

## Sintesis dan Pencirian Kompleks Nikel(II) Salfen dengan Rantai Sisi Piperidina dan Kajian Interaksi dengan DNA Denggi (Synthesis and Characterization of Nickel(II) Salphen Complex with Piperidine Side Chain and Interaction Study with Dengue DNA)

EDA YUHANA ARIFFIN, LEE YOON HENG, TAN LING LING & NURUL HUDA ABD KARIM\*

### ABSTRAK

*Pembangunan model biosensor DNA berasaskan pengikatan dan interaksi kompleks logam sebagai penanda penghibridan DNA boleh digunakan untuk diagnosis awal virus denggi melalui penghibridan DNA denggi sebagai DNA sasaran. Kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina berjaya disintesis dan pencirian dijalankan dengan menggunakan Spektroskopi Magnetik Nukleus (NMR), Spektroskopi inframerah (FTIR), spektrometri jisim dan kolorimetri pengimbasan pembezaan. Jenis perikatan dan interaksi antara kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dan DNA denggi dikaji dengan pentitratan DNA ultralembayung nampak. Berdasarkan spektrum ultralembayung nampak, hipokromisme dan anjakan merah (batokromisme) diperhatikan apabila kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dititratkan dengan DNA denggi menunjukkan pembentukan kompleks baru. Kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina berinteraksi dengan DNA denggi secara perikatan interkalasi dengan pemalar perikatan,  $K_b = 4.576 \times 10^5 M^{-1}$ . Penemuan ini sangat berharga dalam menjadikan kompleks nikel(II) salfen sebagai penanda penghibridan bagi biosensor DNA optik untuk mengesan kehadiran virus denggi.*

*Kata kunci: DNA denggi; interaksi DNA; kompleks nikel(II) salfen; nikel(II) salfen; pencirian kompleks*

### ABSTRACT

*Development of DNA biosensor model based on interaction of metal complexes as DNA hybridization marker can be used for dengue viruses early diagnosis. Nickel(II) salphen complex with piperidine side chain were successfully synthesized and characterized using Nucleus Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR), mass spectrometry, differential scanning calorimetry and FTIR. The binding mode and interactions of nickel(II) salphen complex with piperidine side chain and dengue DNA were determined by UV-vis titration. Based on ultra violet visible spectra, hypochromism and redshift (bathochromism) were observed after upon titration of the complex with dengue DNA which suggested formation of new complex. Nickel(II) salphen complex with piperidine side chain interact with dengue DNA by intercalation binding mode with the binding constant,  $K_b = 4.576 \times 10^5 M^{-1}$ . This new finding is so valuable for developing nickel(II) salphen complex as DNA hybridization marker for DNA optical biosensor to determine dengue virus.*

*Keywords: Dengue DNA; DNA interaction; nickel(II) salphen complex characterization; nickel(II) salphen complex*

### PENGENALAN

Demam denggi telah dilaporkan di Malaysia sejak 1902 (Husam et al. 2017). Pada 1962, kes demam denggi berdarah yang pertama telah dilaporkan di Georgetown, Pulau Pinang dan pada 1973 di Kuala Lumpur. Sejak itu, demam denggi menjadi isu kesihatan umum utama di Malaysia. Kebanyakan mangsa terdiri daripada kanak-kanak. Sehingga kini tiada lagi vaksin atau ubatan yang dapat mengatasi masalah demam denggi (Ong 2016). Satu pengesanan yang lebih sensitif, cepat dan spesifik diperlukan bagi mengatasi masalah ini. Pengesanan dan klasifikasi virus denggi memerlukan 4-5 hari untuk proses pengkulturan dan pemencilan virus bagi menghasilkan antibodi anti-denggi yang cukup bagi ujian serologi (Nascimento et al. 2011; Zhang et al. 2010). Ujian serologi pula mengambil masa beberapa hari untuk memastikan sama ada pesakit tersebut mengalami demam denggi

atau tidak. Secara amnya, kaedah ini mengambil masa berhari-hari atau berminggu-minggu untuk mendapatkan keputusan.

Ujian serologi ini terdedah kepada persilangan maklumat dengan flavivirus yang lain (Zhang et al. 2010). Selain itu, pengesanan awal virus denggi dilakukan dengan pengesanan asid ribonukleik (RNA) menggunakan teknik tindak balas rantai polimerase-transkriptase berbalik (RT-PCR). Teknik RT-PCR tradisional mengambil masa 5-7 hari untuk satu diagnosis lengkap dan ketidakstabilan RNA menyebabkan satu kelemahan bagi teknik ini (Lien et al. 2007). Biosensor DNA merupakan kaedah alternatif bagi mengatasi isu ini.

Kompleks logam peralihan mempunyai kebolehan yang tinggi untuk berinteraksi dengan asid deoksiribonukleik (DNA) secara ikatan bukan kovalen melalui tiga cara perikatan iaitu perikatan alur, interkalasi dan kesan perikatan

elektrostatik luar (Topala et al. 2014). Interkalator DNA kompleks logam mendapat perhatian yang tinggi dalam bidang penyelidikan kerana ia dapat digunakan secara meluas terutama dalam bidang bio-perubatan seperti mutagen, antibiotik, anti bakteria dan agen anti tumor (Martinez & Chacon-Garcia 2005). Terdapat beberapa contoh interaksi DNA menggunakan kompleks logam peralihan termasuklah Ru (Barton et al. 2012), Co, Ni, Cu, Zn (Zhou et al. 2007) dan kompleks nadir bumi. Kompleks logam mempunyai keistimewaan daripada segi bentuk geometri yang pelbagai jika dibandingkan dengan sebatian organik. Logam pusat memainkan peranan yang penting dalam menyelaraskan ligan kepada konformasi yang optimum untuk berinteraksi dengan DNA. Sifat logam yang tertarik kepada elektron dapat mengurangkan ketumpatan elektron pada ligan koordinat dan ini meningkatkan interaksi pertindihan  $\pi$ - $\pi$  dengan DNA. Dalam kalangan kompleks logam-terpiridina, kompleks bersatah segiempat sama platinum(II) dan kompleks piramid segiempat sama kuprum(II) terpiridina menunjukkan pengikat DNA yang lebih baik berbanding kompleks dwipiramid trigon zink(II) dan kompleks oktahedron rutenium(III). Ini menunjukkan sekurang-kurangnya terdapat satu permukaan bersatah diperlukan bagi mewujudkan interaksi  $\pi$ - $\pi$  dengan DNA (Campbell et al. 2012). Menurut Campbell et al. (2012), penambahan rantai sisi kationik dapat meningkatkan kebolehan logam kompleks sebagai pengikat DNA. Ini disebabkan oleh kehadiran rantai sisi kationik dapat meningkatkan keterlarutan dalam air dan berpotensi untuk berinteraksi secara elektrostatik dengan cas negatif yang terdapat pada kumpulan fosfat DNA.

Kompleks salfen atau lebih dikenali sebagai  $N,N'$ -bisfenilin (salisilidin imina) merupakan bes *Schiff* yang mempunyai empat kumpulan penderma iaitu dua nitrogen dan dua oksigen. Kompleks logam salfen dan terbitannya dilaporkan mempunyai sifat yang baik sebagai interkalator DNA. Interkalasi bererti penyisipan molekul antara bes planar DNA. Interkalasi berlaku apabila ligan yang mempunyai saiz dan kimia semula jadi yang dapat memenuhi ruang antara pasangan bes DNA. Ligan atau ion dalam kompleks logam salfen boleh diubah dan ia lebih mudah dikawal. Keupayaan kompleks ini berinterkalasi disebabkan oleh sifat planar ligan, geometri penyelarasan, ligan penderma dan jenis logam ion (Mariappan et al. 2012). Ligan salfen mempunyai ciri-ciri istimewa iaitu sifat sterik dan sifat elektroniknya boleh dilaraskan. Ligan salfen mempunyai kestabilan yang tinggi di udara dan sangat larut dalam pelarut organik. Logam berkoordinat dengan logam melalui ikatan  $\pi$  mempunyai pelbagai fungsi disebabkan oleh pertukaran cas daripada logam ke ligan atau ligan ke logam. Antara fungsinya termasuklah konduksi elektro, sifat magnet, pendarkilau dan sifat optik. Sifatnya yang menstabilkan logam berlainan dalam pelbagai keadaan pengoksidaan dapat mengawal prestasi logam dalam pemangkinan.

Ligan dan kompleks bes Schiff dengan kumpulan penukarganti berbeza dilaporkan mempunyai jenis

perikatan yang berbeza dengan DNA heliks ganda dua. Salen cobalt (Bhattacharya & Mandal 1995) berinteraksi sebagai interkalator dengan DNA heliks ganda dua manakala salen kuprum yang difungsikan (Routier et al. 1996) berinteraksi secara perikatan elektrostatik luar. Ion nikel(II) adalah tetrakoordinat di dalam keadaan bersatah segiempat sama, dengan dua atom nitrogen dan dua atom oksigen sebagai penderma (Trujillo et al. 2010). Kompleks nikel(II) salfen disintesis daripada kondensasi Schiff bes 2,4-dihidroksi benzaldehyd dengan 1,2-diamino benzena bagi membentuk ligan salfen. Kompleks salfen dilaporkan berinteraksi dengan DNA heliks ganda dua secara interkalasi. DNA timus anak lembu (ctDNA) merupakan salah satu contoh bagi DNA heliks ganda dua. Sukri et al. (2014) melaporkan bahawa kompleks platinum(II) salfen berinteraksi secara interkalasi dengan ctDNA. Selamat et al. (2016) melaporkan bahawa kompleks platinum(II) biperidina berinteraksi dengan ctDNA secara interkalasi. Yussof dan Abd Karim (2014) turut melaporkan bahawa kompleks bis-zink(II) salfen berinteraksi secara interkalasi dengan DNA bebenang ganda dua iaitu ctDNA. Lauria et al. (2014) juga melaporkan penggunaan nikel(II), kuprum(II) dan zink(II) sebagai interkalator dengan DNA heliks ganda dua. Biancardi et al. (2014) menyatakan bahawa kompleks zink(II) salfen bertindak sebagai interkalator bagi DNA heliks ganda dua.

Dengan menggunakan konsep interkalasi kompleks DNA yang mengalami penghibridan, kompleks yang berinteraksi dan menunjukkan perubahan optik terhadap penghibridan DNA denggi (DNA sasaran) dengan DNA prob boleh menjadi penemuan penting dalam membangunkan biosensor optik bagi pengesanan awal penyakit denggi. Penghibridan DNA adalah pembentukan DNA heliks ganda dua daripada dua jujukan DNA tunggal (dalam kajian ini DNA denggi sasaran dan DNA prob) melalui ikatan hidrogen Watson-Crick. Justeru, kajian interaksi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dengan DNA denggi yang mengalami penghibridan amat penting bagi menilai potensi kompleks ini sebagai bahan sensor optik DNA denggi sebelum pembangunan DNA biosensor dibuat.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN KIMIA

Bahan kimia diperoleh daripada pelbagai syarikat bahan kimia: 1,2-diamino benzena (Merck), 2,4-dihidroksibenzaldehyd (Sigma-Aldrich), etanol (ChemAR), Nikel (II) asetat tetrahidrat (ChemAR), Metanol (J.T.Baker), Dietil eter (Merck), Dimetil sulfoksida (ChemAR), Piperidin hidroklorida (1,2-kloroetilpiperidina) (Sigma Aldrich),  $N,N'$ -dimetilformamida (ChemAR), Kalium karbonat (Merck), Etil asetat (ChemAR), Kloroform (ChemAR), n-heksana (ChemAR), DMSO (ChemAR). DNA prob; 5'-TCA TCG ACC TGT AAG-3'

[AmC3] dan DNA denggi (DNA sasaran); 5'-TCA AAC CGT GCT GAA CTT ACA GGT CGA TGA-3' diperoleh daripada Sigma Aldrich. Dengan kehadiran DNA prob DNA denggi menjalani proses penghibridan DNA dengan nisbah 1:1 bagi mendapatkan DNA heliks ganda dua. Setiap bahan kimia yang digunakan dalam eksperimen ini, digunakan terus tanpa penulenan lanjut. Air terenyahion digunakan dalam eksperimen dan diperolehi daripada alat penyahion air (Barnstead Pure Water).

#### PENGUKURAN FIZIKAL

Spektrofotometer UL-Nampak digunakan untuk merekod cahaya serapan. Selain itu, meter pH (MetroOhm), pengacau magnetik (Branstead Thermolyne) dan alat penimbang analisis (Sartorius) juga digunakan untuk menimbang bahan kimia. Spektroskopi Resonans Magnet Nukleus, NMR (JEOL JNM-ECP 400), Spektroskopi inframerah, FTIR (Perkin Elmer), Spektroskopi jisim (Bruker Daltonics) dan kalorimeter pengimbasan perbezaan, DSC (DSC882e Mettler Teledo) digunakan dalam analisis kompleks.

#### SINTESIS KOMPLEKS NIKEL(II) SALFEN DENGAN RANTAI SISI PIPERIDINA

Kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina telah dilaporkan oleh Arola-Arnal et al. (2008) dengan sedikit perubahan. Kajian ini melibatkan dua peringkat tindak balas utama. Peringkat pertama melibatkan sintesis kompleks nikel(II) sulfen dan peringkat kedua melibatkan penambahan rantai sisi etil piperidina kepada kompleks nikel(II) sulfen.

#### SINTESIS KOMPLEKS NIKEL(II) SALFEN, N,N'-BIS-4-(HIDROKSISALISILIDIN)-FENILINDIAMINA-NIKEL (II)

Hasil: 0.7942g, 77%, <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 6.21 (d, 2H, H<sup>5</sup>, H<sup>6</sup>), 7.21 (dd, 1H, H<sup>1</sup>), 7.40 (d, 1H, H<sup>4</sup>), 8.00 (dd, 1H, H<sup>2</sup>), 8.55 (s, 1H, H<sup>3</sup>) <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 103.9, 108.2, 114.9, 115.9, 126.9, 136.3, 142.8, 154.6, 164.8 dan 167.6. IR (cm<sup>-1</sup>): 1600 (C=N), 1149 (C-OH), 1446(C=C), 1546(C=C), 3520 (OH). ESI(+)-MS *m/z* calcd for C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>NiO<sub>4</sub>: 405.03 a.m.u. Dijumpai: 405.02 a.m.u. Takat lebur: 423°C.

#### PENAMBAHAN RANTAI SISI PIPERIDINA KE ATAS KOMPLEKS NIKEL(II) SALFEN

Hasil: 625.97 mg, 68 %. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 1.36 (br, 2H, H<sup>11</sup>), 1.48 (br, 4H, H<sup>10</sup>), 2.39 (br, 4H, H<sup>9</sup>), 2.62 (s, 4H, H<sup>8</sup>), 4.06 (br, 2H, H<sup>7</sup>), 6.28 (br, 2H, H<sup>6</sup>), 6.30 (br, 2H, H<sup>5</sup>), 7.24 (br, 2H, H<sup>1</sup>), 7.44 (br, 2H, H<sup>4</sup>), 8.0 (br, 2H, H<sup>2</sup>), 8.6 (s, 2H, H<sup>3</sup>). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 24.4, 26.0, 54.6, 57.6, 66.15 102.1, 108.0, 115.2, 116.1, 127.2, 135.7, 142.8, 155.0, 165.0 dan 167.5 IR (cm<sup>-1</sup>): 1122 (C-O), 1606 (C=N), 1454 (C=C), 1570 (C=C), 2933 (CH<sub>2</sub>-), 2859 (CH-O). ESI(+)-MS *m/z* calcd for C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>NiO<sub>4</sub>(M<sup>+</sup>): 627.4 a.m.u Dijumpai: 627.2 a.m.u. Takat lebur: 249°C.

#### KAJIAN INTERAKSI DNA DENGGI - KOMPLEKS SALFEN

Kajian interaksi DNA denggi dengan kompleks nikel(II) sulfen dijalankan dengan kaedah titratan ultralembayung boleh nampak. Dalam kajian ini kepekatan kompleks nikel(II) sulfen dimalarkan dan dititratkan dengan kepekatan DNA denggi terhibrid yang berbeza. Perubahan pada puncak serapan pada spektrum ultralembayung boleh nampak diperhatikan. Kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina dilarutkan di dalam DMSO bagi membentuk larutan berkepekatan 5 mM. Larutan kemudiannya dicairkan kepada 1 mM dengan DMSO dan diikuti dengan larutan penimbal natrium fosfat. Larutan DNA denggi: DNA bebenang tunggal iaitu DNA prob(5'-CATGGCCCTTGTGGCG [AmC3]) dibiarkan melalui proses penghibridan dengan DNA sasaran (5'-CGCCACAAGGGCCATG-3') pada nisbah 1:1 pada kepekatan 1 mM di dalam 0.05 M larutan penimbal natrium fosfat pH7. Kompleks sulfen berkepekatan 30 μM dititratkan dengan 1 mM DNA denggi di dalam 0.05 M larutan penimbal natrium fosfat pH7. Kuvet berukuran 1 cm digunakan untuk kajian interaksi ini. Nilai pemalar perikatan, K<sub>b</sub> boleh dikira berdasarkan (1):

$$\frac{[DNA]}{\epsilon_a - \epsilon_f} = \frac{[DNA]}{\epsilon_b - \epsilon_f} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (1)$$

dengan [DNA] adalah kepekatan DNA ganda dua, ε<sub>a</sub>, ε<sub>f</sub> dan ε<sub>b</sub> merujuk kepada A<sub>diperhatikan</sub>/[kompleks], koefisien kompleks bebas dan kompleks terikat sepenuhnya dan K<sub>b</sub> merupakan pemalar pengikatan. Plot [DNA] / (ε<sub>a</sub> - ε<sub>f</sub>) melawan [DNA] akan mempunyai kecerunan 1/(ε<sub>b</sub> - ε<sub>f</sub>) dan pintasan-y bersamaan kepada 1/K<sub>b</sub>(ε<sub>b</sub> - ε<sub>f</sub>). K<sub>b</sub> merupakan nisbah kecerunan terhadap pintasan -y.

Peratus hipokromisme diperoleh berdasarkan (2) berikut:

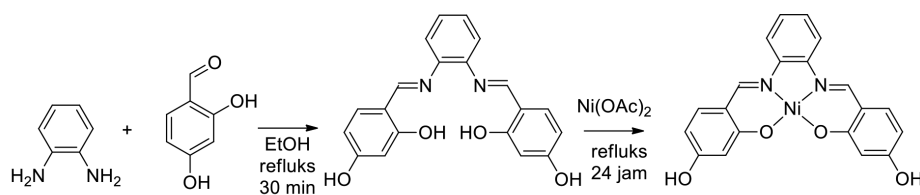
$$\text{Hipokromisme (\%)} = \frac{\text{Perbezaan serapan tertinggi dan terendah}}{\text{Perbezaan serapan tertinggi dan terendah}} \times 100 \quad (2)$$

Berdasarkan persamaan, nilai K<sub>b</sub> kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina dan DNA denggi dapat dikira.

#### KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

##### SINTESIS N,N'-BIS-4-(HIDROKSISALISILIDIN)-FENILINDIAMINA-NIKEL(II), NIKEL(II) SALFEN

Sintesis kompleks nikel(II) sulfen melibatkan dua peringkat tindak balas. Peringkat pertama melibatkan tindak balas antara 1,2-diamino benzena dengan 2,4-dihidroksi benzaldehid untuk membentuk ligan sulfen. Peringkat kedua tindak balas pula melibatkan tindak balas antara ligan sulfen dengan nikel (II) asetat tetrahidrat bagi membentuk kompleks nikel(II) sulfen. Skema tindak balas ditunjukkan dalam Rajah 1. Serbuk merah keperangan



RAJAH 1. Skema tindak balas bagi pembentukan kompleks nikel(II) salfen, (a) tindak balas antara 1,2-diamino benzena dengan 2,4-dihidroksi benzaldehid membentuk ligan salfen; (b) tindak balas antara ligan salfen dengan nikel asetat tetrahidrat membentuk kompleks nikel(II) salfen

dihasilkan dalam tindak balas ini dengan peratus hasil sebanyak 77%.

#### SINTESIS KOMPLEKS NIKEL(II) SALFEN DENGAN RANTAI SISI PIPERIDINA (ETIL PIPERIDINA)

Pada peringkat kedua melibatkan penambahan rantai sisi etil piperidina kepada kompleks nikel(II) salfen. Kehadiran kumpulan piperidina meningkatkan keterlarutan kompleks dalam akueus berbanding dengan nikel(II) salfen tanpa rantai sisi. Gantian alkilamina seperti etil piperidina akan meningkatkan kelarutan kompleks, memudahkan interaksi dengan DNA dan meningkatkan keafinan DNA. Tindak balas antara OH daripada kompleks nikel(II) salfen dengan rantaian kloroalkil menghasilkan sangkutan gantian kationik kepada gelang aromatik kompleks (Campbell et al. 2012). Skema tindak balas antara kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi etil piperidina ditunjukkan dalam Rajah 2. Peratus hasil yang diperolehi selepas proses penghabluran semula ialah 68 %.

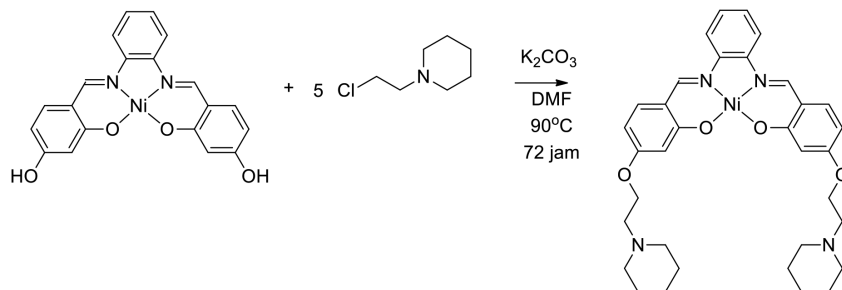
Spektroskopi inframerah (FT-IR) digunakan bagi menentukan kumpulan berfungsi yang hadir pada struktur kompleks. Rajah 3 menunjukkan spektrum infra-merah bagi kompleks nikel(II) salfen sebelum dan selepas penambahan rantai sisi etil piperidina. Berdasarkan spektrum inframerah pada Rajah 3(a), didapati tiada regangan kumpulan primer  $\text{NH}_2$  pada nombor gelombang sekitar  $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$  daripada bahan pemula 1,2-fenildiamina kerana berlakunya pembentukan kumpulan amina tertiar. Kumpulan berfungsi aldehyd dan puncak lebar kumpulan alkohol daripada bahan pemula 2,4-dihidroksibenaldehid juga hilang daripada spektrum kompleks nikel(II) salfen. Kumpulan berfungsi aldehyd  $\text{C}=\text{O}$  telah terurai membentuk

$\text{C}=\text{N}$  dan atom oksigen pada kumpulan alkohol telah berikat dengan atom nikel.

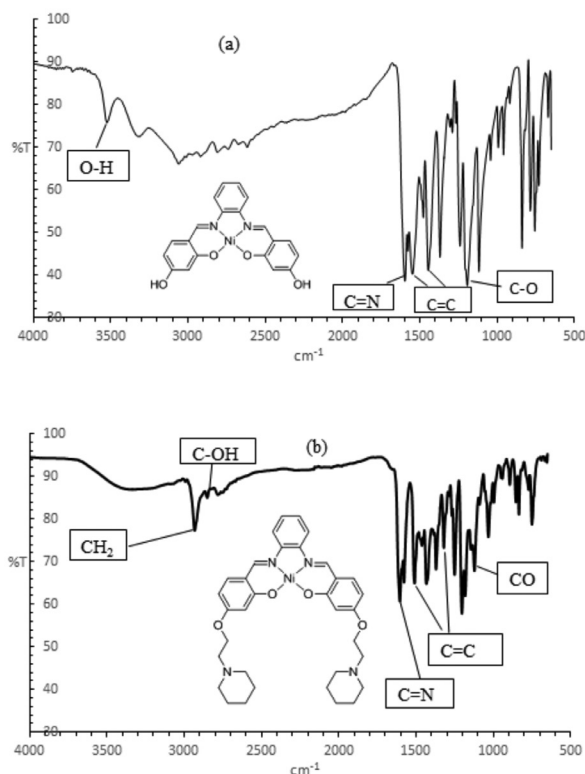
Spektrum FT-IR membuktikan wujudnya kumpulan berfungsi utama yang dijangkakan. Kumpulan berfungsi  $\text{C}=\text{N}$  hadir pada frekuensi  $1600\text{ cm}^{-1}$ . Regangan  $\text{C}=\text{C}$  aromatik didapati wujud pada frekuensi  $1446$  dan  $1546\text{ cm}^{-1}$ . Regangan  $\text{O}-\text{H}$  didapati pada nombor gelombang  $3520\text{ cm}^{-1}$  dan regangan  $\text{C}-\text{O}$  pada  $1194\text{ cm}^{-1}$  (Arola-Arnal et al. 2008).

Spektrum infra-merah bagi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina (Rajah 3(b)), menunjukkan puncak pada  $3526$  dan  $3320\text{ cm}^{-1}$  yang merujuk kepada kumpulan OH bagi kompleks nikel(II) salfen telah hilang kerana berlakunya interaksi antara kumpulan OH dari kompleks nikel(II) salfen dengan 1-(2-kloroetil) piperidina hidroklorida membentuk nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dan hasil sampingan HCl. Spektrum FTIR bagi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina menunjukkan  $1122\text{ cm}^{-1}$  untuk CO,  $2933\text{ cm}^{-1}$  untuk  $\text{CH}_2$ ,  $2859\text{ cm}^{-1}$  untuk CH-O.  $\text{C}=\text{N}$  terdapat pada panjang gelombang  $1606\text{ cm}^{-1}$  dan  $\text{C}=\text{C}$  terletak pada panjang gelombang  $1570$  dan  $1454\text{ cm}^{-1}$  (Arola-Arnal 2008).

Analisis menggunakan Spektroskopi  $^1\text{H}$  NMR satu dimensi digunakan untuk mengesan kehadiran proton dalam sebatian manakala  $^1\text{H}$  NMR dua dimensi digunakan untuk mengenal pasti kedudukan atom hidrogen dengan lebih tepat. Secara amnya, bilangan puncak H aromatik dan alifatik didapati bertepatan dengan bilangan sebenar atom hidrogen seperti dalam struktur kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina. Rajah 4 menunjukkan spektrum NMR 2 dimensi COSY bagi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina. Analisis NMR 2D hanya dijalankan pada kompleks nikel(II) salfen dengan rantaian sisi piperidina. Isyarat dalam spektrum NMR 2D COSY jelas



RAJAH 2. Skema tindak balas bagi pembentukan nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina



RAJAH 3. Spektrum infra-merah bagi kompleks nikel(II) salfen a)sebelum penambahan rantai sisi dan b)selepas penambahan rantai sisi

menunjukkan tiada interaksi berlaku antara  $H_3$  dengan hidrogen bersebelahan. Atom hidrogen  $H_1, H_2, H_4, H_5$  dan  $H_6$  merupakan hidrogen yang berikat pada kumpulan benzena.

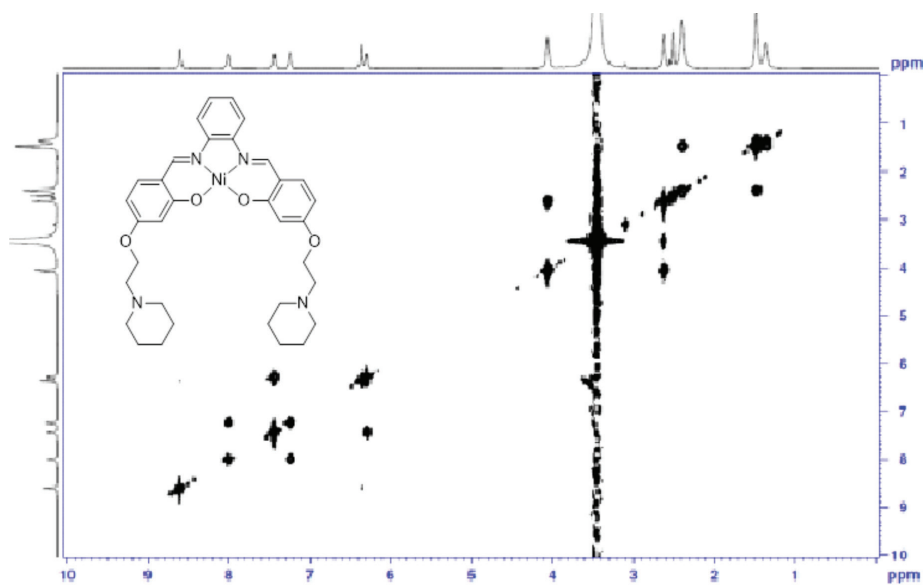
Seterusnya, penentuan berat molekul kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina ditentukan dengan menggunakan spektrometer jisim. Kompleks

nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina mempunyai formula molekul  $C_{34}H_{40}N_4NiO_4$  dan puncak molekul ion  $[M^+]$  dijangkakan akan hadir pada nilai  $m/z$  627. Nilai ini dapat dilihat pada puncak  $m/z$  627.23.

Melalui data ini, kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina berjaya disintesis dan dicirikan.

#### KAJIAN INTERAKSI ANTARA KOMPLEKS NIKEL(II) SALFEN DENGAN RANTAI SISI PIPERIDINA DENGAN DNA DENGGI

Kajian antara kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dan DNA denggi dijalankan bagi melihat interaksi yang berlaku antara kompleks dan DNA. Kajian terdahulu menunjukkan kompleks nikel(II) salfen berinteraksi dengan CT-DNA (DNA dupleks) dan DNA G-kuadrupleks dengan kekuatan ikatan berbeza (Georgiades et al. 2010). Namun begitu, kajian mengenai interaksi antara kompleks dengan DNA denggi belum pernah dilaporkan dalam mana-mana terbitan jurnal. Daripada keputusan kajian ini, kemampuan kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina sebagai bahan penanda sensor optik DNA denggi akan ditentukan. Rajah 5 menunjukkan spektrum serapan UL-Nampak bagi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dengan DNA heliks ganda dua denggi. Kompleks logam menunjukkan jalur penyerapan spesifik dalam rantau UV (kerana peralihan intraligan  $\pi-\pi^*$  atau pemindahan cas ligan kepada logam) atau di dalam rantau nampak (peralihan d-d). Perubahan pada anjakan panjang gelombang diperhatikan. Pemalar perikatan dapat ditentukan bagi perikatan kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina kepada DNA denggi melalui pentitratan perikatan spektroskopi. Secara amnya, ligan yang terkoordinat kepada pusat logam akan menghasilkan molekul bersatah dan dapat meningkatkan kebolehan untuk berinterkalasi di antara bes DNA ganda dua



RAJAH 4. Spektrum NMR 2D COSY bagi kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina

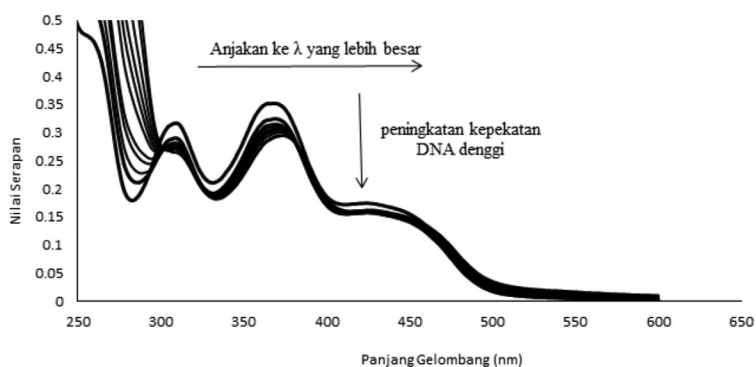
(Vilar et al. 2008). Kehadiran ion logam menyebabkan bentuk geometri segiempat bersatah dan dapat berikat dengan kuat pada DNA melalui mekanisme interkalasi (Kashanian et al. 2007). Apabila berlaku perikatan antara kompleks logam dengan DNA, penurunan pada penyerapan maksimum berlaku (hipokromisme) dan pada masa yang sama berlakunya anjakan merah atau dikenali sebagai kesan batokromisme iaitu anjakan kepada panjang gelombang yang lebih besar (Castor 2014; Kashanian et al. 2007). Kesan hipokromik merupakan gambaran spektrum DNA terhadap interaksi antara keadaan elektronik bahan dan bes DNA manakala batokromisme terjadi disebabkan pengurangan jarak tenaga antara orbital molekul HOMO,  $\pi$  kompleks logam) dengan orbital molekul LUMO,  $\pi^*$  DNA selepas berlaku perikatan kompleks kepada DNA (Campbell et al. 2012). Penyerapan maksimum seharusnya perlu jelas berbeza daripada DNA (>300 nm) supaya isyarat yang diberikan tidak bertindih (Castor 2014). Menurut Pravinand dan Raman (2013), kesan hipokromik terjadi apabila DNA heliks ganda dua distabilkan oleh kompleks/sebatian. Penyisipan sebatian kompleks secara interkalatif antara pasangan bes dalam DNA heliks ganda dua (contohnya di antara bes A-T dan G-C) akan menstabilkan DNA tersebut dan menyebabkan berlakunya hipokromisme (penurunan serapan). Manakala anjakan batokromisme pula terhasil disebabkan perubahan konformasi pada DNA iaitu asalnya heliks ganda dua tanpa kehadiran kompleks kepada pembentukan sebatian baru iaitu kompleks-DNA heliks ganda dua dengan penyelitan kompleks di antara pasangan bes DNA.

Rajah 5 jelas menunjukkan bahawa apabila DNA denggi dititratkan kepada kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina, keamatan serapan kompleks menurun dan berlaku anjakan batokromisme. Anjakan batokromisme menunjukkan terhasilnya pembentukan kompleks baru antara kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina dengan DNA heliks ganda dua denggi. Anjakan berlaku antara panjang gelombang 367 kepada

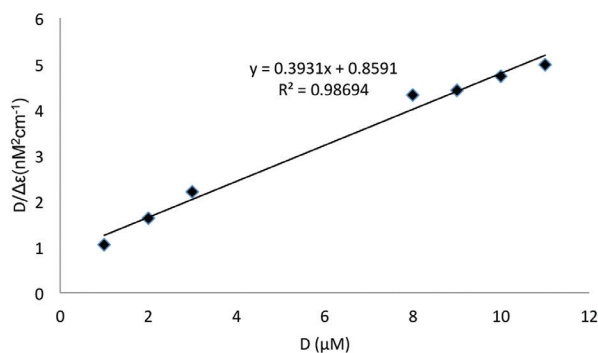
374 nm dengan nilai anjakan 7 nm. Kesan hipokromisme pada panjang gelombang 367 nm adalah sebanyak 18%. Perubahan pada spektrum kompleks logam nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina dan DNA denggi adalah hipokromisme dengan nilai serapan molar,  $\epsilon$  adalah  $3333.33 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Anjakan  $\pi$ - $\pi^*$  biasanya memberikan penyerapan molar antara 1000 hingga  $10\,000 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Kesan hipokromisme yang tinggi dan anjakan batokromisme yang besar mencadangkan berlakunya interkalasi antara kompleks nikel(II) dengan DNA denggi. Berdasarkan persamaan Scatchard (plot  $D/\Delta\epsilon$  melawan  $D$ ), nilai pemalar perikatan ( $K_b$ ) juga ditentukan. Rajah 6 menunjukkan plot  $D/\Delta\epsilon$  melawan  $D$ . Nilai  $K_b$  yang diperoleh adalah  $4.576 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Rujukan interaksi antara kompleks logam dengan CT-DNA menunjukkan kompleks logam yang berikatan dengan DNA melalui interkalasi akan memberikan keputusan hipokromisme dan batokromisme atau hipsokromisme manakala hiperkromisme adalah merujuk kepada interaksi elektrostatik, ikatan hidrogen dan ikatan alur (minor atau major) sepanjang luar heliks DNA (Topala et al. 2014).

Kajian ini dibandingkan dengan kajian interaksi antara CT-DNA dan kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi kumpulan hidroksi dan serta kompleks kuprum(II) sulfen yang memperoleh nilai  $K_b$  masing-masing sebanyak  $2.51 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  dan  $7.8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$  (Shamsuddin et al. 2017). Berdasarkan pernyataan dan spektrum UL-Nampak, kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina dibuktikan berinteraksi dengan DNA melalui interkalasi dan sesuai digunakan sebagai penanda optik DNA denggi. Kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina ini juga menunjukkan keselektifan yang lebih tinggi terhadap DNA heliks ganda dua sebanyak lima puluh kali ganda berbanding dengan interaksi kompleks ini dengan CT-DNA ganda dua ( $K_b = (8.96 \pm 0.18) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ ) (Campbell et al. 2012). Kehadiran DNA prob yang spesifik terhadap DNA denggi (sasaran) menyebabkan proses penghibridan DNA berlaku seterusnya berinteraksi dengan kompleks(II) sulfen dengan ikatan tak kovalen (interkalasi).



RAJAH 5. Spektrum serapan titrasi UL-Nampak bagi kompleks nikel(II) sulfen dengan rantai sisi piperidina ( $30 \mu\text{M}$ ) dengan DNA denggi ( $1 \times 10^{-6} \text{ M}$  hingga  $1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$ )



RAJAH 6. Plot yang sesuai dengan data serapan bagi mendapatkan nilai pemalar perikatan

### KESIMPULAN

Kompleks nikel(II) salfen telah berjaya disintesis dengan baik. Bilangan atom hidrogen yang perlu ada di dalam kompleks nikel(II) salfen dipaparkan di dalam spektrum  $^1\text{H}$  NMR. Rantai sisi etil piperidina berjaya disangkutkan pada kompleks nikel(II) salfen membentuk kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina. Bilangan atom hidrogen dan karbon ditentukan dengan menggunakan spektrum NMR manakala kedudukan atom hidrogen ditentukan dengan menggunakan spektrum NMR 2D iaitu COSY. Kumpulan berfungsi pula disahkan dengan menggunakan instrumen FTIR. Berat molekul kompleks yang terbentuk adalah hampir sama dengan teori dan ditentukan dengan menggunakan spektrum jisim. Kompleks nikel(II) salfen dengan rantai sisi piperidina dibuktikan menstabilkan DNA denggi melalui mod interaksi interkalasi. Perubahan anjakan batokromisme dan hipokromisme yang ditunjukkan di dalam spektrum UL-Nampak membuktikan potensi kompleks yang dikaji sebagai bahan sensor optik bagi pengesanan DNA denggi.

### PENGHARGAAN

Penghargaan terima kasih dirakamkan kepada pihak Universiti Kebangsaan Malaysia untuk sokongan melalui kumpulan penyelidikan, iaitu DPP-2017-064 (Sensor Kimia dan Biosensor Biokimia UKM) dan dana UP-5179-2017 dan Dana Impak Perdana (DIP-2016-028). Terima kasih kepada MOSTI melalui E-Science Fund (06-01-02-SF1242). Terima kasih juga kepada Kementerian Pengajian Tinggi atas pemberian MyBrain15 dan dana FRGS/1/2017/STG01/UKM/02/5 kepada penulis.

### RUJUKAN

- Arola-Arnal, A., Benet-Buchholz, J., Neidle, S. & Vilar, R. 2008. Effects of metal coordination geometry on stabilization of human telomeric quadruplex DNA by square-planar and square-pyramidal metal complexes. *Inorganic Chemistry* 47(24): 11910-11919.
- Barton, J.K., Kaiser, J.T. & Song, H. 2012. Crystal structure of  $\Delta$ -[Ru(Bpy) $_2$ dppz] $^{2+}$  bound to mismatched DNA reveals side-by-side metalloinsertion and intercalation. *Nature Chemistry* 4(8): 615-620.

- Bhattacharya, S. & Mandal, S.S. 1995. Ambient oxygen activating water soluble cobalt-salen complex for DNA cleavage. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* 0(24): 2489-2490.
- Biancardi, A., Burgalassi, A., Terenzi, A., Spinello, A., Bzrone, G., Biver, T. & Mennucci, B. 2014. A theoretical and experimental investigation of the spectroscopic properties of a DNA-intercalator salphen-type Zn(II) complex. *Chemistry A European Journal* 20(24): 1-10.
- Campbell, N.H., Karim, N.H.A., Parkinson, G.N., Gunaratnam, M., Petrucci, V., Todd, A.K., Vilar, R. & Neidle, S. 2012. Molecular basis of structure activity relationships between salphen metal complexes and human telomeric DNA quadruplex. *Journal of Medicinal Chemistry* 55(1): 209-222.
- Castor, K.J. 2014. Transition metal complexes as G-quadruplex DNA binders. PhD thesis. McGill University, Canada.
- Georgiades, S.N., Karim, N.H.A., Suntharalingam, K. & Vilar, R. 2010. Interaction of metal complexes with G-quadruplex DNA. *Angewante Chemie International Edition* 49(24): 4020-4034.
- Husam, I.S., Abuhamad, Bakar, A.A., Zainudin, S., Sahani, M. & Ali, Z.M. 2017. Feature selection algorithms for Malaysian dengue outbreak detection model. *Sains Malaysiana* 46(2): 255-265.
- Kashanian, S., Gholivand, M.B., Ahmadi, F., Taravati, A. & Colagar, A.H. 2007. DNA interaction with Al-N, N'-Bis(Salicylidene) 2,2'-Phenylendiamine complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 67(2): 472-478.
- Lauria, A., Bonsignore, R., Terenzi, A., Spinello, A., Giannici, F., Longo, A., Almerico, A.M. & Barone, G. 2014. Nickel(II), copper(II) and zinc(II) metallointercalators: structural details of the DNA-binding by a combined experimental and computational investigation. *Dalton Transaction* 43(16): 6108-6119.
- Lien, K.Y., Lee, W.C., Lei, H.Y. & Lee, G.B. 2007. Integrated reverse transcription polymerase chain reaction systems for virus detection. *Biosensors and Bioelectronics* 22(8): 1739-1748.
- Mariappan, M., Suenaga, M., Mukhopadhyay, A. & Maiya, B.G. 2012. Synthesis, structure, DNA binding and photonuclease activity of a nickel(II) complex with a N,N'-Bis(salicylidene)-9-(3,4-diaminophenyl)acridine ligand. *Inorganica Chimica Acta* 390: 95-104.
- Martinez, R. & Chacon-Garcia, L. 2005. The search of DNA-intercalators as antitumoral drugs: What it worked and what did not work. *Current Medicinal Chemistry* 12(2): 127-151.
- Nascimento, H.P.O., Oliveira, M.D.L., Melo, C.P.d, Silva, G.J.L., Cordeiro, M.T. & Andrade, C.A.S. 2011. An impedimetric biosensor for detection of dengue serotype at picomolar concentration based on gold nanoparticle-polyaniline hybrid composites. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 86(2): 414-419.
- Ong, S-Q. 2016. Dengue vector control in Malaysia: A review for current and alternative strategies. *Sains Malaysiana* 45(5): 777-785.
- Pravinand, N. & Raman, N. 2013. DNA interaction and antimicrobial activity of novel tetradentate imino-oxalato mixed ligand metal complexes. *Inorg. Chem. Commun.* 36: 45-50.
- Routier, S., Bernier, J.L., Waring, M.J., Colson, P., Houssier, C. & Bailly, C. 1996. Synthesis of a functionalized salen-copper complex and its interaction with DNA. *The Journal of Organic Chemistry* 61(7): 2326-2331.

- Selamat, N., Lee, Y.H., Hassan, N.I. & Karim, N.H.A. 2016. Synthesis and characterization of 6,6'-bis(2-hydroxyphenyl)-2,2'-bipyridyl ligand and its platinum complex for the interaction with ct-DNA. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 20(1): 111-120.
- Shamsuddin, R., Sahudin, M.A., Hassan, N.H. & Karim, N.H.A. 2017. Interaction of N,N'-bis[4-[1-(2-hydroxyethoxy)]salicylidene]-phenyldiamine-nickel(II) and copper(II) complexes with G-Quadruplex DNA. *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 21(3): 544-551.
- Sukri, S.A.M., Lee, Y.H. & Karim, N.H.A. 2014. Synthesis and characterization of platinum(II) salphen complex and its interaction with calf thymus DNA. *The 2014 UKM FST Postgraduate Colloquium: AIP Conference Proceeding* 1614: 419-426.
- Topală, T., Bodoki, A., Oprean, L. & Oprean, R. 2014. Experimental techniques employed in the study of metal complexes-DNA-interactions. *Farmacia* 62(6): 1049-1061.
- Trujillo, A., Fuentalba, M., Carrillo, D., Manzur, C., Ledoux-Rak II, I., Hamon, J.R. & Saillard, J-Y. 2010. Synthesis, spectral, structural, second-order nonlinear optical properties and theoretical studies on new organometallic donor-acceptor substituted nickel(II) and copper(II) unsymmetrical schiff-base complexes. *Inorganic Chemistry* 49(6): 2750-2764.
- Vilar, R., Arnal, A.A., Buchholz, J.B. & Neidle, S. 2008. Effects of metal coordination geometry on stabilization of human telomeric quadruplex DNA by square-planar and square-pyramidal metal complexes. *Inorganic Chemistry* 47(24): 11910-11919.
- Yussof, A.M.M. & Karim, N.H.A. 2014. Interaction of bis-Zn(II) Salphen complex with calf thymus-DNA. *The 2014 UKM FST Postgraduate Colloquium: AIP Conference Proceeding* 1614: 386-392.
- Zhang, G.J., Zhang, L., Huang, M.J., Luo, Z.H.H., Tay, G.K.I., Lim, E.A., Kang, T.G. & Chen, Y. 2010. Silicon nanowire biosensor for highly sensitive and rapid detection of Dengue virus. *Sensors and Actuators B: Chemical* 146(1): 138-144.
- Zhou, C., Du, X. & Li, H. 2007. Studies of interactions among cobalt (III) polypyridyl complexes, 6-mercaptopurine and DNA. *Journal of Bioelectrochemistry* 70(2): 446-451.

Eda Yuhana binti Ariffin, Lee Yook Heng & Nurul Huda Abd Karim\*  
Pusat Pengajian Sains Kimia & Teknologi Makanan  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan  
Malaysia

Tan Ling Ling  
Penyelidikan Inisiatif Pencegahan Bencana Asia Tenggara (SEADPRI-UKM)  
Institut Pembangunan dan Persekitaran (LETARI)  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan  
Malaysia

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

Diserahkan: 15 September 2017

Diterima: 5 Februari 2018