

**MEKANISME ANTI-INFLAMASI ASAM 2-((3-(KLOOROMETIL)
BENZOIL)OKSI)BENZOAT TERHADAP ENZIM PRO
INFLAMASI, *REACTIVE OXYGEN SPECIES*,
DAN SEL T REGULATOR**

INTISARI

Asam 2-((3-(klorometil) benzoil)oksi)benzoat (3-CH₂Cl) merupakan turunan asam salisilat yang potensial sebagai pengganti asam asetilsalisilat (AAS) atau aspirin. Aspirin sebagai obat anti-inflamasi yang dapat menghambat produksi prostaglandin memiliki efek samping diantaranya tukak lambung. Uji aktivitas analgesik, toksisitas akut, toksisitas subkronik, dan anti-inflamasi menunjukkan bahwa 3-CH₂Cl memiliki aktivitas analgesik yang lebih besar dengan efek toksik yang lebih rendah dibandingkan asam asetilsalisilat, namun mekanisme aksi senyawa tersebut terkait fungsi enzim *cyclooxygenase* (COX) sebagai enzim yang mengatur produksi prostaglandin serta peran senyawa baru tersebut pada ekspresi COX masih belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme hambatan 3-CH₂Cl pada enzim COX dan mendukung hipotesis penelitian, dilaksanakan dengan menggunakan metode yang dijabarkan pada bab ini. Aktivitas enzim COX-2 dilakukan dengan mengukur prostaglandin E-2 (PGE-2) dengan metode ELISA pada plasma mencit yang induksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS). Pengaruh pemberian senyawa 3-CH₂Cl terhadap ekspresi COX-2 dan FoxP3, jumlah populasi CD4⁺ dan CD4⁺Treg pada splenosit mencit yang diinduksi inflamasi menggunakan Lipopolisakarida (LPS) diukur dengan alat flow cytometry (BD FACSCalibur) dan panel antibodi terlampir. Pengaruh 3-CH₂Cl pada ekspresi NOX2 (hepar) dan NFκB (Limpa, Hepar, Ginjal, Paru-paru) diukur dengan metode IHC. Kadar ROS / Superoksida (O₂^{•-}) diukur secara in-vitro dilakukan dengan menggunakan kombinasi enzim ferrisitokrom-C dan superoksida dismutase (SOD) pada splenosit mencit yang diaktivasi oleh Lipopolisakarida dan senyawa uji. Pengukuran kadar RNS secara in-vivo dilakukan dengan mengukur kadar nitrit oksida (NO) dari lisat organ hati dan plasma mencit yang diinduksi oleh Lipopolisakarida menggunakan reagen griess. Diharapkan hasil penelitian ini menjelaskan mekanisme aksi 3-CH₂Cl sebagai salah satu kandidat potensial anti-inflamasi pengganti AAS yang aman dan efisien.

Kata kunci: 3-CH₂Cl, Salisilat, COX-2, Inflamasi, Treg

THE MECHANISM OF ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF 2-((3-(CHLOROMETHYL)BENZOYL)OXY)BENZOATE AGAINST PRO-INFLAMMATORY ENZYMES, *REACTIVE OXYGEN SPECIES* AND T REGULATORY CELLS.

ABSTRACT

2-((3-(chloromethyl)benzoyl)oxy)benzoate (3-CH₂Cl) is a derivative of salicylic acid that is potential as a substitute for acetylsalicylic acid (ASA) or aspirin. Aspirin, as an anti-inflammatory drug that can inhibit the production of prostaglandins, has side effects including gastric ulcers. Tests on analgesic activity, acute toxicity, subchronic toxicity, and anti-inflammatory effects show that 3-CH₂Cl has greater analgesic activity with lower toxic effects compared to acetylsalicylic acid, but the mechanism of action of this compound is related to the function of the cyclooxygenase (COX) enzyme, which regulates prostaglandin production, and the role of the new compound in COX expression is still unknown. This research aims to determine the mechanism of inhibition of 3-CH₂Cl on the COX enzyme and support the research hypothesis, conducted using the methods described in this chapter. COX-2 enzyme activity was measured by ELISA method for prostaglandin E-2 (PGE-2) in the plasma of mice induced with inflammation using Lipopolysaccharide (LPS). The effect of administering 3-CH₂Cl compound on COX-2 and FoxP3 expression, the number of CD4⁺ and CD4⁺Treg populations in mouse splenocytes induced with inflammation using Lipopolysaccharide (LPS) was measured using flow cytometry (BD FACSCalibur) utilizing several antibody panels. The effect of 3-CH₂Cl on pro-inflammatory markers NOX2 (liver) and NFκB (Spleen, Liver, Kidney, Lung) expression was measured by immunohistochemical methods. The levels of ROS/Superoxide (O₂^{•-}) were measured in vitro using a combination of ferricytochrome-C and superoxide dismutase (SOD) enzymes in splenocytes activated by Lipopolysaccharide and 3-CH₂Cl. Measurement of RNS levels in vivo was done by measuring the levels of nitric oxide (NO) from liver organ lysate and mouse plasma induced by Lipopolysaccharide using Griess reagent. It is hoped that the results of this research will explain the mechanism of action of 3-CH₂Cl as a potential safe and efficient anti-inflammatory candidate replacing ASA.

Keywords: 3-CH₂Cl, Salicylic acid, COX-2, inflammation, Treg