

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, HIỂN VI, THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ TÁC DỤNG GIẢM ĐAU CỦA CÂY BƯỚM BẠC THU HÁI TẠI QUẢNG NAM

THE MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS, MICROSCOPE, CHEMICAL COMPOSITION, AND PAIN REDUCING EFFECTS OF *MUSSAENDA PUBESCENS* AIT.F. COLLECTED IN QUANG NAM PROVINCE

Nguyễn Thị Thương^{1*}, Ngô Thị Nga¹, Hoàng Hà Chi²

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng, Việt Nam

²Trường THPT Phan Châu Trinh, Đà Nẵng, Việt Nam

*Tác giả liên hệ / Corresponding author: nguyenthithuong3105@gmail.com

(Nhận bài / Received: 04/4/2024; Sửa bài / Revised: 26/5/2024; Chấp nhận đăng / Accepted: 27/5/2024)

Tóm tắt - Trong nghiên cứu này nhóm tác giả đã thu mẫu Bướm Bạc từ núi xã Bình Trị, huyện Thăng Bình, tỉnh Quảng Nam. Mẫu được thu hái, bảo quản và đối chiếu tài liệu khoá phân loại để định danh tên khoa học *Mussaenda pubescens* Ait.f., họ Cà Phê (Rubiaceae). Bướm Bạc đã được phân tích chi tiết về đặc điểm hình thái thực vật và đặc điểm vi học. Việc mô tả này, góp phần phân biệt loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. với các loài khác thuộc chi *Mussaenda* L. đồng thời giúp công tác kiểm nghiệm chính xác. Định tính thành phần hoá học bằng phản ứng hoá học cho thấy rễ, thân, lá chứa các nhóm chất saponin, phenolic, đường khừ. LD50 của cao chiết từ Bướm Bạc được xác định là hơn 2000 mg/kg. Tác dụng giảm đau được xác định trên mô hình gây đau quặn bằng acid axetic, với liều cao 400 mg/kg thể hiện tác dụng giảm đau tương đương thuốc đối chứng diclofenac 30mg/kg.

Từ khóa - *Mussaenda pubescens* Ait.f.; đặc điểm hình thái; hiển vi; thành phần hóa học; tác dụng giảm đau

1. Đặt vấn đề

Loài Bướm Bạc (*Mussaenda pubescens* Ait.f.) được gọi bằng các tên khác nhau như Bướm Bướm, Hoa Bướm hay Ngọc Diệp Kim Hoa và phân bố nhiều ở vùng Tây Bắc, Nam Trung Bộ. Bướm Bạc được sử dụng trong y học cổ truyền để làm thuốc giảm đau, trị ho, tê thấp, hen suyễn, tiêu chảy [1], [2].

Trước đây, các nhà khoa học trên thế giới đã phân lập được một số hợp chất thuộc nhóm saponin, iridoid glycosid [3],[4],[5]. Tại Việt Nam, năm 2017 Nguyễn Thị Thu Hiền và cộng sự đã phân lập được 3 hợp chất iridoid glycosid, 1 hợp chất megastigmane glycosid và 2 hợp chất phenolic glycosid từ loài Bướm Bạc lông (*Mussaenda pubescens* Ait.f.) thu hái tại Tam Nông – Phú Thọ [6].

Về tác dụng dược lý, các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng, loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. có hoạt tính kháng viêm thông qua các dụng điều hoà các Cytokine như Interleukin (IL-6), yếu tố hoại tử khối u α (TNF- α) [7] hoặc ở nồng độ 2 g/ml loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. làm giảm sinh khả dụng các alkaloid như Humantenidine, Gelsenicine, Gelsevirine là những thành phần kích độc trong cây Lá Ngón [8]...

Abstract - In this study, we collected samples of *Mussaenda pubescens* Ait.f., from the mountain of Bình Trị commune, Thăng Bình district, Quang Nam province. Samples were collected, preserved, and compared with taxonomic documents to assess the scientific name *Mussaenda pubescens* Ait.f. *Mussaenda pubescens* Ait.f. were analyzed in detail for plant morphological characteristics and microscopic characteristics. This description contributes to distinguishing the species *Mussaenda pubescens* Ait.f. from other species of the genus *Mussaenda* L. and also helps with the accurate testing procedure. Qualitative chemical composition by chemical reactions shows that the roots, stems, and leaves contain groups of saponins, phenolics, and reducing sugars. The LD50 of the extract was determined to be more than 2000 mg/kg. A dose of 400 mg/kg showed an analgesic effect equivalent to the control drug diclofenac 30 mg/kg in a rat model of colic pain with axetic acid.

Key words - *Mussaenda pubescens* Ait.f.; morphological characteristics; microscope; chemical composition; pain-reducing effect

Theo những tài liệu nhóm tác giả hiện có, những dẫn liệu nghiên cứu về *Mussaenda pubescens* Ait.f. ở Việt Nam còn rất hạn chế, đặc biệt là khu vực Quảng Nam. Bên cạnh đó, đặc điểm thực vật đã được tác giả Võ Văn Chi mô tả trong Từ điển cây thuốc nhưng còn rất ít, đặc điểm hiển vi, độc tính cấp, tác dụng giảm đau cũng chưa được đề cập đến. Nghiên cứu này bước đầu xây dựng cơ sở dữ liệu trong việc sử dụng Bướm Bạc làm nguyên liệu làm thuốc và bước đầu tạo cơ sở định hướng phát triển nguồn dược liệu có sẵn ở địa phương Quảng Nam.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây Bướm Bạc được thu tại núi xã Bình Trị, huyện Thăng Bình, tỉnh Quảng Nam. Mẫu được thu, bảo quản và đối chiếu tài liệu Võ Văn Chi để giám định tên khoa học *Mussaenda pubescens* Ait.f. [1].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Đặc điểm hình thái: Đặc điểm hình thái Bướm Bạc được phân tích theo phương pháp của Nguyễn Nghĩa Thìn và cộng sự; mẫu được chọn phân tích, quan sát và mô tả là những cây Bướm Bạc trưởng thành, đầy đủ bộ phận sinh trưởng và sinh sản [9].

¹ Danang University of Medical Technology and Pharmacy, Vietnam (Thuong Thi Nguyen, Nga Thi Ngo)

² Phan Chau Trinh High School – Da Nang, Vietnam (Chi Ha Hoang)

Đặc điểm vi học: Đặc điểm vi học được phân tích theo phương pháp Nguyễn Viết Thân; Vi phẫu rễ, thân, lá được thực hiện theo phương pháp cắt ngang, nhuộm kép. Bột rễ, thân, lá, hoa được lên tiêu bản theo phương pháp giọt ép. Quan sát cấu tạo vi phẫu và đặc điểm bột được liệu dưới kính hiển vi, mô tả và chụp ảnh [10].

Thành phần hóa học: Lá, thân và rễ cây Bướm Bạc tươi được tách riêng, sấy khô trong tủ sấy. Đem tán nhỏ rồi bảo quản trong túi nylon kín, để nơi thoáng mát, khô ráo để làm các phản ứng hoá học định tính nói riêng đối với từng loại bột được liệu theo tài liệu chuyên sâu của Ngô Văn Thu và cộng sự [11].

Chiết xuất cao được liệu: Cân 50 g được liệu (bộ phận trên mặt đất) đun hồi lưu với 300 mL dung môi methanol trong 2h. Cát thu hồi dung môi dưới áp suất giảm thu được 3 g cao được liệu với hiệu suất chiết 6%.

Xác định độc tính cấp: Số lượng chuột thí nghiệm là $n = 5$ con. Cho 1 chuột uống với liều 2000 mg/kg. Nếu chuột sống, cho thêm 4 chuột uống với liều 2000 mg/kg. Nếu trong tổng 5 chuột có hơn 3 chuột sống thì kết luận LD50 >2000 mg/kg. Chuột được nhịn ăn 4 giờ trước và 2 giờ sau khi uống cao thử [12].

Khảo sát tác dụng giảm đau: Cách tiến hành như sau. Số lượng chuột $n = 40$ con. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 lô: [12]

- Lô 1: uống NaCl 0,9%, liều 0,1 mL/10g chuột.
- Lô 2: uống dung dịch natri diclofenac 30 mg/kg (0,1 mL/10g chuột)
- Lô 3: uống cao Bướm Bạc liều 1 (0,1 mL/10g chuột).
- Lô 4: uống cao Bướm Bạc liều 2 (0,1 mL/10g chuột)

Liều 1 và liều 2 được xác định dựa vào LD50. Sau 30 phút, tất cả các lô được tiêm phúc mô dung dịch axetic 0,7% liều 0,1 mL/10g chuột. Đếm số con đau quận của mỗi chuột trong 20 phút kể từ sau khi tiêm acid axetic 5 phút. So sánh số con đau quận trung bình giữa các lô. Nhận biết con đau quận: chuột trườn người dài ra, hai chân sau duỗi thẳng về phía sau, hông co thắt lại.

Phân tích và xử lý số liệu: Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình \pm độ lệch chuẩn của giá trị trung bình (Mean \pm SEM). Dùng phép kiểm Mann – Whitney để so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các lô thử nghiệm. Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Đặc điểm hình thái

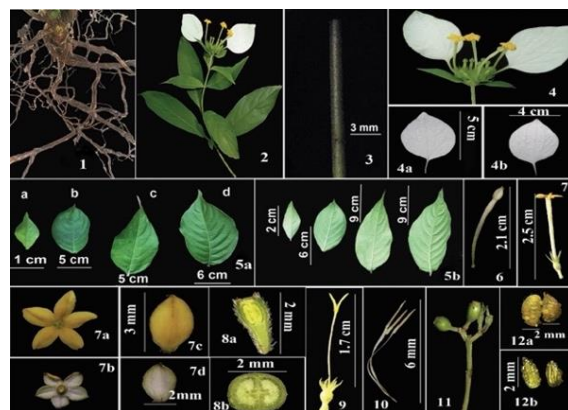
Cây gỗ nhỏ, mọc trường, dạng bụi. Rễ trụ, kích thước của rễ có thể thay đổi theo lứa tuổi và điều kiện nơi mọc.

Thân non có thiết diện tròn, màu xanh, nhiều lông; thân già màu xanh hơi nâu. Thân phân nhánh nhiều, nhánh nhỏ dài khoảng 5 - 8 cm, nhánh lớn dài khoảng 15 - 20 cm, mặt cắt ngang có thiết diện tròn, đường kính thay đổi từ 0,3 - 0,8 cm.

Lá nguyên, mọc đối, có lá kèm nhọn, hình sợi. Cuống lá dài 1 - 2 mm, dẹp, màu xanh nhạt. Phiến lá hình bầu dục, dài 6 - 9 cm, rộng 5 - 6 cm, màu xanh lục sẫm ở mặt trên, màu xanh nhạt ở mặt dưới; ngọn lá nhọn; gốc lá thuôn tròn. Gân lá hình lông chim, 3 - 4 cặp gân phụ, nổi rõ ở mặt dưới. Lông ngắn phủ ở mặt trên và mặt dưới của lá, mặt dưới có rất nhiều lông ở vị trí của các gân lá.

Cụm hoa hình xim ngù, mọc ở đầu cành. Hoa màu vàng, lưỡng tính, mẫu 5, mang lá bắc. Đài 5, dính nhau thành hình ống, dài 2,0 - 2,5 cm, màu vàng nhạt, mặt ngoài phủ đầy lông; chia thành 5 thùy hẹp, có một thùy phát triển thành lá hình trứng, màu trắng, có gân hình cung. Tràng hoa có 5 cánh đều nhau, hàn liền thành hình đỉnh, ống tràng dài và hẹp; cánh hoa hình bầu dục, dài 3 mm, rộng 2 mm, mặt trên cánh hoa màu vàng đậm có lông mịn, mặt dưới màu trắng. Nhị 3, đều, rời, đính ở họng tràng, xen kẽ với cánh hoa; chỉ nhị dạng sợi màu trắng, nhẵn, dài 6 mm; bao phấn hình bầu dục, màu trắng ngà, dài bằng 1/3 chỉ nhị, 2 ô, nứt dọc, đính giữa, hướng trong. Hạt phấn rời, màu vàng nhạt, hình cầu, có rãnh dọc. Bộ nhụy do 2 lá noãn dính nhau tạo thành bầu dưới, 2 ô, mỗi ô có 1 noãn, đính noãn trung trụ. Vòi nhụy 1, dạng sợi mảnh, màu vàng xanh, nhẵn, dài 1,7 cm; đầu nhụy 2, hình khối, màu vàng xanh, ngắn.

Quả nang, hình bầu dục, có nhiều lông trắng ở mặt ngoài, đài tồn tại; quả non màu xanh, quả già màu nâu vàng. Quả chia làm 2 ô, mỗi ô chứa 1 hạt. Hạt hình bầu dục, kích thước 2,0 x 2,0 mm.

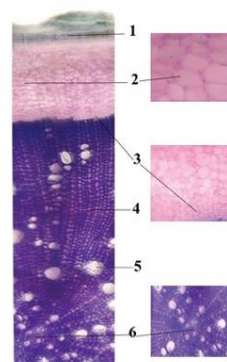


Hình 1. Đặc điểm hình thái cây Bướm Bạc.

1. Rễ; 2. Cành mang lá và hoa; 3. Thân; 4. Lá dài; 5. Lá; 5a. Mặt trước lá; 5b. Mặt sau lá; 6. Nụ hoa; 7. Hoa; 8. Bầu; 8a. Mặt cắt dọc; 8b. Mặt cắt ngang; 9. Vòi nhụy; 10. Chỉ nhị; 11. Quả; 12. Hạt; 12a. Mặt cắt dọc; 12b. Mặt cắt ngang

3.2. Đặc điểm vi phẫu

3.2.1. Vi phẫu rễ



Hình 2. Vi phẫu rễ Bướm Bạc

1. Bần; 2. Mô mềm; 3. Libe cấp 2; 4. Tia ruột; 5. Gỗ cấp 2; 6. Mô mềm ruột

Rễ có thiết diện hình tròn, từ ngoài vào trong gồm có:

Bần gồm 2-3 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm 5 - 6 lớp tế bào hình đa giác

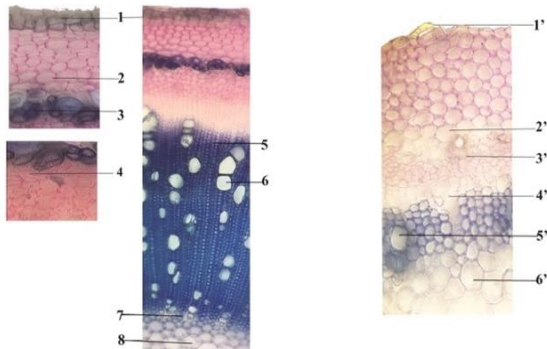
hay bầu dục. Libe cấp 2 gồm những tế bào hình đa giác, vách uốn lượn. Gỗ cấp 2 nhiều, chiếm tâm; mạch gỗ gần tròn hoặc đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn; mô mềm gỗ bao quanh mạch, vách tấm chất gỗ. Gỗ cấp 1 khó phân biệt. Tia ruột hẹp gồm 1 - 2 lớp tế bào hình đa giác thuôn, vách tấm chất gỗ trong vùng gỗ, hơi loe rộng và có vách cellulose trong vùng libe, xếp xuyên tâm.

3.2.2. Vi phẫu thân

Mặt cắt thân cây Bướm bạc có thiết diện tròn.

Thân già: Từ ngoài vào trong có: Bần gồm 2 - 3 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ cấu tạo từ 6 - 8 lớp tế bào hình bầu dục hoặc đa giác, kích thước không đều, xếp sát nhau. Trụ bì hóa sợi mô cứng thành từng cụm. Libe cấp 2 gồm 7 - 9 lớp tế bào hình đa giác, vách uốn lượn, xếp xuyên tâm. Gỗ cấp 2 nhiều, mạch gỗ gần tròn hoặc đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn; mô mềm gỗ cấp 2 hình đa giác, kích thước nhỏ, vách tấm chất gỗ, xếp xuyên tâm. Gỗ cấp 1 tập trung thành cụm, mỗi cụm 2 - 3 bó, phân hóa ly tâm. Tia ruột hẹp gồm 1 - 2 lớp tế bào hình đa giác thuôn, vách tấm chất gỗ trong vùng gỗ cấp 2, hơi loe rộng và có vách cellulose trong vùng libe cấp 2, sắp xếp kéo dài theo hướng xuyên tâm. Mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác, kích thước không đều, càng vào trong càng to dần.

Thân non: Từ ngoài vào trong có: Biểu bì cấu tạo bởi 1 lớp tế bào hình chữ nhật hay đa giác, kích thước không đều. Mô mềm vỏ gồm nhiều lớp tế bào hình đa giác gần tròn, xếp lộn xộn, để hở những khoang gian bào nhỏ. Libe cấu tạo từ những tế bào hình đa giác, vách uốn lượn. Mạch gỗ hình đa giác, tập trung thành cụm, mỗi cụm 3 - 4 mạch. Các cụm phân bố rải rác trong mô mềm gỗ có vách tế bào tấm chất gỗ, xếp xuyên tâm. Tia ruột gồm 3 - 5 dãy tế bào. Mô mềm ruột cấu tạo từ những tế bào hình đa giác có kích thước lớn, không đều.



Hình 3. Vi phẫu thân Bướm Bạc

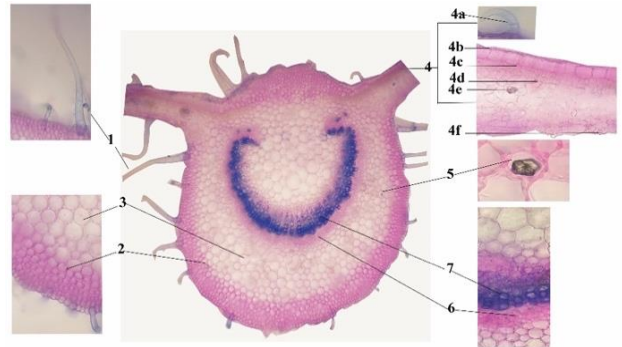
- A: 1. Bần; 2. Mô mềm vỏ; 3. Sợi mô cứng; 4. Libe cấp 2;
5. Tia ruột; 6. Gỗ cấp 2; 7. Gỗ cấp 1; 8. Mô mềm ruột.
B: 1'. Lông che chở đa bào; 2'. Mô mềm vỏ; 3'. Libe cấp 2;
4'. Tia ruột; 5'. Gỗ cấp 2; 6'. Mô mềm ruột.

3.2.3. Vi phẫu lá

Gân giữa: Mặt dưới lồi nhiều, mặt trên lồi ít. Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác gần tròn, kích thước không đều xếp sát nhau. Lông che chở đa bào gồm 4 - 6 tế bào ngọn dài (gấp 2 - 3 lần so với dãy tế bào ở phần chân). Mô dày gồm 4 - 6 lớp tế bào hình đa giác, kích thước không đều, xếp lộn xộn, nằm ngay phía dưới biểu bì. Các tế bào mô mềm hình tròn hoặc đa giác

gần tròn, kích thước không đều nhau. Tinh thể thể calci oxalat nằm rải rác trong mô mềm. Bó dẫn hình cung, gỗ ở trong, libe ở ngoài. Mạch gỗ hình đa giác gần tròn, kích thước tương đối đồng đều, mỗi bó gồm 3 - 5 mạch gỗ xếp dọc đều đặn. Libe gồm nhiều lớp tế bào hình đa giác, xếp lộn xộn.

Phiến lá: Biểu bì trên là những tế bào hình chữ nhật, kích thước tương tự nhau, xếp đều đặn. Lông che chở đa bào gồm 2 - 3 lớp tế bào. Mô mềm giàu nằm ngay dưới biểu bì trên, gồm 1 - 2 lớp tế bào hình chữ nhật dài và hẹp xếp sát nhau, vuông góc với biểu bì. Tế bào mô mềm khuyết có hình dạng và kích thước khác nhau, xếp lộn xộn, nằm rải rác trong mô mềm có các tinh thể calci oxalat. Lỗ khí nhiều ở biểu bì dưới.

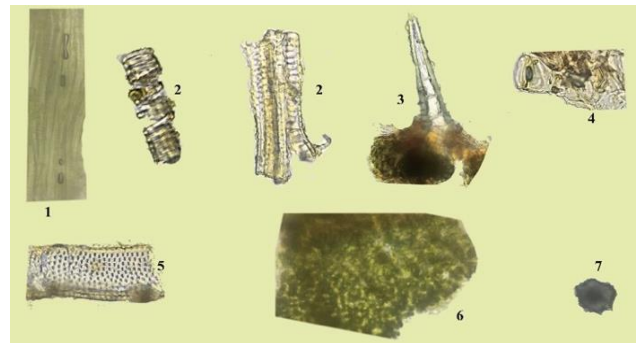


Hình 4. Vi phẫu lá Bướm Bạc.

1. Lông che chở đa bào; 2. Mô dày; 3. Mô mềm; 4. Phiến lá:
4a. Lông che chở đa bào; 4b. Biểu bì trên; 4c. Mô giậu;
4d. Mô khuyết; 4e. Tinh thể calci oxalat; 4f. Lỗ khí; 5. Mô mềm chứa tinh thể calci oxalat; 6. Libe; 7. Gỗ.

3.3. Đặc điểm bột dược liệu

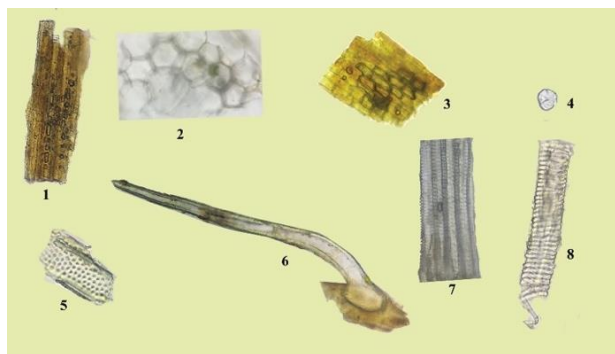
Bột lá: Bột màu vàng xanh, vị hơi ngọt nhẹ. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối (1). Mạch xoắn (2), mạch điểm (5). Lông che chở đa bào (3). Mảnh biểu bì mang khí khổng (4). Mảnh mô mềm (6). Tinh thể calci oxalat hình cầu gai (7). (Hình 5).



Hình 5. Một số đặc điểm bột lá Bướm Bạc

1. Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối; 2. Mạch xoắn;
3. Lông che chở đa bào; 4. Khí khổng; 5. Mạch điểm;
6. Mảnh mô mềm; 7. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai

Bột thân: Bột màu vàng nhạt hơi ngả xanh, vị hơi ngọt nhẹ. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối (1); mảnh mô mềm (2); mảnh biểu bì (3); hạt tinh bột gần tròn, rón phân nhánh (4); mảnh mạch hay gập mạch điểm (5), mạch vạch (7), mạch xoắn (8); lông che chở đa bào (6) (Hình 6).



Hình 6. Một số đặc điểm bột thân Bướm Bạc

1. Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối;
2. Mảnh mô mềm; 3. Mảnh biểu bì; 4. Tinh bột; 5. Mạch điểm;
6. Lông che chở đa bào; 7. Mạch vạch; 8. Mạch xoắn

Bột rễ: Bột màu vàng. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối (1); mảnh mạch xoắn (2), mạch điểm (5); mảnh mô mềm mang tinh bột (6); hạt tinh bột có hình dạng khác nhau, rón hạt thường là một đường có phân nhánh, vân không rõ (3); mảnh biểu bì (4) (Hình 7).



Hình 7. Một số đặc điểm bột rễ Bướm Bạc

1. Bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối; 2. Mạch xoắn;
3. Tinh bột; 4. Mảnh biểu bì; 5. Mạch điểm;
6. Mảnh mô mềm mang tinh bột

3.4. Thành phần hoá học

Tiến hành định tính sơ bộ các nhóm chất hữu cơ trong dịch chiết từ rễ, thân, lá của cây Bướm Bạc bằng các phản ứng hóa học đặc trưng. Kết quả định tính được tổng hợp trong Bảng 1 cho thấy, rễ, thân, lá trong cây Bướm Bạc có chứa các nhóm chất: saponin, phenolic, đường khử.

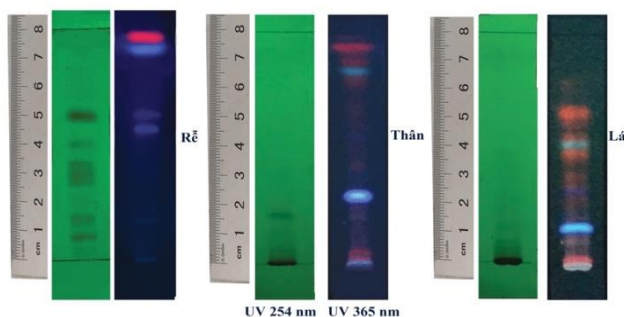
Bảng 1. Thành phần hóa học trong cây Bướm Bạc

Nhóm chất	Phản ứng định tính	Kết quả		
		Rễ	Thân	Lá
Alcaloid	Mayer	-	-	-
	Bouchardat	-	-	-
	Dragendoff	-	-	-
Flavonoid	Cyanidin	-	-	-
	NaOH 10%	-	-	-
	FeCl ₃ 5 %	+	+	+
Coumarin	Đóng mở vòng lacton	-	-	-
Antranoid	Borntraeger	-	-	-
Phenolic	FeCl ₃ 5 %	+	+	+
Tanin	Gelatin 1%	-	-	-
Saponin	Hiện tượng tạo bọt	+++	+++	+++
Glycosid tim	Liebermann – Burchardt	+++	+++	+++

		Keller – Kiliani	-	-	-
		Baljet	-	-	-
Chất béo	Vết mờ trên giấy lọc	-	-	-	-
Acid hữu cơ	Na ₂ CO ₃	-	-	-	-
Caroten	H ₂ SO ₄ đặc	-	-	-	-
Đường khử	Fehling	++	++	++	++
Polysaccharid	Lugol	-	-	-	-

Chú thích: (-) Phản ứng âm tính (+); Phản ứng dương tính nhẹ; (++) Phản ứng dương tính rõ; (+++) Phản ứng dương tính rất rõ.

Định tính các nhóm chất trong rễ, thân, lá bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM). Hệ dung môi triển khai ở R_F là: Ethyl acetate – acid acetic – nước (8: 2: 1); Thân: *n*-hexane – ethyl acetate (8: 2); Lá: *n*-hexane – ethyl acetate (9: 1). Kết quả thu được sắc ký đồ Hình 8.



Hình 8. Sắc ký lớp mỏng dịch chiết ethanol 90% rễ, thân, lá cây Bướm Bạc

3.5. Tác dụng giảm đau

Độc tính cấp: đầu tiên uống với liều 2000 mg/kg, chuột khỏe mạnh, không có dấu hiệu bất thường. Tiếp tục cho 4 chuột uống cao với liều như trên tất cả chuột đều khỏe mạnh. Do đó, LD₅₀ của cao chiết từ Bướm Bạc được xác định là hơn 2000 mg/kg.

Từ LD₅₀>2000 mg/kg, nhóm nghiên cứu chọn liều 100 mg/kg và 200 mg/kg để thử tác dụng giảm đau. Tuy nhiên, cả 2 liều trên đều không thể hiện tác dụng giảm đau nên nhóm nghiên cứu tiếp tục thử nghiệm với liều cao hơn (250 mg/kg và 400 mg/kg).

Số cơn đau quận của chuột ở các lô được quan sát trong khoảng thời gian 20 phút khi tiêm acid axetic 0,7% được trình bày trong Bảng 2. Tác dụng giảm đau của cao Bướm Bạc và diclofenac được thể hiện bằng tỷ lệ phần trăm giảm cơn đau quận so với lô chứng.

Bảng 2. Tác dụng giảm đau của cao Bướm Bạc

Lô	Số chuột	Số cơn đau quận trung bình	Tỷ lệ phần trăm giảm cơn đau quận so với lô chứng
Chứng	10	51,1 ± 9,06	
Thuốc đối chứng với diclofenac 30 mg/kg	10	34,2 ± 7,54(*)	33,07%
Cao Bướm Bạc 250mg/kg	10	45,6 ± 12,33	10,76%
Cao Bướm Bạc 400 mg/kg	10	35,3 ± 8,84 (*#)	30,91%

(*) Khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng ($p < 0,01$)

(#) Khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lô diclofenac 30 mg/kg ($p > 0,05$)

4. Bàn luận

4.1. Đặc điểm hình thái

Về cơ bản, đặc điểm hình thái có sự giống nhau giữa loài nghiên cứu và loài được mô tả trong tài liệu tham khảo. Những đặc điểm giống nhau gồm có: dạng sống; cách sắp xếp lá trên cành, kiểu lá, hình dạng của phiến lá, mép phiến lá, ngọn lá, bề mặt lá, dạng gân lá; cách sắp xếp hoa trên cành, cấu tạo của vòng bao hoa, nhị, nhụy; hình dạng quả và hạt. Bên cạnh đó, vẫn có một số điểm khác biệt về hình thái của mẫu nghiên cứu khi đối chiếu tài liệu, gồm: kích thước lá; kích thước các phần của hoa; kích thước quả, hạt. Sự khác nhau này là khá thường gặp. So với những mô tả trong tài liệu tham khảo, nghiên cứu này đã mô tả đầy đủ và chi tiết hơn về đặc điểm hình thái của các cơ quan sinh dưỡng và sinh sản của loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. Việc xác định tên khoa học của loài nghiên cứu góp phần cung cấp thông tin chính xác về nguồn gốc những kết quả nghiên cứu về thành phần hóa học.

So với các loài khác trong chi *Mussaenda* L. loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. có những đặc điểm hình thái khác biệt: lá của *M. pubescens* Ait.f. hình bầu dục còn lá của *M. longipetala* H. L. Li hình oval; lá kèm của loài *M. pubescens* Ait.f. nhọn, hình sợi trong khi *M. densiflora* H. L. Li có lá kèm chẻ đôi, dạng vảy; mặt trên và mặt dưới lá dài *M. pubescens* Ait.f. màu trắng trong khi loài *M. thorelii* Pit. có mặt trên lá dài màu trắng, mặt dưới màu xanh; hoa của *M. pubescens* Ait.f. màu vàng, khác với hoa của *M. theifera* Pierre ex Pit. màu vàng tươi, *M. thorelii* Pit. và *M. hoaensis* Pierre ex Pit. màu cam đậm [13]. Căn cứ vào những đặc điểm hình thái đặc trưng của cây Bướm Bạc đã mô tả, từ đó góp phần nhận dạng chính xác, chống nhầm lẫn với các dược liệu khác khi thu hái, sử dụng.

4.2. Vi học

Nghiên cứu đã mô tả chi tiết cấu tạo giải phẫu và đặc điểm bột rễ, thân, lá của cây Bướm Bạc và nhận thấy một số đặc điểm vi học tương đối có giá trị để phân biệt nên được lưu ý, gồm: vị trí và hình dạng của lông che chở đa bào (có ở bề mặt của thân non, gân và phiến lá), tinh thể calci oxalat. Những kết quả nghiên cứu vi học đã đóng góp mới và bổ sung vào các dữ liệu để xây dựng tiêu chuẩn vi học cho dược liệu. Đồng thời, cũng góp phần phân biệt loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. với các loài khác thuộc chi *Mussaenda* L. giúp công tác kiểm nghiệm chính xác và bước đầu tạo cơ sở cho công tác đánh giá chất lượng mẫu dược liệu khô, chống nhầm lẫn, giả mạo.

4.3. Thành phần hóa học

Về định tính, đã sử dụng các phản ứng hóa học thường quy. Kết quả định tính sơ bộ cho thấy, các bộ phận rễ, thân, lá của loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. đều có chứa thành phần: saponin, phenolic, đường khử. So sánh kết quả định tính sơ bộ của nghiên cứu với kết quả nghiên cứu của W.Zhao và cộng sự; Lê Thị Thu Hiền và cộng sự, cho thấy có sự tương đồng về thành phần hóa học thể hiện qua kết quả dương tính rất rõ đối với phản ứng xác định sự có mặt của saponin và phenolic [4], [6]. Nghiên cứu đã không nhận thấy sự có mặt của các hợp chất đường khử như trong nghiên cứu của Lê Thị Thu Hiền và cộng sự với mẫu cây ở Tam Nông – Phú Thọ [6].

Quá trình khảo sát hệ dung môi làm pha động trong sắc ký lớp mỏng, đã xác định điều kiện sắc ký phù hợp để định tính. Kết quả sắc ký lớp mỏng dịch chiết toàn phần trong cồn 90⁰ của rễ Bướm Bạc với hệ ethyl acetate – acid acetic – nước (8: 2: 1), cho thấy sắc ký đồ quan sát dưới UV ở bước sóng 254 nm có 07 vết và UV ở bước sóng 365 nm có 05 vết; sắc ký đồ của thân với hệ *n*-hexane – ethyl acetate (8: 2) quan sát dưới UV ở bước sóng 254 nm có 01 vết, ở bước sóng 365 nm có 08 vết; lá với hệ *n*-hexane – ethyl acetate (9: 1) cho 01 vết dưới UV ở bước sóng 254 nm, 09 vết ở bước sóng 365 nm. Dựa vào các vết trên sắc ký đồ và mức độ phân cực của hệ dung môi, có thể dự đoán rằng các vết sắc ký từ 1 – 4 ở cả 3 sắc ký đồ là các hợp chất tương đối kém phân cực, các vết còn lại là các hợp chất phân cực hơn. Vì vậy, các hệ dung môi đã chọn là những hệ có khả năng tách được nhiều hợp chất với từng bộ phận rễ, thân, lá của cây Bướm Bạc. Qua kết quả đó, có thể đề nghị: Tiêu chuẩn hóa định tính sơ bộ các nhóm chất hữu cơ có trong cây Bướm Bạc bằng sắc ký lớp mỏng với 3 hệ dung môi trên, tương ứng với từng bộ phận. Đây là bước làm cơ sở cho quá trình phân lập và tiến tới xây dựng tiêu chuẩn của dược liệu Bướm Bạc trồng ở Việt Nam.

4.4. Tác dụng giảm đau

Để khảo sát tác dụng giảm đau, các tác giả có thể sử dụng nhiều mô hình như gây đau quận bằng acid axetic, kích thích bằng nhiệt, kẹp đuôi, gây đau ở chân. Nhóm nghiên cứu chọn mô hình gây đau quận bằng acid axetic vì đây là mô hình dễ thực hiện nhất, phù hợp với điều kiện phòng thí nghiệm. Các cơn đau quận ở chuột sau khi tiêm acid axetic biểu thị cho sự đau ở màng bụng liên quan đến các receptor cholinergic và histamin, sự giảm số cơn đau quận ở chuột sau khi điều trị thể hiện tác dụng giảm đau của các mẫu thử. Bên cạnh đó, nhóm tác giả sử dụng thuốc đối chứng diclofenac liều 30 mg/kg. Kết quả cho thấy, được cho uống diclofenac 30 mg/kg, số cơn đau quận trung bình ở chuột giảm khoảng 33% so với lô chứng. Như vậy mô hình gây đau quận bằng acid axetic 0,7% với liều 0,1 mL/10g chuột là phù hợp để khảo sát tác dụng giảm đau của cao Bướm Bạc vì đã đáp ứng điều trị diclofenac.

Trong khoảng thời gian 20 phút kể từ sau khi tiêm phúc mô dung dịch acid axetic 0,75 phút, số cơn đau quận trung bình ở lô chứng là 51,1 cơn. Được cho uống diclofenac liều 30 mg/kg, chuột ở lô đối chứng đáp ứng điều trị, với số cơn đau quận trung bình ghi nhận được là 34,2 cơn, giảm 33,07% so với lô chứng ($p < 0,01$). Như vậy nhóm nghiên cứu đã tạo được mô hình gây đau quận bằng acid axetic 0,7% với liều 0,1 mL/10g chuột.

Kết quả trình bày ở Bảng 2 cho thấy, ở lô chuột được điều trị bằng cao Bướm Bạc với liều 400 mg/kg, số cơn đau quận là 35,3 cơn, giảm 30,91% so với lô chứng ($p < 0,01$). So với lô dùng thuốc đối chứng diclofenac 30 mg/kg, tác dụng giảm đau của lô được điều trị bằng cao dược liệu 400 mg/kg khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Như vậy, cao Bướm Bạc liều 400 mg/kg thể hiện tác dụng giảm đau tương đương thuốc đối chứng diclofenac 30 mg/kg trên mô hình chuột gây đau quận bằng acid acetic. Tác dụng giảm đau của Bướm Bạc có thể do các hoạt chất nhóm saponin có trong thành phần hóa học của cây. Qua tìm hiểu tài liệu, chưa thấy tài liệu nào thông tin

về tác dụng giảm đau của loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. Vì vậy, kết quả về tác dụng giảm đau của nghiên cứu có thể được coi là công bố đầu tiên của loài *Mussaenda pubescens* Ait.f. Kết quả nghiên cứu đã đóng góp thêm cơ sở khoa học cho việc sử dụng Bướm Bạc trong phòng và điều trị giảm đau, tê thấp [2].

5. Kết luận

Từ những kết quả nghiên cứu trên nhóm tác giả đưa ra những kết luận sau:

- Đã phân tích được đặc điểm hình thái; vi phẫu rễ, thân, lá và đặc điểm bột dược liệu của thân, rễ và lá cây Bướm Bạc.

- Thành phần hóa học sơ bộ trong Bướm Bạc gồm: saponin, phenolic, đường khử.

- Cao Bướm Bạc liều 400 mg/kg thể hiện tác dụng giảm đau tương đương thuốc đối chứng diclofenac 30 mg/kg trên mô hình chuột gây đau quặn bằng acid axetic.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] V. V. Chi, *Popular botanical dictionary*, Science and Technology, Hanoi, vol. 2, pp.1760 – 1762, 2004.
- [2] K. S. Vidyakshmi, H. R. Vasanthi, and G. V. Rajamanickam, *Phytochemistry and Pharmacology of Mussaenda Species (Rubiaceae)*, *Ethnobotanical Leaflets*, vol. 12, pp. 469-475, 2008.
- [3] W. Zhao, J. Xu, G. Qin, and R. Xu, Saponins from *Mussaenda pubescens*, *Phytochemistry*, vol. 39, no. 1, pp.191- 193, 1995. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00861-M](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00861-M)
- [4] W. Zhao, P. Wang, R. Xu, G. Quin, S. Jiang, and H. Wu, “Saponins from *Mussaenda pubescens*”, *Phytochemistry*, vol. 42, no. 3, pp. 827-830, 1996. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00028-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00028-3)
- [5] J. P. Xu, R.S. Xu, Z. Luo, J. Y. Dong, and H. M. Hu, “Mussaendosides M and N. New Saponins from *Mussaenda pubescens* Ait.f.”, *Journal of Natural Products*, vol. 55, no. 8, pp. 1124-1128, 1992. <https://doi.org/10.1021/np50086a014>
- [6] L. T. T. Hien, L. T. P. Thao, L. Q. Thuong, T. Q. Viet, and D. V. Trung, “Chemical composition of the plant *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae)”, *Chemistry Magazine*, vol. 55, no. 3, pp.355-359, 2017. <https://doi.org/10.15625/2525-2321.2017-00471>
- [7] W. Yao, “Study on chemical constituents of *Yuye Jinhua* and its *in vitro* anti-influenza virus, anti-inflammatory activity”, Master’s Thesis, GuangZhou University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [8] Y. Wang, H. Wang, S. Whu, D. Li, and S. Chen, “Effect of *Gelsemium elegans* and *Mussaenda pubescens*, the Components of a Detoxification Herbal Formula, on Disturbance of the Intestinal Absorptions of Indole Alkaloids in Caco-2 Cells”, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, pp.1-10. <https://doi.org/10.1155/2017/6947948>
- [9] N. N. Thin, *Plant research methods*, National University, 2007
- [10] N. V. Than, *Testing medicinal herbs by microscopic method*, Science & Engineering, vol. 1, 2007.
- [11] N. V. Thu and T. Hung, *Pharmacognosy*, Medicine, Ha Noi, Vol. 1, 2013.
- [12] T. T. Vu *et al.*, “Research on the analgesic and anti-inflammatory effects of segments separated from the venom of the snake *Bungarus fasciatus* distributed in Vinh Phuc”, *Ho Chi Minh City Medical Journal*, vol. 21, No. 1, 2017.
- [13] N. T. Hong, *Research on species composition of the genus *Mussaenda* L. distributed in Lam Dong*, Master’s thesis in ecology, Da Lat University, 2016.