

ERNST BIEKERT und THEODOR FUNCK

Zur Chemie der Glyoxylsäure, I

Kondensation von Glyoxylsäure mit Antipyrin und sekundären Aminen

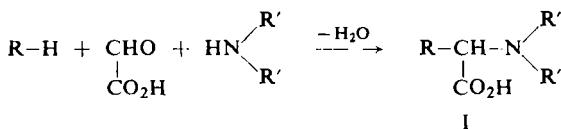
Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, München

(Eingegangen am 16. November 1959)

Glyoxylsäure lässt sich mit Antipyrin und sekundären Aminen im Sinne einer Mannich-Kondensation zu Antipyryl-dialkylamino-essigsäuren umsetzen. Die Reaktion ist sehr stark *pH*-abhängig. Der Verlauf der Kondensationen wird durch eine unabhängige Synthese der *d,L*-Antipyryl-morpholino-essigsäure (V) gesichert.

Bei Untersuchungen zur Chemie der in der Natur als Ommatine weit verbreiteten Phenoxazon-Farbstoffe¹⁾ stellte sich uns das Problem, die Dialkylamino-essigsäure-Gruppierung an chromophore Systeme anzugliedern. Die Darstellung *N,N*-dialkylsubstituierter α -Aminosäuren I war bisher hauptsächlich auf folgenden Wegen möglich: Umsetzung der α -Halogenkarbonsäuren^{2,3)} bzw. ihrer Ester⁴⁾ mit sekundären Aminen und hydrierende Alkylierung von α -Aminosäuren mit niederen Aldehyden⁵⁾. Während diese beiden Verfahren vom C-Gerüst der Aminosäure ausgehen, werden beim Aufbau von Aminosäuren über Cyanhydrine die Carboxylgruppe und der Stickstoff an ein um ein C-Atom ärmeres Molekül angefügt. Doch wurde die Verseifung von so zugänglichen α -Dialkylamino-nitrilen⁶⁾ zu Dialkylaminosäuren unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben.

Formal lässt sich eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von Verbindungen des Typs I denken: Kombination des Restes R mit einem C₂-Carbonsäure-Bruchstück und einem sekundären Amin. In einer der Mannich-Reaktion analogen Kondensation sollte sich so *Glyoxylsäure* mit CH-aktiven Verbindungen und sekundären Aminen zu *N,N*-Dialkyl- α -aminosäuren umsetzen lassen:



Mannich-Reaktionen, in denen der Formaldehyd durch Glyoxylsäure als Carbonylkomponente ersetzt werden sollte, wurden schon von MANNICH untersucht. Trotz

¹⁾ Zusammenfassende Darstellung: A. BUTENANDT, Naturwissenschaften **46**, 461 [1959].

²⁾ W. HEINTZ, Liebigs Ann. Chem. **140**, 217 [1866].

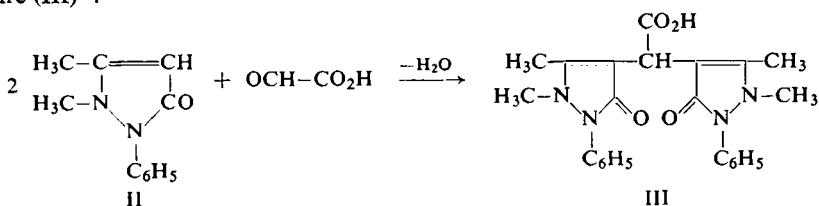
³⁾ E. DUVILLER, Bull. Soc. chim. France [3] 7, 99 [1892]; [3] **35**, 156 [1906].

⁴⁾ R. WILLSTÄTTER, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 584 [1902].

⁵⁾ R. E. BOWMAN, J. chem. Soc. [London] **1950**, 1346.

⁶⁾ D. B. LUTEN, J. org. Chemistry **3**, 588 [1939].

vieler Bemühungen gelang es ihm jedoch nicht, die gewünschte Umsetzung zu erzielen: Aus Antipyrin (II), sekundären Aminen und Glyoxylsäure bildete sich stets nur ohne Einbeziehung der Aminkomponente die schon bekannte Diantipyryl-essigsäure (III)⁷⁾.



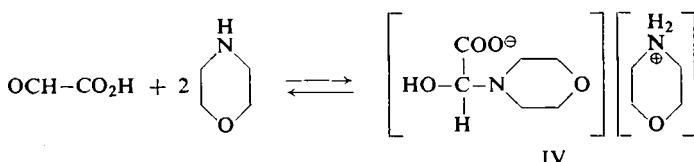
MANNICH zog aus diesen vergeblichen Versuchen den Schluß, daß Glyoxylsäure als Carbonylkomponente in der Mannich-Reaktion unbrauchbar sei. In der Folgezeit wurden auch keine weiteren Untersuchungen zu diesem Problem mehr bekannt.

In unseren Versuchen hat sich jedoch gezeigt, daß die Kondensation von Glyoxylsäure mit CH-aktiven Verbindungen und sekundären Aminen unter besonderen Bedingungen zu den gewünschten *N,N*-Dialkyl- α -aminoäuren führt. Als Modellreaktion wählten wir die Umsetzung von Glyoxylsäure mit Antipyrin und Aminen.

ANTIPYRYL-MORPHOLINO-ESSIGSÄURE

Antipyrin hat sich als eine der reaktionsfähigsten CH-aktiven Verbindungen in der Mannich-Reaktion erwiesen; ebenso zählt Morpholin zu den besonders reaktionsfähigen sekundären Aminen. Glyoxylsäure wurde in Form einer alkoholischen Lösung eingesetzt, die aus Bariumglyoxylat hergestellt wurde.

Nachdem alle Versuche, die Umsetzung von Antipyrin, Glyoxylsäure und Morpholin in einer „Eintopfreaktion“ zu erreichen, scheiterten, wurde die Kondensation, ähnlich wie von H. HELLMANN und G. OPITZ⁸⁾ für Mannich-Kondensationen mit Formaldehyd beschrieben, in zwei Stufen durchgeführt. In der ersten werden 2 Mol. Morpholin mit 1 Mol. Glyoxylsäure unter Kühlung umgesetzt, wobei die Bildung des *N*-Halbacetals IV anzunehmen ist:

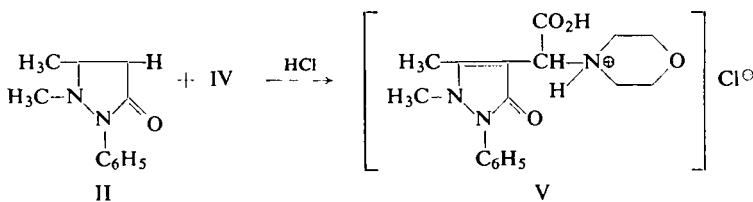


In der zweiten Stufe erfolgt die säurekatalysierte Einwirkung von IV auf das Antipyrin unter Bildung von *d,l*-Antipyryl-morpholino-essigsäure-hydrochlorid (V), das aus dem Reaktionsgemisch durch Chromatographie über einen Anionenaustauscher isoliert werden kann. Dabei wird das nicht umgesetzte Amin abgetrennt; seine titrimetrische Bestimmung führt zu einer bequemen Ermittlung des *Reaktionsumsatzes*.

⁷⁾ C. MANNICH und M. BAUROTH, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **262**, 240 [1924].

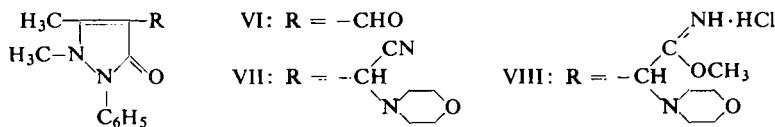
⁸⁾ Angew. Chem. **68**, 265 [1956]; Liebigs Ann. Chem. **604**, 214 [1957].

Das Hydrochlorid V ist in Methanol verhältnismäßig schwer löslich; es kann daher bei größeren Ansätzen aus dem Reaktionsgemisch durch Zugabe von Methanol in Ausbeuten bis zu 68% kristallisiert erhalten werden.



DIE STRUKTUR DES *d,l*-ANTIPYRYL-MORPHOLINO-ESSIGSÄURE-HYDROCHLORIDS (V)

Die Struktur V und damit auch der Verlauf der Kondensation konnten durch eine unabhängige Synthese gesichert werden: Aus 4-Formyl-antipyrin⁹⁾ (VI) ließ sich durch Cyanhydrinsynthese mit Morpholin das Antipyryl-morpholino-essigsäurenitril (VII) darstellen.



Da die Verseifung von *N,N*-Dialkyl- α -aminonitrilen zu den entsprechenden *N,N*-Dialkyl- α -aminosäuren noch nicht beschrieben ist, untersuchten wir zunächst die Einwirkung von Salzsäure auf das Nitril VII. Dabei entstanden jedoch nur Verharzungsprodukte. Dagegen gelang die Verseifung leicht über das Imidsäureester-hydrochlorid VIII, das man durch Einwirkung von salzsaurer Methanol auf VII erhält^{10,11)}. Das auf diesem Wege dargestellte Antipyryl-morpholino-essigsäure-hydrochlorid (V) ist nach Misch-Schmp. und IR-Spektrum identisch mit dem oben beschriebenen Kondensationsprodukt.

Zur Darstellung der freien Antipyryl-morpholino-essigsäure wurde eine wäßrige Lösung des Hydrochlorids V mit einem Kationenaustauscher zum Ammoniumsalz umgesetzt; dieses ging bei mehrmaligem Abdampfen mit Wasser in die freie Aminosäure über, die aus Methanol mit einem halben Mol. Kristallwasser kristallisiert.

DIE p_{H} -ABHÄNGIGKEIT DER KONDENSATIONSREAKTION

Die Antipyryl-morpholino-essigsäure bildet sich nur in einem engen p_{H} -Bereich; am besten gelingt die Kondensation bei p_{H} 4–5. Die Bildung der Diantipyryl-essigsäure (III) beginnt schon ab p_{H} 3, unter stark sauren Bedingungen entsteht sie allein. Damit erklärt sich, daß bei den Versuchen von MANNICH⁷⁾, die in salzsaurer Lösung vorgenommen wurden, III als einziges Kondensationsprodukt gefunden wurde.

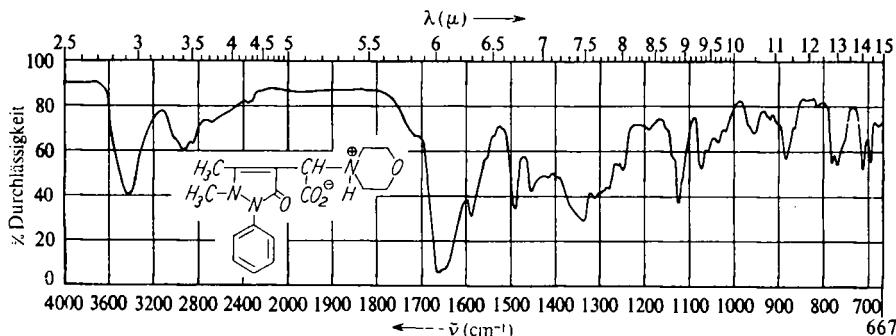
⁹⁾ Issoo Ito, J. pharmac. Soc. Japan [Yakugakuzasshi] **76**, 167 [1956]; C. A. **50**, 13939 g [1956].

¹⁰⁾ R. JAY und TH. CURTIUS, Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 59 [1894].

¹¹⁾ A. N. BAKSHEEV und N. J. GAVRILOV, Zhur Obshchey Khim. **22**, 2021 [1952]; C. A. **47**, 8641 f [1953].

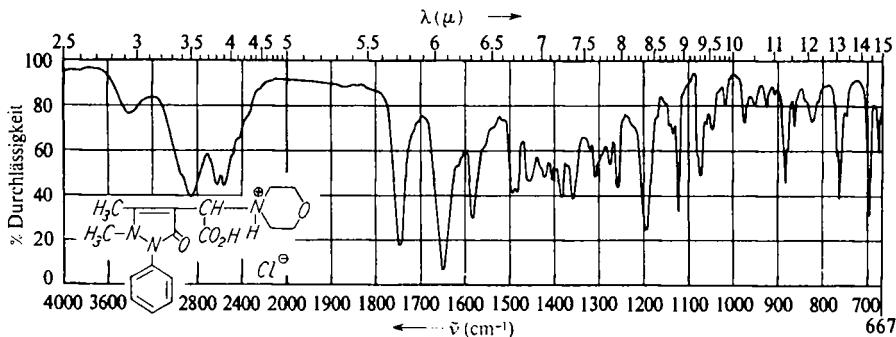
IR-SPEKTROSKOPISCHE CHARAKTERISIERUNG VON *N,N*-DIALKYL- α -AMINOSÄUREN

α -Aminosäuren zeigen im IR-Spektrum eine starke, breite Absorptionsbande um 1613/cm, die C=O-Valenzschwingungsbande ihrer Carboxylatform¹²⁾. In ihren Hydrochloriden liegt die Carboxylgruppe dagegen in freier Form vor und führt zum Auftreten einer scharfen Carboxylbande bei 1739/cm¹²⁾. Wie die IR-Spektren der Antipyryl-morpholino-essigsäure und ihres Hydrochlorids V zeigen, gilt dies auch für *N,N*-dialkyl-substituierte α -Aminosäuren. Im IR-Spektrum der freien Aminosäure (Abbild. 1) liegt die „Carboxylatbande“ bei 1661—1639/cm. Innerhalb dieses Bandenkomplexes liegt auch die N—C=O-Valenzschwingung des Antipyrinrestes, die sich im Spektrum des Antipyrins bei 1672/cm befindet. Die O—H-Valenzschwingungsbande bei 3401/cm entspricht dem analytisch gefundenen Kristallwassergehalt der Verbindung.



Abbild. 1. IR-Spektrum der Antipyryl-morpholino-essigsäure, in KBr gepreßt

Das Spektrum des Hydrochlorids V (Abbild. 2) zeigt die C=O-Valenzschwingung der freien Carboxylgruppe bei 1748/cm, die N—C=O-Bande des Antipyrinrestes bei 1653/cm.



Abbild. 2. IR-Spektrum des Antipyryl-morpholino-essigsäure-hydrochlorids (V), in KBr gepreßt

Beiden Spektren gemeinsam sind die $\overset{\oplus}{\text{N}}-\text{H}$ -Valenzschwingungen zwischen 2857 und 2500/cm, die allerdings im Spektrum der freien Aminosäure wenig ausgeprägt

¹²⁾ Vgl. L. J. BELLAMY, The infrared Spectra of Complex Molecules, Methuen and Co. Ltd., London, 2. Aufl. 1958, S. 240.

sind, und die γ -Schwingungen des monosubstituierten Phenylkerns unterhalb von 769/cm und 714/cm.

Durch Anwendung von Ionenaustauschern in Kombination mit der IR-Spektroskopie lassen sich also Reaktionsprodukte aus der Glyoxylsäure-Kondensation eindeutig als *N,N*-Dialkyl- α -aminosäuren charakterisieren. Bei der sehr geringen Kristallisationstendenz der Dialkylaminosäuren und ihrer Salze und den damit verknüpften Schwierigkeiten bei ihrer Reindarstellung hat sich dieses Vorgehen besonders bewährt.

KONDENSATIONEN MIT WEITEREN SEKUNDÄREN AMINEN

Wird in der beschriebenen Reaktion Morpholin durch *Dimethylamin* ersetzt, so ergibt sich nach Umsetzung mit einem Anionenaustauscher durch Titration der nicht umgesetzten Base ein Umsatz von 60% (vgl. oben). Das *Antipyryl-dimethylamino-essigsäure-hydrochlorid* fällt als hygroskopisches Harz an, das nicht kristallisiert. Gleiche Eigenschaften zeigt die freie Antipyryl-dimethylamino-essigsäure, die in Form des beständigen und gut kristallisierten sauren Sulfates charakterisiert wurde.

Mit *Diäthylamin* beträgt der Reaktionsumsatz zum hygroskopischen *Antipyryl-diäthylamino-essigsäure-hydrochlorid* nur 37%. Die freie Antipyryl-diäthylamino-essigsäure konnte nach Chromatographie an Anionen- und Kationenaustauschern kristallisiert erhalten werden.

Piperidin setzt sich zu etwa 60% um. Auch bei den Kondensationen mit Glyoxylsäure ist demnach eine abgestufte Reaktionsfähigkeit der Amine zu beobachten, wie sie bei der Mannich-Reaktion bekannt ist: Morpholin, Dimethylamin und Piperidin eignen sich besser als Diäthylamin. Während das Antipyryl-piperidino-essigsäure-hydrochlorid wieder als hygroskopisches Harz anfällt, läßt sich die freie Säure nach Reinigung über Ionenaustauscher kristallisiert gewinnen.

Antipyryl-diäthylamino- und -piperidino-essigsäure sind nur sehr schwer zu reinigen, so daß außer den Analysenwerten zur Charakterisierung die IR-Spektren (vgl. Tab. 1) und das Verhalten an Ionenaustauschern herangezogen wurde.

Tab. 1. Lage der C=O-Valenzschwingungsbande in substituierten Antipyryl-amino-essigsäuren und ihren Salzen; die kristallisierten Verbb. (1a, 1b, 2b, 3a, 4a) wurden in KBr gepréßt gemessen, die harzigen Verbindungen (2a, 3b) zwischen NaCl-Scheiben. Das Hydrochlorid von 4a konnte wegen seiner Hygroskopizität nicht gemessen werden

| | Verbindung | Schmp. [°] | $\tilde{\nu}_{C=O}$ (cm ⁻¹) |
|-----|------------------------------------|---------------------|---|
| 1 a | Antipyryl-morpholino-essigsäure | 213 (Zers.) | 1661 – 1639 |
| 1 b | Hydrochlorid | 208 (Zers.) | 1748 |
| 2 a | Antipyryl-dimethylamino-essigsäure | — | 1653 – 1626 |
| 2 b | Hydrogensulfat | 182 (Zers.) | 1730 |
| 3 a | Antipyryl-diäthylamino-essigsäure | 118 | 1653 |
| 3 b | Hydrochlorid | — | 1727 |
| 4 a | Antipyryl-piperidino-essigsäure | 148 | 1653 – 1639 |

Wie die besprochenen Beispiele zeigen, ist die Darstellung von *N*-disubstituierten α -Aminosäuren durch Kondensation einer CH-aktiven Verbindung mit Glyoxylsäure und sekundären Aminen grundsätzlich möglich. Durch Verwendung von Dibenzyl-

amin lassen sich die entsprechenden entalkylierten α -Aminosäuren erhalten; darüber, und über die Ausdehnung dieses Reaktionstyps auf andere CH-aktive Komponenten soll später berichtet werden.

Herrn Prof. Dr. A. BUTENANDT danken wir herzlich für die Förderung dieser Arbeit, Fräulein LORE ENSLEIN für die Mithilfe bei den Experimenten. Der STUDIENSTIFTUNG DES DEUTSCHEN VOLKES sind wir für ein Stipendium zu Dank verpflichtet.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

d,l-Antipyryl-morpholino-essigsäure: 5 g fein zerriebenes *Bariumglyoxylat*¹³⁾ werden in 70 ccm Äthanol aufgeschlämmt und unter Rühren mit 21 ccm 1n H₂SO₄ versetzt. Es wird 1 Stde. gerührt und nach dem Abfiltrieren auf SO₄²⁻-Freiheit geprüft. Der im Eisbad gekühlten alkoholischen Glyoxylsäurelösung läßt man unter Rühren und Eiskühlung 3.7 g *Morpholin* (42 mMol), gelöst in 20 ccm Alkohol, zutropfen und gibt diese eiskalte Mischung tropfenweise in eine Lösung von 3.95 g *Antipyrin* (21 mMol) in 30 ccm Alkohol, die vorher auf pH 4–5 angesäuert wurde. Durch Tüpfeln auf feuchtem Indikatorpapier und tropfenweisen Zusatz von 2n HCl wird der pH-Wert während der Reaktion auf 3–5 gehalten. Anschließend wird 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und das Lösungsmittel auf dem Wasserbad i. Vak. abgedampft. Der Rückstand wird in 100 ccm Wasser aufgenommen und zur Entfernung der Glyoxylsäure wieder i. Vak. weitgehend eingeengt. Das überschüssige Amin wird durch Chromatographie über einen Anionenaustauscher (Dowex 2*) abgetrennt. Beim Eluieren mit ausgekochtem dest. Wasser wird das nicht umgesetzte Amin aus der Säule gewaschen. Es wird im Eluat mit 1n Säure titriert und so der *Reaktionsumsatz* bestimmt.

Danach wird mit 2n HCl die Aminosäure aus der Säule eluiert und das Eluat auf dem Wasserbad i. Vak. zur Trockne gebracht. Als Rückstand bleibt das *Hydrochlorid der Antipyryl-morpholino-essigsäure* (V), das i. Vak. über P₂O₅ und KOH getrocknet und aus Methanol kristallisiert wird; farblose Nadeln vom Zers.-P. 208°; Ausb. 50–60% d. Th.

In größeren Kondensationsansätzen kann das Aminosäure-hydrochlorid V auch ohne Chromatographie isoliert werden. Beim Übergießen des nach dem Abdampfen der Glyoxylsäure zurückbleibenden Rückstandes mit Methanol kristallisiert das Hydrochlorid aus. Durch Zusatz von trockenem Äther zur Mutterlauge kann noch weiteres Aminosäure-hydrochlorid V gewonnen werden. Ausbeuten bis 68% d. Th.

C₁₇H₂₁N₃O₄·HCl (367.8) Ber. C 55.51 H 6.03 N 11.42 Gef. C 55.52 H 6.09 N 10.70

Tab. 2. Kondensationen von Glyoxylsäure mit Antipyrin und Morphin bei verschiedenem pH mit anschließendem 1 stdg. Erhitzen auf 80°

| pH | 1n H ₂ SO ₄ ccm | Morpholin mMol | Antipyrin mMol | zurücktitr. Amin mMol | Umsatz % | isierte Reaktions- produkte |
|-----|--|-------------------|-------------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------------|
| 1 | 15 | 30 | 15 | 30 | 0 | III |
| 2 | 15 | 30 | 15 | 28 | 7 | III |
| 3 | 21 | 42 | 21 | 34 | 38 | III, V |
| 4–5 | 40 | 80 | 40 | 58 | 56 | V |
| 6 | 15 | 30 | 15 | 29 | 3 | — |
| 7 | 17 | 34 | 17 | 34 | 0 | — |

¹³⁾ O. DOEBNER, Liebigs Ann. Chem. 311, 130 [1900].

* In allen Versuchen wurden die Ionenaustauschertypen Dowex 2 und Dowex 50, Vernetzung 7.5, Siebzahlt 20–50, verwendet.

Zur Darstellung der freien Aminosäure wird die wäbr. Lösung des Hydrochlorids über einen Kationenaustauscher (Dowex 50) chromatographiert. Beim Eluieren mit $2n$ NH₃ wird die Aminosäure als Ammoniumsalz aus der Säule gewaschen. Durch mehrmaliges Eindampfen des Filtrats mit Wasser i. Vak. wird NH₃ entfernt und die freie *Antipyryl-morpholino-essigsäure* kristallisiert erhalten. Zers.-P. 213° (aus Methanol).

C₁₇H₂₁N₃O₄· $\frac{1}{2}$ H₂O (340.4) Ber. C 59.98 H 6.51 N 12.35 Gef. C 59.90 H 6.93 N 11.92

p_H-Abhängigkeit der Kondensation: Tab. 2 zeigt Versuche, die zur Ermittlung des p_H-Optimums durchgeführt wurden.

Antipyryl-morpholino-acetonitril (VII): 1.75 ccm *Morpholin* (20 mMol) werden unter Kühlung mit 1.6 ccm konz. Salzsäure versetzt und mit $2n$ HCl genau neutralisiert. In dieser Lösung werden 1.3 g *Kaliumcyanid* (20 mMol) gelöst und danach 5.6 g fein pulverisiertes *4-Formyl-antipyrin* (VI)⁹⁾ (26 mMol) zugesetzt. Nach Zugabe von 3 ccm Wasser wird das Gemisch 4 Stdn. geschüttelt. Anschließend wird abgesaugt und mit Wasser gründlich gewaschen. Nach dem Trocknen wird 2mal aus Alkohol umkristallisiert: Schmp. 188–190°; Ausb. 70% d. Th. Zur Analyse wird noch 2mal aus Äthanol umkristallisiert, Schmp. 190 bis 191°.

C₁₇H₂₀N₄O₂ (312.4) Ber. C 65.36 H 6.45 N 17.94 Gef. C 65.33 H 6.38 N 17.91

Hydrolyse von VII über das Imidsäureester-hydrochlorid: Die Lösung von 1 g des *Nitrils VII* (3.2 mMol) in 35 ccm absol. Methanol wird unter Eiskühlung mit trockenem Chlorwasserstoff gesättigt und 12 Stdn. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Danach wird vorsichtig mit 100 ccm Wasser versetzt und 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Beim Eindampfen der Lösung i. Vak. auf dem Wasserbad bleibt ein farbloser, kristalliner Rückstand, der in heißem Methanol aufgenommen und mit Äther versetzt wird. In der Kälte scheidet sich das *Antipyryl-morpholino-essigsäure-hydrochlorid (V)* als farbloses Kristallpulver ab. Ausb. 30% d. Th.; Schmp. 207° (Zers.) (aus Methanol/Äther). Der Misch-Schmelzpunkt mit dem oben beschriebenen *V* zeigt keine Depression. Die IR-Spektren der beiden Verbindungen sind identisch.

d,l-Antipyryl-dimethylamino-essigsäure: Aus 5.5 g *Bariumglyoxylat* und 30 ccm 1n H₂SO₄ wird, wie oben beschrieben, eine alkohol. Glyoxylsäurelösung bereitet, die 30 mMole Säure enthält. Diese Lösung wird unter Kühlen und Rühren mit einer alkoholischen *Dimethylaminolösung* (60 mMol) versetzt, deren Gehalt vorher durch Titration ermittelt wurde. Das kalte Gemisch lässt man langsam in eine Lösung von 5.65 g *Antipyrin* (30 mMol) in 50 ccm Alkohol eintropfen, die vorher auf pH 4–5 angesäuert worden ist. Durch Zugabe von $2n$ HCl wird der pH-Wert auf 4–5 gehalten. Danach wird 1 Stde. unter Rückfluß gekocht.

Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. und der Entfernung der überschüss. Glyoxylsäure durch wiederholtes Eindampfen mit Wasser bleibt ein honigartiges Produkt zurück. Durch Chromatographie über Dowex 2 werden die basischen Bestandteile entfernt. Im alkalischen Eluat werden 41 mMol Dimethylamin zurücktitriert. Demnach haben sich rund 18 mMol Dimethylamin umgesetzt, was einem Umsatz von 60%, bezogen auf das eingesetzte Antipyrin, entspricht. Beim Eindampfen der sauren Fraktionen erhält man das *Antipyryl-dimethylamino-essigsäure-hydrochlorid* als hygroskopisches Harz, das bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Bei der Umsetzung mit Kationenaustauscher entsteht daraus die freie *Antipyryl-dimethylamino-essigsäure* ebenfalls als hygroskopisches Harz.

Die *Antipyryl-dimethylamino-essigsäure* wird in Äthanol gelöst und mit der äquivalenten Menge 1n H₂SO₄ versetzt. Zur Lösung wird bis zur Trübung absol. Äther zugegeben. Aus der

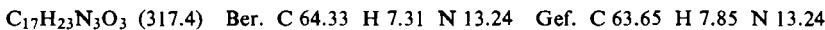
gekühlten Lösung scheidet sich beim Reiben das *saure Sulfat der Antipyryl-dimethylamino-essigsäure* in dichten Kristallflocken ab. Schmp. 182° (Zers.) (aus 90-proz. Alkohol).



d,l-Antipyryl-diäthylamino-essigsäure: Aus 2.3 g *Bariumglyoxylat* und 13.5 ccm 1n H_2SO_4 wird, wie oben beschrieben, eine alkohol. Glyoxylsäurelösung hergestellt. Diese wird wie in den vorhergehenden Versuchen mit 2 g *Diäthylamin* (27 mMol), gelöst in 10 ccm Äthanol, und 2.5 g *Antipyrin* (13.5 mMol) bei p_{H} 4–5 umgesetzt. Nach 1 stdg. Kochen wird wie zuvor aufgearbeitet. Reaktionsumsatz 37%.

Beim Eindampfen des sauren Ionenaustauscher-Eluats bleibt das *Hydrochlorid der Antipyryl-diäthylamino-essigsäure* als glasiger Rückstand zurück.

Die freie Aminosäure erhält man durch Chromatographie einer konz. wäbr. Lösung des Hydrochlorids an Dowex 50 als glasige Masse, die in Methanol leicht löslich ist. Sie wird in Methanol gelöst und stark eingeengt. Nach mehreren Tagen hat sich die *Antipyryl-diäthylamino-essigsäure* teilweise kristallin abgeschieden. Sie wird in heißem Chloroform gelöst und mit Essigester versetzt. Es fällt ein gelbliches Öl aus, das im Verlauf von mehreren Tagen kristallisiert. Darüber scheiden sich aus der Lösung dicke farblose Drusen ab, die noch 2 mal aus Chloroform umkristallisiert werden. Schmp. 118°, bei 120–125° tritt Zersetzung ein.



d,l-Antipyryl-piperidino-essigsäure: Eine alkohol. Glyoxylsäurelösung aus 2.75 g *Bariumglyoxylat* und 15 ccm 1n H_2SO_4 wird mit 2.5 g *Piperidin* (30 mMol) und 2.82 g *Antipyrin* (15 mMol) bei p_{H} 4 wie in den oben beschriebenen Versuchen kondensiert und aufgearbeitet. Reaktionsumsatz 62%. Aus den sauren Fraktionen der Ionenaustauscherchromatographie erhält man beim Eindampfen das *Hydrochlorid der Antipyryl-piperidino-essigsäure* als fast farbloses Harz. Dieses wird in Wasser aufgenommen, und durch Chromatographie der Lösung über Dowex 50 werden die sauren Bestandteile entfernt. Beim Eindampfen des ammoniakal. Eluats bleibt die freie Aminosäure als gelbliches Harz zurück, das über P_2O_5 und KOH i. Vak. getrocknet wird. Es wird in wenig Chloroform heiß gelöst und mit etwa dem gleichen Volumen Essigester versetzt. Nach mehreren Stunden kristallisiert die *Antipyryl-piperidino-essigsäure* in schneeweissen Drusen aus. Die Nadeln werden aus Chloroform und Chloroform/Essigester umkristallisiert, Schmp. etwa 148° (mit anschließender Zersetzung). Zur Analyse wird noch einmal aus Chloroform und Chloroform/Essigester umkristallisiert.

