

Sintesis, Aktiviti Antimalaria dan Pendekatan Dinamik Molekul Kompleks Logam Salofen

(Synthesis, Antimalarial Activity, and Molecular Dynamic Approaches of Salophen Metal Complexes)

AMATUL HAMIZAH ALI¹, NUR HAFIZAH MUKHTAR¹, NG YEE LING², NUR AQILAH ZAHIRAH NORAZMI¹,
HANI KARTINI AGUSTAR³, LAU YEE LING², NURUL HUDA ABD KARIM¹, SITI FAIRUS MOHD YUSOFF¹,
MOSTAFA YOUSEFZADEH BORZEHANDANI^{4,5} & NURUL IZZATY HASSAN^{1,*}

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

²Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Universiti Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia

³Department of Earth Sciences and Environment, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan
Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia

⁴Integrated Chemical BioPhysics Research, Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM
Serdang, Selangor, Malaysia

⁵Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, 43400 UPM Serdang, Selangor, Malaysia

Diserahkan: 14 Disember 2023/Diterima: 14 Jun 2024

ABSTRAK

Malaria masih merupakan salah satu penyakit berjangkit yang utama di kawasan beriklim tropika. Pelbagai ubat antimalaria telah diperkenalkan sebelum ini seperti klorokuina, primakuina dan artemisinin. Namun, keberkesanan ubat antimalaria menjadi rumit disebabkan oleh penyebaran parasit *Plasmodium* yang ada kerintangan terhadap ubat sedia ada. Oleh demikian, penerokaan kompleks logam salofen berasaskan ligan bes Schiff yang berpotensi sebagai agen antimalaria dijalankan. Empat ligan berasaskan salofen **a-d** dan lapan kompleks logam salofen **1a-4a** dan **1b-4b** telah disintesis melalui tindak balas kondensasi bes Schiff. Aktiviti antimalaria sebatian ini telah diuji dengan asai Plasmodium laktat dehidrogenase terhadap *Plasmodium falciparum* 3D7 yang menunjukkan bahawa **1a**, **3a** dan **4b** masing-masing ($IC_{50} = 14.74, 19.38$ dan $12.13 \mu M$) mempunyai kesan perencatan aktif terhadap parasit secara *in vitro*. Analisis dok molekul mendedahkan bahawa sebatian **1a**, **3a** dan **4b** menunjukkan nilai pengikatan yang baik pada protein PfDHFR-TS iaitu nilai masing-masing adalah $-9.7, -8.9$ dan -9.5 kcal/mol. Tambahan pula, simulasi dinamik molekul mendedahkan bahawa sebatian **1a** dan **3a** ditempatkan di dalam poket reseptor protein dengan sebatian dikelilingi oleh beberapa permukaan berpolar. Bagaimanapun, sebatian **4b** membentuk sistem kompleks reseptor-ligan dengan konformasi yang paling stabil apabila kompleks diletakkan di dalam poket reseptor hidrofobik. Oleh itu, PfDHFR-TS dianggap sebagai sasaran protein parasit yang khusus untuk kompleks logam salofen. Kesimpulannya, kompleks logam salofen didapati mempunyai potensi tinggi untuk dibangunkan sebagai agen antimalaria dan mampu menjadi struktur templat kepada pembentukan ubat antimalaria bagi melawan kes kerintangan.

Kata kunci: Aktiviti antimalaria; dok molekul; dinamik molekul; kompleks logam salofen; PfDHFR-TS

ABSTRACT

Malaria is still one of the main infectious diseases in tropical climates. Various antimalarial drugs have been introduced before, such as chloroquine, primaquine, and artemisinin. However, the effectiveness of antimalarial drugs is complicated by the spread of *Plasmodium* parasites's resistance. This study was carried out to explore metal complexes based on Schiff base ligands with good potential as antimalarial agents. Four salophen-based ligands **a-d**, and eight salophen metal complexes **1a-4a** and **1b-4b** were synthesized via Schiff base condensation reaction. Antimalarial properties of these compounds were investigated by plasmodium lactate dehydrogenase assay against *P. falciparum* 3D7, which showed that **1a**, **3a**, and **4b** possessed active parasite inhibitory effect in vitro study (IC_{50} : 14.74, 19.38, and 12.13 μM , respectively). Molecular docking analysis showed that compounds **1a**, **3a**, and **4b** showed good binding affinity values, i.e. $-9.7, -8.9$, and -9.5 kcal/mol on PfDHFR-TS. Furthermore, the molecular simulations showed that **1a** and **3a** accommodated in the receptor's pocket where some polar surfaces surrounded the compounds. However, **4b** built the highest conformational stable receptor-ligand complex system when positioned in the receptor's hydrophobic pocket. Thus, PfDHFR-TS is a specific

parasite protein target for the salophen metal complex. In conclusion, this study found that the salophen metal complex has a high potential to be developed as an antimalarial agent and can be a template structure for forming antimalarial drugs to fight resistance cases.

Keywords: Antimalarial activities; molecular docking; molecular dynamics; P/DHFR-TS; salophen metal complexes

PENGENALAN

Malaria ialah penyakit yang membawa maut yang menjangkiti manusia disebabkan oleh parasit Plasmodium yang dibawa oleh nyamuk Anopheles betina (Neafsey et al. 2015). Pada 2021, terdapat 247 juta kes malaria dilaporkan dengan lebih 619,000 kematian di seluruh dunia. Kanak-kanak kecil menyumbang kepada kadar kematian tertinggi melebihi 67% daripada jumlah keseluruhan kes kematian (WHO 2022). Di Malaysia, kes malaria tempatan berkurangan sebanyak 98.6%, manakala dalam tempoh yang sama, kes zoonotik *Plasmodium knowlesi* meningkat 861% pada tahun 2017. Terdapat peningkatan pola kes *P. knowlesi* yang membimbangkan, iaitu lebih daripada 3223 kes dilaporkan pada 2019 (KKM 2020). Malaysia telah melaksanakan pelbagai strategi untuk membendung penularan penyakit malaria. Walaupun begitu, kes malaria masih tinggi dilaporkan terutamanya di negeri Sabah dan Sarawak berikutan ketibaan pekerja asing tanpa saringan dari negara jiran dan juga peningkatan kes di Malaysia melalui penularan jangkitan malaria zoonosis yang membawa jangkitan daripada primat kepada manusia.

Pada masa ini, rawatan sedia ada untuk melawan penyakit ini ialah artemisinin gabungan terapi dan klorokuina. Kedua-dua ubat ini berkesan terhadap banyak jenis jangkitan malaria, sama ada *P. falciparum* dan *P. knowlesi*. Walau bagaimanapun, kebimbangan utama dalam rawatan malaria adalah beberapa strain *P. falciparum* telah dapat membina daya tahan terhadap tindakan artemisinin dan klorokuina. Strain Plasmodium rintang klorokuina wujud disebabkan oleh beberapa faktor, seperti penggunaan berlebihan ubat antimalaria sedia ada untuk rawatan profilaksis, rejim terapeutik yang tidak lengkap atau tidak sesuai untuk mod jangkitan aktif, mutasi pada genetik parasit dan kadar pertumbuhan parasit yang sangat cepat. Mutasi gen Plasmodium berlaku pada protein *P. falciparum* transmembran dalam pengangkut rintang klorokuina (*PfCRT*) (Pulcini et al. 2015), protein rintang pelbagai ubat (*PfMDR*) (Koenderink et al. 2010), serta mutasi pada *P. falciparum* Kelch13 yang berkaitan dengan kemunculan strain *P. falciparum* yang rintang artemisinin yang muncul di kawasan Sungai Mekong pada tahun 2010 (Ashley et al. 2014). Kajian lepas melaporkan bahawa penularan strain Plasmodium yang rintang artemisinin bermula di negara jiran, seperti Thailand, Vietnam dan Kemboja (Ouji et al. 2018) merumitkan usaha mitigasi malaria di negara-negara berdekatan seperti Malaysia. Oleh itu, rawatan alternatif

atau ubat dengan mod tindakan baharu amat diperlukan untuk terapi malaria bagi mengelakkan kebangkitan semula kes rintangan.

Salah satu pilihan alternatif untuk penerokaan ubat antimalaria adalah melalui pembangunan kompleks logam aktif melalui tindak balas bes Schiff. Sebagai contoh, klorokuina organologam dan terbitan primakuina telah terbukti mempunyai potensi biologi untuk melawan parasit malaria (Brown & Hyland 2015). Beberapa kajian lain menunjukkan ligan bes Schiff mempunyai aktiviti biologi yang bermanfaat seperti antimalaria (Savir et al. 2021), antiviral (Wang et al. 2018), antimikrob (Saikumari 2021), antituberkulosis (Dueke-Eze et al. 2020) dan antikanser (Liu et al. 2021). Berdasarkan analisis hubungan struktur-aktiviti, kehadiran ikatan imina, C=N dalam sebatian bes Schiff memainkan peranan penting yang menunjukkan sifat biologi (Fonkui et al. 2018). Kehadiran sepasang elektron tunggal pada atom nitrogen imina boleh membentuk ikatan hidrogen dengan tapak aktif sel bagi mengganggu proses abnormal yang berlaku dalam sel seperti menghalang perkembangan sel kanser. Kajian lain menunjukkan bahagian bes imidazol Schiff dan terbitan 7-kloro-4-aminokuinolina yang disintesis oleh Kondaparla et al. (2018) menunjukkan aktiviti antimalaria terhadap *P. falciparum* 3D7 (sensitif-klorokuina) dan K1 (rintang-klorokuina) pada kepekatan mikromolar antara 0.07 hingga 0.29 μM . Kumpulan pengganti alkil dan aril dalam sebatian tersebut meningkatkan aktiviti antimalaria terhadap kedua-dua jenis strain parasit. Di samping itu, Savir et al. (2021) juga menjalankan kajian aktiviti antimalaria ke atas tiga sebatian bes Schiff berasaskan thiosemikarbazon dan kompleks Ni(II) berdasarkan ligan ini. Ligan thiosemikarbazon bertindak sebagai ligan bidentat dengan pengkoordinatan logam. Kompleks Ni(II) berasaskan ligan fluorin-2-karboksaldehid-4-etil-thiosemikarbazon mempunyai aktiviti antimalaria terbaik dengan nilai IC_{50} 2.29 μM terhadap *P. falciparum* 3D7. Pada tahun yang sama, Shaikh et al. (2021) menghasilkan dua sebatian bes Schiff berasaskan 4-asilhidrazon-5-pirazolon iaitu kompleks Zn(II) berasaskan ligan tridentat yang menunjukkan kepekatan perencatan minimum, MIC dalam julat 0.20 hingga 0.24 $\mu\text{M/L}$ diperlukan bagi perencatan parasit kompleks logam adalah lebih rendah daripada ligan bebas logam. Kompleks Ni(II) polihidroksibenaldehid telah menunjukkan afiniti pengikatan dengan DNA yang tinggi dan aktiviti antiplasmodium yang baik terhadap *P. falciparum* (Savir et al. 2021).

Secara umumnya, kajian lepas mendapati bahawa pengkompleksan ligan kepada logam mampu meningkatkan aktiviti antimalaria. Setakat ini, tiada kajian telah melaporkan aktiviti antimalaria ligan berasaskan salofen dan kompleks logam salofen terhadap *P. falciparum*. Oleh itu, sebatian logam kation Co(II), Ni(II), Cu(II) dan Zn(II) berasaskan ligan bes Schiff, iaitu ligan *N,N'*-bis-(salicilidene)-fenilenediamine dan *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-fenilenediamine telah disintesis dan diuji untuk aktiviti antimalaria terhadap strain *Plasmodium falciparum* 3D7 (sensitif-klorokuina). Analisis dok molekul telah dijalankan terhadap *Plasmodium falciparum* dihidrofolate reduktase-timidilate sintase (*PfDHFR-TS*) dan diakhiri dengan simulasi dinamik molekul.

KAEDAH PENYELIDIKAN

BAHAN KIMIA DAN INSTRUMENTASI

Semua bahan kimia dan pelarut iaitu nikel(II) asetat, 1,2-fenilindiamina, 2,4-dihidroksibenzaldehid, salicilaldehid, 2-hidroksibenzaldehid, dietil eter, asetonitril, dimetilformamida dan dimetil sulfoksida dibeli daripada Sigma Aldrich manakala kuprum(II) asetat, zink(II) asetat, kobalt(II) asetat, aseton, metanol dan etanol dibeli daripada R&M Chemicals. Spektrum inframerah bagi kesemua sebatian yang telah disintesis direkodkan menggunakan alat spektrofotometer FTIR Perkin-Elmer Spectrum 400 IR dalam julat frekuensi antara 4000 – 400 cm^{-1} pada suhu biasa. Puncak yang dicerap di dalam spektrum dikolerasikan kepada kumpulan berfungsi yang terdapat dalam sebatian. Spektrum Resonans Magnetik Nukleus (RMN) bagi semua sebatian tersintesis telah direkodkan menggunakan JEOL ECXII 400 MHz atau Bruker AVANCE III HD 600 MHz. Sebatian sampel telah dilarutkan dalam pelarut dimetil sulfoksida ($\text{DMSO-}d_6$) yang telah dideuterasi. Pemalar gandingan (J) direkodkan dalam unit Hertz (Hz). Semua anjakan kimia dalam spektrum NMR adalah dalam unit bahagian per juta (ppm).

SINTESIS DAN TINDAK BALAS LIGANBERASASKAN SALOFEN (a-d)

Prosedur tindak balas untuk menghasilkan sebatian *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine (ligan **a**), *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine (ligan **b**), *N,N'*-bis-5-(klorosalicilidene)-*o*-fenilenediamine (ligan **c**) dan *N,N'*-bis-5-(bromosalicilidene)-*o*-fenilenediamine (ligan **d**) telah mengikuti prosedur yang dilaporkan sebelum ini dengan beberapa pengubahsuaian (Li et al. 2019; Senthamarai et al. 2020). Sebatian *o*-fenilindiamine (0.100 g, 0.93 mmol) telah bertindak balas dengan salisilaldehid

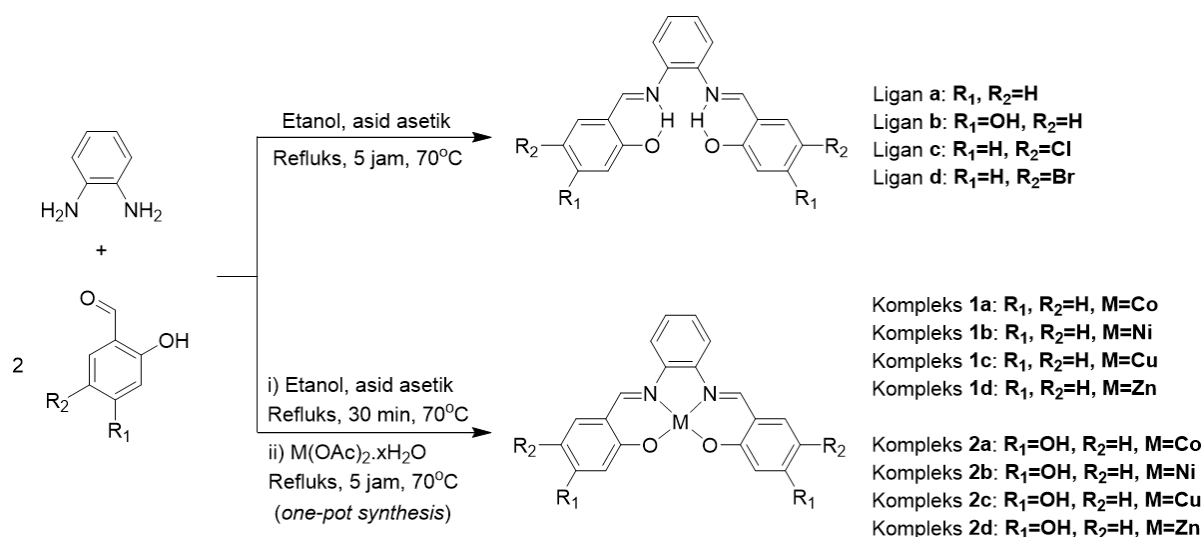
atau terbitannya (1.86 mmol) dalam pelarut etanol (30 mL). Asid asetik glasier (1 mL) telah ditambah kepada campuran tindak balas dan direfluks pada 70 °C selama lima jam (Rajah 1). Pembentukan ligan dikenal pasti dengan kromatografi lapisan nipis. Pelarut dalam tindak balas ini kemudiannya disejat sehingga menghasilkan pepejal kristal yang kemudiannya ditapis dan dibilas menggunakan etanol, dietil eter dan air dan dikeringkan dalam ketuhar pada suhu 70 °C. Data resonans magnetik dan IR untuk ligan berasaskan salofen (**a-d**) dinyatakan seperti berikut.

Ligan a: *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine. Serbuk oren (0.212 g, 72%). Takat lebur = 164-166 °C. $^1\text{H NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.94 (s, 2H, O-H), 8.94 (s, 2H, CHN), 7.67 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H, Ar-H), 7.48-7.40 (m, 6H, Ar-H), 6.99-6.97 (m, 4H, Ar-H). $^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 164.5, 160.9, 142.7, 133.9, 132.9, 128.3, 120.2, 120.0, 119.5, 117.1. FT-IR (ATR): 3747 (O-H), 3010 (Ar-H), 2556 (O-H), 1609 (C=N), 1584 (C=C), 1561 (C=C), 1479 (C=C), 1275 (O-H), 1190 (C-O).

Ligan b: *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine. Serbuk kuning (0.173 g, 54%). Takat lebur = 224-226 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 13.36 (s, 2H, O-H), 10.26 (s, 2H, O-H), 8.71 (s, 2H, CHN), 7.40-7.29 (m, 6H, Ar-H), 6.36-6.25 (m, 4H, Ar-H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 163.8, 163.4, 163.1, 142.5, 134.9, 127.5, 120.0, 112.8, 108.3, 102.9. FT-IR (ATR): 3272 (Ar-H), 2569 (O-H), 1606 (C=N), 1569 (C=C), 1539 (C=C), 1504 (C=C), 1187 (C-O).

Ligan c: *N,N'*-bis-5-(klorosalicilidene)-*o*-fenilenediamine. Serbuk kuning (0.306 g, 86%). Takat lebur = 204-206 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.86 (s, 2H, O-H), 8.89 (s, 2H, CHN), 7.73 (d, $J = 2.8$ Hz, 2H, Ar-H), 7.42-7.39 (m, 6H, Ar-H), 6.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 162.8, 159.6, 142.6, 133.5, 131.3, 128.7, 123.1, 121.3, 120.2, 119.3. FT-IR (ATR): 3746 (O-H), 3010 (Ar-H), 2627 (O-H), 1611 (C=N), 1583 (C=C), 1566 (C=C), 1473 (C=C), 1271 (OH), 1188 (C-O), 754 (C-Cl), 714 (C-H).

Ligan d: *N,N'*-bis-5-(bromosalicilidene)-*o*-fenilenediamine. Serbuk kuning (0.374 g, 85%). Takat lebur = 211-213 °C. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.89 (s, 2H, O-H), 8.88 (s, 2H, CHN), 7.86 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H, Ar-H), 7.51 (dd, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 2H, Ar-H), 7.44-7.37 (m, 4H, Ar-H), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar-H). $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 162.8, 160.0, 142.6, 136.2, 134.3, 128.7, 122.0, 120.2, 119.7, 110.4. FT-IR (ATR): 3746 (O-H), 3010 (Ar-H), 2625 (O-H), 1610 (C=N), 1582 (C=C), 1563 (C=C), 1470 (C=C), 1186 (C-O), 754 (C-Br), 700 (C-H).



RAJAH 1. Sintesis dan tindak balas ligan berasaskan salofen dan kompleks logam salofen

SINTESIS DAN TINDAK BALAS KOMPLEKS LOGAM SALOFEN

Berikut ialah prosedur am untuk menghasilkan kompleks logam Co(II), Ni(II), Cu(II) dan Zn(II) berdasarkan ligan **a** dan **b**. Kompleks logam ini disintesis mengikut prosedur yang dilaporkan sebelum ini dengan beberapa pengubahsuaian (Chong et al. 2009). Rajah 1 menunjukkan laluan sintesis bagi kompleks berdasarkan ligan **a** dan **b**. Kompleks ini dihasilkan oleh sintesis satu bekas bermula dengan penghasilan ligan dan diikuti dengan penghasilan kompleks logam. Sebatian *o*-fenilendiamine (0.100 g, 0.93 mmol) dan salisilaldehid atau 2,4-hidroksibenzilaldehid atau 5-klorosalisilaldehid atau 5-bromosalisilaldehid (1.86 mmol) dilarutkan dalam etanol (30 mL). Larutan dipanaskan selama 30 minit. Asid asetik glasier (1 mL) telah ditambah kepada larutan dan larutan direfluks pada 70 °C dan dikacau selama lima jam. Logam asetat (0.93 mmol) yang dilarutkan dalam etanol (15 mL) telah ditambah kepada larutan tindak balas dan larutan itu direfluks pada 70 °C selama lima jam. Kemudian, campuran tindak balas dibiarkan sejuk ke suhu bilik. Mendakan yang terhasil ditapis dan dibilas menggunakan etanol panas dan campuran etanol/air panas (nisbah 1:1). Pepejal yang diperolehi dikeringkan di dalam ketuhar pada suhu 70 °C selama dua jam. Analisis spektroskopi telah dijalankan pada kompleks ini. Data resonans magnetik untuk kompleks logam salofen ditunjukkan dalam lampiran. Bagaimanapun, data NMR untuk **1a**, **3a**, **1b** dan **3b** tidak dapat disediakan kerana kompleks kobalt(II) dan kuprum(II) bersifat paramagnetik dan hanya akan menunjukkan puncak yang lebar pada spektrum NMR.

Kompleks logam 1a: *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kobalt(II). Serbuk oren gelap (0.290 g, 84%). Takat lebur >250 °C. FT-IR (ATR): 3427 (O-H), 3025 (Ar-H), 1621 (C=N), 1598 (C=C), 1581 (C=C), 1541 (C=C), 1307 (O-H), 1288 (O-H), 1191 (C-O), 751 (C-H), 518 (Co-O), 470 (Co-N).

Kompleks logam 2a: *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-nikel(II). Serbuk merah (0.285 g, 83%). Takat lebur >250 °C. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.90 (s, 2H, CHN), 8.15 (td, *J* = 6.6, 3.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.61 (dd, *J* = 8.1, 1.8 Hz, 2H, Ar-H), 7.36-7.32 (m, 4H, Ar-H), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar-H), 6.69-6.66 (m, 2H, Ar-H). ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 165.8, 157.0, 142.8, 135.7, 134.8, 128.1, 120.8, 120.7, 116.7, 115.8. FT-IR (ATR): 3746 (O-H), 3012 (Ar-H), 1602 (C=N), 1575 (C=C), 1512 (C=C), 1490 (C=C), 1456, 1439, 1193 (C-O), 752 (C-H), 740 (C-H), 543 (Ni-O), 456 (Ni-N).

Kompleks logam 3a: *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kuprum(II). Serbuk oren gelap (0.261 g, 75%). Takat lebur >250 °C. FT-IR (ATR): 3010 (Ar-H), 1603 (C=N), 1575 (C=C), 1519 (C=C), 1488 (C=C), 1456 (s), 1433 (s), 1184 (C-O), 753 (C-H), 743 (C-H), 535 (Cu-O), 505 (Cu-N).

Kompleks logam 4a: *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-zink(II). Serbuk kuning (0.305 g, 87%). Takat lebur >250 °C. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.02 (s, 2H, CHN), 7.90 (m, *J* = 3.2 Hz, 2H, Ar-H), 7.43-7.38 (m, 4H, Ar-H), 7.27-7.24 (m, 2H, Ar-H), 6.73-6.71 (m, 2H, Ar-H), 6.53-6.51 (m, 2H, Ar-H). ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.7, 163.3, 139.8, 136.7, 134.8, 127.7, 123.6, 119.9, 116.9, 113.5. FT-IR (ATR): 3746 (O-H), 3006 (Ar-H), 2896 (O-H), 1611 (C=N), 1585 (C=C), 1527 (C=C), 1458 (s), 1443 (s), 1174 (C-O), 745 (C-H bending), 531 (Zn-O), 490 (Zn-N).

Kompleks logam 1b: *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-kobalt(II). Serbuk kuning gelap (0.068 g, 18%). Takat lebur >250 °C. FT-IR (ATR): 3057 (O-H), 1601 (C=N), 1581 (C=C), 1538 (C=C), 1477 (s), 1434 (s), 1170 (C-O), 746 (C-H), 524 (Co-O), 502 (Co-N).

Kompleks logam 2b: *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-nikel(II). Serbuk merah gelap (0.273 g, 73%). Takat lebur >250 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.19 (s, 2H, O-H), 8.51 (s, 2H, CHN), 7.96 (m, *J* = 3.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.37 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H, Ar-H), 7.18 (m, *J* = 3.1 Hz, 2H, Ar-H), 6.20-6.17 (m, 4H, Ar-H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 167.7, 164.8, 154.6, 142.9, 136.3, 126.9, 115.9, 114.9, 108.2, 103.9. FT-IR (ATR): 3525 (O-H), 3057 (O-H), 2805 (O-H), 1598 (C=N), 1578 (C=C), 1549 (C=C), 1478 (m), 1446 (s), 1370 (s), 1194 (C-O), 1118 (C-O), 756 (C-H), 541 (Ni-O), 499 (Ni-N).

Kompleks logam 3b: *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-kuprum(II). Serbuk oren gelap (0.094 g, 25%). Takat lebur >250 °C. FT-IR (ATR): 3061 (O-H), 1601 (C=N), 1579 (C=C), 1552 (C=C), 1475 (m), 1444 (s), 1381 (O-H), 1366 (OH), 1188 (C-O), 1115 (C-O), 532 (Cu-O), 495 (Cu-N).

Kompleks logam 4b: *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-zink(II). Serbuk kuning (0.332 g, 87%). Takat lebur >250 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.73 (s, 2H, O-H), 8.76 (s, 2H, CHN), 7.72 (m, *J* = 3.1 Hz, 2H, Ar-H), 7.23-7.15 (m, 4H, Ar-H), 6.01 (m, *J* = 3.1 Hz, 4H, Ar-H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ 174.8, 164.1, 161.2, 139.9, 138.5, 126.7, 116.2, 114.3, 106.9, 105.1. FT-IR (ATR): 3287 (O-H), 1604 (C=N), 1584 (C=C), 1553 (C=C), 1476 (s), 1445 (s), 1388 (O-H), 1355 (O-H), 1230 (s), 1184 (C-O), 744 (C-H), 524 (Zn-O), 483 (Zn-N).

UJIAN AKTIVITI ANTIMALARIA

Ujian Plasmodium laktate dehidrogenase (pLDH) (Makler & Hinrichs 1993) telah dijalankan dengan kerjasama kumpulan penyelidik di Jabatan Parasitologi, Universiti Malaya. Kultur *Plasmodium falciparum* 3D7 telah dikultur menggunakan protokol kultur piawai malaria (Trager & Jensen 1976). Parasit dikultur dalam fasa tidak segerak (*asynchronise*) pada 2% hematokrit dan 2% parasitemia dalam 100 µL larutan sebatian ujian. Sebatian diuji telah dicairkan secara bersiri dari 0.01 hingga 1000 µL/mL, manakala dadah rujukan iaitu klorokuina difosfat dicairkan secara bersiri dari 0.02 hingga 20 µM. Piring kultur yang mengandungi parasit dan sebatian yang diuji diletakkan di dalam inkubator steril dengan campuran gas 4% O₂, 5% CO₂ dan 97% N₂ pada suhu 37 °C selama 48 jam. Setelah proses pengeraman selesai, piring kultur diletakkan dalam tiga kitaran pencairan-pembekuan selama 30 minit. Seterusnya, 100 µL reagen Malstat dan 25 µL NBT/PES telah ditambah pada piring 96-telaga yang baharu dan 15

µL kultur dari piring pertama dialihkan kepada piring yang mengandungi campuran Malstat dan NBT/PES. Uji kaji telah dijalankan dalam tiga kali replikat. Perubahan warna campuran dipantau menggunakan kaedah kolorimetri pada 650 nm selepas satu jam pengeraman dalam gelap. Data yang diperoleh dianalisis untuk mendapatkan nilai IC₅₀ menggunakan perisian Graph Prism pad 5 melalui graf lengkung sigmoid.

ANALISIS DOK MOLEKUL KOMPLEKS SALOFEN DENGAN PROTEIN *Pf*DHFR-TS

Struktur molekul **1a**, **3a** dan **4b** dilukis dan disediakan untuk pengoptimuman geometri menggunakan basis set DFT-B3LYP/6-311G(dp), Gaussian 09 (Saini et al. 2019). Untuk mengira cas atom potensi elektrostatik (ESP) (Rathi, Ludlow & Verdonk 2019) untuk ligan dalam simulasi dok molekul, kata kunci POP=ESP telah dimasukkan dalam fail Gaussian put (.gjf). Pada masa yang sama, struktur kristal *Plasmodium falciparum* dihidrofolate reduktase-thimidilate sintase mutan *quadruple* yang dikomplekskan dengan WR99210, NADPH dan dUMP (PDB ID: 1J3K) (Yuvaniyama et al. 2003) telah diekstrak daripada laman web Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Ligan dan molekul air telah dikeluarkan dan reseptor tulen digunakan untuk meminimumkan tenaga oleh medan daya OPLS-AA (Kaminski et al. 2001) menggunakan GROMACS versi 2021 (Van Der Spoel et al. 2005). Selepas itu, AutoDock Tools (ADT) 4.2 telah digunakan untuk menyediakan sistem kompleks reseptor-ligan. Semua hidrogen polar telah ditambah dengan menggunakan modul hidrogen dan cas separa Gasteiger (Gasteiger & Marsili 1980; Han & Zhang 2010) telah ditetapkan untuk reseptor. Dok molekul sebatian **1a**, **3a** dan **4b** kepada protein sasaran *Plasmodium falciparum* (PDB ID: 1J3K) telah dijalankan menggunakan pakej perisian AutoDock. Alat yang tersedia dalam pakej termasuk AutoDock Vina 1.1.2 (Trott & Olson 2010), AutoGrid 4.2 (Azizian et al. 2010) dan AutoDock 4.2 (Morris et al. 2009) telah digunakan untuk pilihan perisian yang berbeza. Alat AutoDock Vina menggunakan fungsi pemarkahan *united atom* dan mampu mencari poket pengikat terbaik molekul ligan pada reseptor. Program AutoGrid mengira peta grid tenaga; saiz grid 80 × 80 × 80 dengan jarak 0.375 Å telah digunakan. Program AutoDock bertanggungjawab untuk carian konformasi dan penilaian tenaga. Untuk menilai peta grid yang dijana oleh AutoGrid, algoritma genetik Lamarckian (LGA) yang digabungkan dengan kaedah penilaian tenaga berasaskan grid dijalankan. Parameter Algoritma Genetik (GA) digunakan seperti berikut; Saiz populasi GA 300, bilangan maksimum penilaian tenaga 2500000 dan bilangan maksimum generasi 50000 (Garcia et al. 2022).

SIMULASI DINAMIK MOLEKUL

Interaksi dinamik dan kestabilan protein *Plasmodium falciparum* (1J3K) yang dikomplekskan dengan **1a**, **3a** dan **4b** telah dinilai menggunakan simulasi dinamik molekul melalui perisian Gromacs 2021 (Van Der Spoel et al. 2005). Medan daya OPLS-AA (Kaminski et al. 2001) yang terdapat dalam Gromacs digunakan untuk menjana topologi protein 1J3K, manakala medan daya sejagat (UFF) (Opo et al. 2012) yang diambil daripada program OBGMX (Garberoglio 2012) digunakan untuk menerangkan topologi ligan. Model air SPC/E (*extended simple point charge*) (Mark & Nilsson 2001) digunakan untuk menyelesaikan setiap sistem kompleks ke kotak (*cubic*) simulasi, diikuti dengan peneutralan yang sesuai pada kepekatan tujuh ion klorida, Cl⁻. Pertama, tenaga bagi setiap sistem kompleks telah diminimumkan menggunakan algoritma penurunan paling curam dengan maksimum 50000 langkah dan daya maksimum 1000.0 kJ/mol. Seterusnya, suhu dan tekanan sistem kompleks diseimbangkan dengan bilangan zarah tetap, isi padu dan suhu (NVT) serta bilangan zarah tetap, tekanan dan suhu (NPT) masing-masing dikekalkan pada kira-kira 300 K dan 1.0 bar. Kesemua kompleks reseptor-ligan diseimbangkan tertakluk kepada 100 nanosaat (ns) pengeluaran dinamik molekul dengan langkah masa 2 femtosaat (fs). Dalam kaedah pencarian kejiranan (*neighbour searching method*), interaksi elektrostatik jarak dekat, dan van der Waals telah dibaiki dengan 1.0 nm di bawah skema potongan Verlet (*Verlet cut-off scheme*) (Páll & Hess 2013). Kaedah Ewald mesh zarah (*particle mesh Ewald*) (Essmann et al. 1995) pula menghitung interaksi elektrostatik jarak jauh, manakala jarak grid 0.16 nm dan interpolasi kubikal (*cubic*) digunakan. Semua sistem simulasi molekul dinamik telah ditakrifkan dengan syarat sempadan berkala (PBC). Berdasarkan trajektori molekul dinamik, pelbagai analisis seperti punca min sisihan kuasa dua (RMSD), *fluctuation* punca min sisihan (RMSF), bilangan ikatan hidrogen (HB), dan sesaran purata kuasa dua (MSD) telah diukur untuk setiap kompleks reseptor-ligan.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Empat ligan berasaskan salofen dan lapan kompleks logam salofen telah berjaya disintesis. Ligan **a - d** dikenal pasti sebagai serbuk berwarna oren hingga kekuningan dan mempunyai peratusan hasil akhir dalam julat 54-86%. Kompleks logam salofen **1a - 4a** mempunyai peratusan hasil sekitar 75-87% manakala kompleks logam salofen **1b - 4b** mempunyai peratusan hasil sekitar 18-87% (Rajah 2). Suhu takat lebur semua ligan **a - d** ialah antara 164 – 226 °C. Suhu takat lebur untuk kompleks logam salofen adalah melebihi 250 °C.

Keempat-empat ligan berasaskan salofen dan lapan kompleks logam salofen telah dinilai secara *in vitro* menggunakan ujian antimalaria terhadap strain sensitif-klorokuina *P. falciparum* 3D7. Data daripada penilaian *in vitro* mendedahkan bahawa keempat-empat ligan berasaskan salofen memberikan kesan antimalaria sederhana terhadap *P. falciparum* 3D7 dengan nilai IC₅₀ antara 22.26 hingga 31.40 µM. Ligan berasaskan salofen **a-d** menunjukkan kesan perencatan parasit yang hampir serupa kerana aktiviti sebatian berada dalam julat antimalaria yang sama. Pengkompleksan logam salofen berdasarkan ligan **a** (*N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine) dengan Co(II), Ni(II), Cu(II), atau Zn(II) menunjukkan julat antimalaria yang berbeza-beza iaitu julat aktif hingga lemah terhadap strain 3D7. Sebatian **1a** (kompleks salofen-Co(II)) dan **3a** (kompleks salofen-Cu(II)) mempunyai kesan antimalaria yang baik iaitu IC₅₀ = 14.74 - 19.38 µM terhadap strain *P. falciparum* 3D7, manakala sebatian **4a** (kompleks salofen-Zn(II)) dan **2a** (kompleks salofen-Ni(II)) masing-masing menunjukkan aktiviti antimalaria sederhana dan lemah. Selain itu, bagi kompleks logam salofen berdasarkan ligan **b** (*N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine), sebatian **4b** (kompleks salofen-Zn(II)) memberikan kesan perencatan yang baik (IC₅₀=12.13 µM) terhadap *P. falciparum* 3D7, manakala sebatian **1b** (kompleks salofen-Co(II)) dan **3b** (kompleks salofen-Cu(II)) memberikan kesan perencatan sederhana (IC₅₀=20.37–22.19 µM) terhadap parasit. Bagaimanapun, sebatian **2b** (kompleks salofen-Ni(II)) menunjukkan perencatan yang lemah pada strain *P. falciparum* 3D7. Klorokuina difosfat sebagai ubat rujukan antimalaria menunjukkan potensi tinggi terhadap strain parasit 3D7 dengan nilai IC₅₀ 0.006 µM (Jadual 1). Antara semua kompleks logam salofen yang diuji, sebatian **1a**, **3a** dan **4b** mewakili calon yang baik sebagai agen antimalaria. Ini adalah penemuan pertama setakat ini dilaporkan mengenai sifat antimalaria kompleks logam salofen terhadap *P. falciparum* 3D7, *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kobalt(II) (**1a**), *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kuprum(II) (**3a**) dan *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-zink(II) (**4b**).

Tapak interaksi yang sesuai dalam reseptor *PfDHFR*-TS (PDB:1J3K) untuk kompleks logam salofen **1a**, **3a**, dan **4b** diperoleh melalui simulasi dok molekul sistem kompleks reseptor-ligan (Rajah 3 & Jadual 2). Nilai terbaik pengikatan kompleks reseptor-ligan untuk sebatian **1a** dan **3a** masing-masing adalah -9.7 dan -8.9 kcal/mol. Kedua-dua ligan ini telah dimasukkan ke dalam poket reseptor di mana permukaan sentuhan hidrofilik (polar) berwarna biru berlaku (Rajah 3(a) & 3(b)). Ini membenarkan molekul **1a** dan **3a** masing-masing untuk menghasilkan interaksi elektrostatik dengan residu MET55 dan CYS490 (Jadual 2). Selain itu, ligan **4b** mencapai nilai pengikatan -9.5 kcal/mol⁻¹ dan ligan diletakkan di dalam poket reseptor yang ditadbir terutamanya oleh permukaan sentuhan hidrofobik (bukan polar) berwarna coklat tanpa membuat

interaksi elektrostatik. Selain itu, walaupun terdapat kumpulan hidroksil dalam struktur **4b**, tiada interaksi ikatan hidrogen dikesan. Walaupun semua molekul ligan menghasilkan sejumlah besar interaksi hidrofobik berasaskan π disebabkan kehadiran struktur fenil cecincin, interaksi elektrostatik boleh memberi kesan yang tinggi untuk mendapatkan tenaga pengikat yang lebih rendah dalam kompleks reseptor-ligan 1J3K-**1a** dan 1J3K-**3a**. Nilai tenaga pengikat terendah diperhatikan dalam susunan 1J3K-**1a** ($-6.93 \text{ kcal.mol}^{-1}$) < 1J3K-**3a** ($-5.09 \text{ kcal.mol}^{-1}$) < 1J3K-**4b** ($-3.45 \text{ kcal.mol}^{-1}$)), bermakna bahawa struktur **1a** membuat interaksi yang paling kuat dengan protein 1J3K.

Untuk memahami kesan struktur ligan **1a**, **3a** dan **4b** pada sifat dinamik reseptor, 1J3K, simulasi dinamik molekul (MD) dijalankan. Punca min sisihan kuasa dua (RMSD) untuk keseluruhan struktur protein 1J3K diukur oleh kod rms gmx yang tersedia dalam perisian Gromacs. Plot RMSD dalam Rajah 4(a) menunjukkan bahawa 1J3K-**1a** mencapai konformasi stabil lebih awal selepas 20 ns, manakala 1J3K-**3a** dan 1J3K-**4b** mencapai bentuk stabil kemudian selepas 80 ns. Memandangkan plot RMSD yang paling sedikit turun naik dalam tempoh 80 hingga 100 ns, ini menunjukkan bahawa sistem kompleks 1J3K-**4b** menerima kestabilan konformasi tertinggi berbanding sistem kompleks 1J3K-**1a** dan 1J3K-**3a**.

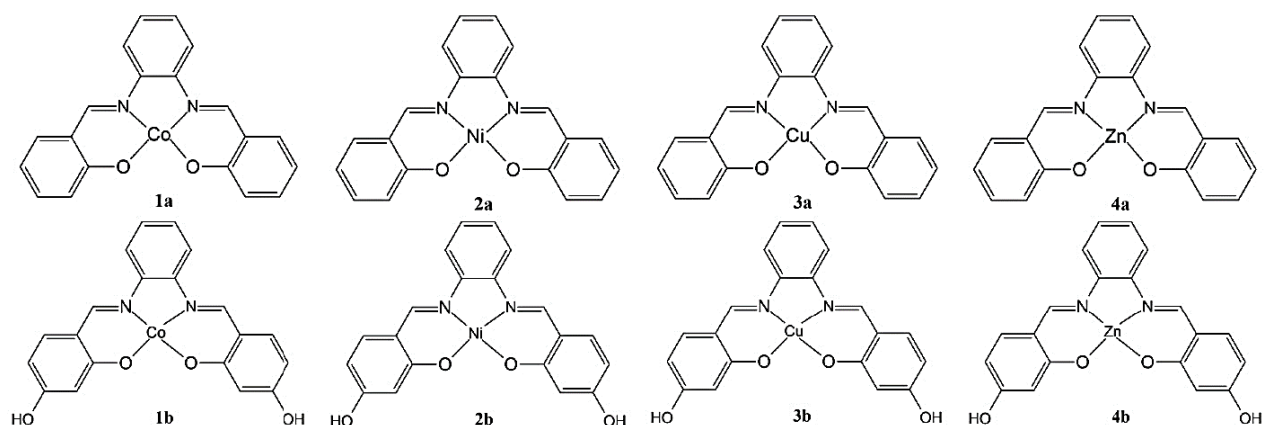
Fluctuation punca min sisihan (RMSF) ialah satu lagi analisis berguna yang menerangkan ketegaran (*rigidity*) dan kefleksibelan reseptor semasa interaksi ligan. Analisis ini diperolehi oleh modul gmx rmsf yang terdapat dalam alat Gromacs. Seperti yang digambarkan dalam Rajah 4b, lebih banyak turun naik (lebih banyak puncak) ditemui untuk 1J3K-**4b** berbanding sistem kompleks 1J3K-**1a** dan 1J3K-**3a**. Dalam plot 1J3K-**4b**, sembilan puncak adalah lebih tinggi daripada 0.6 nm sebagai nombor 1, 2, 222, 223, 442, 786, 787, 1093 dan 1094 pada plot yang dimiliki oleh residu ALA608, MET1, MET1, LYS232 MET2, MET2, GLU301, GLU300 dan ALA607. Berbanding dengan keputusan yang diperolehi daripada simulasi dok, residu fleksibel tertinggi yang terdapat dalam plot RMSF tidak terlibat dalam interaksi dengan molekul ligan **4b** (Jadual 2). Bagaimanapun, residu LEU46, LEU40, VAL195, dan VAL45 terlibat dalam interaksi dok 1J3K-**4b** (Jadual 2) menunjukkan nilai RMSF rendah masing-masing 0.156, 0.149, 0.154 dan 0.193 nm, yang timbul daripada kefleksibelan terendah kerana interaksi dengan ligan **4b**.

Interaksi ikatan hidrogen (HB) telah dikenal pasti apabila jarak antara tapak penderma (contohnya kumpulan -OH dan -NH₂) dan tapak penerima (contohnya atom O dan N) adalah kurang daripada 0.35 nm dan sudut hidrogen-penderma-penerima adalah lebih rendah daripada 30° (Kooijman et al. 2007). Purata bilangan interaksi HB per jangka masa yang diperolehi ialah 0.000 ± 0.000 ,

0.591 ± 0.008 dan 0.001 ± 0.000 masing-masing untuk 1J3K-**1a**, 1J3K-**3a** dan 1J3K-**4b**. Oleh itu, hanya plot interaksi HB untuk 1J3K-**3a** telah diwakili dalam Rajah 4(c). Interaksi HB dalam sistem kompleks 1J3K-**3a** berlaku sebelum 60 ns apabila molekul **3a** diletakkan dalam tapak aktif protein 1J3K.

Semua struktur ligan adalah menghampiri satah dan tegar, tiada keadaan konformasi yang berbeza. Oleh itu, interaksi HB purata ligan boleh dikaitkan dengan kepolaran antara ligan dan permukaan tapak aktif reseptor. Seperti yang digambarkan dalam Rajah 3, permukaan poket reseptor mengelilingi ligan **1a** dan **3a** mempunyai kepolaran yang lebih tinggi. Sebaliknya, analisis taburan cas ESP yang diambil daripada pengiraan pengoptimuman DFT menunjukkan bahawa atom nitrogen yang diselaraskan kepada logam kuprum dalam 1J3K-**3a** mempunyai cas negatif yang lebih besar berbanding dengan atom nitrogen yang diselaraskan kepada logam kobalt dalam 1J3K-**1a** (Rajah 5(a) & 5(b)). Oleh itu, tapak bercas yang sangat negatif di sekeliling logam kuprum memberi lebih banyak peluang untuk membuat interaksi HB dengan permukaan reseptor berpolar semasa pergerakan molekul ligan. Walaupun atom nitrogen dan oksigen yang diselaraskan kepada Zn dalam ligan **4b** adalah sangat negatif dan struktur **4b** terdiri daripada dua kumpulan hidroksil polar, sistem kompleks 1J3K-**4b** mencatatkan interaksi HB berpurata sifar dalam masa 100 ns sejak ia diletakkan ke dalam kumpulan bukan poket berpolar. Secara keseluruhannya, pengikatan tertinggi **4b** dalam poket reseptor bukan polar dan interaksi hidrofobik pilihan dalam sistem kompleks 1J3K-**4b** memainkan peranan penting dalam kestabilan RMSD yang lebih tinggi dan perencatan yang lebih baik (IC_{50} : 12.13 μM).

Keputusan daripada penemuan sekarang adalah selari dengan kajian lepas bahawa pembentukan kompleks logam meningkatkan aktiviti antimalaria. Penemuan kali ini mencadangkan bahawa kompleks logam Cu(II), Co(II) dan Zn(II) berasaskan salofen memberikan kesan perencatan yang baik (2-20 μM) terhadap strain *P. falciparum* 3D7. Berdasarkan analisis perkaitan struktur-aktiviti, aktiviti antimalaria kompleks logam salofen adalah disebabkan oleh kehadiran kumpulan imina dan ion logam. Kumpulan imina memainkan peranan penting dalam menjadikan sebatian ini bioaktif (Fonkui et al. 2018). Kumpulan imina mampu berkoordinasi dengan entiti biologi seperti DNA, RNA, protein dan lipid yang boleh mempercepatkan atau memperlambatkan proses biologi. Kehadiran satu elektron pada nitrogen kumpulan imina boleh merencat enzim melalui pembentukan kompleks (Aispuro-Pérez et al. 2020). Selain itu, koordinasi ion logam kepada ligan boleh meningkatkan aktiviti antimalaria. Kompleks logam juga boleh bertindak sebagai agen pengkelat dalam jangkitan malaria (Norazmi et al. 2022).

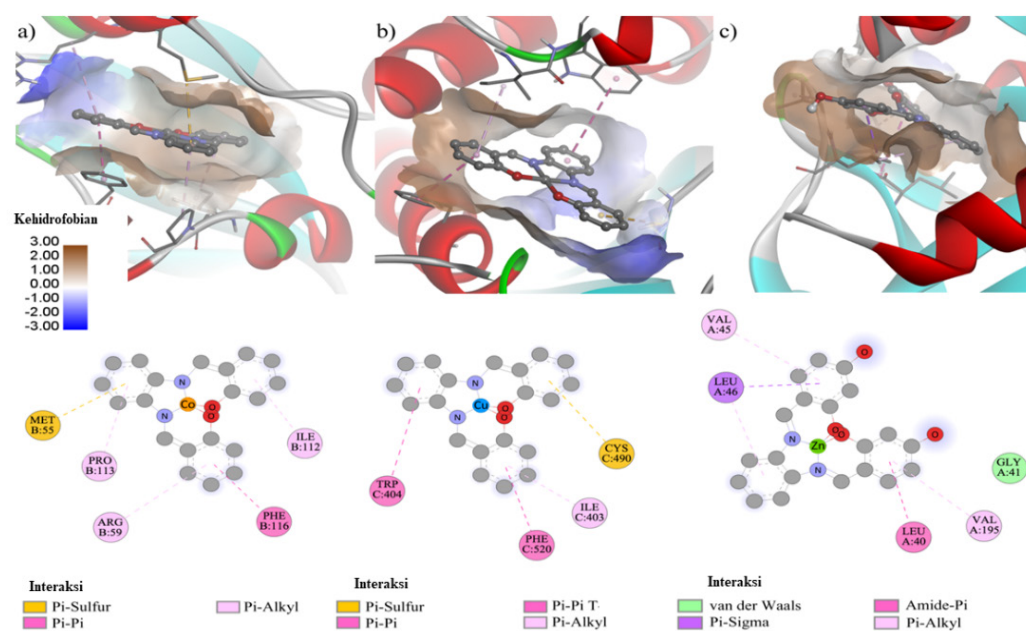


RAJAH 2. Struktur kimia lapan kompleks logam salofen 1a-4a dan 1b-4b

JADUAL 1. Aktiviti antimalaria lapan kompleks logam salofen, **1a-4a** dan **1b-4b** terhadap *P. falciparum* 3D7

Sebatian kimia	IC ₅₀ (μM) ± SD	Potensi aktiviti antimalaria	Julat antimalaria (nilai IC ₅₀ dalam μM) (Batista et al. 2009)
Ligan berasaskan salofen			
Ligan a	31.40 ± 8.26	Sederhana	21–100
Ligan b	22.26 ± 1.84	Sederhana	21–100
Ligan c	23.96 ± 4.70	Sederhana	21–100
Ligan d	22.50 ± 8.73	Sederhana	21–100
Kompleks logam salofen			
1a (Kompleks Kobalt(II))	14.74 ± 0.79	Aktif	2–20
2a (Kompleks Nickel(II))	162.65 ± 9.82	Lemah	101–200
3a (Kompleks Kuprum(II))	19.38 ± 0.66	Aktif	2–20
4a (Kompleks Zink(II))	52.00 ± 14.18	Sederhana	21–100
1b (Kompleks Kobalt(II))	20.37 ± 4.62	Sederhana	21–100
2b (Kompleks Nickel(II))	140.48 ± 61.55	Lemah	101–200
3b (Kompleks Kuprum(II))	20.19 ± 4.78	Sederhana	21–100
4b (Kompleks Zink(II))	12.13 ± 2.58	Aktif	2–20
CQ	0.006 ± 0.0001	Sangat aktif	< 1

IC₅₀: kepekatan perencatan pada 50% pertumbuhan parasit; pLDH: plasmodium laktat dehidrogenase; SD: sisihan piawai; CQ: klorokuina difosfat

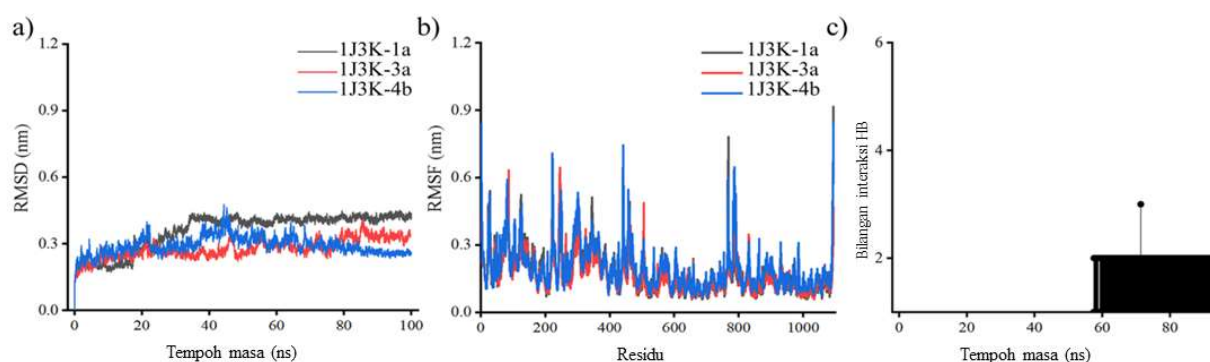


RAJAH 3. Kehidrofobikan permukaan 1J3K dan interaksi 3D (panel atas) dan interaksi 2D yang sepadan (panel bawah) untuk a) 1J3K-1a, b) 1J3K-3a dan c) 1J3K-4b

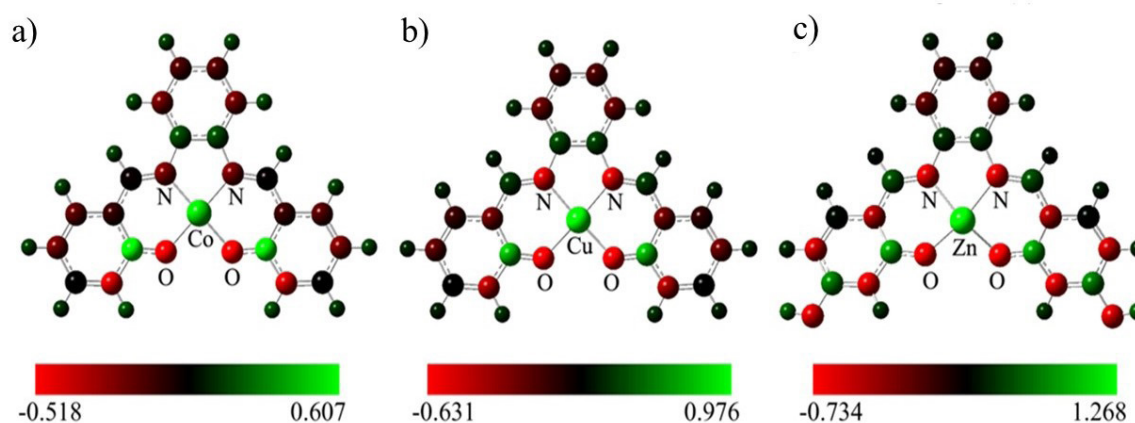
JADUAL 2. Pertalian pengikatan terbaik, interaksi molekular, dan tenaga pengikatan terendah untuk sistem kompleks reseptor-ligan

Sistem kompleks	Afiniti pengikatan*	Jenis interaksi	Tapak interaksi	Jarak (Å)	Tenaga pengikatan*
1J3K-1a	-9.7	Elektrostatik	MET55:S ... π :44a	4.1466	-6.93
		Hidrofobik	PHE116: π ... π :44a	4.5197	
		Hidrofobik	44a: π ... HC:ARG59	5.2430	
		Hidrofobik	44a: π ... HC:PRO113	4.4886	
		Hidrofobik	44a: π ... HC:ILE112	3.9807	
1J3K-3a	-8.9	Elektrostatik	CYS490:S ... π :44c	5.34964	-5.09
		Hidrofobik	PHE520: π ... HC:44c	4.34761	
		Hidrofobik	TRP404: π ... π :44c	5.92794	
		Hidrofobik	44c:CH ... HC:ILE403	4.74671	
1J3K-4b	-9.5	Hidrofobik	LEU46:CH ... π :45d	3.9630	-3.45
		Hidrofobik	LEU40:NC ... π :45d	5.0079	
		Hidrofobik	45d: π ... HC:VAL195	5.1063	
		Hidrofobik	45d: π ... HC:LEU46	5.3220	
		Hidrofobik	45d: π ... HC:VAL45	5.3538	

*Unit adalah kcal.mol⁻¹



RAJAH 4. a) RMSD dan b) Plot RMSF untuk semua sistem kompleks, c) Plot interaksi ikatan hidrogen (HB) untuk 1J3K-3a



RAJAH 5. Taburan caj ESP untuk struktur a) 1a, b) 3a dan c) 4b

KESIMPULAN

Secara kesimpulannya, lapan kompleks logam salofen disediakan melalui tindak balas bes Schiff dan penilaian antimalaria bagi sebatian ini menunjukkan bahawa kompleks logam salofen, *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kobalt(II) (**1a**), *N,N'*-bis-(salicilidene)-*o*-fenilenediamine-kuprum(II) (**3a**) dan *N,N'*-bis-4-(hidroksisalicilidene)-*o*-fenilenediamine-zink(II) (**4b**) mempunyai aktiviti antimalaria yang aktif terhadap *P. falciparum* 3D7. Dok molekul dan analisis dinamik molekul mendedahkan bahawa *Pf*DHFR-TS adalah sasaran antimalaria bagi sebatian kompleks logam salofen yang berpotensi tinggi dikembangkan. Hasil kajian ini adalah penting sebagai satu usaha penerokaan terapi alternatif untuk mencegah kemunculan semula kes kerintangan parasit terhadap ubat antimalaria yang sedia ada.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini dibiayai oleh Kementerian Pengajian Tinggi Malaysia melalui geran penyelidikan *Fundamental Research Grant Scheme* melalui kod penyelidikan FRGS/1/2019/STG01/UKM/02/3.

RUJUKAN

Aispuro-Pérez, A., López-Ávalos, J., García-Páez, F., Montes-Avila, J., Picos-Corrales, L.A., Ochoa-Terán, A., Bastidas, P., Montañó, S., Calderón-Zamora, L., Osuna-Martínez, U. & Sarmiento-Sánchez, J.I. 2020. Synthesis and molecular docking studies of imines as α -glucosidase and α -amylase inhibitors. *Bioorganic Chemistry* 94: 103491.

- Ashley, E.A., Dhorda, M., Fairhurst, R.M., Amaratunga, C., Lim, P., Suon, S., Sreng, S., Anderson, J.M., Mao, S., Sam, B. & Sopha, C. 2014. Spread of artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum* malaria. *New England Journal of Medicine* 371(5): 411-423.
- Azizian, H., Bahrami, H., Pasalar, P. & Amanlou, M. 2010. Molecular modeling of *Helicobacter pylori* arginase and the inhibitor coordination interactions. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 28(7): 626-635.
- Batista, R., De Jesus Silva Júnior, A. & De Oliveira, A.B. 2009. Plant-derived antimalarial agents: New leads and efficient phytomedicines. Part II. Non-alkaloidal natural products. *Molecules* 14(8): 3037-3072.
- Brown, R.W. & Hyland, C.J. 2015. Medicinal organometallic chemistry - an emerging strategy for the treatment of neglected tropical diseases. *MedChemComm* 6(7): 1230-1243.
- Chong, J.H., Ardakani, S.J., Smith, K.J. & MacLachlan, M.J. 2009. Triptycene-based metal salphens-exploiting intrinsic molecular porosity for gas storage. *Chemistry - A European Journal* 15(44): 11824-11828.
- Dueke-Eze, C.U., Fasina, T.M., Oluwalana, A.E., Familoni, O.B., Mphalele, J.M. & Onubuogu, C. 2020. Synthesis and biological evaluation of copper and cobalt complexes of (5-substituted-salicylidene) isonicotinichydrazide derivatives as antitubercular agents. *Scientific African* 9: e00522.
- Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M.L., Darden, T., Lee, H. & Pedersen, L.G. 1995. A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics* 103(19): 8577-8593.
- Fonkui, T.Y., Ikhile, M.I., Ndinteh, D.T. & Njobeh, P.B. 2018. Microbial activity of some heterocyclic Schiff bases and metal complexes: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 17(12): 2507-2518.
- Garberoglio, G. 2012. OBGMX: A web-based generator of GROMACS topologies for molecular and periodic systems using the universal force field. *Journal of Computational Chemistry* 33(27): 2204-2208.
- Garcia, J., Carvalho, A., das Neves, R.P., Malheiro, R., Rodrigues, D.F., Figueiredo, P.R., Bovolini, A., Duarte, J.A., Costa, V.M. & Carvalho, F. 2022. Antidotal effect of cyclosporine A against α -amanitin toxicity in CD-1 mice, at clinical relevant doses. *Food and Chemical Toxicology* 166: 113198.
- Gasteiger, J. & Marsili, M. 1980. Iterative partial equalization of orbital electronegativity-a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron* 36(22): 3219-3228.
- Han, M. & Zhang, J.Z. 2010. Class I phospho-inositide-3-kinases (PI3Ks) isoform-specific inhibition study by the combination of docking and molecular dynamics simulation. *Journal of Chemical Information and Modeling* 50(1): 136-145.
- Kaminski, G.A., Friesner, R.A., Tirado-Rives, J. & Jorgensen, W.L. 2001. Evaluation and reparametrization of the OPLS-AA force field for proteins via comparison with accurate quantum chemical calculations on peptides. *The Journal of Physical Chemistry B* 105(28): 6474-6487.
- Kementerian Kesehatan Malaysia (KKM). 2020. *Sambutan Hari Malaria Peringkat Kebangsaan Tahun 2020*. https://www.moh.gov.my/index.php/database_stores/attach_download/337/1499 Diakses pada 1 Jun 2022.
- Koenderink, J.B., Kavishe, R.A., Rijpma, S.R. & Russel, F.G. 2010. The ABCs of multidrug resistance in malaria. *Trends in Parasitology* 26(9): 440-446.
- Kondaparla, S., Manhas, A., Dola, V.R., Srivastava, K., Puri, S.K. & Katti, S.B. 2018. Design, synthesis and antiplasmodial activity of novel imidazole derivatives based on 7-chloro-4-aminoquinoline. *Bioorganic Chemistry* 80: 204-211.
- Kooijman, E.E., Tieleman, D.P., Testerink, C., Munnik, T., Rijkers, D.T.S., Burger, K.N.J. & de Kruijff, B. 2007. An electrostatic/hydrogen bond switch as the basis for the specific interaction of phosphatidic acid with proteins. *Journal of Biological Chemistry* 282(15): 11356-11364. doi:10.1074/jbc.M609737200
- Li, H., Xi, D., Niu, Y., Wang, C., Xu, F., Liang, L. & Xu, P. 2019. Design, synthesis and biological evaluation of cobalt (II)-Schiff base complexes as ATP-noncompetitive MEK1 inhibitors. *Journal of Inorganic Biochemistry* 195: 174-181.
- Liu, M., Yang, H., Li, D., Yao, Q., Wang, H., Zhang, Z. & Dou, J. 2021. Zn and Cu complexes of o-van-gly Schiff base: Syntheses, crystal structures, fluorescence sensing and anticancer properties. *Inorganica Chimica Acta* 522: 120384.
- Makler, M.T. & Hinrichs, D.J. 1993. Measurement of the lactate dehydrogenase activity of *Plasmodium falciparum* as an assessment of parasitemia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 48(2): 205-210.
- Mark, P. & Nilsson, L. 2001. Structure and dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E water models at 298 K. *The Journal of Physical Chemistry A* 105(43): 9954-9960.
- Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S. & Olson, A.J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry* 30(16): 2785-2791.
- Neafsey, D.E., Waterhouse, R.M., Abai, M.R., Aganezov, S.S., Alekseyev, M.A., Allen, J.E., Amon, J., Arcà, B., Arensburger, P., Artemov, G. & Assour, L.A. 2015. Highly evolvable malaria vectors: The genomes of 16 Anopheles mosquitoes. *Science* 347(6217): 1258522.

- Norazmi, N.A.Z., Mukhtar, N.H., Ali, A.H., Abd Karim, N.H., Yusoff, S.F.M., Agustar, H.K., Abd Razak, M.R.M. & Hassan, N.I. 2022. *In vitro* antimalarial activity of metal complexes of tetraazamacrocyclic ligands against *Plasmodium falciparum* K1 strain. *Sains Malaysiana* 51(4): 1123-1130.
- Opo, F.A.D.M., Rahman, M.M., Ahammad, F., Ahmed, I., Bhuiyan, M.A. & Asiri, A.M. 2021. Structure based pharmacophore modeling, virtual screening, molecular docking and ADMET approaches for identification of natural anti-cancer agents targeting XIAP protein. *Scientific Reports* 11(1): 4049.
- Ouji, M., Augereau, J.M., Paloque, L. & Benoit-Vical, F. 2018. *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin-based combination therapies: A sword of Damocles in the path toward malaria elimination. *Parasite* 25: 24.
- Páll, S. & Hess, B. 2013. A flexible algorithm for calculating pair interactions on SIMD architectures. *Computer Physics Communications* 184(12): 2641-2650.
- Pulcini, S., Staines, H.M., Lee, A.H., Shafik, S.H., Bouyer, G., Moore, C.M., Daley, D.A., Hoke, M.J., Altenhofen, L.M., Painter, H.J. & Mu, J. 2015. Mutations in the *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter, PfCRT, enlarge the parasite's food vacuole and alter drug sensitivities. *Scientific Reports* 5(1): 14552.
- Rathi, P.C., Ludlow, R.F. & Verdonk, M.L. 2019. Practical high-quality electrostatic potential surfaces for drug discovery using a graph-convolutional deep neural network. *Journal of Medicinal Chemistry* 63(16): 8778-8790.
- Saikumari, N. 2021. Synthesis and characterization of amino acid Schiff base and its copper (II) complex and its antimicrobial studies. *Materials Today: Proceedings* 47: 1777-1781.
- Saini, G., Dalal, V., Savita, B.K., Sharma, N., Kumar, P. & Sharma, A.K. 2019. Molecular docking and dynamic approach to virtual screen inhibitors against Esbp of *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 92: 329-340.
- Savir, S., Liew, J.W.K., Vythilingam, I., Lim, Y.A.L., Tan, C.H., Sim, K.S., Lee, V.S., Maah, M.J. & Tan, K.W. 2021. Nickel (II) complexes with polyhydroxybenzaldehyde and O, N, S tridentate thiosemicarbazone ligands: Synthesis, cytotoxicity, antimalarial activity, and molecular docking studies. *Journal of Molecular Structure* 1242: 130815.
- Senthamarai, T., Chandrashekar, V.G., Gawande, M.B., Kalevaru, N.V., Zbořil, R., Kamer, P.C., Jagadeesh, R.V. & Beller, M. 2020. Ultra-small cobalt nanoparticles from molecularly-defined Co-salen complexes for catalytic synthesis of amines. *Chemical Science* 11(11): 2973-2981.
- Shaikh, I., Jadeja, R.N., Patel, R., Mevada, V. & Gupta, V.K. 2021. 4-Acylhydrazone-5-pyrazolones and their zinc (II) metal complexes: synthesis, characterization, crystal feature and antimalarial activity. *Journal of Molecular Structure* 1232: 130051.
- Trager, W. & Jensen, J.B. 1976. Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 193(4254): 673-675.
- Trott, O. & Olson, A.J. 2010. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* 31(2): 455-461.
- Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E. & Berendsen, H.J. 2005. GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry* 26(16): 1701-1718.
- Wang, Y.Y., Xu, F.Z., Zhu, Y.Y., Song, B., Luo, D., Yu, G., Chen, S., Xue, W. & Wu, J. 2018. Pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine derivatives containing a Schiff base moiety as potential antiviral agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 28(17): 2979-2984.
- World Health Organization (WHO). 2022. *World Malaria Report*. Geneva. <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2022>. Diakses 1 Jun 2023.
- Yuvaniyama, J., Chitnumsub, P., Kamchonwongpaisan, S., Vanichtanankul, J., Sirawaraporn, W., Taylor, P., Walkinshaw, M.D. & Yuthavong, Y. 2003. Insights into antifolate resistance from malarial DHFR-TS structures. *Nature Structural & Molecular Biology* 10(5): 357-365.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: drizz@ukm.edu.my