

mente und komplexerer Systeme führen. Es gibt einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Kristallstruktur und den magnetischen Eigenschaften von Cobalt. Die hcp-Phase mit anisotroper, hoher magnetischer Koerzivität ist die für Permanentmagnetanwendung (z.B. Aufnahmemedien) bevorzugte Struktur. Dagegen eignet sich die höhersymmetrische fcc-Phase mit niedrigerer Koerzivität eher für weiche magnetische Anwendungen. Die hier vorgestellte neue Struktur von Cobalt mag von den bekannten Strukturen abweichende magnetische Eigenschaften haben. Dies kann sich als wissenschaftlich interessant und technisch nützlich erweisen.

Experimentelles

Octacarbonyldicobalt ($[Co_2(CO)_8]$, 2.5 g, Strem Chemicals, Inc.) wurde in wasserfreiem Toluol (30 mL) unter Luftausschluß gelöst, die Lösung filtriert und auf eine Spritze gezogen. Trioctylphosphoroxid (TOPO, 5 g, Strem Chemicals, Inc.) wurde in einen 100-mL-Kolben gegeben und unter Vakuum bei 150 °C getrocknet. Nach dem Abkühlen auf 50 °C wurde die $[Co_2(CO)_8]$ -Lösung schnell, unter starkem Rühren und unter Stickstoff in den Kolben eingespritzt. Die Temperatur wurde langsam auf 110 °C erhöht. Während der Reaktion entstand Kohlenmonoxid, und die Farbe der Reaktionsmischung änderte sich von Tiefblau nach Schwarz. Nach Beendigung der Reaktion wurde der Heizmantel entfernt, und man ließ die Mischung langsam auf Raumtemperatur abkühlen. Das Reaktionsprodukt wurde als schwarzes Pulver isoliert, gründlich mit Hexan und Methanol gewaschen und unter Stickstoff getrocknet.

Eingegangen am 22. Dezember 1998 [Z12818]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1788–1791

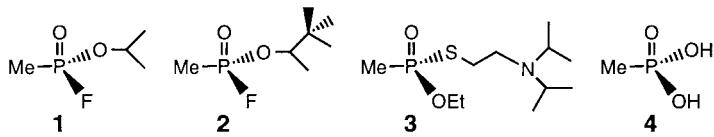
Stichwörter: Cluster · Cobalt · Röntgenbeugung · Strukturaufklärung

- [1] *Powder diffraction file PDF-2 database sets 1–44*, **1994**.
- [2] O. Kitakami, H. Satao, Y. Shimada, F. Sato, M. Tanaka, *Phys. Rev. B* **1997**, *56*, 13849–13854.
- [3] A. W. Hull, *Phys. Rev.* **1921**, *17*, 571–588.
- [4] E. Krainer, J. Robitsch, *Z. Metallkd.* **1974**, *65*, 729–731.
- [5] S. Kajiwara, S. Ohno, K. Honma, M. Uda, *Phil. Mag. Lett.* **1987**, *55*, 215–219.
- [6] D. L. Leslie-Pelecky, M. Bonder, T. Martin, E. M. Kirkpatrick, Y. Liu, X. Q. Zhang, S. H. Kim, R. D. Rieke, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 3732–3736.
- [7] M. Respaud, J. M. Broto, H. Rakoto, A. R. Fert, L. Thomas, B. Barbara, M. Verelst, E. Snoeck, P. Lecante, A. Mosset, J. Osuna, T. Ould Ely, C. Amiens, B. Chaudret, *Phys. Rev. B* **1998**, *57*, 2925–2935.
- [8] Die Pulverdiffraktogramme wurden auf einem Rigaku-Rotaflex-Diffraktometer mit einem Radius von 250 mm mit Cu-Strahlung aufgenommen. Die Messungen erfolgten in Reflexion bei 19 °C mit einer Schrittweite von 0.002°; das Diagramm wurde mit internem Siliciumstandard (640A, NIST, USA) kalibriert.
- [9] C. B. Shoemaker, D. P. Shoemaker, T. E. Hopkins, S. Yidepit, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1978**, *34*, 3573–3576.
- [10] Die Berechnung wurde wie folgt durchgeführt: Zuerst wurde ein Liniendiagramm aus den Atomkoordinaten (Tabelle 1) unter Anwendung der Standard-Beugungstheorie errechnet. Anschließend wurden Lorentz-Profilen mit einer Breite, die aus der Größe der Kristallite mit der Debye-Scherrer-Gleichung berechnet wurde, überlagert. Die kleinen Unterschiede in der Reflexform zwischen Theorie und Experiment resultieren aus der Größenverteilung in der Probe. Das Beugungsdiagramm in Abbildung 2c entspricht der reinen fcc-Cobaltstruktur mit einem kleinen Anteil an Cobaltoxid (CoO), dessen Liniendiagramm zusätzlich angegeben ist. Das beobachtete Aufschärfen der Peaks ist auf das Sintern und Tempern der Kristalle zurückzuführen.
- [11] *Landolt-Börnstein numerical data and functional relationships in Science and technology*, Vol. 19/a (Hrsg.: K. H. Hellwege, O. Madlung), Springer, Berlin, **1986**, S. 36.
- [12] Der nach Abbildung 2c vorliegende geringe Anteil CoO war während des Aufheizens entstanden. Das Aufschärfen der Reflexe ist eine Folge des Sinterns und Temperns der Kristalle.
- [13] S. Sun, C. B. Murray, *J. Appl. Phys.* **1999**, *85*, 4325–4330.

Nachweis chemischer Kampfstoffe anhand des Abbauprodukts Methylphosphonsäure**

Jon A. Ashley, Chao-Hsiung Lin, Peter Wirsching* und Kim D. Janda*

Alles, was mit chemischen Kampfstoffen zu tun hat, spielt heute sowohl im Hinblick auf nationale Sicherheiten als auch für das Weltgeschehen eine große Rolle. Die tödlichen Verbindungen **1** (Sarin), **2** (Soman) und **3** (VX) werden als die „Kernwaffen“ der armen Länder gefürchtet, weil ihre



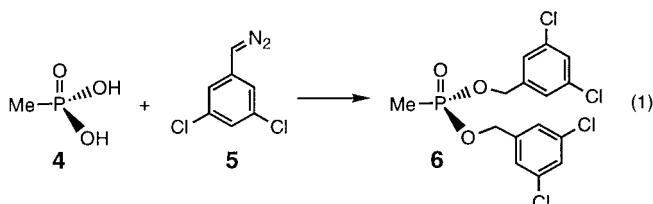
Herstellung relativ einfach ist und die Ausgangsmaterialien billig und leicht erhältlich sind. Sarin wurde in den letzten Jahren bei Angriffen des Irak auf kurdische Dörfer^[1] und bei einem Terroranschlag in der Tokioter U-Bahn eingesetzt.^[2] Weil diese und andere Nervengase sich auf natürlichem Wege zu Methylphosphonsäure (MPA) **4** zersetzen oder im Labor in diese Verbindung überführt werden können, ist eine einfache Nachweismethode für **4** wünschenswert. Ein einfaches, tragbares und billiges Immunoassay-Kit wäre sowohl für die Überwachung der Einhaltung von Verträgen als auch während militärischer Operationen von Wert.^[3]

Immunogenitätsprobleme verhinderten, daß monoklonale Antikörper (mAbs), die MPA binden, erhalten werden konnten. Unsere Überlegung war daraufhin, MPA in einfacher Weise mit Erkennungselementen zu derivatisieren, so daß mAbs, die an das modifizierte MPA binden, mit Hilfe eines strukturell kongruenten, immunogenen Haptens gebildet werden könnten. Auf diese Weise könnte die Anwesenheit von MPA indirekt über die Bildung und den Nachweis eines Derivats angezeigt werden. Da Diazomethan sowohl mit Carbon- als auch mit Phosphonsäuren schnell und quantitativ Methylester bildet,^[3] wurde angenommen, daß sich eine komplexere Diazoverbindung als nützlich für unsere Zwecke erweisen könnte. Wir entschieden uns für 3,5-Dichlorphenyldiazomethan **5**, da diese Verbindung in hoher Ausbeute erhältlich und sehr stabil ist.^[4] Darüber hinaus sollte der dichlorsubstituierte aromatische Ring als Teil der Haptenstruktur ein potentes Epitop sein.

Als das beste Lösungsmittel für die Veresterung von **4** mit **5** [Gl. (1)] wurde Dioxan, das 0.5 % Wasser enthält, ermittelt; der Wasseranteil diente dazu, die vollständige Löslichkeit von

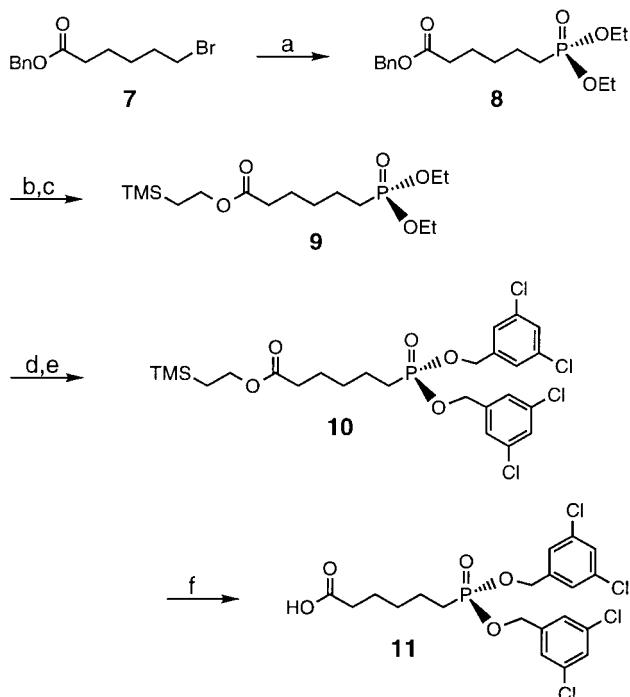
[*] Dr. P. Wirsching, Prof. Dr. K. D. Janda, J. A. Ashley, C.-H. Lin
The Scripps Research Institute
Departments of Molecular Biology and Chemistry
10666 N. Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)
Fax: (+1) 619-784-2595
E-mail: kdjanda@scripps.edu

[**] Diese Arbeit wurde durch das Skaggs Institute for Chemical Biology finanziell unterstützt.



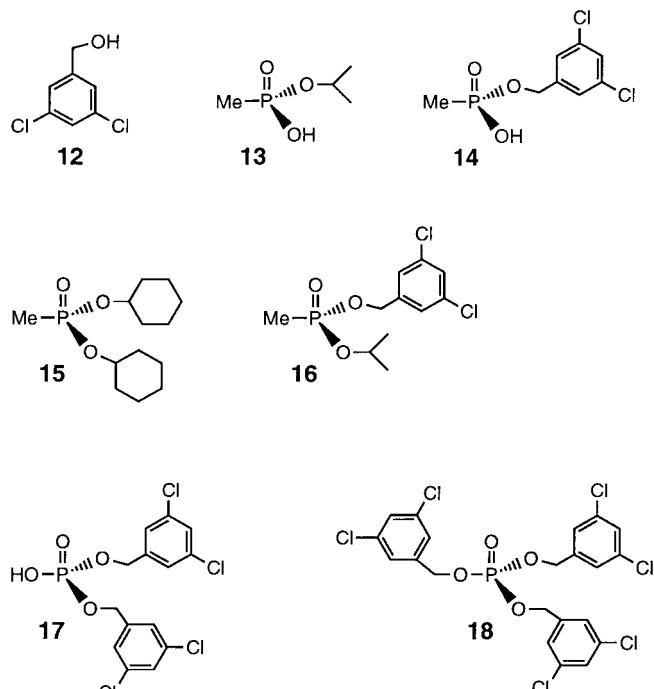
4 sicherzustellen. Die Ausbeute an isoliertem und gereinigtem Methylphosphonsäure-bis(3,5-dichlorbenzylester) **6** war gut (67%), und die In-situ-Ausbeute betrug nach visuellem colorimetrischem Vergleich mit authentischen Standardlösungen, die dünnenschichtchromatographisch eluiert und mit Cermolybdat angefärbt wurden, sogar etwa 80 %. Die übrigen 20 % der Massenbilanz lassen sich mit einer Verunreinigung in **5** (10%) und mit der Bildung des Monoesters von **4** (10%) erklären. Letzterer entstand, weil wir uns entschieden hatten, **5** nur in stöchiometrischer Menge (2 Äquiv.) zu verwenden. Trotz der Gegenwart von Wasser im Lösungsmittel wurde keine Hydrolyse des Diazo-Reagens zu 3,5-Dichlorbenzylalkohol beobachtet.

Als nächstes synthetisierten wir das Hapten **11** (CDC), das dem Derivat **6** entspricht (Schema 1), banden es an das Trägerprotein Keyhole-Limpet-Hämocyanin (KLH) und unterwarfen es unserem Standard-Immunisierungsprogramm in Mäusen. Ein Competition-ELISA-Protokoll^[5] wurde während des Hybridom-Screenings und des Klonierens verwen-



Schema 1. Synthese des mit dem MPA-Derivat **6** strukturell verwandten Haptens **11**. a) Diethylphosphit (1.2 Äquiv.), NaH (1.2 Äquiv.), Dimethylformamid (DMF), 0 °C → 25 °C, 2 h; b) H₂, Pd/C, Methanol, 25 °C, 1 h; c) 2-Trimethylsilylethan (1.2 Äquiv.), 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid (EDC, 1.2 Äquiv.), 4-Dimethylaminophenol (DMAP, kat.), DMF, 25 °C, 16 h; d) 1) Me₃SiBr (2.1 Äquiv.), CH₂Cl₂, 25 °C, 1 h; 2) Oxalylchlorid (3 Äquiv.), DMF (kat.), CH₂Cl₂, 25 °C, 1 h; e) 3,5-Dichlorbenzylalkohol (2.1 Äquiv.), NEt₃ (2.5 Äquiv.), DMAP (kat.), 25 °C, 16 h; f) Trifluoressigsäure (TFA, 5 Äquiv.), 0 °C → 25 °C, 1 h.

det, um die Wahrscheinlichkeit für Antikörper mit hoher Spezifität für **6** zu erhöhen. Die Klone wurden daher unter dem Gesichtspunkt der besten Bindung des freien Liganden **6** im Vergleich zu einem Rinderserum-Albumin(BSA)-Kongjugat von **11** ausgewählt. Eine Gruppe von elf mAbs, die an **6** ankoppelten, wurde isoliert, aus der CDC27B4 die höchste Affinität zeigte ($K_d \approx 1 \mu\text{M}$). Nach unseren bisherigen Erfahrungen ist dieser Wert wahrscheinlich um bis zu einer Größenordnung zu groß, weil Competition-ELISA dazu tendiert, den K_d -Wert zu überschätzen. Wichtig ist, daß CDC27B4 eine exzellente Spezifität bei der Untersuchung auf Kreuzreaktivität gegenüber den Alternativliganden **4** und **12–18** auf-



wies: Bei Konzentrationen von 10 μM wurde mittels Competition-ELISA keine Ankopplung dieser Verbindungen detektiert. Sogar wenn **16**, das Derivat des ersten Zersetzungprodukts von Sarin, 100 μM vorlag, ließ sich keine Bindung nachweisen. In Anbetracht der Gegenwart des 3,5-Dichlorphenylsubstituenten, eines vermutlich starken haptenischen Bestimmungsfaktors, war die Spezifität sehr erfreulich. Die Ergebnisse sprechen dafür, daß beide Ringe bei der Immunantwort erkannt wurden und für die Bindung erforderlich sind. Darüber hinaus ist der Antikörper spezifisch hinsichtlich der chemischen Natur und Koordinationssphäre des Phosphoratoms, wie am Nichtbinden der Phosphatester **17** und **18** deutlich wird. Obwohl in diesen Verbindungen mindestens zwei 3,5-Dichlorphenylsubstituenten vorliegen, verhinderten die Hydroxygruppe in **17** und der sterische Anspruch des dritten Rings in **18** die Bindung beim Zehnfachen des K_d -Werts von **6**. K_d war für diese Verbindungen etwa 300 μM .

Angesichts der Feinspezifität des Antikörpers und der Tatsache, daß die getesteten Liganden strukturell mit **6** verwandt sind, sollte es keine Störung durch andere Verbindungen geben, die in einem Untersuchungsgelände zugegen sein könnten. Wir schätzen, daß (170 ± 10) ppb **4** als

Derivat **6** nachgewiesen werden können, eine Empfindlichkeit, die ähnlich gut ist wie die vieler anderer instrumenteller Methoden, die teuer sind und eine Spezialausbildung erfordern. Die Empfindlichkeit ist auch ähnlich der anderer Immunoassays, die direkt für chemische Kampfstoffe entwickelt wurden.^[6] Abhängig von der für die Detektion gewählten Vertrauensgrenze gehen wir davon aus, daß die Derivatisierungs-ELISA-Prozedur die Anwesenheit von MPA in einer geeigneten Feldprobe zuverlässig widerspiegeln wird.

Andere Routinemethoden für die MPA-Analyse arbeiten mit chromatographischen und/oder spektrometrischen Techniken.^[7] Die meisten dieser Ansätze erfordern ebenfalls eine Derivatisierung und sind darüber hinaus für Tests mit rohen Proben nicht geeignet. Unsere Methode ist billig, empfindlich, einfach, robust und sollte nur ein Minimum an Probenvorbereitung erfordern. Eine Probe von einem vermuteten Kampfstofferstellungs-, -lagerungs- oder -einsatz-Gelände könnte zum Beispiel durch Abklopfen erhalten und mit Dioxan/Wasser extrahiert werden, oder eine gesammelte wäßrige Probe könnte vom Lösungsmittel befreit und wieder gelöst werden. Nach einem einfachen Filtrationsschritt könnte dann das Reagens **5** zugegeben und die Messung durchgeführt werden. Bemerkenswert ist, daß sich auch ein großer molarer Überschuß an **5** relativ zum Antikörper (100fach) nicht negativ auf die Bindung auswirkt. Deswegen sollten keine weiteren Handhabungs- oder Reinigungsschritte notwendig sein. Auch wenn die Technik noch verfeinert werden muß, damit sie für Felduntersuchungen geeignet ist, glauben wir doch, daß sie andere MPA-Nachweismethoden ergänzen kann. Entsprechende Bemühungen und die Übertragung auf andere Verbindungen im Umfeld chemischer Kampfstoffe werden zur Zeit verfolgt.

Experimentelles

6: Das Reagens **5** (187 mg, 1 mmol) wurde langsam zu einer Lösung von MPA **4** (48 mg, 0,50 mmol) in 1,4-Dioxan/0,5% Wasser (5 mL) gegeben. Schon während der Zugabe bildeten sich Blasen. Die erhaltene Lösung wurde bei Raumtemperatur 1 h gerührt und danach mit Ethylacetat verdünnt (10 mL). Nach Waschen mit gesättigter Kochsalzlösung (5 mL) wurde die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und eingeengt, wobei ein gelber Feststoff erhalten wurde. Dieser wurde blitzchromatographisch gereinigt (95/5 CH₂Cl₂/EtOAc); dabei resultierte **6** als weißer Feststoff (138 mg, 67%).

Eingegangen am 4. November 1998,

ergänzte Fassung am 22. Februar 1999 [Z12619]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1793–1795

Stichwörter: Analytische Methoden • Chemische Kampfstoffe • Immunoassays • Methylphosphonsäure • Phosphor

- [1] R. M. Black, R. J. Clarke, R. W. Read, M. T. J. Reid, *J. Chromatogr. A* **1994**, *662*, 301–321.
- [2] a) T. Suzuki, H. Morita, K. Ono, K. Maekawa, R. Nagai, Y. Yazaki, *Lancet* **1995**, *345*, 980–981; b) H. Nozaki, N. Aikawa, *Lancet* **1995**, *345*, 1446–1447.
- [3] A. I. Vogel, *Practical Organic Chemistry*, 3. Aufl., Longhams Green, London, **1970**.
- [4] X. Creary in *Organic Synthesis Collect Vol. VII* (Hrsg.: J. P. Freeman, O. L. Chapman, I. Fleming, A. S. Kende, R. Noyori, G. Saucy, M. F. Semmelhack, R. V. Stevens[†]), Wiley, New York, **1990**, S. 438–443.

- [5] P. Tijssen, *Practice and Theory of Enzyme Immunoassays*, Elsevier, Amsterdam, **1985**.
- [6] D. E. Lenz, A. A. Brimfield, L. A. Cook, *ACS Symp. Ser.* **1997**, *657*, 77–86.
- [7] Einige Beispiele: a) W. D. Vermillion, M. D. Crenshaw, *J. Chromatogr. A* **1997**, *770*, 253–260; b) M. T. Mesilaakso, *Environ. Sci. Technol.* **1997**, *31*, 518–522; c) D. K. Rohrbaugh in *Proc. ERDEC Sci. Conf. Chem. Biol. Def. Res.* (Hrsg.: D. A. Berg), National Tech. Info. Service, Springfield, VA, **1996**, S. 543–549; d) W. H. Robins, B. W. Wright, *J. Chromatogr. A* **1994**, *680*, 667–673; e) M. C. Roach, L. W. Ungar, R. N. Zare, L. M. Reimer, D. L. Pompliano, J. W. Frost, *Anal. Chem.* **1987**, *59*, 1056–1059; f) A. Verweij, H. L. Boter, C. E. A. M. Degenhardt, *Science* **1979**, *204*, 616–618.
- [8] Kürzlich wurde über einen Sensor berichtet, mit dem Nervengase in Wasser in sehr geringer Konzentration nachgewiesen werden können: A. L. Jenkins, O. M. Uy, G. M. Murray, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 373–378.

[Mn(en)]₃[Cr(CN)₆]₂ · 4H₂O: ein Dimetall-Ferrimagnet (*T_c* = 69 K) aus dreidimensional verknüpften, unvollständigen Kubaneinheiten**

Masaaki Ohba,* Naoki Usuki, Nobuo Fukita und Hisashi Ōkawa*

Seit kurzem besteht ein zunehmendes Interesse an geordneten Netzen aus Metallaggregaten.^[1–11] Eine faszinierende Richtung in diesem Forschungsgebiet sind Magnete auf molekularer Basis, die spontane Magnetisierung aufweisen. Hexacyanometallat-Ionen [M(CN)₆]ⁿ⁻ werden oft als Bausteine für magnetische Dimetallmaterialien verwendet. Zwei Arten von Dimetallverbindingen wurden von [M(CN)₆]ⁿ⁻ abgeleitet: 1) Die Berliner-Blau-Familie mit einem einfachen Metallkation^[6] und 2) komplexe Dimetallverbindingen mit einem Komplexkation wie [Ni(L)₂]²⁺ (L = Ethylenamin-Derivat) oder [M^{III}(salen)]⁺ (M = Fe, Mn; salen = *N,N'*-Ethylenbis(salicylidenediamino)-Dianion).^[8–10] Nahezu alle Verbindungen der Berliner-Blau-Familie weisen spontane Magnetisierung auf, und von einigen wurde über hohe Curie-Temperaturen *T_c* berichtet. Die Struktur-Magnetismus-Korrelation für Berliner-Blau-Verbindungen ist jedoch wegen des Mangels an

[*] Dr. M. Ohba, Prof. H. Ōkawa, N. Usuki, N. Fukita
Department of Chemistry, Faculty of Science
Kyushu University, Hakozaki
Higashi-ku, Fukuoka 812-8581 (Japan)
Fax: (+81) 92-642-2607
E-mail: ohbascc@mbox.nc.kyushu-u.ac.jp

[**] Diese Arbeit wurde durch ein Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Area „Metal-assembled Complexes“ (Nr. 09044093) und durch ein Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists (Nr. 09740494) vom japanischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft, Sport und Kultur gefördert.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.