

EVALUATION OF HYPOLIPIDEMIC EFFECT OF GREEN COFFEE BEAN EXTRACT (*COFFEA CANEPHORA* PIERRE EX A. FROEHNER) GROWN IN DAK LAK PROVINCE

Ha Hoang Anh Vinh¹, Nguyen To Uyen¹, Hoang Thi Minh Thu¹

Tran Manh Hung^{2*}, Le Trung Khoang^{1*}

¹Buon Ma Thuot Medical University

²University of Medicine and Pharmacy at HCMC

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 15/5/2023	The aim of the study is to evaluate the oral acute toxicity and hypolipidemic effect of green coffee bean extract (GCBE) on Swiss albino mice. The GCBE was standardized before testing. The model of hyperlipidemia in mice was induced by tyloxapol (Triton WR 1339), and the extract was evaluated at doses of 100 mg/kg and 200 mg/kg of body weight. The hypolipidemic effect was evaluated by the level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), and total cholesterol (TC) in serum. For oral acute toxicity, the LD ₅₀ of GCBE on mice was 5.24 ± 0.75 g/kg. The results of lipid indices showed that the GCBE at doses of 150 mg/kg and 300 mg/kg reduced LDL-C, TG, and TC compared to the pathological group (p < 0.05). The hypolipidemic effect of GCBE 300 mg/kg was comparable to that of atorvastatin 64 mg/kg. The experimental results of this study suggest that GCBE could be used as an adjunct therapy for the treatment of dyslipidemia.
Revised: 13/6/2023	
Published: 13/6/2023	
KEYWORDS	
Acid chlorogenic	
Green coffee bean	
Caffeine	
Acute toxicity	
Hypolipidemia	

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG HẠ LIPID MÁU CỦA CAO CHIẾT TỪ HẠT CÀ PHÊ XANH (*Coffea Canephora* Pierre ex A. Froehner) TRỒNG TẠI TỈNH ĐẮK LẮK

Hà Hoàng Anh Vĩnh¹, Nguyễn Tố Uyên¹, Hoàng Thị Minh Thu¹

Trần Mạnh Hùng^{2*}, Lê Trung Khoang^{1*}

¹Trường Đại học Y Dược Buôn Ma Thuột

²Trường Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 15/5/2023	Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá độc tính cấp và tác dụng hạ lipid máu của cao chiết từ hạt cà phê xanh (green coffee bean extract - GCBE) trên chuột nhắt trắng. Cao chiết từ hạt cà phê xanh được tiêu chuẩn hóa trước khi thử nghiệm. Thử nghiệm được tiến hành với tác nhân gây tăng lipid máu là tyloxapol (Triton WR 1339), cao chiết được đánh giá ở liều 150 mg/kg và 300 mg/kg trọng lượng chuột. Tác dụng hạ lipid được đánh giá thông qua các chỉ số cholesterol tỷ trọng thấp (LDL), cholesterol tỷ trọng cao (HDL), triglycerid (TG) và cholesterol toàn phần (TC) trong huyết tương. Với thử nghiệm độc tính cấp, liều gây chết 50% động vật thử nghiệm (LD ₅₀) được xác định là 5,24 ± 0,75 g cao/kg chuột. Kết quả các thông số lipid máu cho thấy cao chiết ở liều 150 mg/kg và 300 mg/kg làm giảm LDL, TG và TC so với nhóm bệnh lý (p < 0,05), tác dụng hạ lipid máu của cao cà phê xanh ở liều 300 mg/kg tương đương với atorvastatin 64 mg/kg. Kết quả thực nghiệm trong nghiên cứu này cho thấy cao chiết từ hạt cà phê xanh có thể được sử dụng hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn lipid máu.
Ngày hoàn thiện: 13/6/2023	
Ngày đăng: 13/6/2023	
TỪ KHÓA	
Acid chlorogenic	
Cà phê xanh	
Caffein	
Độc tính cấp	
Giảm lipid máu	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7925>

* Corresponding author. Email: Trungkhoang@gmail.com; Manh Hung@ump.edu.vn

1. Giới thiệu

Cà phê là một trong những nông sản đặc trưng cho các tỉnh Tây Nguyên. Trong đó, Đắk Lắk là tỉnh đứng đầu cả nước về sản lượng cà phê với gần 210.000 hecta [1]. Tuy nhiên, cà phê ở Việt Nam được biết đến nhiều trong ngành công nghiệp thực phẩm và xuất khẩu dưới dạng thô mà chưa được chú ý đến với vai trò là nguồn cung cấp acid chlorogenic (CGA) lớn nhất trong các loài thực vật [2], [3]. CGA là hợp chất có nhiều trong hạt cà phê xanh (green coffee bean – hạt chưa rang, sấy), sau khi cà phê được chế biến (rang, sấy...) thì hoạt chất phân hủy theo, vì vậy cà phê thành phẩm trên thị trường có hàm lượng hoạt chất này rất thấp. Trong khi đó, tác dụng dược lý của acid chlorogenic được nghiên cứu nhiều trong những năm gần đây: điều trị tăng huyết áp, tiểu đường, chống oxy hóa, kháng khuẩn, bảo vệ gan [4]. Đặc biệt, nghiên cứu lâm sàng trên người trong năm 2018 cho thấy, cao chiết cà phê xanh có tác dụng làm giảm huyết áp, giảm cân, giảm glucose máu [5].

Một số nghiên cứu trong nước gần đây cũng đề cập tới việc chiết xuất acid chlorogenic từ hạt cà phê xanh làm nguyên liệu cho các sản phẩm có tác dụng chăm sóc và nâng cao sức khỏe [6], [7]. Tuy nhiên số lượng các nghiên cứu vẫn chưa nhiều, đặc biệt là tập trung vào tác dụng dược lý của cà phê tại Việt Nam. Do vậy, nghiên cứu được tiến hành với mục tiêu cung cấp thêm dữ liệu về tính an toàn và tác dụng hạ lipid của cao chiết từ hạt cà phê xanh trồng tại tỉnh Đắk Lắk.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng, hóa chất nghiên cứu

Dược liệu: Hạt cà phê xanh được thu hái tại xã Ea Đar, huyện Ea Kar, tỉnh Đắk Lắk vào thời điểm tháng 11/2022. Quả cà phê sau khi thu hái được phơi khô cho đến khi độ ẩm dưới 13%, xát bằng máy xát khô cà phê, loại bỏ vỏ quả, vỏ trấu thu được hạt cà phê. Sau đó, xay thành bột với kích thước nhỏ hơn 1 mm, bảo quản trong túi PE và hút chân không để tránh ảnh hưởng của không khí và độ ẩm. Bột cà phê được tiến hành chiết bằng phương pháp chiết nóng ở 70°C trên bếp cách thủy, dung môi ethanol 70%, tỷ lệ dung môi/dược liệu là 10/1, thời gian 60 phút. Sau đó, bay hơi dung môi trên bếp cách thủy ở 60°C cho đến khi thu được cao dược liệu. Cao chiết sẽ được đánh giá chỉ tiêu chất lượng trước khi tiến hành thử nghiệm.

Động vật: Chuột nhắt *Swiss albino* 6-7 tuần tuổi, trọng lượng 20 ± 3 g, khỏe mạnh, được cung cấp từ Viện Vaccin và Sinh phẩm y tế Nha Trang, nuôi ổn định trong môi trường thí nghiệm 5 ngày trước khi thử nghiệm.

Hóa chất: Tyloxapol (Sigma-Aldrich), atorvastatin (Lipitor-Pfizer), chất chuẩn acid chlorogenic (Sigma-Aldrich), chất chuẩn caffeine (Việt Nam) và các hóa chất/dung môi khác đạt tiêu chuẩn theo Dược điển Việt Nam V.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá chỉ tiêu chất lượng và độc tính cấp của cao chiết từ hạt cà phê xanh

Đánh giá chỉ tiêu chất lượng

Cảm quan, độ ẩm, độ tro toàn phần dựa theo Dược điển Việt Nam V [8].

Định tính, định lượng acid chlorogenic và caffeine bằng phương pháp HPLC: Dung môi pha động là acid formic 0,1% trong nước (A) và acetonitril (B). Pha động được chạy theo chương trình gradient nồng độ: thời điểm ban đầu 5% B, tăng dần tới phút 20 là 10% B rồi giữ cố định cho tới phút 30. Thể tích bơm mẫu là 10 μ l. Tốc độ dòng 1 ml/phút. Đo ở 2 bước sóng 270 nm (caffeine) và 330 nm (acid chlorogenic) [9].

Đánh giá độc tính cấp

Tiến hành theo hướng dẫn “Thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu - Bộ Y Tế 2015” [10], [11]. Chuột (50% đực, 50% cái) được nhịn đói ít nhất 12 giờ, thử nghiệm sơ bộ xác định liều lớn nhất không làm chết con nào (LD_0) và liều tối thiểu gây chết

100% chuột (LD_{100}). Sau đó, chia chuột làm nhiều lô (5-6 con/lô), cho uống với liều được chia theo cấp số cộng trong khoảng $LD_0 - LD_{100}$. Theo dõi trong 72 giờ, ghi nhận biểu hiện độc (cử động tổng quát, hành vi, trạng thái lông, ăn uống, tiêu tiêu,...), số chuột chết/ sống, lập bảng số liệu, tính LD_{50} . LD_{50} được tính theo phương pháp Behrens:

$$LD_{50} = D_a + \frac{(50-a) \times d}{b-a} \quad (1)$$

D1: liều có % chết sát dưới 50%; a: % chết sát dưới 50%; b: % chết sát trên 50%; d: khoảng cách liều thử nghiệm

Tính sai số chuẩn: Vẽ đồ thị % chết tích lũy theo liều, xác định liều gây chết 16% và 84% (LD_{16} và LD_{84}). Sai số chuẩn của LD_{50} tính theo công thức:

$$Es = \sqrt{\frac{k.s.d}{n}} \quad (2)$$

s = ($LD_{84} - LD_{16}$)/2; hằng số Behrens k = 0,66; d: khoảng cách liều thử nghiệm; n: số chuột trung bình/lô.

Nếu sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, theo dõi tiếp trong 14 ngày. Chuột chết trong thời gian quan sát, mổ xác để xem nguyên nhân. Những chuột sống sau 14 ngày được mổ để xem các cơ quan bên trong có bất thường không.

2.2.2. Thử nghiệm tác dụng hạ lipid của cao chiết cà phê xanh

Chuột được chia ngẫu nhiên thành 5 lô, mỗi lô 8 chuột. Lô sinh lý: tiêm tĩnh mạch (IV) dung dịch nước muối sinh lý (NaCl 0,9%), uống nước cất. Lô bệnh lý: tiêm IV dung dịch tyloxapol liều 250 mg/kg, uống nước cất. Lô đối chứng: tiêm IV dung dịch tyloxapol liều 250 mg/kg, sau đó cho chuột uống atorvastatin với liều 64 mg/kg. Các lô thử 1 và lô thử 2: tiêm IV dung dịch tyloxapol liều 250 mg/kg, sau đó cho chuột uống cao chiết với liều 150 và 300 mg/kg. Thử tích tiêm IV và cho uống là 0,1 ml/10g thể trọng chuột. Sau khi uống thuốc vào buổi sáng, chuột được cho ăn lại như bình thường, sau đó đến tối cho chuột nhịn ăn qua đêm. Sau khi tiêm tyloxapol 24 giờ, tiến hành lấy máu tim để định lượng lipid máu [12].

2.2.3. Phân tích kết quả và xử lý số liệu thống kê

Kết quả xử lý bằng Excel, trình bày dạng trung bình $\pm$ sai số chuẩn của giá trị trung bình (Mean $\pm$ SEM) và phân tích thống kê với phần mềm SPSS 24.0 bằng phép kiểm Kruskal-Wallis và Mann-Whitney. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

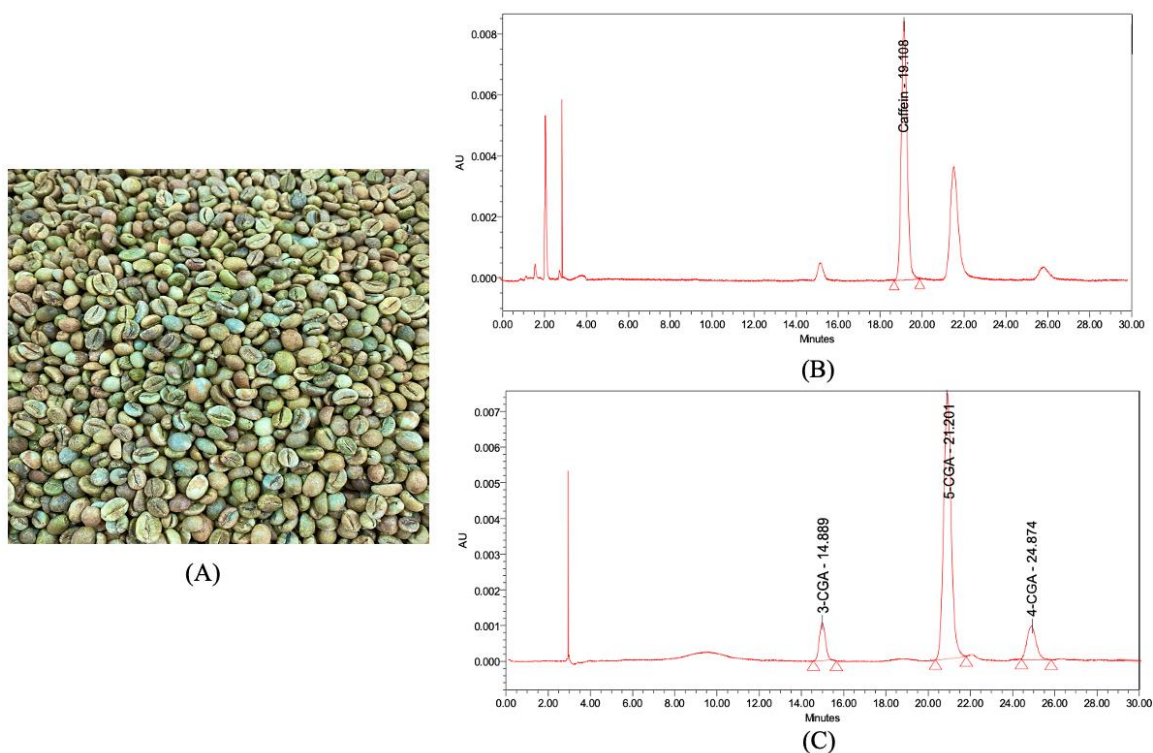
3.1. Đánh giá chỉ tiêu chất lượng và độc tính cấp của cao chiết từ hạt cà phê xanh

Kết quả đánh giá các chỉ tiêu chất lượng được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Các chỉ tiêu chất lượng của cao chiết từ hạt cà phê xanh

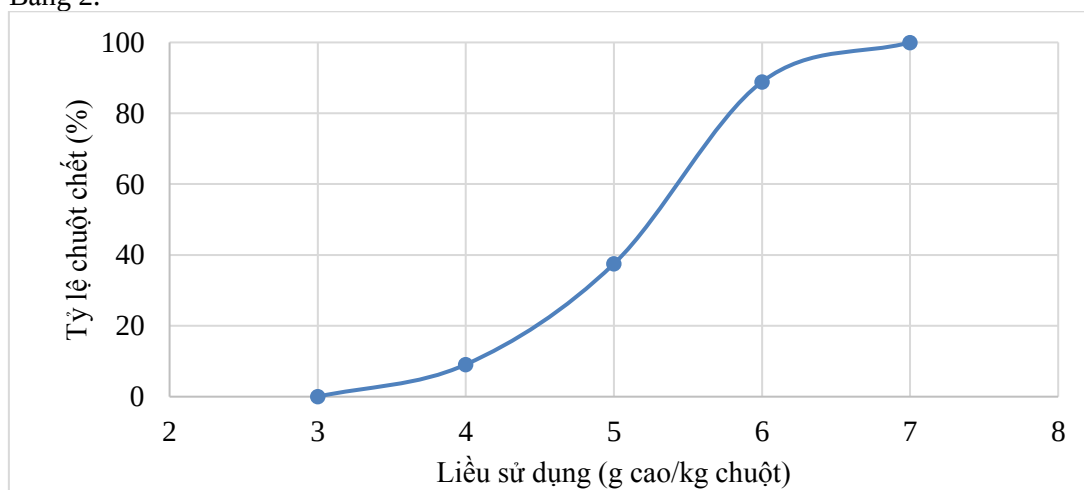
Chỉ tiêu	Kết quả
Cảm quan (thể chất, màu sắc, mùi vị)	Thể chất đặc, đồng nhất, màu vàng đậm, mùi thơm, vị đắng và chất
Độ ẩm	5,57%
Độ tro toàn phần	2,5%
Định tính	Thời gian lưu trùng với thời gian lưu của chất chuẩn của CGA và caffein
Hàm lượng acid chlorogenic (HPLC)	35,31%
Hàm lượng caffein	13,36%

Hình ảnh nguyên liệu (hạt cà phê nhân) và sắc ký đồ định lượng Caffein, CGA trong cao chiết từ hạt cà phê xanh bằng phương pháp HPLC được trình bày trong Hình 1.



Hình 1. Ảnh hạt cà phê xanh (A), ảnh sắc ký đồ định lượng Caffein (B) và ảnh sắc ký đồ định lượng CGA (C)

Sau khi cao chiết cà phê xanh được tiêu chuẩn hóa, tiếp tục tiến hành thử nghiệm độc tính cấp theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Cao chiết cà phê xanh được phân tán trong nước cất ở nồng độ tối đa có thể qua kim là 2,1 g cao khô/ml và cho chuột uống 20 ml/kg (ứng với 42 g cao khô/kg trọng lượng chuột). Sau khi uống liều cao nhất qua kim, số lượng chuột chết sau 30 phút là 1/6 và sau 150 phút là 6/6. Giảm liều, theo dõi % chuột sống, chết trong 72 giờ, xác định LD₀ và LD₁₀₀ lần lượt là 3 và 7 g/kg chuột. Chia chuột thành 6 lô bao gồm: 1 lô sinh lý (uống nước) và 5 lô thử uống cao với các liều tương ứng là 3, 4, 5, 6 và 7 g/kg chuột. Tỷ lệ chuột chết tích lũy và các chỉ số theo dõi trong thử nghiệm độc tính cấp được trình bày lần lượt trong Hình 2 và Bảng 2.



Hình 2. Đồ thị biểu diễn % chuột chết tích lũy

Vậy độc tính cấp của cao chiết thu được là: $5,24 \pm 0,75$ g cao/kg chuột.

Bảng 2. Bảng theo dõi độc tính cấp của chuột thử nghiệm

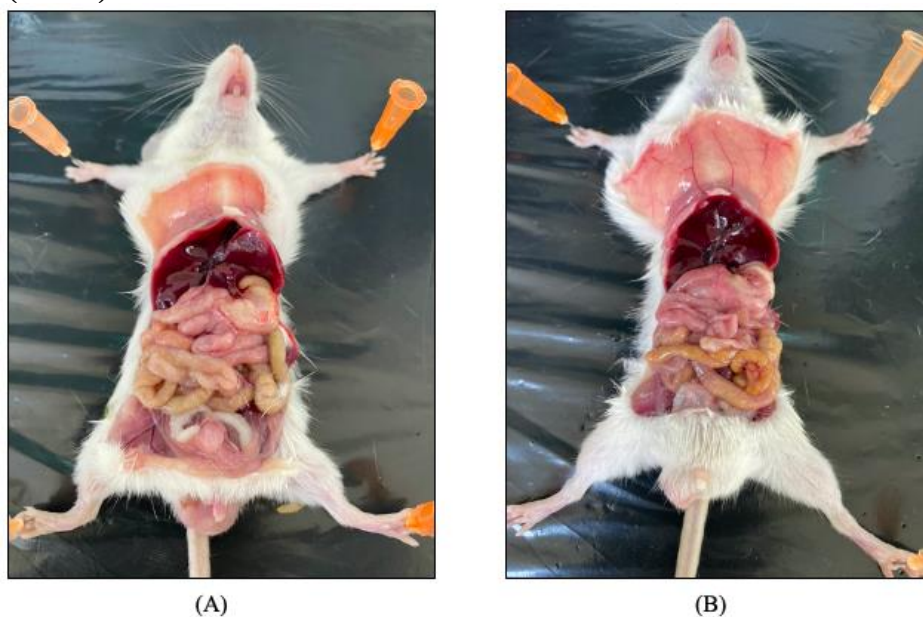
Chỉ số theo dõi	Sinh lý	Cao 3 g/kg*	Cao 4 g/kg*	Cao 5 g/kg*	Cao 6 g/kg*	Cao 7 g/kg*
Trọng lượng (ngày 1)	21,1 ± 0,4	22,3 ± 0,4	22,5 ± 0,3	21,4 ± 0,5	21,1 ± 0,2	20,9 ± 0,6
Trọng lượng (ngày 14)	37,3 ± 0,6	36,7 ± 0,5	36,1 ± 0,8	35,9 ± 0,7	35,8	-
Lượng thức ăn	BT	BT	BT	BT	BT	-
Thay đổi màu da	BT	BT	BT	BT	BT	-
Màu mắt	BT	BT	BT	BT	BT	-
Thể trạng chung	BT	BT	BT	BT	BT	-
Co giật	Không	Không	2/6	4/6	6/6	6/6
Buồn ngủ	Không	Không	Không	Không	Không	-
An thần	Không	Không	Không	Không	Không	-
Tiêu chảy	Không	1/6	1/6	3/6	1/6	-
Hôn mê	Không	Không	1/6	2/6	5/6	6/6
Số chuột chết	0/6	0/6	1/6	2/6	5/6	6/6

Ghi chú: * Lượng cao chiết trong thử nghiệm được tính theo trọng lượng khô kiệt; BT: Bình thường

Một số triệu chứng của chuột sau khi cho uống cao thử độc tính cấp: sau khi uống chuột có biểu hiện tăng động, kích động hơn, di chuyển nhiều, nhảy cao, tăng bám lên vĩ lưới, tăng liếm lông. Sau một thời gian chia làm 2 nhóm với 2 biểu hiện khác nhau:

- Một số trở về trạng thái bình thường
- Một số có biểu hiện uốn cong người, đứng trên hai chân, đi không vững, lơ lơ và chết. Trước khi chết, chuột có hiện tượng co giật.

Chuột chết do độc tính cấp được mổ và quan sát về đại thể. Không thay đổi về đại thể trên gan, ruột (Hình 3).



Hình 3. Ảnh đại thể chuột ở lô sinh lý (A) và lô uống cao thử độc tính cấp (B)

3.2. Thử nghiệm hạ lipid máu của cao chiết từ hạt cà phê xanh

Tác dụng của cao chiết từ hạt cà phê xanh đối với các chỉ số lipid máu trên chuột sau 24h được trình bày trong Bảng 3.

Bảng 3. Chỉ số lipid trong máu chuột sau 24h sử dụng tyloxapol

Nhóm	TC (mmol/dl)	TG (mmol/dl)	HDL (mmol/dl)	LDL (mmol/dl)
Sinh lý	2,28 ± 0,11	1,57 ± 0,13	2,53 ± 0,12	0,97 ± 0,03
Bệnh lý	11,24 ± 0,92*	24,34 ± 2,37*	1,51 ± 0,19*	6,68 ± 0,26*
Atorvastatin 64 mg/kg	4,95 ± 0,64* [#]	9,94 ± 1,41* [#]	1,57 ± 0,26*	3,36 ± 0,44* [#]
Cao cà phê 150 mg/kg	7,16 ± 0,71* ^{λμ}	15,14 ± 2,28* ^{λμ}	1,58 ± 0,32*	4,46 ± 0,80* ^λ
Cao cà phê 300 mg/kg	6,21 ± 0,72* [#]	8,83 ± 2,19* [#]	1,88 ± 0,30*	3,36 ± 0,73* [#]

Ghi chú: TC: cholesterol toàn phần; TG: triglycerid; LDL: cholesterol tỷ trọng thấp; HDL: cholesterol tỷ trọng cao; *: $p < 0,001$ so với nhóm sinh lý; [#] $p < 0,005$ so với nhóm bệnh lý; ^λ $p < 0,05$ so với nhóm bệnh lý. ^μ $p < 0,05$ so với nhóm sinh lý

Đánh giá chỉ tiêu chất lượng cao chiết là một trong những bước ban đầu để chuẩn hóa cao được liệu nói chung và là phần quan trọng để đảm bảo tính lặp lại trong thử nghiệm. Trong cao chiết từ hạt cà phê xanh, hàm lượng CGA và caffein lần lượt là 35,31% và 13,36% (Bảng 1). Nhìn chung, CGA có độc tính thấp, ở liều 2000 mg/kg không gây chết chuột trong thử nghiệm về độc tính [13]. Nhưng caffein được cho là có tác dụng dược lý mạnh với liều LD₅₀ ở chuột là 367 mg/kg theo đường uống [14]. Kết quả đánh giá độc tính cấp trong nghiên cứu của chúng tôi là 5,24 g cao/kg chuột, tương ứng với liều 700 mg caffein/kg, từ đó cho thấy mức độ độc tính cấp của caffein khi dùng ở dạng cao chiết an toàn hơn so với dạng đơn chất. Nguyên nhân có thể do khi ở dạng cao chiết có sự biến động về dược động học, làm thay đổi tốc độ hấp thu của caffein so với dạng đơn chất [15], do vậy độc tính của caffein khi dùng ở dạng cao chiết an toàn hơn 1,9 lần so với dạng đơn chất. Kết quả này của chúng tôi cũng tương tự như công bố của Faria và cộng sự [16] khi tiến hành đánh giá độc tính cấp của cao chiết cà phê xanh đã được chuẩn hóa, kết quả thu được độc tính cấp khi dùng cao cà phê 1 (CGA 21,7% và caffein 8,75%) có LD₅₀ trong khoảng 4-6 g/kg chuột, nhưng khi cao cà phê 2 với hàm lượng caffein thấp hơn (CGA 6,08% và caffein 3,08%) thì không có chuột nào chết tại liều 5 g/kg và không xác định được liều LD₅₀. Ngoài ra, nghiên cứu của Lê Văn Quân và cộng sự cho thấy, cao chiết cà phê xanh rất an toàn, ở liều 5 g/kg không gây chết bất kỳ chuột và không có bất kỳ dấu hiệu ngộ độc nào [17]. Kết quả khác biệt so với thử nghiệm của chúng tôi, nguyên nhân có thể do sự khác biệt về tính chất của cao chiết đem đi thử nghiệm, đặc biệt là hàm lượng caffein trong cao chiết. Với liều LD₅₀ thu được là 5,24 g/kg, thì liều được cho là an toàn để thử nghiệm tác dụng dược lý là < 524 mg/kg (< 1/10 liều LD₅₀) [11]. Do vậy, chúng tôi thử nghiệm tại 2 mức liều là 150 mg/kg và 300 mg/kg. Với mức liều thử nghiệm 150 - 300 mg/kg ở chuột qui đổi ra người nặng khoảng 50 kg tương ứng là 600 - 1200 mg cao/người/ngày, tương ứng với lượng caffein là 80-160 mg/ngày. Trong khi đó, liều caffein được cho là an toàn ở người là 400 mg/ngày [18], vì vậy ở mức liều này vẫn nằm trong giới hạn khuyến cáo sử dụng và an toàn.

Trong các thử nghiệm gây tăng lipid ở chuột, mô hình gây tăng lipid bằng tyloxapol được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu trong nước cũng như trên thế giới [12], [19]. Cơ chế gây tăng lipid được đề xuất khi gây độc bằng tyloxapol là ức chế enzyme lipoprotein lipase làm tăng mạnh triglycerid và cảm ứng enzyme HMG CoA reductase dẫn tới kết quả là tăng cholesterol [20]. Trong khi đó, 2 thành phần có tác dụng làm giảm lipid trong cao chiết cà phê xanh là caffein và CGA. Caffein làm giảm lipid máu thông qua cơ chế làm tăng phân giải mô mỡ thông qua việc ức chế Adenosine receptors và làm gia tăng nồng độ các chất dẫn truyền thần kinh giao cảm [21]-[23]. CGA làm giảm lipid máu thông qua cơ chế làm tăng hoạt tính của PPAR- α và ức chế enzyme Glucose 6-phosphatase, hệ quả làm hoạt hóa enzyme lipoprotein lipase và giảm tổng hợp cholesterol ở gan [24].

Kết quả thử nghiệm trên chuột cho thấy, các chỉ số lipid (TC, TG và LDL-c) sau khi sử dụng tyloxapol tăng lần lượt so với nhóm sinh lý là 4,93 - 15,28 - 6,88 lần và mức tăng này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Khi sử dụng thuốc đối chứng là atorvastatin 64 mg/kg làm giảm các chỉ số TC, TG và LDL-c so với nhóm bệnh lý lần lượt là 2,27 - 2,44 - 1,98 lần ($p < 0,005$). Điều này chứng tỏ khi gây độc bằng tyloxapol làm rối loạn lipid máu ở chuột và khi điều trị bằng

atorvastatin (thuốc đối chứng) có đáp ứng, vì vậy mô hình đang sử dụng đạt yêu cầu. Ở các nhóm chuột sử dụng cao chiết cả phê xanh, các chỉ số TC, TG và LDL-c đều giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh lý ($p < 0,05$ ở liều 150 mg/kg và $p < 0,005$ ở liều 300 mg/kg). Tại mức liều 300 mg/kg, cao chiết cả phê xanh đưa các chỉ số lipid về tương đương so với thuốc đối chứng là atorvastatin 64 mg/kg. Mặc dù các nhóm chuột dùng cao chiết cả phê xanh và nhóm đối chứng dùng atorvastatin làm giảm các chỉ số lipid so với nhóm bệnh lý, nhưng không có nhóm nào đưa được về mức tương đương so với nhóm sinh lý.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã đánh giá được tính an toàn của cao cả phê xanh trong thử nghiệm độc tính cấp, và xác định được liều LD_{50} là 5,24 g/kg. Ở liều 150 mg/kg và 300 mg/kg, cao cả phê xanh có tác dụng làm giảm lipid máu ở chuột trong mô hình gây tăng lipid bởi Triton WR 1339. Với những kết quả thử nghiệm thu được cho thấy, cao chiết cả phê xanh có tiềm năng trong hỗ trợ điều trị bệnh rối loạn lipid máu. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu đánh giá độc tính bán trường diễn để cung cấp thêm tính an toàn của cao cả phê xanh khi dùng dài hạn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] V. Hoang and A. Nguyen, "PGI Buon Ma Thuot Coffee in Vietnam," in *Sustainability of European Food Quality Schemes: Multi-Performance, Structure, and Governance of PDO, PGI, and Organic Agri-Food Systems*, F. Arfini and V. Bellassen (Eds). Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 265-285.
- [2] A. Farah, T. de Paulis, L. C. Trugo, and P. R. Martin, "Effect of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 5, pp. 1505-1513, 2005.
- [3] M. Jeszka-Skowron, A. Sentkowska, K. Pyrzyńska, and M. P. De Peña, "Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation," *European Food Research and Technology*, vol. 242, no. 8, pp. 1403-1409, 2016.
- [4] M. Naveed et al., "Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 97, pp. 67-74, 2018.
- [5] H. Roshan, O. Nikpayam, M. Sedaghat, and G. Sohrab, "Effects of green coffee extract supplementation on anthropometric indices, glycaemic control, blood pressure, lipid profile, insulin resistance and appetite in patients with the metabolic syndrome: a randomised clinical trial," *British Journal of Nutrition*, vol. 119, no. 3, pp. 250-258, 2018.
- [6] V. P. Nguyen, "Applying new technology to produce functional foods from green coffee beans," (in Vietnamese), *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, no. 4A, pp. 31-33, 2022.
- [7] T. T. H Do, "Study on technology to extract chlorogenic acid (CGAs) from green coffee beans meeting export standards as materials for health protection products to prevention and treatment of metabolic syndromes," Presented at the Independent project of Vietnam Academy of Science and Technology, Institute of Natural Products Chemistry, 2021.
- [8] Ministry of Health, *Vietnamese Pharmacopoeia V*, Medical Publishing House, Appendix 203 - 204 - 205, 2017.
- [9] H. A. V. Ha, T. T. H. Hoang, V. C. Huynh, L. P. Tran, and T. K. Le, "Validation of a simultaneous quantification method of caffeine and chlorogenic acid contents in green coffee bean by using high performance liquid chromatography," (in Vietnamese), *TNU Journal of Science and Technology*, vol. 228, no. 5, pp. 308-315, 2023.
- [10] Ministry of Health, *Decision No. 141/QĐ-K2DT: Decision on promulgating the "Guidance for preclinical and clinical trials of traditional medicine and herbal drugs" dated October 27, 2015*, 2015.
- [11] T. D. Do, *Methods for determining drug toxicity*, Medical Publishing House, 2014.
- [12] N. T. Huynh, B. Y. Nguyen, T. T. T. Vu, T. T. Tran, and P. M. Mai, "Pharmacological effect of different fractional extracts from plants of okra *Abelmoschus esculentus* L. *Malvaceae* in mice," (in Vietnamese), *Ho Chi Minh City Journal of Medicine*, vol. 17, supplement of no. 4, pp. 429-433, 2013.

- [13] E. Zeiger, "Chlorogenic Acid [327-97-9] and Caffeic Acid [331-39-5]. Review of Toxicological Literature," *National Institute of Environmental Health Sciences*, 1998, pp. 1-120.
- [14] R. H. Adamson, "The acute lethal dose 50 (LD50) of caffeine in albino rats," *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 80, pp. 274-276, 2016.
- [15] M. Noirot, P. Barre, C. Duperray, J. Louarn, and S. Hamon, "Effects of caffeine and chlorogenic acid on propidium iodide accessibility to DNA: consequences on genome size evaluation in coffee tree," *Annals of botany*, vol. 92, pp. 259-264, 2003.
- [16] W. C. S. Faria *et al.*, "Acute and subacute oral toxicity assessment of dry encapsulated and non-encapsulated green coffee fruit extracts," *J Food Drug Anal*, vol. 28, no. 2, pp. 337-355, 2020.
- [17] V. Q. Le, V. M. Can, V. N. Nguyen, and T. N. Nguyen, "Acute toxicity of the vietnam green coffee bean extract in experimental animals," (in Vietnamese), *Vietnam Medical Journal*, vol. 509, no. 2, pp. 30-33, 2021.
- [18] P. Nawrot, S. Jordan, J. Eastwood, J. Rotstein, A. Hugenholtz, and M. Feeley, "Effects of caffeine on human health," *Food Addit Contam*, vol. 20, no. 1, pp. 1-30, 2003.
- [19] A. Salazar-Gómez, A. C. Sánchez-Chávez, G. Zepeda-Vallejo, G. Chamorro-Cevallos, L. Garduño-Siciliano, and E. Vargas-Díaz, "Hypolipidemic Effect of *Trixis angustifolia* Aqueous Extract on Triton WR-1339- and High-Fat Diet-Induced Hyperlipidemic Mice," *Natural Product Communications*, vol. 14, no. 7, pp. 1-6, 2019.
- [20] M. S. Zarzecki, S. M. Araujo, V. C. Bortolotto, M. T. de Paula, C. R. Jesse, and M. Prigol, "Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice," *Toxicol Rep*, vol. 1, pp. 200-208, 2014.
- [21] D. F. Carrageta, T. R. Dias, M. G. Alves, P. F. Oliveira, M. P. Monteiro, and B. M. Silva, "Anti-obesity potential of natural methylxanthines," *Journal of Functional Foods*, vol. 43, pp. 84-94, 2018.
- [22] A. Kogure *et al.*, "Effects of caffeine on the uncoupling protein family in obese yellow KK mice," *Clin Exp Pharmacol Physiol*, vol. 29, no. 5-6, pp. 391-394, 2002.
- [23] L. Wu *et al.*, "Caffeine inhibits hypothalamic A1R to excite oxytocin neuron and ameliorate dietary obesity in mice," *Nature Communications*, vol. 8, no. 1, 2017, Art. no. 15904.
- [24] L. T. Zhang, C. Q. Chang, Y. Liu, and Z. M. Chen, "Effect of chlorogenic acid on disordered glucose and lipid metabolism in db/db mice and its mechanism," *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*, vol. 33, no. 3, pp. 281-286, 2011.