

FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA  
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RAFAEL RIBEIRO DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA ALCACHOFRA (*Cynara scolymus*) FRENTE A *Candida* spp. E A *Trichosporon asahii***

VOLTA REDONDA

2019

**FUNDAÇÃO OSWALDO ARANHA  
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE VOLTA REDONDA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA ALCACHOFRA (*Cynara scolymus*) FRENTE A *Candida* spp. E A *Trichosporon asahii***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas com ênfase em biotecnologia do UniFOA para obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas

Aluno:

Rafael Ribeiro da Silva

Orientador:

Prof.: Dr. Renato Teixeira

**VOLTA REDONDA**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Bibliotecária: Alice Tação Wagner - CRB 7/RJ 4316

S586a Silva, Rafael Ribeiro da.

Atividade antifúngica da alcachofra (*Cynara scolymus*) frente a *Candida spp.* e a *Trichosporon asahii*. / Rafael Ribeiro da Silva. – Volta Redonda: UniFOA, 2019.

21 p. II.

Orientador (a): prof. Dr. Renato Teixeira

Monografia (TCC) – UniFOA / Curso de Ciências Biológicas – Bacharelado com ênfase em Biotecnologia, 2019.

1. Ciências Biológicas - TCC. 2. Metabólitos. 3. Antifúngicos. 4. Microplacas. I. Teixeira, Renato. II. Centro Universitário de Volta Redonda. III. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno:  
Rafael Ribeiro da Silva

Título:  
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DA ALCACHOFRA (*Cynara scolymus*) FRENTE A  
*Candida* spp. E A *Trichosporon asahii*

Orientador:  
Prof. Dr. Renato Teixeira

A minha família, que sempre me apoiou, aos meus Professores, que me guiaram nessa jornada pelas sendas do conhecimento e aos meus amigos, que muitas vezes, abdicaram da minha companhia, enquanto eu fazia esse trabalho sem, contudo, jamais me abandonar. A todos, dedico esse trabalho de coração sincero.

## **AGRADECIMENTOS**

A minha família, que me suportou e deu forças durante todo o meu tempo acadêmico, aos professores, que com dedicação, amor e extrema paciência, abasteceram-me com seu saber, permitindo que eu pudesse evoluir, enquanto pessoa e enquanto acadêmico. Aos companheiros, os antigos, que há muito estão ao meu lado, aos novos, que surgiram para trazer novo brilho ao meu caminho, aos que se foram, deixando a saudade e as boas lembranças. A todos que, de alguma forma, fizeram parte desse momento maravilhoso de minha vida, os meus anos acadêmicos, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

O crescente número de fungos que apresentam resistência aos fármacos antifúngicos tradicionais, bem como os efeitos indesejados desses medicamentos, tem levado à busca por substância antifúngicas derivadas de vegetais. Os metabólitos secundários, extraídos de plantas, são uma alternativa viável. Este estudo teve o objetivo de testar o extrato etanólico de *Cynara scolymus* frente a quatro espécies do gênero *Candida* e a espécie *Trichosporon asahii*. As cepas dos micro-organismos foram incubadas com o extrato, utilizando-se o método de microplacas de 96 poços e realizando a leitura com leitor de microplacas. O extrato de alcachofra foi consideravelmente eficaz contra o fungo *T. asahii*. Foi menos inibidor contra as espécies *C. parapsilosis* e *C. famata*, e *C. tropicalis* e não inibiu o crescimento de *C. albicans*. O trabalho sugere ainda, que haja mais pesquisas com a planta frente a estes e outros micro-organismos, assim como a utilização de outros métodos de pesquisa e ou outros solventes e diluições.

**Palavras Chave:** *Cynara scolymus*; Metabólitos; Antifúngicos; Microplacas.

## ABSTRACT

The growing number of fungi that are resistant to traditional antifungal drugs, as well as the unwanted effects of these drugs, have led to the search for plant-derived antifungal substances. Secondary metabolites, extracted from plants, are a viable alternative. This study aimed to test the ethanolic extract of *Cynara scolymus* against four species of *Candida* genus and the species *Trichosporon asahii*. The strains of the microorganisms were incubated with the extract, using the 96-well microplate method and reading with a microplate reader. Artichoke extract was considerably effective against the fungus *T. asahii*. It was less inhibitory against *C. parapsilosis* and *C. famata* and *C. tropicalis* species and did not inhibit the growth of *C. albicans*. The work also suggests that there be more research with the plant against these and other microorganisms, as well as the use of other research methods and or other solvents and dilutions.

**Key Words:** *Cynara scolymus*. metabolites. antifungals. microplates

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS VEGETAIS .....	14
2.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO .....	14
2.3 OBTENÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS.....	14
2.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO SOBRE OS FUNGOS.	15
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>21</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Catalogação das amostras .....	15
Tabela 2 – Resultados para a concentração 1: 2 .....	16
Tabela 3 – Resultados para a concentração 1:4 .....	17

## LISTA DE FIGURAS

Gráfico 2 – Resultados para a concentração 1:2 .....	17
Gráfico 3 – Resultados para a concentração 1:4 .....	18

## 1 INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população para diversos fins, muitas vezes, sem a comprovação científica de seus benefícios para a saúde, baseado apenas no conhecimento popular, o qual é passado apenas oralmente por gerações ou através do isolamento de substâncias de origem vegetal para a obtenção de fármacos. Estima-se que vinte e cinco mil de espécies de plantas são usadas em todo o mundo. Os fitoterápicos têm baixo custo e podem ser usados conjuntamente com a medicina alopática, além de seu uso ser incentivado pela OMS. As plantas medicinais são benéficas ao homem, pois possuem substâncias que chamamos de metabólitos secundários, as quais podem ser utilizadas para diversos fins na área da saúde. Os principais grupos de compostos com propriedades antimicrobianas, extraídos de plantas, incluem: terpenóides e óleos essenciais; alcalóides; lectinas e polipeptídios e substâncias fenólicas e polifenóis, que são: fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonas, flavonóis e flavonoides, tanino e cumarinas. (CAPASSO *et al.*, 2003)

Dentre estes compostos tem destaque os flavonóides em relação a atividade antimicrobiana. A alcachofra (*Cynara scolymus*) pertence à família Asteraceae e foi introduzida no Brasil por imigrantes europeus a cerca de cem anos (DONIDA, 2004). Nativa do sul da Europa e norte da África, é uma planta de clima temperado a frio. Seus efeitos na saúde humana têm sido bastante estudados. Costa *et al.* (2016) relatam que, entre as várias aplicações da alcachofra, pode-se citar: atividade hepatoprotetora, anticarcinogênica, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatória, probiótica, atuando também na redução do colesterol. ZHU *et al.* (2005) afirmam que *C. scolymus* possui atividade antifúngica, porém, ainda assim, há poucos relatos sobre tal propriedade e contra qual micro-organismo se mostra eficaz.

Por isso pesquisas que busquem o conhecimento e comprovação das propriedades desta planta são de grande importância. Uma vez que um dos compostos importantes identificados nos tecidos da alcachofra são os flavonoides (LATTANZIO *et al.*, 2002; LLORACH *et al.*, 2002; SCHÜTZ *et al.*, 2004; PANDINO *et al.*, 2011), principalmente as flavonas, cujos compostos são dotados de atividade antimicrobiana. Com frequência, as infecções fúngicas são de difícil tratamento, fato intrinsecamente relacionado à aquisição por parte de seus agentes etiológicos de resistência frente à ação de antifúngicos (ARAÚJO *et al.*, 2004). A alcachofra

pertence a lista da RENISUS. Esta é constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2009).

O gênero *Candida* compreende espécies de leveduras que habitam a microbiota normal do corpo humano, sem causar doenças a indivíduos saudáveis. Porém, quando acontece um desequilíbrio biológico, resultante de fatores patológicos e ou imunológicos, pode ocorrer a invasão e multiplicação destes fungos nos tecidos, gerando infecções denominadas candidíases. Entre as principais espécies de interesse clínico estão *C.albicans*, *C parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C.glabrata*, *C.krusei*, *C.guilliermondii* e *C.lusitaniae*, sendo *C. albicans* a espécie mais frequentemente isolada de infecções (CHEBABO, 2016).

Sobre a espécie *C. albicans* sabe-se que é naturalmente sensível a todas as drogas antifúngicas de uso sistêmico, mas casos de resistência adquirida a azólicos são conhecidos em pacientes que foram expostos prolongadamente a estes medicamentos. A *Candida tropicalis* possui considerável potencial biológico como agente oportunista, quando o hospedeiro se encontra neutropênico, quando há supressão da microbiota bacteriana pelo uso de antimicrobianos e danos na mucosa gastrointestinal, tem sido relatada como o segundo ou terceiro agente etiológico mais comum de candidemia, em pacientes com neoplasias, sendo sua frequência maior em leucemias e menor em tumores sólidos. Os isolados clínicos desta espécie são sensíveis a anfotericina B e, na grande maioria das vezes, aos triazólicos. A *Candida parapsilosis* apresenta-se, desde os anos 80, como um importante patógeno hospitalar de fungemias, sendo responsável por 7% a 15% das candidemias na maioria das séries publicadas nos EUA e Europa. Sua ocorrência é ainda maior em crianças e recém-nascidos prematuros internados em unidades de terapia intensiva, onde a prevalência de candidemias por *C. parapsilosis* é de 17 a 50% dos casos. Caracteristicamente, *C. parapsilosis* prolifera-se em soluções contendo glicose, tem grande capacidade de produzir biofilme e frequentemente coloniza a pele (GIOLO e SVIDZINSK, 2019)

Quanto a *Candida famata* é uma levedura comensal encontrada no queijo, produtos lácteos e no meio ambiente. Tem sido descrito em infecções em humanos, incluindo infecções da corrente sanguínea relacionadas a cateteres, peritonite, retinopatia oculta zonal aguda e mediastinite. É uma causa rara de candidíase, representando apenas 0,2% a 2% dos isolados coletados de estudos de vigilância

antifúngica. Concentrações Inibitórias Mínimas(CIMs) elevadas de agentes antifúngicos têm sido descritas e preocupam o tratamento de candidíase invasiva por *C. famata*. (GIOLO e SVIDZINSKI, 2018)

As infecções fúngicas por *Trichosporon asahii* têm sido cada vez mais frequentes nas últimas duas décadas. Quadros graves, com alta mortalidade, são tradicionalmente descritos em pacientes neutropênicos com câncer. Recentemente, a infecção tem ocorrido também em outros grupos de pacientes (LAGE *et al.*, 2008).

Assim, o presente estudo teve por objetivo analisar a eficácia do extrato etanólico de *C. scolymus* frente a quatro espécies desses fungos patógenos: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *C. famata* e o fungo *Trichosporon asahii*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de biotecnologia do Centro Universitário de Volta Redonda - UniFOA.

### 2.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS VEGETAIS

Os vegetais foram adquiridos em estabelecimento do setor de hortifrutigranjeiro da cidade de Volta Redonda-RJ, mantidos em refrigeração até o momento do preparo do extrato.

### 2.2 PREPARAÇÃO DO EXTRATO

O preparo do extrato foi realizado segundo metodologia da farmacopéia brasileira, adaptada por Yunes et al.(2000). As amostras de alcachofra, tiveram suas folhas separadas e secas, em estufa a 40°C por 5 dias, até atingirem peso constante. Após secas, as folhas foram colocadas em contato com solução hidroalcoólica a 70% durante uma semana. Desta forma, pelo método de percolação a frio com álcool 70% obteve o extrato bruto da alcachofra.

### 2.3 OBTENÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS

A pesquisa do efeito antifúngico do extrato hidroalcoólico de alcachofra foi realizada com quatro espécies de fungo leveduriforme, do gênero *Candida*, sendo elas, *C.albicans*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.famata*, além do fungo *Trichosporon asahii*.

As cepas, pertencentes, à coleção de cultura do UniFOA, estavam congeladas a -20°C e, para ativação das células, as respectivas cepas foram descongeladas a temperatura ambiente e transferidas, individualmente, em câmara de fluxo laminar para tubos contendo 2 mL de caldo BHI, devidamente esterilizados, incubadas a 37°C por 24 horas. Após crescimento no caldo BHI, as leveduras foram cultivadas individualmente em Ágar Sabouraud, por 24 horas, a 37 °C, para obtenção das colônias. As amostras foram divididas, de acordo com a espécie, e são apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1** – Catalogação das amostras

Amostra	Espécie
5	<i>C. albicans</i>
9	<i>C. famata</i>
10	<i>C. tropicalis</i>
14	<i>C. parapsilosis</i>
17	<i>T. asahii</i>

Fonte: Autoria Própria (2019)

As amostras apresentadas na tabela 1 foram selecionadas para a análise dos resultados, por sua melhor qualidade de UFC (Unidade Formadora de Colônia)

Para o presente estudo, as amostras foram inoculadas em triplicata, em microplacas de 96 poços em duas concentrações diferentes (1:2, sendo 100µl do meio e 100µl de extrato; e 1:4, sendo 150µl do meio e 50µl do extrato). Também foi inoculado o meio BHI puro e nas mesmas concentrações de meio e extrato, para meio e salina (1:2 e 1:4).

#### 2.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO SOBRE OS FUNGOS

Após o crescimento das leveduras, a preparação do inóculo foi realizada utilizando as colônias isoladas, onde as mesmas foram coletadas com auxílio de uma alça bacteriológica e suspensas em tubo, contendo 2 mL de BHI estéril, até a observação da turbidez, à escala 0,5 de McFarland, equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL.

O inóculo padronizado foi então distribuído em placa de 96 poços. As inoculações foram feitas em diluições 1:2 e 1:4. Também foram inoculadas as mesmas do meio com patógenos e salina. Como branco de cada prova, foi inoculado o meio BHI, com extrato e com salina nas mesmas proporções, assim como o meio puro. As amostras foram incubadas a 37°C por 24 horas e, após o tempo de incubação, foi realizada a leitura, em leitor de microplacas a 620 nm.

Para calcular o resultado dividiu-se a absorbância obtida nos poços contendo o extrato após o cultivo pela absorbância obtida nos poços contendo a respectiva cepa bacteriana crescida em meio sem a adição do extrato. No intuito de verificar o possível efeito da diluição do meio e não do extrato, o cálculo também foi realizado com as absorbâncias dos tubos com crescimento em salina.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que em ambas as concentrações testadas, o *T. asahii* foi o mais suscetível ao extrato etanólico da alcachofra dentre os fungos testados, sendo na diluição 1 para 2, seguido por *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. albicans*. A espécie *Candida famata* não teve seu crescimento inibido em nenhuma concentração testada. A tabela 2 apresenta os resultados para essa diluição.

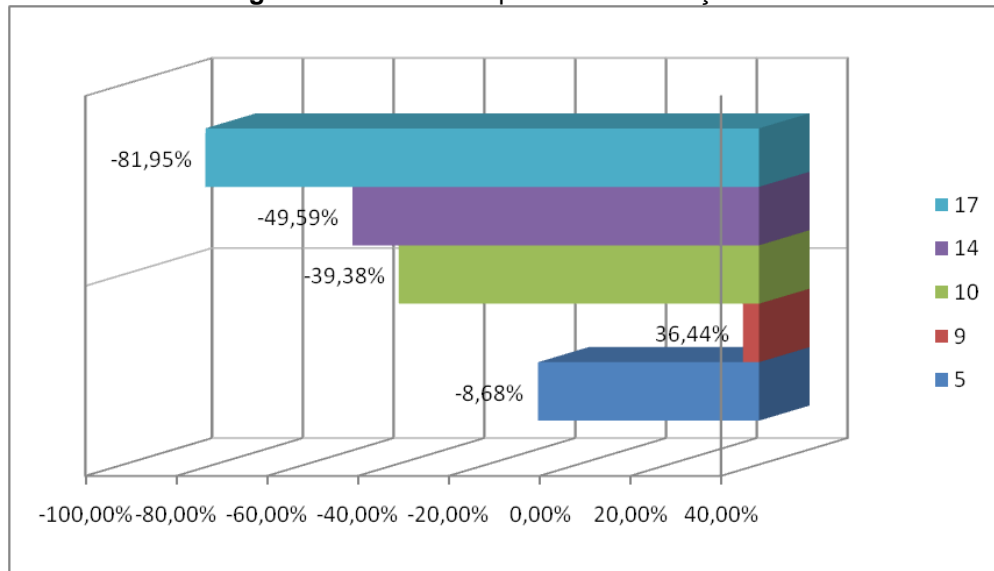
**Tabela 2 – Resultados para a concentração 1:2**

Amostras	BHI + extrato		BHI + salina		REDUÇÃO EXTRATO x SALINA
	MÈDIA	DESVIO	MÈDIA	DESVIO	
<i>C. albicans</i>	1,076	0,124	1,179	0,048	-8,68%
<i>C. famata</i>	0,683	0,058	0,500	0,050	36,44%
<i>C. tropicalis</i>	0,470	0,189	0,775	0,075	-39,38%
<i>C. parapsilosis</i>	0,325	0,043	0,645	0,067	-49,59%
<i>T. asahii</i>	0,237	0,075	1,315	0,037	-81,95%

Fonte: Aatoria Própria (2019)

Os resultados para a concentração 1 para 2 são rerepresentados na figura 2, a fim de facilitar a leitura desses.

**Figura 1 – Resultados para a concentração 1:2**



Fonte: Aatoria Própria (2019)

A diluição 1 para 4 mostrou-se pouco eficiente, uma vez que inibiu bem pouco o crescimento microbiano. Ainda assim o *Trichosporon asahii* foi o mais afetado.

A tabela 3 mostra os resultados para essa diluição.

**Tabela 3 – Resultados para a concentração 1:4**

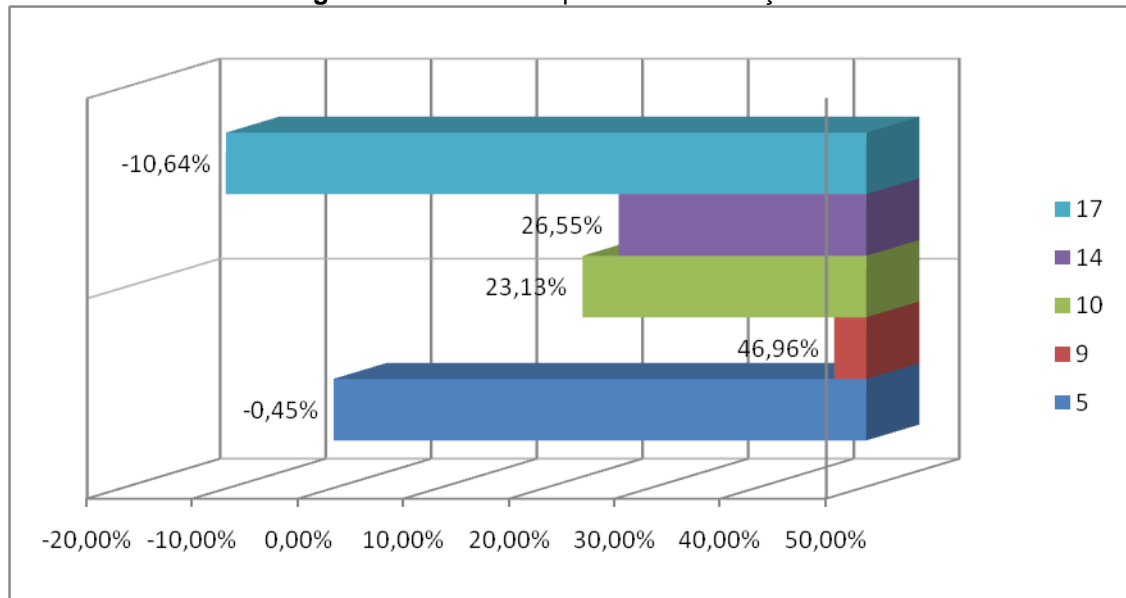
Amostras	BHI + extrato		BHI + salina		REDUÇÃO EXTRATO x SALINA
	MÉDIA	DESVIO	MÉDIA	DESVIO	
<i>C. albicans</i>	1,330	0,013	1,336	0,011	-0,45%
<i>C. famata</i>	0,999	0,013	0,680	0,061	46,96%
<i>C. tropicalis</i>	1,157	0,011	0,940	0,068	23,13%
<i>C. parapsilosis</i>	0,926	0,012	0,732	0,054	26,55%
<i>T. asahii</i>	1,329	0,014	1,488	0,018	-10,64%

Fonte: Autoria Própria (2019)

Observa-se, na tabela 3, uma fraca inibição contra *C. albicans* e ação nula contra as outras espécies testadas do gênero. Uma ação bastante reduzida, em relação a diluição 1: 2 para o *T. asahii*.

A figura 2 representa, de forma visual, os resultados para 1:4.

**Figura 2 – Resultados para a concentração 1:4**



Fonte: Autoria Própria (2019)

O fungo *T. asahii* sendo relatado como causa de infecção em pacientes imunocomprometidos. Kubiça (2016) destaca o aparecimento de cepas resistentes a antifúngicos azólicos. Assim os resultados obtidos podem indicar a alcachofra como uma possível fonte alternativa aos medicamentos atualmente utilizados.

Diferente dos experimentos realizados por Zhu *et al.* (2004 e 2005), nos quais foi constatado uma considerável ação antifúngica das folhas da alcachofra, utilizando etanol como solvente, frente a *C. albicans* e *C. lusitaniae*, entre outras cepas de fungos. Na referida pesquisa os extratos foram testados utilizando-se o método de difusão em placa de ágar.

Sobre essa divergência nos resultados entre os estudos, deve-se levar em consideração que os compostos químicos produzidos pelos vegetais podem variar, de acordo com a região geográfica em que foram cultivados, sazonalidade, qualidade e quantidade dos nutrientes presentes no solo, entre outros diversos fatores.

#### **4 CONCLUSÃO**

O extrato das folhas da alcachofra inibiu consideravelmente o crescimento do fungo *Trichosporon asahii*, utilizando uma diluição 1:2, sendo o melhor resultado dentre as cepas testadas. Foi pouco efetivo frente às espécies *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*. Diferentemente dos resultados descritos na literatura, não inibiu o crescimento de *C. famata*, em nenhuma concentração.

Diante dos resultados obtidos e informações descritas na literatura, conclui-se que são necessários mais estudos em relação à atividade antifúngica e antimicrobiana da alcachofra. Mais pesquisas devem ser realizadas frente a outros micro-organismos e utilizando-se solventes diferentes. Assim como também devem ser mais estudados extratos de outras partes da planta como caule.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO J.C.L.V. et al. 2004 **Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunista.** Rev Patol Trop 33: 55-64
- CAPASSO, F. et al. **:Fitoterapia: uma referência rápida a fisioterapia.** Berlin: Springer, 2003. 424p.
- CARDOSO, T. S. **Papel do ATP na infecção de Macrófagos por Candida albicans.** Coimbra: Universidade de Coimbra, 2017.
- CHEBABO, A. **Fatores de risco e tratamento de infecções fúngicas em UTI.** São Paulo: DASA, 2016.
- CUNHA, R. A. **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos da folha e casca de *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. sobre espécies de *Cândida* de interesse médico.** Campina Grande- PB. Universidade Estadual da Paraíba, 2012
- DONIDA BT. **Produção e qualidade de sementes da alcachofra.** Pelotas: UFPEL. 54p, 2004.
- GIOLO, M. P.; SVIDZINSK, T. I. E. **Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia.** Bras Patol Med Lab, v. 46, n. 3, p. 225-34, junho 2019.
- HIGA, K. C. **Atividade Anti-inflamatória e citotoxicidade dos extratos glicólicos de *Cynaracardunculus var. scolymus* (L.) Fiori (Alcachofra), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão) e *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Chá Verde).** 2016 Tese (Doutorado em Bioatologia Bucal) Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José dos Campos, SP
- KUBIÇA, T. F. **Caracterização molecular e prospecção de combinações antifúngicas Sinérgicas “in vitro” frente a *Trichosporon asahii* antes e após exposição prolongada a luconazol.** Universidade Federal de Santa Maria. 2016.
- MATTEDE et al. **Infecções urinárias causadas por *Trichosporon* spp. em pacientes graves internados em unidade de terapia intensiva.** Rev Bras Ter Intensiva, v. 3, n. 27, p. 247-51, 2015.
- PINHO, L. et al. **Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim- pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi.** I Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Montes Claros, MG, 2011.
- PISTORI, R. P. et al. **Endocardite fúngica por *Trichosporon asahii*: relato de um caso raro em imunocompetentes.** Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 100-3, 2019.

QUEIROZ, T. M.; GOMES, C. F. ALVES, M. A. S. G. **Alcachofra (Cynarascolymus., Asteraceae): Uma Fonte Promissora de Atividades Biológicas.** Revista Campo do Saber. Vol.1, 2015

REOLON-COSTA, A.; GRANDO, M. F.; CRAVERO, V. P. **Alcachofra (Cynaracardunculus L. var. scolymus (L.) Fiori): Alimento funcional e fonte de compostos promotores da saúde.**Revista Fitos. Rio de Janeiro, Vol, 10(4).2016.

SANTO, E. P. T. E.; SILVA, S. H. M. **Gênero Trichosporon: características bioquímicas e fisiológicas de isolados recuperados de espécimes clínicos diversos.** Belém: Instituto Evandro Chagas, 2011.

Zhu X, Zhang H, Lo R. 2004. Phenolic **compounds from the leaf extract of artichoke (Cynara scolymus L.) and their antimicrobial activities.** J Agric Food Chem. 52:7272-8.

Zhu X, Zhang H, Lo R. 2005. **Antifungal activity of Cynara scolymus L. extracts.** Fitoterapia.