

Isolation of Rhoifolin from *Chorisia* Species (Bombacaceae)

Rhoifolin is a glycoside of apigenin which was isolated for the first time by HATTORI and MATSUDA from fresh leaves of *Rhus succedanea*¹ and it is 7-O-neohesperidosyl-apigenin². We have isolated rhoifolin from the fresh leaves of four *Chorisia* species³ which grow in Argentine: *Ch. insignis* H.B.K. (yield 0.5%), *Ch. speciosa* St. Hil. (yield 0.27%), *Ch. pubiflora* (St. Hil.) Dawson (yield 0.24%) and *Ch. crispiflora* H.B.K. (yield 0.15%). Its preparation from the most common species *Ch. insignis* H.B.K. is described. 1 kg of fresh leaves was boiled for 15 min with 2.6 l of water and the extract filtered hot. Rhoifolin crystallized on cooling the filtrate. It was purified by several recrystallizations from 50% methanol, giving needles sintering at 202–205° and melting at 245°; $[\alpha]_D^{25} -110.0^\circ$ (c, 0.21 in methanol). Analysis showed that this compound is the hydrated form with six molecules of water, already described by HATTORI and MATSUDA¹ (Found: C, 47.02; H, 6.35; $C_{27}H_{30}O_{14} \cdot 6H_2O$ requires C, 47.22; H, 6.18). These authors gave a m.p. of 240–245° with sintering from 200–205° and $[\alpha]_D^{25} -23.5^\circ$ (methanol)^{1,4}. Recrystallized six times from absolute methanol, needles melting at 213–215° were obtained; $[\alpha]_D^{25} -112.7^\circ$ (c, 0.20 in methanol), λ_{max}^{EtOH} 267.5, 336 m μ , log ϵ 4.34, 4.42. This melting point does not change by drying at 78° (vacuum). It is the anhydrous form of rhoifolin (Found: C, 55.84; H, 5.33; $C_{27}H_{30}O_{14}$ requires C, 56.05; H, 5.23). Recrystallizations of this product from 50% methanol gave again crystals melting at 245° and sintering from 202–205°.

Our rhoifolin was compared with two authentic samples kindly sent to us by Dr. R. HOROWITZ and Dr. S.

HATTORI. The UV- and IR-spectra were in agreement and on paper chromatography they gave identical Rf-values in four different solvent systems⁵. By thin layer chromatography on silica gel G with butanol-acetic acid-water (4:1:1) as mobile phase, a Rf 0.53 was obtained.

Our sample was submitted to the usual acid hydrolysis, when apigenin was isolated, m.p. 345–347°; acetate m.p. 181–182° and benzoate m.p. 217–219°. A determination of D-glucose and L-rhamnose by the method of WILSON⁶ gave an equimolecular relation with the aglycone.

Résumé. Des feuilles de quatre espèces de *Chorisia* provenant de certaines régions de l'Argentine, les auteurs ont extrait le glycoside rhoifolin avec un rendement de 0,15–0,50%.

J. D. COUSSIO⁷

Laboratorio de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Buenos Aires (Argentina), May 19, 1964.

¹ S. HATTORI and H. MATSUDA, Arch. Biochem. Biophys. 37, 85 (1952).

² R. M. HOROWITZ, private communication.

³ G. DAWSON, Rev. Arg. agronom. 11, 1 (1944).

⁴ Dr. HOROWITZ (private communication) has remarked that a recalculation of the data reported by HATTORI and MATSUDA¹, gives an optical rotation of $[\alpha]_D^{25} -116.8^\circ$, which is in much better agreement with our results.

⁵ J. B. HARBORNE, J. Chromatogr. 2, 581 (1959).

⁶ C. M. WILSON, Anal. Chem. 31, 1199 (1959).

⁷ Acknowledgment. The author is indebted to Dr. V. DEULOFEU for suggesting this study, for discussions and assistance during the writing of this manuscript.

Effets de l'AET sur la spermatogenèse de souris irradiées

Introduction. Dans une étude précédente¹ nous avons montré que l'AET (2- β -aminoéthylisothiourée), injecté avant irradiation, semble avoir un effet fort comparable à celui obtenu par d'autres auteurs avec la MEA^{2,3}; une injection d'AET, 10 min avant irradiation, ralentit la disparition des spermatogonies et des spermatocytes chez des souris irradiées avec 342 R de rayons X, tandis que la régénération passagère qui intervient après 5472 R survient plus tôt chez les souris protégées.

Ce travail a été complété par l'irradiation de souris mâles, avec une dose intermédiaire de 1368 R et par une étude histologique des organes reproducteurs jusqu'à 150 jours après l'irradiation.

Méthodes. Des mâles hybrides (CBA $\times$ C57Bl) âgés de 12 semaines sont irradiés localement sur les testicules avec une dose de 1368 R de rayons X (300 kV, 20 mA, filtre de 2 mm Cu et flux de 100 R/min).

La moitié des individus ont reçu une injection intrapéritonéale de 8 mg d'AET-Br 10 min avant l'irradiation. Chaque semaine, jusqu'au 49^e jour, et les 75^e, 100^e et 150^e jours après le traitement, 5 souris de chaque groupe sont sacrifiées, leurs testicules pesés et fixés dans du Zenker.

L'effet sur la spermatogenèse a été estimé, dans les testicules, en calculant le pourcentage des tubes sémini-

fères dans lesquels manquait l'un ou l'autre stade de la lignée spermatogénique: spermatogonies, spermatocytes, spermatides ou spermatozoïdes. Pour chaque individu nous avons examiné un total de 50 tubes séminifères, soit 250 tubes par point.

Dans les épididymes, nous avons estimé la population en spermatozoïdes dans 50 sections transversales de canaux éférents par individu.

Résultats. Les Figures 1 et 2 montrent que le poids des testicules évolue parallèlement à la diminution du nombre de cellules germinales. Si l'étude histologique des testicules semble montrer qu'il existe une très faible différence entre individus protégés et non protégés (Figure 2), l'effet de l'AET apparaît surtout à l'examen des épididymes: 50 jours après l'irradiation, on rencontre à nouveau des spermatozoïdes dans l'épididyme des individus protégés; après 100 jours, la population en spermatozoïdes est pratiquement normale (Figure 3).

Par contre, chez les individus non injectés d'AET on ne trouve aucun spermatozoïde après le traitement et seulement quelques-uns après 100 jours (Figure 4); 150 jours après le traitement, l'épididyme des individus irra-

¹ A. LEONARD et J. R. MAISIN, C. R. Soc. Biol. 157, 409 (1963).

² A. N. MANDL, Intern. J. Rad. Biol. 1, 131 (1959).

³ S. C. WANG, S. KUSKIN et R. RUGH, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 101, 218 (1959).

diés sans protection ne contient encore que peu de spermatozoïdes, alors qu'ils abondent chez les individus protégés.

Le Tableau résume ces résultats.

Conclusions. Les résultats obtenus montrent clairement que l'AET-Br, injecté intrapéritonéalement avant irradiation, exerce une action radioprotectrice nette sur les cellules reproductrices mâles.

Traite- ment	Population ^a en sper- matozoïdes	Nombre de-jours après le traitement		
		75	100	150
1368 R	1	13,0 ± 5,0	10,0 ± 4,0	49,6 ± 11,4
	2	2,0 ± 2,0	14,0 ± 5,0	17,2 ± 8,1
	3	85,0 ± 11,0	76,0 ± 5,0	33,2 ± 6,9
AET +1368 R	1	15,0 ± 8,0	83,0 ± 5,0	91,0 ± 4,0
	2	13,0 ± 6,0	6,0	1,0 ± 1,0
	3	72,0 ± 13,0	11,0 ± 2,0	8,0 ± 4,0

^a Pour estimer la population nous avons calculé le pourcentage de sections de canaux efférents contenant beaucoup de spermatozoïdes (1), le pourcentage de sections contenant quelques spermatozoïdes (2) et, enfin, le pourcentage de sections sans spermatozoïdes (3).

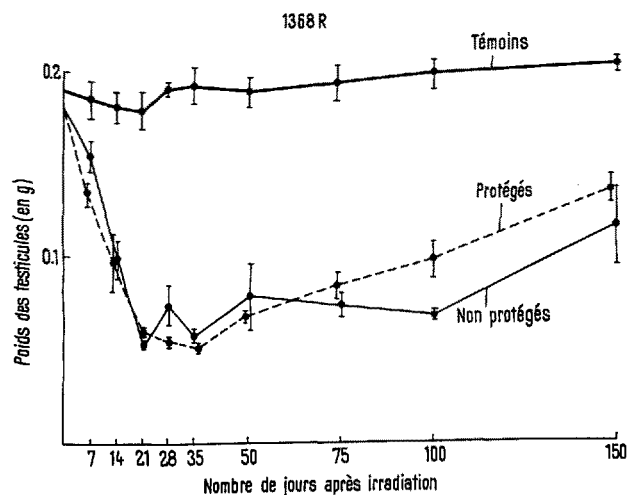


Fig. 1. Évolution du poids des testicules.

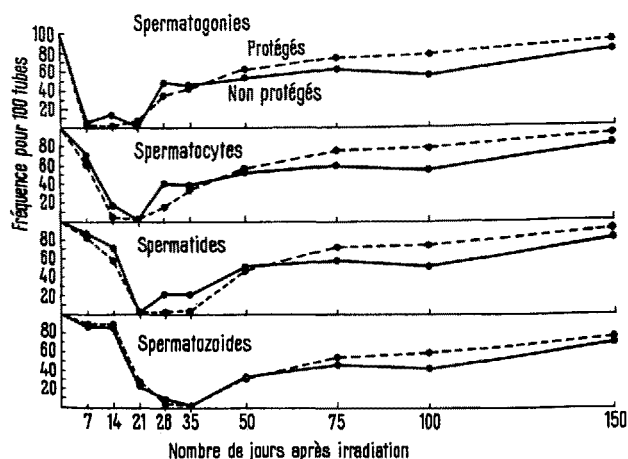


Fig. 2. Évolution de la population des testicules.

150 jours après le traitement la population des épидидymes est pratiquement normale chez les individus protégés.

Ces résultats confirment ceux obtenus précédemment par l'étude des testicules d'individus irradiés avec 342 et 5472 R de rayons X.



Fig. 3. Épидидyme de souris protégées, 100 jours après le traitement.



Fig. 4. Épидидyme de souris non protégées, 100 jours après le traitement.

Summary. The testes of hybrid mice (CBA × C57Bl) were irradiated with 1368 R of X-rays. Half of the animals received an intraperitoneal injection of 8 mg of AET before irradiation. Each week, 5 males of each group were sacrificed. Histological examination of the testes and the epididymus showed that AET is able to protect, to some extent, against testicle damage induced by X-rays.

A. LÉONARD

Laboratoire de Génétique, Département de Radiobiologie,
Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire, Mol (Belgique),
le 25 juin 1964.