

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA CAO CHIẾT HẠT CÀ PHÊ (*COFFEA CANEPHORA* PIERRE EX FROEHNER) XANH VIỆT NAM TRÊN THỰC NGHIỆM

Phan Thu Hằng^{1,2}, Cấn Văn Mão²

Trần Thị Thanh Huyền¹ và Lê Văn Quân^{2,3,✉}

¹Trường Đại học Dược Hà Nội

²Học viện Quân y

³Bệnh viện Quân y 103

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam (VGCE) trên thực nghiệm. Nghiên cứu độc tính cấp được tiến hành trên chuột nhắt trắng chủng Swiss theo đường uống bằng phương pháp liều cố định (OECD 420). Nghiên cứu độc tính bán trường diễn tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế, chuột cống trắng chủng Wistar được uống VGCE liều 300 mg/kg và 1500 mg/kg trong 4 tuần liên tục. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp cho thấy VGCE dùng theo đường uống đến liều 2000 mg/kg không gây độc cấp tính, chưa xác định được LD₅₀. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn cho thấy tình trạng chung, các chỉ số huyết học, sinh hoá máu và cấu trúc vi thể gan, thận của các lô uống VGCE không có sự khác biệt so với lô chứng. Như vậy, VGCE dùng đường uống với liều 2000 mg/kg không gây độc cấp; liều 300 và 1500 mg/kg trong 4 tuần liên tục không gây độc tính bán trường diễn trên động vật thực nghiệm.

Từ khoá: Cao chiết hạt cà phê xanh, độc tính cấp, độc tính bán trường diễn, chuột nhắt trắng, chuột cống trắng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà phê là loại đồ uống được tiêu thụ rộng rãi nhất trên thế giới. Hạt cà phê có chứa nhiều thành phần có hoạt tính sinh học như acid chlorogenic (CGA), caffein, trigonelline.¹ CGA đã được chứng minh là có nhiều lợi ích tiềm năng cho sức khỏe như hỗ trợ điều trị đái tháo đường, giảm cân và chỉ số khối cơ thể (BMI), ngăn ngừa và kiểm soát bệnh tim mạch, chống viêm, chống virus, chống nấm, chống oxy hoá, chống lão hoá, bảo vệ thần kinh và cải thiện nhiều tình trạng bệnh mạn tính khác.²⁻⁴ Trong

pha chế đồ uống, hạt cà phê được rang lên để tăng hương vị, tuy nhiên, điều này lại làm giảm hàm lượng CGA, do đó, hạt cà phê xanh - tức là hạt cà phê chưa qua quá trình rang - sẽ lưu giữ được hàm lượng CGA cao hơn.⁵⁻⁷ Ngoài ra, hàm lượng CGA thay đổi đáng kể theo loài cà phê, giống cà phê, điều kiện sinh trưởng của cây trồng (vị trí, ánh sáng, khả năng thoát nước, nhiệt độ và thời tiết), quy trình chế biến hạt cà phê. Thậm chí, cà phê cùng loại nhưng được sản xuất ở các khu vực địa lý khác nhau cũng có hàm lượng CGA khác nhau.^{8,9}

Theo số liệu năm 2006-2007, Việt Nam là nước sản xuất và xuất khẩu cà phê lớn thứ hai trên thế giới sau Brazil. Trong hai loại cà phê chính là Arabica và Robusta, Việt Nam là nước sản xuất Robusta lớn nhất thế giới.¹⁰ Nhiều

Tác giả liên hệ: Lê Văn Quân

Học viện Quân y

Email: levanquanc9@vmmu.edu.vn

Ngày nhận: 03/06/2025

Ngày được chấp nhận: 27/06/2025

nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng CGA trong chiết xuất cà phê Robusta cao hơn chiết xuất cà phê Arabica.^{2,11} Với mong muốn tạo ra một sản phẩm có lợi cho sức khỏe, hỗ trợ điều trị các bệnh mạn tính từ nguồn nguyên liệu tự nhiên, rẻ tiền và sẵn có ở Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu, chiết xuất cao chiết hạt cà phê xanh từ hạt cà phê Robusta được trồng tại Việt Nam. Đối với một sản phẩm tác động lên sức khỏe thì bên cạnh nghiên cứu tác dụng dược lý thì cần phải nghiên cứu độ an toàn của sản phẩm. Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn trên thực nghiệm là bước đầu trong đánh giá độ an toàn. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: Đánh giá độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Nguyên liệu nghiên cứu

Cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam (VGCE) được chiết xuất từ hạt cà phê xanh Robusta (tên khoa học: *Coffea canephora* Pierre ex Froehner) có nguồn gốc ở Buôn Mê Thuột - Việt Nam. Hạt cà phê được phơi khô, sau đó xay nhỏ thành dạng bột. Mẫu bột cà phê xanh được chiết siêu âm với dung môi ly trích EtOH:H₂O (7:3). Sử dụng phương pháp phân tích HPLC để xác định hàm lượng CGA trung bình trong cao chiết là 38%.

VGCE được phân tán trong dung môi tween80 3% để được dung dịch với nồng độ 300, 1500 và 2000mg VGCE/1ml dung dịch.

Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng chủng *Swiss*, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g.

- Chuột cống trắng chủng *Wistar*, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 150 ± 20 g.

7 ngày trước nghiên cứu và suốt thời gian nghiên cứu chuột được nuôi trong điều kiện

nhiệt độ ổn định $25 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí và ánh sáng thích hợp tại phòng thí nghiệm của Bộ môn Sinh lý bệnh, Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y. Chuột được cho ăn thức ăn chuẩn và uống nước tự do theo nhu cầu.

2. Phương pháp

Đánh giá độc tính cấp của VGCE

Nghiên cứu độc tính cấp của VGCE được tiến hành trên chuột nhắt trắng theo đường uống và xác định liều gây chết 50% chuột (LD_{50}) bằng phương pháp liều cố định (TG 420), theo hướng dẫn của Bộ Y tế và OECD, Chuột được cho uống VGCE liều duy nhất, sau đó được theo dõi trong 14 ngày. Quan sát và ghi nhận các dấu hiệu ngộ độc và số chuột chết, từ đó tìm ra LD_{50} .

Đánh giá độc tính bán trường diễn của VGCE

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn của VGCE được tiến hành theo hướng dẫn của Bộ Y tế. Chuột cống trắng, cả hai giống, được chia làm 3 lô, mỗi lô 10 con, gồm:

- Lô chứng: uống dung môi pha thuốc 10 mL/kg/ngày.
- Lô VGCE300: uống VGCE liều 300 mg/kg.
- Lô VGCE1500: uống VGCE liều 1500 mg/kg.

Chuột cống trắng được uống tween80 3% hoặc VGCE trong 4 tuần liên tục, mỗi ngày 1 lần vào buổi sáng.

Các chỉ tiêu theo dõi trước và trong nghiên cứu bao gồm: tình trạng chung, cân nặng của chuột, các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, hematocrit, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu và số lượng tiểu cầu); các chỉ số sinh hoá máu đánh giá chức năng gan thông qua định lượng enzym ALT và AST, đánh giá chức năng thận thông qua định lượng nồng độ urê và creatinin huyết thanh. Các thông số được đánh giá tại thời điểm trước

khi uống thuốc thử, sau 2 tuần và sau 4 tuần uống thuốc thử. Mô bệnh học được đánh giá sau 4 tuần uống thuốc thử. Chuột được giết bằng ketamin quá liều, sau đó mổ để đánh giá cấu trúc vi thể gan, thận. Các xét nghiệm được thực hiện tại khoa Huyết học, khoa Sinh hoá và khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS v.25. Số liệu được biểu diễn dưới dạng Mean $\pm$ SD, dùng one way

ANOVA để so sánh trung bình giữa các lô. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ quy trình chặt chẽ về đạo đức trong nghiên cứu y học trên động vật thực nghiệm. Số liệu được Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ

1. Đánh giá độc tính cấp của VGCE

Bảng 1. Tình trạng chung và tỉ lệ chuột chết ở các lô uống VGCE

Liều (mg/kg)	n	Số chuột chết	Dấu hiệu bất thường
<i>Thử nghiệm sơ bộ</i>			
300	1	0/1	Không
2000	1	0/1	Không
<i>Thử nghiệm chính thức</i>			
2000	5	0/5	Không

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy: Trong thử nghiệm sơ bộ, 1 chuột được uống VGCE liều duy nhất 300 mg/kg, sau 3 ngày theo dõi, chuột vẫn sống và không có bất kỳ dấu hiệu ngộ độc nào. Tiếp tục thử trên chuột thử 2 với liều 2000 mg/kg, sau 3 ngày theo dõi chuột vẫn sống và không có bất kỳ dấu hiệu ngộ độc nào. Thử nghiệm chính thức được tiến hành ở mức liều khởi đầu 2000 mg/kg trên 5 chuột (bao gồm 4 chuột mới và 1 chuột ở thử nghiệm sơ bộ). Theo dõi 14 ngày, cả 5 chuột đều còn sống và không có bất kỳ dấu hiệu ngộ độc nào. Như vậy, chuột uống cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam (VGCE) liều 2000 mg/kg (đây là mức liều VGCE tối đa có thể cho uống qua kim đầu tù) 100% chuột sống, chuột không có bất kỳ biểu hiện ngộ độc nào. Do đó, chưa thể xác định giá trị LD50.

2. Đánh giá độc tính bán trường diễn của VGCE

Ảnh hưởng của VGCE lên tình trạng chung và sự thay đổi cân nặng của chuột

Tình trạng chung: trong suốt 4 tuần thí nghiệm, tất cả chuột ở 3 lô đều khoẻ mạnh, lông mượt, ăn uống, vận động bình thường, phân và nước tiểu bình thường. Theo dõi hành vi của chuột không phát hiện đặc điểm bất thường nào.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy: Sau 4 tuần uống thuốc thử, cân nặng của chuột lô uống VGCE 300 mg/kg/ngày không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng. Trong khi cân nặng của lô uống VGCE liều cao (1500 mg/kg/ngày) giảm đáng kể so với lô chứng ở các thời điểm sau 2 tuần, sau 3 tuần và sau 4 tuần ($p < 0,05$).

Bảng 2. Ảnh hưởng của VGCE lên cân nặng của chuột

Lô	n	Cân nặng (gam)				
		Ban đầu	Sau 1 tuần	Sau 2 tuần	Sau 3 tuần	Sau 4 tuần
Lô Chứng	10	139,13 ± 8,23	147,92 ± 11,77	154,10 ± 16,60	157,25 ± 16,40	164,20 ± 13,80
Lô VGCE300	10	139,62 ± 4,53	142,80 ± 12,12	143,67 ± 17,19	147,28 ± 22,60	151,61 ± 26,36
Lô VGCE1500	10	140,26 ± 8,50	139,87 ± 10,58	133,37 ± 17,08	127,69 ± 24,82	129,69 ± 25,22
p		> 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01

Số liệu được biểu diễn dưới dạng mean ± SD, kiểm định one way-ANOVA

Ảnh hưởng của VGCE lên các chỉ số huyết học

Bảng 3. Ảnh hưởng của VGCE lên các chỉ số hồng cầu

Lô	n	Trước khi uống mẫu thử	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần
Số lượng hồng cầu (T/L)				
Lô chứng	10	7,74 ± 1,34	7,33. 1,26	8,12 ± 1,39
Lô VGCE300	10	7,97 ± 0,84	8,12 ± 0,64	8,18 ± 0,80
Lô VGCE1500	10	8,00 ± 0,86	8,22 ± 0,86	7,81 ± 0,82
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
Hàm lượng huyết sắc tố (g/L)				
Lô chứng	10	138,40 ± 15,39	131,20 ± 18,64	142,60 ± 15,76
Lô VGCE300	10	138,60 ± 15,88	143,50 ± 10,49	139,70 ± 11,61
Lô VGCE1500	10	139,30 ± 13,88	143,40 ± 12,56	133,50 ± 15,35
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
Hematocrit (L/L)				
Lô chứng	10	0,47 ± 0,04	0,42 ± 0,06	0,47 ± 0,05
Lô VGCE300	10	0,46 ± 0,05	0,46 ± 0,04	0,46 ± 0,04
Lô VGCE1500	10	0,47 ± 0,04	0,46 ± 0,04	0,44 ± 0,05
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Số liệu được biểu diễn dưới dạng mean ± SD, kiểm định one way-ANOVA

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy: Tại các thời điểm nghiên cứu, số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố, hematocrit của các lô uống

VGCE không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$).

Bảng 4. Ảnh hưởng của VGCE lên các chỉ số bạch cầu, tiểu cầu

Lô	n	Trước khi uống mẫu thử	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần
<i>Số lượng bạch cầu (G/L)</i>				
Lô chứng	10	12,86 ± 3,04	15,16 ± 3,36	11,18 ± 3,95
Lô VGCE300	10	11,33 ± 2,20	14,48 ± 4,39	10,74 ± 2,13
Lô VGCE1500	10	12,26 ± 5,23	12,81 ± 2,73	8,07 ± 3,79
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
<i>% bạch cầu trung tính (%)</i>				
Lô chứng	10	12,40 ± 5,97	17,90 ± 8,45	20,87 ± 5,70
Lô VGCE300	10	16,86 ± 6,01	12,46 ± 6,08	16,11 ± 8,37
Lô VGCE1500	10	14,82 ± 8,44	15,68 ± 7,21	23,30 ± 7,98
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
<i>% bạch cầu lympho (%)</i>				
Lô chứng	10	78,3 ± 7,82	73,95 ± 9,62	72,43 ± 6,47
Lô VGCE300	10	73,59 ± 8,19	78,07 ± 6,59	71,89 ± 7,65
Lô VGCE1500	10	77,46 ± 11,21	74,76 ± 5,65	66,16 ± 6,66
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
<i>Số lượng tiểu cầu (G/L)</i>				
Lô chứng	10	718,50 ± 179,31	682,30 ± 202,40	793,10 ± 149,39
Lô VGCE300	10	783,50 ± 174,20	840,50 ± 187,25	868,30 ± 169,52
Lô VGCE1500	10	730,50 ± 239,88	833,80 ± 270,11	739,80 ± 263,22
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Số liệu được biểu diễn dưới dạng mean ± SD, kiểm định one way-ANOVA

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy: Số lượng bạch cầu của các lô uống VGCE không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p > 0,05).

Đánh giá các chỉ số sinh hoá máu

Bảng 5. Ảnh hưởng của VGCE đến hoạt độ AST, ALT, nồng độ urê, creatinin trong huyết tương chuột

Lô	n	Trước khi uống mẫu thử	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần
<i>AST (U/L)</i>				
Lô chứng	10	117,10 ± 19,51	106,92 ± 18,38	115,39 ± 22,21
Lô VGCE300	10	108,74 ± 20,55	99,65 ± 22,30	119,10 ± 31,29
Lô VGCE1500	10	113,36 ± 12,93	104,69 ± 15,22	125,43 ± 22,69
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Lô	n	Trước khi uống mẫu thử	Sau 2 tuần	Sau 4 tuần
<i>ALT (U/L)</i>				
Lô chứng	10	61,46 ± 14,49	51,24 ± 15,82	68,70 ± 25,00
Lô VGCE300	10	56,05 ± 14,46	43,39 ± 18,61	75,65 ± 31,46
Lô VGCE1500	10	57,09 ± 13,06	47,77 ± 17,71	65,07 ± 18,77
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05
<i>Urê (mmol/L)</i>				
Lô chứng (1)	10	5,30 ± 1,52	6,52 ± 1,09	7,40 ± 1,93
Lô VGCE300 (2)	10	5,00 ± 1,63	5,27 ± 1,31 [#]	6,18 ± 1,48
Lô VGCE1500 (3)	10	5,53 ± 1,61	5,89 ± 0,61	6,27 ± 1,00
p		> 0,05	< 0,05	> 0,05
<i>Creatinin (umol/L)</i>				
Lô chứng	10	57,99 ± 5,52	50,38 ± 4,03	49,40 ± 6,16
Lô VGCE300	10	56,31 ± 6,50	52,54 ± 4,52	49,43 ± 3,97
Lô VGCE1500	10	57,21 ± 4,73	52,94 ± 3,32	47,62 ± 3,99
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05

Số liệu được biểu diễn dưới dạng mean ± SD, kiểm định one way ANOVA, hậu kiểm LSD

[#]: p < 0,05 so với lô chứng

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy: Hoạt độ AST và ALT của các lô uống VGCE tại các thời điểm nghiên cứu đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p > 0,05). Nồng độ creatinin huyết tương của các lô uống VGCE cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng (p > 0,05). Nồng độ urê huyết tương tại thời điểm sau 2 tuần của lô uống VGCE 1500 mg/kg thấp hơn có ý nghĩa

thống kê so với lô chứng (p < 0,05).

Kết quả mô bệnh học gan, thận

Đại thể

Tất cả các chuột thí nghiệm (cả lô chứng và 2 lô uống VGCE) không quan sát thấy có sự thay đổi bệnh lý nào về đại thể của các cơ quan tim, phổi, gan, thận, lách và hệ thống tiêu hoá của chuột.

Bảng 6. Ảnh hưởng của VGCE lên trọng lượng gan, thận

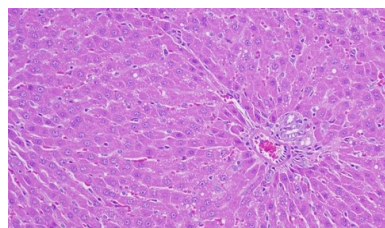
Lô	n	Khối lượng tương đối các tạng	
		Gan (%)	Thận (%)
Lô chứng	10	3,63 ± 0,37	0,62 ± 0,15
Lô VGCE300	10	3,36 ± 0,29	0,60 ± 0,05
Lô VGCE1500	10	3,59 ± 0,57	0,69 ± 0,07
p		> 0,05	> 0,05

Số liệu được biểu diễn dưới dạng mean ± SD, kiểm định one way ANOVA

Kết quả ở Bảng 6 cho thấy: Trọng lượng gan, thận (tính theo % trọng lượng cơ thể) của

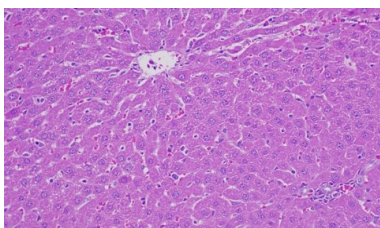
các lô uống VGCE không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p > 0,05$).

Ảnh hưởng của VGCE đến hình thái, cấu trúc vi thể gan, thận



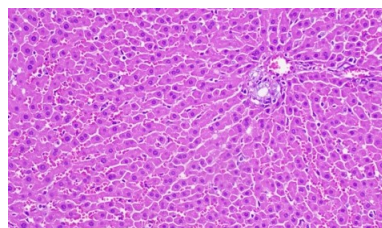
Lô 1 (chứng)

Nhu mô gan bình thường



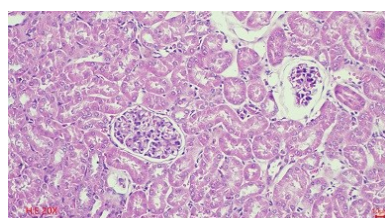
Lô 2 (VGCE300)

Nhu mô gan bình thường



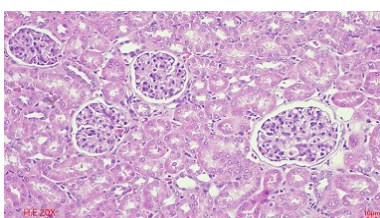
Lô 3 (VGCE1500)

Nhu mô gan bình thường



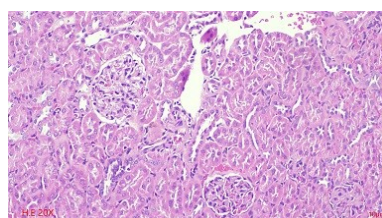
Lô 1 (chứng)

Nhu mô thận bình thường



Lô 2 (VGCE300)

Nhu mô thận bình thường



Lô 3 (VGCE1500)

Nhu mô thận bình thường

Hình 1. Hình ảnh cấu trúc vi thể gan, thận của chuột sau 4 tuần uống VGCE

Sau 4 tuần uống thuốc, cấu trúc vi thể gan, thận của các lô uống VGCE đều bình thường và không có sự khác biệt so với lô chứng.

IV. BÀN LUẬN

Theo hướng dẫn của WHO, đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn đối với các thuốc được liệu là bắt buộc trước khi tiến hành các thử nghiệm trên lâm sàng.¹² Kết quả của nghiên cứu này sẽ làm cơ sở để lựa chọn mức liều cho nghiên cứu tiếp theo.

Chúng tôi tiến hành đánh giá độc tính của VGCE trên chuột nhắt trắng và thấy rằng đến mức liều 2000 mg/kg cân nặng, chuột chưa có dấu hiệu ngộ độc nào. Liều 2000 mg/kg là mức liều VGCE tối đa có thể cho chuột uống qua kim đầu tù. Ở mức liều này, 100% chuột vẫn sống khỏe mạnh, hành vi bình thường. Nhiều nghiên cứu trước đây được thực hiện để đánh giá tính an toàn của cao chiết hạt cà phê xanh. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cũng có sự

tương đồng với nghiên cứu của Venkatakrishna K và cộng sự (2021), cao chiết hạt cà phê xanh dùng đến liều 1000 mg/kg không gây độc tính cấp trên chuột cống trắng, khá tương đương với liều 2000 mg/kg chúng tôi sử dụng trên chuột nhắt trắng.¹³ Như vậy, VGCE dùng cho chuột nhắt trắng đến liều 2000 mg/kg, tất cả chuột nghiên cứu không có bất kỳ dấu hiệu ngộ độc nào, vì vậy chưa xác định được giá trị LD₅₀. Kết thúc theo dõi, chuột được mổ để quan sát hình ảnh đại thể các tạng. Tim, phổi, gan, thận, lách và các tạng khác không quan sát thấy hình ảnh bất thường nào. Như vậy, VGCE được xếp vào nhóm 5/không phân loại theo bảng phân loại GHS.¹⁴

Nghiên cứu độc tính bán trường diễn, VGCE được dùng cho chuột cống trắng ở 2 mức liều là 300 và 1500 mg/kg/ngày trong 4 tuần. Kết quả cân nặng cho thấy, sau 4 tuần uống VGCE, lô uống VGCE liều 300 mg/kg có xu hướng

giảm cân so với lô chứng nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê, trong khi cân nặng của lô uống VGCE liều 1500 mg/kg giảm rõ so với lô chứng. Tác dụng giảm cân của cao chiết hạt cà phê xanh và thành phần CGA trong hạt cà phê xanh đã được nhiều nghiên cứu cận lâm sàng và lâm sàng chứng minh.^{15,16} Tuy nhiên, nghiên cứu của Venkatakrishna K và cộng sự (2021) về độc tính bán trường diễn của cao chiết hạt cà phê xanh cho thấy CGA-7™ (cao chiết hạt cà phê xanh với CGA chiếm 50%) đến liều 1000 mg/kg/ngày không làm ảnh hưởng đáng kể đến cân nặng của chuột so với nhóm chứng.¹³ Trong nghiên cứu của chúng tôi, VGCE thể hiện tác dụng làm giảm cân trên chuột cống trắng ở liều cao.

Các xét nghiệm huyết học là phần quan trọng trong đánh giá độc tính vì nó giúp dự đoán các tác dụng không mong muốn có thể xảy ra trên cơ thể, cung cấp các thông tin hữu ích về phản ứng viêm, hoại tử và các bệnh nhiễm trùng khác.¹⁶ Trong nghiên cứu này, các chỉ số huyết học (số lượng hồng cầu, hemoglobin, số lượng bạch cầu, số lượng tiểu cầu), các chỉ số sinh hoá máu (creatinin, AST, ALT) tại các thời điểm trước nghiên cứu, sau 2 tuần và sau 4 tuần đều không có sự khác biệt so với nhóm chứng. Chỉ số urê máu tại thời điểm sau 2 tuần của nhóm uống VGCE 300 mg/kg thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Tuy nhiên, giá trị này vẫn nằm trong giới hạn bình thường, hơn nữa việc giảm nồng độ urê trong máu không phải dấu hiệu tiêu cực.¹⁷ Tại thời điểm ban đầu và sau 4 tuần, chỉ số urê máu cũng không có sự khác biệt giữa các lô uống VGCE và lô chứng.

Ngoài ra, trong suốt thời gian nghiên cứu, các chuột đều ăn uống, vận động bình thường và không có bất kỳ biểu hiện ngộ độc hay bất thường nào khác. Quan sát hình ảnh đại thể các tạng (tim, phổi, gan, thận, lách...) không thấy hình ảnh bất thường nào ở các tạng. Trọng

lượng của gan, thận (theo % trọng lượng cơ thể) không có sự khác biệt giữa các lô uống VGCE so với lô chứng. Kết quả mô bệnh học các tạng gan, thận cũng cho thấy 100% chuột nghiên cứu đều có hình ảnh vi thể gan, thận bình thường.

Như vậy, kết quả nghiên cứu độc tính cấp và độc tính bán trường diễn của chúng tôi cho thấy cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam (VGCE) là sản phẩm có độ an toàn cao. Kết quả này của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của K, Venkatakrishna và cộng sự (2021) về độ an toàn cao của cao chiết hạt cà phê xanh, cao chiết hạt cà phê xanh không gây ra các biểu hiện độc cấp hay bán trường diễn.¹³

V. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của VGCE cho thấy liều tối đa có thể cho chuột uống qua kim là 2000 mg/kg không gây biểu hiện độc tính cấp. Chưa xác định được LD₅₀ trên chuột nhắt trắng của VGCE theo đường uống. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn theo đường uống của VGCE liều 300 mg/kg/ngày và 1500 mg/kg/ngày trong thời gian 4 tuần không gây độc tính bán trường diễn trên chuột cống trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Das S. Review Post-harvest processing of coffee: An overview. *Coffee Science - ISSN 1984-3909*. 2021;16:e161976-e161976. doi:10.25186/V16I.1976
2. Ciaramelli C, Palmioli A, Airolidi C. Coffee variety, origin and extraction procedure: Implications for coffee beneficial effects on human health. *Food Chem*. 2019;278:47-55. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2018.11.063
3. Yu Y, Zhang Z, Chang C, et al. Chlorogenic acid intake guidance: Sources, health benefits, and safety. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2022;31(4):602–

610. doi:10.6133/APJCN.202212_31(4).0003

4. Verma N, Mittal M, Mahdi AA, et al. Clinical Evaluation of a Novel, Patented Green Coffee Bean Extract (GCB70®), Enriched in 70% Chlorogenic Acid, in Overweight Individuals. Published online 2024. doi:10.1080/27697061.2023.2284994

5. Pimpley V, Patil S, Srinivasan K, et al. The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. *Prep Biochem Biotechnol.* 2020;50(10):969-978. doi:10.1080/10826068.2020.1786699

6. Mah E, Chen O, Liska DJ, et al. Dietary Supplements for Weight Management: A Narrative Review of Safety and Metabolic Health Benefits. *Nutrients.* 2022;14(9). doi:10.3390/NU14091787

7. Hall RD, Trevisan F, de Vos RCH. Coffee berry and green bean chemistry – Opportunities for improving cup quality and crop circularity. *Food Research International.* 2022;151. doi:10.1016/J.FOODRES.2021.110825

8. Atlabachew M, Abebe A, Alemneh Wubienh T, et al. Rapid and simultaneous determination of trigonelline, caffeine, and chlorogenic acid in green coffee bean extract. *Food Sci Nutr.* 2021;9(9):5028-5035. doi:10.1002/FSN3.2456

9. Jeszka-Skowron M, Sentkowska A, Pyrzyńska K, et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology.* Published online 2016. doi:10.1007/s00217-016-2643-y

10. Tran DM. Rhizosphere microbiome dataset of Robusta coffee (*Coffea canephora* L.)

grown in the Central Highlands, Vietnam, based on 16S rRNA metagenomics analysis. *Data Brief.* 2022;42. doi:10.1016/J.DIB.2022.108106

11. Pimpley V, Patil S, Srinivasan K, et al. The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. *Prep Biochem Biotechnol.* 2020;50(10):969-978. doi:10.1080/10826068.2020.1786699

12. World Health Organization. *General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine.*; 2000.

13. K V, HV S, K S. Acute and sub-chronic toxicity evaluation of a standardized green coffee bean extract (CGA-7™) in Wistar albino rats. *SAGE Open Med.* 2021;9. doi:10.1177/2050312120984885

14. United Nations. Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS Rev. 10, 2023). UNECE. 2023. Accessed March 25, 2025. <https://unece.org/transport/dangerous-goods/ghs-rev10-2023>

15. Ilmiawati C, Fitri F, Rofinda ZD, et al. Green coffee extract modifies body weight, serum lipids and TNF-α in high-fat diet-induced obese rats. *BMC Res Notes.* 2020;13(1). doi:10.1186/S13104-020-05052-Y

16. Kanchanasurakit S, Saokaew S, Phisalprapa P, et al. Chlorogenic acid in green bean coffee on body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Syst Rev.* 2023;12:163. doi:10.1186/s13643-023-02311-4

17. Patel S, Patel S, Kotadiya A, et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. *Lab Anim Res.* 2024;40(1):7. doi:10.1186/S42826-024-00194-7

Summary

EVALUATION OF THE SUB-CHRONIC TOXICITY OF VIETNAM GREEN COFFEE BEAN EXTRACT

The study was conducted to evaluate the acute and subchronic toxicity of Vietnamese green coffee bean extract (VGCE) in experimental animals. The acute toxicity study was performed on Swiss mice via oral administration, using the fixed-dose procedure (OECD 420). The subchronic toxicity study adhered to the guidelines of the Ministry of Health. *Wistar* rats were orally administered VGCE at 300 mg/kg and 1500 mg/kg daily for four weeks. The results of the acute toxicity study showed that oral administration of VGCE up to 2000 mg/kg did not induce acute toxicity. The LD₅₀ of VGCE by oral route in mice could not be determined due to the absence of mortality. In the subchronic toxicity study, no significant difference was observed in general condition, hematological parameters, liver and kidney function tests, or liver and kidney histopathology between the treated groups and the control group, or compared to baseline values before administration. In conclusion, a single oral dose of VGCE at 2000 mg/kg did not cause acute toxicity. Oral administration of VGCE at 300 mg/kg and 1500 mg/kg for four consecutive weeks did not result in subchronic toxicity in experimental animals.

Keywords: Green coffee bean extract, acute toxicity, sub-chronic toxicity, mice, rats.