

Karl Sensse und Friedrich Cramer

Über Einschlußverbindungen, XXI¹⁾

Die Optische Rotationsdispersion von Komplexen der Cyclodextrine und der Amylose mit einigen Azofarbstoffen in wäßriger Lösung

Aus dem Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Abteilung Chemie, Göttingen
(Eingegangen am 13. Juli 1968)

■
Lösungen, die Cyclodextrine oder Amylose sowie einen Azofarbstoff oder Jod enthalten, zeigen bei der Aufnahme der Absorptions- und Rotationsdispersionsspektren Cotton-Effekte. Dies beweist die Bildung einer molekularen Einheit aus dem chiralen, nicht absorbierenden Kohlenhydrat und dem nicht chiralen, absorbierenden Farbstoff. Der Effekt wurde in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Struktur und Konzentration beider Partner untersucht. Einige Vorstellungen über die Struktur der Addukte werden diskutiert.

■
Bei Zusatz basischer Farbstoffe wie Acriflavin oder Acridinorange zu Lösungen von synthetischer Polyglutaminsäure treten nach Untersuchungen von *Stryer* und *Blout*²⁾ im ORD-Spektrum³⁾ dieser Lösungen innerhalb des pH-Bereiches von 4–6 Cotton-Effekte auf, deren Wendepunkte in der Nähe der Maxima der Farbstoffabsorptionsbanden liegen, während die peptidfreien Farbstofflösungen keine optische Aktivität aufweisen. Man hat hier also den Fall, daß ein Molekülassoziat aus einer chiralen, nicht absorbierenden und einer nicht chiralen, absorbierenden Verbindung in diesem Sinn eine molekulare Einheit bildet. Sie wird durch ionische Beziehungen zusammengehalten und deshalb erreichen die beobachteten Cotton-Effekte beträchtliche Werte. *Cramer* und *Sensse*⁴⁾ gelang es erstmalig, analoge Erscheinungen bei Cyclodextrin-Farbstoff-Addukten aufzufinden, in denen viel schwächere Kräfte wirksam sind, die aber dennoch Cotton-Effekte hervorrufen. Prinzipiell gleichartige Untersuchungen führten *Wolf* und *Schulz*⁵⁾ an Jod-Amylose- und Jod-Amylopektin-Komplexen in wäßriger Lösung durch. Sie fanden, daß sich die Chiralität der Kohlenhydrathelix auf den im Kettenhohlraum befindlichen Chromophor überträgt und auf diese Weise im Bereich

¹⁾ XX. Mittell.: *F. Cramer, G. Mackensen* und *K. Sensse*, Chem. Ber. **102**, 494 (1969), vorstehend; XIX. Mittell.: *F. Cramer, W. Saenger* und *H. Ch. Spatz*, J. Amer. chem. Soc. **89**, 14 (1967). Diese Arbeit ist ein Teil der Dissertat. von *K. Sensse*, Techn. Hochschule Braunschweig 1967.

²⁾ *L. Stryer* und *E. R. Blout*, J. Amer. chem. Soc. **83**, 1411 (1961).

³⁾ Abkürzungen: ORD = Optische Rotationsdispersion; cD = Cyclodextrin; F = Farbstoff.

⁴⁾ *K. Sensse*, Dissertat., Techn. Hochschule Braunschweig 1967; *F. Cramer* und *H. Hettler*, Naturwissenschaften **54**, 625 (1967).

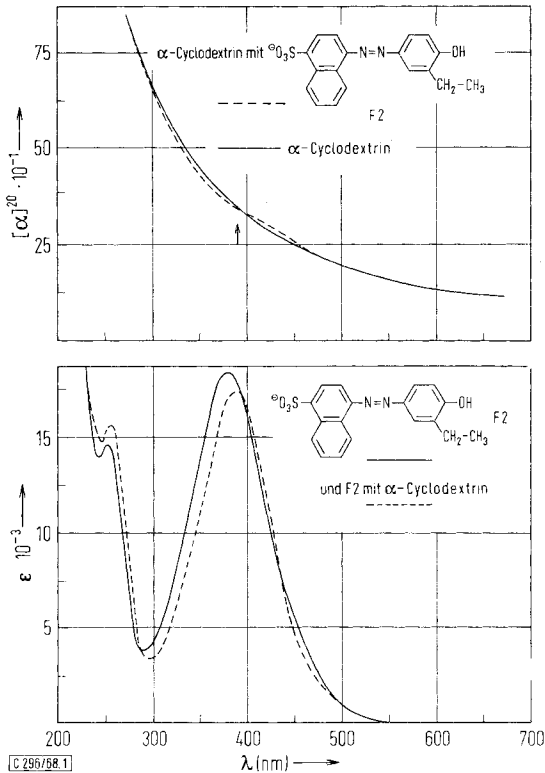
⁵⁾ *R. Wolf* und *R. C. Schulz*, Tetrahedron Letters [London] **1967**, 1799; Vortrag von *R. C. Schulz* auf der Hauptversammlung der Deutschen Kolloid-Gesellschaft in Bad Oeynhaus am 27. 10. 1967.

seines Absorptionsmaximums ein Cotton-Effekt induziert wird. French, Runyon et al.⁶⁾ benutzten den Circular dichroismus zur Messung der Cotton-Effekte, die sich bei den Komplexen von Amylose mit Jod und von Cyclodextrinen mit Jod, Methylorange oder Benzoesäure in wäßriger Lösung zeigen.

In der vorliegenden Arbeit wird über die optische Rotationsdispersion der Komplexe von Cyclodextrinen und Amylose mit 4 Azofarbstoffen oder Jod in Wasser sowie die Abhängigkeit der gemessenen Cotton-Effekte von der Natur des Kohlenhydratpartners, seiner Konzentration, von der Art des Farbstoffes und dem pH der Lösung berichtet. Aufgrund der Ergebnisse wird eine Deutung über die Struktur der verschiedenen Addukte vorgeschlagen.

Messungen

In Tab. I sind die Hauptabsorptionsmaxima der Farbstoffe sowie die durch Zusatz der Kohlenhydrate beobachteten spektralen Verschiebungen angegeben. Zur Aufnahme der Cotton-Effekte wurden zunächst die ORD-Spektren der Farbstoffe in Lösung geschrie-



Abbild. 1. Oben: ORD-Spektrum von α -Cyclodextrin (—) und α -Cyclodextrin mit [2-Äthyl-phenol-(1)]-<4 azo 4>-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 2) (---); unten: Absorptionsspektrum von F 2 (—) und F 2 mit α -Cyclodextrin (---)

⁶⁾ D. French, J. G. Foss, M. McCarvill und J. R. Runyon, Vortrag auf dem 153. ACS-Meeting in Miami (1967).

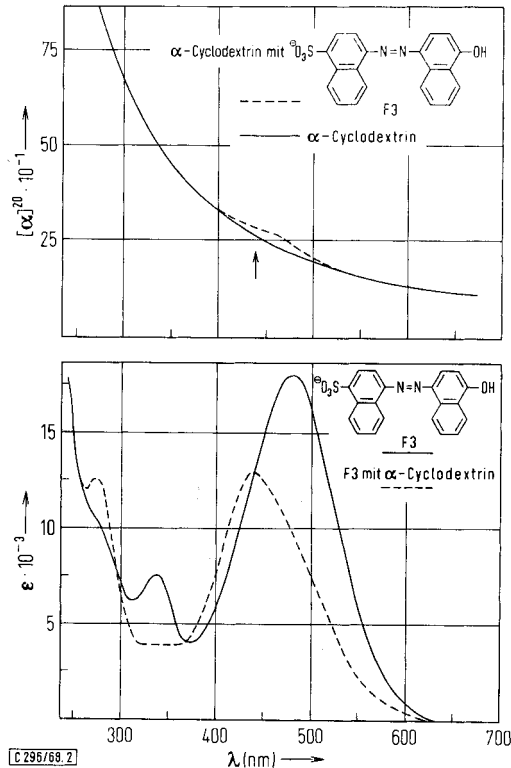
Tab. 1. Spektraldaten verschiedener Farbstoffe und spektrale Veränderungen bei Zusatz von Cyclodextrin oder Amylose bei 23–25°

Farbstoff	pH-Wert	Spektrum		Kohlenhydrat Art	molarer Überschuß [f-fach]	Hypo-chromie [%]	Hyper-chromie [%]	Batho-chromie [nm]	Hypo-chromie [nm]
		λ_{\max} [nm]	$\frac{\epsilon_{\max}}{10^3} \left[\frac{l}{\text{Mol} \cdot \text{cm}} \right]$						
[1-Methoxy-benzo]-<4 azo 4>-[naphthol-(1)-carbonsäure-(2)] (F 1)	6	395	15.5	α -cD	200	14.5	3.6	0	10
	12	500	20.6	α -cD	200				
	6	380	18.4	α -cD	200	5.4		10	42
[2-Äthyl-phenol-(1)]-<4 azo 4>-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 2)	6	480	18	α -cD	200	28.4			45
	6	480	18	β -cD	200	30.6			47
	6	480	18	γ -cD	200	31			47
Naphthol-(1)-<4 azo 4>-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 3)	12	528	26.6	α -cD	200	10.6			2
	12	528	26.6	β -cD	200	13.8			0
	12	528	26.6	γ -cD	200	20.1			3
Kongorot (F 4)	6	499	30	α -cD	100	0			5
	6	342	20.6			0	3.6		6
	6	499	30	γ -cD	200	0			5
	6	342	20.6			0	7.3		5
	6	499	30	Amylose	600 *)		2.7	3	
	6	342	20.6				~3.5		~5
10 ⁻⁴ m Jod + 2 · 10 ⁻⁴ m Kaliumjodid (F 5)	6	342	20.6	α -Methyl-glucosid	600	1.5			0
	6	350	0.26 (**)	α -cD	50	2	480	2	0
	6	287	0.43				460	1	0
0.5 · 10 ⁻⁴ m Jod + 1 · 10 ⁻⁴ m Kaliumjodid	6	350	0.08 (**)	α -cD	40		700	2	2
	6	287	0.13				700	0	0
	6	224	1.54			22		0	4
	6	350	0.08 (**)	β -cD	40		260	4	4
	6	287	0.13				270	1	1
	6	224	1.54			8.6		0	0

*) Auf 1 Glucoseinheit bezogen.

**) Optische Dichte [E]_{1cm}.

ben. Dabei ergab sich wegen der Symmetrie der Moleküle die Nulllinie. Dann wurde die vorausberechnete Menge Cyclodextrin in der gleichen Farbstofflösung gelöst und das ORD-Spektrum dieser Lösung aufgenommen. Schließlich erfolgte noch die Aufnahme des ORD-Spektrums einer Cyclodextrinlösung gleicher Konzentration, aber ohne Farbstoff, die zu der das freie Cyclodextrin kennzeichnenden einfachen Kurve führte. In Tab. 2 sind die Hauptabsorptionsmaxima λ_{\max} des gebundenen Farbstoffs, die Wendepunkte λ_0 der Cotton-Effekte und die Verschiebung dieser Wendepunkte $\lambda_0 - \lambda_{\max}$ gegen das zugehörige Absorptionsmaximum angegeben. Die wichtigsten Absorptions- und ORD-Spektren sind ebenfalls wiedergegeben (Abbild. 1—8).



Abbild. 2. Oben: ORD-Spektrum von α -Cyclodextrin (—) und α -Cyclodextrin mit Naphthol(1)-(4 azo 4')-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 3) (---) bei pH 6; unten: Absorptionsspektrum von F 3 (—) und F 3 mit α -Cyclodextrin (---) bei pH 6

Ergebnisse

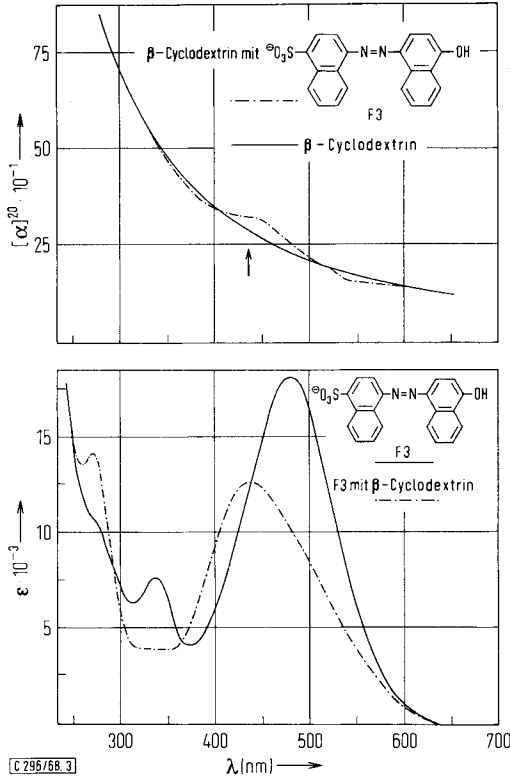
Um die Abweichungen der ORD-Spektren der Addukte von denen der Kohlenhydrate in Zahlen zu fassen, wurde die Größe a' eingeführt. Sie ist der molekularen Amplitude a analog gebildet, die nach Definition gleich der Differenz der Molekularrotationen beim länger- und kürzerwelligen Extrem (Gipfel oder Tal) ist, dividiert durch 100, wobei $\lambda_1 > \lambda_2$ ist.

$$a = \frac{[\Phi]_{\lambda_1} - [\Phi]_{\lambda_2}}{100}$$

Tab. 2. Cotton-Effekte der Kohlenhydrat-Farbstoff-Addukte bei 20°

Farbstoff Art	Konz. · 10 ⁵ [Mol/l]	Art	Kohlenhydrat Konz. · 10 ³ [Mol/l]	molarer Über- schuß [-fach]	pH- Wert	λ_{\max} des gebundenen Farbstoffs [nm]	Wellenlängen der Wende- punkte λ_0 [nm]	Cotton-Effekt Vor- zeichen	a'	$\lambda_0 - \lambda_{\max}$ [nm]
F 1	4.0	α -cD	1.6	40	12	490	keine Veränderung der ORD-Kurve des Cyclo- dextrins	+	0.53	+ 5
F 2	5.0	α -cD	1.25	25	6	390	395	+	0.53	+ 5
F 3	5.0	α -cD	2.26	45	6	438	420	+	0.49	-18
	5.0	β -cD	1.67	34	6	435	420	+	0.91	-15
	5.0	γ -cD	1.43	29	6	437	420	+	0.80	-17
	3.5	α -cD	2.62	75	12	526	keine Veränderung der ORD-Kurve des Cyclo- dextrins	+	0.63	-78
	3.5	β -cD	1.94	56	12	528	450	+	0.63	-78
F 4	3.5	γ -cD	1.65	47	12	525	nur geringe Veränderung, nicht auswertbar	+	1.72	+43
	5.0	α -cD	0.5	10	6	494	537	+	1.93	+19
	5.0	α -cD	1.25	25	6	336	355	+	3.31	+43
	5.0	α -cD	2.5	50	6	494	537	+	3.31	+43
	5.0	α -cD	2.5	50	6	336	345	+	3.31	+ 9
	5.0	α -cD	5.0	100	6	494	537	+	2.12	+43
	5.0	α -cD	12.5	250	6	336	347	+	2.11	+11
	3.0	γ -cD	1.2	40	6	494	537	+	1.17	+43
	5.0	γ -cD	2.5	50	6	337	346	+	1.10	+10
	5.0	Amylose	20*)	400*)	6	494	537	+	0.50	+43
	5.0	α -Methyl- glucosid	20	400	6	336	345	+	0.47	+ 9
F 5	10.0	α -cD	5.0	50	6	494	538	+	2.34	+44
						337	537	+	1.82	+43
						337	346	+	1.80	+ 9
						502	532	+	1.17	+30
						337	358	+	0.70	+21
						499	kein Cotton Effekt			
						342	~360	+	0.45	+ 8
						352	300	+	0.81	+12
						288				

*) Auf 1 Glucoseeinheit bezogen.



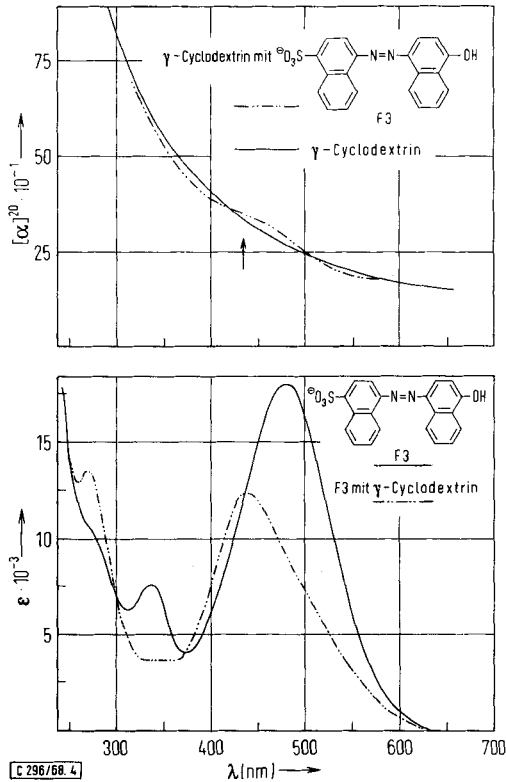
Abbild. 3. Oben: ORD-Spektrum von β -Cyclodextrin (—) und β -Cyclodextrin mit Naphthol-(1)-<4 azo 4>-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 3) (- - -) bei pH 6; unten: Absorptionsspektrum von F 3 (—) und F 3 mit β -Cyclodextrin (- - -) bei pH 6

Die Größe a' stellt diese Molekularamplitude dar für die Wellenlängen λ_1 und λ_2 der größten Abweichungen des betreffenden Spektrums von dem einfachen Spektrum des Kohlenhydrats, abzüglich der für dieses Kohlenhydratspektrum geltenden Differenz der Molekularrotationen $[\Phi_D]$. Da der Wert jeweils auf eine Glucoseeinheit bezogen werden soll, tritt im Nenner noch die Zahl n der Glucosereste pro Kohlenhydratmolekül auf:

$$a' = \frac{1}{n} \left(a - \frac{[\Phi_D]_{\lambda_1} - [\Phi_D]_{\lambda_2}}{100} \right)$$

Die Größe a' ist also ein Maß in molarer Dimension für die Kraft, mit der eine Glucoseeinheit in der Elektronenstruktur des Farbstoffs Chiralität induziert. Sie ist als reine Verhältniszahl anzusehen, da das Molekulargewicht des Addukts in Lösung nicht eindeutig angegeben werden kann.

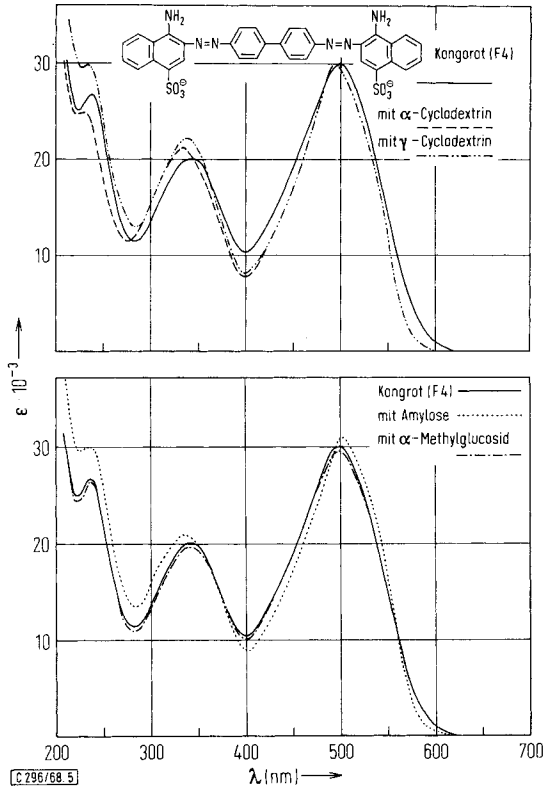
Beobachtet man den Einfluß verschiedener Cyclodextrine und anderer Kohlenhydrate auf die Farbstoffe F 3 und F 4, so ergibt sich bei ersterem für $a'\beta\text{-cD} > \gamma\text{-cD} > \alpha\text{-cD}$. Für F 4 wurden bei diesem Vergleich die molaren Konzentrationen an



Abbild. 4. Oben: ORD-Spektrum von γ -Cyclodextrin (—) und γ -Cyclodextrin mit Naphthol(1)-(4-azo)-[naphthalin-sulfonsäure-(1)] (F 3) (- · -) bei pH 6; unten: Absorptionsspektrum von F 3 (—) und F 3 mit γ -Cyclodextrin (- · -) bei pH 6

Glucoseeinheiten und Farbstoff konstant gehalten, so daß durch a' klar zum Ausdruck kommt, in welcher Bindung die einzelne Glucoseeinheit den stärksten Chiralität induzierenden Effekt auf die Elektronenstruktur des Farbstoffs hat. Dabei zeigt sich: α -cD > γ -cD > Amylose > α -Methylglucosid = 0.

Aus Tab. 2 läßt sich auch die relative Polarisierbarkeit der Elektronensysteme der Farbstoffe durch die Induktionswirkung des α -Cyclodextrins ablesen. Sie ist bei F 4 \gg F 3 > F 2. Die Abhängigkeit der Größe des Cotton-Effektes von der Cyclodextrinkonzentration wurde an Hand von F 4 untersucht. Im Falle von γ -Cyclodextrin ist a' bei einem 40fachen Überschuß gegenüber der Farbstoffkonzentration größer als bei einem 50fachen. Für die Adduktbildung mit α -Cyclodextrin ist die Konzentrationsabhängigkeit von a' graphisch dargestellt (Abbild. 9). Der Cotton-Effekt durchläuft bei der Cyclodextrinkonzentration $1,25 \cdot 10^{-3}$ Mol/l, d. h. bei einem 25fachen molaren Cyclodextrinüberschuß, ein Maximum, weil a' jeweils auf die Menge an zugesetztem α -Cyclodextrin bezogen ist. Ein Auftragen der in Tab. 3 aufgeführten

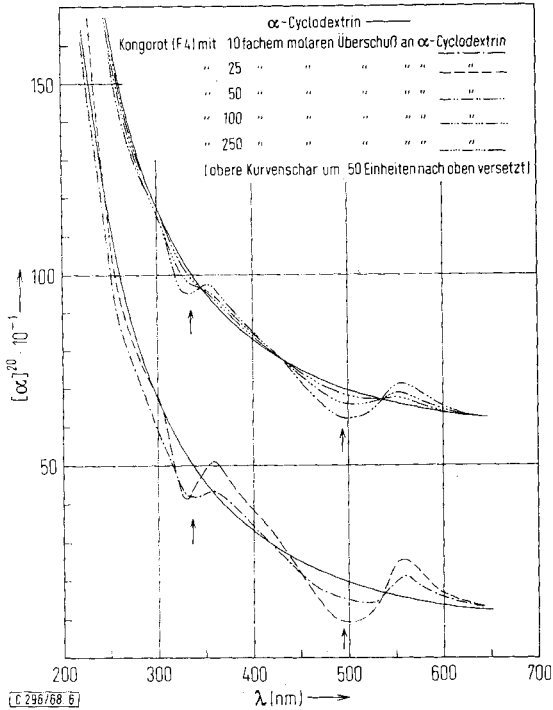


Abbild. 5. Absorptionsspektren von Kongrorot (F4) (—) und Kongrorot mit α -Cyclodextrin (---), γ -Cyclodextrin (- · - · -), Amylose (·····) und α -Methylglucosid (- · - · -)

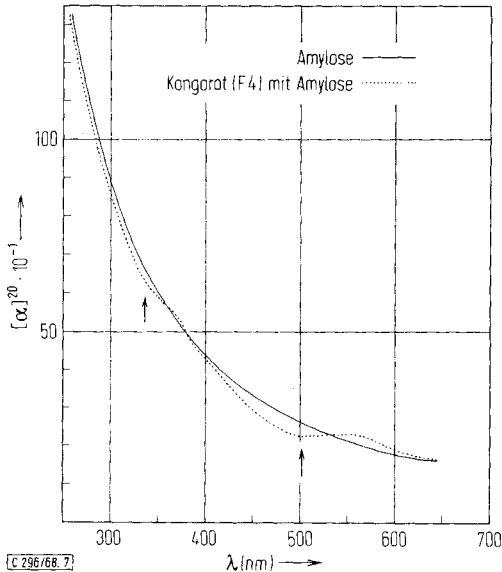
Absolutwerte für die Winkeländerung $\Delta\alpha$ gegen die α -Cyclodextrinkonzentration ergibt eine Sättigungskurve, die ihr Plateau bei einer Konzentration von etwa $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l, also einem 100fachen molaren Cyclodextrinüberschuß, erreicht (Abbild. 10).

Tab. 3. Konzentration an α -Cyclodextrin $c_{\alpha\text{-cD}}$ und absolute Winkeländerung $\Delta\alpha$ bei den Cotton-Effekten des Addukts aus α -Cyclodextrin und F 4 (Konzentration des Farbstoffs $5.0 \cdot 10^{-5}$ Mol/l)

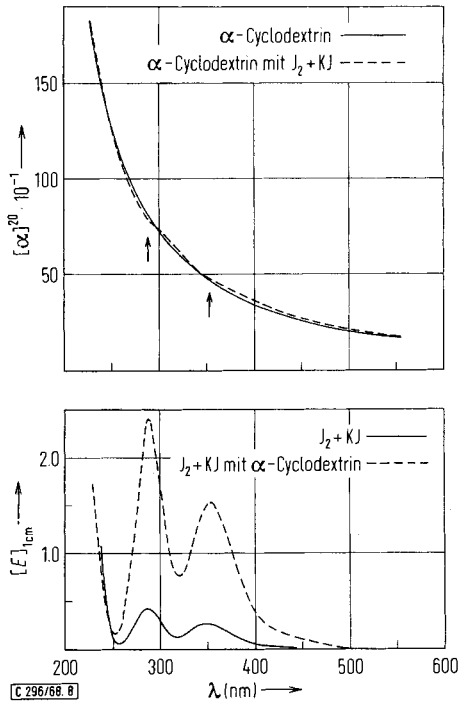
α -Cyclodextrin-konzentration [Mol/l]	$-\log c_{\alpha\text{-cD}}$	Cotton-Effekt λ_0 [nm]	Winkeländerung $\Delta\alpha$ [Grad]
$0.5 \cdot 10^{-3}$	3.301	537	$0.52 \cdot 10^{-2}$
		355	$0.58 \cdot 10^{-2}$
$1.25 \cdot 10^{-3}$	2.903	537	$2.49 \cdot 10^{-2}$
		345	$2.49 \cdot 10^{-2}$
$2.5 \cdot 10^{-3}$	2.602	537	$3.20 \cdot 10^{-2}$
		347	$3.17 \cdot 10^{-2}$
$5.0 \cdot 10^{-3}$	2.301	537	$3.51 \cdot 10^{-2}$
		346	$3.32 \cdot 10^{-2}$
$12.5 \cdot 10^{-3}$	1.903	537	$3.78 \cdot 10^{-2}$
		345	$3.54 \cdot 10^{-2}$



Abbild. 6. ORD-Spektrum von α -Cyclodextrin (—) und von Kongorot (F 4) mit 10fachem (---), 25fachem (---), 50fachem (---) und 100fachem (---) und 250fachem (---) molarem Überschuß an α -Cyclodextrin

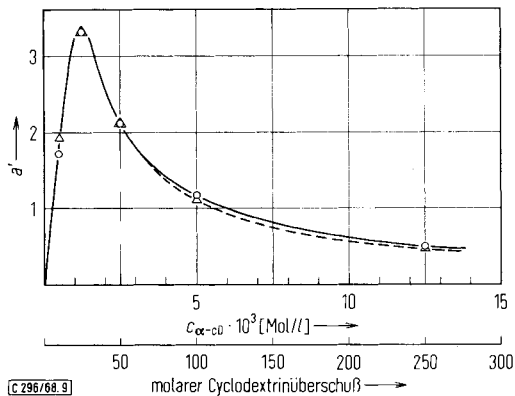


Abbild. 7. ORD-Spektrum von Amylose (—) und von Kongorot (F 4) mit Amylose (.....); 600facher molarer Überschuß an Glucoseeinheiten

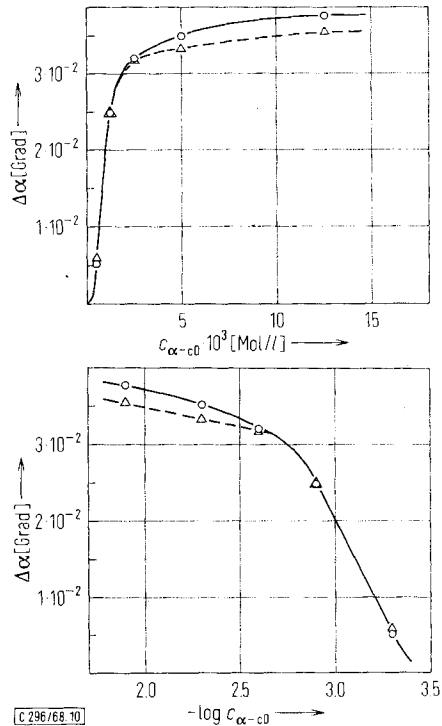


Abbild. 8. Oben: ORD-Spektrum von α -Cyclodextrin (—) und einer wässrigen Lösung von $1 \cdot 10^{-4} m J_2 + 2 \cdot 10^{-4} m KJ$ (F 5) mit 50fachem molaren Überschuß an α -Cyclodextrin (14.6 mg/3 cem) (---);

unten: Absorptionsspektrum derselben Lösung ohne (—) und mit Cyclodextrin (---)



Abbild. 9. Größe der Cotton-Effekte a' bei α -Cyclodextrin-Kongorot-Addukten in Abhängigkeit von der α -Cyclodextrin-Konzentration $c_{\alpha-cd}$; (Cotton-Effekt bei 537 nm \circ , bei ~ 346 nm Δ)



Abbild. 10. Die Winkeländerung $\Delta\alpha$ in Grad in Abhängigkeit von der α -Cyclodextrin-Konzentration $c_{\alpha-cD}$ und $\log c_{\alpha-cD}$ beim α -Cyclodextrin-Kongorot-Addukt (Cotton-Effekt bei 537 nm \circ , bei 346 nm Δ)

Legt man für die Komplexbildung von α -Cyclodextrin mit F 4 die Reaktionsgleichung $\alpha-cD + F \rightleftharpoons \alpha-cD \cdot F$ zugrunde, so kann man aus der Konzentrationsabhängigkeit der Winkeländerung die Gleichgewichtskonstante K dieser Reaktion nach dem Massenwirkungsgesetz ermitteln.

Aus der Auftragung von $\Delta\alpha$ gegen $-\log c_{\alpha-cD}$ (Abbild. 10) läßt sich für die Gleichgewichtskonstante der Rekombinationsreaktion $K \simeq 10^3$ ablesen. Dieser Wert liegt in der Größenordnung der von Cramer et. al.⁷⁾ sowie Sensse⁴⁾ für andere Azofarbstoffe aus spektralphotometrischen und kinetischen Daten berechneten Werte.

Die Verschiebung der Wendepunkte der Cotton-Effekte gegen die zugehörigen Absorptionsmaxima (Tab. 2) ist durchweg positiv, bei F 3 dagegen negativ. Bei diesem Farbstoff ist sie bei pH 6 für alle 3 Cyclodextrine etwa gleich, bei pH 12 davon verschieden. F 4 zeigt bei gleichen Absorptionsbanden für α - und γ -Cyclodextrin gleiche Verschiebungen, die auch unabhängig von der jeweiligen Cyclodextrinkonzentration sind. Beim Addukt von Amylose mit F 4 hat die Verschiebung dagegen andere Werte.

Der Wert α' geht im alkalischen Medium bei pH 12 um wenigstens $1/3$ zurück, oder er verschwindet sogar ganz.

⁷⁾ F. Cramer, W. Saenger und H. Ch. Spatz, J. Amer. chem. Soc. **89**, 14 (1967).

Die Komplexe von α - und β -Cyclodextrin mit J_3^{\ominus} weisen im Absorptionsspektrum eine sehr große Extinktionserhöhung auf, die beim α -Cyclodextrin noch mehr als doppelt so groß ist wie beim β -Cyclodextrin. In bemerkenswertem Gegensatz dazu stehen die in den ORD-Spektren aufzufindenden Effekte; während durch die Adduktbildung mit α -Cyclodextrin noch kleine Cotton-Effekte bei den entsprechenden Absorptionsbanden erzeugt werden, ist beim β -Cyclodextrin praktisch keine Änderung mehr festzustellen. Ebenso ist die Verschiebung der Wendepunkte der Cotton-Effekte gegen die zugehörigen Absorptionsmaxima für den α -Cyclodextrin-Jod-Komplex relativ klein.

Schließlich besteht die Frage, in welcher räumlichen Anordnung die Komplexpartner vorliegen und in welcher Anordnung die Elektronenstruktur des Farbstoffs am stärksten durch das chirale Kohlenhydrat beeinflusst wird. An Kalottenmodellen mit C1-Konfiguration der die Cyclodextrine aufbauenden Glucopyranoseringe⁴⁾ ergibt sich, daß nur in bestimmten Fällen, wie etwa α -Cyclodextrin und Jod oder γ -Cyclodextrin und F 3 sowie F 4 völliger Einschluß möglich ist. Oft kann nur teilweiser oder gar kein Einschluß vorkommen wie bei den übrigen Kombinationen der Tab. 2. Da aber keine entsprechenden auffallenden Meßergebnisse erhalten wurden, müssen für die Cyclodextrin-Farbstoff-Addukte auch noch andere räumliche Anordnungen diskutiert werden. Beim Aufliegen des aromatischen Systems eines Farbstoffes auf dem Cyclodextrinring könnte je nach sterischer Möglichkeit eine maximale Anzahl von Protonen des hervorstehenden Kranzes von Hydroxygruppen mit dem aromatischen π -Elektronensystem Ladungsübergangsbindungen (charge transfer) eingehen⁸⁾.

Für eine Erörterung der Struktur der Komplexe zwischen Amylose und Kongorot ist auch die Beobachtung von *Ohara, Watanabe* und *Kwan*⁹⁾ wichtig, daß in frischer Amyloselösung die L-(–)-Form von Mandelsäure- oder Atrolaktinsäure-äthylester bevorzugt vor dem D-(+)-Isomeren adsorbiert oder eingeschlossen wird. Das zeigt, daß es an der Amylosehelix optisch aktive Adsorptionsstellen für aromatische Systeme gibt. Während diese Autoren Einschluß im Innern der Helix annehmen, ist dies für die Wechselwirkung mit Kongorot ebenso wie ein Einschleiben des Farbstoffs zwischen einzelne Helixwindungen an Modellen unmöglich. Hier ist ein Anlagern des Farbstoffs zwischen parallele Helices denkbar. Ein Hinweis auf diese gegenüber den Cyclodextrin-Addukten unterschiedliche Struktur könnten die anderen Werte für die Verschiebung $\lambda_0 - \lambda_{\max}$ sein.

⁸⁾ *L. J. Andrews* und *R. M. Keefer*, *Molecular Complexes in Organic Chemistry*, Holden-Day Inc., San Francisco, London, Amsterdam 1964.

⁹⁾ *M. Ohara, T. Watanabe* und *T. Kwan*, *Z. physik. Chem.* [Frankfurt/M.] **56**, 314 (1967); siehe auch *F. Cramer* und *W. Dietsche*, *Chem. Ber.* **92**, 378 und 1739 (1959).

Beschreibung der Versuche

Die Cyclodextrine wurden nach *Cramer* und *Henglein*¹⁰⁾ hergestellt und nach *French*¹¹⁾ gereinigt, die Amylose nach *Wolf*⁵⁾ vorbehandelt. Die Azofarbstoffe wurden nach üblichen Verfahren^{12, 13)} dargestellt und durch Extraktion und Umkristallisation gereinigt. Die Prüfung der Reinheit von Farbstoffen und Kohlenhydratderivaten erfolgte durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten F₂₅₄ (Merck, Darmstadt), Laufmittel Isopropylalkohol/Chloroform/Wasser (3:1:1, v/v), Essigester/Benzol (3:1, v/v) und Chloroform/Methanol (1:1, v/v). Lösungen der Farbstoffe mit einer maximalen Extinktion von 0.8–2.4/cm wurden je nach gewünschtem pH-Wert mit Wasser oder 0.01 *n* NaOH hergestellt. Für die Aufnahme der Absorptionsspektren wurden das Cary 14- und für die polarimetrischen Messungen das Cary 60-Gerät sowie das Polarimeter 141 (Perkin-Elmer) benutzt.

¹⁰⁾ *F. Cramer* und *F. M. Henglein*, *Chem. Ber.* **91**, 308 (1958).

¹¹⁾ *D. French*, *M. L. Levine*, *J. H. Pazur* und *E. Norberg*, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 353 (1949).

¹²⁾ *Organikum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, 3. Aufl., Berlin 1964.

¹³⁾ *H. Zollinger*, *Chemie der Azofarbstoffe*, Birkhäuser-Verlag, Basel 1958.