

ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CẢI THIỆN TRÍ NHỚ CỦA CAO CHIẾT HẠT CÀ PHÊ XANH VIỆT NAM TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG GÂY SUY GIẢM TRÍ NHỚ BẰNG SCOPOLAMIN

Phan Thu Hằng^{1,2}, Lê Văn Quân³, Cần Văn Mão^{2}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của cao chiết hạt cà phê xanh Việt Nam (Vietnamese green coffee bean extract - VGCE) trên mô hình chuột nhắt trắng gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm trên 48 chuột nhắt trắng, được chia thành 6 nhóm: Nhóm chứng (tiêm NaCl 9‰ + uống tween80), nhóm bệnh (tiêm scopolamin + uống tween80), nhóm chứng dương (tiêm scopolamin + uống Donepezil), nhóm VGCE200 (tiêm scopolamin + uống VGCE 200 mg/kg), nhóm VGCE300 (tiêm scopolamin + uống VGCE 300 mg/kg) và nhóm VGCE400 (tiêm scopolamin + uống VGCE 400 mg/kg). Trí nhớ của chuột được đánh giá thông qua các bài tập hành vi: Bài tập né tránh thụ động (passive avoidance test - PAT), bài tập mê lộ chữ Y (Y maze test - YMT), bài tập mê lộ nước Morris (Morris water maze test - MWMT). **Kết quả:** Chuột uống VGCE tăng thời gian tiềm di chuyển vào buồng tối trong PAT; tăng tỷ lệ luân phiên trong YMT; tăng tỷ lệ thời gian và quãng đường bơi trong góc phần tư đích vào ngày 8 trong MWMT. **Kết luận:** VGCE có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột suy giảm trí nhớ do scopolamin.

Từ khoá: Cao chiết hạt cà phê xanh; Acid chlorogenic; Trí nhớ; Né tránh thụ động; Mê lộ chữ Y; Mê lộ nước Morris.

¹Bộ môn Y học cơ sở, Khoa Dược lý - Dược lâm sàng, Trường Đại học Dược Hà Nội

²Bộ môn Sinh lý Bệnh, Học viện Quân y

³Bộ môn - Khoa Chẩn đoán chức năng, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Cần Văn Mão (canvanmao@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 27/9/2024

Ngày được chấp nhận đăng: 05/11/2024

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i1.1037>

EVALUATION OF THE MEMORY-IMPROVING EFFECT OF VIETNAMESE GREEN COFFEE BEAN EXTRACT ON SCOPOLAMINE-INDUCED MEMORY IMPAIRMENT IN WHITE MICE

Abstract

Objectives: To assess the memory-improving effect of Vietnamese green coffee bean extract (VGCE) on scopolamine-induced memory impairment in white mice. **Methods:** An experimental study was conducted on 48 mice numbered and divided into 6 groups of 8 mice: A control group (3% tween80-pretreatment + 9‰ NaCl-treated group), a disease group (3% tween80-pretreatment + scopolamine-treated group), a Donepezil group (Donepezil pretreatment + scopolamine-treated group), a VGCE200 group (200 mg/kg VGCE pretreatment + scopolamine-treated group), a VGCE300 group (300 mg/kg VGCE pretreatment + scopolamine-treated group), and a VGCE400 group (mg/kg VGCE 400 pretreatment + scopolamine-treated group). The learning and memory abilities of each group of mice were examined by the passive avoidance test (PAT), the Y maze test (YMT), and the Morris water maze test (MWMT). **Results:** VGCE-pretreated mice groups had increased the latency index in the PAT, increased the percentage of alternation in the YMT, and increased the percentage of swimming distance and duration in the target quadrant on the 8th day in the MWMT. **Conclusion:** VGCE has a beneficial effect on amnesia induced by scopolamine in mice.

Keywords: Green coffee bean extract; Chlorogenic acid; Memory; Passive avoidance test; Y maze test; Morris water maze test.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Alzheimer (AD) là bệnh rối loạn thoái hóa thần kinh, đặc trưng bởi tình trạng suy giảm trí nhớ tiến triển, rối loạn hành vi và các rối loạn chức năng nhận thức như suy giảm khả năng học tập và chứng mất trí, có thể dẫn đến tử vong. Theo báo cáo năm 2015 của Tổ chức Alzheimer thế giới, trên toàn cầu, số lượng người mắc AD và các dạng sa sút trí tuệ khác

là khoảng 46,85 triệu người và dự đoán con số này sẽ tăng gấp đôi vào năm 2030 và gấp ba vào năm 2050. AD hiện đang là tình trạng bệnh lý liên quan đến tuổi tác đáng chú ý nhất [1]. Trong hạt cà phê, CGA là thành phần có hoạt tính chính và đã được chứng minh là có hiệu quả trong phòng ngừa và điều trị suy giảm nhận thức đối với AD [2, 3]. Về mặt cơ chế, các chức năng tích hợp hoạt động thông qua

điều chỉnh chống viêm/oxy hóa và cân bằng chuyển hóa [4]. Việt Nam là một trong những nước xuất khẩu cà phê lớn đứng hàng đầu trên thế giới, đặc biệt là cà phê Robusta [5], loại cà phê có hàm lượng CGA cao hơn hạt cà phê Arabica [6]. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện các quy trình tách chiết và làm giàu CGA để thu được VGCE. Với sản phẩm giàu CGA, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trên thực nghiệm.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

VGCE được chiết xuất từ hạt cà phê xanh Robusta có nguồn gốc ở Buôn Mê Thuột, Việt Nam (thời gian thu hái từ cuối tháng 10 và kéo dài đến hết tháng 1). Hạt cà phê được phơi khô, xay nhỏ thành dạng bột. Bột cà phê xanh được chiết siêu âm với dung môi ly trích EtOH:H₂O (7:3), tỷ lệ dung môi/cà phê là 1:1, chiết 4 lần, cô đến cao đặc. Sử dụng phương pháp phân tích HPLC để xác định hàm lượng CGA trung bình trong cao chiết là 38%.

Chuột nhắt trắng, 48 con, chủng Swiss, giống đực, khoẻ mạnh, trọng lượng 20 ± 2 g do Trung tâm nghiên cứu động vật, Học viện Quân y cung cấp. Động vật được nuôi trong phòng

thí nghiệm của Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y, được ăn thức ăn đạt chuẩn và uống nước tự do, chu kỳ sáng/tối 12 giờ.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu thực nghiệm trên động vật.

* *Gây mô hình suy giảm trí nhớ và sử dụng cao chiết trên chuột nhắt trắng:*

48 chuột nhắt trắng được nuôi thích nghi 1 tuần, sau đó được chia thành 6 nhóm, mỗi nhóm 8 con: Nhóm 1 (chứng): Uống tween80 3% 0,1 mL/10g/ngày; nhóm 2 (bệnh): Uống tween80 3% 0,1 mL/10g/ngày; nhóm 3 (chứng dương): Uống Donepezil 5 mg/kg/ngày; nhóm 4 (VGCE 200): Uống VGCE 200 mg/kg/ngày; nhóm 5 (VGCE 300): Uống VGCE 300 mg/kg/ngày; nhóm 6 (VGCE 400): Uống VGCE 400 mg/kg/ngày.

VGCE và Donepezil được phân tán trong tween80 3%. Chuột được cho uống tween80/Donepezil/VGCE hàng ngày vào buổi sáng. Sau 28 ngày uống thuốc, chuột được tham gia các bài tập hành vi. Vào các ngày tiến hành bài tập hành vi, chuột được cho uống tween80/Donepezil/VGCE 60 phút trước bài tập, sau đó 30 phút, chuột được tiêm phúc mạc NaCl 9‰ liều 0,1 mL/10g (nhóm 1) hoặc scopolamin liều 1,5 mg/kg để gây suy giảm trí nhớ (nhóm 2, 3, 4, 5, 6).

* Các bài tập đánh giá trí nhớ:

- PAT: Tiến hành vào ngày 29 và 30 của thí nghiệm. Bài tập được tiến hành theo phương pháp của Wu C và CS (2020) [7]. Thông số đánh giá là thời gian tiềm di chuyển vào buồng tối (từ lúc cửa giữa hai buồng được mở cho đến khi chuột đi vào buồng tối).

- YMT: Thực hiện vào ngày thứ 31 và 32 của thí nghiệm. Bài tập được tiến hành theo phương pháp của Prieur EAK (2019) [8]. Thông số đánh giá là tỷ lệ luân phiên (tỷ lệ % số lần chuột di chuyển vào 3 cánh tay khác nhau liên tiếp).

- MWMT: Tiến hành từ ngày 32 - 41 của thí nghiệm. Bài tập được tiến hành theo phương pháp của Othman MZ (2022) [9], trong đó, ngày 0 là ngày làm quen, ngày 1 - 7 chuột bơi

trong bể có chân đế, ngày 8 chân đế được bỏ ra khỏi bể. Thông số đánh giá là tỷ lệ % thời gian và quãng đường di chuyển ở góc phần tư đích (góc phần tư đặt chân đế các ngày trước đó) vào ngày 8.

* Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 25.0, sử dụng thuật toán T-test student với số liệu phân phối chuẩn hoặc Mann-Whitney U với số liệu phân phối không chuẩn.

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.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trên PAT

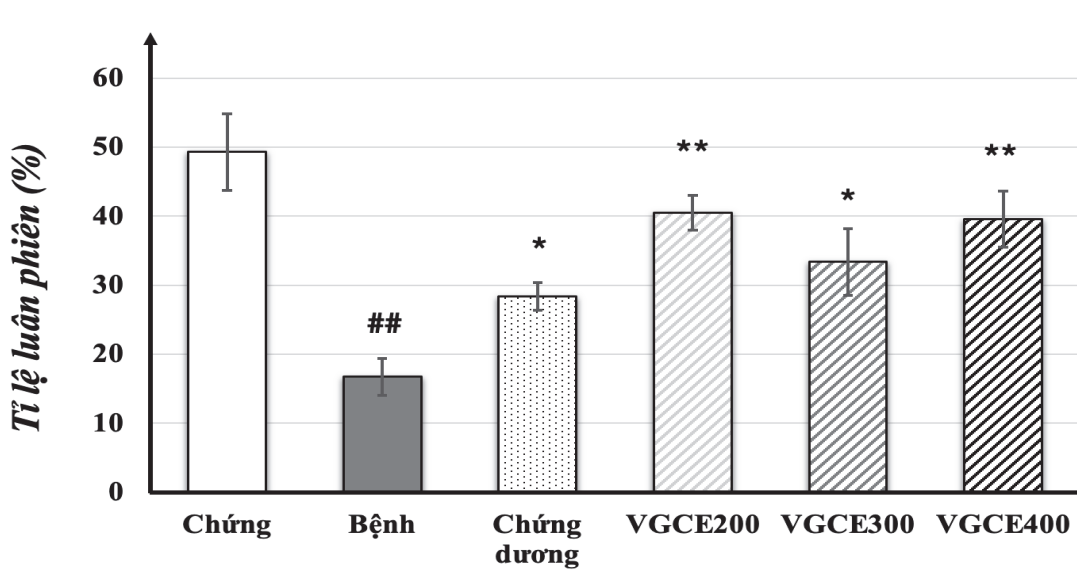
Bảng 1. Thời gian tiềm đi vào buồng tối trong PAT.

Nhóm	n	Huấn luyện Median (min - max)	Thử nghiệm chính thức Median (min - max)
Chứng	8	62,50 (31,00 - 180,00)	292,00 (146,00 - 300,00)
Bệnh	8	125,00 (29,00 - 252,00)	48,50 ## (10,00 - 238,00)
Chứng dương	8	46,00 (16,00 - 299,00)	263,50 ** (81,00 - 300,00)
VGCE200	8	105,50 (12,00 - 207,00)	102,50 (16,00 - 267,00)
VGCE300	8	76,00 (27,00 - 179,00)	81,50 (22,00 - 300,00)
VGCE400	8	34,00 (5,00 - 220,00)	193,50 * (34,00 - 300,00)

(Số liệu được biểu diễn dưới dạng median (min - max); ##: $p < 0,01$ so với nhóm chứng; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ so với nhóm bệnh)

Ở giai đoạn huấn luyện, thời gian tiềm đi vào buồng tối của nhóm bệnh có xu hướng cao hơn so với các nhóm khác; tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê. Ở giai đoạn thử nghiệm chính thức, thời gian tiềm đi vào buồng tối của nhóm bệnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,01$), chỉ số này của nhóm chứng dương cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,01$). Thời gian tiềm vào buồng tối của nhóm VGCE200 và VGCE300 cao hơn nhóm bệnh nhưng chưa có ý nghĩa thống kê, trong khi chỉ số này của nhóm VGCE400 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,05$).

2. Tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trên YMT



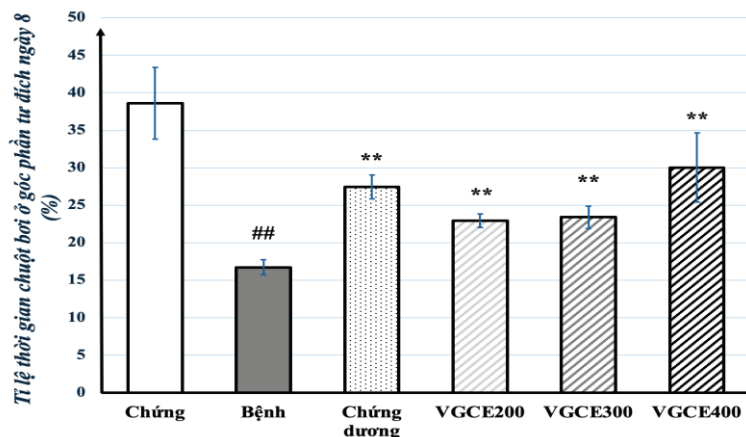
Hình 1. Tỷ lệ luân phiên giữa các cánh tay trong YMT.

(Số liệu được biểu diễn dưới dạng $Mean \pm SE$; ##: $p < 0,01$ so với nhóm chứng; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ so với nhóm bệnh)

Tỷ lệ luân phiên của nhóm bệnh giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,01$), tỷ lệ này ở nhóm chứng dương tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,05$). Tỷ lệ luân phiên ở cả 3 nhóm uống VGCE 200, 300 và 400 mg/kg đều tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,05$).

3. Tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trên MWMT

* Tỷ lệ thời gian chuột bơi ở góc phần tư đích vào ngày 8:

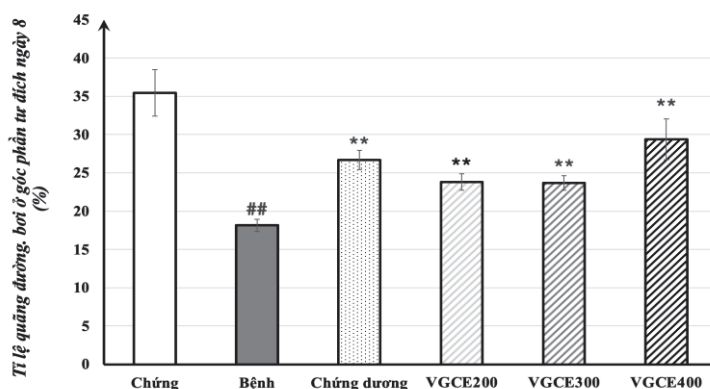


Hình 2. Tỷ lệ thời gian chuột bơi ở góc phần tư đích ngày 8 trong MWMT.

(Số liệu được biểu diễn dưới dạng $Mean \pm SE$; #: $p < 0,05$ so với nhóm chứng; **: $p < 0,01$ so với nhóm bệnh)

Tỷ lệ phần trăm thời gian khám phá góc phần tư đích của nhóm bệnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,01$), của nhóm chứng dương tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,01$), của các nhóm VGCE200, VGCE300 và VGCE400 tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,01$).

* Tỷ lệ quãng đường chuột bơi ở góc phần tư đích vào ngày 8:



Hình 3. Tỷ lệ quãng đường di chuyển ở góc phần tư đích ngày 8 trong MWMT.

(Số liệu được biểu diễn dưới dạng $Mean \pm SE$; ##: $p < 0,01$ so với nhóm chứng; **: $p < 0,01$ so với nhóm bệnh)

Tỷ lệ phần trăm quãng đường di chuyển trong góc phần tư đích ngày 8 của nhóm bệnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,01$), tỷ lệ này của nhóm chứng dương tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm bệnh ($p < 0,01$), của cả 3 nhóm VGCE200, VGCE300 và VGCE400 đều tăng có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh ($p < 0,01$).

BÀN LUẬN

1. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trong PAT

PAT đánh giá khả năng học tập và ghi nhớ thông qua hành vi né tránh có điều kiện, dựa trên sự mâu thuẫn giữa bản năng sợ hãi vùng không gian mở, có ánh sáng của các loài gặm nhấm với phản xạ trốn tránh có điều kiện vùng không gian nguy hiểm đã được nhận diện trước đó [7]. Trong thí nghiệm của chúng tôi, chuột được tiếp xúc với một kích thích gây sợ hãi (sốc điện) trong vùng không gian ưa thích (buồng tối). Động vật bình thường sẽ thể hiện xu hướng né tránh vùng không gian này, trong khi động vật suy giảm trí nhớ vẫn có xu hướng hành động theo bản năng (thích đi vào buồng tối). Kết quả PAT cho thấy các nhóm uống VGCE có xu hướng kéo dài thời gian tiềm di chuyển vào buồng tối so với nhóm bệnh, đặc biệt, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nhóm VGCE400.

Như vậy, chuột uống VGCE liều 400 mg/kg có sự cải thiện khả năng ghi nhớ trong PAT. Nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của Tae-Kyeong Lee và CS (2020), CGA trong hạt cà phê xanh có tác dụng cải thiện khả năng ghi nhớ và học tập của chuột, thể hiện qua kéo dài thời gian tiềm di chuyển vào buồng tối trong PAT [10].

2. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trong YMT

YMT được sử dụng để đánh giá trí nhớ không gian ngắn hạn, dựa trên bản năng tự nhiên thích khám phá môi trường mới của động vật gặm nhấm [8]. Khi đưa chuột vào mê lộ chữ Y với ba cánh tay giống nhau, chuột sẽ có xu hướng khám phá lần lượt ba cánh tay liên tiếp. Trái lại, động vật suy giảm trí nhớ có xu hướng khám phá lặp lại cánh tay chúng vừa vào trước đó. Kết quả YMT cho thấy cả 3 nhóm VGCE200, VGCE300 và VGCE400 đều có tăng rõ rệt tỷ lệ luân phiên so với lô chứng bệnh. Như vậy, VGCE ở cả 3 mức liều 200, 300 và 400 mg/kg đều có tác dụng cải thiện trí nhớ không gian của chuột gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin trên YMT. Nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của Nausheen Nazir và CS (2020), CGA có tác dụng cải thiện thông số tỷ lệ luân phiên trên YMT [1].

3. Đánh giá tác dụng cải thiện trí nhớ của VGCE trong MWMT

Trong nghiên cứu trên động vật, MWMT được sử dụng rộng rãi nhất để đánh giá khả năng học tập và trí nhớ không gian của chuột [9]. Kết quả MWMT cho thấy cả 3 nhóm VGCE200, VGCE300 và VGCE400 đều có sự tăng rõ rệt tỷ lệ thời gian bơi và quãng đường bơi ở góc phần tư đích ngày 8. Như vậy, trong MWMT, VGCE thể hiện tác dụng cải thiện trí nhớ ở cả 3 mức liều nghiên cứu. Nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với nghiên cứu của Keiko Ishida và CS (2020), chứng minh CGA giúp cải thiện thông số thời gian tiềm đến chân đế và tỷ lệ thời gian bơi trong góc phần tư đích của chuột gây AD bằng chuyển gen [3].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận lợi ích của VGCE đối với trí nhớ. Cơ chế tác dụng có thể do CGA làm giảm sự lắng đọng mảng A β (β -amyloid) ở hồi hải mã; giảm sự chết theo chương trình của các neuron vùng hồi hải mã thông qua việc làm giảm hoạt động của lactate dehydrogenase, giảm nồng độ MDA, tăng nồng độ SOD và GSH-Px; giúp tăng cường đào thải A β và cải thiện nhận thức bằng

cách tăng cường biểu hiện protein liên quan đến thụ thể LDL vùng đồi hải mã và phục hồi sự lắng đọng quanh mạch máu của aquaporin 4; ức chế hoạt động của acetylcholinesterase trong não chuột, qua đó cải thiện trí nhớ ngắn hạn và trí nhớ làm việc, cải thiện tình trạng suy giảm nhận thức [4].

KẾT LUẬN

VGCE có tác dụng cải thiện trí nhớ trên chuột nhắt trắng gây suy giảm trí nhớ bằng scopolamin và tác dụng này phụ thuộc vào liều. VGCE ở liều 400 mg/kg giúp cải thiện thời gian tiềm di chuyển vào buồng tối trên PAT. Cả 3 mức liều 200, 300 và 400 mg/kg, VGCE đều cải thiện tỷ lệ luân phiên trên YMT, tỷ lệ thời gian bơi và quãng đường bơi ở góc phần tư đích vào ngày 8 trên MWMT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nazir N, Zahoor M, Nisar M, et al. Evaluation of neuroprotective and anti-amnesic effects of *Elaeagnus umbellata* Thunb. On scopolamine-induced memory impairment in mice. *BMC Complement Med Ther*. 2020; 20(1).
2. Gao L, Li X, Meng S, et al. Chlorogenic acid alleviates A β 25-35-

induced autophagy and cognitive impairment via the mTOR/TFEB signaling pathway. *Drug Des Devel Ther.* 2020; 14:1705-1716.

3. Ishida K, Yamamoto M, Misawa K, et al. Coffee polyphenols prevent cognitive dysfunction and suppress amyloid β plaques in APP/PS2 transgenic mouse. *Neurosci Res.* 2020; 154:35-44.

4. Nguyen V, Taine EG, Meng D, et al. Chlorogenic acid: A systematic review on the biological functions, mechanistic actions, and therapeutic potentials. *Nutrients.* 2024; 16(7).

5. Tran DM. Rhizosphere microbiome dataset of Robusta coffee (*Coffea canephora* L.) grown in the Central Highlands, Vietnam, based on 16S rRNA metagenomics analysis. *Data Br.* 2022; 42.

6. 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.

7. Wu C, Yang L, Li Y, et al. Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in alzheimer rat. *Med Sci Sports Exerc.* 2020; 52(7): 1456.

8. Prieur EAK and Jadavji NM. Assessing spatial working memory using the spontaneous alternation y-maze test in aged male mice. *Bio-protocol.* 2019; 9(3).

9. Othman MZ, Hassan Z, and Has ATC. Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Exp Anim.* 2022; 71(3):264.

10. Lee TK, Kang IJ, Kim B, et al. Experimental pretreatment with chlorogenic acid prevents transient ischemia-induced cognitive decline and neuronal damage in the hippocampus through anti-oxidative and anti-inflammatory effects. *Molecules.* 2020; 25(16).