مجله شیمی کوانتومی و اسپکتروسکوپی
۱:۱ (۱۳۹۰) ۴۰-۳۳
Journal of Quantum Chemistry and Spectroscopy (JQCS)

پیش‌بینی شاخص‌های بازداری روغن‌های اسانسی به دست آمده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی با استفاده از ارتباط کمی ساختار- ویژگی

مهدی مهام[1*]، اعظم وفایی[2]

[1]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علی آباد کتول، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، علی آباد کتول، ایران

[2]دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گچساران، دانشکده علوم پایه، گروه شیمی، گچساران، ایران

تاریخ ثبت اولیه: ۱۳۸۹/۹/۲۷، تاریخ دریافت نسخه اصلاح شده: ۱۳۸۹/۱۱/۱۵، تاریخ پذیرش قطعی: ۱۳۸۹/۱۱/۱۹

چکیده

یک مدل ساده، قوی، توصیفی و قابل تفسیر بر اساس مطالعه ارتباط کمی ساختار- ویژگی با استفاده از روش رگرسیون خطی چند گانه مرحله ای برای پیش بینی شاخص های بازداری اجزائ روغن های استحصال شده گیاهی توسعه داده شده است. بعد از محاسبه توصیف کننده های مولکولی، چهار توصیف کننده که بیشترین ارتباط را با شاخص بازداری دارند، انتخاب گردیدند. نتایج نشان می دهد که تکنیک های خطی مانند رگرسیون خطی چند گانه که با یک روش انتخاب متغیر مناسب کوپل شده باشد، قادر است مدلهای مناسبی برای پیش بینی شاخص های بازداری ترکیبات ارائه نماید. یک مدل ساده با خطای کم و ضریب همبستگی بالا به دست آمد که می تواند جهت پیش بینی شاخص های بازداری ترکیبات مشابه مورد استفاده قرار گیرد.(R^2_{train}=0.955, R^2_{test}=0.935)

واژه‌های کلیدی: شاخص بازداری، روغن های اسانسی، ارتباط کمی ساختار ویژگی.

۱. مقدمه

روغنهای اسانسی گیاهان و ترکیبات استخراج شده از آنها در پزشکی و صنعت داروسازی بسیار مهم اند[۱]. ترکیبات استخراج شده از روغنهای اسانسی گیاهان می توانند به عنوان ترکیبات ضد التهاب، ضد عفونی کننده، کاهش دهنده فشار خون و کاهش دهنده قند خون عمل کنند [۲]. همچنین این ترکیبات می توانند خواص آنتی اکسیدانی، ضد باکتری و ضد میکروبی داشته باشند[۳]. گیاه جانیپروس تاریفرا (*Juniperus thurifera*) در قسمت های غربی دریای مدیترانه رشد کرده و زیستگاه این گیاه به طور طبیعی در کشورهای فرانسه، اسپانیا و مراکش قرار دارد. اخیراً

* **عهده دار مکاتبات:** مهدی مهام

نشانی: علی آباد کتول –دانشگاه آزاد اسلامی –دانشکده علوم –گروه شیمی

تلفن: ۰۹۱۱۱۱۴۷۷۸۹ **پست الکترونیک:** E-Mail: m_maham447@yahoo.com

ترکیبات استخراج شده از این گیاه جهت درمان رماتیسم و سیاتیک به کار گرفته شده است[۴]. بنابراین اندازه گیری و شناسایی این ترکیبات در عرصه پزشکی بسیار حائز اهمیت است.

روش کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی گازی جفت شده با اسپکتروسکپی جرمی از روشهای اساسی برای اندازه گیری ترکیبات روغنهای اسانسی گیاهان هستند. روش اسپکتروسکپی جرمی همیشه نمی تواند اطلاعات کافی در مورد ساختار ترکیبات ارائه دهد. همچنین استفاده از این روشها بسیار پرهزینه و وقت گیر است. بنابراین استفاده از یک روش پیشگویی کننده خاصیت این ترکیبات بدون نیاز به روشهای پرهزینه ضروری به نظر می رسد. به همین خاطر روش ارتباط کمی ساختار- ویژگی(QSPR) برای این منظور مورد استفاده قرار گرفت. پیش بینی شاخص بازداری برای برخی از ترکیبات آلی در منابع علمی گزارش شده است[۹-۵].

هدف از این کار عبارتست از ارایه یک مدل مناسب جهت پیش بینی شاخص بازداری روغن های اسانسی گیاه جانیپروس تاریفرا که بتوان توسط این مدل، شاخص های بازداری ترکیبات مشابه را بدون انجام آزمایشات وقت گیر و پرهزینه، پیش بینی نمود.

۲. بخش تجربی

۲-۱. دستگاه های مورد استفاده

یک کامپیوتر پنتیوم IV (CPU =3.06 GHz) با ویندوز XP برای انجام کارهای محاسباتی مورد استفاده قرار گرفت. برای رسم و بهینه کردن شکل مولکولها از نرم افزار هایپرکم (hyperchem) (نسخه ۷/۰) استفاده گردید. برای محاسبه توصیف کننده های مولکولی از نرم افزار دراگون (Dragon) (نسخه۲/۱) استفاده شد. از نرم افزار SPSS برای انتخاب بهترین توصیف کننده ها و از نرم افزار MATLAB برای به دست آوردن سایر پارامترهای آماری استفاده گردید.

۲-۲. سری داده ها

سری داده‌ها مربوط به اندیس کواتس ۷۹ ترکیب از روغن های استحصال شده از گیاه جانیپروس تاریفرا است[۴]. ترکیبات به صورت تصادفی به دو گروه سری آموزش و سری پیش‌بینی تقسیم شدند(جدول-۱). سری آموزش شامل ۵۴ مولکول و سری پیش‌بینی شامل ۲۵ مولکول است. مقادیر شاخص بازداری (اندیس کواتس) به عنوان متغیر وابسته و توصیف کننده‌ها به عنوان متغیر مستقل انتخاب شدند. سری آموزش جهت ایجاد یک مدل مناسب و سری پیش‌بینی جهت ارزیابی مدل مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳. محاسبه توصیف کننده های مولکولی

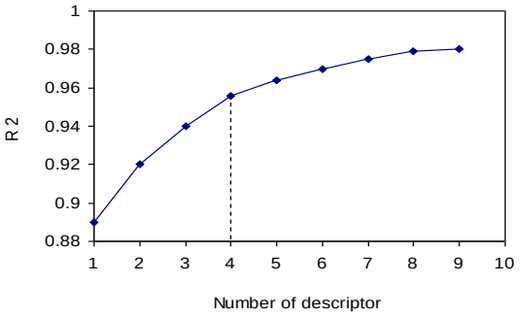
در اولین قدم باید مجموعه آزمایشی (اندیس کواتس ترکیبات) و ساختار های متناظر جمع آوری شده و به صورت قابل پردازش برای کامپیوتر درآید. در مورد داده های آزمایشی که مقادیر عددیند مشکلی نداریم، مساله مهم بیان ساختارهای شیمیایی به شکل قابل پذیرش برای کامپیوتر است. برای محاسبه توصیف کننده های مولکولی، ابتدا ساختارهای مولکولی به کمک نرم افزار هایپرکم رسم شدند. سپس ساختارهای مولکولی به وسیله الگوریتم AM1 بهینه گردیدند. سپس توصیف کننده ها به وسیله نرم افزار دراگون محاسبه شدند. این نرم افزار برای محاسبه هیجده دسته از توصیف کننده های مولکولی مورد استفاده قرار می گیرد. برای این منظور خروجی نرم افزار هایپرکم برای هر ترکیب به برنامه دراگون منتقل شده و توصیف کننده ها محاسبه می شوند. به این ترتیب تعداد ۱۴۸۱ توصیف کننده مولکولی برای هر ترکیب محاسبه شد.توضیح دقیق و کامل توصیف کننده ها در منابع علمی ذکر گردیده است [۱۵-۱۰].

۳. نتایج و بحث

۳-۱. مدل‌سازی با روش رگرسیون خطی چندگانه

برای ساختن مدلی که بیانگر ارتباط ساختاری ترکیبات مورد بررسی با اندیس کواتس آنها باشد، از روش رگرسیون خطی چندگانه(MLR) استفاده شد. همانطور که می دانیم تعداد زیاد توصیف‌کننده‌ها باعث پیچیدگی محاسبات شده و همچنین احتمال وجود فاکتورهایی دارای برهمکنش با هم را افزایش می‌دهد. لذا

تعدادی از این توصیف‌کننده‌ها که دارای ۹۰٪ مقادیر یکسان بودند حذف شدند. همچنین از بین توصیف‌کننده‌هایی که دارای همبستگی بیش از ۰/۹ بودند توصیف‌کننده ای که دارای همبستگی کمتری با متغیر وابسته بود، از سری داده‌ها حذف شد. سپس توصیف‌کننده‌های باقی مانده (۲۹۹ توصیف کننده)، به عنوان متغیرهای مستقل و مقادیر اندیس کواتس مولکول‌های مورد نظر به عنوان متغیرهای وابسته، به عنوان ورودی به نرم افزارSPSS وارد شد. در نهایت با استفاده از منوی آنالیز، گزینه‌ی رگرسیون خطی و روش مرحله ای انتخاب و نهایتاً چندین مدل مختلف به‌طور جداگانه به دست آمد، که با توجه به خصوصیات آماری آن‌ها از جمله ضریب رگرسیون (R), آماره F و خطای استاندارد و پس از رسم مقادیر R و R^2 و SE بر حسب تعداد توصیف‌کننده‌ها بهترین مدل که دارای بیش‌ترین مقدار R و F و کم ترین مقدار خطای استاندارد و شامل توصیف‌کننده‌های تا حد امکان قابل توجیه باشد، به‌عنوان مدل نهایی برای ارتباط اندیس کواتس مولکول‌ها با ساختار آن‌ها انتخاب شد. با این روش مدل چهارم با تعداد ۴ توصیف کننده به عنوان مناسب ترین آنها انتخاب شده و توسط روشهای MLR مدل سازی شده و مورد ارزیابی قرار گرفت .(نمودار-۱) تاثیر تعداد توصیف کننده ها را بر مقدارR^2 نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می شود، تغییراتR^2 بعد از ۴ توصیف کننده خیلی کم است. بنابراین ۴ توصیف کننده به عنوان تعداد بهینه توصیف کننده‌ها انتخاب گردید.



نمودار ۱- تاثیر تعداد توصیف کننده ها بر مقدارR^2 .

فهرست توصیف کننده های انتخاب شده توسط نرم افزار SPSS به همراه توصیف مختصری از آنها در (جدول-۲) آورده شده است.

جدول ۳- ماتریس ضرایب همبستگی توصیف کننده های انتخاب شده.

	MW	MATS2e	G2v	Mor29p
MW	۱			
MATS2e	۰/۲۹۸	۱		
G2v	-۰/۷۸۷	-۰/۱۷۶	۱	
Mor29p	-۰/۴۷۵	-۰/۲۰۴	-۰/۴۴۰	۱

پس از انتخاب مناسب ترین توصیف کننده ها توسط روش مرحله ای با استفاده از SPSS، مرحله بعد، ایجاد مدل بین توصیف کننده های انتخاب شده و اندیس کواتس ترکیبات است. از نرم افزار SPSS برای این منظور استفاده گردید و بین توصیف کننده ها و شاخص بازداری ترکیبات سری آموزش با استفاده از روش MLR را بطه زیر به دست آمد:

جدول ۲- توصیف کننده های انتخاب شده با SPSS و توصیف آنها.

توصیف کننده	نوع توصیف کننده	علامت	ضریب
Molecular weight	Constitutional descriptors	MW	۷/۸۹
Moran autocorrelation-lag 2/ weighted by atomic Sanderson electronegativities	2D autocorrelations	MATS2e	-۶۳۴/۱۰
weighted by atomic van der Waals volumes	WHIM descriptors	G2v	۳۸۱۲/۲۷
3D-MoRSE-signal 29 / weighted by atomic polarizabilities	3D-MoRSE descriptors	Mor29p	۲۳۰/۴۶
Constant			-۶۴۷/۳۶

RI= -647.36 + 7.89 MW-634.10 MATS2e + 3812.27 G2v + 230.46 Mor29p

سپس از معادله به دست آمده برای پیش بینی شاخص بازداری سری پیش بینی استفاده گردید.

مقادیر واقعی و پیش بینی شده شاخص بازداری و همچنین درصد خطاها برای کلیه ترکیبات مجموعه آموزش و پیش بینی در (جدول-۱) آورده شده است. (شکل-۱) مقادیر باقیمانده خطاها را نسبت به مقادیر تجربی نشان می دهد. میزان پراکندگی خطاها در اطراف محور نشان دهنده این است که خطای سیستماتیک در مدل وجود ندارد. همچنین در (شکل-۲) میزان نزدیکی داده ها به خط راست قدرت پیشگویی مدل را نشان می دهد.

جدول ۱- مقادیر تجربی و محاسبه شده شاخص بازداری برای ترکیبات مختلف برای مجموعه های آموزشی و پیش بینی در مدل SW-MLR همراه با مقادیر خطای نسبی.

No.	Compound	RI (Exp) [a]	RI (SW-MLR) [b]	E (%) [c]
Training set				
۱	Tricyclene	۹۲۶	۱۰۰۴/۸	۸/۵۱
۲	α-thujene	۹۳۱	۹۷۰/۷۳	۴/۲۶
۳	α-fenchene	۹۵۳	۹۷۱/۲	۱/۹۰
۴	Camphene	۹۵۳	۹۲۸/۱۴	-۲/۶۰
۵	β-pinene	۹۸۰	۱۰۰۰/۳	۲/۰۷
۶	Myrcene	۹۹۱	۱۰۶۳/۴	۷/۳۰
۷	α-phellandrene	۱۰۰۵	۱۰۳۸/۱	۳/۲۸
۸	δ-3-carene	۱۰۱۱	۹۵۷/۸۴	-۵/۲۵
۹	p-cymene	۱۰۲۶	۱۰۱۵/۶	-۱/۰۱
۱۰	Limonene	۱۰۳۱	۱۰۵۷/۴	۲/۵۵
۱۱	(Z)- β-ocimene	۱۰۳۷	۱۰۴۱/۲	۰/۴۰
۱۲	(E)- β-ocimene	۱۰۵۰	۱۰۴۱/۲	-۰/۸۴
۱۳	cis-sabinene hydrate	۱۰۶۸	۹۹۶/۷۵	-۶/۶۷
۱۴	Terpinolene	۱۰۸۸	۱۰۸۸/۳	۰/۰۲
۱۵	Linalool	۱۰۹۸	۱۱۲۹/۹	۲/۹۰
۱۶	cis-thujone (=β-thujone)	۱۱۰۲	۱۱۳۸/۳	۳/۲۹
۱۷	cis-p-menth-2-en-1-ol	۱۱۲۱	۱۲۱۱/۶	۸/۰۸
۱۸	trans-pinocarveol	۱۱۳۹	۱۱۰۲/۶	-۳/۱۹
۱۹	Camphor	۱۱۴۳	۱۰۸۹/۷	-۴/۶۶
۲۰	E-tagetone	۱۱۴۴	۱۱۴۶/۷	۰/۲۳
۲۱	borneol	۱۱۶۵	۱۱۳۴	-۲/۶۶
۲۲	umbellulone	۱۱۷۱	۱۲۲۲/۸	۴/۴۲
۲۳	p-cymen-8-ol	۱۱۸۳	۱۱۶۶/۷	-۱/۳۸
۲۴	α-terpineol	۱۱۸۹	۱۱۱۵/۸	-۶/۱۵
۲۵	4Z-decenal	۱۱۹۳	۱۲۳۰/۶	۳/۱۴
۲۶	trans-piperitol	۱۲۰۵	۱۱۸۳/۱	-۱/۸۱
۲۷	citronellol	۱۲۲۸	۱۲۲۹/۷	۰/۱۳
۲۸	piperitone	۱۲۵۲	۱۱۴۷	-۸/۳۸

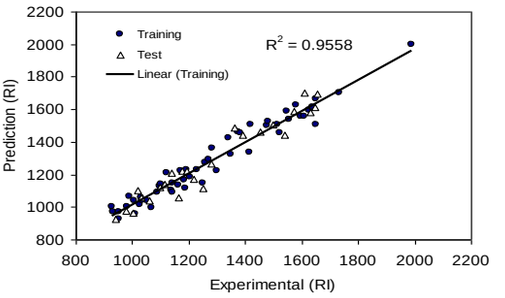
ادامه جدول ۱.

No.	Compound	RI (Exp) [a]	RI (SW-MLR) [b]	E (%) [c]
Training set				
۲۹	linalyl acetate	۱۲۵۷	۱۲۷۲/۳	۱/۲۲
۳۰	p-menth-2-ene-1,4-diol	۱۲۶۹	۱۲۹۱/۹	۱/۸۰
۳۱	bornyl acetate	۱۲۸۵	۱۳۶۲/۲	۶/۰۰
۳۲	terpinen-4-ol acetate	۱۳۰۰	۱۲۱۹/۴	−۶/۲۰
۳۳	δ-elemene	۱۳۳۹	۱۴۲۲/۲	۶/۲۱
۳۴	α-terpinyl acetate	۱۳۵۰	۱۳۲۳/۳	−۱/۹۷
۳۵	α-copaene	۱۳۷۶	۱۴۶۲/۶	۶/۲۹
۳۶	β -bourbonene	۱۳۸۳	۱۴۵۳/۸	۵/۱۱
۳۷	β-funebrene	۱۴۱۵	۱۳۳۵/۷	−۵/۶۰
۳۸	(E)-caryophyllene	۱۴۱۸	۱۵۰۳/۹	۶/۰۵
۳۹	γ-muurolene	۱۴۷۷	۱۴۹۷/۵	۱/۳۸
۴۰	germacrene D	۱۴۸۰	۱۵۲۲/۴	۲/۸۶
۴۱	γ-cadinene	۱۵۱۳	۱۵۰۶	−۰/۴۶
۴۲	δ-cadinene	۱۵۲۴	۱۴۵۷/۹	−۴/۳۳
۴۳	elemol	۱۵۴۹	۱۵۸۹	۲/۵۸
۴۴	germacrene D-4-ol	۱۵۵۶	۱۵۳۵/۶	−۱/۳۱
۴۵	caryophyllene oxide	۱۵۸۱	۱۶۲۸/۱	۲/۹۷
۴۶	cedrol	۱۵۹۶	۱۵۵۵/۶	−۲/۵۲
۴۷	epi-cedrol	۱۶۱۱	۱۵۵۵/۶	−۳/۴۳
۴۸	1-epi-cubenol	۱۶۲۷	۱۵۹۳/۴	−۲/۰۶
۴۹	epi- α -cadinol	۱۶۴۰	۱۶۰۴/۵	−۲/۱۶
۵۰	epi- α -muurolol	۱۶۴۰	۱۶۱۱	−۱/۷۷
۵۱	β-eudesmol	۱۶۴۹	۱۵۰۴/۹	−۸/۷۳
۵۲	α-eudesmol	۱۶۵۲	۱۶۶۴	۰/۷۲
۵۳	oplopenone	۱۷۳۳	۱۶۹۹/۷	−۱/۹۲
۵۴	manoyl oxide	۱۹۸۹	۱۹۹۶/۲	۰/۳۶
Test set				
۱	α -pinene	۹۳۹	۹۲۵/۲۹	−۱/۴۵
۲	sabinene	۹۷۶	۹۷۶/۰۵	۰/۰۰
۳	δ-2-carene	۱۰۰۱	۹۶۱/۰۵	−۳/۹۹
۴	α-terpinene	۱۰۱۸	۱۱۰۲/۱	۸/۲۶
۵	β-phellandrene	۱۰۳۱	۱۰۵۵/۹	۲/۴۱
۶	γ-terpinene	۱۰۶۲	۱۰۴۲/۵	−۱/۸۳
۷	trans-sabinene hydrate	۱۰۹۷	۱۱۱۹/۳	۲/۰۳
۸	trans-thujone(=α-thujone)	۱۱۱۴	۱۱۳۸/۳	۲/۱۸
۹	trans-p-menth-2-en-1-ol	۱۱۴۰	۱۲۱۱/۶	۶/۲۷

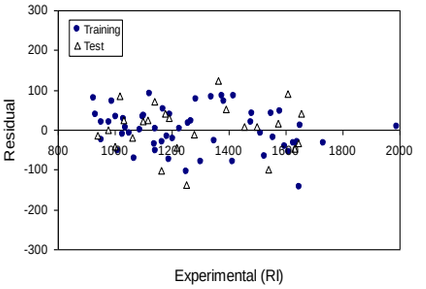
ادامه جدول ۱.

No.	Compound	RI (Exp) [a]	RI (SW-MLR) [b]	E (%) [c]
Test set				
۱۰	pinocarvone	۱۱۶۳	۱۰۶۱/۴	-۸/۷۴
۱۱	terpinen-4-ol	۱۱۷۷	۱۲۱۹/۴	۳/۵۹
۱۲	myrtenol	۱۱۹۱	۱۲۲۰/۹	۲/۵۱
۱۳	trans-carveol	۱۲۱۷	۱۱۷۴/۱	-۳/۵۲
۱۴	trans-sabinene hydrate	۱۲۵۲	۱۱۱۳/۳	-۱۱/۰۷
۱۵	pregeijerene B	۱۲۷۷	۱۲۶۶/۷	-۰/۸۰
۱۶	muurol acetate	۱۳۶۲	۱۴۸۶/۴	۹/۱۳
۱۷	β-elemene	۱۳۹۱	۱۴۴۴/۴	۳/۸۳
۱۸	α-humulene	۱۴۵۴	۱۴۶۱/۶	۰/۵۱
۱۹	α-muurolene	۱۴۹۹	۱۵۰۶/۵	۰/۴۹
۲۰	α-cadinene	۱۵۳۸	۱۴۴۰/۲	-۶/۳۶
۲۱	germacrene D-4-ol	۱۵۷۴	۱۵۹۰/۷	۱/۰۶
۲۲	β-oplopenone	۱۶۰۸	۱۶۹۹/۷	۵/۶۹
۲۳	γ-eudesmol	۱۶۳۰	۱۵۸۲/۵	-۲/۹۱
۲۴	α-muurolol	۱۶۴۵	۱۶۱۱	-۲/۰۶
۲۵	α-cadinol	۱۶۵۳	۱۶۹۵/۲	۲/۵۵

a) مقادیر تجربی شاخص بازداری، b) شاخص بازداری محاسبه شده توسط رگرسیون خطی چند گانه، c) خطای نسبی



شکل ۱- نمودار مقادیر شاخص بازداری محاسبه شده با کمک مدل SW-MLR برای مجموعه‌های آموزشی و پیش‌بینی برحسب مقادیر تجربی.



شکل ۲- نمودار تغییرات خطا برای مقادیر شاخص بازداری محاسبه شده با کمک مدل SW-MLR برای مجموعه‌های آموزشی و پیش‌بینی.

٤. نتیجه گیری

ارتباط کمی بین ویژگی و ساختار ترکیباتی از روغن های ضروری با استفاده از روش انتخاب متغیر به صورت مرحله ای- رگراسیون خطی چندگانه(SW-MLR) جهت پیش بینی شاخص بازداری(اندیس کواتس) مورد مطالعه قرار گرفت. مجموعه داده ها شامل شاخص بازداری ۷۹ ترکیب از مولکولهای روغنهای ضروری بود. سپس توصیف کننده های مولکولی محاسبه شده و توصیف کننده های مهم با استفاده از روش مرحله ای انتخاب شدند. پیشگویی کمی با مدل QSPR برای۲۵ ترکیب از ۷۹ ترکیب که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند مورد ارزیابی قرار گرفت. مدل SW-MLR با ۴ توصیف کننده انتخاب شده ساخته شد. پارامترهای آماری نشان می دهد که مدل SW-MLR توانایی پیش بینی شاخص بازداری مولکولها را با قدرت و توانایی بالا دارد.

۵. مراجع:

[1] S. Kusmenoglu, K.H.C. Baser and T. Oze, *J. Essen. Oil. Res*., 7 (**1995**) 441.

[2] T. Dimo, S.V. Rakotonirina, P.V. Tan, J. Azay, E. Dongo and G. Cros, *J. Ethnopharmacol*., 83 (**2002**) 183.

[3] T. Rabe and J.V. Staden, *J. Ethnopharmacol*., 56 (**1997**) 81.

[4] N. Achak, A. Roman, M.A. Friqui and R.P. Adams, *J. Essen. Oil Res*., 20 (**2008**) 200.

[5] M. Jalali-Heravi and M.H. Fatemi, *J. Chromatogr. A*. 915 (**2001**) 177.

[6] Z. Garakani-Nejad, M. Karlovits, W. Demuth, T. Stimpfl, W. Vycudilik, M. Jalali-Heravi and K. Varmuza, *J. Chrom. A*., 1028 (**2004**) 287.

[7] J. Acevedo-Martinez, J.C. Escalona-Arranz, A. Villar-Rojas, F. Tellez-Palmero, R. Perez-Roses, L. Gonzalez and R. Carrasco-Velar, *J. Chrom. A.*, 1102 (**2006**) 238.

[8] P. Tulasamma and K.S. Reddy, *J. Mol. Graph. Model*., 25 (**2006**) 507.

[9] T.H.K. Kowalska, *Chemometr. Intell. Lab. Syst*., 47 (**1999**) 205.

[10] R. Todeschini and V. Consonni, *Handbook of molecular descriptors*, Wiley-VCH, Weinheim (**2000**).

[11] L.B. Kier and L.H. Hall, *Molecular Connectivity in Structure-Activity Analysis*, RSP-Wiley, Chichetster, UK (**1986**).

[12] E.V. Konstantinova, *J. Chem. Inf. Comp. Sci*., 36 (**1997**) 54.

[13] G. Rucker and C. Rucker, *J. Chem. Inf. Comp. Sci*., 33 (**1993**) 683.

[14] J. Galvez, R. Garcia, M.T. Salabert and R. Soler, *J. Chem. Inf. Comp. Sci*., 34 (**1994**) 520.

[15] P. Broto, G. Moreau and C. Vandicke, *J. Med. Chem*., 19 (**1984**) 66.