

Aktiviti Antimalaria secara *in vitro* Kompleks Logam Ligan Makrosiklik Tetraaza terhadap Strain *Plasmodium falciparum* K1

(*in vitro* Antimalarial Activity of Metal Complexes of Tetraazamacrocyclic Ligands against *Plasmodium falciparum* K1 Strain)

NUR AQILAH ZAHIRAH NORAZMI¹, NUR HAFIZAH MUKHTAR¹, AMATUL HAMIZAH ALI¹, NURUL HUDA ABD KARIM¹, SITI FAIRUS MOHD YUSOFF¹, HANI KARTINI AGUSTAR², MOHD RIDZUAN MOHD ABD RAZAK³ & NURUL IZZATY HASSAN^{1*}

¹Department of Chemical Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

²Department of Earth Science and Environment, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

³Herbal Medicine Research Centre, Institute for Medical Research, National Institute of Health (NIH) Complex, Ministry of Health Malaysia, 40170 Shah Alam, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

Received: 27 June 2021/Accepted: 19 August 2021

ABSTRAK

Malaria masih lagi kekal menjadi salah satu penyakit endemik yang boleh membawa maut dan rawatan yang digunakan kini untuk merawat malaria adalah terapi gabungan artemisinin. Namun begitu, akses kepada rawatan ini adalah sangat terhad dan memberi kesan besar kepada negara miskin disebabkan kos terapi yang tinggi. Penilaian aktiviti antimalaria bagi kompleks organologam berasaskan ligan makrosiklik tetraaza masih kurang meluas dijalankan. Ligan makrosiklik tetraaza 5,5,7,12,12,14- heksametil-1,4,8,11- tetraazasiklotetradeka-7,14-dienium bromida, dikomplekskan dengan empat logam peralihan iaitu Cu(II), Pb(II) dan Ni(II) dan Cd(II). Aktiviti antimalarial secara *in vitro* ke atas strain parasit *Plasmodium falciparum* yang rintang terhadap klorokuina, K1 ditentukan dan dibandingkan dengan aktiviti antiplasmodial sebatian klorokuina dan artemisinin. Kompleks [Cd(L)(OAc)]Br merencat pertumbuhan parasit dengan 50% kepekatan perencatan berkesan (EC_{50}) dalam julat aktiviti antiplasmodium yang poten ($EC_{50} < 1 \mu M$) manakala Cu(L)(OAc)]Br menunjukkan kesan aktiviti antiplasmodium sederhana ($20 < EC_{50} < 100 \mu M$). Aktiviti kesitotoksikan terhadap sel mamalia Vero yang ditunjukkan oleh kompleks logam Cd(II) berada dalam julat sederhana toksik ($10 \mu M < CC_{50} < 100 \mu M$), manakala, Cu(II), Pb(II) dan Ni(II) berada dalam julat tidak toksik ($CC_{50} > 100 \mu M$). Nilai indeks pemilihan yang tinggi turut ditunjukkan oleh kompleks Cd(II) iaitu 60.5 seterusnya menjadikan kompleks ini berpotensi untuk dibangunkan sebagai agen antimalaria.

Kata kunci: Antiplasmodium; *in vitro*; kesitotoksikan; makrosiklik tetraaza, *Plasmodium falciparum* K1

ABSTRACT

Malaria remains one of the most lethal endemic diseases, and the treatment used today to treat malaria is artemisinin-based combination therapy. However, access to this treatment is minimal and has a huge impact on low-income countries due to the high cost of therapy. The evaluation of antimalarial activity for metal complexes based on tetraaza macrocyclic ligand is unlimited. The macrocyclic 5,5,7,12,12,14-hexamethyl-1,4,8,11-tetraazacyclotetradeca-7,14-dienium bromide is complexed with four transition metals, namely Cu(II), Pb(II) and Ni(II) and Cd(II). *in vitro* antimalarial activity on parasite strain *Plasmodium falciparum* resistant to chloroquine, K1 is determined and compared to the antiplasmodial activity of chloroquine and artemisinin compounds. Complex [Cd(L)(OAc)]Br inhibits the growth of parasites with 50% effective inhibition concentration (EC_{50}) within the potent range of antiplasmodial activity ($EC_{50} < 1 \mu M$) while Cu(L)(OAc)]Br shows the effect of activity moderate antiplasmodial ($20 < EC_{50} < 100 \mu M$). The activities of the toxicity of Vero mammalian cells indicated by the metal complex, Cd(II) are within moderate toxicity range ($10 \mu M < CC_{50} < 100 \mu M$), while Cu(II), Pb(II) and Ni(II) are within the non-toxic range ($CC_{50} > 100 \mu M$). The high selection index value is also indicated by the Cd(II) complex of 60.5, making this complex potentially to be developed as an antimalarial agent.

Keywords: Antiplasmodial; *in vitro*; cytotoxicity; *Plasmodium falciparum* K1; tetraaza macrocyclic

PENGENALAN

Malaria merupakan antara penyakit parasit berjangkit berbahaya yang meragut berjuta-juta nyawa di seluruh dunia dan tersebar luas terutamanya di Asia Tenggara, Amerika Selatan, dan Afrika Sahara Selatan (Antony & Parija 2016; Hossain et al. 2016). Menurut Laporan Malaria Sedunia 2019 terbitan Pertubuhan Kesihatan Sedunia (WHO 2019), terdapat 228 juta kes malaria dilaporkan di seluruh dunia pada tahun 2018 dengan kebanyakan kes berlaku di Afrika. Pada tahun 2018, Malaysia berjaya mencapai sifar kes malaria manusia jangkitan tempatan untuk pertama kalinya, dua tahun lebih awal daripada sasaran. Namun begitu, Malaysia menghadapi peningkatan kes malaria zoonotik *P. knowlesi* yang berpunca daripada monyet serta kes malaria import dari negara luar melalui kedatangan pekerja asing dari negara jiran berdekatan (Hussin et al. 2020; Yong et al. 2018).

Ubatan berasaskan kuinolina seperti klorokuina yang pernah digunakan sebagai rawatan barisan pertama untuk malaria kini tidak lagi berkesan disebabkan kedayatahan parasit *Plasmodium* yang boleh meneutralkan kesan sebatian klorokuina tersebut (Boudhar et al. 2016). Untuk meningkatkan keberkesanan ubat dan melambatkan kerintangan parasit terhadap ubat, penggunaan ubatan antimalaria telah digunakan secara gabungan dengan dua ubat berbeza digunakan (Antony & Parija 2016). Sehingga kini, rawatan utama dalam merawat malaria adalah terapi gabungan berasaskan artemisinin dan terbitannya (ACT) (Boudhar et al. 2016; Stringer et al. 2019). Keberkesannya turut terancam apabila parasit malaria menjadi semakin berdaya tahan terhadap bahan aktif dalam gabungan tersebut (Fairhurst & Dondorp 2016). Oleh itu, perlunya penggandaan usaha dalam pencarian ubat antimalaria baru sebagai rawatan alternatif yang lebih murah serta mampu mengatasi daya tahan daripada parasit (Ali et al. 2020; Bueno et al. 2011; Zakaria et al. 2020).

Parasit malaria mencerna sebahagian besar hemoglobin di dalam sel darah merah hos yang dijangkiti. Proses katabolik ini membebaskan sejumlah besar ferum-protoporfirin IX atau hem, yang dinyahtoksikan oleh parasit melalui proses penghabluran hem untuk menghasilkan hemozoin (Kapishnikov et al. 2012; Ke et al. 2014). Kebanyakan ubat antimalaria termasuk klorokuina mengganggu proses penyahtoksikan hem dengan merencatkan pempolimeran hem kepada β -hematin melalui pembentukan interaksi π - π bersama monomer hem (Fitch 1998; Ginsburg et al. 1998; Monti et al. 1999). Ini menunjukkan penghasilan hem yang banyak tanpa pertukaran bentuk kepada hemozoin boleh mengganggu

kelangsungan hidup parasit. Oleh itu, sebarang bentuk perencatan penyahtoksikan hem adalah berguna dalam melawan parasit malaria.

Penggabungan ion logam peralihan bersama struktur organik boleh meningkatkan aktiviti biologi struktur tersebut di samping menawarkan kepelbagaian molekul dalam penemuan ubat (Ali et al. 2021; Bahl et al. 2010). Sebagai contoh, organologam terbitan klorokuina seperti Ferrokuina telah berjaya melepasi fasa ujian klinikal IIB dan kini sedang dibangunkan sebagai alternatif rawatan malaria (McCarthy et al. 2016). Pendekatan ini turut digunakan oleh Hubin dan pasukan penyelidikannya dengan ligan makrosiklik tetraaza bersilang dan bersebelahan jambatan disintesis untuk menghasilkan satu siri kompleks logam makrosiklik tetraaza (Amoyaw et al. 2014; Hubin et al. 2014, 2019) seperti siklen (1,4,7,10-tetraazasiklododekana) dan siklam (1,4,8,11-tetraazasiklotetradekana). Kesemua kompleks logam makrosiklik tetraaza bersebelahan jambatan yang disintesis oleh Hubin et al. (2014) menunjukkan aktiviti antimalaria yang tinggi terhadap strain rintangan klorokuina *Plasmodium falciparum* W2 dan strain sensitif klorokuina *Plasmodium falciparum* D6, dengan kompleks logam Mn^{2+} merupakan sebatian paling poten ($EC_{50(W2)} = 0.157 \mu M$, $EC_{50(D6)} = 0.127 \mu M$).

Selain itu, sebatian makrosiklik tetraaza sintetik ini mempunyai reka bentuk yang mirip dengan struktur hem, mampu membentuk ikatan dengan ion logam (Amoyaw et al. 2014; Hossain et al. 2016; Khan et al. 2009) dan mempunyai kadar ketoksikan yang sangat rendah (Chen et al. 2009; Pilichowski et al. 1983; Srivastava et al. 1988). Hasilnya, ligan siklen dan siklam serta kompleks logamnya dilaporkan berkesan dalam merencatkan aktiviti pertumbuhan *Plasmodium* sp. secara *in vitro*.

Dalam kajian ini, aktiviti antimalarial empat kompleks logam ligan makrosiklik tetraaza 5,5,7,12,12,14-heksametil-1,4,8,11-tetraazasiklotetradeka-7,14-dienium bromida iaitu $[Cu(L)(OAc)]Br$, $[Cd(L)(OAc)]Br$, $[Pb(L)(OAc)]Br$ dan $[Ni(L)(OAc)]Br$ disaring secara *in vitro* ke atas strain rintangan *P. falciparum* K1 menggunakan kaedah asai plasmodium laktat dehidrogenase (pLDH). Asai 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) menggunakan sel mamalia Vero seterusnya dijalankan bagi menentukan indeks pemilihan (SI) kompleks yang merencat 50% pertumbuhan dalam kedua-dua asai. Kompleks logam Cd^{2+} mempamerkan aktiviti antiplasmodium yang setara dengan klorokuina dengan nilai EC_{50} kurang daripada $1 \mu M$ ($0.23 \mu M$). Kajian ini juga mendapati $[Cd(L)(OAc)]Br$ lebih berkesan merencatkan pertumbuhan kultur hidup sel mamalia Vero secara *in*

vitro dengan nilai SI bersamaan 60.5 berbanding kompleks logam yang lain.

BAHAN KIMIA DAN METODOLOGI

Ligan makrosiklik tetraaza 5,5,7,12,12,14-heksametil-1,4,8,11-tetraazasiklotetradeka-7,14-dienium bromida, (L) disintesis dan dikomplekskan dengan empat logam peralihan iaitu Pb(II), Cd(II), Cu(II) dan Ni(II) untuk menghasilkan empat kompleks logam makrosiklik tetraaza iaitu [Pb(L)(OAc)]Br, [Cu(L)(OAc)]Br, [Ni(L)(OAc)]Br dan [Cd(L)(OAc)]Br seperti yang telah dilaporkan sebelum ini (Res et al. 2015; Yusoff et al. 2014; Yusoff et al. 2015).

UJIAN ANTIPLASMODIUM

Strain rintang klorokuina *P. falciparum* K1 (MR4: MRA-159) dibekalkan oleh *Malaria Research and Reference Reagent Resource* (MR4), USA. Parasit ini dikultur dalam eritrosit manusia jenis O rhesus positif, O+ (Radfar et al. 2009) bersama medium lengkap RPMI 1640 (10% Albumax, 2 g/L D-glukosa, 2.325 g/L natrium bikarbonat, 40 mg/L gentamisin, hipoxantin, dan 4-(2-hidroksietil) piperazin-1-etana-sulfonik asid). Julat kepekatan kompleks logam makrosiklik tetraaza yang digunakan adalah 0.001-1000 μM , manakala julat kepekatan klorokuina dan artemisinin adalah di antara 0.00001-10 μM . Darah terjangkit-*P. falciparum* K1 merupakan kawalan positif manakala darah normal tanpa jangkitan dijadikan sebagai kawalan negatif.

Pengeraman kultur parasit dengan kompleks logam makrosilik tetraaza dilakukan selama 48 jam dan piring dibekukan pada suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Kandungan piring tersebut dicairkan selama 30 min di dalam inkubator pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ diikuti dengan pembekuan semula selama 30 min dalam peti sejuk bersuhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Proses pembekuan dan pencairan ini diulang sebanyak tiga kali. Selepas itu, piring reagen untuk pengasaian disediakan dengan memasukkan 25 μL reagen NBT-PES dengan campuran 100 μL reagen MALSTAT ke dalam setiap telaga. Sebanyak 25 μL daripada kandungan piring dicampurkan ke dalam piring reagen dan dieram pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama sejam. Bacaan penyerapan diukur dengan alat spektrofotometer (Model SP3000, Fluorostar OPTIMA, USA) pada panjang gelombang 655 nm selepas sejam. Graf lengkung sigmoid paksi y-peratus pertumbuhan parasit (%) melawan paksi x-kepekatan ($\log [\mu\text{M}]$) diplot menggunakan perisian Graph Pad Prism 5 dengan nilai kepekatan berkesan merencat 50% (EC_{50}) pertumbuhan parasit ditentukan daripada graf tersebut.

UJIAN KESITOTOKSIKAN

Sel normal epitelium ginjal monyet dan sel Vero (ATCC: CCL-81) diperoleh daripada *American Type Culture Collection* (ATCC), USA dan dikulturkan dalam medium *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) yang dicampurkan dengan 10% serum fetus bovin serta 1% antibiotik penisilin-streptomisin dan 0.1% amfoterisin (Mosmann 1983). Ini bertujuan mengelakkan pertumbuhan bakteria dan kulat. Sel yang dikultur dalam tabung kultur T-75 ditanggalkan dengan menggunakan tripsin-EDTA. Sebanyak 1×10^4 sel mL^{-1} dibiakkan pada piring telaga-96 dan dieram selama 24 jam pada parameter yang ditetapkan ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 4% O_2 dan 95% kelembapan relatif). Setiap telaga piring yang mengandungi sel dicampurkan dengan kompleks logam makrosiklik tetraaza dengan tiga replikasi setiap satu kepekatan. Julat kepekatan kompleks logam makrosiklik tetraaza yang digunakan adalah 0.001 - 1000 μM , manakala julat kepekatan 0.00001 - 10 μM masing-masing digunakan bagi klorokuina dan artemisinin. Campuran sebatian kompleks logam dan sel Vero perlu dieram selama 48 jam. Sel Vero tanpa kehadiran sebatian kompleks logam dijadikan sebagai kawalan.

Reagen MTT (5 mgmL^{-1}) disediakan dengan mencampurkan reagen ini dalam larutan penimbal salin fosfat. Sebanyak 10 μL reagen MTT dimasukkan ke dalam setiap telaga dieram selama 3 jam untuk membentuk formazan ungu. Campuran ini dikeluarkan dan digantikan dengan 100 μL DMSO untuk melarutkan pepejal formazan biru yang termendap pada dasar piring telaga-96. Pembentukan warna ungu dibaca pada panjang gelombang 540 nm selepas 15 minit (Model SP3000, Fluorostar OPTIMA, USA). Graf lengkung sigmoid paksi y-peratus pertumbuhan sel (%) melawan paksi x-kepekatan ($\log [\mu\text{M}]$) diplot menggunakan perisian Graph Pad Prism 5 dan nilai kepekatan sitotoksik merencat 50% pertumbuhan sel, CC_{50} diukur.

NILAI INDEKS PEMILIHAN (SI)

Nilai indeks pemilihan SI mengukur tahap perencatan sebatian kompleks logam yang selektif terhadap *P. falciparum* dan menilai kesan ketoksikan terhadap pertumbuhan sel mamalia. Nilai EC_{50} dan CC_{50} yang diperoleh daripada graf asai pLDH dan asai MTT, masing-masing digunakan untuk menghitung nilai SI (Sarr et al. 2011).

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Kajian kompleks logam bukanlah perkara baru kerana kompleks logam telah digunakan dalam kajian terapeutik

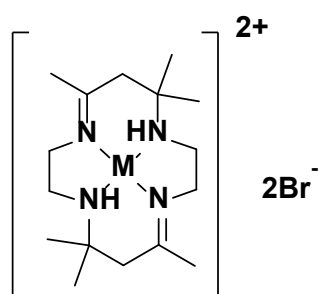
terhadap pelbagai penyakit, termasuk malaria dan penyakit kanser (Mohammed & Tripathi 2020; Sekhon & Bimal 2012). Penggunaan kompleks logam peralihan dalam bidang perubatan dan biologi semakin meningkat dan mendapat perhatian. Sebelum ini, kompleks logam digunakan sebagai rawatan antikanser seperti kompleks logam platinum, $\text{cis-PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ (Koepf-Maier & Koepf 1987; Navarro et al. 2004). Bagi kajian malaria, terdapat laporan menyatakan bahawa aktiviti klorokuina meningkat apabila ion metal peralihan dikoordinasi pada struktur induk dadah tersebut. Kompleks logam peralihan ini mempamerkan aktiviti antimalaria yang baik terhadap *P. falciparum* rintang dan rentan-klorokuina. Contohnya, Au-klorokuina adalah agen antimalaria yang diperoleh daripada koordinasi fragmen $[\text{Au}(\text{PPh}_3)]^+$ kepada klorokuina dan membentuk sebatian baru iaitu, $[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$ yang diuji lebih aktif terhadap *P. falciparum* rintang-klorokuina dan *P. berghei* dalam kajian *in vitro* dan *in vivo* berbanding klorokuina sahaja. Selain itu, koordinasi kompleks Au(I) dan thiosemikarbazon meningkatkan keberkesanan aktiviti antiplasmodium terhadap dua strain *P. falciparum* D10 dan W2 (Khanye et al. 2010).

Kompleks logam makrosiklik tetraaza yang terbentuk daripada tindak balas ligan siklam atau siklen dengan ion logam peralihan Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} dan Zn^{2+} mendapati bahawa koordinasi ion logam peralihan kepada molekul aktif antimalaria meningkatkan lagi potensi aktiviti antimalaria kompleks logam tersebut (Hubin et al. 2014). Keberkesanan potensi aktiviti antimalaria kompleks logam makrosiklik tetraaza berlaku bergantung kepada kesesuaian kompleks logam-ligan

yang terbentuk. Kajian lain menunjukkan pembentukan kompleks logam 7-kloro-4-(1,4,7,10-tetraaza-siklododek-1-il)-kuinolina- Zn^{2+} menunjukkan potensi antimalaria yang bagus untuk dikembangkan (Khan et al. 2009).

Berdasarkan kajian lalu, Mn(II), Cu(II) dan Fe(II) adalah antara logam paling sesuai digunakan sebagai asas rekaan dadah antimalaria. Bagaimanapun, kajian ini mendapati bahawa kompleks logam makrosiklik tetraaza Cd(L)(OAc)]Br adalah kompleks logam Cd(II) dan makrosiklik tetraaza mempunyai ciri-ciri agen antimalaria yang baik dan wajar dikembangkan sebagai asas sintesis dadah antimalaria. Kesan antimalaria kompleks logam Cd(L)(OAc)]Br adalah pertama kali dilaporkan terhadap *P. falciparum* K1. Kajian lalu menunjukkan kompleks logam Cd(II) dengan ligan sulfur-nitrogen berkesan merencat pertumbuhan *Plasmodium falciparum* rintang-klorokuina (W2) berbanding kompleks logam Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) dan Zn(II) (Hubin et al. 2014). Mod tindakan perencatan parasit oleh kompleks logam mungkin melibatkan reaksi kompleks logam dengan parasit malaria atau pembentukan kompleks logam dengan fragmen hem yang menyebabkan pempolimeran hem yang dapat membunuh parasit tersebut (Hubin et al. 2019; Kiremire et al. 2007).

Kesan antiplasmodium dan kesitotoksikan empat kompleks logam makrosiklik tetraaza (Rajah 1) menentang *P. falciparum* K1 dirumuskan ke dalam Jadual 1. Hasil penemuan kajian antiplasmodium menunjukkan bahawa kompleks logam makrosiklik tetraaza mempunyai kesan perencatan terhadap parasit rintang-klorokuina *P. falciparum* K1 dalam asai plasmodium laktat dehidrogenase secara *in vitro*.



M = Cd (II), Cu(II), Pb(II) and Ni(II)

RAJAH 1. Kompleks logam makrosiklik tetraaza,
M = Cd(II), Cu(II), Pb(II) dan Ni(II)

Daripada empat kompleks logam makrosiklik tetraaza yang diuji, kompleks logam makrosiklik tetraaza Cd(L)(OAc)]Br mempamerkan kesan aktiviti antiplasmodium dalam kategori poten ($EC_{50} < 1 \mu\text{M}$) manakala Cu(L)(OAc)]Br menunjukkan kesan aktiviti antiplasmodium dalam kategori sederhana ($20 < EC_{50} < 100 \mu\text{M}$). Seterusnya, kompleks logam makrosiklik tetraaza Pb(L)(OAc)]Br dan Ni(L)(OAc)]Br masing-masing adalah dalam kategori tidak aktif ($EC_{50} > 200 \mu\text{M}$) (Jadual 1). Klorokuina dan artemisinin sebagai dadah rujukan antimalaria mempamerkan aktiviti yang poten

terhadap perencatan pertumbuhan *P. falciparum* K1 iaitu nilai EC_{50} masing-masing bersamaan $0.38 \mu\text{M}$ dan 0.23 nM . Bagaimanapun, kesan aktiviti antiplasmodium yang ditunjukkan oleh artemisinin terhadap parasit K1 adalah sangat baik kerana nilai EC_{50} yang ditunjukkan adalah sangat rendah iaitu kurang daripada 1 nM . Nilai EC_{50} antimalaria klorokuina yang diperoleh daripada kajian ini adalah selari dengan keputusan nilai EC_{50} yang lepas ($200 \text{ nM} < EC_{50} < 300 \text{ nM}$) (Dar et al. 2008). Keputusan EC_{50} artemisinin yang lepas terhadap parasit K1 juga menunjukkan nilai EC_{50} dalam julat yang sangat rendah ($< 1 \text{ nM}$) (Abiodun et al. 2013).

JADUAL 1. Keputusan kesan antiplasmodium dan kesitotoksikan kompleks logam makrosiklik tetraaza

Bil.	Kompleks logam makrosiklik tetraaza	Aktiviti antiplasmodium	Aktiviti kesitotoksikan	Indeks pemilihan (SI),
		<i>P. falciparum</i> K1 (rintang-klorokuina) $EC_{50} (\mu\text{M}) \pm \text{SP}$	Sel Vero (Sel normal mamalia) $CC_{50} (\mu\text{M}) \pm \text{SP}$	
1	[Pb(L)(OAc)]Br	203.6 \pm 88.6	241.1 \pm 16.6	1.2
2	[Cu(L)(OAc)]Br	32.9 \pm 6.4	162.6 \pm 20.2	4.9
3	[Ni(L)(OAc)]Br	266.3 \pm 101.5	1123.5 \pm 163.3	4.2
4	[Cd(L)(OAc)]Br	0.23 \pm 0.01	13.30 \pm 0.47	60.5
5	Klorokuina	0.38	310.1	815.7
6	Artemisinin	0.23 nM	470.1	> 2000

SP: sisihan piawai

Berdasarkan daripada empat kompleks logam makrosiklik tetraaza, Cd(L)(OAc)]Br mempunyai nilai aktiviti antiplasmodium yang setara dengan klorokuina iaitu nilai EC_{50} masing-masing adalah kurang daripada $1 \mu\text{M}$. Bagaimanapun nilai EC_{50} Cd(L)(OAc)]Br adalah 900 kali lebih tinggi berbanding artemisinin, menunjukkan bahawa artemisinin mempunyai kesan antimalaria lebih baik berbanding Cd(L)(OAc)]Br.

Bagi hasil asai kesitotoksikan terhadap sel mamalia Vero, nilai CC_{50} kompleks logam makrosiklik tetraaza Pb(L)(OAc)]Br, Cu(L)(OAc)]Br, dan Ni(L)(OAc)]Br adalah termasuk dalam julat tidak toksik ($CC_{50} > 100 \mu\text{M}$), manakala nilai CC_{50} Cd(L)(OAc)]Br adalah

sederhana toksik ($10 \mu\text{M} < CC_{50} < 100 \mu\text{M}$) berdasarkan julat aktiviti kesitotoksikan yang pernah dilaporkan (Wiji Prasetyaningrum et al. 2018). Berdasarkan Burger and Fiebig (2014), sebatian kimia tulen dikelaskan sebagai sangat toksik kepada sel mamalia normal apabila nilai IC_{50} yang diperoleh adalah kurang daripada $10 \mu\text{M}$ atau $4 \mu\text{g mL}^{-1}$. Analisis kesitotoksikan kompleks logam makrosiklik tetraaza terhadap sel mamalia Vero yang diperoleh menunjukkan Cd(L)(OAc)]Br adalah sederhana toksik berbanding ketiga-tiga kompleks logam makrosiklik tetraaza berdasarkan nilai CC_{50} yang ditunjukkan adalah paling rendah. Kedua-dua dadah antimalaria rujukan, klorokuina dan artemisinin adalah

tidak toksik kepada sel mamalia Vero seperti ditunjukkan dalam Jadual 1. Kedua-dua dadah rujukan antimalaria, klorokuina dan artemisinin merencat 50% pertumbuhan sel mamalia Vero pada julat kepekatan 300 hingga 500 μM . Keputusan ini selari dengan kajian lepas yang menunjukkan kesan kesitotoksikan pada julat yang sama terhadap sel mamalia Vero (Filho et al. 2009; Kumar et al. 2009; Kumar Sharma et al. 2015).

Berdasarkan kepada kedua-dua nilai EC_{50} dan CC_{50} masing-masing daripada asai pLDH dan MTT, nilai indeks pemilihan (SI) dihitung bagi membandingkan nisbah selektiviti kompleks logam makrosiklik tetraaza terhadap *P. falciparum* K1 dan sel mamalia Vero. Sesuatu sebatian kimia yang menunjukkan nilai SI melebihi 10 adalah dianggap mempunyai kesan antiplasmodium selektif atau khusus terhadap perencatan pertumbuhan parasit berbanding sel mamalia yang diuji (Sarr et al. 2011). Semakin tinggi nilai SI, semakin selektif dan berkesan sebatian kimia bertindak terhadap sesuatu parasit. Hasil kajian ini mendapati bahawa Cd(L)(OAc)]Br menunjukkan nilai SI paling tinggi berbanding siri kompleks logam makrosiklik tetraaza yang lain iaitu SI bersamaan 60.5. Nilai SI menunjukkan bahawa tindakan perencatan Cd(L)(OAc)]Br terhadap parasit K1 adalah sangat selektif dan berkesan. Walaupun sebatian ini menunjukkan aktiviti kesitotoksikan yang sederhana, sebatian ini juga adalah sangat aktif merencat pertumbuhan parasit ($\text{EC}_{50} < 1 \mu\text{M}$). Kompleks logam makrosiklik tetraaza Pb(L)(OAc)]Br , Cu(L)(OAc)]Br dan Ni(L)(OAc)]Br masing-masing menunjukkan nilai SI yang tidak melepasi nilai ambang yang ditetapkan ($\text{SI} > 10$). Analisis nilai SI mendapati bahawa kompleks logam makrosiklik tetraaza Cd(L)(OAc)]Br adalah wajar dibangunkan sebagai rawatan antimalaria kerana sebatian kimia ini mempunyai kriteria agen antimalaria yang berpotensi dikembangkan. Kajian mekanisme dan kestabilan kompleks logam makrosiklik tetraaza akan dijalankan pada masa hadapan untuk mengetahui dengan lebih lanjut mengenai peranan ion logam kompleks, terutamanya mangan (Mn) dalam aktiviti antimalaria.

KESIMPULAN

Secara kesimpulannya, kompleks logam makrosiklik tetraaza Cd(L)(OAc)]Br mempunyai aktiviti antiplasmodium yang baik terhadap strain rintang-klorokuina K1. Bagaimanapun, kajian lanjutan yang mengkaji mekanisme tindakan kompleks logam makrosiklik tetraaza seperti asai perencatan hemozoin dan analisis simulasi mengedok molekul terhadap

kumpulan hem akan dijalankan bagi menguji sama ada sebatian tersebut bertindak secara langsung dengan dimer hematin dan merencat pempolimeran hem atau sebaliknya. Seterusnya, kompleks logam ini boleh dijadikan landasan kepada pembangunan agen antimalaria berasaskan ligan makrosiklik tetraaza pada masa hadapan.

PENGHARGAAN

Dana penyelidikan disediakan daripada Kementerian Pendidikan Malaysia melalui geran bernombor FRGS/1/2019/STG01/UKM/02/3.

RUJUKAN

- Abiodun, B.J., Salami, A.T., Matthew, O.J. & Odedokun, S. 2013. Potential impacts of afforestation on climate change and extreme events in Nigeria. *Climate Dynamics* 41(2): 277-293.
- Ali, A.H., Sudi, S., Shi-Jing, N., Hassan, W.R.M., Basir, R., Agustar, H.K., Embi, N., Sidek, H.M. & Latip, J. 2021. Dual anti-malarial and GSK3 β -mediated cytokine-modulating activities of quercetin are requisite of its potential as a plant-derived therapeutic in malaria. *Pharmaceuticals* 14(3): 248.
- Ali, A.H., Agustar, H.K., Hassan, N.I., Latip, J., Embi, N. & Sidek, H.M. 2020. Data on antiplasmodial and stage-specific inhibitory effects of Aromatic (Ar)-Turmerone against *Plasmodium Falciparum* 3D7. *Data In Brief* 33(2020): 106592.
- Amoyaw, P.N.A., Pham, K., Cain, A.N., McClain, J.M., Hubin, T. & Faruk Khan, M.O. 2014. Synthesis of novel tetraazamacrocyclic bisquinoline derivatives as potential antimalarial agents. *Current Organic Synthesis* 11(6): 916-921.
- Antony, H.A. & Parija, S.C. 2016. Antimalarial drug resistance: An overview. *Tropical Parasitology* 6: 30-41.
- Bahl, D., Athar, F., Soares, M.B.P., de Sá, M.S., Moreira, D.R.M., Srivastava, R.M., Leite, A.C.L. & Azam, A. 2010. Structure-activity relationships of mononuclear metal-thiosemicarbazone complexes endowed with potent antiplasmodial and antiamoebic activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 18(18): 6857-6864.
- Boudhar, A., Ng, X.W., Loh, C.Y., Chia, W.N., Tan, Z.M., Nosten, F., Dymock, B.W. & Tan, K.S. 2016. Overcoming chloroquine resistance in malaria: Design, synthesis, and structure-activity relationships of novel hybrid compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60(5): 3076-3089.
- Bueno, J.M., Manzano, P., García, M.C., Chicharro, J., Puente, M., Lorenzo, M., García, A., Ferrer, S., Gómez, R.M., Fraile, M.T. & Lavandera, J.L. 2011. Potent antimalarial 4-pyridones with improved physico-chemical properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 21(18): 5214-5218.

- Burger, A.M. & Fiebig, H.H. 2014. *Preclinical Screening for New Anticancer Agents. Handbook of Anticancer Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. New Jersey: Humana Press. pp. 23-38.
- da Silva Filho, A.A., Resende, D.O., Fukui, M.J., Santos, F.F., Pauletti, P.M., Cunha, W.R., Silva, M.L.A., Gregório, L.E., Bastos, J.K. & Nanayakkara, N.P.D. 2009. *In vitro* antileishmanial, antiplasmodial and cytotoxic activities of phenolics and triterpenoids from *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Fitoterapia* 80(8): 478-482.
- Dar, O., Khan, M.S. & Adagu, I. 2008. The potential use of methotrexate in the treatment of falciparum malaria: *in vitro* assays against sensitive and multidrug-resistant Falciparum strains. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 61(3): 210-211.
- Fairhurst, R.M. & Dondorp, A.M. 2016. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Microbiology Spectrum* 4(3): 10.1128/microbiolspec.EI10-0013-2016.
- Fitch, C.D. 1998. Involvement of heme in the antimalarial action of chloroquine. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association* 109: 97.
- Ginsburg, H., Famin, O., Zhang, J. & Krugliak, M. 1998. Inhibition of glutathione-dependent degradation of heme by chloroquine and amodiaquine as a possible basis for their antimalarial mode of action. *Biochemical Pharmacology* 56(10): 1305-1313.
- Hossain, M.F., Amoyaw, P.N.A., Saluja, H.S. & Khan, F.M.O. 2016. Evaluation of the physicochemical properties of a novel antimalarial drug lead, cyclen bisquinoline. *Modern Chemistry and Applications* 4(2): 1000181.
- Hubin, T.J., Walker, A.N., Davilla, D.J., Freeman, T.N.C., Epley, B.M., Hasley, T.R., Amoyaw, P.N., Jain, S., Archibald, S.J., Prior, T.J. & Krause, J.A. 2019. Tetraazamacrocyclic derivatives and their metal complexes as antileishmanial leads. *Polyhedron* 163: 42-53.
- Hubin, T.J., Amoyaw, P.N.A., Roewe, K.D., Simpson, N.C., Maples, R.D., Freeman, T.N.C., Cain, A.N., Le, J.G., Archibald, S.J., Khan, S.I. & Tekwani, B.L. 2014. Synthesis and antimalarial activity of metal complexes of cross-bridged tetraazamacrocyclic ligands. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 22(13): 3239-3244.
- Hussin, N., Lim, Y.A.L., Goh, P.P., William, T., Jelip, J. & Mudin, R.N. 2020. Updates on malaria incidence and profile in Malaysia from 2013 to 2017. *Malaria Journal* 19(1): 55.
- Kapishnikov, S., Weiner, A., Shimon, E., Guttmann, P., Schneider, G., Dahan-Pasternak, N., Dzikowski, R., Leiserowitz, L. & Elbaum, M. 2012. Oriented nucleation of hemozoin at the digestive vacuole membrane in *Plasmodium falciparum*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(28): 11188-11193.
- Ke, H., Sigala, P.A., Miura, K., Morrissey, J.M., Mather, M.W., Crowley, J.R., Henderson, J.P., Goldberg, D.E., Long, C.A. & Vaidya, A.B. 2014. The heme biosynthesis pathway is essential for *Plasmodium falciparum* development in mosquito stage but not in blood stages. *Journal of Biological Chemistry* 289(50): 34827-34837.
- Kiremire, E.M.R., Chibale, K., Rosenthal, P.J., Daniel, L.S., Negonga, A.M. & Munyolo, F.M. 2007. Metal complexes with high biological activity against chloroquine resistant strain of *Plasmodium falciparum* parasite. *Biosciences Biotechnology Research Asia* 4: 399-402.
- Kumar, N., Khan, S.I., Sharma, M., Atheaya, H. & Rawat, D.S. 2009. Iodine-catalyzed one-pot synthesis and antimalarial activity evaluation of symmetrically and asymmetrically substituted 3, 6-diphenyl [1, 2, 4, 5] tetraoxanes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 19(6): 1675-1677.
- Kumar Sharma, G., Yogi, A., Gaur, K. & Dashora, A. 2015. A review on antimalarial drug. *International Journal of Basic Clinical Pharmacy and Research* 1(1): 1-15.
- McCarthy, J.S., Rückle, T., Djeriou, E., Cantalloube, C., Ter-Minassian, D., Baker, M., O'Rourke, P., Griffin, P., Marquart, L., van Huijsduijnen, R.H. & Möhrle, J.J. 2016. A phase II pilot trial to evaluate safety and efficacy of ferroquine against early *Plasmodium falciparum* in an induced blood-stage malaria infection study. *Malaria Journal* 15(1): 1-9.
- Monti, D., Vodopivec, B., Basilio, N., Olliaro, P. & Taramelli, D. 1999. A novel endogenous antimalarial: Fe (II)-protoporphyrin IX α (heme) inhibits hematin polymerization to β -hematin (malaria pigment) and kills malaria parasites. *Biochemistry* 38(28): 8858-8863.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 65(1): 55-63.
- Radfar, A., Méndez, D., Moneriz, C., Linares, M., Marín-García, P., Puyet, A., Diez, A. & Bautista, J.M. 2009. Synchronous culture of *Plasmodium falciparum* at high parasitemia levels. *Nature Protocols* 4(12): 1899-1915.
- Sarr, S.O., Perrotey, S., Fall, I., Ennahar, S., Zhao, M., Diop, Y.M., Candolfi, E. & Marchioni, E. 2011. *Icacina senegalensis* (Icacinaceae), traditionally used for the treatment of malaria, inhibits *in vitro Plasmodium falciparum* growth without host cell toxicity. *Malaria Journal* 10: 85.
- Stringer, T., Quintero, M.A.S., Wiesner, L., Smith, G.S. & Nordlander, E. 2019. Evaluation of PTA-derived ruthenium (II) and iridium (III) quinoline complexes against chloroquine-sensitive and resistant strains of the *Plasmodium falciparum* malaria parasite. *Journal of Inorganic Biochemistry* 191: 164-173.
- Wiji Prasetyaningrum, P., Bahtiar, A. & Hayun, H. 2018. Synthesis and cytotoxicity evaluation of novel asymmetrical mono-carbonyl analogs of curcumin (AMACs) against Vero, HeLa, and MCF7 Cell Lines. *Scientia Pharmaceutica* 86(2): 25.
- Yamin, B.M., Kadir, A. & Yusoff, S.F. 2015. Complexation of 5, 5, 7, 12, 12, 14-hexamethyl-1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradeca-7, 14-dienium bromide with copper acetate in methanol and aqueous solutions. *Indonesian Journal of Chemical Research* 2(2): 171-175.
- Yong, A.S.J., Navaratnam, P., Kadirvelu, A. & Pillai, N. 2018. Re-emergence of malaria in Malaysia: A review article. *Open Access Library Journal* 5(2): 1-16.

- Yusoff, L.M., Yusoff, S.F.M., Ismail, W. & Yamin, B.M. 2014. Synthesis and characterization of Ni (II) complex with 5, 5, 7, 12, 12, 14-hexamethyl-1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradeca-7, 14-dienium bromide. In *AIP Conference Proceedings* 1614(1): 358-361.
- Yusoff, S.F.M., Huddin, A.A.S., Yusoff, L.M., Yamin, B.M. & Ong, W.L. 2015. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of Cu (II), Ni (II), and Zn (II) complexes of 14-membered macrocyclic tetraaza ligand. *Oriental Journal of Chemistry* 31(3): 1751.
- Zakaria, N.H., Hassan, N.I. & Wai, L.K. 2020. Molecular docking study of the interactions between *Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase and 4-aminoquinoline hybrids. *Sains Malaysiana* 49(8): 1905-1913.

*Corresponding author; email: drizz@ukm.edu.my