

## Protective Effect of Theabrownin from Pu-erh Tea on Cyclophosphamide Induced Premature Ovarian Failure in Mice

Kena LIU <sup>1</sup>, Yixuan HUANG <sup>1</sup>, Lizhi GAO <sup>1</sup>, Xiaotong LI <sup>1</sup>,  
Wei ZHAO <sup>2</sup>, Yang ZHAO <sup>3</sup> & Jun DOU <sup>1,4 \*</sup>

<sup>1</sup> School of Health Science and Technology, West Yunnan University of Applied Science,  
Dali, Yunnan 671000, China

<sup>2</sup> School of Public Health, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China

<sup>3</sup> School of Medicine, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China

<sup>4</sup> School of Medicine, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 21000, China

**SUMMARY.** To investigate the effects of the theabrownin from Pu-erh tea on premature ovarian failure (POF) in mice induced by cyclophosphamide (CY) and evaluate theabrownin's potential protective effects on follicular development and oxidative stress.: POF model was established using 160 mg CY-treated mice, and four experiment groups were formed: the normal control group, the model group, the low-dose theabrownin treatment group (400 mg /kg), and the high-dose theabrownin treatment group (1200 mg /kg). Lee's index and organ index were first measured, and the serum from eye blood was collected for measuring the levels of nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA), and the activity of superoxide dismutase (SOD), respectively. The hematoxylin-eosin (HE) staining was final used to observe ovarian structure and cell histology. Compared with the normal control group, Lee's index was reduced statistically significantly in low-, and high-dose groups, but the organ indexes of liver, kidney, and spleen in the high-dose group were all significantly increased ( $p < 0.05$ ). The levels of NO and MDA were further reduced in the model mice treated with theabrownin ( $p < 0.05$ ), and the SOD activity in high dose group was statistically significantly higher than that in low dose group ( $p < 0.01$ ). Moreover, the numbers of primordial follicles in the high-dose group (theabrownin-treated mice) were increased significantly ( $p < 0.01$ ) and the numbers of atretic follicles were markedly reduced ( $p < 0.001$ ), and the improvement in follicle morphology and structure was both remarkably improved compared with the saline-treated model group. Theabrownin may protect against POF status by reducing oxidative stress and increasing the activity of antioxidant enzymes, and may promote the development and the quantity of ovarian follicles.

**RESUMEN.** Para investigar los efectos de la teabrownina del té Pu-erh sobre la insuficiencia ovárica prematura (POF) en ratones inducida por ciclofosfamida (CY) y evaluar los posibles efectos protectores de la teabrownina sobre el desarrollo folicular y el estrés oxidativo.: Se estableció un modelo de POF utilizando ratones tratados con 160 mg de CY y se formaron cuatro grupos experimentales: el grupo de control normal, el grupo modelo, el grupo de tratamiento con teabrownina en dosis bajas (400 mg/kg) y el grupo de tratamiento con teabrownina en dosis altas (1200 mg/kg). Primero se midieron el índice de Lee y el índice orgánico, y se recolectó el suero de la sangre del ojo para medir los niveles de óxido nítrico (NO) y malondialdehído (MDA), y la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), respectivamente. La tinción de hematoxilina-eosina (HE) se utilizó finalmente para observar la estructura ovárica y la histología celular. En comparación con el grupo de control normal, el índice de Lee se redujo de manera estadísticamente significativa en los grupos de dosis baja y alta, pero los índices orgánicos de hígado, riñón y bazo en el grupo de dosis alta aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ). Los niveles de NO y MDA se redujeron aún más en los ratones modelo tratados con teabrownina ( $p < 0.05$ ), y la actividad de SOD en el grupo de dosis alta fue estadísticamente significativamente mayor que en el grupo de dosis baja ( $p < 0.01$ ). Además, el número de folículos primordiales en el grupo de dosis alta (ratones tratados con teabrownina) aumentó significativamente ( $p < 0.01$ ) y el número de folículos atrésicos se redujo notablemente ( $p < 0.001$ ), y la mejora en la morfología y la estructura del folículo mejoraron notablemente en comparación con el grupo modelo tratado con solución salina. La teabrownina puede proteger contra el estado de POF al reducir el estrés oxidativo y aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes, y puede promover el desarrollo y la cantidad de folículos ováricos.

**KEY WORDS:** cyclophosphamide, oxidation resistance, premature ovarian failure; Pu-erh tea, Theabrownin from Pu-erh tea.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: njdoujun@seu.edu.cn