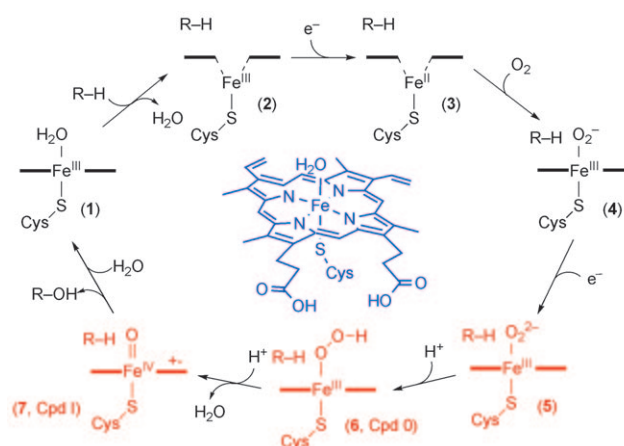


Ein biomimetisches Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Intermediat**

Sam P. de Visser, Joan Selverstone Valentine und Wonwoo Nam*

Bioanorganische Chemie · Eisen-Hydroperoxo-Komplexe · Häm-Proteine · Porphyrinoide · Sauerstoffaktivierung

Häm-Enzyme wie Cytochrom P450 (CYP 450), Peroxidase, Katalase, Häm-Oxygenase und Stickstoffmonoxid-Synthase katalysieren eine Vielzahl an Stoffwechselreaktionen, die jeweils die Bindung und Aktivierung von Disauerstoff vorsehen.^[1] Intensive mechanistische Studien an den Enzymen und ihren Modellverbindungen halfen, unser Verständnis der Disauerstoff-Aktivierung durch Häm-Enzyme entscheidend zu verbessern. Besonders nützlich waren dabei Erkenntnisse über die Struktur von reaktiven Zwischenstufen sowie die mechanistischen Details der Disauerstoff-Aktivierung und von Oxygenierungsreaktionen. Sehr gut bekannt ist beispielsweise der Katalysezyklus zur Disauerstoff-Aktivierung und Sauerstoffübertragung von CYP 450 (Schema 1).^[2] Der Katalysezyklus beginnt im Ruhezustand (1), in dem ein Wassermolekül an die sechste Bindungsstelle des Eisenzentrums *trans* zum axialen Cysteinat-Liganden gebunden ist. Tritt nun ein Substrat in die Bindungstasche ein, wird dieses Wassermolekül freigesetzt (2) und die Reduktion zum Eisen(II)-Komplex 3 durch die Reduktasedomäne des Enzyms induziert. Danach bindet Disauerstoff an das Eisen(II)-Häm zu einer Superoxo-Eisen(III)-Verbindung ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-O}_2^-$, 4). Diese Reaktionsschritte sind alle relativ langsam und konnten durch biochemische Studien und spektroskopische Informationen verifiziert werden. Danach erfolgt der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, nämlich die Reduktion von 4 zu einer Peroxo-Eisen(III)-Spezies ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-O}_2^{2-}$, 5). Der Kataly-



Schema 1. Vorgeschlagener Katalysezyklus von CYP 450. Im Kreis ist das aktive Zentrum der Enzyme gezeigt, das die O_2 -Aktivierung ausführt. Die Schlüsselintermediate wie die Peroxo-Eisen(III)- (5), Hydroperoxo-Eisen(III)- (Cpd 0, 6) und Oxo-Eisen(IV)-Porphyrin- π -Radikalkationen (Cpd I, 7) sind rot markiert.

sezyklus gelangt hiermit in eine Art Grauzone, denn die Intermediate sind hier kurzlebig und folglich schwer abzufangen und zu charakterisieren. Durch Protonenübertragung wird als erstes ein Hydroperoxo-Eisen(III)-Komplex ($\text{Fe}^{\text{III}}\text{-OOH}$, 6) erzeugt, der als Compound 0 (Cpd 0) bekannt ist. Durch die nächste Protonenübertragung wird ein mutmaßliches Oxo-Eisen(IV)-Porphyrin- π -Radikalkation 7 als Zwischenstufe gebildet, das Compound I (Cpd I) der Meerrettich-Peroxidase entspricht. Cpd I gilt allgemein als das aktive Oxidans bei der Oxygenierung von organischen Substraten, weshalb sich die Forschung an enzymatischen Reaktionen der letzten Jahrzehnte stark auf die Identifizierung und spektroskopische wie strukturelle Charakterisierung von 7 konzentriert hat. Trotz dieser intensiven Forschung ist das aktive Oxidans aber noch nicht eindeutig bestimmt. Seine Existenz konnte bislang nur indirekt nachgewiesen werden, und zwar durch den kinetischen Isotopeneffekt und über die Produktverteilung.^[3] Diese Beobachtungen wurden durch Rechenmodelle bestätigt, die Cpd I als die aktive Spezies von CYP 450 identifizierten.^[4]

Für biomimetische Reaktionen konnte bereits eine Reihe von Oxo-Eisen(IV)-Porphyrin- π -Radikalkationen synthetisiert und durch verschiedene Spektroskopietechniken cha-

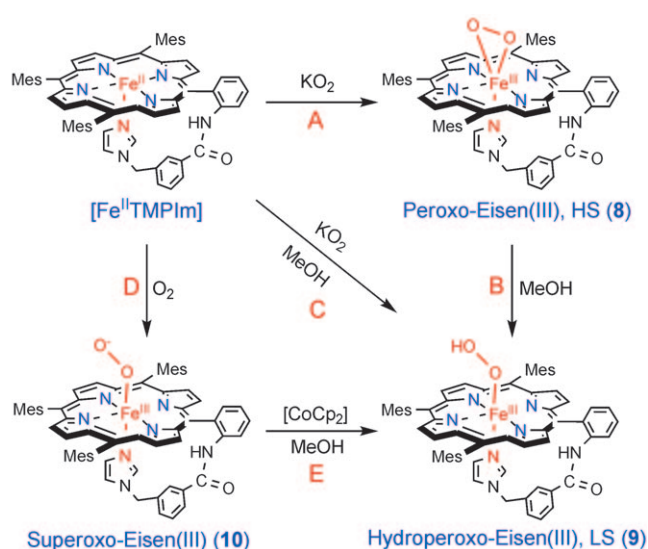
[*] Dr. S. P. de Visser
The Manchester Interdisciplinary Biocenter
und
The School of Chemical Engineering and Analytical Science
The University of Manchester (Großbritannien)
Prof. Dr. J. S. Valentine
Department of Chemistry and Biochemistry, UCLA
Los Angeles (USA)
Prof. Dr. J. S. Valentine, Prof. Dr. W. Nam
Department of Bioinspired Science
Department of Chemistry and Nano Science
Ewha Womans University, Seoul 120–750 (Korea)
Fax: (+82) 2-3277-4441
E-Mail: wwnam@ewha.ac.kr

[**] Wir bedanken uns für die finanzielle Unterstützung beim NSF/MEST of Korea für das CRI-Programm (W.N.) und das WCU-Projekt (R31-2008-000-10010-0) (J.S.V. und W.N.). S.P.d.V. dankt der RSC für ein RSC Journal Grant.

rakterisiert werden. Die Reaktivität dieser Verbindungen wurde ausführlich in Oxygenierungsreaktionen an Substraten getestet.^[5] Allerdings wurden bei diesen biomimetischen Studien häufig wichtige Schritte des Katalysezyklus ausgelassen, z. B. die Bindung von Disauerstoff sowie Reduktions- und Protonierungsschritte (Schema 1). Für die biomimetischen Reaktionen wurden terminale Oxidationsmittel wie Iodosylbenzol (PhIO) und *m*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) mit Eisen(III)-Porphyrinen **2** direkt zum Oxoporphyrin- π -Radikalkation **7** umgesetzt. Ein solcher Ansatz ahmt nicht den natürlichen Reaktionsweg über die wichtigen, O₂ bindenden Zwischenstufen **4–6** zu Cpd I nach, weshalb sich die biomimetischen Studien an Eisenporphyrinen auch im Wesentlichen auf die Chemie von Cpd I konzentrierten.^[5]

Das Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediat (Cpd 0), das eine Vorstufe zu Cpd I ist, wurde auch oft als reaktive Spezies von Häm-Enzymen vorgeschlagen. Durch radiolytische Reduktion des entsprechenden Oxy-Eisen(II)-Häm-Proteins bei tiefen Temperaturen wurden auch wirklich mehrere Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediate erzeugt und durch Spektroskopietechniken wie EPR-, ENDOR-, Mößbauer- und Resonanz-Raman(rR)-Spektroskopie strukturell und spektroskopisch charakterisiert.^[6] Weniger erfolgreich waren dagegen die Synthese und Charakterisierung von Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediaten in Eisenporphyrin-Modellen. Nur wenige Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrine wurden anhand von Absorptions- und EPR-Spektroskopiedaten beschrieben.^[7] Nach unserer Kenntnis wurde auch noch nie die Reaktivität von Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Intermediaten in nucleophilen und elektrophilen Reaktionen getestet.

Insofern ist ein aktueller Bericht von Naruta und Mitarbeitern ein großer Schritt nach vorne. Die Forscher synthetisierten einen handhabbaren Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Komplex und charakterisierten ihn gründlich.^[8] Sie konnten zeigen, dass eine Side-on, High-Spin-Peroxo-Eisen(III)-Spezies durch Protonierung zum End-on, Low-Spin-Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediat umgewandelt wird. Zunächst setzten sie einen Eisenporphyrin-Komplex, der mit einem Imidazolrest ausgestattet war, [Fe^{II}(TMPIIm)] (siehe die Struktur in Schema 2), mit KO₂ in MeCN/THF bei –30 °C zum High-Spin-Peroxo-Eisen(III)-Porphyrin-Komplex [(TMPIIm)Fe^{III}(O₂)][–] (**8**) um (Schema 2, Reaktion A). Das Intermediat **8** charakterisierten die Autoren durch Elektronenabsorptions-, EPR- und rR-Spektroskopie und präsentierten hiermit auch das erste zuverlässige rR-Spektrum eines Side-on-Peroxo-Eisen(III)-Porphyrin-Intermediats (die Banden bei 807 und 475 cm^{–1} wurden ν (O–O)- bzw. ν (Fe–O)-Streckschwingungen zugeordnet).^[9] Durch anschließende Zugabe von Methanol zur Lösung von **8** bei –65 °C wurde ein Low-Spin-Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Komplex [(TMPIIm)Fe^{III}(O₂H)][–] (**9**) erzeugt (Schema 2, Reaktion B). Dieses durch Absorptions-, EPR-, rR- und Mößbauer-Spektroskopie charakterisierte Intermediat ähnelt spektroskopisch den Hydroperoxo-Eisen(III)-Zwischenstufen aus der Enzymreaktion. Auch wenn auf Grundlage der spektroskopischen Daten für **9** eine End-on-Hydroperoxo-Eisen(III)-Struktur wahrscheinlich ist, lieferte der Bericht leider keine direkten Strukturinformationen aus röntgen-



Scheme 2. Die in diesem Highlight diskutierten Superoxo-, Peroxo-, und Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediate. HS und LS stehen für High-Spin bzw. Low-Spin. Mes = 2,4,6-Me₃C₆H₂, Cp = C₅H₅[–].

kristallographischen Untersuchungen oder Analysen durch XAS/EXAFS (Röntgenabsorptionsspektroskopie/extended X-ray absorption fine structure analysis). Keine Hydroperoxo-Eisen(III)-Spezies wird übrigens gebildet, wenn das Peroxo-Eisen(III)-Intermediat nicht den axialen Imidazol-Liganden enthält. Wahrscheinlich spielt also der axiale Ligand bei dieser Reaktion eine entscheidende Rolle, und es wird von großem Interesse sein, den Einfluss des axialen Liganden auf die Umsetzung der Peroxo-Eisen(III)- zur Hydroperoxo-Eisen(III)-Verbindung zu klären.^[10]

Das Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Intermediat **9** wurde durch die Reaktion von [Fe^{II}(TMPIIm)] mit KO₂ in Gegenwart von Methanol in EtCN/THF bei –75 °C hergestellt (Schema 2, Reaktion C). Als dritte Synthesemethode wurde zuerst [Fe^{II}(TMPIIm)] mit O₂ in Gegenwart von Methanol in EtCN/THF bei –75 °C zum Superoxo-Eisen(III)-Porphyrin-Komplex [(TMPIIm)Fe^{III}(O₂)] (**10**) umgesetzt (Schema 2, Reaktion D) und anschließend **10** einer Ein-Elektronen-Reduktion durch Cobaltocen [CoCp₂] unterzogen (Schema 2, Reaktion E). Die Autoren lieferten also sogar mehrere Synthesemethoden, um zu dieser schwer fassbaren Hydroperoxo-Eisen(III)-Spezies zu gelangen.

Naruta et al. berichteten über einfache Methoden zur Herstellung von biologisch wichtigen O₂-Eisen(III)-Addukten wie der Titelverbindung (ein Hydroperoxo-Eisen(III)-Intermediat) und lieferten deren spektroskopische Charakterisierung. Dank ihrer Arbeit ist es nun möglich, diese Intermediate in wichtigen mechanistischen Studien einzusetzen, z. B. zur Ermittlung der Reaktivität von Hydroperoxo-Eisen(III)-Spezies bei Substrat-Oxygenierungen^[11] und zum Verstehen des Bildungsmechanismus von Cpd I, das durch O–O-Bindungsspaltung aus der Hydroperoxo-Eisen(III)-Vorstufe hervorgeht (Schema 3).^[12] Die Schwierigkeit beim ersten Beispiel besteht darin, die aktiven Schlüsselverbindungen der CYP-450-Enzyme abzufangen und zu charakterisieren. Aus diesem Grund wird bei der katalytischen Oxygenierung von



Schema 3. Die Reaktivität der Peroxo-Eisen(III)- und Hydroperoxo-Eisen(III)-Spezies sowie von Cpd I in nucleophilen und elektrophilen Reaktionen und die Bildung von Cpd I aus der Hydroperoxo-Eisen(III)-Spezies.

organischen Substraten durch CYP 450 das aktive Oxidans (oder die Oxidantien) nach wie vor kontrovers diskutiert (d.h. Beteiligung mehrerer Oxidantien oder Zwei-Zustands-Reaktivität).^[4,11] So behielten P450_{cam}-Derivate, die ortsgerichtete Mutationen zur Blockierung der zweiten Protonenübertragung bei der Substrat-Oxygenierung enthielten, ihre Aktivität zum Teil bei. Möglicherweise ist deshalb ein „zweites elektrophiles Oxidans“ an der Oxygenierung beteiligt (Szenario mit zwei Oxidantien).^[13] Dieser Schlussfolgerung widerspricht jedoch eine Reihe von Rechnungen und biomimetischen Studien an analogen Komplexen, die stattdessen Cpd I als aktive Spezies identifizieren. Cpd 0 vermag dagegen nur schleppend zu oxidieren.^[14] Allerdings wurden noch keine direkten Reaktivitätsstudien mit einem in situ erzeugten Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrin durchgeführt. Deshalb ist es jetzt möglich, mithilfe dieser gut charakterisierten Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrine in Reaktivitätsstudien diese andauernde Kontroverse zu beenden.

Auch der Bildungsmechanismus von Cpd I aus der Hydroperoxo-Eisen(III)-Vorstufe durch O-O-Bindungsspaltung kann mit den synthetischen Hydroperoxo-Eisen(III)-Porphyrinen nun näher untersucht werden. Früher wurden die mechanistischen Studien zur O-O-Bindungsspaltung und Cpd-I-Erzeugung (der letzte Schritt im Katalysezyklus, siehe Schemata 1 und 3) hauptsächlich mit synthetischen Acylperoxo-Eisen(III)-Porphyrinen [(Porp)Fe^{III}-OOC(O)Ar] durchgeführt, denn entsprechende Intermediate sind leicht herzustellen und bereits gut charakterisiert.^[15] Auch der Mechanismus der O-O-Bindungsspaltung von biologisch wichtigen Oxidantien wie Wasserstoffperoxid und Alkylhydroperoxiden durch Eisen(III)-Porphyrine wurde hauptsächlich unter solchen Katalysebedingungen untersucht.^[16] Viel näher an der chemischen Natur des biologischen Intermediats **6** (Schema 1) liegen dagegen die Substanz **9** von Naruta und Mitarbeitern (Schema 2)^[8] oder neue, noch herzustellende Analoga von **9**. Ohne Frage werden diese Substanzen neue Erkenntnisse zur O-O-Bindungsspaltung von Hydroxo-Eisen(III)-Porphyrinen liefern, was erheblich zum Verständnis der Disauerstoff-Aktivierung durch Häm-Enzyme und ihrer Modelle beitragen wird.

Eingegangen am 30. November 2009
Online veröffentlicht am 8. Februar 2010

- [1] I. Bertini, H. B. Gray, E. I. Stiefel, J. S. Valentine, *Biological Inorganic Chemistry: Structure & Reactivity*, University Science Books, Sausalito, California, **2007**.
- [2] a) M. Sono, M. P. Roach, E. D. Coulter, J. H. Dawson, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841–2888; b) J. T. Groves, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3569–3574; c) P. R. Ortiz de Montellano, *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 3. Aufl., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, **2005**; d) I. G. Denisov, T. M. Makris, S. G. Sligar, I. Schlichting, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253–2277; e) A. W. Munro, H. M. Girvan, K. J. McLean, *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 585–609; f) Y. Watanabe, H. Nakajima, T. Ueno, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 554–562.
- [3] a) T. Egawa, H. Shimada, Y. Ishimura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1994**, *201*, 1464–1469; b) I. Schlichting, J. Berendzen, K. Chu, A. M. Stock, S. A. Maves, D. E. Benson, R. M. Sweet, D. Ringe, G. A. Petsko, S. G. Sligar, *Science* **2000**, *287*, 1615–1622; c) D. G. Kellner, S.-C. Hung, K. E. Weiss, S. G. Sligar, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 9641–9644.
- [4] a) B. Meunier, S. P. de Visser, S. Shaik, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3947–3980; b) S. Shaik, S. Cohen, Y. Wang, H. Chen, D. Kumar, W. Thiel, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, DOI: 10.1021/cr900121s.
- [5] a) B. Meunier, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1411–1456; b) Y. Watanabe, *The Porphyrin Handbook*, Vol. 4, Academic, New York, **2000**, Kap. 30, S. 97–117; c) W. Nam, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 522–531.
- [6] a) I. G. Denisov, T. M. Makris, S. G. Sligar, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 11648–11652; b) K. Kuhnel, E. Derat, J. Turner, S. Shaik, I. Schlichting, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 99–104; c) I. G. Denisov, P. J. Mak, T. M. Makris, S. G. Sligar, J. R. Kincaid, *J. Phys. Chem. A* **2008**, *112*, 13172–13179.
- [7] a) K. Tajima, S. Oka, T. Edo, S. Miyake, H. Mano, K. Mukai, H. Sakurai, K. Ishizu, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1507–1508; b) K. Tajima, M. Shigematsu, J. Jinno, K. Ishizu, H. Oyha-Nishihuchi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 144–145; c) M. Rivera, G. A. Caignan, A. V. Astashkin, A. M. Raitsimring, T. Kh. Shokhireva, F. A. Walker, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6077–6089.
- [8] J.-G. Liu, T. Ohta, S. Yamaguchi, T. Ogura, S. Sakamoto, Y. Maeda, Y. Naruta, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9426–9431; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9262–9267.
- [9] Infrarotspektrum eines Side-on-Peroxo-Eisen(III)-Porphyrin-Komplexes [(OEP)Fe^{III}(O₂⁻)]⁻ (OEP = Octaethylporphyrin): E. McCandlish, A. R. Miksztal, M. Nappa, A. Q. Sprenger, J. S. Valentine, J. D. Stong, T. G. Spiro, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4268–4271.
- [10] Nachweislich wird die Reaktivität von Peroxo-Metall-Komplexen bei nucleophilen Reaktionen erheblich von axialen Liganden beeinflusst: a) D. L. Wertz, J. S. Valentine, *Struct. Bonding (Berlin)* **2000**, *97*, 37–60; b) M. Selke, J. S. Valentine, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2652–2653; c) J. Annaraj, J. Cho, Y.-M. Lee, S. Y. Kim, R. Latifi, S. P. de Visser, W. Nam, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4214–4217; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4150–4153.
- [11] a) S. Jin, T. A. Bryson, J. H. Dawson, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 644–653; b) W. Nam, Y. O. Ryu, W. J. Song, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 654–660; c) M. Newcomb, P. F. Hollenberg, M. J. Coon, *Arch. Biochem. Biophys.* **2003**, *409*, 72–79.
- [12] a) J. D. Soper, S. V. Kryatov, E. V. Rybak-Akimova, D. G. Nocera, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5069–5075; b) S.-I. Ozaki, M. P. Roach, T. Matsui, Y. Watanabe, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 818–825.
- [13] a) A. D. N. Vaz, D. F. McGinnity, M. J. Coon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 3555–3560; b) M. Newcomb, R. Shen, S.-Y. Choi, P. H. Toy, P. F. Hollenberg, A. D. N. Vaz, M. J. Coon, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2677–2686.

- [14] a) F. Ogliaro, S. P. de Visser, S. Cohen, P. K. Sharma, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2806–2817; b) S. Shaik, S. P. de Visser, F. Ogliaro, H. Schwarz, D. Schröder, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 556–567; c) M. J. Park, J. Lee, Y. Suh, J. Kim, W. Nam, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2630–2634; d) S. P. de Visser, L. Tahsini, W. Nam, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 5577–5587.
- [15] a) R. van Eldik, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1649–1662; b) N. Hesselauer-Ilicheva, A. Franke, D. Meyer, W.-D. Woggon, R. van Eldik, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12473–12479; c) J. T. Groves, Y. Watanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8443–8452; d) J. T. Groves, R. C. Haushalter, M. Nakamura, T. E. Nemo, B. J. Evans, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2884–2886.
- [16] a) S.-I. Ozaki, M. P. Roach, T. Matsui, Y. Watanabe, *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 818–825; b) W. Nam, H. J. Han, S.-Y. Oh, Y. J. Lee, M.-H. Choi, S.-Y. Han, C. Kim, S. K. Woo, W. Shin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8677–8684.

Analysieren Sie richtig!



STAVROS KROMIDAS (Hrsg.)
HPLC richtig optimiert
Ein Handbuch für Praktiker

ISBN: 978-3527-31470-6
2006 810 S. mit 372 Abb., davon 4 in Farbe, und 86 Tab. Gebunden € 129,-

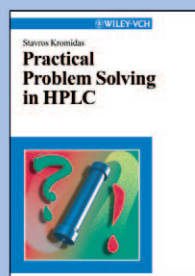
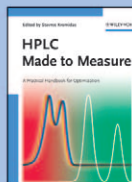
„Dieses Buch darf eigentlich in keinem HPLC-Labor fehlen – nicht zuletzt wegen des in den allgemeineren Kapiteln beschriebenen roten Fadens zur Vorgehensweise bei Methodenentwicklungen von HPLC-Trennung in unterschiedlichen Umgebungen bietet es einen hervorragenden Leitfaden, um eigene Strategien zu entwickeln oder auch um diese zu evaluieren.“

Pharmazie in unserer Zeit

Engl. Ausgabe:

STAVROS KROMIDAS (Hrsg.)
HPLC Made to Measure
A Practical Handbook for Optimization

ISBN: 978-3527-31377-8
2006 786 S. mit 388 Abb., davon 4 in Farbe, und 86 Tab. Gebunden € 125,-



STAVROS KROMIDAS
Practical Problem Solving in HPLC

ISBN: 978-3527-29842-6
2000 193 S. mit 61 Abb. und 36 Tab. Broschur € 57,90

Schnelle und einfache Lösungen für HPLC-Probleme!

Antworten auf 45 typische Fragen von HPLC-Anwendern und allgemeine Schlußfolgerungen werden auf nicht mehr als jeweils vier Seiten dargestellt.

Das Buch enthält außerdem ein spezielles Kapitel über die Retention ionisierbarer Substanzen in der RP-HPLC, weiterführende Literatur, Tabellen mit nützlichen Daten sowie Checklisten. Es ist ein Erste-Hilfe-Set für jeden HPLC-Anwender!

Wiley-VCH, Kundenservice, Postfach 10 11 61, D-69451 Weinheim, Germany
Tel.: +49 (0) 6201 606-400, Fax: +49 (0) 6201 606-184
E-Mail: service@wiley-vch.de, www.wiley-vch.de

 **WILEY-VCH**