

Sintesis, Aktiviti Antiplasmodium dan Kesitotoksikan secara *in vitro* Sebatian Porfirin Logam ke atas Strain *Plasmodium falciparum* K1 (Synthesis, *in vitro* Antiplasmodial Activity and Cytotoxicity of Metalloporphyrins against *Plasmodium falciparum* K1 Strain)

NUUR HAZIQAH MOHD RADZUAN, NUR AQILAH ZAHIRAH NORAZMI, AMATUL HAMIZAH ALI, MUNTAZ ABU BAKAR, HANI KARTINI AGUSTAR, MOHD RIDZUAN MOHD ABD RAZAK & NURUL IZZATY HASSAN*

ABSTRAK

Jangkitan malaria adalah penyakit berjangkit serius yang disebabkan oleh parasit plasmodium dan harus dirawat sebagai perubatan kecemasan. Sehingga kini, tiada vaksin yang sudah dikomersialkan untuk mencegah malaria. Enam sebatian porfirin logam nikel(II) dan zink(II) berasaskan porfirin meso bebas bes 5,15-difenilporfirin (2), 5,15-diheksilporfirin (3) dan 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4) iaitu **NiDDHP**, **NiDPP**, **NiTPP**, **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** dihasilkan melalui penyejatan Lindsey sebelum dicirikan secara spektroskopi (resonans magnet nukleus, ultra lembayung boleh nampak, spektrometri jisim) dan fizikal (takat lebur). Aktiviti antiplasmodium dan kesitotoksikan secara *in vitro* terhadap strain rintang-klorokuina, *P. falciparum* K1 dinilai dan dibandingkan dengan aktiviti antiplasmodium dadah rujukan seperti klorokuina dan artemisinin. **ZnDHP**, **ZnTPP** dan **NiDPP** merencat pertumbuhan parasit dengan 50% kepekatan perencatan berkesan (EC_{50}) dalam julat aktiviti antiplasmodium sederhana iaitu 21.4 sehingga 36.0 μM . Aktiviti kesitotoksikan terhadap sel mamalia Vero yang ditunjukkan oleh **NiDPP**, **ZnDHP** dan **ZnTPP** berada dalam julat tidak toksik iaitu 97 sehingga 587 μM . **ZnDHP** mempunyai nilai indeks pemilihan yang paling tinggi iaitu 27.2 μM , menunjukkan aktiviti antiplasmodium yang selektif terhadap perencatan plasmodium dan tidak toksik terhadap sel mamalia.

Kata kunci: Antiplasmodium; *in vitro*; kesitotoksikan; *P. falciparum* K1; porfirin logam

ABSTRACT

Malaria infection is a severe infectious disease caused by plasmodium parasites and should be treated as emergency medicine. Until now, no vaccine has been commercialized to prevent malaria. Six nickel(II) and zinc(II) metal porphyrin compounds based on free meso porphyrin base 5,15-diphenylporphyrin (2), 5,15-dihexylporphyrin (3), and 5,10,15,20-tetraphenyl porphyrin (4), known as **NiDDHP**, **NiDPP**, **NiTPP**, **ZnDHP**, **ZnDPP** and **ZnTPP** are produced through Lindsey condensation before being characterized by spectroscopy (nuclear magnetic resonance, ultraviolet-visible spectrophotometry, mass spectrometry) and physical (melting point). *In vitro* antiplasmodial and cytotoxicity activities against the *P. falciparum* K1 strain were assessed and compared to the antiplasmodial activity of referral drugs such as chloroquine artemisinin. **ZnDHP**, **ZnTPP** and **NiDPP** recorded parasites' growth with 50% effective inhibition concentration (EC_{50}) in a range of 21.4 to 36.0 μM . Cytotoxic activities of **NiDPP**, **ZnDHP** and **ZnTPP** against Vero mammalian cells were in a non-toxic range of about 97 to 587 μM . **ZnDHP** possessed the highest selectivity index value of 27.2 μM , indicating that the compound's antiplasmodial effect was a selective plasmodial inhibition and non-toxic to the mammalian cells.

Keywords: Antiplasmodial; cytotoxicity; *in vitro*; metalloporphyrin; *P. falciparum* K1

PENGENALAN

Pelan Strategik Eliminasi Malaria Kebangsaan mensasarkan penurunan kejadian kes malaria dan mencapai status eliminasi malaria menjelang tahun 2020.

Walau bagaimanapun, kes malaria masih lagi berlaku dalam kalangan rakyat Malaysia terutamanya di Sabah dan Sarawak disebabkan oleh kedatangan ramai pekerja asing dari negara jiran berdekatan (Hussin et al. 2020; Yong

et al. 2018). Parasit plasmodium telah menghasilkan strain yang mempunyai kerintangan kimia terhadap ubatan klorokuina. Rawatan piawai yang sering digunakan untuk merawat malaria adalah terapi gabungan berasaskan artemisinin dan terbitannya (Li 2012). Keberkesannya turut terancam apabila parasit malaria menjadi semakin berdaya tahan terhadap bahan aktif dalam gabungan tersebut (Fairhurst & Dondorp 2016). Tambahan pula, akses kepada rawatan adalah sangat terhad dan memberi kesan besar kepada negara miskin dengan kos terapi yang tinggi (Hamed & Stricker 2016).

Oleh itu, perlunya penyelidikan berterusan untuk menghasilkan ubat antimalaria baharu yang tidak menimbulkan daya tahan daripada parasit plasmodium (Ali et al. 2017). Antara pendekatan yang digunakan dalam penghasilan ubat antimalaria baharu adalah dengan menggabungkan struktur organik yang diketahui kebolehan antimalariannya bersama kompleks organologam (Dive & Biot 2008). Kompleks organologam mempunyai kebolehan mengkoordinat ligan dalam konfigurasi tiga dimensi yang membolehkan pemfungsian sebatian ke atas molekul sasaran. Sebatian berasaskan logam, terutamanya logam peralihan mempunyai sifat-sifat unik yang membolehkan mereka diguna pakai dalam merawat penyakit (Navarro et al. 2012). Penggunaan ferrokuina sebagai rawatan alternatif malaria telah membawa kepada penemuan pelbagai kompleks organologam berasaskan moiety ferrosil (Peter & Aderibigbe 2019), makrosiklik tetraaza (Hubin et al. 2014) dan thiosemikarbazon (Summers 2019). Namun begitu, sintesis kompleks organologam makrosiklik tetraaza yang mengandungi moiety seperti siklen (Li et al. 2008) dan siklam (Banziger & Ren 2019) melibatkan tindak balas yang banyak dan rumit.

Parasit malaria menghasilkan hem melalui pendegradan hemoglobin, dengan penghabluran hem dinyahtoksikkan untuk menghasilkan hemozoin. Hem ini dimusnahkan melalui tindak balas dengan hidrogen peroksida atau glutionin. Pempolimeran kepada β -hematin mencegah ketoksikan hem di samping menjadi sasaran utama terbitan dadah klorokuina. Sebatian porfirin logam dikenal pasti berpotensi untuk bertindak sebagai perencat poten bagi pempolimeran hem. Ion logam pusat pada porfirin logam memainkan peranan yang signifikan dalam merencatkan pempolimeran hem melalui interaksi π - π di antara hem dan ion logam (Cole et al. 2000). Walau bagaimanapun, data efikasi sebatian porfirin logam bertindak sebagai agen antimalaria masih kurang meluas dilaporkan.

Penilaian aktiviti antiplasmodium secara *in vitro* bagi enam sebatian metaloporfirin iaitu **NiDDHP**,

NiDPP, **NiTPP**, **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** berasaskan porfirin meso bebas bes 5,15-difenilporfirin (2), 5,15-diheksilporfirin (3) dan 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4) dijalankan terhadap strain rintang-klorokuina *P. falciparum* K1. Aktiviti antimalaria diuji dengan kaedah asai plasmodium laktat dehidrogenase (pLDH) dan keputusannya dibandingkan dengan dadah rujukan klorokuina dan artemisinin (Okebe et al. 2014). Analisa kesitotoksikan turut dijalankan ke atas sel mamalia Vero menggunakan kaedah asai 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) (Mamat et al. 2020). Nilai indeks pemilihan (SI) bagi setiap sebatian porfirin logam ditentukan berdasarkan nilai kepekatan pada 50% pertumbuhan daripada kedua-dua asai antimalaria dan kesitotoksikan.

BAHAN KIMIA DAN INSTRUMENTASI

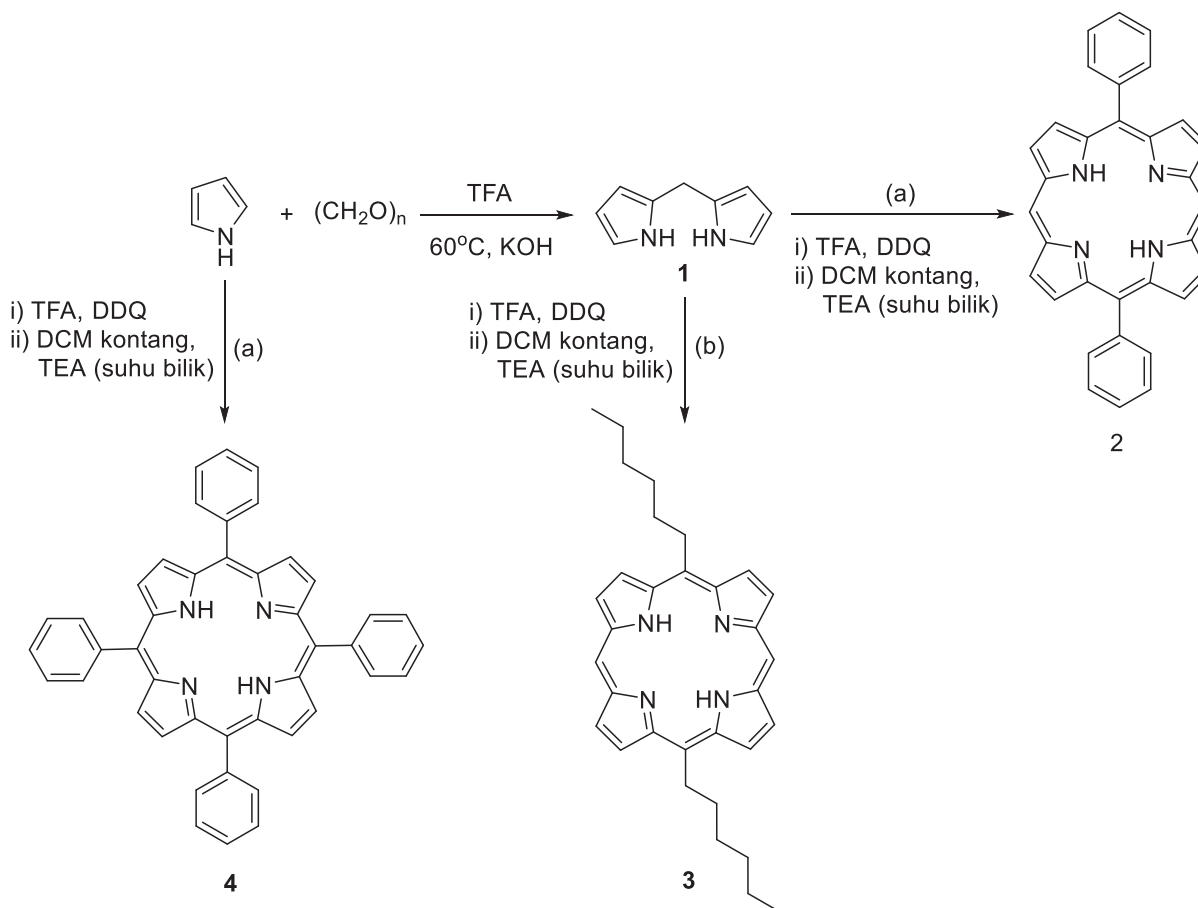
Bahan kimia utama yang digunakan adalah pirola 98% (Sigma Aldrich), benzaldehid (R&M), asid trifloroasetik 99% (TFA) (Sigma Aldrich), fosforus pentaoksida (P_2O_5), 2,3-dikloro-5,6-disiano-1,4-benzakuinon (DDQ) (Sigma Aldrich), trietilamina (TEA), N-bromosuksinimida (NBS), piridina, pinakolborana 97% (Sigma Aldrich), mangkin paladium (Sigma Aldrich), 4-bromobenzaldehid dan heptanal. Manakala pelarut yang digunakan adalah diklorometana (DCM), metanol (MeOH), kloroform ($CHCl_3$), heksana, 1,2-dikloroetana dan toluena, tetrahidrofuran (THF) dan dimetilformamida (DMF). Bagi setiap tindak balas yang dilakukan, pemantauan ketulenan awal sebatian dilakukan dengan teknik kromatografi lapisan nipis (KLN) 0.25 mm piring plat gel silika (Merck Kiesegel 60F254 penunjuk UL). Pencirian sebatian dilakukan dengan menggunakan spektroskopi Resonans Magnetik Nuklear, RMN (Bruker FT-NMR 100 MHz dan 400 MHz), spektroskopi Ultralembayung Boleh Nampak, ULBN (Shimadzu UV-1650) dengan pelarut DCM pada kepekatan 4×10^{-6} M dan spektrometri jisim (Bruker MicroTof-Q) melalui kaedah *direct infuse* menggunakan elektrosemburan pengionan lembut (ESI). Pengukuran takat lebur diukur dengan Barnstead Electrothermal IA9000 Series dengan julat suhu sekitar suhu bilik hingga 400 °C.

SINTESIS SEBATIAN BAHAN PEMULA PORFIRIN DAN PORFIRIN LOGAM

Kajian ini melibatkan dua peringkat tindak balas utama. Peringkat pertama melibatkan sintesis bahan pemula porfirin dan sebatian porfirin (Rajah 1). Untuk penghasilan sebatian porfirin 2-4, kaedah penyejatan Lindsey (Lindsey et al. 1987) yang melibatkan dua tindak

balas utama iaitu tindak balas penyejatan dan diikuti dengan tindak balas pengoksidaan telah digunakan. Kaedah penyejatan ini melibatkan penggunaan pelarut DCM dan asid trifloroasetik sebagai bahan pemanangkin.

Agan pengoksidaan yang digunakan bagi tindak balas ini adalah 2,3-dikloro-5,6-disiano-1,4-benzokuinona (DDQ). Peringkat kedua melibatkan penambahan logam ke dalam struktur sebatian porfirin untuk menghasilkan sebatian porfirin logam.



RAJAH 1. Skema tindak balas bagi pembentukan dipirometana dan sebatian porfirin: 5,15-difenilporfirin (2), 5,15 –dihexsilporfirin (3) dan 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4). (a) dan (b) merujuk kepada jenis aldehid yang digunakan iaitu (a) benzaldehid dan (b) heptaldehid

SINTESIS SEBATIAN DIPIROMETANA (1)

Paraformaldehid (3.46 g, 120 mmol) dikacau bersama dengan pirola (200 mL, 2.80 mol) dalam kelalang bulat berkepala tiga yang disertakan dengan termometer dalam posisi refluks. Asid trifloroasetik (TFA) (0.2 mL, 2.60 mmol) ditambah selepas campuran mencapai suhu $50-70^\circ\text{C}$. Potasium hidroksida (KOH) ditambah pada suhu tidak melebihi 90°C selama 30 min sebelum tindak balas ditamatkan. Sebatian diasingkan melalui kromatografi

cecair vakum (KCV) dengan pelarut DCM, dipekatkan dan dituliskan menggunakan teknik Kugelrohr untuk menghasilkan (1) sebagai hablur tidak berwarna. Formula sebatian: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2$; Peratusan hasil: 6 g (38%); RMN^1H (400 MHz, CDCl_3) δ_{H} : 3.97 (s, 2H), 6.10 (d, $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz, 2H), 6.22 (q, $J_{\text{HH}} = 2.8$ Hz, 2H), 6.64 (q, $J_{\text{HH}} = 2.2$ Hz, 2H), 7.70 (s, 2H) ppm. RMN^{13}C (CDCl_3) δ_{C} : 26.3, 106.1, 108.4, 117.1, 128.8, 129.3 ppm.

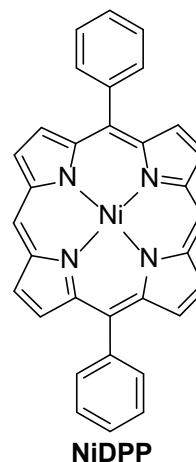
SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN 5,15-DIFENILPORFIRIN (2)
 Dipirometana (1) (1.0 g, 6.80 mmol) dan benzaldehid di dalam DCM (700 mL) dengan kehadiran TFA (0.1 mL) ditindak balas selama 18 jam pada suhu bilik dengan pengaliran gas nitrogen berterusan. Selepas 18 jam, DDQ (2.5 g, 11 mmol) ditambah dan tindak balas diteruskan selama satu jam. Trietilamina (TEA) (5 mL) ditambah untuk melengkapkan tindak balas. Sebatian diasingkan dengan teknik KCV dan pelarut disingkirkan dengan alat penyejat berputar. Proses penghabluran semula dilakukan menggunakan sistem dua pelarut iaitu DCM dan metanol untuk menghasilkan (2) sebagai hablur berwarna ungu gelap. Formula sebatian: $C_{32}H_{22}N_4$; Peratusan hasil: 490 mg (35%); Takat lebur: > 300 °C; R_f (heksana: DCM, 3:2): 0.4; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : -3.09 (s, 2H), 7.85 (m, 6H), 8.31 (d, $^3J_{HH} = 3.2$ Hz, 4H), 9.13 (d, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz, 4H), 9.42 (d, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz, 4H), 10.34 (s, 2H) ppm; RMN ^{13}C (100.6 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 105.3, 119.1, 127.0, 127.8, 131.1, 131.7, 134.9, 141.4, 145.2, 147.2 ppm; ULBN (CH_2Cl_2) λ_{mak} nm (log ϵ): 405 (5.25), 497 (4.15), 537 (4.02), 572 (4.01), 627 (3.91); ESI-SJ (m/z): 462.18 $[M]^+$.

SINTESIS SEBATIAN 5,15 –DIHEKSILPORFIRIN (3)
 Dipirometana (1) (1.0 g, 6.80 mmol) dan heptaldehid (0.8 mL, 6.80 mmol) ditindakbalaskan bagi menghasilkan sebatian (3) iaitu hablur berwarna ungu gelap. Formula sebatian: $C_{32}H_{38}N_4$; Peratusan hasil: 370 mg (23%); Takat lebur: 240 - 250 °C; R_f (heksana: DCM, 1:1): 0.5; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : -2.95 (s, 2H), 0.97 (t, $J_{HH} = 7.2$ Hz, 6H), 1.43 (m, 4H), 1.56 (m, 4H), 1.84 (m, 4H), 2.57 (m, 4H), 5.00 (t, $J_{HH} = 8.0$ Hz, 4H), 9.41 (d, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz, 2H), 9.58 (d, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz, 4H), 10.17 (s, 2H) ppm; RMN ^{13}C (100.6 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 14.2, 22.8, 30.3, 31.9, 34.7, 38.7, 104.3, 118.8, 127.8, 131.9, 144.2, 147.8 ppm; ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm (log ϵ)= 403 (5.36), 501 (4.26), 534 (4.02), 577 (4.03), 629 (3.92); ESI-SJ (m/z): 478.31 $[M]^+$.

SINTESIS SEBATIAN 5,10,15,20-TETRAFENILPORFIRIN (4)
 Sebatian 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4) disediakan menggunakan pirola (5.25 mL, 75 mmol), benzaldehid (7.6 mL, 74 mmol), TFA (0.9 mL, 12 mmol) dan DDQ (2 g, 8.8 mmol). Pemisahan sebatian dilakukan dengan teknik KCV. Proses pengkristalan semula dilakukan dengan pelarut DCM dan MeOH untuk menghasilkan (4) iaitu hablur berwarna ungu gelap. Formula sebatian: $C_{44}H_{30}N_4$; Peratusan hasil: 300 mg (1.0%); Takat lebur: 399 °C; R_f (heksana: DCM, 3:2): 0.7; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : -2.70 (s, 2H), 7.82 (m, 8H), 8.29 (dd, $^3J_{HH} = 7.2$ Hz, $^4J_{HH} = 1.2$ Hz, 8H), 8.92 (s, 8H) ppm; RMN ^{13}C (100.6 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 120.2, 126.7, 127.8, 131.1, 134.6, 142.2 ppm;

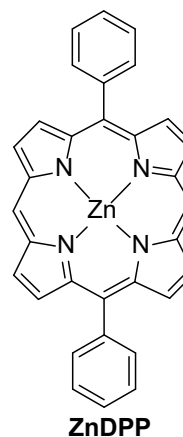
ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm (log ϵ) = 417 (5.23), 509 (3.78), 546 (3.48), 589 (3.35), 646 (3.24); ESI-SJ (m/z): 615.2 $[M+H]^+$.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN LOGAM NI-5,15-DIHEKSILPORFIRIN (NiDPP)



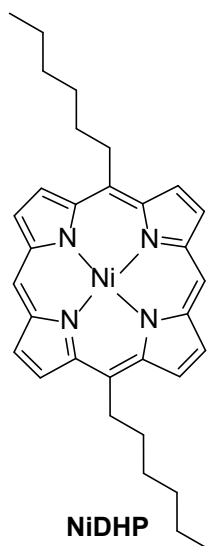
Sebatian porfirin 5,15-difenilporfirin (2) (50 mg, 0.1 mmol) dan nikel asetilasetonat, $Ni(acac)_2$ (300 mg, 1.2 mmol) dalam pelarut toluena direfluks selama tiga jam. Proses penghabluran semula oleh pelarut kloroform dan heksana menghasilkan sebatian NiDPPP iaitu hablur berwarna ungu kemerahan. Formula sebatian: $C_{32}H_{40}N_4Ni$; Peratusan hasil: 15 mg (30%). Takat lebur: 366 °C; R_f (heksana: kloroform, 2:1): 0.7. RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 7.76 (m, 6H), 8.10 (d, $^3J_{HH} = 5.2$ Hz), 8.96 (d, $^3J_{HH} = 4$ Hz, 4H), 9.22 (d, $^3J_{HH} = 4.4$ Hz, 4H), 9.97 (s, 2H) ppm; ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm (log ϵ) = 399 (5.13), 511 (3.94), 546 (3.65); EI-SJ (m/z): 518 $[M]^+$.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN LOGAM ZN-5,15-DIHEKSILPORFIRIN (ZnDPP)



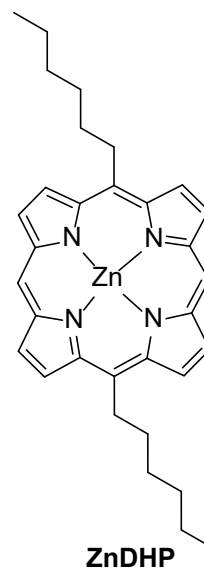
Sebatian porfirin 5,15-difenilporfirin (2) (50 mg, 0.1 mmol) dilarutkan dalam kloroform (10 mL) dan direfluks selama 10 min. Sebatian zink asetat, $Zn(OAc)_2$ (50 mg, 0.28 mmol) dilarutkan dengan MeOH sebelum dimasukkan ke dalam campuran menggunakan kelalang penitis. Tindak balas dipantau menggunakan teknik KLN selepas 15 min. Proses penulenan melalui teknik penghabluran semula (DCM:MeOH) menghasilkan ZnDPP iaitu pepejal berwarna ungu kemerahan. Formula sebatian: $C_{32}H_{20}N_4Zn$; Peratusan hasil: 56 mg (99%); Takat lebur: $360\text{ }^\circ\text{C}$; R_f (heksana: kloroform, 1:1): 0.6; RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 7.83 (m, 6H), 8.30 (dd, $^3J_{HH} = 6.8\text{ Hz}$, $^4J_{HH} = 1.6\text{ Hz}$, 4H), 9.18 (d, $^3J_{HH} = 4.4\text{ Hz}$, 4H), 9.48 (d, $^3J_{HH} = 4.40\text{ Hz}$, 4H), 10.37 (s, 2H) ppm; ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm ($\log \epsilon$) = 407 (5.27), 532 (3.79); EI-SJ (m/z): 524 $[M]^+$.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRINLOGAM NI-5,15-DIHEKSILPORFIRIN (NiDHP)



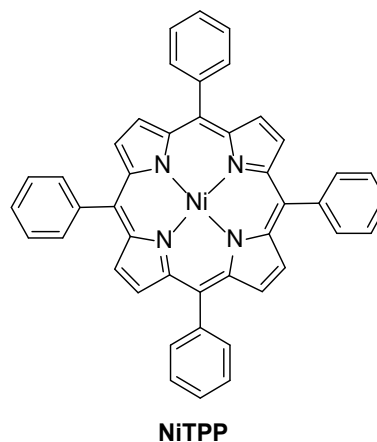
Sebatian porfirin logam NiDHP dihasilkan menggunakan sebatian porfirin (3) (50 mg, 0.1 mmol) dan $Ni(acac)_2$ (350 mg, 1.2 mmol). Proses penghabluran semula oleh pelarut kloroform dan heksana menghasilkan NiDHP iaitu hablur berwarna ungu kemerahan. Formula sebatian: $C_{32}H_{36}N_4Ni$; Peratusan hasil: 46 mg (82%); Takat lebur: $384\text{ }^\circ\text{C}$; R_f (heksana: kloroform, 2:1): 0.5; RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 0.93 (t, $J_{HH} = 7.2\text{ Hz}$, 6H), 1.38 (m, 4H), 1.47 (m, 4H), 1.68 (m, 4H), 2.39 (m, 4H), 4.70 (t, $J_{HH} = 8.2\text{ Hz}$, 4H), 9.20 (d, $^3J_{HH} = 4.8\text{ Hz}$, 4H), 9.47 (d, $^3J_{HH} = 4.8\text{ Hz}$, 4H), 9.74 (s, 2H) ppm; RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ_C : 14.12, 22.70, 30.14, 31.81, 34.21, 37.06, 103.83, 117.26, 129.31, 132.06, 141.38, 142.53; ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm ($\log \epsilon$) = 400 (5.25), 515 (4.04), 549. EI-SJ (m/z): 534.23.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN LOGAM Zn-5,15-DIHEKSILPORFIRIN (ZnDHP)



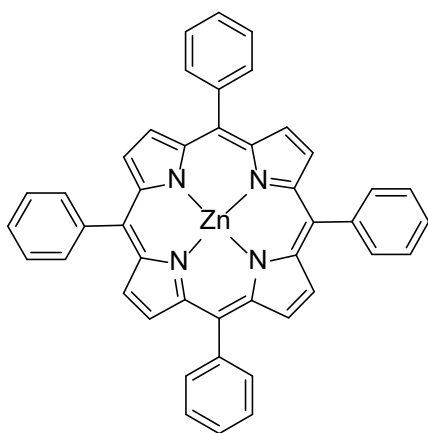
Sebatian porfirin logam ZnDHP dihasilkan menggunakan sebatian porfirin (3) (50 mg, 0.1 mmol) dan $Zn(OAc)_2$ (350 mg, 1.2 mmol). Proses penghabluran semula oleh pelarut kloroform dan heksana menghasilkan ZnDHP iaitu hablur berwarna ungu kemerahan. Formula sebatian: $C_{32}H_{36}N_4Zn$; Peratusan hasil: 50 mg (88%); Takat lebur: $350\text{ }^\circ\text{C}$; R_f (kloroform): 0.5; RMN ^1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ_H : 0.98 (t, $J_{HH} = 6.2\text{ Hz}$, 6H), 1.27 (m, 4H), 1.46 (m, 4H), 1.87 (m, 4H), 2.61 (m, 4H), 5.07 (t, $J_{HH} = 7.2\text{ Hz}$, 4H), 9.45 (d, $^3J_{HH} = 2.0\text{ Hz}$, 4H), 9.69 (d, $^3J_{HH} = 2.0\text{ Hz}$, 4H), 10.14 (s, 2H) ppm; ULBN (CH_2Cl_2): λ_{mak} nm ($\log \epsilon$) = 406 (5.25), 536 (3.80); EI-SJ (m/z): 540.22.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN LOGAM NI-5,10,15,20-TETRAFENILPORFIRIN (NiTPP)



Sebatian porfirin logam NiTPP dihasilkan dengan menggunakan sebatian porfirin (4) (50 mg, 0.03 mmol) dan Ni(acac)₂ (400 mg, 1.5 mmol). Proses penghabluran semula menggunakan pelarut kloroform dan heksana menghasilkan NiTPP iaitu pepejal berwarna ungu gelap. Formula sebatian: C₄₇H₃₇N₄Ni; Peratusan hasil: 41 mg (75%); Takat lebur: > 400 °C; R_f (heksana:kloroform, 2:1): 0.6; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.71 (m, 12H), 8.03 (dd, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 8H), 8.76 (s, 8H); ULBN (CH₂Cl₂): λ_{mak} nm (log ε) = 411 (5.23), 524 (4.10); ESI-SJ (m/z): 670.2 [M]⁺.

SINTESIS SEBATIAN PORFIRIN LOGAM ZN-5,10,15,20-TETRAFENILPORFIRIN (ZnTPP)



ZnTPP

Sebatian ini dihasilkan dengan menggunakan sebatian porfirin (4) (50 mg, 0.08 mmol) dan Zn(Oac)₂ (50 mg, 0.28 mmol). Proses penghabluran semula oleh pelarut DCM dan MeOH menghasilkan ZnTPP iaitu hablur berwarna ungu gelap. Formula sebatian: C₄₄H₂₈N₄Zn; Peratusan hasil: 30 mg (55%); Takat lebur: > 400 °C; R_f (heksana:kloroform, 1:1): 0.5; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.79 (m, 12H), 8.26 (dd, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz), 8.98 (s, 8H) ppm; ULBN (CH₂Cl₂): λ_{mak} nm (log ε) = 418 (5.31), 543 (3.83); ESI-SJ (m/z): 676.2 [M]⁺.

ASAI ANTIPLASMODIUM

P. falciparum K1 (rintang-klorokuina) (MR4: MRA-159) diperoleh daripada Malaria Research and Reference Reagent Resource (MR4), USA. Parasit *P. falciparum* K1 dikultur dalam eritrosit manusia jenis O rhesus positif, O+ (Radfar et al. 2009) menggunakan medium lengkap RPMI 1640 yang mengandungi 10% Albumax, 2 g/L D-glukosa, 2.325 g/L natrium bikarbonat, 40 mg/L gentamisin, hipoksantin dan HEPES. Julat kepekatan

porfirin logam yang digunakan adalah 0.001-1000 μM, manakala julat kepekatan di antara 0.00001-10 μM digunakan bagi klorokuina dan artemisinin. Kawalan positif ialah darah terjangkit-*P. falciparum* K1 manakala kawalan negatif ialah darah normal tanpa jangkitan.

Selepas pengeraman kultur parasit dengan porfirin logam dilakukan selama 48 jam dan piring dibekukan pada suhu -20 °C selama 24 jam. Kemudian, kandungan piring dicairkan selama 30 min di dalam inkubator pada suhu 37 °C dan dibekukan semula dalam peti sejuk bersuhu -20 °C selama 30 min. Kitar pembekuan-pencairan diulang sebanyak tiga kali. Pada masa yang sama, piring reagen untuk pengasaian disediakan dengan memasukkan campuran 100 μL reagen MALSTAT dengan 25 μL reagen NBT-PES ke dalam setiap telaga. Selepas itu, sebanyak 25 μL daripada kandungan piring dicampurkan ke dalam piring reagen dan dieram selama sejam pada suhu 37 °C. Bacaan penyerapan diukur selepas sejam dengan alat spektrofotometer (Model SP3000, Fluorostar OPTIMA, USA) pada panjang gelombang 655 nm. Graf lengkung sigmoid paksi y-peratus pertumbuhan parasit (%) melawan paksi x-kepekatan (log [μM]) diplot menggunakan perisian Graph Pad Prism 5. Nilai kepekatan berkesan merencat 50% pertumbuhan parasit, EC₅₀ ditentukan daripada graf tersebut.

ASAI KESITOTOKSIKAN

Sel Vero (ATCC: CCL-81), sel normal epitelium ginjal monyet diperoleh daripada American Type Culture Collection (ATCC), USA dan dikultur (Mosmann 1983) dalam medium Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) yang dicampurkan dengan 10% FBS serta 1% antibiotik penisilin-streptomisin dan 0.1% amfoterisin bagi mengelakkan pertumbuhan bakteria dan kulat. Sel yang dikultur dalam tabung kultur T-75 ditanggalkan dengan menggunakan tripsin-EDTA. Sebanyak 1 × 10⁴ sel/mL dibiakkan pada piring telaga-96 dan dieram selama 24 jam (37 °C, 5% CO₂, 4% O₂ dan 95% kelembapan relatif). Setiap telaga piring yang mengandungi sel dicampurkan dengan porfirin logam dengan tiga replikasi setiap satu kepekatan. Julat kepekatan sebatian porfirin logam yang digunakan adalah 0.001-1000 μM, manakala julat kepekatan 0.00001-10 μM digunakan bagi klorokuina dan artemisinin. Campuran sebatian dan sel Vero dieram selama 48 jam. Sel Vero tanpa perlakuan sebatian dijadikan sebagai kawalan. Reagen MTT (5 mg/mL) disediakan dengan mencampurkan reagen MTT dengan larutan PBS. Sebanyak 10 μL reagen MTT (5 mg/mL) dimasukkan ke dalam setiap telaga dieram selama 3 jam bagi pembentukan formazan ungu. Kemudian, campuran dikeluarkan dan digantikan dengan 100 μL pelarut DMSO untuk melarutkan

pepejal formazan biru yang termendap pada dasar piring telaga-96. Selepas 15 min, pembentukan warna ungu dibaca pada panjang gelombang 540 nm (Model SP3000, Fluorostar OPTIMA, USA) dan data direkodkan. 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} ditentukan daripada graf.

PENGIRAAN NILAI INDEKS PEMILIHAN

Penentuan nilai SI bertujuan untuk menilai sama ada tahap perencanan sebatian yang diuji adalah selektif terhadap *P. falciparum* dan tiada kesan ketoksikan terhadap pertumbuhan sel mamalia. Nilai EC_{50} dan CC_{50} yang masing-masing diperoleh daripada graf asai pLDH dan asai MTT digunakan untuk mengira nilai SI (Sarr et al. 2011).

KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

Langkah pertama dalam proses penghasilan sebatian porfirin adalah sintesis bahan pemula dipirometana (1) yang merupakan blok asas dalam penyelidikan porfirin sintetik. Pirola bertindak sebagai nukleofil untuk menyerang kumpulan aldehyd. Proses nyahprotonasi menghilangkan cas positif pada nitrogen kumpulan pirola dan mengembalikan sifat aromatik molekul pirola. Kemudian proses pemprotonan berlaku pada kumpulan hidroksil dan molekul air (H_2O) akan dikeluarkan. Proses penyahtaksetempatan dalam molekul pirola pada sebatian yang terhasil akan mewujudkan sifat elektrofilik pada sebatian yang membenarkan sebatian pirola yang lain (nukleofil) menyerang untuk membentuk sebatian dipirometana (1).

Sebanyak dua jenis sebatian porfirin jenis 5,15- A_2 iaitu porfirin yang mempunyai kumpulan penukar ganti yang sama pada dua posisi meso telah dihasilkan iaitu 5,15-difenilporfirin (2) yang mempunyai kumpulan penukarganti fenil dan 5,15-diheksilporfirin (3) dengan kumpulan penukarganti heksil. Sebatian porfirin (2) melibatkan penghasilan satu sebatian yang mempunyai dua jenis karbon meso iaitu dua karbon yang mempunyai kumpulan penukar ganti dan dua karbon yang tidak mempunyai sebarang kumpulan penukar ganti. Tindak balas penyejatan jenis [2+2] menghubungkan dua sebatian pirolik yang mempunyai karbon titian berhubung, membentuk karbon titian yang lain dan seterusnya menghasilkan sebatian makrosiklik porfirin. Tindak balas penyejatan menghasilkan sebatian pengantara porfinogen manakala tindak balas pengoksidaan

yang berlaku melalui penambahan agen pengoksidaan menghasilkan sebatian 5,15-difenilporfirin (2).

Asid trifloroasetik digunakan kerana sifat keelektronegatifan fluorin yang tinggi dan juga sifat penarik elektron kumpulan triflorometil yang melemahkan ikatan oksigen-hidrogen dan seterusnya meningkatkan sifat asid pemangkin. Keasidan bahan pemangkin yang tinggi memudahkan tindak balas pemprotonan pada oksigen dalam aldehyd berlaku. Kaedah pemisahan yang digunakan untuk menghasilkan sebatian ini adalah teknik KCV untuk menyingkirkan lebih agen pengoksidaan, DDQ yang bertukar kehitaman apabila proses pengoksidaan selesai.

Sebatian 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4) iaitu porfirin jenis A_4 iaitu porfirin yang mempunyai kumpulan penukar ganti yang sama pada kesemua posisi meso dihasilkan menggunakan kaedah penyejatan Lindsey. Peratusan hasil sebatian yang sedikit berkemungkinan disebabkan langkah yang banyak dan juga berbalik pada setiap langkah mekanisme. Selain itu, proses pengoksidaan sebatian pengantara porfinogen kepada porfirin yang tidak lengkap juga berkemungkinan menjadi faktor jumlah hasil yang rendah berbanding jumlah hasil teori. Peratusan hasil boleh ditingkatkan dengan pemanjangan tempoh proses pengoksidaan untuk memastikan semua sebatian pengantara porfinogen bertukar kepada porfirin. Pencirian spektroskopi RMN ^1H dan ^{13}C dilakukan untuk mengesan kehadiran proton atau hidrogen dalam sebatian dipirometana (1), 5,15-difenilporfirin (2), 5,15-diheksilporfirin (3) dan 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (4) yang diperoleh (Fail tambahan).

PENGGOMPLEKSAN SEBATIAN PORFIRIN TERHADAP LOGAM ZINK(II) DAN NIKEL(II)

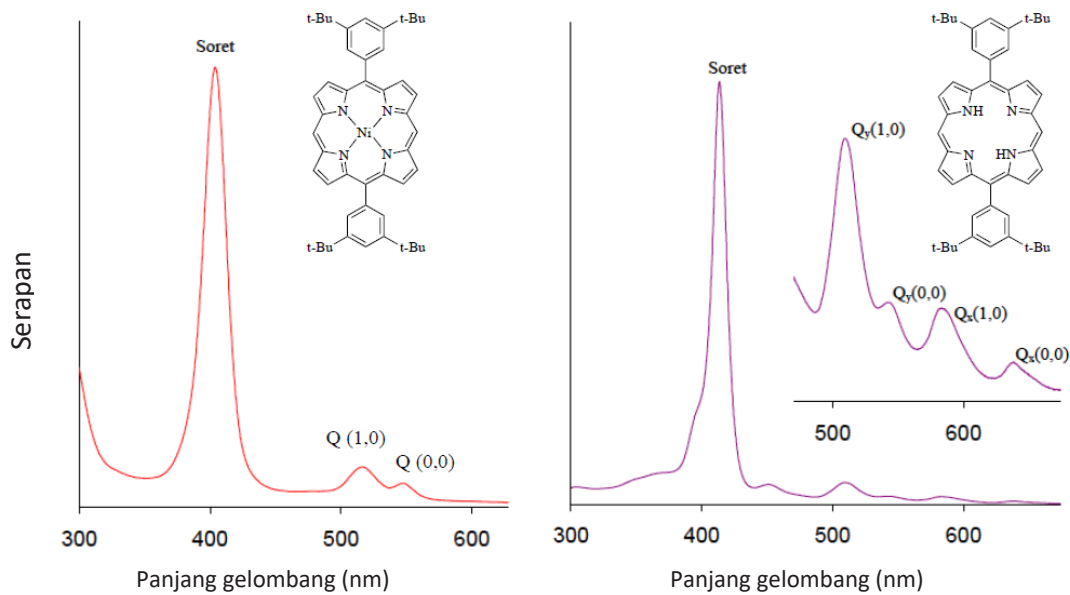
Nukleus molekul porfirin merupakan ligan tetradentat yang mempunyai ruang untuk berkoordinat dengan logam pada anggaran diameter 3.7 Å. Ini menunjukkan saiz yang dimiliki oleh gelang makrosiklik porfirin membolehkan hampir semua logam berkoordinat dengan porfirin. Selepas kehilangan dua molekul pelarut, kation logam tersolvat berkoordinat pada salah satu nitrogen pada kumpulan pirola. Seterusnya, atom hidrogen pada nitrogen beranjak ke nitrogen pada kumpulan pirola yang bersebelahan. Tindak balas nyahprotonasi pada pirola berlaku serentak dengan pembentukan ikatan antara atom nitrogen pirola dengan ion Cu manakala tindak balas nyahprotonasi yang seterusnya melengkapkan proses pengkompleksan untuk menghasilkan sebatian metaloporfirin (Mamardashvili et al. 2017). Setiap

sebatian porfirin bebas bes (2-4) dikomplekskan dengan dua jenis logam iaitu zink(II) dan nikel(II).

Isyarat anjakan kimia yang ditunjukkan adalah berpadanan dengan sebatian porfirin bebas bes kecuali kehilangan anjakan kimia pada bahagian negatif. Isyarat pada julat -2 ppm hingga -3 ppm merupakan anjakan kimia dua proton NH pada bahagian tengah gelang utama porfirin. Kehilangan puncak ini menunjukkan nyahprotonasi berlaku pada bahagian teras porfirin dan ini membuktikan porfirin berjaya dikomplekskan dengan logam Zn(II) dan Ni(II). Spektrum RMN bagi keenam porfirin logam yang disintesis dilampirkan dalam fail tambahan.

SPEKTRUM PENYERAPAN ELEKTRONIK SEBATIAN PORFIRIN BEBAS BES DAN SEBATIAN PORFIRIN LOGAM
Warna fizikal porfirin adalah kesan daripada kadar serapan yang tinggi pada bahagian boleh nampak dalam spektrum elektromagnetik iaitu pada julat 350 hingga 800 nm. Isyarat pada keamatan tinggi iaitu jalur Soret

muncul pada julat 400 hingga 450 nm. Jalur Soret ini merupakan kesan daripada peralihan tenaga S_0 ke S_2 manakala jalur Q yang muncul pada lingkungan 500 hingga 650 nm merupakan kesan peralihan tenaga S_0 ke S_1 (Anderson 1994). Keberhasilan tindak balas metalasi ke atas porfirin adalah berdasarkan spektrum ULBN dan jalur Q yang terhasil. Bagi sebatian metaloporfirin, dua jalur Q akan muncul manakala bagi sebatian porfirin bebas bes akan menunjukkan empat jalur Q (Rajah 2). Bagi porfirin bebas bes, jalur Q berpecah kepada dua disebabkan proses pengujian getaran. Dua jalur terhasil daripada peralihan keadaan asas kepada dua keadaan pengujian [Q(0,0) dan Q(1,0)]. Kehadiran NH pada bahagian tengah gelang bagi porfirin *free base* memecahkan kesimetrian molekul porfirin dan seterusnya dua jalur terpecah kepada dua menghasilkan empat jalur Q iaitu $Q_x(0,0)$, $Q_y(0,0)$, $Q_x(1,0)$ dan $Q_y(1,0)$. Kesemua porfirin bebas bes menunjukkan kemunculan satu jalur Soret dan empat jalur Q manakala sebatian porfirin logam Zn dan porfirin logam Ni menunjukkan satu jalur Soret dan dua jalur Q (Fail tambahan).



RAJAH 2. Perbezaan spektrum ULBN bagi sebatian porfirin logam dan porfirin bebas bes

AKTIVITI ANTIMALARIA

Kesan antimalaria enam sebatian porfirin logam yang telah diuji menunjukkan **ZnDHP** memberi nilai EC_{50} asai pLDH paling rendah iaitu $21.4 \pm 3.5 \mu\text{M}$, diikuti dengan **ZnTPP** dengan nilai EC_{50} iaitu 27.7

$\pm 0.4 \mu\text{M}$ dan **NiDPP** dengan nilai EC_{50} iaitu $36.0 \pm 5.3 \mu\text{M}$. Aktiviti antiplasmodium bagi sebatian tulen dapat dikelaskan mengikut julat nilai berikut; aktiviti antiplasmodium kategori poten adalah $EC_{50} < 1 \mu\text{M}$, aktiviti antiplasmodium kategori aktif adalah $1 < EC_{50} < 20$

μM , aktiviti antiplasmodium kategori sederhana adalah $20 < EC_{50} < 100 \mu\text{M}$, aktiviti antiplasmodium kategori lemah adalah $100 < EC_{50} < 200 \mu\text{M}$ dan kategori tidak aktif adalah $EC_{50} > 200 \mu\text{M}$ (Dolabela et al. 2008).

Berdasarkan pengelasan tersebut, **ZnDHP**, **ZnTPP** dan **NiDPP** menunjukkan aktiviti antiplasmodium sederhana, **ZnDPP** menunjukkan aktiviti yang lemah, manakala **NiTPP** dan **NiDHP** adalah tidak aktif (Jadual 1). Klorokuina menunjukkan nilai EC_{50} sebanyak 380 nM manakala nilai EC_{50} artemisinin adalah 0.2 nM. Kedua-dua dadah rujukan ini adalah poten merencat pertumbuhan *P. falciparum* K1 secara *in vitro* selari dengan penggunaannya sebagai rawatan utama antimalaria. Nilai IC_{50} aktiviti antimalaria klorokuina terhadap *P. falciparum* K1 telah ditunjukkan sebelum ini dan nilai EC_{50} kajian ini berada dalam julat yang sama iaitu 200 hingga 300 nM (Dar et al. 2008). Keputusan EC_{50} artemisinin juga adalah selari dengan keputusan kajian lepas iaitu 0.45 hingga 0.60 ng/mL (Abiodun et al. 2013).

Hasil kajian antiplasmodium ini turut disokong oleh beberapa penemuan kajian lepas yang turut menunjukkan aktiviti sebatian kompleks porfirin

logam daripada logam yang berbeza terhadap strain *P. falciparum* iaitu FCR-3 sensitif-klorokuina dan FcB1-Columbia rintang-klorokuina. Kajian lepas oleh Begum et al. (2003) menunjukkan sebatian porfirin logam galium protoporfirin IX (GaPPIX), argentum protoporfirin IX (AgPPIX), paladium protoporfirin IX (PdPPIX), mangan protoporfirin IX (MnPPIX), tin protoporfirin IX (SnPPIX), kobalt protoporfirin IX (CoPPIX), kromium protoporfirin IX (CrPPIX), galium deuteroporfirin IX (GaDPPIX) dan gallium hematoporfirin IX (GaHPPIX) mampu merencat 50% pertumbuhan *P. falciparum* FCR-3 sensitif-klorokuina pada julat kepekatan antara 15.5 μM hingga 190 μM . Kajian antimalaria lain pula mendapati bahawa sebatian mangan porfirin logam, MnTMPS dan MnTPPS merencat pertumbuhan *P. falciparum* FcB1-Columbia rintang-klorokuina dalam julat antimalaria poten iaitu nilai IC_{50} antara 104 nM hingga 196 nM (Benoit-Vical et al. 2000). Ini mencadangkan bahawa sebatian porfirin logam adalah kumpulan sebatian kimia yang wajar dikembangkan bagi pencarian dadah antimalaria untuk menentang kes kerintangan parasit pada dadah antimalaria pada masa akan datang.

JADUAL 1. Keputusan kesan antiplasmodium dan kesitotoksikan sebatian porfirin logam

Bil.	Sebatian porfirin logam	Aktiviti antiplasmodium	Aktiviti kesitotoksikan	Indeks pemilihan (SI),
		<i>P. falciparum</i> K1 (rintang-klorokuina) EC_{50} (μM) \pm SP	Sel Vero (Sel normal mamalia) CC_{50} (μM) \pm SP	
1	NiDPP	36.0 \pm 5.3	97.7 \pm 20.6	2.7
2	ZnDPP	157.0 \pm 9.2	2699.5 \pm 84.2	17.2
3	NiDHP	551.9 \pm 69.9	12.1 \pm 5.1	0.1
4	ZnDHP	21.4 \pm 3.5	582.2 \pm 70.7	27.2
5	NiTPP	395.0 \pm 28.6	22.1 \pm 1.9	0.1
6	ZnTPP	27.7 \pm 0.4	330.9 \pm 84.1	11.9
7	Klorokuina	380 nM	308.4	811.6
8	Artemisinin	0.2 nM	466.1	> 2000

SP: sisihan piawai

Penentuan kesitotoksikan sebatian porfirin logam melalui asai MTT telah dijalankan terhadap sel Vero. **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** menunjukkan nilai CC_{50} terhadap sel Vero pada julat 330 μM hingga 2699 μM , manakala **NiDHP**, **NiTPP** dan **NiDPP** dalam julat 12 μM hingga 97 μM . Sesuatu sebatian tulen dikelaskan toksik jika menunjukkan nilai $CC_{50} < 20 \mu\text{M}$, kurang toksik jika nilai CC_{50} dalam julat $20 < CC_{50} < 100 \mu\text{M}$, tidak toksik jika nilai CC_{50} dalam julat $CC_{50} > 100 \mu\text{M}$ (Tanamatayarat et al. 2011). Analisis kesitotoksikan sel Vero yang diperoleh menunjukkan **NiDHP** adalah toksik kepada sel Vero manakala **NiTPP** dan **NiDPP** memberi kesan kesitotoksikan yang lemah terhadap pertumbuhan sel Vero. **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** pula tidak menunjukkan kesan toksik kepada sel Vero (Jadual 1). Hasil keputusan asai kesitotoksikan menunjukkan aktiviti sitotoksik sebatian porfirin logam Ni adalah lebih toksik daripada sebatian porfirin logam Zn. Hasil asai kesitotoksikan kajian lepas menunjukkan sebatian ZnTMeOPP dan CuTMeOPP terhadap sel HeLa, 8MGBA, Lep-3, dan MDBK berada dalam julat sitotoksik iaitu 36 hingga 79 $\mu\text{g/mL}$ yang mencadangkan bahawa kesan kesitotoksikan sel adalah bergantung kepada kumpulan kompleks logam, kepekatan sebatian dan jenis sel yang diuji (Alexandrova et al. 2018). Kedua-dua dadah rujukan antimalaria menunjukkan nilai CC_{50} yang tidak toksik dengan klorokuina dan artemisinin merencat 50% pertumbuhan sel Vero pada kepekatan 308.4 μM dan 466.1 μM . Keputusan ini disokong oleh kajian lepas yang menunjukkan kesan kesitotoksikan hampir sama terhadap sel Vero (Filho et al. 2009; Kumar et al. 2009).

Nilai SI sebatian kimia yang melebihi 10 menunjukkan aktiviti antiplasmodium adalah memilih terhadap parasit yang diuji (Sarr et al. 2011). Nilai SI bagi **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** adalah melebihi 10, manakala **NiDHP**, **NiTPP** dan **NiDPP** mempunyai nilai SI kurang daripada 10. Ini mencadangkan bahawa tindakan perencatan parasit oleh sebatian porfirin logam **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** adalah selektif dan tidak toksik terhadap sel mamalia. Nilai indeks pemilihan yang ditunjukkan oleh klorokuina dan artemisinin adalah 811.6 dan >2000 , bertepatan dengan fungsi tindakan yang selektif terhadap pertumbuhan parasit dan kurang toksik terhadap sel mamalia. Nilai SI klorokuina dan artemisinin juga bergantung kepada jenis strain *Plasmodium* sp. yang diuji. Kajian lepas menunjukkan nilai klorokuina masing-masing $SI > 298$ dan > 42 terhadap pertumbuhan *P. falciparum* sensitif-klorokuina (D6) dan rintang-klorokuina (W2), manakala artemisinin menunjukkan nilai SI yang lebih tinggi terhadap *P. falciparum* sensitif-klorokuina (D6) dan rintang-klorokuina (W2) masing-

masing iaitu >476 dan >1400 (Atheaya et al. 2008; Kumar et al. 2009).

Walaupun kajian antimalaria porfirin logam pernah dilaporkan sebelum ini, tetapi aktiviti antimalaria porfirin logam **ZnDHP**, **ZnTPP** dan **NiDPP** terhadap strain rintang-klorokuina, K1 adalah pertama kali dilaporkan. Porfirin logam adalah perencat poten untuk pempolimeran hem bagi menghalang ketoksikan hem terhadap parasit. Parasit malaria mencernakan hemoglobin yang ada di vakuol pencernaan kepada hem melalui tindak balas enzim protease. Pempolimeran hem menukarkan bentuk toksik hem kepada hemozoin melalui ikatan hidrogen intramolekul. Kajian lepas turut mencadangkan sebatian protoporfirin logam seperti CrPPIX, CoPPIX, MnPPIX, CuPPIX, MgPPIX, ZnPPIX dan SnPPIX mampu merencat pembentukan hemozoin dengan berkesan (Begum et al. 2003). Pempolimeran hem juga adalah mekanisme sasaran sebatian klorokuina dan artemisinin. Klorokuina membentuk kompleks dengan β -hematin dan merencat penyambungan rantaian hemozoin (Sullivan et al. 1996). Ion logam memainkan peranan signifikan dalam menghalang pembentukan hemozoin. **ZnDHP**, **ZnTPP** dan **NiDPP** menunjukkan kesan antimalaria sederhana yang berkemungkinan bertindak melalui mekanisme sasaran pempolimeran hem melalui pembentukan ikatan π - π heteroporfirin logam.

KESIMPULAN

Enam metaloporfirin iaitu **NiDDHP**, **NiDPP**, **NiTPP**, **ZnDHP**, **ZnDPP** dan **ZnTPP** berasaskan porfirin *meso* bebas bes 5,15-difenilporfirin (**2**), 5,15-diheksilporfirin (**3**) dan 5,10,15,20-tetrafenilporfirin (**4**) dihasilkan dan dicirikan secara spektroskopi. Aktiviti antiplasmodium dan kesitotoksikan secara *in vitro* sebatian ini dinilai terhadap strain rintang-klorokuina, K1. **ZnDHP**, **ZnTPP** dan **NiDPP** memberikan aktiviti antimalaria sederhana yang berpotensi untuk bertindak ke atas tapak jalan sintesis hemozoin. Sebatian porfirin logam wajar dijadikan sebagai asas kepada perkembangan dadah antimalaria terutama ke atas strain parasit yang rintang. Asai *in vitro* pempolimeran hem pada darah terinfeksi K1 pada masa hadapan boleh membuktikan metaloporfirin bertindak secara langsung ke atas tapak jalan sintesis hemozoin.

PENGHARGAAN

Dana penyelidikan disediakan daripada Kementerian Pendidikan Malaysia melalui geran bernombor FRGS/1/2019/STG01/UKM/02/3 dan Jabatan Sains Kimia, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia untuk kemudahan fasiliti yang disediakan.

RUJUKAN

- Abiodun, B., Salami, A., Matthew, O. & Odedokun, S. 2013. Potential impacts of afforestation on climate change and extreme events in Nigeria. *Climate Dynamics* 41. doi:10.1007/s00382-012-1523-9.
- Alexandrova, R., Kalfin, R., Tudose, R. & Fagadar-Cosma, E. 2018. Comparative cytotoxicity assays performed using a free porphyrin and its Zn(II), Co(II) and Cu() Complexes. Influence of optical and aggregation properties. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Chemia* 63: 65-77. doi:10.24193/subbchem.2018.4.05.
- Ali, A., Sudi, S., Sidek, H., Embi, N. & Basir, R. 2017. The antimalarial effect of curcumin is mediated by the inhibition of glycogen synthase kinase-3 β . *Journal of Medicinal Food* 20: 152-161. doi:10.1089/jmf.2016.3813.
- Anderson, H.L. 1994. Conjugated porphyrin ladders. *Inorganic Chemistry* 33(5): 972-981. doi:10.1021/ic00083a022.
- Atheaya, H., Khan, S.I., Mangain, R. & Rawat, D.S. 2008. Synthesis, thermal stability, antimalarial activity of symmetrically and asymmetrically substituted tetraoxanes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 18(4): 1446-1449. doi:https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.12.069.
- Banziger, S.D. & Ren, T. 2019. Syntheses, structures and bonding of 3D metal alkynyl complexes of cyclam and its derivatives. *Journal of Organometallic Chemistry* 885: 39-48. doi:10.1016/j.jorganchem.2019.01.024.
- Begum, K., Kim, H.S., Kumar, V., Stojiljkovic, I. & Wataya, Y. 2003. *In vitro* antimalarial activity of metalloporphyrins against *Plasmodium falciparum*. *Parasitology Research* 90(3): 221-224. doi:10.1007/s00436-003-0830-9.
- Benoit-Vical, F., Robert, A. & Meunier, B. 2000. *In vitro* and *in vivo* potentiation of artemisinin and synthetic endoperoxide antimalarial drugs by metalloporphyrins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44(10): 2836-2841. doi:10.1128/AAC.44.10.2836-2841.2000.
- Cole, K.A., Ziegler, J., Evans, C.A. & Wright, D.W. 2000. Metalloporphyrins inhibit β -hematin (hemozoin) formation. *Journal of Inorganic Biochemistry* 78(2): 109-115. https://doi.org/10.1016/S0162-0134(99)00216-0.
- 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.
- Dive, D. & Biot, C. 2008. Ferrocene conjugates of chloroquine and other antimalarials: The development of ferroquine, a new antimalarial. *ChemMedChem* 3(3): 383-391. doi:10.1002/cmdc.200700127.
- Dolabela, M., Oliveira, S., Nascimento, J., Peres, J., Wagner, H., Póvoa, M. & De Oliveira, A. 2008. *In vitro* antiplasmodial activity of extract and constituents from *Esenbeckia febrifuga*, a plant traditionally used to treat malaria in the Brazilian Amazon. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytomedicine* 15: 367-372. doi:10.1016/j.phymed.2008.02.001.
- Fairhurst, R.M. & Dondorp, A.M. 2016. Artemisinin-resistant *Plasmodium falciparum* malaria. *Microbiology Spectrum* 4(3): 1-16. doi:10.1128/microbiolspec.EI10-0013-2016.
- 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* D.C. (Asteraceae). *Fitoterapia* 80: 478-482. doi:10.1016/j.fitote.2009.06.007.
- Hamed, K. & Stricker, K. 2016. Tackling the problems associated with antimalarial medicines of poor quality. *Current Topics in Malaria*. InTech. doi:10.5772/64671. hlm. 285-303.
- Hubin, T.J., Amoyaw, P.N.A., Roewe, K.D., Simpson, N.C., Maples, R.D., Carder Freeman, T.N., Cain, A.N., Le, J.G., Archibald, S.J., Khan, S.I., Tekwani, B.L. & Faruk Khan, M.O. 2014. Synthesis and antimalarial activity of metal complexes of cross-bridged tetraazamacrocyclic ligands. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 22(13): 3239-3244. doi:10.1016/j.bmc.2014.05.003.
- 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. doi:10.1186/s12936-020-3135-x.
- 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 & Medicinal Chemistry Letters* 19(6): 1675-1677. doi:https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.01.103.
- Lindsey, J.S., Schreiman, I.C., Hsu, H.C., Kearney, P.C. & Marguerettaz, A.M. 1987. Rothmund and Adler-Longo reactions revisited: Synthesis of tetraphenylporphyrins under equilibrium conditions. *The Journal of Organic Chemistry* 52(5): 827-836. DOI: 10.1021/jo00381a022.
- Li, K., Zhang, J., Zhang, J.J., Zhang, Z.W., Zhuang, Z.J., Xiao, D., Lin, H.H. & Yu, X.Q. 2008. Ferrocene-bridging dinuclear cyclen copper(II) complexes as high efficient artificial nucleases: Design, synthesis and interaction with DNA. *Applied Organometallic Chemistry* 22(5): 243-248. doi:10.1002/aoc.1384.
- Li, Y. 2012. Qinghaosu (artemisinin): Chemistry and pharmacology. *Acta Pharmacologica Sinica* 33(9): 1141-1146. doi:10.1038/aps.2012.104.
- Mamardashvili, G., Zhdanova, D., Mamardashvili, N., Koifman, O. & Dehaen, W. 2017. Catalytic and inhibiting effect of amino acids on the porphyrin metallation reactions. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* 21: 671-679. doi:10.1142/S1088424617500663.
- Mamat, N., Abdullah, H., Hapidin, H. & Mokhtar, N. 2020. Gallic acid and methyl gallate enhance antiproliferative effect of cisplatin on cervical cancer (HeLa) cells. *Sains Malaysiana* 49: 1107-1114. doi:10.17576/jsm-2020-4905-15.
- 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. doi:https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4.

- Navarro, M., Castro, W. & Biot, C. 2012. Bioorganometallic compounds with antimalarial targets: Inhibiting hemozoin formation. *Organometallics* 31(16): 5715-5727. doi:10.1021/om300296n.
- Okebe, J., Bojang, K. & D'Alessandro, U. 2014. Use of artemisinin and its derivatives for the treatment of Malaria in children. *Pediatric Infectious Disease Journal* 33(5): 522-524. doi:10.1097/INF.0000000000000306.
- Peter, S. & Aderibigbe, B.A. 2019. Ferrocene-based compounds with antimalaria/anticancer activity. *Molecules* 24(19). doi:10.3390/molecules24193604.
- Radfar, A., Mendez, 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: 1899-1915. doi:10.1038/nprot.2009.198.
- Sarr, 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. doi:10.1186/1475-2875-10-85.
- Sullivan, D.J., Gluzman, I.Y., Russell, D.G. & Goldberg, D.E. 1996. On the molecular mechanism of chloroquine's antimalarial action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93(21): 11865-11870.
- Summers, K.L. 2019. A Structural chemistry perspective on the antimalarial properties of thiosemicarbazone metal complexes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 19(7): 569-590. doi:10.2174/1389557518666181015152657.
- Tanamatayarat, P., Sotanaphun, U. & Poobrasert, O. 2011. Thai plants from Doi Tung: Brine shrimp lethality, antioxidative activity and combination effect with L-ascorbic acid. *Natural Product Research* 26: 919-925. doi:10.1080/14786419.2010.534469.
- Yong, A.S.J., Navaratnam, P., Kadirvelu, A. & Pillai, N. 2018. Re-emergence of malaria in Malaysia: A review article. *OALib* 5(2): 1-16. doi:10.4236/oalib.1104298.
- 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. doi:10.17576/jsm-2020-4908-12.

Nuur Haziqah Mohd Radzuan, Nur Aqilah Zahirah Norazmi, Amatul Hamizah Ali, Muntaz Abu Bakar & Nurul Izzaty Hassan*
Department of Chemical Sciences
Faculty of Science and Technology
Universiti Kebangsaan Malaysia
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan
Malaysia

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

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

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

Diserahkan: 26 Oktober 2020
Diterima: 14 Februari 2021