O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI XABARLARI, 2023, [3/2/1]
ISSN 2181-7324

BIOLOGIYA
http://journals.nuu.uz
Natural sciences

UDK: 579.222.3

Ulug’bek YUSUPOV,
O‘zbekiston Milliy universiteti o’qituvchisi, PhD
yusupov.ulugbek.0304@gmail.com

(PhD), katta ilmiy xodim A.A. Abduraximov taqrizi asosida

EFFECTS OF AN EPIGENETIC MODIFIER AND ELICITOR ON THE ENDOPHYTIC FUNGUS *PENICILLIUM ROQUEFORTI 12PH*

Annotation

This article sheds light on changes in biomass formation and antimicrobial activity against test pathogenic strains under the influence of epigenetic modifiers and elicitors of the endophytic fungus *Penicillium roqueforti 12Ph* isolated from the medicinal plant *Peganum harmala*. The results of the experiments showed that the maximum amount of secondary metabolites with antibacterial properties was reached on the 13th day, and at the same time, it was found that their antibacterial activity increased by 30-40%. Using these results, in the future, epigenetic modifiers and elicitors can be used to restore and enhance various activities of endophytic fungi.

Key words: *Penicillium roqueforti*, endophytic fungus, epigenetic modifier, elicitor, ethanol, quercetin.

ВЛИЯНИЕ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО МОДИФИКАТОРА И ЭЛИСИТОРА НА ЭНДОФИТНЫЙ ГРИБ *PENICILLIUM ROQUEFORTI 12PH*

Аннотация

В статье освещены изменения биомассообразования и антимикробной активности в отношении тест-патогенных штаммов под влиянием эпигенетических модификаторов и элиситоров эндофитного гриба *Penicillium roqueforti 12Ph*, выделенного из лекарственного растения *Peganum harmala*. Результаты экспериментов показали, что максимальное количество вторичных метаболитов с антибактериальными свойствами достигается на 13-е сутки, при этом установлено, что их антибактериальная активность увеличивается на 30-40%. Используя эти результаты, в будущем эпигенетические модификаторы и элиситоры могут быть использованы для восстановления и усиления различных активностей эндофитных грибов.

Ключевые слова: *Penicillium roqueforti*, эндофитный гриб, эпигенетический модификатор, элиситор, этанол, кверцетин.

PENICILLIUM ROQUEFORTI 12PH ENDOFIT ZAMBURUG'IGA EPIGENETIK MODIFIKATOR VA ELISITORNING TA'SIRI

Annotatsiya

Ushbu maqola dorivor o’simlik *Peganum harmala* o’simligidan ajratilgan *Penicillium roqueforti 12Ph* endofit zamburug’ining epigenetik modifikator va elisitor ta’sirida biomassa hosil qilishi va test patogen shtammlarga nisbatan antimikrob faolligining o’zgarishini yoritadi. Tajribalar natijalari shuni ko’rsatdiki, 13-kunda antibakterial xususiyatga ega ikkilamchi metabolitlarning maksimal miqdoriga yetishi va shu bilan birga ularning antibakterial faollikni 30-40% ga oshirganligi aniqlandi. Ushbu natijalardan foydalangan holatda kelgusida endofit zamburug’larning turli faolliklarini qayta tiklash va kuchaytirish maqsadida epigenetik modifikator va elisitorlardan foydalanish mumkin.

Kalit so‘zlar: *Penicillium roqueforti,* endofit zamburug', epigenetik modifikator, elisitor, etanol, kversitin.

Kirish. Dunyoda insonlar tomonidan antibiotik preparatlarining noto'g'ri va noo'rin foydalanishi sababli kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlarning barqarorlik xususiyatining rivojlanishiga olib kelmoqda. Shu sababli, dorivor o'simliklar bilan simbioz holatda yashovchi endofit zamburug'lar asosida davolash xususiyatiga ega bo'lgan yangi antibiotik dori vositalarini yaratish ilmiy amaliy ahamiyatga ega.

Respublikamizda barqaror antibakterial xususiyatga ega biologik faol moddalarni sintez qiluvchi endofit zamburug'larining mahalliy shtammlarini ajratib olish va amaliyotga joriy qilishga alohida e'tibor qaratilmoqda. O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasining to'rtinchi ustivor yo'nalishida [1] “...farmatsevtika sanoatini yanada rivojlantirish, aholi va tibbiyot muassasalarining arzon, sifatli dori vositalari va tibbiyot buyumlari bilan ta'minlanishini yaxshilash, dori-darmonlar narxlarining asossiz o'sishiga yo'l qo'ymaslik bo'yicha chora-tadbirlarni amalga oshirish, aholi o'rtasida kasallanish ko'rsatkichlari pasayishini va umr uzayishini ta'minlash” vazifalari belgilab berilgan. Mazkur vazifalarni amalga oshirishda ayrim dorivor o'simliklarining endofit zamburug'lari tomonidan ishlab chiqariladigan antibakterial xususiyatga ega birikmalarning kimyoviy tarkibi va tabiatini aniqlash, toza holdagi antibakterial dori preparatlarini olish usullarini ishlab chiqish va ushbu zamburug'lardan muqobil, tabiiy manbaalar sifatida foydalanish bo'yicha tadqiqotlarni tadqiqotlarni olib borish muhim ahamiyat kasb etadi.

Mavzuga oid adabiyotlarning tahlili. Bugungi kunda endofit mikroorganizmlardan sanoat miqyosida foydalanish borasida ko'plab tadqiqotlar o'tkazilmoqda. Ammo sanoatlashtirishga to'sqinlik qilayotgan asosiy sabablardan biri bu – endofitlarning sun'iy sharoitda bir qancha avlodini o'stirilganidan so'ng, ulardagi faolliklarning pasayishi yoki butkul yo'qolishidir. Bunday holatlarda endofit mikroorganizmlarning o'sishi va turli biologik faolliklarga ega ikkilamchi metabolitlar sintez qilishini rag'batlantirishda epigenetik modifikatorlar va elisitorlardan foydalanish yaxshi samara berishi mumkin. Epigenetik modifikatorlar zamburug' organizmida DNKni o'rab turgan giston oqsillariga va DNK posttranslatsiyasiga aktivator

yoki supressor sifatida ta'sir etib, ikkilamchi metabolitlar sintezini nazorat qiladi [2; 11–22 - betlar]. Gulyamovaning [3; 851–860 - betlar] zamburug'lar bilan bog'liq bir qancha tadqiqotlarida epigenetik modifikator sifatida flavonoidlarga mansub kvertsetindan foydalanilgan. Bunda kvertsetin endofit zamburug'lar *P. concavoradulozum VE89L* va *A. amstelodami VR177L.* larda o'smaga qarshi faollikka ega vinblastin sintezini rag'batlantirishi qayd etilgan. Zhao X.M. va [4; 1 - bet] boshqalarning ishlarida *Colletotrichum gloeosporioides ES026* endofit zamburug'i uchun metanol hamda etanoldan elisitor sifatida foydalanilgan. Bunda 0,5 dan 2% gacha bo'lgan etanolning kontsentratsiyalari zamburug'ning o'sishini tezlashtirgan bo'lsa, har ikkala elisitor Huperzine A sintezini tezlashtirgan. Shuni aytish kerakki, bunda Huperzine A ning eng yuqori miqdori (51,89% o'sish) 2% etanol bo'lgan ozuqa muhitidan olingan. Tahlillar shuni ko'rsatganki, etanol ham, metanol ham Huperzine A sinteziga kuchli induktor sifatida ta'sir qiladi, etanol esa fermentatsiya paytida qisman uglerod manbai sifatida ishlatilgan.

Tadqiqot metodologiyasi. Obyekt sifatida Toshkent viloyati Qibray tumani dalalarida o'suvchi dorivor o'simliklar: dorivor tirnoqgul (*Calendula officinalis*), oddiy xren (*Armoracia rusticana*),), taroqli gultojixo'roz (*Celosia cristata*), dorivor moychechak (*Matricaria chamomilla*) hamda Samarqand viloyatidan olib kelingan oddiy isiriq (*Peganum harmala*) o'simliklari va ulardan ajratib olingan endofit zamburug'lardan foydalanildi.

Ozuqa muhitlar. Chapek-Doks ozuqa muhiti tarkibi(g/l): $NaNO_3$ - 2.0, K_2HPO_4 - 1.0, $MgSO_4$ - 0.5, KCl - 0.5, $FeSO_4$ - 0.01, saxaroza - 20.0, agar-agar – 20.0, distillangan suv - 1000 ml gacha, pH 7.3±0.2. 1 atm. (121 ºC) 20 minut sterilizatsiya. Glyukoza – 20.0, laktoza – 20.0 va maltoza – 20.0 dan uglerod manbalari sifatida, $(NH_4)_2SO_4$ – 2.0, kazein – 10.0, pepton – 10.0 azot manbalari sifatida va achitqi ekstrakti – 2.0 dan foydalanildi. Mandeles ozuqa muhiti tarkibi(g/l): $(NH_4)_2HPO_4$ - 2.3, KH_2PO_4 1.0, $MgSO_4$ - 0.5, $CaCl_2$ - 0.3, saxaroza - 10.0 + melassa – 10.0, Pepton - 1.0, pH-5.8. Kartoshka dekstrozali bulyon ozuqa muhiti tarkibi(g/l): Kartoshka – 200.0, glyukoza – 20.0, pH -3.5±1. Saburo ozuqa muhiti tarkibi(g/l): glyukoza - 40.0, pepton – 10.0, pH-6.5±1.

Endofit zamburug'larning biomassasidan metabolitlarni ajratib olishda Hazalin [5; 2 - bet] uslubidan foydalanildi. Tadqiqot davomida usul bir oz modifikatsiya qilindi. Bunda 5 g biomaterial Potter gomogenizatorida maydalandi, uni kolbaga solib, etilatsetatdan 1g ga 20 ml nisbatda solindi, xona haroratida tebratgichda 150 ayl/min tezlikka qo'yildi. Keyin aralashma qog'oz filtri orqali filtrlandi va tarkibidagi suvni olib tashlash uchun Na_2SO_4 tuzi 40 mkg/ml miqdorida qo'shildi. Keyin olingan etilatsetatli ekstrakt rotorli bug'latgichda quritildi va olingan quruq massani (3mg/ml) dimetil sulfoksid (DMSO) da eritildi. Olingan ekstrakt boshlang'ich eritma sifatida ishlatildi va +40C haroratda saqlandi.

Zamburug' kultural suyuqligidan ikkilamchi metabolitlarni ajratib olish uchun kultural suyuqlikka 1:1 nisbatda etilatsetat qo'shilib aralashtirib, tindirib qo'yildi. Ajratish voronkasi yordamida suvli qatlam etil atsetatli qatlamdan ajratib olindi. Keyin olingan etilatsetatli ekstrakt rotorli bug'latkichda quritilib, olingan quruq massani (3mg/ml) DMSO da eritildi. Olingan ekstrakt boshlang'ich eritma sifatida ishlatildi va +40C haroratda saqlandi.

Dorivor o'simliklar quritilgan vegetativ qismlaridan 2 g dan olinib, hovonchadan maydalanib, hosil bo'lgan gomogenatga 100 ml 96%li etil spirtidan solib chiqilib, tebratgichda 24 soatga qoldirildi [6; 252–263 - betlar]. Hosil bo'lgan o'simlik ekstraktlari filtrlanib olingan etanolli ekstrakt quritildi va quruq massaning miqdori aniqdandi. Olingan quruq ekstraktlarni DMSO da eritilidi va undan 2% li eritmalar tayyorlandi. Umumiy ekstraktlarning antibakterial faolligi agarga diffuziyalanishi usuli bilan aniqlandi [7; 92 - bet]. Tajriba davomida biroz o'zgartirish kiritildi. Bunda Gram-musbat bakteriyalardan: *Staphylococcus aureus* va *Bacillus subtilis*; Gram-manfiy bakteriyalardan: *Pseudomonas aeruginosa* va *Escherichia coli* lar va achitqilardan *Candida albicans* dan foydalanildi. Barcha bakteriya suspenziyalari MacFarland Standard bo'yicha 0,5 (1,5 × 108 KOE/ml) qilib olindi. Bakterial suspenziyalar 0,5ml miqdorida likobchadagi go'sht-peptonli agar ozuqa muhiti yuzasiga ekib chiqildi va 15 minut inkubatsiya qilindi. Diametri 10 mm li chuqurchalar hosil qilinib, ekstraktlarning DMSO dagi 3 mg/ml li eritmalaridan 100 mkl dan quyildi. Musbat nazorat sifatida 1-Netillin– 30 mkg/disk (2- avlod aminoglikozidlar guruhi), 2-Ofloksatsin–5mgk/disk (1- avlod ftorxinolonlar guruhi), 3-Seftriakson–30 mkg/disk (3- avlod sefalosporinlar guruhi) antibiotiklari olingan. Manfiy nazorat sifatida esa DMSO olindi. Petri likobchalari termostatda 37°C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinganidan so'ng test mikroorganizmlar o'sishini ingibirlash maydoni o'lchandi. Har bir tajriba uch martadan qaytarildi. Eng faol izolyatlarga epigenetik modifikatorning ta'sirini o'rganish maqsadida flavonoid tabiatli kvertsetin dan 100 µM/100ml kontsentratsiyada suyuq Chapek-Doks ozuqa muhitiga qo'shildi. Tebratgichda 180 ayl/min, 28°C haroratda 3, 5, 7, 9, 11, 13 kun davomida o'stirildi. Izolyat biomassalari sentrifugada 6000 ayl/min da ajratib olindi va +4C da saqlandi. Izolyatlarning antibakterial faolligini oshirish maqsadida ozuqa muhitiga umumiy hisobda 2% etanol qo'shildi. Zamburug'lar morfologiyasi 10x100 kattalashtirib ko'rsatadigan yorug'lik mikroskopi yordamida o'rganildi [8; 46 - bet].

Tahlil va natijalar. Keltirilgan ma'lumotlarni tahlil qilib, tadqiqotda *P.roqueforti 12Ph* shtammi o'sishi, ikkilamchi metabolitlar hosil qilishi va antibakterial faolligiga ta'sirini o'rganish uchun epigenetik modifikator sifatida 100 µM kvertsetin va elisitor sifatida umumiy hisobda 2%li etanol suyuq ozuqa muhitlariga qo'shildi. Nazorat sifatida faqat zamburug' inokulyati ekilgan suyuq ozuqa muhiti olindi. Namunalar 3, 5, 7, 9, 11, 13 kun o'stirildi. Olingan biomassalardan ikkilamchi metabolitlar ajratildi va 1mg/ml kontsentratsiyada DMSOda eritildi (3.12-jadvalga qarang).

3.12-jadval

P.roqueforti 12Ph o'sishi, ikkilamchi metabolitlar hosil qilishiga epigenetik modifikator va elisitorning ta'siri

kunlar	nazorat		kversitin		etanol	
	biomassa g/100ml	ekstrakt mg/g	biomassa g/100ml	ekstrakt mg/g	biomassa g/100ml	ekstrakt mg/g
3	1.2±0.15	23.0±0.64	1.1±0.12	20.0±0.67	0.9±0.11	21.0±0.34
5	1.5±0.18	40.0±0.95	1.5±0.13	39.0±0.78	1.8±0.14	41.0±0.54
7	3.2±0.22	80.0±0.77	3.5±0.23	42.0±0.79	4.5±0.33	55.0±0.62
9	2.5±0.21	96.0±0.89	2.8±0.21	82.0±0.85	5.3±0.34	57.0±0.65
11	2.2±0.20	109.0±0.97	2.7±0.22	84.0±0.62	2.8±0.25	68.0±0.67
13	1.5±0.18	87.0±0.88	1.7±0.18	96.0±0.45	2.0±0.14	104.0±0.98

Olingan biomassalar hamda ikkilamchi metabolitlar massalari ma'lumotlari tahlil qilindi. Bunda biomassalarning eng yuqori miqdori etanolli o'stirish uchun 9-kun (5.3±0.34g/100ml) bo'lgan bo'lsa, kvertsetinli o'stirish (3.5±0.23g/100ml) hamda nazorat (3.2±0.22g/100ml) uchun 7-kun bo'lganligi olingan natijalardan aniqlangan. Biroq ikkilamchi metabolitlarning eng yuqori miqdorlari biomassalarnikidan bir muncha farq qiladi.

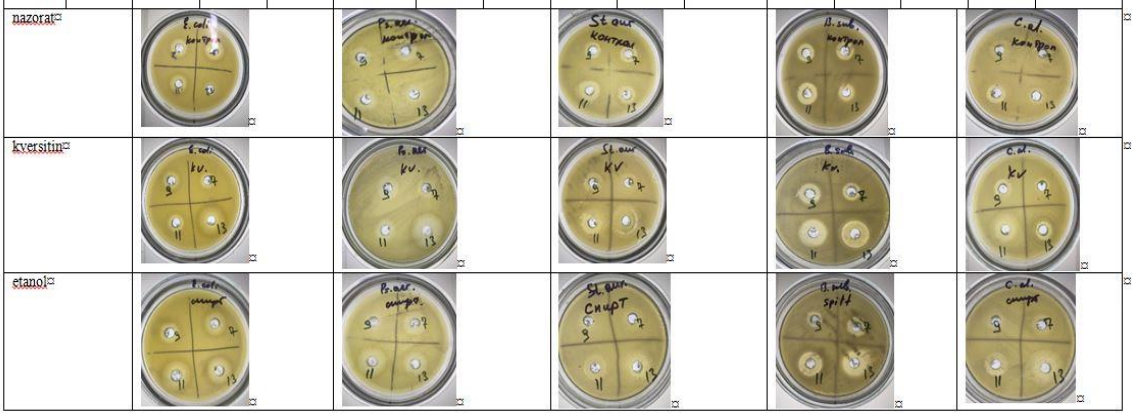
Xususan, etanolli (104.0±0.98 mg/g) va kvertsetinli muhitlarda (96.0±0.45 mg/g) metabolitlarning eng ko'p miqdori 13-kunda kuzatilgan bo'lsa, nazoratda (109.0±0.97 mg/g) eng ko'p ekstrakt 11-kunda ajratilgan. Olingan ikkilamchi metabolitlar ekstraktidan 1mg/ml kontsentratsiyali eritmalar tayyorlanib, antibakterial faolliklari o'rganildi (3.13-jadvalga qarang).

Quyida keltirilgan jadvaldagi ma'lumotlaridan ko'rinib turibdiki, *P.roqueforti 12Ph* shtammining antibakterial faolliklariga epigenetik modifikator va elisitorning ta'siri sezilarli darajada bo'lgan. Xususan, nazoratda yuqori antibakterial faolliklar test-patogenlarga nisbatan asosan 9-, 11-kunlarda kuzatilgan bo'lsa (17-23 mm atrofida), kvertsetinli va etanolli o'stirishda antibakterial faollik 13-kunda eng yuqori natija ko'rsatgan (25-30 mm atrofida). Shu bilan birga aytish mumkinki, epigenetik modifikator va elisitor ta'sirida *P.roqueforti 12Ph* shtammining antibakterial faolligi 30-40% ga oshdi.Ilmiy manbaalarda epigenetik modifikatorlar hamda elisitorlarning zamburug'larda ikkilamchi metabolitlar hosil bo'lishi va antibakterial faolliklarga ta'siri haqida bir qancha qiziqarli ma'lumotlar keltirilgan. Magotra va [9; 1–10 - betlar] boshqalarning ishlarida valproik kislotaning *Grewia asiatica L.* o'simligidan ajratib olingan *Aspergillus fumigatus* (GA-L7) endofit zamburug'iga epigenetik modifikator sifatida ta'siri haqida ma'lumotlar beriladi. Bunda valproik kislota zamburug' genomidagi Afua_6g 12040,-50,-60,-70,-80 genlar ekpressiyasini faollashtirgani va buning oqibatida fumiquinazolin C ning sintezi o'rtacha 10 barobarga oshgani aniqlangan. Li va [10; 983–988 - betlar] boshqalarning ma'lumotlariga ko'ra, Xitoyning *Xanthium sibiricum* dorivor o'simligidan ajratilgan endofit zamburug' *Eupenicillium sp. LG41* ga NAD+ ga bog'liq giston diatsetilaza (HDAC) ingibitori – nikotinamiddan epigenetik modifikator sifatida ozuqa muhitiga qo'shilgan.

3.13-jadval

P.roqueforti 12Ph shtammining antibakterial faolligiga epigenetik modifikator va elisitorning ta'siri

kunlar	nazorat					kversitin					etanol				
	E.coli	*P.aer.*	*S.aur*	*B.sub*	*C.albicans*	*E.coli*	*P.aer.*	*S.aur*	*B.sub*	*C.albicans*	*E.coli*	*P.aer.*	*S.aur*	*B.sub*	*C.albicans*
3	-	-	13±0.19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	14±0.22	14±0.21	13±0.19	13±0.19	13±0.12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16±0.23	17±0.22	15±0.21	15±0.22	15±0.21	14±0.20	14±0.20	15±0.22	14±0.21	13±0.20	15±0.23	18±0.20	15±0.11	15±0.23	15±0.24
9	17±0.21	20±0.18	23±0.25	21±0.25	20±0.24	15±0.21	19±0.22	16±0.23	15±0.22	15±0.21	15±0.22	18±0.19	15±0.21	15±0.22	15±0.21
11	14±0.20	18±0.25	18±0.23	17±0.23	15±0.21	15±0.21	19±0.25	22±0.25	20±0.24	26±0.23	16±0.24	22±0.20	18±0.23	18±0.28	18±0.27
13	14±0.20	18±0.24	15±0.22	14±0.21	15±0.20	26±0.23	28±0.29	25±0.26	21±0.24	26±0.23	20±0.26	22±0.21	20±0.22	19±0.21	30±0.32



Bunda endofitda epigenetik stimulyatsiyasi ta'sirida ikkita yangi o'zida dekalin tutuvchi birikmalar, evpenitsinikollar C va D va hamda ikkita biosintetik bog'liq bo'lgan ma'lum birikmalar, evjavanikol A va evenitinikol A kabi moddalarning ishlab chiqarilishi kuchaygan. Bundan tashqari, evpenitsinikol D ning *S.aureus* ga qarshi antibakterial faolligi (0,1 mkg/ml MIK) hamda odam o'tkir monotsitli leykemiya o'sma hujayralari liniyasiga (THP-1) nisbatan sezilarli sitotoksik ta'siri aniqlangan.

Xulosa va takliflar. Olingan natijalar va ilmiy manbaa ma'lumotlarini tahlil qilib aytish mumkinki, epigenetik modifikator sifatida kvertsetin hamda elisitor sifatida etanol ishlatilganligi endofit zamburug' *P.roqueforti 12Ph* shtammining antibakterial faolligiga ijobiy ta'sir etib, 13-kunda antibakterial xususiyatga ega ikkilamchi metabolitlarning maksimal miqdoriga yetishi va shu bilan birga ularning antibakterial faollikni 30-40% ga oshirganligi aniqlandi. Ushbu natijalardan foydalangan holatda kelgusida endofit zamburug’larning turli faolliklarini qayta tiklash va kuchaytirish maqsadida epigenetik modifikator va elisitorlardan foydalanish mumkin.

ADABIYOTLAR

1. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7-fevraldagi PF-4947-son “O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida” gi Farmoni.
2. R. H. Cichewicz, “Epigenome manipulation as a pathway to new natural product scaffolds and their congeners”, Nat. Prod. Rep., vol. 27, no. 1, pp. 11–22, 2010, doi: 10.1039/B920860G.
3. T.G. Gulyamova, L. Abdulmyanova, D. Ruzieva, G.A. Rasulova, U.K. Yusupov, and R.S. Sattarova, “Effect of Epigenetic Modifiers on Fermentation Parameters of Endophytic Fungi from Plants Growing in Uzbekistan”, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, vol. 8, pp. 851–860, Mar. 2019, doi: 10.20546/ijcmas.2019.803.102.
4. X.M. Zhao et al., “Ethanol and Methanol Can Improve Huperzine A Production from Endophytic Colletotrichum gloeosporioides ES026”, PloS one, vol. 8, p. 1, Apr. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0061777.

5. N. A. Hazalin, K. Ramasamy, S. S. M. Lim, I. A. Wahab, A. L. Cole, and A. B. Abdul Majeed, “Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia”, BMC Complement Altern Med, vol. 9, no. 1, p. 46, Dec. 2009, doi: 10.1186/1472-6882-9-46.
6. E. Darabpour, A. Poshtkouhian Bavi, H. Motamedi, and S. M. Seyyed Nejad, “Antibacterial activity of different parts of Peganum harmala L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria”, EXCLI J, vol. 10, pp. 252–263, Nov. 2011.
7. P. Melvin and M. Weinstein, “Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 13th Edition”, Clinical & Laboratory Standards Institute, p. 92, January 11, 2018.
8. Билай В.И.,"Методы экспериментальной микологии, Справочник", ст. 46, 1982.
9. A. Magotra et al., “Epigenetic modifier induced enhancement of fumiquinazoline C production in Aspergillus fumigatus (GA-L7): an endophytic fungus from Grewia asiatica L.”, AMB Express, vol. 7, p. 43, Feb. 2017, doi: 10.1186/s13568-017-0343-z.
10. G. Li, S. Kusari, C. Golz, H. Laatsch, C. Strohmann, and M. Spiteller, “Epigenetic Modulation of Endophytic Eupenicillium sp. LG41 by a Histone Deacetylase Inhibitor for Production of Decalin-Containing Compounds”, J. Nat. Prod., vol. 80, no. 4, pp. 983–988, Apr. 2017, doi: 10.1021/acs.jnatprod.6b00997.