NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA RAU DỀN CƠM (*Amaranthus lividus* L.) THU HÁI TẠI TỈNH GIA LAI

Phạm Thiết Quốc¹, Nguyễn Trung Hiếu², Phan Thị Thu Sương³,
Đoàn Thị Quỳnh Trâm⁴, Nguyễn Minh Kỳ⁵

STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SLENDER AMARANTH (*Amaranthus lividus* L.) IN GIA LAI PROVINCE

Pham Thiet Quoc¹, Nguyen Trung Hieu², Phan Thi Thu Suong³,
Doan Thi Quynh Tram⁴, Nguyen Minh Ky⁵

Tóm tắt – Rau dền cơm là loại thực vật phổ biến ở tỉnh Gia Lai, có tác dụng chống ung thư, chống oxy hóa và kháng khuẩn. Nghiên cứu trình bày kết quả thử nghiệm hoạt tính sinh học của rau dền cơm (*Amaranthus lividus* L.) thu hái tại tỉnh Gia Lai. Đánh giá hoạt tính kháng tế bào ung thư (IC₅₀) cho kết quả tốt lần lượt với cao chiết EtOAc và n-hexan là 8,0 µg/ml và 11,2 µg/ml (≤ 20 µg/ml, NCI). Kết quả so sánh cho thấy, cao chiết EtOAc từ rau dền cơm có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn so với cao chiết MeOH. Tuy nhiên, cao chiết từ *Amaranthus lividus* L. chưa có khả năng kháng oxy hóa tại nồng độ khảo sát thấp 1-64 µg/ml. Kết quả thành phần hoạt tính sinh học của rau dền cơm chỉ ra triển vọng ứng dụng nguồn dược liệu có nguồn gốc thiên nhiên.

Từ khóa: chống ung thư, hoạt tính sinh học, rau dền cơm, tỉnh Gia Lai.

*antibacterial properties. The study presents the experimental results of biological activity of *Amaranthus lividus* L. collected in Gia Lai Province. Evaluation of anti-tumor activity (IC₅₀) showed good results with EtOAc and n-hexane with extracts of 8.0 µg/ml and 11.2 µg/ml (≤ 20 µg/ml, NCI) respectively. The comparison results showed that the EtOAc extract from *Amaranthus lividus* L. has better antibacterial activity than the MeOH extract. However, the investigated extracts from *Amaranthus lividus* L. were incapable of inhibiting oxidation at low concentrations of 1-64 µg/ml. Results of biologically active ingredients in *Amaranthus lividus* L. illustrated the applied prospects of natural medicine sources.*

Keywords: *Amaranthus lividus* L., anti-cancer, biological activities, Gia Lai Province.

Abstract – Slender amaranth (*Amaranthus lividus* L.) is a popular plant in Gia Lai Province, with anti-cancer, antioxidant and

I. MỞ ĐẦU

Song song với sự tăng trưởng kinh tế mạnh mẽ, tình trạng mắc bệnh ung thư ngày càng diễn biến phức tạp [1]. Các nhà khoa học hiện đang tìm kiếm các nguồn dược phẩm có nguồn gốc thực vật có khả năng đẩy lùi chứng bệnh ung thư. Việt Nam thuộc vùng nhiệt đới gió mùa nên phong phú về thực vật, có nhiều loài được sử dụng trong y học cổ truyền [2] - [3]. Rau dền là tên gọi chung các loài chỉ dền, mọc hoang dại nhiều và dễ tìm kiếm. Theo các tài liệu được công bố, thành

^{1,2,3}Trường THPT Hà Huy Tập, huyện Kông Chro, tỉnh Gia Lai

^{4,5}Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

Ngày nhận bài: 30/9/2019; Ngày nhận kết quả bình duyệt: 5/2/2020; Ngày chấp nhận đăng: 4/3/2020

Email: nmky@hcmuaf.edu.vn

^{1,2,3}Ha Huy Tap High School, Kông Chro District, Gia Lai Province

^{4,5}Nong Lam University Ho Chi Minh City

Received date: 30th September 2019; Revised date: 5th February 2020; Accepted date: 4th March 2020

phần lá rau dền cơm (*Amaranthus viridis* L.) chứa 84,5% nước, 3,4% protein, 1,4% glucit, 1,6% xenlulozo; ngoài ra, 100 g lá dền cơm có chứa 63 mg vitamin C, 10,5 mg caroten, 0,36 mg vitamin B2, 1,3 mg vitamin PP [4] – [5]. *Amaranthus viridis* L. được thấy ở nhiều vùng khí hậu khác nhau, từ đồng bằng tới vùng núi ở độ cao 1.000 m. Hơn nữa, các hợp chất có hoạt tính sinh học được tìm thấy từ thiên nhiên có thể dùng trực tiếp trong y học [3]. *Amaranthus viridis* L. còn được sử dụng để điều trị táo bón, viêm nhiễm, các bệnh mụn nhọt ở da, thiếu máu [2], [4]. Đây là loại rau phổ biến ở nhiều tỉnh thành của Việt Nam, rau có thể thu hái quanh năm, rửa sạch, phơi khô và sử dụng cả rễ, thân, lá [6]. Các nghiên cứu về sinh học và dược lý hiện đại cho thấy rễ, thân, lá cây rau dền cơm chứa các vitamin, các hợp chất steroids, saponin, flavonoids, lipid [7]. Đây là chủ đề nghiên cứu của nhiều tác giả [4] – [5], [8], tuy nhiên, hiện tại chúng ta chưa có công trình nghiên cứu về hoạt tính sinh học trong cao chiết của rau dền cơm trên địa bàn đặc thù vùng Tây Nguyên như ở tỉnh Gia Lai. Do đó, đề tài “Nghiên cứu hoạt tính sinh học của rau dền cơm (*Amaranthus lividus* L.) thu hái tại tỉnh Gia Lai” có ý nghĩa thực tiễn. Mục tiêu nghiên cứu nhằm khảo sát và so sánh hoạt tính sinh học (kháng tế bào ung thư gan, kháng khuẩn và kháng oxy hóa) trong các loại cao chiết MeOH, n-hexan, EtOAc từ rau dền cơm.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

A. Đặc điểm rau dền cơm

* Rau dền: Chi dền là những loài cây thân thảo, bộ rễ khỏe, ăn sâu, khả năng chịu hạn và ngập nước. Rau dền thường có một thân thẳng, cành vươn vừa phải, lá mọc đơn, có thể mọc đối hay so le, mép lá nhẵn hay có khía, không có lá kèm. Hoa mọc đơn hoặc thành từng cụm hình xim, thường là hoa hoàn hảo (lưỡng tính) và đối xứng tỏa tia. Hoa có 4-5 cánh nhỏ, có 1-5 nhị hoa. Nhụy hoa dạng dưới bầu, có 3-5 lá đài kết nối với nhau. Quả có thể là quả bế, quả hạch, hay quả nang nứt theo đường vòng [6], [9].

* Nguyên liệu: Rau dền cơm *Amaranthus lividus* L. được thu thập ở địa bàn xã Chư Long và thị trấn Kông Chro, huyện Kông Chro, tỉnh Gia Lai. Nguyên liệu được tuyển chọn với những cây khỏe, sạch, không bị sâu bọ.

Hình 1: Rau dền cơm trước và sau thái nhỏ

* Xử lý sơ bộ nguyên liệu: Nguyên liệu sau khi thu hái, rửa sạch cẩn thận để quá trình chiết tách đạt hiệu quả cao, đồng thời loại bỏ những cây bị hư trước khi phơi khô và thái nghiền nhỏ.

B. Phương pháp xử lý mẫu, chiết xuất và tạo cao chiết

* Lấy mẫu và xử lý mẫu: *Amaranthus lividus* L. được thu hái, rửa sạch, phơi khô, thái nhỏ để tạo mẫu nguyên liệu khô.

Hình 2: Rau dền cơm trước và sau thái nhỏ

* Phương pháp chiết mẫu và tạo cao chiết: Mẫu khô (3 kg) được nghiền nhỏ, sau đó được ngâm chiết với dung môi MeOH. Quá trình chiết được thực hiện ba lần, thời gian 24 h/lần. Dịch chiết của ba lần chiết được gom lại và tiến hành cất loại dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ $\leq 45^{\circ}\text{C}$, thu được cao chiết. Cao chiết tổng được pha loãng bằng nước cất sau đó chiết phân bố lần lượt với các dung môi n-hexan và EtOAc. Cất loại

hết dung môi từ các dịch thu được ba cao chiết: MeOH, n-hexan và EtOAc [10].

C. Phương pháp thử hoạt tính sinh học

Thử kháng độc tế bào bằng phương pháp thử độ độc tế bào in vitro được Viện Ung thư Quốc gia Hoa Kỳ (NCI) xác nhận là phép thử độ độc tế bào chuẩn nhằm sàng lọc, phát hiện các chất có khả năng kìm hãm sự phát triển hoặc diệt tế bào ung thư ở điều kiện in vitro [11]. Giá trị IC_{50} được tính dựa trên kết quả số liệu phần trăm kìm hãm sự phát triển của tế bào bằng phần mềm máy tính. Thí nghiệm hoạt tính kháng nấm, kháng khuẩn được kiểm định theo phương pháp khuếch tán trong bản thạch và phương pháp pha loãng đa nồng độ để xác định IC_{50} [12]. Nguyên tắc thử hoạt tính kháng oxi hóa sử dụng 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) [13]. Hình 3 thể hiện đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ DPPH và mật độ quang học.

Hoạt tính kháng oxi hóa của mẫu thử được đánh giá dựa trên khả năng loại bỏ gốc tự do thông qua việc làm giảm màu của DPPH; xác định bằng độ hấp thụ quang của dung dịch sau phản ứng đo tại bước sóng $\lambda = 517$ nm. Quercetin được sử dụng như chất đối chứng dương. Trong đó, các mẫu chất thử được pha với dãy nồng độ lần lượt tương ứng 256, 64, 16, 4, 1 $\mu\text{g/ml}$. Những thí nghiệm về thử hoạt tính sinh học như kháng tế bào ung thư gan, kháng khuẩn và kháng oxi hóa được thực hiện tại Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

A. Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan

Nhìn chung, cây rau dền có tác dụng chống ung thư, chống oxi hóa và kháng khuẩn [8]. Dịch chiết rau dền thể hiện chức năng ức chế enzym α -amylase, tác dụng chống viêm tốt, có khả năng bảo vệ gan cũng như chống oxi hóa [14], [15]. Nghiên cứu tiến hành thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan đối với từng cao chiết với những nồng độ khác nhau thu được kết quả ở Hình 4.

Năm 2015, nhóm nhà khoa học người Philippines đã báo cáo phân lập được các hợp chất như squalene, spinasterol, trilinolein, polyphenol và phytol từ lá và rễ cây *Amaranthus* [7]. Đây là các hợp chất có hoạt tính sinh học đáng quan tâm như spinasterol có tác dụng chống ung thư (ung thư vú, ung thư tử cung), chống viêm và kháng khuẩn. Squalene cũng có tác dụng chống ung thư phổi, trực tràng, da và tác dụng chống oxi hóa. Trilinolein có tác dụng chống ung thư, kháng viêm, chống đông máu. Polyphenol có tác dụng chống ung thư vú và kích thích miễn dịch [2]. Trong nghiên cứu này, các phép thử được lặp lại ba lần để đảm bảo tính chính xác. Ellipticine được sử dụng như là chất đối chứng dương. Chất đối chứng dương Ellipticine hoạt động ổn định trong quá trình thí nghiệm. IC_{50} của các cao chiết n-hexan, EtOAc đều lớn hơn so với chất đối chứng dương ellipticine. Căn cứ giá trị IC_{50} được tính dựa trên kết quả số liệu phần trăm kìm hãm sự phát triển của tế bào ung thư cho thấy: cao chiết EtOAc có hoạt tính kháng tế bào ung thư rất cao ($IC_{50} = 8,0 \mu\text{g/ml}$); cao chiết n-hexan có thể hiện hoạt tính kháng tế bào ung thư ở mức cao ($IC_{50} = 11,2 \mu\text{g/ml}$). Theo tiêu chuẩn của NCI, cao chiết được đánh giá có hoạt tính tốt với giá trị $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ [11]. Kết quả chỉ ra IC_{50} trong các loại cao chiết n-hexan và EtOAc từ *Amaranthus lividus* L. thu hái tại tỉnh Gia Lai thấp hơn so với nghiên cứu trước với $IC_{50} = 43,45 \mu\text{g/ml}$ [4]. Điều này biểu thị các loại cao chiết n-hexan và EtOAc từ *Amaranthus lividus* L. thu hái tại tỉnh Gia Lai có nồng độ các chất kháng tế bào ung thư gan cao. Cao chiết MeOH không thể hiện hoạt tính gây độc tế bào ung thư tại nồng độ 256 ($\mu\text{g/ml}$) hoặc thấp hơn. Mặt khác, rau dền cơm có thể được dùng trong việc bào chế thực phẩm bổ sung và thực phẩm ăn kiêng, cũng như chế biến thức ăn dinh dưỡng cho trẻ [16]. Do rau dền mọc hoang nhiều, dễ tìm kiếm nên thuận lợi cho người dân thường xuyên tiếp xúc, sử dụng để nâng cao sức khỏe, hạn chế bệnh tật và chất lượng cuộc sống.

Hình 3: Tương quan mật độ quang học và DPPH

Hình 4: Kết quả thử hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan

B. Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn

Nghiên cứu trước đây cho thấy rằng *Amaranthus* không chỉ có tác dụng chống ung thư, chống oxi hóa mà còn có khả năng kháng khuẩn [8]. Bảng 1 trình bày kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn các loại cao chiết từ rau dền cơm được thu hái tại tỉnh Gia Lai.

Ảnh hưởng của các cao chiết lên sự phát triển của vi khuẩn, nấm được khảo sát chỉ ra ở các mẫu thử 1 (cao chiết MeOH), 2 (cao chiết n-hexan) không thể hiện hoạt tính ức

chế vi sinh vật kiểm định ở nồng độ thấp hơn hoặc bằng 256 µg/ml. Mẫu thử 3 (cao chiết EtOAc) có thể hiện hoạt tính ức chế nhẹ với các chủng vi sinh vật gram (+) và không thể hiện hoạt tính với các chủng kiểm định khác. Kết quả so sánh cho thấy, cao chiết EtOAc từ rau dền cơm có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn so với cao chiết MeOH. Chúng ta có thể nhận thấy cao chiết rau dền có dấu hiệu diệt một số chủng vi khuẩn và nấm kiểm định ở mức độ thấp. Như vậy, việc nghiên cứu hoạt tính sinh học của rau dền không những giúp

Bảng 1: Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn

Tên mẫu	Nồng độ thử (µg/ml)	Phần trăm ức chế tại các nồng độ thử (%)						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
Cao chiết MeOH	256	0	0	28	0	0	0	0
	64	0	0	0	0	0	0	0
	16	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
	IC ₅₀	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256
Cao chiết n-hexan	256	0	0	0	0	0	0	0
	64	0	0	0	0	0	0	0
	16	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
	IC ₅₀	>256	>256	>256	>256	>256	>256	>256
Cao chiết EtOAc	256	41	45	52	0	0	0	0
	64	33	10	19	0	0	0	0
	16	14	0	0	0	0	0	0
	4	2	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
	IC ₅₀	>256	>256	244,4	>256	>256	>256	>256

(Chú thích: IC₅₀>256: Không thể hiện hoạt tính)

sử dụng được liệu một cách hiệu quả mà trên cơ sở đó còn có thể xác định được những hoạt chất quý. Qua đó, nghiên cứu phần nào bổ sung vào dữ liệu khoa học cho việc tìm ra sản phẩm được liệu điều trị các bệnh liên quan.

C. Kết quả thử hoạt tính kháng oxi hóa

Các dạng oxi hoạt động (ROS) là nguyên nhân gây ra nhiều bệnh tật nguy hiểm như ung thư, bệnh tim mạch, hen suyễn, viêm gan, tổn thương gan và các bệnh suy giảm miễn dịch [17]. Các hợp chất chống oxi hóa như polyphenol và flavonoid có tác dụng làm sạch các gốc tự do như peroxide, hydroperoxide hoặc lipid peroxide và do đó ức chế các cơ chế oxi hóa dẫn đến các bệnh thoái hóa [18]. Ashok et al. (2011) cũng chứng minh dịch chiết cây *Amaranthus* còn thể hiện tác dụng bảo vệ gan, chống oxi hóa [14]. Một số thành phần hóa học trong *Amaranthus* được xác định bằng phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) như các flavonoid, rutin,

quercetin [4]. Cao chiết denn cơm đã được khảo sát thành phần hoá học như tannin, alkaloid và flavonoid [19] – [20]. Flavonoid là một nhóm của lớp chất phenolic, đặc trưng bởi ít nhất một nhân benzen liên kết với ít nhất một nhóm OH ở dạng tự do. Flavonoid có khả năng kìm hãm các quá trình oxi hóa dây chuyền gây ra bởi các gốc tự do hoạt động. Như vậy, hoạt động kháng khuẩn và kháng oxi hoá của các cao chiết denn cơm có thể do tác động của flavonoid. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành thử hoạt tính kháng oxi hóa đối với từng cao chiết, kết quả như Bảng 2.

Quercetin thể hiện hoạt tính chống oxi hóa DPPH với giá trị EC₅₀ là 8,23 µg/ml. Trong nghiên cứu này, các hợp chất phân lập thể hiện hoạt tính chống oxi hóa mạnh thuộc lớp chất flavonoid. Hiệu quả kháng oxi hóa dựa trên sự trung hòa gốc tự do DPPH của cao được li trích từ các bộ phận cây denn cơm được so sánh dựa trên hiệu quả trung hòa 50% gốc tự do, gọi là giá trị EC₅₀ (Effective

Bảng 2: Kết quả thử hoạt tính kháng oxi hóa

Tên mẫu	Phần trăm có hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH tương ứng nồng độ (µg/ml)					Giá trị EC ₅₀ (µg/ml)
	256	64	16	4	1	
Cao chiết MeOH	12	0	0	0	0	>256
Cao chiết n-hexan	0	0	0	0	0	>256
Cao chiết EtOAc	15	0	0	0	0	>256
Quercetin						8,23

(Chú thích: EC₅₀>256: Không thể hiện hoạt tính; Quercetin: Chất đối chứng dương)

Concentration of 50%). Hiệu quả loại bỏ 50% gốc tự do cho thấy phần trăm có hiệu quả trung hòa gốc tự do DPPH của cao chiết MeOH và EtOAc ở nồng độ 256 µg/ml lần lượt tương ứng 12% và 15%. Kết quả nghiên cứu bước đầu thể hiện nguồn tiềm năng chất chống oxi hóa của rau dền cơm *Amaranthus lividus* L. thu hái trên địa bàn tỉnh Gia Lai [21]. Tuy vậy, trong tương lai, chúng ta cần tiến hành nghiên cứu chuyên sâu khả năng kháng oxi hóa của các cao chiết ở dãy nồng độ khảo sát cao hơn.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu tiến hành thử các hoạt tính sinh học chỉ ra rằng, hoạt tính gây độc tế bào ung thư gan: cao chiết EtOAc có hoạt tính kháng tế bào ung thư rất mạnh (IC₅₀ là 8,0 µg/ml), cao chiết n-hexan có hoạt tính kháng tế bào ung thư mạnh (IC₅₀ là 11,2 µg/ml), riêng cao chiết MeOH chưa thấy có hoạt tính kháng tế bào ung thư gan tại nồng độ nghiên cứu. Kết quả hoạt tính kháng khuẩn đối với cao chiết MeOH và n-hexan không thể hiện hoạt tính ức chế vi sinh vật kiểm định ở nồng độ thấp hơn hoặc bằng 256 µg/ml. Cao chiết EtOAc có thể hiện hoạt tính ức chế nhẹ với các chủng vi sinh vật gram (+) (IC₅₀ là 244,4 µg/ml) và không thể hiện hoạt tính với các chủng kiểm định khác. Ngoài ra, với hoạt tính kháng oxi hóa, các loại cao chiết này chưa có kết quả thể hiện rõ.

Như vậy, cao chiết từ *Amaranthus lividus* L. (n-hexan và EtOAc) có hoạt tính sinh học quý là kháng tế bào ung thư gan và kháng

khuẩn nhẹ (đối với cao chiết EtOAc). Việc thử hoạt tính sinh học trong các loại cao chiết từ *Amaranthus lividus* L. cho thấy chúng có hoạt tính kháng tế bào ung thư gan (đối với cao chiết n-hexan và EtOAc). Do đó, chúng ta cần nghiên cứu sâu hơn nữa để tạo chế phẩm có khả năng chữa bệnh như ung thư gan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Nigel H. Cancer survival data emphasise importance of early diagnosis. *BMJ*. 2019;p. 364: 1408.

[2] Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học; 2004.

[3] Nguyễn Văn Dân, Ngô Ngọc Khuyến. *Hợp chất thiên nhiên dùng làm thuốc*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học; 2009.

[4] Lê Nguyễn Thành, Cao Thị Huệ, Bùi Thu Hà, Nguyễn Văn Quyền, Phan Thanh Thư. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và hoạt tính sinh học của cây Rau dền cơm (*Amaranthus lividus* L.) thu hái tại Hưng Yên. *Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7*; 2017. 1468-1474.

[5] Phạm Mạnh Hùng. *Nghiên cứu đặc tính sinh hóa sinh được của cao chiết n- hexan ở cây rau dền cơm (Amaranthus viridis L.)* [Luận văn Thạc sĩ]. Trường Đại học Sư phạm Hà Nội 2; 2017.

[6] Võ Văn Chi. *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học; 2012.

[7] Ragasa C Y, Austria J P M, Subosa A F, Torres O B, Shen C C. Chemical Constituents of *Amaranthus viridis*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2015;51(1): 146–147.

[8] Jin Y S, Xuan Y, Chen M, Chen J, Jin Y, Piao J, et al. Antioxidant, antiinflammatory and anticancer activities of *Amaranthus viridis* L. Extracts. *Asian Journal of Chemistry*. 2013;25(16):8901–8904.

[9] Phạm Hoàng Hộ. *Cây cỏ Việt Nam 2*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nhà Xuất bản Trẻ; 2000.

[10] Nguyễn Kim Phi Phụng. *Phương pháp cô lập hợp chất hữu cơ*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nhà Xuất bản Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh; 2007.

- [11] Monks A, Scudiero D, Skehan P, Shoemake R, Paull K, Vistica D, et al. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of National Cancer Institute*. 1991;11:757.
- [12] Hadacek F, Greger H. Test of antifungal natural products methodologies, comparability of result and assay choice. *Phytochem Anal*. 2000;90:137–147.
- [13] Kai M, Klaus H V, Sebastian L, Ralf H, Andreas R, Ulf-Peter H. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*. 2007;7:2080–2095.
- [14] Ashok B S, Lakshman K, Narayan V B, Arun P A, Sheshadri S D, Manoj B, et al. Hepatoprotective and antioxidant activities of *Amaranthus viridis* L. *Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2011;4(2):125–130.
- [15] Vivek K R, Satish K, Shashidhara S, Anitha S. Invitro Antioxidant, AntiAmylase, Anti-Arthritic and Cytotoxic Activity of Important Commonly Used Green Leafy Vegetables. *Int J PharmTech Res*. 2011;3(4):2096–2103.
- [16] Cao T H, Nguyen T M H, Le N T, Alekseeva E I, Nguyen V H. Study on preparation and characterization of protein hydrolysate from amaranth seed using a commercial protease. *The Vietnamese journal of Science and Technology*. 2015;53(2A):1–7.
- [17] Lee J, Koo N, Min D B. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2004;3(1):21–33.
- [18] Wu Y Y, Li W, Xu Y, Jin E H, Tu Y Y. Evaluation of the antioxidant effects of four main theaflavin derivatives through chemiluminescence and DNA damage analyses. *Journal of Zhejiang University Science*. 2011;12(9):744–751.
- [19] Nazish N, Sonia M, Rajinder K G. Nutritional and phytochemical evaluation of *A. lividus* L. syn. *Amaranthus blitum* subsp. *oleraceus* (L.) Costea leaves. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2016;15(4):669–674.
- [20] Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*. 2004;24:851.
- [21] Ozsoy N, Yilmaz T, Kurt O, Can A, Yanardag R. In vitro antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L. *Food Chemistry*. 2009;116(4):867–872.