

Caractérisation de nouveaux dérivés et analogues de la néropsine et identification de leurs intermédiaires de synthèse par spectrométrie de masse FAB [1]

Jean-Louis Aubagnac*

Laboratoire de Synthèse et d'Etudes Physicochimiques, URA 468 du CNRS, case courrier 019,
Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Place Eugène Bataillon,
34095 Montpellier-Cédex-5, France

Françoise Debart, Driss Mrani, Gilles Gosselin,

Bernard Rayner et Jean-Louis Imbach*

Laboratoire de Chimie Bio-organique, URA 488 du CNRS, case courrier 008,
Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Place Eugène Bataillon,
34095 Montpellier-Cédex-5, France

Reçu le 30 janvier 1990

The fast-atom bombardment (FAB) mass spectra of a series of netropsin derivatives and analogues were examined in positive-ion and when necessary negative-ion modes. Behaviour of these derivatives was related to that of oligopeptides. Some compounds protected by *t*-butoxycarbonyl groups were also investigated using this technique and showed characteristic fragmentations.

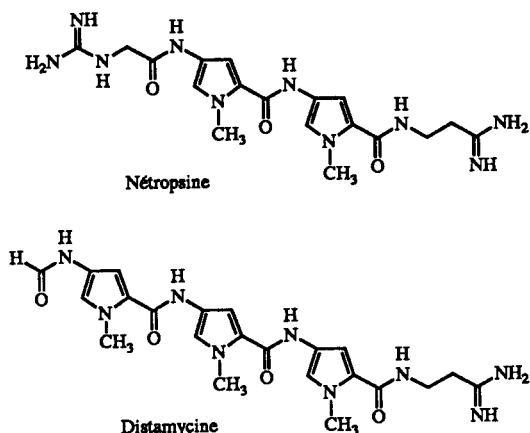
J. Heterocyclic Chem., **28**, 145 (1991).

Introduction.

La néropsine (synonyme congocidine) [2] et la distamycine [3] (Figure I) sont des pseudooligopeptides naturels contenant respectivement deux et trois résidus 4-amino-1-méthylpyrrole-2-carboxylate. A ce jour, ces deux substances ont suscité un important intérêt en raison d'une part de leurs activités antivirales et antiprolifératives notables [4], d'autre part de leur aptitude à se fixer sélectivement au niveau de séquences (adenine-thymine), dans le petit sillon de l'ADN en conformation B, et ce de façon non covalente et non intercalante [5]. Leurs propriétés biologiques remarquables ont ainsi conduit diverses équipes de recherches à entreprendre la synthèse et l'évaluation biologique de nombreux analogues de la néropsine et de la distamycine. Bien que la spectrométrie de masse en impact électronique ait été parfois utilisée lors de la caractérisation de certains de ces analogues et de leurs intermédiaires de synthèse [6-10], cette technique s'est révélée dans la plupart des cas inefficace en raison principalement de leur instabilité thermique et de leur faible volatilité. Par contre il a été récemment montré que des techniques d'ionisation plus douces [désorption par champ, bombardement par des atomes lourds (FAB) et désorption dans un plasma d'ionisation chimique] permettent d'obtenir des informations fondamentales sur la structure de la distamycine et de certains de ses analogues [11,12].

Dans ce travail nous présentons nos résultats en spectrométrie de masse FAB, technique particulièrement adaptée à l'étude de composé polaires [13,14] et notamment de peptides [15,16], sur un certain nombre d'analogues et de dérivés de la néropsine synthétisés dans notre laboratoire.

Figure I



Resultats et discussion.

Composés étudiés.

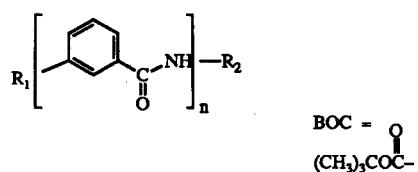
Les structures des analogues et dérivés de la néropsine qui font l'objet de ce travail sont présentées dans les Figures II à V. La synthèse des composés 1-14 [17] et 15-18 [18] a été précédemment rapportée, celle des composés 19-22 [19] est en cours de rédaction.

Spectres de masse.

Les principaux ions observés dans les spectres de masse FAB en mode positif (et également négatif pour 5, 7, 15 et 17) sont consignés dans le Tableau I. Les spectres FAB, en mode positif, présentent certaines similitudes avec ceux des peptides [15,16,20-22] et comportent trois parties distinctes:

- l'ion quasimoléculaire (protoné), généralement abon-

Figure II

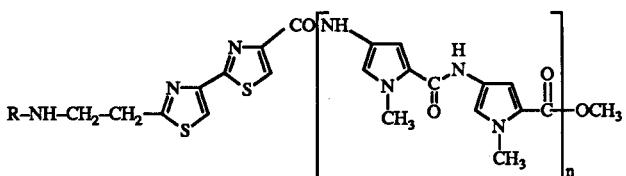


| Composé | n | R ₁ | R ₂ |
|---------|---|---|--|
| 1 | 1 | NO ₂ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 2 | 1 | NH ₂ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 3 | 2 | NO ₂ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 4 | 2 | NH ₂ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 5 | 2 | | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 6 | 2 | HCl • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 7 | 2 | $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{N}$ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 8 | 2 | BOC NH(CH ₂) ₄ N(CH ₂) ₃ NHCO(CH ₂) ₂ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NHBoc BOC |
| 9 | 2 | NH ₂ (CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NHCO(CH ₂) ₂ • 2 CF ₃ COOH | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NH ₂ • 2 CF ₃ COOH |
| 10 | 2 | CF ₃ COOH • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ | (CH ₂) ₃ N(CH ₂) ₄ NH ₂ • 2 CF ₃ COOH |
| 11 | 2 | HCl • NH ₂ | CH ₂ -CH ₂ - $\begin{matrix} \text{N} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$ -NH ₂ • HCl |
| 12 | 2 | 1/2 H ₂ SO ₄ • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ | CH ₂ -CH ₂ - $\begin{matrix} \text{N} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$ -NH ₂ • 1/2 H ₂ SO ₄ |
| 13 | 2 | HCONH | CH ₂ -CH ₂ -C $\begin{matrix} \text{NH} \\ \diagdown \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$ - • 1/2 H ₂ SO ₄ |
| 14 | 2 | CF ₃ CO ₂ H • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ • 1/2 H ₂ SO ₄ | CH ₂ -CH ₂ -C $\begin{matrix} \text{NH} \\ \diagdown \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$ - • 1/2 H ₂ SO ₄ |

Figure III

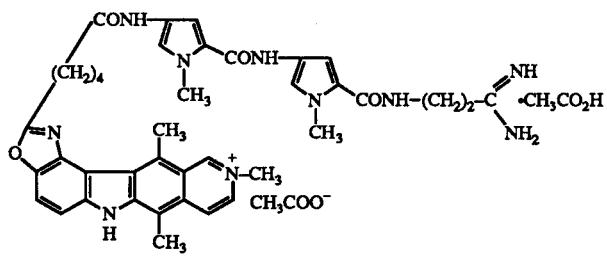
| Composé | R ₁ | R ₂ | R ₃ |
|---------|--|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 15 | NO ₂ | BOC | BOC |
| 16 | CF ₃ CO ₂ H • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ | BOC | BOC |
| 17 | NO ₂ | CF ₃ CO ₂ H • H | CF ₃ CO ₂ H • H |
| 18 | CF ₃ CO ₂ H • $\begin{matrix} \text{HN} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{N} \end{matrix} - \text{C}-\text{NHCH}_2\text{CONH}$ | CF ₃ CO ₂ H • H | CF ₃ CO ₂ H • H |

Figure IV



| Composé | n | R |
|---------|---|---------------------------------------|
| 19 | 0 | BOC |
| 20 | 1 | BOC |
| 21 | 1 | H • CF ₃ CO ₂ H |

Figure V



22

dant, dans la partie supérieure du spectre, et permettant de déduire la valeur de la masse moléculaire du composé, – quelques ions significatifs de la structure mais de plus faible abondance dans la partie intermédiaire du spectre, – enfin, aux masses peu élevées, des ions plus abondants, caractéristiques des groupements fonctionnels.

En ce qui concerne le spectre FAB en mode négatif du composé 5, on observe, outre l'ion quasimoléculaire [M-H]⁻ (m/z = 788), un autre ion (m/z = 824) correspondant à [M + Cl]⁻; cette attribution a été confirmée par la distribution isotopique de cet ion imputable à l'atome de chlore [m/z = 824-826 (3:1)].

Pour les composés 6, 7, 9-14, 16-18 et 21-22 qui avaient été isolés sous forme de sel, leur nature (cationique ou anionique) conditionne le choix du mode d'ionisation et les résultats obtenus sont en accord avec ceux relatifs à divers sels organiques que nous avions précédemment publiés [23-25].

Ainsi pour les composés 12 et 14 qui présentent une structure cationique du type C⁺, HSO₄⁻, l'ion C⁺ (m/z respectivement égal à 451 et 425) est observé avec une abondance notable dans les spectres FAB en mode positif. De plus la présence dans le spectre de l'ion adduit [C + H₂SO₄]⁺ (m/z respectivement égal à 549 et 523) permet de confirmer que l'anion sulfate fait bien partie de la molécule.

Dans le cas du composé 7, qui présente une structure anionique du type A⁻, (C₂H₅)₃NH⁺, l'anion A⁻ (m/z = 682) est l'ion le plus abondant dans le spectre FAB en mode

Table I
Spectres de masse FAB des composés 1-22

| Composé | Formule brute | Masse moléculaire | Mode d'ionisation + = mode positif -= mode négatif | Ion(s) caractéristique(s) de la structure moléculaire | m/z (intensité relative, %) Ions résultants de la fragmentation des groupements BOC | m/z (intensité relative, %) Ions résultants de la fragmentation des liaisons peptiques. B Y'' | Autres ions caractéristiques |
|---------|--|--|--|---|--|---|--|
| 1 | C ₂₄ H ₃₈ N ₄ O ₇ | 494 | + | [M+H] ⁺ 495 (17) | 395 (31), 339 (100), 295 (9) | 150 (29) | - |
| 2 | C ₂₄ H ₄₀ N ₄ O ₅ | 464 | + | [M+H] ⁺ 465 (35) | 395 (35), 309 (28), 265 (15), 514 (86) | 120 (100) | 346 (47) |
| 3 | C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₈ | 613 | + | [M+H] ⁺ 614 (100) | | - | - |
| 4 | C ₃₁ H ₄₅ N ₅ O ₆ | 583 | + | [M+H] ⁺ 584 (4) | 484 (24), 428 (20), 384 (13) | 239 (48) | 346 (12) |
| 5 | C ₄₄ H ₆₇ N ₇ O ₆ | 789 | + | [M+H] ⁺ 790 (100) | | - | - |
| 5 | C ₄₄ H ₆₇ N ₇ O ₆ | 789 | - | [M-H] ⁻ 788 (20) | | - | 824 (100) |
| 6 | C ₃₄ H ₅₀ N ₈ O ₇ | 682 + 36 •HCl 718 | = + | [M+H-HCl] ⁺ 683 (32) | 583 (1), 483 (11) | 239 (72) 120 (100) 100 (100) | - |
| 7 | C ₃₅ H ₄₉ N ₅ O ₉ | 683 + 101 •(C ₂ H ₅) ₃ N 784 | = - | [M-H-(C ₂ H ₅) ₃ N] ⁻ 682 (100) | | - | - |
| 8 | C ₅₂ H ₈₂ N ₈ O ₁₂ | 1010 | | [M+H] ⁺ 1011 (4) | 911 (31), 855 (2), 811 (5), 711 (7), 611 (22) | 239 (26) | 346 (25) |
| 9 | C ₃₂ H ₅₀ N ₈ O ₄ | 610 + 456 • 4 CF ₃ COOH 1066 | = + | [M+H-4CF ₃ COOH] ⁺ 611 (18) | | 239 (19) | - |
| 10 | C ₂₄ H ₃₄ N ₈ O ₃ | 482 + 342 • 3 CF ₃ COOH 824 | = + | [M+H-3CF ₃ COOH] ⁺ 483 (100) [M+H-2CF ₃ COOH] ⁺ 597 (10) | | 120 (100) | - |
| 11 | C ₁₉ H ₂₁ N ₅ O ₂ | 351 + 72 • 2 HCl 423 | = + | [M+H-2HCl] ⁺ 352 (36) [2M+H-2HCl] ⁺ 703 (1) | | 239 (12) | - |
| 12 | C ₂₂ H ₂₆ N ₈ O ₃ | 450 + 98 • H ₂ SO ₄ 548 | = + | [M+H-H ₂ SO ₄] ⁺ 451 (23) [M+H] ⁺ 549 (8) | | 120 (17) | 97 (100) 44 (28) |
| 13 | C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₃ | 353 + 49 • 1/2 H ₂ SO ₄ 402 | = + | [M+H- 1/2 H ₂ SO ₄] ⁺ 354 (100) | | - | - |
| 14 | C ₂₀ H ₂₄ N ₈ O ₃ | 424 + 98 • H ₂ SO ₄ 522 | = + | [M+H-H ₂ SO ₄] ⁺ 425 (100) [M+H] ⁺ 523 (45) | | 120 (50) | 355 (30) |
| 15 | C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₈ | 619 | + | [M+H] ⁺ 620 (35) | 520 (45), 464 (39), 420 (19) | 275 (100) | - |
| 15 | C ₂₉ H ₄₅ N ₇ O ₈ | 619 | - | [M-H] ⁻ 618 (100) | 518 (10) | - | - |
| 16 | C ₃₂ H ₅₂ N ₁₀ O ₇ | 688 + 60 • CH ₃ COOH 748 | = + | [M+H-CH ₃ COOH] ⁺ 689 (38) | | 123 (100) | 781 (3) [M+Gly- cérol+H -CH ₃ COOH] ⁺ |

Table I (continued)

| Composé | Formule brute | Masse moléculaire | Mode d'ionisation + = mode positif - = mode négatif | Ion(s) caractéristique(s) de la structure moléculaire | m/z (intensité relative, %) | Ions résultants de la fragmentation des groupements BOC | Ions résultants de la fragmentation des liaisons peptiques. B | Ions résultants de la fragmentation des liaisons peptiques. Y" | Autres ions caractéristiques |
|---------|--|-------------------|---|--|-----------------------------|---|---|--|------------------------------|
| 17 | C ₁₉ H ₂₉ N ₇ O ₄ | 419 + 228 | = | [M+H-2CF ₃ COOH] ⁺ 420 (100) | - | 275 (42) 123 (26) | - | - | - |
| | • 2 CF ₃ COOH | 647 | | | | | | | |
| 17 | C ₁₉ H ₂₉ N ₇ O ₄ | 419 + 228 | = | [M-H-2CF ₃ COOH] ⁻ 418 (2) | - | - | - | 227 (9) | |
| | • 2 CF ₃ COOH | 647 | | [M-H-CF ₃ COOH] ⁻ 532 (5) | | | | 113 (100) | |
| 18 | C ₂₂ H ₃₆ N ₁₀ O ₃ | 488 + 342 | = | [M+H-3CF ₃ COOH] ⁺ 489 (57) | - | 245 (21) 123 (100) | - | - | - |
| | • 3 CF ₃ COOH | 830 | | | | | | | |
| 19 | C ₁₅ H ₁₉ N ₃ S ₂ O ₄ | 369 | + | [M+H] ⁺ 370 (100) | 270 (50) | - | - | - | - |
| 20 | C ₂₇ H ₃₁ N ₇ S ₂ O ₆ | 613 | + | [M+H] ⁺ 614 (100) | 514 (90) | - | - | - | - |
| 21 | C ₂₂ H ₂₃ N ₇ S ₂ O ₄ | 513 + 114 | = | [M+H-CF ₃ COOH] ⁺ 514 (100) | - | - | - | - | - |
| | • CF ₃ COOH | 627 | | | | | | | |
| 22 | C ₃₉ H ₄₃ N ₁₀ O ₄ | 715 + 119 | | [M-CH ₃ COOH-CH ₃ COO] ⁺ 715 (100) | - | - | - | - | - |
| | • CH ₃ COOH, CH ₃ COO ⁻ | 834 | + | | | | | | |

négatif (Figure VI) [le spectre FAB en mode positif de 7 ne comporte comme principal ion que le cation triethylammonium (C₂H₅)₃NH⁺, m/z = 102].

Enfin le spectre FAB en mode positif du composé 22, ce dernier étant du type C⁺⁺, 2CH₃COO⁻, montre qu'il est possible de caractériser un cation doublement chargé à partir

de l'ion simplement chargé (m/z = 715, Figure VII), correspondant à la perte d'un proton selon l'équation suivante:

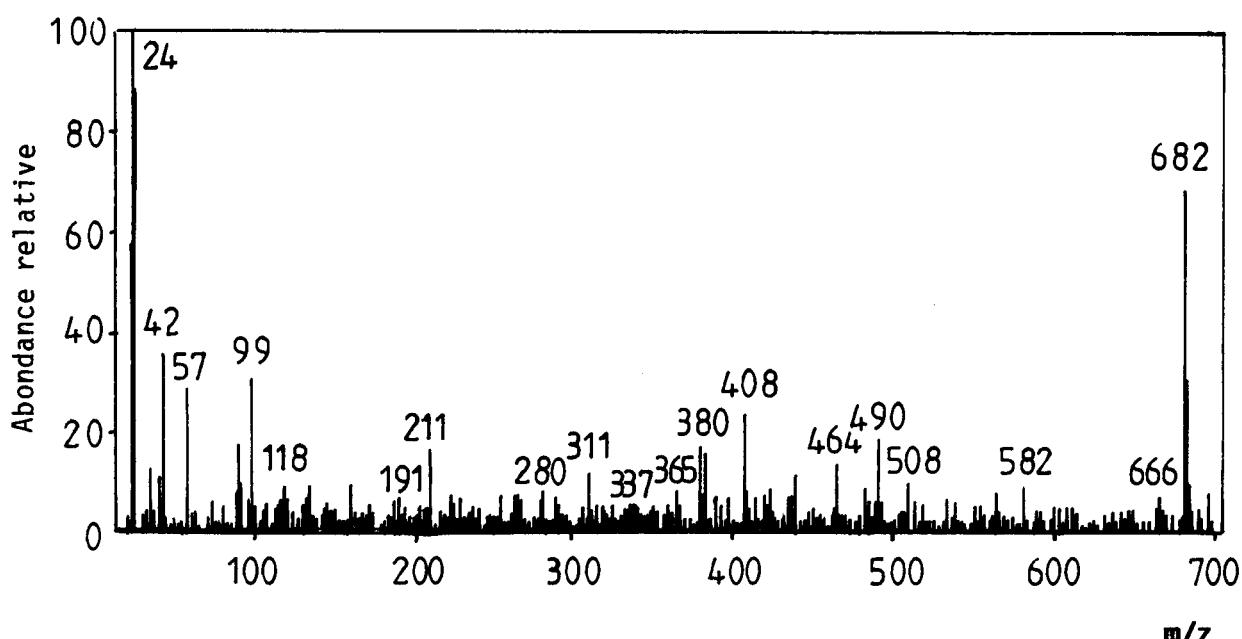
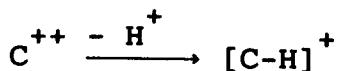


Figure VI. Spectre de masse FAB en mode négatif de 7.

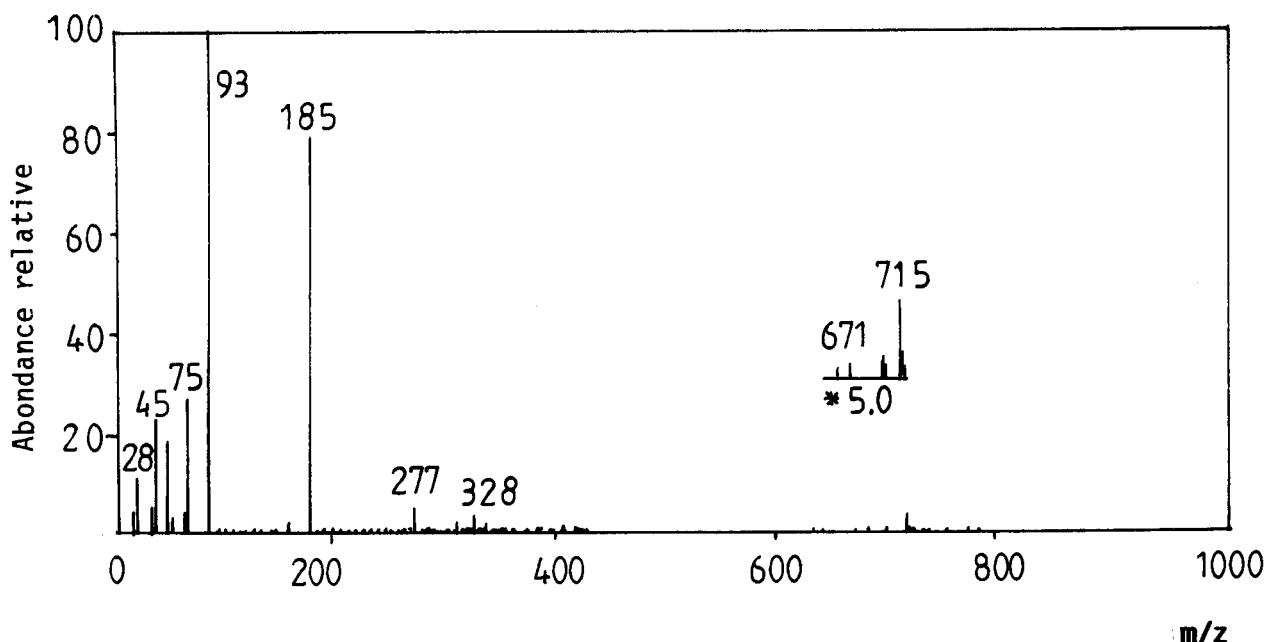
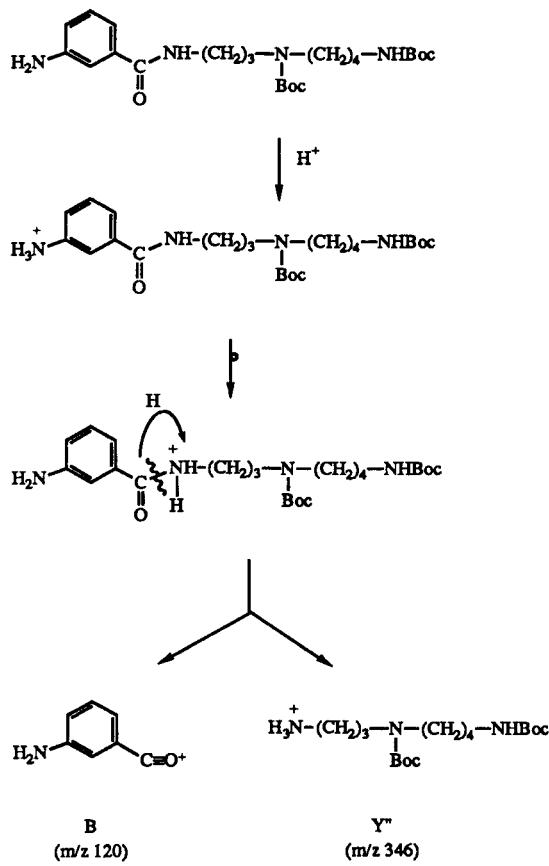


Figure VII. Spectre de masse FAB en mode positif de 22.

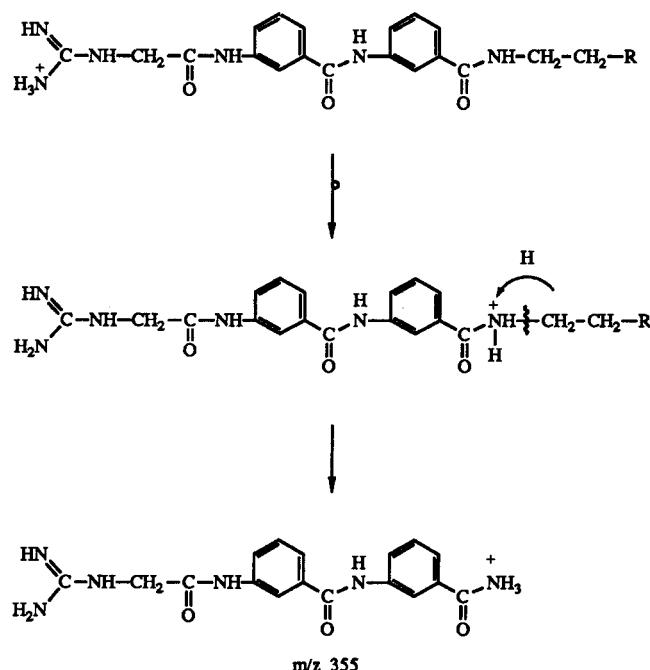
Pour tous les composés étudiés, les fragmentations observées en mode positif et impliquant les liaisons

Schéma I



amides sont en accord avec celles proposées pour les composés similaires que sont les peptides [26]. Ainsi, dans le spectre du composé 2, on observe, énumérés suivant la nomenclature de Roepstorff et Fohlmann [27], les ions B ($m/z = 120$) et Y'' ($m/z = 346$) caractéristiques respectivement des ses parties N- et C-terminales (Schéma I).

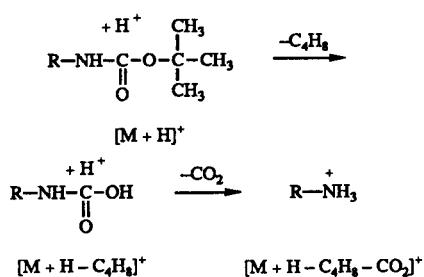
Schéma II



Une autre fragmentation caractéristique, conduisant à la formation de l'ion $m/z = 355$, a également été observée sur les spectres des composés **12** et **14**. Cette fragmentation (Schéma II) est similaire à celle préalablement observée dans les spectres FAB de certains peptides linéaires [28] et cycliques [29].

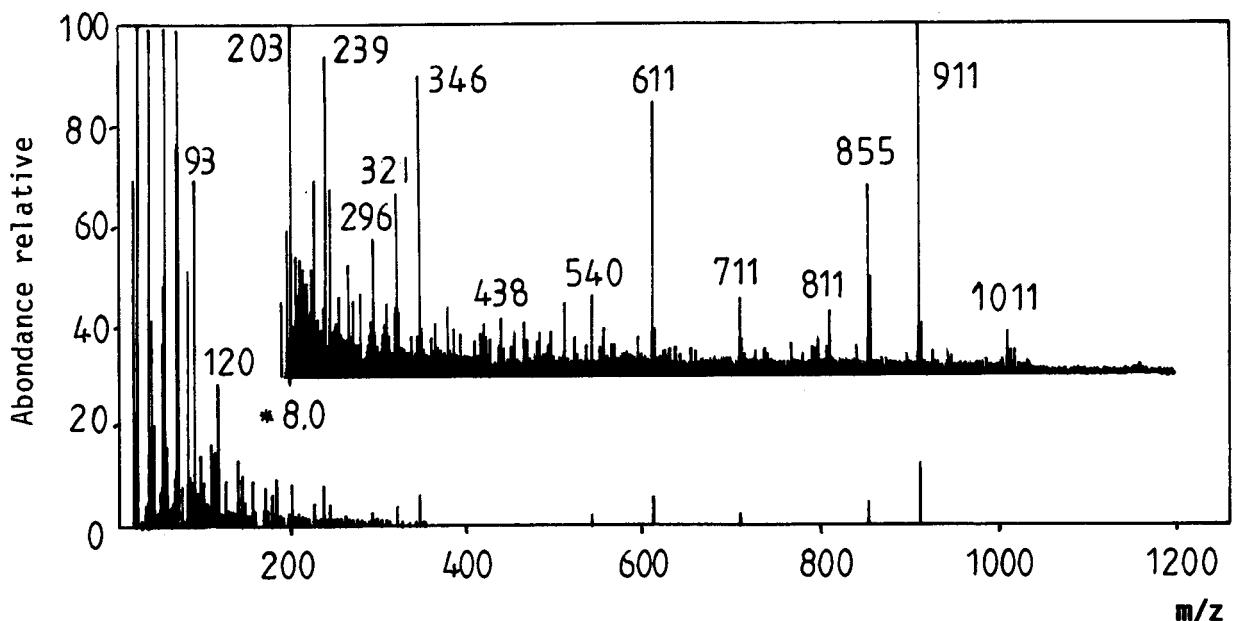
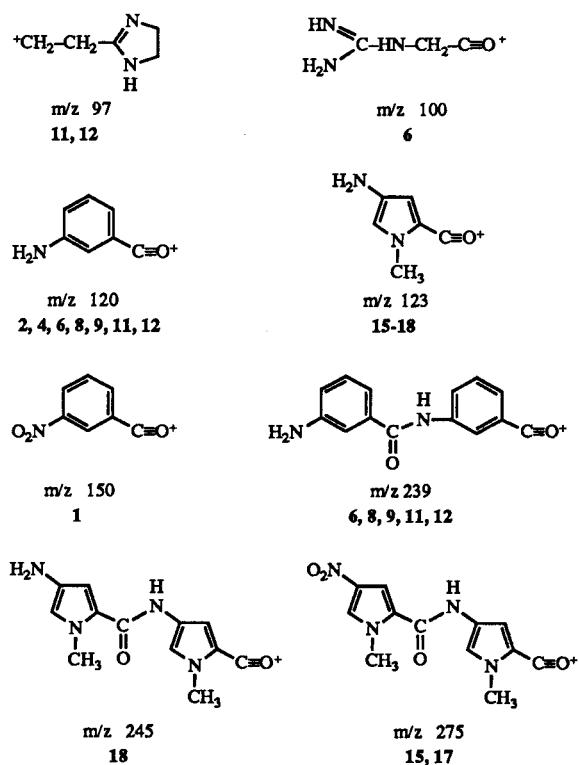
Les spectres FAB positif des analogues de la néropsine comportant un ou plusieurs groupements protecteurs *t*-butoxycarbonyle (BOC) présentent des fragmentations spécifiques de ce groupement, déjà décrites dans le cas de BOC-aminoacides [30] et de BOC-peptides [26]. Ainsi le BOC est caractérisé par les pertes successives (56 daltons d'abord, 44 daltons ensuite) ou simultanées ($56 + 44 = 100$ daltons) de C_4H_8 et CO_2 (Schéma III). Plus généralement, lorsque le composé comporte n groupements BOC, cela se traduit par la présence aux masses élevées de $(n + 1)$ ions séparés par 100 daltons. Par exemple, dans le spectre FAB en mode positif du composé **8** ($M = 1010$), qui possède quatre groupements BOC, les ions suivants sont

Schéma III



observés: $m/z = 1011, 911, 811, 711$ et 611 (Tableau I et Figure VIII).

Figure IX

Figure VIII. Spectre de masse FAB en mode positif de **8**.

Enfin les spectres de masse de la plupart des composés étudiés comportent, dans la région correspondant aux masses peu élevées, divers ions caractéristiques de leur structure, et présentés dans la Figure IX.

Conclusion.

Les spectres FAB en mode positif (et éventuellement négatif) des analogues et dérivés de la néropsine étudiés dans ce travail présentent d'intéressantes propriétés analytiques. D'une part ils permettent de déterminer la masse moléculaire du composé, d'autre part, lorsque le composé est un sel, la présence d'un ion adduit permet de déterminer sans ambiguïté la nature du contre-ion.

Dans le cas des composés possédant des groupements protecteurs BOC, il est en outre possible de déterminer le nombre de ces groupements, et ce à partir des fragmentations caractéristiques résultant en une perte de 100 daltons. Les autres ions fragments présents dans ces spectres sont généralement peu abondants et appartiennent aux deux catégories attendues, à savoir ions fragments des parties N- et C-terminales. Par rapport aux spectres FAB des composés apparentés que sont les peptides [21], les spectres étudiés dans ce travail présentent comme spécificité une plus grande abondance des ions acylum caractéristiques de la partie N-terminale.

En résumé, la spectrométrie de masse FAB constitue une méthode analytique de choix pour la caractérisation des dérivés de la néropsine, et ce à partir d'une faible quantité d'échantillon et dans un temps très bref.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres FAB en modes positif et négatif ont été enregistrés sur un spectromètre de masse JEOL DX300, équipé du traitement automatique des données DA 5000. Le gaz utilisé est le xénon. L'énergie du faisceau d'atomes neutres est égale à 3 Kev et le courant d'émission à 20 mA. Les matrices utilisées sont: le glycérol, le mélange glycérol-thioglycérol (50:50, v/v) ou l'alcool *meta*-nitrobenzylique. Pour chaque spectre, 2 µl d'une solution de l'échantillon dissous dans 100 µl de la matrice sont déposés sur la cible.

Remerciements.

Les auteurs remercient Mme M. Roque pour son aide technique et Mme C. Duguet pour la dactylographie du manuscrit.

REFERENCES ET NOTES

[1] Une communication préliminaire d'une partie de ce travail a été présentée à la 11th International Mass Spectrometry Conference, Bordeaux, France, 29 August-2 September 1988; J.-L. Aubagnac, F. Debart, B. Rayner, G. Gosselin et J.-L. Imbach, *Adv. Mass Spectrom.*, **11**, 1362

- (1989).
- [2] M. Julia et N. Préau-Joseph, *Bull. Soc. Chim. France*, **43** 48 (1967).
- [3] F. Arcamone, P. G. Orezzi, W. Barbieri, V. Nicolella et S. Penco, *Gazz. Chim. Ital.*, **67**, 1097 (1967).
- [4] Pour une revue, voir: F. E. Hahn, *Antibiotics III. Mechanism of Action of Antimicrobial and Antitumor Agents*, J. W. Corcoran et F. E. Hahn, eds, Springer-Verlag, New York, 1975, pp 79-100.
- [5] Pour une revue, voir: C. Zimmer et U. Wahnert, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **47**, 31 (1986).
- [6] M. Bialer, B. Yagen, R. Mechoulam et Y. Becker, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1334 (1980).
- [7] P. L. Gendleer et H. Rapoport, *J. Med. Chem.*, **24**, 33 (1981).
- [8] F. Arcamone, E. Lazzari, M. Menozzi, C. Soranzo et M. A. Verini, *Anti-Cancer Drug Des.*, **1**, 235 (1986).
- [9] M. Rajagopalan, K. E. Rao, J. Ayer et V. Sasisekharan, *Indian J. Chem.*, **26B**, 1021 (1987).
- [10] K. Krowicki et J. W. Lown, *J. Org. Chem.*, **52**, 3493 (1987).
- [11] E. Arlandini, L. Franzoi, B. Gioia et G. Sollazzo, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **16**, 419 (1988).
- [12] B. Gioia, E. Arlandini, D. Borghi, E. Configliacchi, G. Marazzi, M. Menozzi, N. Mongelli et F. M. Arcamone, *Adv. Mass Spectrom.*, **11**, 1384 (1989).
- [13] M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick et A. N. Tyler, *Nature*, **293**, 270 (1981).
- [14] K. L. Rinehart, *Science*, **218**, 254 (1982).
- [15] D. H. Williams, C. Bradley, G. Bojesen, S. Santikarn et L. C. E. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 5700 (1981).
- [16] K. Biemann et S. Martin, *Mass Spectrom. Rev.*, **6**, 1 (1987).
- [17] F. Debart, Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, Sciences et Techniques du Languedoc, Septembre 1989.
- [18] F. Debart, C. Périgaud, G. Gosselin, D. Mrani, B. Rayner, P. Le Ber, C. Auclair, J. Balzarini, E. De Clercq, C. Paoletti et J.-L. Imbach, *J. Med. Chem.*, **32**, 1074 (1989).
- [19] D. Mrani, G. Gosselin et J.-L. Imbach, résultats non publiés.
- [20] H. R. Morris, M. Panico, M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick et A. Tyler, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **101**, 623 (1981).
- [21] D. H. Williams, C. V. Bradley, S. Santikarn et G. Bojesen, *Biochem. J.*, **201**, 105 (1982).
- [22] K. Eckart, H. Schwarz, M. Chorev et G. Gilon, *Eur. J. Biochem.*, **157**, 209 (1986).
- [23] G. Cerveau, C. Chuit, R. J. P. Corriu, L. Gerbier, C. Reye, J.-L. Aubagnac et B. El Amrani, *Int. J. Mass Spectrom., Im. Proc.*, **82**, 259 (1988).
- [24] J.-L. Aubagnac, F. H. Cano, R. Claramunt, J. Elguero, R. Faure, C. Foces-Foces et P. Raj, *Bull. Soc. Chim. France*, 905 (1988).
- [25] G. Cerveau, C. Chuit, R. J. P. Corriu, C. Reye et J.-L. Aubagnac, *Int. J. Mass Spectrom., Im. Proc.*, **91**, 145 (1989).
- [26] E. R. Bathelt et W. Heerma, *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, **14**, 53 (1987).
- [27] R. Roepstorff et J. Fohlmann, *Biomed. Mass Spectrom.*, **11**, 601 (1984).
- [28] S. Seki, H. Kambara et M. Noaki, *Org. Mass Spectrom.*, **20**, 18 (1985).
- [29] K. Eckart et H. Schwarz, *Helv. Chim. Acta*, **70**, 489 (1987).
- [30] G. V. Garner, D. B. Gordon, L. W. Tetler et R. D. Sedgwick, *Org. Mass Spectrom.*, **18**, 486 (1983).