

Biotransformasi 2E-6E-Farnesol oleh Jamur Endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 yang Diisolasi dari Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* ROXB.)
[Biotransformation of 2E-6E-Farnesol by The Endophytic Fungus *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 isolated from Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* ROXB.)]

Andria Agusta

Laboratorium Fitokimia, Bidang Botani, Puslit Biologi-LIPI, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 169011. Telp. 021-8765066 ext. 1104, E-mail: bislunatin@yahoo.com

Memasukkan: Mei 2013, **Diterima:** Juli 2013

ABSTRACT

The objective of study was to investigate the microbial transformation reaction of 2E-6E-farnesol by the endophytic fungi isolated from temu hitam (*Curcuma aeruginosa* ROXB). The transformation was carried out in PDB with (2E-6E-farnesol), incubated at room temperature (25–32° C) under shaking condition at 120 rpm for two days produced a major biotransformed product. Structure elucidation based on ¹D- and ¹³C-NMR analysis showed that the biotransformed product was 10,11-dihydroxi-2E-6E-farnesol. It was verified that biotransformation reaction of 2E-6E-farnesol into 10,11-dihydroxi-2E-6E-farnesol through an intermediate 10,11-epoxi-2E-6E-farnesol.

Keywords: Temu hitam; *Curcuma aeruginosa*; endophytic fungi; biotransformation; 2E,6E-farnesol; 10,11-dihydroxi-2E,6E-farnesol; 10,11-epoxi-2E-6E-farnesol.

ABSTRAK

Biotransformasi senyawa 2E,6E-farnesol oleh jamur endofit yang diisolasi dari temu hitam (*Curcuma aeruginosa* ROXB) telah dipelajari. Inkubasi senyawa 2E-6E-farnesol di dalam kultur jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 pada medium PDB dengan temperatur ruang (25–32 °C) pada sebuah *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama dua hari menghasilkan suatu produk biotransformasi utama. Elusidasi struktur produk biotransformasi dilakukan berdasarkan hasil analisis ¹D- dan 2D-RMI dan data terpublikasi memperlihatkan bahwa senyawa produk adalah 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol. Pada penelitian ini juga telah diklarifikasi bahwa reaksi biotransformasi 2E-6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol adalah melalui senyawa intermediet 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol.

Kata Kunci: Temu hitam; *Curcuma aeruginosa*; jamur endofit; biotransformasi; 2E,6E-farnesol; 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol; 10,11-epoxi-2E-6E-farnesol.

PENDAHULUAN

Jamur endofit adalah salah satu kelompok mikroba di alam yang hidup di dalam jaringan sehat tumbuhan (Bacon & White, 2000). Di samping sebagai produser senyawa kimia dengan spektrum yang luas (Zhang *et al.* 2006, Tan & Zou 2001), jamur endofit juga memiliki kapabilitas untuk melakukan transformasi komponen kimia tumbuhan inangnya (Shibuya *et al.* 2003; Agusta *et al.* 2005).

Temu-temuan (tumbuhan *Curcuma*)

adalah salah satu tumbuhan obat penting di Indonesia sebagai bahan baku pembuatan jamu. Salah satunya adalah temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.). Rimpang segar temu hitam dilaporkan mengandung beberapa senyawa dari golongan seskuiterpena (Kitamura *et al.* 2007). Senyawa seskuiterpena alifatik 2E,6E-farnesol dikenal sebagai senyawa intermediet (dalam bentuk turunan pirofosfat) seskuiterpena siklik dalam jalur biosintesis seskuiterpena di dalam jaringan tumbuhan, termasuk temu hitam (Dewick 1997; 2002; Croteau *et al.* 2000).

Sebanyak 8 isolat khamir dan 3 jamur filamen dilaporkan telah diisolasi dari rimpang temu hitam (Agusta & Jamal 2011). Salah satu diantara khamir tersebut, yaitu khamir CA1C-4 memiliki kemampuan untuk mentransformasi seanyawa 2*E*,6*E*-farnesol menjadi turunan karboksilatnya 2*E*,6*E*-3,7,11-trimetil-2,6,10-didekatrien-1-karboksilat dengan faktor konversi sebesar 51.3 %. Pada tulisan ini akan dilaporkan biotransformasi 2*E*,6*E*-farnesol oleh isolat jamur filamen *Botryosphaeria* sp. CA2C-3.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan tumbuhan berupa rimpang segar temu hitam, *Curcuma aeruginosa* ROXB. (Zingiberaceae) dikoleksi dari daerah Jasinga, Bogor, Jawa Barat pada Maret 2001. Identifikasi jenis dilakukan di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi, LIPI.

Rimpang segar temu hitam dicuci dengan air sampai bersih. Kemudian disterilisasi permukaannya dengan cara merendam dalam 75% etanol selama 2 menit, 5.3% natrium hipoklorit selama 5 menit dan kemudian dengan 75% etanol selama setengah menit. Rimpang yang telah disterilkan permukaannya tersebut kemudian dipotong dengan ketebalan sekitar 0.25 cm, dan selanjutnya ditaruh di atas medium *corn-malt agar* (CMMA) yang mengandung kloramfenikol (0.05 mg/mL), lalu diinkubasi pada suhu 27 °C selama beberapa hari. Setelah tumbuh, setiap koloni jamur selanjutnya ditransfer beberapa kali ke medium *potato dextrose agar* (PDA) sampai diperoleh koloni tunggal (Agusta *et al.* 2006). Jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 diidentifikasi berdasarkan observasi morfologi dan analisis sekuens rDNA yang meliputi daerah 18S, ITS1, 5.8S dan ITS2 (data tidak dipublikasi).

Jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 ditumbuhkan di dalam Erlenmeyer berukuran

500 mL yang berisikan 200 mL medium PDB pada *rotary shaker* dengan kecepatan agitasi 120 rpm. Setelah diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang (25 - 32 °C), 20 mL larutan steril 2*E*,6*E*-farnesol (96%, Sigma) dalam metanol (1 mg/mL) ditambahkan ke dalam medium tumbuh. Selanjutnya diinkubasi kembali dengan kondisi yang sama. Jalannya reaksi biotransformasi dimonitor dengan melakukan sampling 5 mL medium tumbuh setiap 24 jam dari hari ke-1 hingga hari ke-7 setelah penambahan substrat, dan kemudian diekstraksi dengan kloroform. Selanjutnya sampel dianalisis dengan teknik KLT (SiO₂, *n*-heksana:etil asetat, 8:1) dengan penampakan noda 1% CeSO₄ / 10% H₂SO₄.

Jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 ditumbuhkan di dalam 5 buah Erlenmeyer berukuran 500 mL yang masing-masing berisikan 200 mL medium PDB, dan diinkubasi dengan kondisi yang sama dengan di atas. Setelah 5 hari, 400 mL larutan steril 2*E*,6*E*-farnesol (96%, Sigma) dalam etanol (10 mg/mL) ditambahkan ke dalam medium tumbuh. Selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu ruang (25 - 32 °C), 120 rpm selama 2 hari. Kemudian seluruh medium tumbuh berikut miselia diekstraksi dengan kloroform dan kemudian dipekatkan dengan penguap putar, dan diperoleh 318.5 mg ekstrak. Pemisahan dilakukan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan silika gel (70 - 230 mesh) sebagai fasa diam dan CHCl₃-MeOH (13:1) sebagai fasa gerak sehingga diperoleh 102.7 mg produk utama dan 0.5 mg Fraksi 2 yang diduga mengandung senyawa intermediet.

Struktur kimia produk utama ditentukan berdasarkan analisis ¹H- dan ¹³C-RMI. Spektrum ¹H- dan ¹³C-RMI diukur dengan spektrometer JEOL JNM-Lambda 500 yang dioperasikan pada 500 MHz untuk ¹H dan 125 MHz untuk ¹³C di dalam pelarut *d*₆-CHCl₃. Geseran kimia diberikan dalam skala *d* (ppm) yang relatif

terhadap tetrametilsilana (TMS, $d = 0$) sebagai internal standar, dan konstanta kopling diberikan dalam satuan Herzt.

Sintesis 10,11-epoksi-2*E*,6*E*-farnesol dilakukan dengan menggunakan pereaksi asam meta-kloroparabenoat (MCPBA, Uyanik *et al.*, 2005). Sebanyak 100 mg 2*E*,6*E*-farnesol dilarutkan didalam 10 mL distilat CH₂Cl₂, kemudian ditambah dengan 77 mg MCPBA. Setelah di stirrer selama 30 menit pada temperatur ruang, larutan dicuci dengan 10 mL larutan jenuh NaHCO₃ sebanyak 3 kali. Kemudian dicuci kembali dengan cara pengocokan dengan 10 mL NaCl sebanyak 3 kali dan kemudian fase CH₂Cl₂ dikeringkan dengan MgSO₄ anhidrat. Setelah fase CH₂Cl₂ dipekatkan dengan *rotary evaporator* (temperatur kamar), kemudian dipisahkan dengan kolom kromatografi yang menggunakan 20 g gel silika (70 - 230 mesh) sebagai fase diam. Elusi dilakukan dengan campuran pelarut *n*-heksana – etilasetat (2:1). Senyawa 10,11-epoksi-2*E*,6*E*-farnesol diidentifikasi dengan teknik *gas chromatography-spektrometri massa* (GC-MS).

Fraksi 2 hasil pemisahan ekstrak kloroform yang diduga mengandung 10,11-epoksi-2*E*,6*E*-farnesol (berdasarkan analisis dengan KLT dengan pembanding senyawa hasil sintesis) dianalisis dengan GC-MS (Shimadzu QP-5000) dengan menggunakan kolom kapiler GL Sciences TC-17 (0.25 mm x 30 m) volume injeksi 5 μ l. Pada analisis ini suhu kolom diprogram dari 80 °C *isothermal* selama 3 menit, kemudian dinaikkan menjadi 250 °C dengan kecepatan kenaikan suhu 5 °C/menit. Pada suhu 250 °C suhu kolom dipertahankan selama 5 menit. Suhu injektor diprogram konstan pada 230 °C, interfase 250 °C dan Helium sebagai gas pembawa dengan kecepatan alir 1.3 mL/menit. Identifikasi senyawa intermediet dilakukan dengan cara membandingkannya dengan 10,11-epoksi-2*E*,6*E*-farnesol hasil sintesis.

HASIL

Jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 merupakan salah satu jamur endofit berbentuk filamen dari rimpang temu hitam yang memiliki kemampuan untuk melakukan transformasi 2*E*,6*E*-farnesol di dalam medium PDB setelah diinkubasi selama dua hari pada suhu ruang (25 – 32 °C). Reaksi biotransformasi 2*E*,6*E*-farnesol oleh *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 baru mulai berjalan setelah inkubasi selama 24 jam yang ditandai oleh munculnya *spot* baru pada analisis dengan KLT (data tidak ditampilkan). Selanjutnya pengamatan reaksi biotransformasi secara KLT sampai dengan hari ke tujuh (1 minggu) tidak memperlihatkan adanya perubahan pada pola kromatogram KLT ekstrak CHCl₃ kultur jamur tersebut.

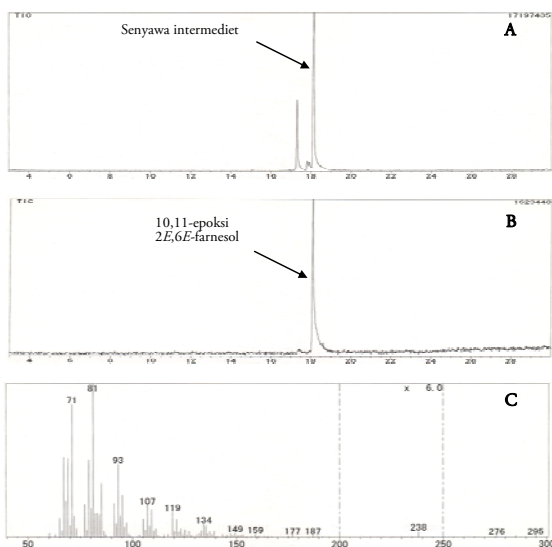
Untuk tujuan isolasi dan karakterisasi produk biotransformasi 2*E*,6*E*-farnesol oleh jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3, maka dilakukan *scaling-up* reaksi biotransformasi menjadi 5 x 200 ml PDB. Dari ekstraksi tersebut diperoleh sebanyak 102.7 mg produk utama. Spektrum ¹H-RMI produk utama memperlihatkan adanya 12 sinyal proton (Tabel 1). Sedangkan spektrum ¹³C-RMI memperlihatkan terdapatnya 15 sinyal atom karbon (Tabel 2). Hasil analisis GC-MS Fraksi 2 yang diperoleh dari pemisahan ekstrak kloroform ditampilkan pada Gambar 1.A dengan spektrum massa pada Gambar 1.C Untuk hasil analisis GC-MS senyawa 10,11-epoksi 2*E*,6*E*-farnesol ditampilkan pada Gambar 1.B.

PEMBAHASAN

Proses biotransformasi 2*E*,6*E*-farnesol oleh *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 diketahui dengan terlihatnya *spot* baru dari hasil analisis dengan KLT. Keberadaan spot baru ini bertambah besar

Tabel 1. ^1H -RMI produk biotransformasi 2E,6E-farnesol.

Atom H	2E,6E-farnesol*	produk biotransformasi	10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol*
1	4.15 (d, $J=7$)	4.15 (d, $J=7$)	4.14 (d, $J=7$)
2	5.42 (d, $J=7$)	5.41 (d, $J=7$)	5.39 (d, $J=7$)
4	1.95 - 2.15 (m)	2.09 - 2.21 (m)	2.07 - 2.20 (m)
5	1.95 - 2.15 (m)	2.09 - 2.21 (m)	2.07 - 2.20 (m)
6	5.15 (m)	5.18 (m)	5.17 (m)
8	1.95 - 2.15 (m)	2.09 - 2.21 (m)	2.07 - 2.20 (m)
9	1.95 - 2.15 (m)	1.42 (m)	1.41 (m)
10	5.09 (m)	3.37 (dd, $J=11.1$)	3.36 (dd, $J=11.1$)
12	1.68 (s)	1.69 (s)	1.68 (s)
13	1.60 (s)	1.60 (s)	1.60 (s)
14	1.60 (s)	1.60 (s)	1.60 (s)
15	1.68 (s)	1.69 (s)	1.68 (s)

* Miyazawa *et al.*, 1996**Gambar 1.** Kromatogram hasil analisis GC-MS fraksi 2 (A) dan senyawa 10,11-epoksi 2E,6E-farnesol hasil sintesis (B) dan spektrum massa senyawa 10,11-epoksi 2E,6E-farnesol (C).

pada pengecekan hari kedua yang diikuti dengan semakin berkurangnya substrat 2E,6E-farnesol. Hal ini mengindikasikan bahwa telah terjadinya konversi substrat 2E,6E-farnesol menjadi suatu produk biotransformasi. Hasil monitoring reaksi biotransformasi secara KLT selama 1 minggu proses fermentasi tidak memperlihatkan adanya perubahan pada pola kromatogram KLT ekstrak CHCl_3 kultur jamur tersebut.

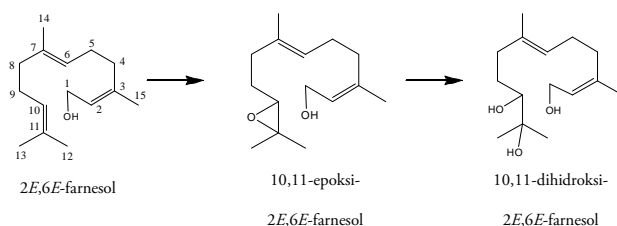
Spektrum ^1H -RMI produk utama reaksi biotransformasi memperlihatkan pola yang hampir sama dengan substrat 2E,6E-farnesol (Tabel 1), kecuali sinyal proton metilen C-9 yang bergeser ke daerah *high field* (δ 1.42) yang disebabkan hilangnya ikatan rangkap pada C-10 dan C-11. Di samping itu sinyal proton olefinik pada C-10 juga mengalami pergeseran ke daerah *high field*, yaitu dari d 5.09 (m) menjadi d 3.37 (dd, $J=11.1$). Sedangkan pada spektrum ^{13}C -RMI produk terjadi pergeseran sinyal atom C-10 dari geseran kimia pada 123.9 menjadi 77.4, dan sinyal atom C-11 dari 131.3 menjadi 73.1. Hal ini mengindikasikan terjadinya kehilangan ikatan rangkap pada posisi C-10 yang disertai dengan pemasukan gugus hidroksi menjadi 10,11-dihidroksi farnesol. Hal ini diperkuat oleh kenyataan bahwa data ^1H -RMI (Tabel 1) dan ^{13}C -RMI (Tabel 2) dari produk biotransformasi ini identik dengan 10,11-dihidroksi farnesol, yaitu produk biotransformasi 2E,6E-farnesol oleh jamur *Glomerella cingulata* yaitu patogen pada tumbuhan (Miyazawa *et al.* 1996).

Reaksi biotransformasi 2E,6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol oleh jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 ini terjadi melalui intermediet 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol (Gambar 2). Hal ini dibuktikan dengan terdeteksinya senyawa intermediet tersebut pada fraksi 2 hasil pemisahan ekstrak kloroform kultur jamur endofit. Senyawa intermediet ini diidentifikasi dengan cara membandingkannya dengan senyawa standar 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol yang disintesis dari 2E,6E-farnesol dengan pereaksi MCPBA. Seperti terlihat pada Gambar 1A, fraksi 2 terdapat dalam bentuk campuran dan jumlah yang sangat sedikit (0.5 mg). Berdasarkan hasil yang diperoleh tersebut dapat disimpulkan bahwa reaksi 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-

Tabel 2. 13C-RMI produk biotransformasi 2E,6E-farnesol.

atom H	2E,6E-farnesol*	produk biotransformasi	10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol*
C-1	58.9	59.2	59.0
C-2	124.3	124.2	124.1
C-3	139.5	138.5	138.4
C-4	31.9	39.2	39.2
C-5	26.3	25.5	25.5
C-6	124.3	125.1	124.9
C-7	135.9	134.9	134.8
C-8	32.2	36.4	36.4
C-9	26.6	28.9	29.0
C-10	124.0	77.4	77.4
C-11	131.4	73.1	73.1
C-12	25.6	26.3	26.2
C-13	17.6	23.1	23.0
C-14	16.2	17.7	15.8
C-15	15.9	15.7	15.7

* Miyazawa *et al.*, 1996



Gambar 2. Reaksi biotransformasi 2E,6E-farnesol oleh *Botryosphaeria* sp. CA2C-3.

farnesol memiliki laju reaksi yang sangat cepat sehingga sesaat setelah 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol terbentuk, secara cepat dirubah menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol.

10,11-Dihidroksi-2E,6E-farnesol pertama kali dilaporkan sebagai produk biotransformasi 2E,6E-farnesol oleh jamur *Aspergillus niger* (Madyasta & Gururaja 1993a). Tiga tahun kemudian, Miyazawa *et al.* (1996) melaporkan bahwa jamur patogen pada tumbuhan, yaitu *Glomerella cingulata* dapat melakukan biotransformasi 2E,6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol, 11,15-dihidroksi- 2E,6E-farnesol dan 5,11-dihidroksi-

2E,6E-farnesol. Di pihak lain jamur *Helminthosporium sativum* dilaporkan dapat mengubah 2E,6E-farnesol menjadi 2Z,6E-farnesol (Suzuki *et al.* 1972). Sedangkan *Pseudomonas aureofaciens* menghasilkan asam 2E,6E-3,7,11-trimetil-2,6,10-dodekatrien-1-karboksilat, dan 2E,6E-3,7,11-trimetil- 2,6,10-dodekatrien-1,13-diol (Madyastha & Gururaja 1993b).

Produk reaksi biotransformasi dengan jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 yang diperoleh sejauh ini belum atau tidak ditemukan pada tumbuhan inangnya, temu hitam (Agusta, 2008). Besar kemungkinan kondisi fermentasi yang diterapkan dalam penelitian ini tidak cocok untuk mengaktifkan enzim-enzim pada *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 yang bertanggung jawab terhadap pembentukan senyawa seskiterpene yang merupakan karakteristik pada temu hitam. Untuk itu saat ini masih dilakukan fermentasi 2E,6E-farnesol dengan jamur endofit lainnya, disamping penelitian lanjutan untuk mencari kondisi fermentasi yang ideal.

KESIMPULAN

Jamur endofit *Botryosphaeria* sp. CA2C-3 yang diisolasi dari rimpang segar tumbuhan temu hitam memiliki kemampuan untuk melakukan biotransformasi 2E,6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol dengan kapasitas transformasi sebesar 51.35%. Reaksi biotransformasi 2E,6E-farnesol menjadi 10,11-dihidroksi-2E,6E-farnesol terjadi melalui senyawa intermediet 10,11-epoksi-2E,6E-farnesol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Diucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Hirotaka Shibuya, Natural Product Chemistry Laboratory, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Fukuyama University,

Fukuyama, Hiroshima, Jepang atas bantuan pengukuran data ¹H- dan ¹³C-RMI.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2008. Perbandingan komponen kimia rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) dan temu putih (*C. zedoaria*) asal Jepang. *Majalah Obat Tradisional*, 13(46): 155-159.
- Agusta, A., K. Ohashi & H. Shibuya. 2006. Composition of the endophytic filamentous fungi isolated from tea plant *Camellia sinensis*. *J. Nat. Med.*, 60(3): 268-272.
- Agusta, A. & Y. Jamal. 2011. Biotransformasi 2E,6E-farnesol oleh khamir endofit CA1C-4. *Berk. Penel. Hayati*, 17: 1-4.
- Agusta, A., S. Maehara, K. Ohashi, P. Simanjuntak & H. Shibuya. 2005. Stereoselective Oxidation at C-4 of Flavans by the Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. Isolated from a Tea Plant. *Chem.Pharm. Bul.* 53 (12): 1565-1569.
- Bacon, CW. & JF. White. 2000. *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker, NY.
- Croteau, R., TM. Kutchan, NG. Lewis. 2000, *Natural Products (Secondary Metabolites)*, in *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds., American Society of Plant Physiologists. 1250-1318.
- Dewick, PM. 1997. *Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach*. John Willey & Sons, New York.
- Dewick, PM. 2002, The Biosynthesis of C5-C25 Terpenoid Compounds, *Nat. Prod. Rep.*, 19: 181-222.
- Kitamura, C., T. Nagoe, MS. Prana, A. Agusta, K. Ohashi & H. Shibuya. 2007. Comparison of *Curcuma* sp. In Yakushima with *C. aeruginosa* and *C. zedoaria* in Java by tnrK gene sequence, RAPD pattern and essential oil component. *J. Nat. Med.* 61: 239-243.
- Madyastha, KM. & TL. Gururaja. 1993a. Transformation of acyclic isoprenoids by *Aspergillus niger*: selective oxidation of w-methyl and remote double bonds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 38: 738-741.
- Madyastha, KM. & TL. Gururaja. 1993b. A new pathway for the degradation of a sesquiterpene alcohol, nerolidol by *Alcaligenes eutrophus*. *Biochem. Biophysic Res. Commun.*, 193: 26.
- Miyazawa, MH., H. Nankai, & H. Kameoka. 1996. Biotransformation of acyclic terpenoid (2E,6E)-farnesol by plant pathogenic fungus *Glomerella cingulata*. *Phytochemistry*, 43: 105-109.
- Shibuya, H., C. Kitamura, S. Maehara, M. Nagahata, H. Winanarno, P. Simanjuntak, H.S. Kim, Y. Wataya & K. Ohashi. 2003. Transformation of *Chincona* Alkaloids into 1-N-Oxide Derivatives by Endophytic *Xylaria* sp. Isolated from *Chincona pubescens*. *Chem. Pharm. Bull.* 51: 71-74.
- Suzuki, Y. & Y. Marumo. 1972. Trans- to cis-2,3 double bond isomerization of epoxyfarnesol and farnesol by fungus. *Tetrahedron Lett.* 50: 5101-5104.
- Tan, RX. & WX. Zou. 2001. Endophytes: A rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 18: 448-459.
- Unayik, M., K. Ishihara and H. Yamamoto. 2005. Biomimetic synthesis of acid-sensitive (-)- and (+)-caparrapi oxides, (-)- and (+)-8-epicarrapi oxides and (+)-dysifragin induce by artificial cyclases. *Bioorg. Med. Chem.* 13: 5055-5065.
- Zhang, HW., YC. Song and RX.Tan 2006. Biology and Chemistry of the endophytes. *Nat. Prod. Rep.* 23, 753.