、多酚类和有机酸类等成分，具有抑制醛糖还原酶，抑制细菌 DNA 起始复合物的形成，抗肿瘤，镇痛消炎等作用^[1-3]。胡旭姣等^[5]的研究表明：山核桃叶片提取物具有抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖和诱导该肿瘤细胞凋亡的作用。美国山核桃与山核桃 *Carya cathayensis* 同属，两者亲缘关系相近。一般认为，植物之间亲缘关系相近的个体常具有类似的化学成分和相似临床疗效的规律。殷舒等^[5]对山核桃叶片提取物的抑菌作用研究表明：山核桃叶片提取物对金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*，大肠埃希菌 *Escherichia coli*，酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae*，黄曲霉菌 *Aspergillus flavus*，青霉菌 *Penicillium* sp. 和黑曲霉菌 *Aspergillus niger* 均有抑制作用。本实验采用滤纸片法，首次对美国山核桃叶的总提取物，以及石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、水 5 个不同极性的提取物进行抗菌作用研究，以期为今后农业上的新型植物农药开发和医学上的临床应用提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料和供试菌种

美国山核桃叶，2012 年 10 月采于浙江农林大学东湖校区。菌种根霉菌 *Rhizopus oryzae*，酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae*，黄曲霉菌 *Aspergillus flavus*，青霉菌 *Penicillium* sp.，大肠埃希菌 *Escherichia coli* 和枯草杆菌 *Bacillus subtilis* 均由浙江农林大学森林保护实验室提供。

1.2 试剂与仪器

供试有机溶剂及所用生化试剂均为国产分析纯。使用下列仪器：SHB-III 循环水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司)；旋转蒸发仪(河南省予华仪器有限公司)；AB104-N 分析天平；MLS-3750 全自动蒸汽灭菌锅(SANYO)；PRX-350C 智能人工气候箱(宁波海曙赛福实验仪器厂)；MCV-B131FCT 超净工作台(SANYO)。

2 方法

2.1 药液的制备^[5]

新鲜美国山核桃叶(5.00 kg)于 50 °C 烘箱中烘 48 h 至干，粉碎，过 40 目筛，取粉 500 g，用体积分数为 75% 乙醇回流提取 3 次，2 h·次⁻¹，滤液合并，减压浓缩至无醇味，烘干，得总浸膏 72.6 g。取 30.0 g 总浸膏用水分散后分别用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取，各萃取液及水相减压浓缩回收溶剂，烘干，得到不同极性提取物。随后用二甲基亚砜将总浸膏和不同提取物浸膏分别配制成质量浓度为 10.000，5.000，2.500，1.250 和 0.625 g·L⁻¹ 的药液，备用。

2.2 菌种活化

将各供试细菌分别移接入牛肉膏斜面培养基上，真菌接入马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)斜面培养基上，细菌置于 37 °C 的培养箱中培养 48 h，真菌置于 25 °C 的培养箱中培养 96 h。

2.3 菌悬液的制备^[6]

将活化好的各菌种制成比例为 1.0×10⁸~1.0×10⁹ 菌落形成单位(CFU)·L⁻¹ 的菌悬液，备用。

2.4 抑菌试验-纸片法^[7]

无菌条件下，取菌悬液 0.1 mL，用无菌涂布棒均匀涂布在平板培养基上，将灭菌后直径为 6 mm 的滤纸小圆片在上述各抽提液中浸泡 20 min 后，取出晾干，等距离贴于平板上，4 片·皿⁻¹，3 个重复·菌种⁻¹，分别以各自无浸膏的萃取液为空白对照。细菌置于 31 °C 培养箱中培养 24 h，真菌置于 25 °C 培养

箱中培养 72 h 后, 用十字交叉法, 测定抑菌圈直径, 并按以下公式计算抑菌率: 抑菌率=(对照菌落数-处理菌落数)/对照菌落数 \times 100%。

2.5 数据处理分析

2.5.1 抑菌直径均值方差分析 抑菌圈直径原始数据用 DPS 数据处理系统软件进行多因素方差分析, 并对平均数用最小显著性差异法(LSD)进行多重比较。

2.5.2 真菌半数抑菌质量浓度的计算^[8] 根据提取物质量浓度与抑制率获得回归方程, 计算各真菌抑制率在 50%时的各提取物质量浓度, 即为各提取物对各真菌的半数抑菌质量浓度(C_{E50})。

3 结果与分析

3.1 美国山核桃叶不同提取物的抑菌活性

美国山核桃叶各极性提取物对 6 株供试菌均表现出一定的抑菌活性, 其中正丁醇提取物与乙酸乙酯提取物对除大肠埃希菌外的 5 株供试菌均表现出较强的抑菌活性, 故可认为美国山核桃叶正丁醇提取物与乙酸乙酯提取物的抑菌效果最佳。而对于黄曲霉菌, 石油醚提取物表现出较强的抑菌活性(表 1)。

表 1 美国山核桃叶各提取物对 6 株菌种抑菌圈的方差分析

Table 1 Variance analysis of inhibition zone of different extracts from *Carya illinoensis* against 6 species of strains

	酵母菌		青霉菌		黄曲霉菌		根霉菌		枯草杆菌		大肠埃希菌	
提取物	抑菌圈直径/mm	提取物	抑菌圈直径/mm	提取物	抑菌圈直径/mm	提取物	抑菌圈直径/mm	提取物	抑菌圈直径/mm	提取物	抑菌圈直径/mm	
正丁醇	11.13 aA	乙酸乙酯	9.18 aA	石油醚	8.35 aA	乙酸乙酯	10.86 aA	乙酸乙酯	10.18 aA	水	9.13 aA	
水	10.48 aAB	水	8.71 aAB	乙酸乙酯	8.26 abAB	氯仿	9.36 bAB	氯仿	9.88 aA	正丁醇	8.83 abAB	
氯仿	10.19 abAB	氯仿	8.59 abAB	总浸膏	8.22 abAB	正丁醇	9.32 bBC	正丁醇	9.30 aA	石油醚	8.65 bcAB	
总浸膏	10.07 abAB	石油醚	8.40 abAB	正丁醇	7.47 bcBC	石油醚	8.25 cCD	石油醚	8.53 bB	氯仿	8.23 bcB	
石油醚	10.04 bBC	总浸膏	8.26 abAB	水	7.35 bcBC	水	8.64 cD	水	8.09 bcB	乙酸乙酯	7.88 bcB	
乙酸乙酯	8.79 cC	正丁醇	7.92 bB	氯仿	7.18 cC	总浸膏	7.44 dD	总浸膏	7.77 cC	总浸膏	7.77 cB	

说明: 数据后不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平, 不同大写字母表示差异达 0.01 显著水平。

由表 1 可知: 美国山核桃叶不同极性提取物及总浸膏对细菌和真菌皆有抑菌作用, 但各提取物的抑菌效果存在差异。对真菌的抑菌作用: 石油醚提取物对黄曲霉菌的抑菌作用显著大于其他 4 种提取物及总浸膏, 在 0.01 及 0.05 水平上均存在显著差异, 故对于黄曲霉菌, 石油醚提取物的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 8.35 mm; 对于青霉菌, 乙酸乙酯提取物的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 9.19 mm; 对于酵母菌, 正丁醇提取物的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 11.13 mm; 对于根霉菌, 乙酸乙酯提取物的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 10.86 mm。在对细菌的抑菌试验中: 正丁醇提取物对枯草杆菌的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 10.19 mm; 而对于大肠埃希菌, 水提取物的抑菌效果最佳, 抑菌圈直径均值为 9.13 mm。由此可知: 美国山核桃叶的乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物均表现出较为广谱的抑菌作用, 对真菌与细菌都有不同程度的抑菌作用, 且差异显著; 乙酸乙酯提取物对于根霉菌的抑菌作用显著大于其他供试菌种, 正丁醇提取物对于酵母菌和枯草杆菌的抑菌作用显著大于其他供试菌种。故美国山核桃叶的正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物的抑菌效果最佳。

3.2 美国山核桃叶不同浓度各极性提取物对各菌种的半数抑菌质量浓度

由表 2 可知: 美国山核桃叶的正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物对各真菌均表现出较强的抑菌作用。对于酵母菌, 正丁醇提取物表现出较其他提取物最强的抑菌活性, 其半数抑制质量浓度(C_{E50})值为 3.68 $g \cdot L^{-1}$ 。对于根霉菌, 氯仿提取物表现出较乙酸乙酯提取物更强的抑菌活性, 其 C_{E50} 值为 9.44 $g \cdot L^{-1}$ 。对于黄曲霉菌, 石油醚提取物表现出较正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物更强的抑菌作用, C_{E50} 值为 0.91 $g \cdot L^{-1}$ 。对于青霉菌, 水提取物表现出较正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物更强的抑菌作用, C_{E50} 值为 0.01 $g \cdot L^{-1}$ 。

表 2 美国山核桃叶各提取物对 6 株菌种的半数抑菌质量浓度

Table 2 C_{50} of different extracts of *Carya illinoensis* against 6 species of strains

菌种	提取物	不同药液质量浓度死亡率/%					回归方程	相关系数	$C_{50}/(g \cdot L^{-1})$
		10.00	5.00	2.50	1.25	0.65			
	总浸膏	55.00	69.44	64.44	65.37	70.19	$y=5.46-0.237 2 x$	-0.682 1	1.94
	水	64.52	66.81	70.48	68.19	67.07	$y=5.46-0.059 7 x$	-0.463 9	>200.00
黄曲霉	正丁醇	63.15	68.89	70.19	67.41	68.15	$y=5.47-0.077 7 x$	-0.497 5	>200.00
霉菌	石油醚	57.78	66.85	65.19	65.74	62.22	$y=5.35+9.000 0 x$	-0.328 1	0.91
	氯仿	68.37	69.48	71.74	69.63	68.85	$y=5.50-0.010 6 x$	-0.133 3	>200.00
	乙酸乙酯	61.30	61.30	68.15	67.04	65.74	$y=5.41-0.131 7 x$	-0.712 6	>200.00
	总浸膏	52.96	59.26	60.56	57.96	52.59	$y=5.14+0.017 6 x$	0.088 0	0.00
酵母菌	水	55.00	58.15	59.63	52.96	50.74	$y=5.06+0.117 1 x$	0.591 8	0.30
	正丁醇	35.56	56.30	56.30	63.33	60.19	$y=5.28-0.489 9 x$	-0.816 0	3.68
	石油醚	59.07	50.74	59.44	58.70	65.19	$y=5.27-0.176 8 x$	-0.624 6	31.79
	氯仿	58.33	54.07	57.04	53.70	59.44	$y=5.15-0.016 1 x$	-0.116 4	>200.00
青霉菌	乙酸乙酯	43.70	69.07	69.26	65.93	61.30	$y=5.39-0.273 0 x$	-0.463 3	27.63
	总浸膏	57.41	64.44	61.11	69.63	68.70	$y=5.45-0.251 2 x$	-0.855 9	59.82
	水	37.78	34.44	34.63	38.52	44.26	$y=4.71-0.151 8 x$	-0.672 5	0.01
	正丁醇	42.59	33.52	34.07	32.22	30.56	$y=4.47+0.234 3 x$	0.865 1	188.21
菌	石油醚	42.04	35.00	35.44	31.04	35.74	$y=4.54+0.150 9 x$	0.658 5	>200.00
	氯仿	63.15	66.11	67.59	56.48	63.33	$y=5.29+0.081 9 x$	0.341 4	0.00
	乙酸乙酯	57.59	58.52	62.22	62.41	66.48	$y=5.35-0.192 2 x$	-0.964 9	62.82
	总浸膏	62.41	62.52	57.96	59.26	59.04	$y=5.20+0.087 9 x$	0.757 7	0.01
根霉菌	水	66.37	70.63	66.41	68.70	65.78	$y=5.42+0.029 5 x$	0.241 6	0.00
	正丁醇	56.96	62.48	66.93	65.33	68.30	$y=5.43-0.228 5 x$	-0.900 9	75.73
	石油醚	65.19	66.11	64.00	65.56	60.74	$y=5.31+0.845 0 x$	0.695 3	0.00
	氯仿	45.22	59.63	64.07	61.11	65.19	$y=5.35-0.358 8 x$	-0.816 5	9.44
菌	乙酸乙酯	49.44	57.41	52.04	54.63	62.78	$y=5.18-0.133 9 x$	-0.746 5	22.21

4 结论与讨论

美国山核桃叶的各提取物中，正丁醇提取物和乙酸乙酯提取物具有最佳抑菌效果。两者均对革兰氏阳性菌(枯草杆菌)具有明显抑制作用，其中正丁醇提取物抑菌效果优于乙酸乙酯提取物；正丁醇提取物对革兰氏阴性菌(大肠埃希菌)抑制作用不明显。各提取物对酵母型真菌和霉菌型真菌也有明显抑菌作用，其中正丁醇提取物对酵母型真菌的抑菌作用明显强于乙酸乙酯提取物，而乙酸乙酯提取物对霉菌型真菌的抑菌作用明显强于正丁醇提取物。此外，石油醚提取物对黄曲霉菌具有最佳抑菌作用。由此推断，美国山核桃叶所含抑菌成分复杂，可分布于不同有机相，且对不同的供试微生物有不同的抑菌效力。

张野平等^[9]对胡桃醌对肿瘤细胞的增殖抑制作用和抗菌作用研究表明，胡桃醌对许多革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑制作用。潘亚琴等^[10]对山核桃叶与美国山核桃叶中化学成分初步分析研究表明，美国山核桃叶与山核桃叶中所含化学成分类型基本相同。由此可见，美国山核桃叶中也可能含有抑菌的有效成分。本实验结果亦表明美国山核桃叶提取物对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌具有明显抑制作用。美国山核桃、山核桃和核桃楸(含有胡桃醌药效成分)^[11]为同属植物，而胡桃醌对许多革兰氏阳性菌和阴性菌均有抑制作用^[9,12]。利用植物亲缘关系来寻找新的药效成分的思路来分析，同属的美国山核桃叶极可能含有类似的药效成分。此外，美国山核桃叶还对新型隐球菌(酵母型真菌)和霉菌型真菌具明显抗菌作用，对此种抗菌作用的有效成分有待于进一步研究。

生物农药是天然存在的或者经过基因修饰的药剂，与常规农药的区别在于其独特的作用方式、低使用剂量和靶标种类的专一性。随着科学技术的迅速发展，生物农药的范畴不断扩大，涉及到动物、植物、微生物中的许多种类及多种与生物有关的具有农药功能的物质。日益成长的有机农业使得生物农药

的需求逐渐上扬,而美国山核桃在长江流域以南各省林储丰富,从资源利用的角度可考虑在保护基础上进行合理开发。美国山核桃是落叶乔木,秋末冬初,叶会全部凋落,次年重新长出新叶,叶资源可不断再生,因此,开发利用美国山核桃叶资源切实可行。

参考文献:

- [1] 易醒, 谢明勇, 肖小年. 胡桃科植物化学及生物活性研究概况[J]. 中草药, 2001, **32**(6): 559 - 561.
YI Xing, XIE Mingyong, XIAO Xiaonian. Survey of chemical constituents and bioactivity of Juglandaceae plants [J]. *Chin Trad Herbal Drug*, 2001, **32**(6): 559 - 561.
- [2] CHAO S H, GREENLEAF A L, PRICE D H. Juglone, an inhibitor of the peptidyl-prolyl isomerase Pin1, also directly blocks transcription [J]. *Nucl Acids Res*, 2001, **29**(3): 767 - 773.
- [3] 王春玲, 包永明, 段彦龙, 等. 胡桃楸树对 HeLa-PC-3 细胞作用的研究[J]. 肿瘤学杂志, 2003, **9**(3): 144 - 146.
WANG Chunling, BAO Yongming, DUAN Yanlong, et al. A study on effect of *Juglans mandshurica* on HeLa and PC-3 cells [J]. *J Oncol*, 2003, **9**(3): 144 - 146.
- [4] 胡旭姣, 赵肖君, 周奋, 等. 山核桃提取物体外抗肿瘤作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2007, **25**(2): 369 - 370.
HE Xujiao, ZHAO Xiaojun, ZHOU Fen, et al. The anti-tumor effects of *Carya cathayensis* Sarg. extracts in vitro[J]. *Chin Arch Trad Chin Med*, 2007, **25**(2): 369 - 370.
- [5] 殷舒, 毛胜凤, 杨琼霞, 等. 山核桃叶片提取物的抑菌作用[J]. 浙江林学院学报, 2007, **24**(5): 604 - 607.
YIN Shu, MAO Shengfeng, YANG Qionxia, et al. Bacteriostasis and fungistasis with extracts from *Carya cathayensis* leaves[J]. *J Zhejiang For Coll*, 2007, **24**(5): 604 - 607.
- [6] 刘建萍, 由宝昌, 于岩, 等. 大叶胡颓子叶抗菌活性部位的研究[J]. 时珍国医国药, 2012, **23**(2): 293 - 294.
LIU Jianping, YOU Baochang, YU Yan, et al. The antibacterial active situs of *Elaeagnus macrophylla* Thunb. leaves [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2012, **23**(2): 293 - 294.
- [7] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京: 北京医科大学·中国协和医科大学联合出版社, 1998: 1409.
- [8] 高苇, 李宝聚, 石延霞, 等. 咪鲜胺对糙皮侧耳(平菇)污染菌绿色木霉的抑制作用[J]. 中国蔬菜, 2012(16): 75 - 79.
GAO Wei, LI Baoju, SHI Yanxia, et al. Inhibitory effect of prochloraz on *Trichoderma viride* contaminated *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Quèl. [J]. *China Veg*, 2012(16): 75 - 79.
- [9] 张野平, 杨志博. 胡桃醌对肿瘤细胞的增殖抑制作用和抗菌作用[J]. 沈阳药学院学报, 1993, **10**(4): 271 - 274.
ZHANG Yeping, YANG Zhibo. The antiseptic effect of Juglone and its inhibition effect on tumor cells multiplication [J]. *J Shenyang Coll Pharm*, 1993, **10**(4): 271 - 274.
- [10] 潘亚琴, 李全清, 张森尧, 等. 山核桃叶与美国山核桃叶中化学成分的初步分析[J]. 中华中医药学刊, 2008, **26**(11): 2517 - 2519.
PAN Yaqin, LI Quanqing, ZHANG Sengyao, et al. Study on chemical components in the leaves of *Carya cathayensis* and *C. illinoensis* [J]. *Chin Arch Trad Chin Med*, 2008, **26**(11): 2517 - 2519.
- [11] 姚振生, 叶荷平, 陈杰, 等. 野核桃叶提取物的体外抗菌作用[J]. 江西中医学院学报, 2001, **13**(3): 122.
YAO Zhensheng, YE Heping, CHEN Jie, et al. Comparative study on vitro activity of extract from *Juglans cathayensis* Dode [J]. *J Jiangxi Coll Trad Chin Med*, 2001, **3**(3): 122.
- [12] 蒋剑平, 熊耀康, 姚振生, 等. 华东野山核桃叶提取物体外抗菌作用研究[J]. 浙江中医学院学报, 2005, **29**(3): 75 - 76.
JIANG Jianping, XIONG Yaokang, YAO Zhensheng, et al. Comparative study on vitro activity of extract from *Folium Juglans cathayensis* [J]. *J Zhejiang Coll Trad Chin Med*, 2005, **29**(3): 75 - 76.