

**KHẢO SÁT ĐỘC TÍNH CẤP CỦA LÁ XOÀI NON (*Mangifera indica* L.)
TRÊN VI MÔ HỌC GAN VÀ THẬN CỦA CHUỘT NHẮT TRẮNG
(*Mus musculus* L.)**

Nguyễn Thị Ái Lan^{1*}

*INVESTIGATING ACUTE ORAL TOXICITY OF YOUNG MANGO (*Mangifera indica* L.) LEAVES ON MICROLOGY OF LIVER AND KIDNEYS OF *Mus musculus* L.*

Nguyen Thi Ai Lan^{1*}

Tóm tắt – Mô bệnh học đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu dược phẩm và ngành y học lâm sàng. Chẩn đoán vi mô học là phương pháp xác định và định hướng điều trị cũng như tiên lượng bệnh. Trong nghiên cứu này, độc tính cấp của lá xoài non (*Mangifera indica* L.) được khảo sát dựa trên sự phân tích và so sánh cấu trúc vi mô gan/thận của chuột nhắt trắng (*Mus musculus* L.) bình thường và chuột nhắt trắng uống liều cao cao chiết methanol lá xoài non. Gan và thận chuột thí nghiệm được tách lấy từ các nhóm chuột bình thường uống nước muối sinh lí (đối chứng sinh lí), chuột bình thường uống 1.000 mg/kg, chuột bình thường uống 2.500 mg/kg và chuột bình thường uống 5.000 mg/kg cao chiết lá xoài non, uống một lần duy nhất. Kết quả quan sát cho thấy rằng, cấu trúc vi mô học gan/thận của chuột uống lá xoài non có dấu hiệu bị tổn thương so với chuột đối chứng sinh lí. Điều này có nghĩa là lá xoài non liều cao có tác động xấu đến cấu trúc vi mô gan/thận chuột bình thường. Từ những kết quả này, nghiên cứu đưa ra kết luận cao chiết lá xoài non không nên được sử dụng tùy tiện ở cơ thể đang mắc bất cứ bệnh lí nào hoặc cơ thể không mang bệnh lí nếu không có hướng dẫn của các y dược sĩ.

Từ khóa: cấu trúc vi mô học của gan, cấu trúc vi mô học của thận, độc tính cấp, lá xoài non (*Mangifera indica* L.), *Mus musculus* L.

Abstract – Histopathology is the most important issue in research pharmacy and clinical medicine. Microdiagnosis is a method of identifying and orienting treatment as well as disease prognosis. In testing acute toxicity, the young leaves of mangoe extract (*Mangifera indica* L., MIL) was investigated based on analysis and comparison of liver/kidney microstructure of normal mice (*Mus musculus* L.) and mice that drank at high doses of MIL. The liver and kidney of laboratory mice were separated from groups of normal mice drinking distilled water (physiological control), normal mice drinking 1000 mg/kg, normal mice taking 2500 mg/kg and rats taking 5000 mg/kg b.w., only one time. The observed results showed that the microstructure of the liver/kidney of rats drinking methanol extract MIL were damaged when compared to physiological control mice. This means that high doses of MIL have adverse effects on the liver/kidney of normal mice. From these results, it is concluded that MIL extract should not be taken arbitrarily not only in the body with any pathogenesis but also in the healthy body without the guidance of the pharmacist.

Keywords: acute oral toxicity test, microstructure of kidney, microstructure of liver, *Mus musculus* L., young mango leaves (*Mangifera indica* L.).

¹Trường Đại học Trà Vinh
Ngày nhận bài: 22/6/2021; Ngày nhận bài chỉnh sửa: 22/6/2022; Ngày chấp nhận đăng: 23/6/2022
*Tác giả liên hệ: ntalan@tvu.edu.vn
¹Tra Vinh University
Received date: 22nd June 2021; Revised date: 22nd June 2022; Accepted date: 23rd June 2022
*Corresponding author: ntalan@tvu.edu.vn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dược phẩm có nguồn gốc từ thực vật chứa nhiều hoạt tính sinh học quý và tiềm năng rất lớn cho việc điều trị bệnh. Nhiều loài thực vật đang được người dân sử dụng chữa bệnh tại nhà nhưng chỉ sử dụng theo dân gian mà không có bằng chứng khoa học nào về hiệu quả và độ an toàn của chúng. Việc chẩn đoán mô bệnh học giữ vai trò quan trọng trong việc xác định bệnh. Hình ảnh từ việc nghiên cứu vi mô học không chỉ là cơ sở vững chắc cho việc chẩn đoán bệnh mà còn định hướng điều trị và xác định tiên lượng cũng như đánh giá hiệu quả của thuốc. Từ đó, kết quả nghiên cứu vi mô học giúp cho các nhà khoa học có những nghiên cứu, phát triển sâu vào lĩnh vực tế bào học, ngành y học nói chung và bác sĩ nói riêng có định hướng điều trị bệnh hiệu quả và đúng đích tác động nhằm rút ngắn quá trình điều trị cho bệnh nhân. Vì vậy, trong nghiên cứu này, ảnh hưởng độc tính cấp của cao chiết lá xoài non đến cấu trúc mô gan/thận chuột nhắt trắng đã được thực hiện.

II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Hiện nay, lá xoài non (LXN) đang là đối tượng được nghiên cứu và cung cấp nhiều thông tin khoa học về khả năng ức chế hoạt động enzyme glucose-6-phosphatase, glucosase-6-phosphate dehydrogenase, cholesterol esterase, kháng oxy hóa, bảo vệ tế bào min6 tụy tạng in vitro, hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết, chống huyết khối trên chuột bệnh đái tháo đường in vivo [1–4]. Những nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, LXN có chứa các hợp chất như tannin, flavonoid, alkaloid, mangiferin, quinones, acid mangiferic, hydroxymangiferin, polyphenol [5].

Năm 2009, dịch chiết từ lá và vỏ thân cây xoài đã được nghiên cứu trên mô hình chuột bệnh đái tháo đường tuýp 1 và tuýp 2. Kết quả nghiên cứu đã khẳng định dịch chiết có khả năng gây hạ glucose huyết trên chuột bệnh đái tháo đường tuýp 2 và không gây ảnh hưởng đến chuột bình thường. Lá xoài đã được chứng minh có khả năng ức chế hoạt động của vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (MIC = 6,25 mg/mL), *Escherichia coli* (MIC = 50 mg/mL), *Clostridium tetani* và *Pseudomonas aeruginosa* [6]. Thành phần hóa học của lá xoài gồm: saponin, glucoside, sterol không bão

hòa, polyphenol, euxanthin acid, mangiferin, mangin và galic tanin. Trong đó, mangiferin là một xanthonoid có nhiều tác dụng sinh học đang được quan tâm như hoạt tính kháng viêm, chống dị ứng, kháng oxy hóa. Hàm lượng mangiferin trong LXN được chứng minh có nhiều khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lá xoài già [7].

Mangiferin li trích từ lá xoài đã được chứng minh có tác dụng điều trị bệnh đái tháo đường, ngăn ngừa các biến chứng do bệnh gây ra như tim mạch, giảm lipid máu, giảm LDL-C (low-density lipoprotein cholesterol) và tăng HDL-C (high-density lipoprotein cholesterol) ở chuột bệnh đái tháo đường với nồng độ 10 – 20 mg/kg trọng lượng sau 14 ngày [8, 9]. Ngoài ra, mangiferin còn có tác dụng bảo vệ tế bào gan, kháng viêm ở chuột với liều lượng 15 – 30 mg/kg trọng lượng. Nồng độ mangiferin có khả năng gây ra độc tính cấp trên chuột là lớn hơn 1.000 mg/kg trọng lượng/ngày, đây là một hàm lượng có khả năng gây độc rất thấp trên chuột nhắt trắng [7].

Từ những kết quả nghiên cứu trên, LXN được cho thấy có nhiều tiềm năng trở thành thuốc hoá được hỗ trợ cho quá trình hạ glucose huyết, khắc phục biến chứng rối loạn chuyển hoá lipid huyết trên bệnh nhân mắc bệnh ĐTĐ. Để làm rõ hơn về các hoạt tính sinh học của LXN, độc tính cấp và độc tính bán trường diễn đã được tiến hành trên mô hình chuột nhắt trắng *Mus musculus* L. Trong nghiên cứu này, cấu trúc vi mô học của các cơ quan nội tạng như gan và thận đã được nghiên cứu.

III. PHƯƠNG PHÁP VÀ PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU

A. Thời gian và địa điểm thí nghiệm

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 7/2020 đến tháng 5/2021 tại Phòng Thí nghiệm số động vật 5, 6 và 10 của Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ.

B. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Ảnh hưởng của LXN lên cấu trúc mô gan/thận chuột bình thường được xác định bằng cách cho chuột khỏe mạnh uống LXN ở nồng độ cao. Trong nghiên cứu này, mô gan/thận chuột nhắt trắng được tách lấy lần lượt từ bốn nhóm như sau: chuột bình thường uống nước muối sinh

lí (nhóm đối chứng sinh lí), chuột bình thường uống LXN nồng độ 1.000 mg/kg, 2.500 mg/kg và 5.000 mg/kg trọng lượng. Những tổn thương trong cấu trúc mô gan/thận của chuột bình thường sau khi uống cao chiết 14 ngày phản ánh độc tính của chúng đối với mô gan/thận.

C. Phương pháp thu thập kết quả

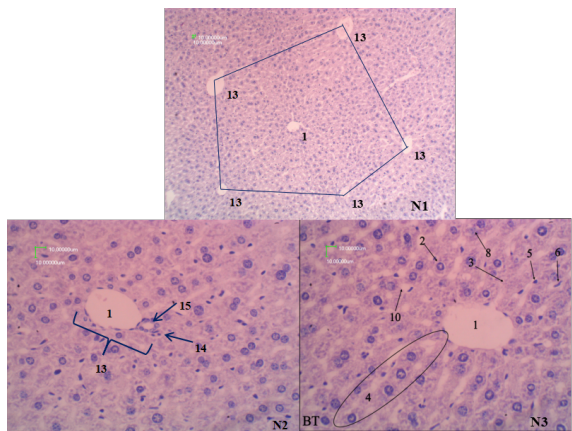
Mô bệnh học được tiến hành như sau: mẫu mô gan/thận sau khi được tách rời khỏi cơ thể sẽ được cố định ngay bằng dung dịch formol 2% trong một giờ cho mô cứng lại. Sau một giờ, mẫu được chuyển sang dung dịch formol 4% để trữ. Mẫu được trữ trong lọ bằng thủy tinh có nắp đậy kín để dung dịch cố định không bị bay hơi. Lọ được lắc nhẹ để mẫu tiếp xúc đều với dung dịch cố định. Mẫu gan sau khi cố định được tẩm parafin và cắt mẫu có chiều dày 3 μm. Sau đó, mẫu được nhuộm bằng hematoxylin và eosin (H&E). Cuối cùng, mẫu được quan sát dưới kính hiển vi quang học.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Ảnh hưởng của LXN đến cấu trúc mô gan

Trong các thí nghiệm, nghiệm thức đối chứng sinh lí đóng vai trò quan trọng đối với quá trình quan sát và so sánh với các nghiệm thức khác. Việc xác định cấu trúc vi mô học ở trạng thái bình thường (đối chứng sinh lí) của mô gan chuột là cơ sở, thước đo quan trọng cho những biến đổi về hình thái, cấu trúc của tế bào và mô dưới tác động của vật liệu nghiên cứu. Cấu trúc mô gan chuột đối chứng sinh lí được nhìn thấy hầu hết các cấu trúc điển hình gồm: một tiểu thùy gan theo mô hình của Kiernan. Từ Hình 1, tĩnh mạch trung tâm ở giữa và năm bộ ba khoảng cửa ở xung quanh được xác định rõ ràng. Mỗi khoảng cửa gan được nhìn thấy với bộ ba tĩnh mạch cửa, nhánh động mạch cửa và ống mật. Tĩnh mạch cửa gan có xoang rộng, thành mạch mỏng và nguyên vẹn. Động mạch cửa gan với xoang hẹp, thành mạch có lớp cơ dày. Ống mật có thành được lót bởi các tế bào biểu mô trụ liền kề, dễ dàng nhận biết với phần thành mạch bất màu xanh đậm do nhân của các tế bào biểu mô. Về tổng thể, mô gan chuột đối chứng sinh lí có tế bào gan là những tế bào vuông hoặc đa giác gần tròn, kích thước đều nhau. Những tế bào gan được phủ kín bởi dịch

bào với các nhân tròn đều ở vị trí trung tâm. Các tế bào gan sắp xếp trật tự thành các bè dây tế bào hướng vào tĩnh mạch trung tâm. Có thể thấy rõ các mao mạch nan hoa xen kẽ các dãy tế bào. Hầu hết lòng mạch có thành nguyên vẹn và không có dấu hiệu của sự tắc nghẽn. Sự xuất hiện một vài tế bào mất nhân là một tất yếu của chu kì tế bào gan và sự xâm nhập rải rác các tế bào lympho xen giữa các tế bào gan là cơ chế bình thường của cơ thể để loại bỏ các tế bào đã chết hoặc không còn chức năng. Ngoài ra, không có dấu hiệu của các tổn thương khác như viêm, xơ hóa hay nhiễm mỡ ở cấu trúc mô gan chuột bình thường.



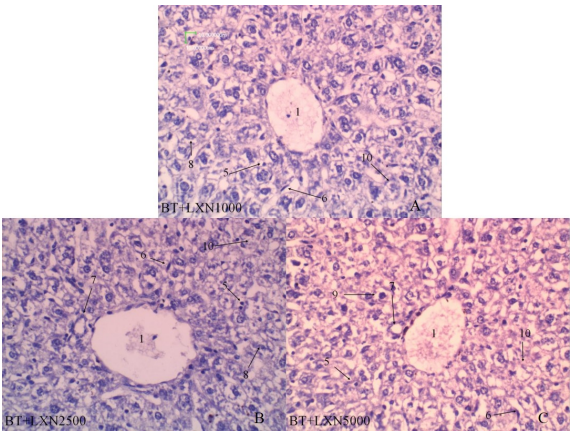
Hình 1: Cấu trúc tiểu thùy gan cổ điển ở nhóm đối chứng sinh lí

Ghi chú: N1: vùng tiểu thùy gan (× 100); N2: vùng bộ ba khoảng cửa (× 400); N3: vùng tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy; 1: tĩnh mạch trung tâm tiểu thùy; 2: tế bào gan; 3: xoang gan; 4: dây tế bào gan; 5: tế bào mono; 6: tế bào Kuffer; 8: tế bào nhân tan; 10: tế bào mất nhân; 13: bộ ba khoảng cửa; 14: động mạch cửa gan; 15: ống mật

Kết quả thực nghiệm cho thấy, LXN có ảnh hưởng đến mô gan chuột bình thường. Cấu trúc mô gan chuột bình thường uống LXN ở các nồng độ khảo sát đều thể hiện những tổn thương nghiêm trọng. Hình 2A cho thấy rằng, ở nồng độ 1.000 mg/kg khối lượng, LXN gây tổn thương gần như hoàn toàn cấu trúc mô gan chuột thí nghiệm. Tất cả tế bào gan ở trạng thái bất thường, phân bố ngẫu nhiên và dính vào nhau, không thể nhận biết dãy tế bào và các mao mạch nan hoa.

Hình dạng tế bào thay đổi, có nhân teo nhỏ không tròn. Bào tương vón lại thành các mảnh đậm màu để lại những khoảng trống trong tế bào. Nguyên nhân của tổn thương là do sự rối loạn trong trao đổi chất làm đông tụ các protein có trong dịch bào khi cung cấp một liều cao chất có chứa thành phần gây độc vào cơ thể. Ngoài ra, LXN còn gây lắng đọng chất béo làm xơ hóa mạch máu. Kết quả từ Hình 2B và 2C chỉ ra rằng, sự tổn thương có dấu hiệu tăng nặng khi tăng liều tác động lên đến 2.500 mg/kg (Hình 2B) và 5.000 mg/kg (Hình 2C) so với nồng độ 1.000 mg/kg khối lượng (Hình 2A). Mô gan tổn thương hoàn toàn, không còn thấy rõ cấu trúc tế bào. Hầu hết nhân tế bào ở trạng thái thoái hóa đông. Tăng biểu hiện xơ hóa mạch máu, cấu trúc xơ trong mạch trở nên dày đặc.

Kết quả phân tích trên cho thấy ảnh hưởng của LXN lên cấu trúc mô gan chuột bình thường có thể được tóm tắt như sau: LXN có ảnh hưởng đến cấu trúc mô gan chuột bình thường, chủ yếu gây nên xơ vữa mạch máu và rối loạn trao đổi chất. Bên cạnh đó, LXN cũng làm tăng số lượng tế bào nhân đông, nhân tan và mất nhân.



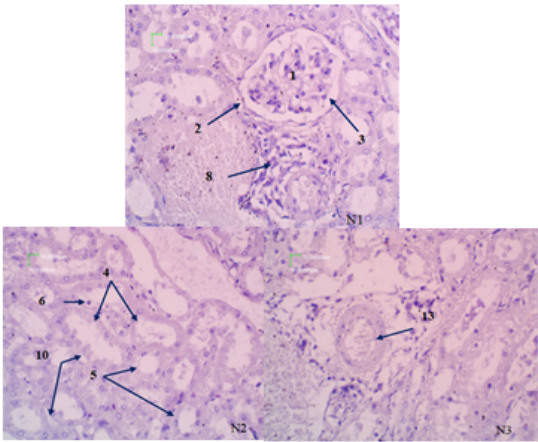
Hình 2: Độc tính cấp của LXN trên mô gan chuột thí nghiệm

Ghi chú: 1: tĩnh mạch; 5: tế bào Mono; 6: tế bào Kupffer; 7: ống mật; 8: tế bào nhân tan; 9: tế bào nhân đông; 10: tế bào mất nhân.

B. Ảnh hưởng của lá xoài non đến cấu trúc mô thận học

Hình ảnh ở nghiệm thức đối chứng sinh lí (Hình 3) chỉ ra rằng, các cấu trúc mô học cơ

bản của thận được quan sát rõ bao gồm tiểu cầu thận, ống lượn gần, ống lượn xa, động mạch thận. Trong tiểu cầu thận, chùm mao mạch Malpighi tách rời với thành xoang Bowman, các quai mao mạch mỡ, tỏa đều về phía thành xoang Bowman. Các ống thận xếp sát với nhau, các khe hở do sự tiếp xúc giữa các ống lượn gần và ống lượn xa tạo thành mô kẽ. Ống lượn gần có thành dày và cao so với ống lượn xa. Ống lượn xa có thành mỏng và lòng ống rộng. Các tế bào của thành ống với nhân sáng, sắp xếp đều và bắt màu tương phản với tế bào chất của thành ống, thấy rõ lớp màng nền của ống thận. Quan sát ở động mạch thận có thể thấy động mạch với xoang hẹp, thành dày, nguyên vẹn. Lòng ống có các hồng cầu, đây là đặc tính không có sự bất thường đối với chức năng của một động mạch, cũng như sự xuất hiện của các tổ chức thực bào quanh động mạch thận nhằm loại bỏ các tế bào chết hoặc không còn chức năng do quá trình lão hóa.



Hình 3: Cấu trúc vi mô học thận của nghiệm thức đối chứng sinh lí

Ghi chú: 1: chùm mao mạch Malpighi; 2: tiểu cầu thận; 3: xoang Bowman; 4: ống lượn gần; 5: ống lượn xa; 6: tế bào nhân đông; 8: tổ chức thực bào; 10: mô kẽ; 13: động mạch.

Kết quả vi mô học thận cho thấy LXN có ảnh hưởng đến thận chuột bình thường. Đối với nồng độ cao chiết 1.000 mg/kg khối lượng (Hình 3 N1), chúng tôi nhận thấy sự bất thường trong vùng xoang Bowman. Xoang Bowman bị lấn át bởi lớp vật chất, đè ép các búi mao mạch của cầu

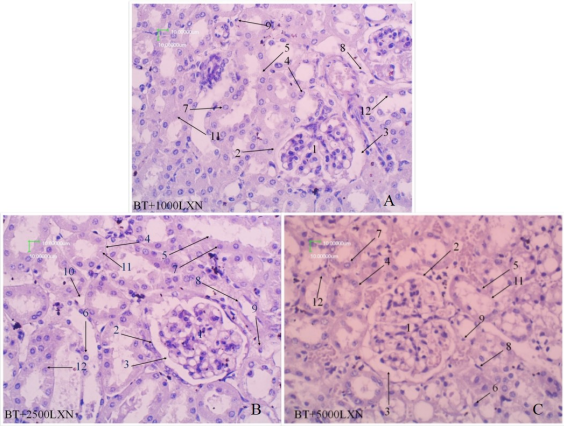
thận, nguyên nhân có thể là do ở nồng độ cao chiết cao, cầu thận chưa lọc thải hết các chất, gây tích tụ lại trong mô. Biểu hiện tổn thương mô rõ rệt ở nồng độ cao chiết 2.500 mg/kg (Hình 3 N2), chùm mao mạch cầu thận thay đổi kích thước, giãn rộng và có một quai mao mạch dính vào thành nang Bowman. Ảnh hưởng của LXN biểu hiện rõ ở nồng độ cao chiết liều cao 5.000 mg/kg khối lượng (Hình 3 N3), cầu thận bắt đầu có dấu hiệu xuất huyết, tắc nghẽn các hồng cầu trong các quai mao mạch. Chùm mao mạch giãn rộng cùng với cầu thận to so với bình thường. Bên cạnh đó, các ống thận cũng có sự tổn thương khi tăng liều LXN với những biểu hiện có thể quan sát như giãn nở ống lượn gần và ống lượn xa, xuất hiện nhiều tế bào lympho, mono, các tế bào mất nhân, nhân đông, nhân tan cũng tăng dần theo nồng độ cao chiết được sử dụng. Như vậy, kết quả phân tích cho thấy LXN có ảnh hưởng nhất định đến cấu trúc vi mô học thận bình thường. Ở các nồng độ thử độc tính cấp (1.000 mg/kg, 2.500 mg/kg và 5.000 mg/kg khối lượng), mô gan chuột uống LXN có những biểu hiện bị ảnh hưởng, tiến triển xấu theo nồng độ cao chiết tăng dần, đặc biệt nhận thấy rõ sự gia tăng kích thước cầu thận và sự mở rộng của chùm mao mạch cầu thận.

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, cao chiết LXN (1.000, 2.500 và 5.000 mg/kg) đã được chứng minh gây ảnh hưởng đến cấu trúc mô gan/thận chuột nhất trắng. Vì vậy, những cơ thể bình thường hay đang mang bệnh lí đều không nên tùy tiện sử dụng cao chiết LXN ở liều lượng lớn. Đây là thông tin mới và quan trọng, góp phần bổ sung dữ liệu cho những nghiên cứu trước đó cũng như các nghiên cứu tiếp theo về dược liệu nói chung và LXN nói riêng.

Lời cảm ơn

Tác giả chân thành cảm ơn Đái Thị Xuân Trang, Lê Ngọc Thơ, Nguyễn Minh Thông và Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ và cung cấp các phương tiện, thiết bị để thực hiện nghiên cứu này.



Hình 4: Ảnh hưởng độc tính của lá xoài non trên mô thận chuột thí nghiệm

Ghi chú: 1: chùm mao mạch Malpighi; 2: tiểu cầu thận; 3: xoang Bowman; 4: ống lượn gần; 5: ống lượn xa; 6: tế bào nhân đông; 7: tế bào bình thường; 8: tổ chức thực bào; 9: tế bào mono; 10: mô kẽ; 11: tế bào mất nhân; 12: tế bào nhân tan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang. Ảnh hưởng của cao chiết lá xoài non (*Mangifera indica* L.) đến hoạt động enzyme glucose-6-phosphate và glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2020; 56(2): 48–65.

[2] Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang. Khả năng kháng oxy hóa và bảo vệ tế bào tế bào min6 tụy tạng của dịch trích methanol lá xoài non (*Mangifera indica* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2018;54(7A): 85–93.

[3] Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang, Lư Thị Lan Thanh, Ninh Khắc Huyền Trân. Hiệu quả hạ glucose huyết của cao chiết lá xoài non (*Mangifera indica* L.) trên chuột bệnh đái tháo đường. Trong *Hội nghị Khoa học Toàn quốc lần thứ 7 về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*. Hà Nội; 2017.

[4] Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang. Hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống huyết khối trên chuột bệnh đái tháo đường của lá xoài (*Mangifera indica* L.). *Tạp chí Sinh học*. 2018; 40(2): 168–176.

- [5] Garrido G, González D, Delporte C, Backhouse N, Quintero G, Núñez-Sellés AJ, et al. Anagelsic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Phytother Research*. 2001;15: 18–21. [https://doi.org/10.1002/1099-1573\(200102\)15:1%3C18::AID-PTR676%3E3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1099-1573(200102)15:1%3C18::AID-PTR676%3E3.0.CO;2-R)
- [6] Ramírez N.M., M.F Leticia, A.S Francine, P.V.L João, I.D.S.D Maria, C.L.T Renata et al. Extraction of mangiferin and chemical characterization and sensorial analysis of teas from *Mangifera indica* L. *Beverages*. 2016;2(4): 33. <https://doi.org/10.3390/beverages2040033>
- [7] Bbosa G.S., L Aloysius, M Nathan, B David, Kye-gombe W., Paul et al. The activity of *Mangifera indica* leaf extracts against the tetanus causing bacterium, *Clostridium tetani*. *African Journal of Ecology*. 2007;45(8): 45–54. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2028.2007.00858>
- [8] Nguyễn Thị Ái Lan, Đái Thị Xuân Trang, Hiệu quả hạ glucose huyết, điều hòa lipid huyết và chống huyết khối trên chuột bệnh đái tháo đường của lá xoài non (*Mangifera indica* L.). *Tạp chí Sinh lý*. 2018;40(2): 168–176.
- [9] Muruganandan S, K. Srinivasan S. Gupta P.K. Gupta J. Lal. Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;97(3): 497–501. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.12.010>
- [10] Gururaja G.M., Mundkinajeddu D., Dethe S. M, Sangli G.K, Abhilash K., Agarwal A. Cholesterol esterase inhibitory activity of bioactive from leaves of *Mangifera indica* L. *Pharmacognosy Research*. 2015;7(4): 355–362. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.159578>