

능이버섯(*Sarcodon aspratus*)으로부터 분리한 diketopiperazine계 화합물의 화학구조 및 항산화활성

김진우 · 문병식 · 박영민 · 유남희 · 유인자 · Nguyen Thi Chinh¹ · 유익동 · 김종평*

한국생명공학연구원 항산화소재연구실,

¹Department of Microbiology, Hanoi University of Science, 334 NguyenTrai, ThanhXuan, Hanoi, Vietnam

Structures and Antioxidant Activity of Diketopiperazines Isolated from the Mushroom *Sarcodon aspratus*

Jin-Woo Kim, Byung-Sik Moon, Young-Min Park, Nam-Hee Yoo, In-Ja Ryoo, Nguyen Thi Chinh¹, Ick-Dong Yoo and Jong-Pyung Kim*

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, 52 Oeundong, Yusong, Daejeon 305-333, Korea

¹Department of Microbiology, Hanoi University of Science, 334 NguyenTrai, ThanhXuan, Hanoi, Vietnam

Received February 3, 2005; Accepted February 22, 2005

Three antioxidants, Sa-1, Sa-2 and Sa-3, were isolated from the MeOH extract of the mushroom *Sarcodon aspratus* through EtOAc extraction, silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography, and C₁₈ HPLC. The structures of the compounds were determined mainly by NMR and mass spectroscopic data analyses. Sa-1, Sa-2 and Sa-3 were identified as diketopiperazines, and their structures were determined to be *cyclo*(prolyl-valyl), *cyclo*(prolyl-leucyl) and *cyclo*(prolyl-isoleucyl), respectively. This is the first time that these compounds were isolated from this mushroom. They showed antioxidant activity by scavenging DPPH radical (EC₅₀ 0.15~0.18 mM) and superoxide radical (EC₅₀ 0.21~0.24 mM).

Key words: *Sarcodon aspratus*, diketopiperazine, *cyclo*(prolyl-valyl), *cyclo*(prolyl-leucyl), *cyclo*(prolyl-isoleucyl), antioxidant

서 론

산소는 모든 호기성 생물의 생명유지에 절대적으로 필요하지만, 안정한 분자상태인 기저삼중항산소(ground state triplet oxygen)가 체내 효소계, 환원대사, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 반응성이 매우 큰 산소 프리라디칼을 포함한 활성산소종(reactive oxygen species)으로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성을 지니고 있다.¹⁻⁴⁾ 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨씨 병 등의 뇌 질환과 심장질환, 동맥경화, 피부손상, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 원인이 된다.^{5,6)} 따라서 항산화제는 이러한 산화적 손상으로부터 세포를 보호함으로써 산화스트레스에 의하여 유발되는 질병의 예방 또는 치료 효과를 가진다.⁷⁻⁹⁾

버섯은 다양한 종류의 1차 및 2차 대사산물을 생산할 뿐만 아니라 항암, 항균, 항당뇨, 면역증강 등과 같은 매우 우수한 약리학적 활성을 나타내는 것으로 알려져 있어 오래전부터 식용으로써 뿐만 아니라 약용으로 많이 이용되고 있다. 본 연구실에서는 국내의 다양한 자생버섯을 수집하고 이들의 자실체 추출물 및 균사체 배양액으로부터 항산화 활성을 나타내는 다양한 화합물들을 규명하고 그들의 활성에 관한 연구를 수행하여 왔다.¹⁰⁻¹⁴⁾ 수집 확보된 버섯자실체의 추출물에 대한 항산화 활성을 검색한 결과 능이버섯 자실체의 메탄올 추출물에서 강한 프리라디칼 소거능이 확인되어, 그 활성성분의 규명과 항산화 활성을 조사하고자 하였다.

능이버섯은 능얼, 능철 또는 향버섯이라고도 부르며 담자균류의 민주름버섯목(Aphyllophorales)의 굴뚝버섯과(Telephoraceae)에 속하며 균근성 버섯으로 참나무 및 박달나무에 공생한다. 맛과 향이 뛰어나 식용버섯으로 이용되며, 민간에서는 육류를 섭취하고 체하였을 때 이용되어 왔다. 능이버섯의 성분으로는 단백질, 다당류 등과 같은 1차 대사산물과 단백질의 소화력을 높이는 protease 등이 알려져 있으며,¹⁵⁾ 저분자 화합물로서는 4-hydroxybenzoic acid methyl ester, 4-hydroxybenzaldehyde, *cyclo*(Ala-pro), adenosine, nicotinamide, linoleic acid,

*Corresponding author
Phone: 82-42-860-4333; Fax: 82-42-860-4595
E-mail: kimjp@kribb.re.kr

hydroxybenzaldehyde 등이 보고 되었다.¹⁶⁾ 또한 능이버섯의 진한 향기의 주성분으로서 1-octen-3-ol, 1-octen-3-one, 3-octanol, benzenacetaldehyde, pentadecanoic acid, 2-methyl-propanoic acid 등이 밝혀져 있다.¹⁷⁾ 한편, 능이버섯의 추출물에 대한 항산화력 연구¹⁸⁾가 수행된 바 있으나, 능이버섯의 저분자 항산화 물질의 규명 연구사례는 보고 되어진 바 없다.

본 연구에서는 국내 자생버섯인 능이버섯의 자실체를 수집하고, 이의 MeOH 추출물로부터 프리라디칼 소거활성을 나타내는 저분자 항산화 활성물질을 분리하여 이들의 화학구조를 규명하였고, 그들의 항산화 활성을 검정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

버섯시료. 능이버섯의 자실체 13.4 kg을 2003년 8월부터 9월 사이에 덕유산 및 오대산 지역에서 수집하였으며 한국생명공학연구원 연구진에 의하여 동정되었으며 표본은 한국생명공학연구원 항산화소재연구실에 보관 중이다. 버섯은 부패를 막기 위해 수집 후 중량을 측정 후 분쇄기로 잘게 마쇄한 다음 즉시 MeOH에 침지하였다.

시약 및 기기. 활성물질의 분리 정제 과정 및 column chromatography에 사용된 유기용매는 동양화학의 EP급을 사용하였으며, HPLC 용매는 Merck(Germany) 및 Baxter사(Burdick & Jackson, USA) 제품을 사용하였다. NMR 용매는 Aldrich사(USA) 제품을 사용하였다. Column chromatography용 silica gel(70~230 mesh)은 Merck사로부터 구입하였으며, Sephadex LH-20(bead size 25~100 μm)은 Pharmacia사(USA)로부터 구입하였다. 항산화 활성 측정에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), nitroblue tetrazolium(NBT) 및 butylated hydroxyanisole(BHA)은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였다. HPLC는 photodiode array가 부착된 Waters 991 HPLC system(Waters, USA)을 이용하였다. 자외선 흡수스펙트럼 측정에는 UVIKON spectrometer 930(Kontron Instrument, USA)을 사용하였으며, NMR 스펙트럼의 측정에는 Bruker사(USA)의 Bruker DMX-600 NMR spectrometer(600 MHz)를 사용하였다. 항산화활성 측정에는 wavelength 조절이 가능한 Versa_{max} microplate reader(Molecular Devices, USA)를 사용하였다.

항산화 활성물질의 분리. 능이버섯 자실체로부터 프리라디칼 소거능을 갖는 항산화 활성물질의 분리·정제과정은 Fig. 1과 같다. 수집 후 건조시키지 않은 능이버섯의 자실체 13.4 kg을 분쇄기로 잘게 분쇄한 다음 MeOH에 침지하여 상온에서 7일간 2회 추출하였다. 추출용액을 Watman No. 2 여과지로 여과한 다음 여과액을 45°C의 감압하에서 농축하여 MeOH를 제거한 후 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 및 물로 순차적으로 추출하였다. 이 중 가장 강한 프리라디칼 소거활성을 나타내는 EtOAc 분획을 취하여 활성물질 분리정제를 실시하였다. Ethylacetate 추출물을 CHCl₃-MeOH(50:1-1:1) 용매를 사용하여 silica gel column chromatography를 실시하여 활성분획을 얻었다. 이 활성분획을 농축한 다음 Sephadex LH-20 column chromatography (MeOH)를 통하여 보다 정제된 활성분획 55 mg을 얻었다. 이 활성분획으로부터 HPLC(YMC, C₁₈ 250×21 mm, 50% MeOH,

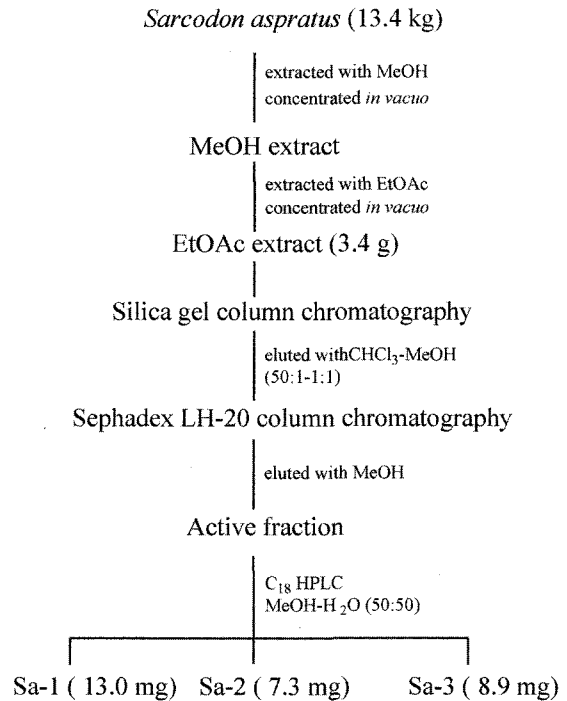


Fig. 1. Isolation procedure of Sa-1, Sa-2 and Sa-3 from the fruiting body of *Sarcodon aspratus*.

flow rate: 7.0 ml/min)를 통하여 순수한 항산화활성 화합물 Sa-1(13.0 mg), Sa-2(7.3 mg) 및 Sa-3(8.9 mg)를 분리하였다.

Sa-1: White powder; EIMS(*m/z*): 196(*M*⁺), C₁₀H₁₆O₂N₂; UV λ_{max}(MeOH) 250 nm; ¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD, δ): 4.20(1H, m, H-6), 4.03(1H, s, H-3), 3.56(1H, m, Ha-9), 3.50(1H, m, Hb-9), 2.48(1H, m, H-1'), 2.34(1H, m, Ha-7), 2.03(1H, m, Ha-8), 1.92(1H, m, Hb-7), 1.90(1H, m, Hb-8), 1.10(3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-3'), 0.93(3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-2'); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD, δ), Table 1.

Sa-2: White powder; EIMS(*m/z*): 210(*M*⁺), C₁₁H₁₈O₂N₂; UV λ_{max}(MeOH) 253 nm; ¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD, δ): 4.26(1H, m, H-6), 4.12(1H, s, H-3), 3.65(1H, m, Ha-9), 3.50(1H, m, Hb-9), 2.32(1H, m, Ha-7), 2.05(1H, m, Ha-8), 2.03(1H, m, Hb-7), 1.98(1H, m, Ha-1'), 1.92(1H, m, Hb-8), 1.88(1H, m, H-2'), 1.56(1H, m, Hb-1'), 0.96(3H, d, *J* = 4.2 Hz, H-4'), 0.95(3H, d, *J* = 4.2 Hz, H-3'); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD, δ), Table 1.

Sa-3: White powder; EIMS(*m/z*): 210(*M*⁺), C₁₁H₁₈O₂N₂; UV λ_{max}(MeOH) 251 nm; ¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD, δ): 4.20(1H, m, H-6), 4.06(1H, s, H-3), 3.55(1H, m, Ha-9), 3.49(1H, m, Hb-9), 2.32(1H, m, Ha-7), 2.03(1H, m, Ha-8), 1.93(1H, m, Hb-7), 2.15(1H, m, H-1'), 1.90(1H, m, Hb-8), 1.40(1H, m, Ha-2'), 1.30(1H, m, Hb-2'), 1.06(1H, d, *J* = 15.8 Hz, 1'-CH₃), 0.92(3H, t, *J* = 12.9 Hz, H-3'); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD, δ), Table 1.

DPPH radical 소거 활성. 비교적 안정한 프리라디칼인 DPPH radical 소거 활성은 Brand-Willams의 방법¹⁹⁾을 변형하여

Table 1. ¹³C NMR spectral data of Sa-1, Sa-2 and Sa-3

Position	Sa-1	Sa-2	Sa-3
2	172.5	172.5	172.5
3	61.4	54.8	61.5
5	167.5	168.5	167.5
6	60.0	60.2	60.0
7	29.4	29.4	29.6
8	23.8	23.8	23.3
9	46.2	46.2	46.2
1'	29.9	39.5	37.0
2'	16.6	25.9	25.8
3'	18.8	22.2	12.9
4'		23.3	
1'-CH ₃			15.8

Measured at 150 MHz in CD₃OD.

측정하였으며, 시료의 활성을 대표적인 항산화제인 BHA와 비교하였다. 즉, 96-well plate에 메탄올에 녹인 각 농도별 시료 10 μl를 에탄올에 녹인 1.5×10⁻⁴ M DPPH 용액 90 μl에 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Scavenged DPPH}(\%) = (1 - A_{\text{test}}/A_{\text{control}}) \times 100$$

여기서, A_{test}는 시료와 반응한 10분후의 광흡수도이며, A_{control}은 시료 대신 MeOH를 첨가한 대조구의 광흡수도이다. DPPH radical을 50% 소거하는 시료의 농도를 EC₅₀으로 나타내었다.

Superoxide radical 소거활성. Superoxide radical 소거활성은 irradiated riboflavin/EDTA/NBT system²⁰⁾을 변형하여 측정하였다. 96-well plate의 well당 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.8)에 녹인 riboflavin(0.03 mM), EDTA(1.0 mM), methionine(0.6 mM), NBT(0.03 mM) 혼합용액 150 ml와 MeOH에 녹인 시료를 10 μl를 첨가한 후 광화학반응에 의하여 발생된 superoxide radical을 소거하는 활성을 측정하였다. Superoxide radical발생을 위한 광화학반응은 알루미늄 포일로 쌓인 illumination box에 설치된 2개의 형광램프를 이용하여 광의 세기를 1000 lux가 되도록 조절하였으며, 25°C에서 8분간 반응시킨 다음 560 nm에서의 광흡수도 변화를 microplate reader로 측정하였다. 광화학 반응에 의하여 발생된 superoxide radical과 NBT가 반응하여 청색의 formazan을 형성하여 광흡수도가 증가되는데, 시료에 의하여 superoxide radical이 소거됨으로써 감소되는 광흡수도의 정도를 측정하여 활성을 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Scavenging activity}(\%) = (1 - \Delta A_{\text{test}}/\Delta A_{\text{control}}) \times 100$$

여기서, ΔA_{test}는 시료를 첨가한 반응구에서의 8분간 광흡수도 변화이며, ΔA_{control}은 시료 대신 MeOH를 첨가한 대조구의 광흡수도 변화이다. Superoxide radical을 50% 소거하는 시료의 농도를 EC₅₀으로 나타내었다.

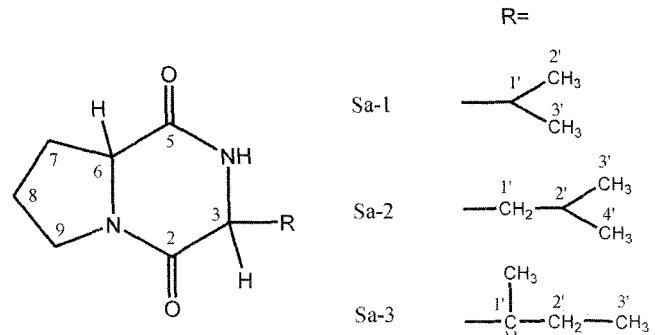


Fig. 2. The chemical structures of Sa-1, Sa-2 and Sa-3.

결과 및 고찰

구조동정. Sa-1의 ¹³C-NMR 스펙트럼에서는 δ172.5(C-2)와 167.5(C-5)에서 두 개의 carbonyl 탄소, δ61.4(C-3), 60.0(C-6) 및 29.9 (C-1')에서 세 개의 methine 탄소, δ29.4(C-7), 23.8(C-8) 및 46.2(C-9)의 3개의 methylene 탄소, δ16.6 및 18.8에서 두 개의 methyl 탄소 등 총 10개의 탄소가 관측되었다. ¹H-NMR 스펙트럼에서는 세 개의 methine signal(δ4.03, 4.20 및 2.48)과 두 개의 doublet methyl signal(δ0.93 및 1.10)이 관측되었다. 그리고 δ2.34과 1.90에서 H-7, δ2.03과 1.91에서 H-8 그리고 δ3.56과 3.50에서 H-9의 multiplet으로 나타나는 세 개의 methylene proton signal이 각각 확인되었다. 한편, 2개의 methyl기와 δ2.48(1H, m)의 methine기는 isopropyl unit를 형성함을 알 수 있었으며, ¹H-¹H COSY 및 HMBC 스펙트럼의 해석을 통하여 isopropyl 측쇄가 diketopiperazine ring의 C-3에 결합되어 있음을 확인하였다. 이 화합물의 EIMS 스펙트럼에서 M⁺ 이온 peak가 m/z 196에서 관측되었다. 이상의 결과로부터 Sa-1을 cyclo(protyl-valyl)²¹⁾로 동정하였다(Fig. 2).

Sa-2의 ¹³C-NMR 및 ¹H-NMR 스펙트럼 데이터는 Sa-1과 매우 유사하였다. 즉, diketopiperazine ring과 pyrrolidine ring 골격을 이루고 있는 7개의 탄소 및 두 개의 methine proton 및 세 개의 methylene proton signal이 Sa-1의 그것과 거의 일치하였다. 그러나 Sa-2의 ¹H-NMR 스펙트럼에서는 methylene proton signal(δ1.98 및 1.56)이 새롭게 관측되어 Sa-1에서 측쇄를 이루고 있는 isopropyl기가 isobutyl기로 치환되어 있음을 알 수 있었다. 이와 같은 사실은 EIMS 스펙트럼에서 M⁺ 이온 peak가 m/z 210에서 관측됨으로써 확인되었다. 이상의 결과로부터 Sa-2는 cyclo(protyl-leucyl)²¹⁾로 동정 되었다(Fig. 2).

Sa-3의 ¹³C-NMR 및 ¹H-NMR 스펙트럼 데이터도 Sa-1과 Sa-2에서와 같이 diketopiperazine ring과 pyrrolidine ring 골격을 이루고 있는 7개의 탄소 및 두 개의 methine proton 및 세 개의 methylene proton signal과 유사하였다. 그러나 이 화합물에서는 sec-butyl기가 diketopiperazine ring의 C-3에 측쇄로 결합되어 있는 구조를 이루고 있음을 ¹H-¹H COSY 및 HMBC 스펙트럼 해석을 통하여 확인하였다. 이상의 결과와 함께 EIMS 스펙트럼에서 M⁺ 이온 peak가 m/z 210에서 관측되어 Sa-3를

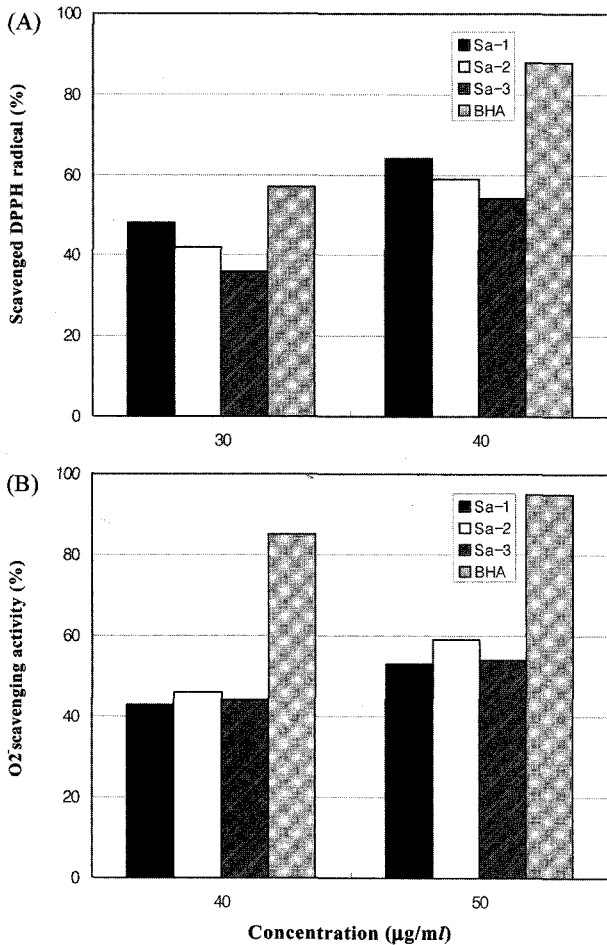


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity (A) and superoxide radical scavenging activity (B) of Sa-1, Sa-2 and Sa-3.

cyclo(prolyl-isoleucyl)²¹)로 동정하였다(Fig. 2).

이들 세 화 물은 diketopiperazine계 화합물로서 모두 동일한 골격을 가지고 있으며, 다만 diketopiperazine ring에 결합된 측쇄가 다른 화합물들로서 Sa-1은 maculosin-5, Sa-2는 maculosin-6으로 알려져 있다. Maculosin 화합물들은 *Streptomyces rochei*²²)와 곰팡이인 *Alternaria alternata*,²³) *Rosellinia necatrix*²⁴) 및 *Fusarium nivale*²⁵) 등에서 phytotoxin으로, *Aspergillus*에서는 β-glucosidase 저해활성물질로 분리·보고된 바²⁶) 있으나, 능이버섯으로부터는 본 연구에 의해서 처음으로 분리되었다.

항산화 활성. 능이버섯으로부터 분리된 3종의 화합물들에 대한 항산화 활성을 DPPH radical 및 superoxide radical 소거활성을 측정하여 합성 항산화제인 BHA와 비교 하였다(Fig. 3). 화합물들의 DPPH radical 및 superoxide radical 소거활성은 Sa-1, Sa-2 및 Sa-3 모두 농도 의존적으로 나타났다. Sa-1, Sa-2 및 Sa-3의 DPPH radical 소거활성 EC₅₀은 각각 0.15, 0.17 및 0.18 mM로서 대표적인 합성 항산화제인 BHA의 0.16 mM 과 비교하였을 때 비슷한 활성을 나타내었다(Table 2). 생체내에서 대사과정 중에도 발생하는 superoxide radical에 대한 Sa-1, Sa-2 및 Sa-3의 소거활성은 EC₅₀이 각각 0.24, 0.21 및 0.22 mM로서 BHA의 0.11 mM에 비하여 낮게 나타났다(Table 2). 이상의 결과로부터 이 화합물들의 DPPH radical 및 superoxide

Table 2. Free radical scavenging activity of Sa-1, Sa-2 and Sa-3

Compounds	ED ₅₀ (mM)	
	DPPH radical	Superoxide radical
Sa-1	0.15	0.24
Sa-2	0.17	0.21
Sa-3	0.18	0.22
BHA*	0.16	0.11

*BHA: Butylatedhydroxy anisole

radical 소거능이 대표적인 합성 항산화제인 BHA에 비하여 각각 비슷하거나 50% 수준의 활성을 나타내었지만, 이들이 능이버섯이 갖는 항산화 활성의 주성분임이 확인되었다.

초 록

능이버섯(*Sarcodon aspratus*) 자실체의 MeOH 추출물을 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH 및 물로 추출하였다. 이 중 프리라디칼 소거활성을 나타내는 EtOAc 분획을 silica gel 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시한 후 C₁₈ HPLC를 통해 프리라디칼 소거활성을 나타내는 3종의 항산화 활성물질 Sa-1, Sa-2 및 Sa-3를 분리하였다. 각 화합물의 구조를 NMR 및 MS 등의 스펙트럼 데이터를 분석하여, diketopiperazine계 화합물들인 *cyclo*(prolyl-valyl), *cyclo*(prolyl-leucyl) 및 *cyclo*(prolyl-isoleucyl)로 동정하였다. 이 화합물들은 능이버섯으로부터 최초로 분리되었으며, 이들의 항산화 활성을 측정한 결과 DPPH radical 소거활성(EC₅₀ 0.15~0.18 mM) 및 superoxide radical 소거활성(EC₅₀ 0.21~0.24 mM)을 나타내었다.

Key words: 능이버섯, diketopiperazine, *cyclo*(prolyl-valyl), *cyclo*(prolyl-leucyl), *cyclo*(prolyl-isoleucyl), antioxidant

감사의 글

본 연구는 과학기술부 과학기술국제화사업/국제공동연구사업인 “버섯 유래 기능성 건강식품소재 개발연구” 및 국가지정연구실사업인 “항산화 기능성 천연 식품소재 개발연구”의 일환으로 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Fridovich, I. (1986) Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1-11.
- Fridovich, I. (1983) Superoxide radical: An endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**, 239-257.
- Greenwald, R. A. and Roy, W. W. (1985) Effect of oxygen-derived free radical on hyaluronic acid. *Arthritis Rheum.* **23**, 455-463.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1989) Oxygen is poisonous-An introduction to oxygen toxicity and free radicals. In *Free radicals in biology and medicine* (2nd ed.) Clarendon Press, Oxford pp. 1-21.

5. Adelson, R., Saul, R. L. and Ames, B. N. (1988) Oxidative damage to DNA: Relation to species metabolic and life span. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 2706-2708.
6. McBride, T. J., Preston, B. D. and Loeb, L. A. (1991) Mutagenic spectrum resulting from DNA damage by oxygen radicals. *Biochemistry* **30**, 207-213.
7. Kedziora, J. and Bartosz, G. (1988) Down's Syndrome: a pathology involving the lack of balance of reactive oxygen species. *Free Radical Biol. Med.* **4**, 317-340.
8. Lee, I. K., Yun, B. S., Kim, Y. H. and Yoo, I. D. (2002) Two Neuroprotective Compounds from Mushroom *Daldinia concentrica*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**, 692-694.
9. Marnett, L. J. (1987) Peroxyl free radical: potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis* **8**, 1365-1373.
10. Kim, W. G., Kim J. W., Ryoo I. J., Kim, J. P., Kim, Y. H. and Yoo, I. D. (2004) Boletunones A and B, highly functionalized novel sesquiterpenes from *Boletus calopus*. *Org. Lett.* **6**, 823-826.
11. Yun, B. S., Lee, I. K., Kim, J. P. and Yoo, I. D. (2000) Leucomentin-5 and -6, two new leucomentin derivatives from the mushroom *Paxillus panuoides*. *J. Antibiot.* **53**, 711-713.
12. Yun, B. S., Lee, I. K., Kim, J. P. and Yoo, I. D. (2000) Curtisians A D, new free radical scavengers from the mushroom *Paxillus curtisii*. *J. Antibiot.* **53**, 114-122.
13. Yun, B. S., Lee, I. K., Kim, J. P. and Yoo, I. D. (2000) Two p-terphenyls with free radical scavenging activity from the mushroom *Paxillus panuoides*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **10**, 233-237.
14. Kim, J. P., Yun, B. S., Shim, Y. K. and Yoo I. D. (1999) Inoscavin A, a new free radical scavenger from the mushroom *Inonotus xeranticus*. *Tetrahedron Lett.* **40**, 6643-6644.
15. Eun, J. S., Yang, J. H., Cho, D. Y. and Lee, T. K. (1988) Activities of proteolytic enzyme *Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito. *J. Kor. Pharm. Sci.* **18**, 125-131.
16. Kang, H. C., Yun, B. S., Yoo, S. H. and Yoo, I. D. (2000) Chemical structures of compounds isolated from edible mushroom *Sarcodon aspratus*. *J. Kor. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 298-302.
17. Jeong, O. J., Yoon, H. S. and Min, Y. K. (2001) Aroma characteristics of *Sarcodon aspratus*. *Kor. J. Food. Sci. Technol.* **33**, 307-312.
18. Song, J. H., Lee, H. S., Hwang, J. K., Han, J. W. and Ro, J. G. (2003) Physiological activity of *Sarcodon aspratus* extracts. *Kor. J. Food. Sci. Ani. Resour.* **23**, 172-179.
19. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **28**, 25-30.
20. Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase; Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
21. Faouzi, F., Victoriano, V., Jose, Luis, S. and Ricardo, R. (2003) DD-diketopiperazines: antibiotics active against *Vibrio anguillarum* isolated from marine bacteria associated with cultures of *Pecten maximus*. *J. Nat. Prod.* **66**, 1299-1301.
22. Lee, H. B., Choi, Y. C. and Kim, S. U. (1994) Isolation and identification of maculosins from *Streptomyces rochei* 87051-3. *Agric. Chem. Biotechnol.* **37**, 339-342.
23. Stierle, A. C., Cadellina, J. H. and Strobel G. A. (1988) Maculosin, a host-specific phytotoxin for spotted knapweed from *Alternaria alternata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 8004-8008.
24. Chen, Y. S. (1960) Studies on the metabolic products of *Rosellinia necatrix* Berlese. Part I. Isolation and characterization of several physiologically active natural substances. *Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn.* **24**, 373-381.
25. Tatsuno, T, Sato, M., Kubota, Y., Kubota, Y. and Tsunoda, H (1971) Recherches toxicologiques des substances metaboliques du *Fusarium nivale*. VIII. La quatleme substance motabolique de *F. nivale*. *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 1498-1500.
26. Kwon, O. S., Park, S. H., Yun, B. S., Pyun, Y. R. and Kim, C. J. (2001) *Cyclo(d-pro-l-val)*, a specific β -glucosidase inhibitor produced by *Aspergillus* sp. F70609. *J. Antibiot.* **54**, 179-181.