

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Suely Rodrigues Pereira**

**Avaliação do efeito da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxfuran-2(*5H*)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos**

**Montes Claros**

**2022**

**Suely Rodrigues Pereira**

**Avaliação do efeito da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-  
2(*5H*)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos**

Exame de Defesa de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Saúde.

Área de Concentração: Alimentos e Saúde

Orientador: Prof. Dr. Ulisses Alves Pereira  
Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Henrique Sousa Santos

**Montes Claros  
2022**

Pereira, Suely Rodrigues

P436a  
2022

Avaliação do efeito da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(*SH*)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos [manuscrito] / Suely Rodrigues Pereira. Montes Claros, 2022.  
43 folhas, il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Alimentos e Saúde. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Ulisses Alves Pereira

Banca examinadora: Francine Souza Alves da Fonseca, Alana Fernandes Paraíso, Sérgio Henrique Sousa Santos.

Inclui referências: f. 30-31; 36-38.

1. Obesidade. 2. Obesidade - Modelos animais. 3. Fígado gorduroso. 4. Síndrome metabólica. 5. Lactona. I. Pereira, Ulisses Alves. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 612.3

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG**

Reitor: Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-reitor (a): Alessandro Fernando Moreira

Pró-reitor de Pesquisa: Mário Fernando Montenegro Campos

Pró-reitor de Pós-graduação: Fábio Alves da Silva Júnior

## **CURSO DE MESTRADO EM ALIMENTOS E SAÚDE**

Coordenador: Sérgio Henrique Sousa Santos

Subcoordenador: Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

## ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 21 dias do mês de fevereiro de 2022, às 9:00 horas, sob a Presidência do Professor Ulisses Alves Pereira, Dr. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação dos Professores Sérgio Henrique Sousa Santos, Dr. Sc. (Coorientador - UFMG/ICA) e Alanna Fernandes Paraíso, Dr. Sc. (UFJF) e, de, Francine Souza Alves da Fonseca, Dr. Sc. (UFMG/ICA) reuniu-se, por videoconferência, a Banca de defesa de dissertação da Discente **SUELY RODRIGUES PEREIRA** aluna do Curso de Mestrado em Alimentos e Saúde. O resultado da defesa de dissertação intitulada: “Avaliação do efeito da 3-cloro-4-(p-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5H)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos”, sendo a aluna considerada aprovada. E, para constar, eu, Professor Ulisses Alves Pereira, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Ulisses Alves Pereira, Professor do Magistério Superior**, em 22/02/2022, às 09:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alanna Fernandes Paraíso, Usuário Externo**, em 22/02/2022, às 11:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Francine Souza Alves da Fonseca, Técnica de Laboratório**, em 22/02/2022, às 14:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sergio Henrique Sousa Santos, Professor do Magistério Superior**, em 24/02/2022, às 08:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1270240** e o código CRC **1D6FDBCF**.

Referência: Processo nº 23072.210323/2022-85

## AGRADECIMENTOS

Nem sempre temos todas as respostas, mas mesmo assim é preciso prosseguir o caminho.

Ainda tomado por essa boa aventura, quero aqui, agradecer a cada um que foi, sem dúvida, imprescindível para a construção desse momento, o qual não seria possível trilhar sozinho.

Agradeço à Deus, Sem Ele, certamente, não poderia concluir essa etapa, pois foram muitos infortúnios cometidos que me distanciaram daqui.

À minha família, na pessoa de meus pais Alfredo e Orlinda, pelos esforços sem medidas para o desenvolvimento do meu caráter e formação profissional. Por toda educação e amor que me deram sempre. Com vocês aprendi a não desistir diante das dificuldades encontradas.

Aprendi que o amor vence qualquer obstáculo, Obrigada, porque sei que muitas vezes deixaram de realizar os seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus; pelas muitas vezes em que, em momentos de cansaço e das nossas muitas perdas me ofereceram carinho e proteção.

Aos meus irmãos. Em especial, agradeço imensamente a Hilda por inúmeras vezes me ajudar nessa caminhada, sem medir esforços a sua brevidade da vida deixou-me sem forças e mudou tudo [...] foram dias difíceis para recomeçar, muitas correrias dentre dias de semana e finais de semana cuidando dos animais no biotério, além de muitos momentos difíceis que passamos durante o mestrado [...]. Mas, como apoio em todos esses momentos, foi possível que eu concluísse mais essa etapa importante da minha vida. À vocês, meus irmãos e minha estrela, dedico o meu título. Aos meus sobrinhos Arianny, Amanda, Alicy, Ana Julia, Alvaro, Rafael e Yamin pela alegria em fazer parte da vida de cada um e poder receber de vocês a felicidade espontânea.

Ao professor e coorientador Sergio Henrique Santos, muita gratidão pela oportunidade de trabalhar na equipe, pelas oportunidades oferecidas, os aprendizados nos encontros dos seminários, sobretudo pelas palavras sábias e animadoras.

Aos colegas de sala de aula (Carla, Dany, Eliezer, Bruna e Ada) obrigada pelo apoio e

companheirismo de sempre.

Ao amigo Roni obrigada por me auxiliar nos estudos para a prova do mestrado, e por participar dos momentos de alegrias, dores e perdas a qual tenho vivenciado.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Saúde (Daniel, Vitor, Jacy, Soniele, Carla, Bruna e Guilherme) por compartilharem comigo tantos momentos de descobertas e aprendizado e por todo o companheirismo ao longo deste percurso. Mary, Deus abençoe, pelo carinho, acolhimento, dedicação e cuidado com tantos filhos.

Ao meu orientador prof. Dr. Ulisses pelas conversas e aconselhamentos em momentos de dúvidas, além da compreensão em determinados pontos desse percurso.

Enfim, obrigado a todos que diretamente ou indiretamente participaram e colaboraram para a realização dessa etapa. Peço a Deus que os abençoe grandemente, retribuindo e provendo a cadaum com Sua proteção.

Deus, gratidão por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste.

## RESUMO

A obesidade é enfermidade decorrente da associação de múltiplos fatores que resultam no acúmulo excessivo de gordura corporal. Representa atualmente um problema de saúde pública pela sua abrangência epidemiológica e associação com outras patologias também muito prevalentes como, a hipertensão arterial e o diabetes mellitus tipo II. Ainda, relaciona-se à obesidade o desenvolvimento da Síndrome Metabólica decorrente, dentre outras causas, de desequilíbrio no Sistema Renina Angiotensina. A deposição disforme de gordura, síndrome metabólicas (SM) e doenças associadas aumentam com o envelhecimento, assim comorbidades metabólicas e coeficientes de risco agregados à obesidade são responsáveis por causar alterações morfológicas no tecido hepático. As lactonas naturais do tipo butenolídeos apresentam uma grande variedade de atividades biológicas, e, portanto, suas estruturas representam uma fonte de inspiração para o preparo de moléculas sintéticas. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo geral avaliar o efeito da lactona sintética 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona no tratamento da esteatose hepática em camundongos obesos. Para a realização deste estudo foram utilizados 48 camundongos machos swiss com oito semanas de idade. Os camundongos foram aleatoriamente distribuídos em seis grupos, ST (grupo padrão), ST+ATB (grupo padrão + antibiótico), ST+LC (grupo padrão + lactona) HFD (dieta hiperlipídica), HFD+ATB (dieta hiperlipídica + antibiótico), HFD+LC (dieta hiperlipídica + lactona). A indução a obesidade teve duração de quatro meses e o tratamento com o antibiótico e lactona teve duração de um mês. Os animais foram pesados a cada três dias durante todo o período de indução da SM e tratamento, foi realizado o teste glicemia em jejum, quanto a ingestão alimentar foram avaliados diariamente. Após o término do tratamento os animais foram pesados e eutanasiados por decaptação em guilhotina, foi coletada amostra do fígado. Foram feitas análises histológicas, e peso do fígado. O significado estatístico das diferenças nos valores médios entre os grupos foram avaliados por fator ANOVA. Os resultados demonstram uma diminuição do peso dos animais e do fígado após o tratamento com a lactona sintética (HFD+LC), além de melhora no perfil glicêmico em jejum nesse grupo. Conclui-se que a lactona sintética apresenta relevância no tratamento da esteatose hepática e da obesidade de animais, com melhora histológica significativa nas células adipócitas do fígado.

Palavras-chave: Obesidade. Doença hepática gordurosa não alcoólica. Síndrome metabólica. Lactona.



## ABSTRACT

The disease is corrective of the association of factors that results in excessive obesity of body fat. It currently represents a public health problem due to its epidemiological scope and association with other very prevalent pathologies such as arterial hypertension and type II diabetes mellitus. Also obesity or the development of metabolic obesity, among other causes, are related to the Renin Angio System. Fat deposition, metabolic syndrome (MS) and associated risks increase with aging, as well as metabolic comorbidities and obesity aggregation coefficients are responsible for causing morphological changes in liver tissue. The natural lactones of the representative type, but they present a great variety of biological species, and therefore their structures of inspiration for the preparation of a biological source of biological origin. Thus, the present study aims to evaluate the effect of the synthetic lactone 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one in the treatment of hepatic steatosis in obese mice. For the accomplishment of this study, 48 mice were used swiss males at eight weeks of age. Mice were randomly assigned to six groups, ST (standard group), ST+ATB (standard group + antibiotic), ST+LC (standard group + lactone), HFD (high-fat diet), HFD+ATB (high-fat diet + antibiotic), HFD+LC (high-fat diet + lactone). Obesity induction lasted four months and treatment with antibiotics and lactone lasted one month. The animals were weighed every three days throughout the period of MS induction and treatment, the fasting glucose test was performed, and food intake was evaluated daily. After the end of the treatment, the animals were weighed and euthanized by guillotine decapitation, and a liver sample was collected. Histological analyzes and liver weight were performed. The statistical significance of differences in mean values between groups were evaluated by factor ANOVA. The results demonstrate a decrease in the weight of the animals and the liver after treatment with synthetic lactone (HFD+LC), in addition to an improvement in the fasting glycemic profile in this group. It is concluded that synthetic lactone is relevant in the treatment of hepatic steatosis and obesity in animals, with significant histological improvement in liver adipocyte cells.

Keywords: Obesity. Non-alcoholic fatty liver disease. Metabolic syndrome. lactone.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Estruturas gerais dos butenolídeos.....18
- Figura 2** - Estruturas do petrosaspongiolídeo M, cianopicrina e manoalídeo.....19
- Figura 3** - Lactona sintetizada e avaliada no presente trabalho.....19

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASC	- Domínio de recrutamento de caspase
ATB	-Antibiótico
DCV	- Doenças cardiovasculares
DM	- Diabetes mellitus
DM2	- Diabetes Mellitus tipo 2
HAS	- Hipertensão arterial sistêmica
HFD	- Dieta hiper lipídica
IRC	- Insuficiência Renal Crônica
IRC	-Insuficiência renal crônica
LC	-Lactona
NAFLD	- Doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas
NASH	- Esteatose hepática não alcoólica
NOD	- Domínio de ligação e oligomerização de nucleotídeos
NRL	- Domínio rico em Leucina contendo receptores
RI	- Resistência a Insulina
SM	-Síndrome Metabólica
ST	-Dieta padrão

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 Obesidade .....	15
2.2 Síndrome Metabólica .....	16
2.3 Esteatose hepática gordurosa não alcoólica .....	16
2.4 Lactonas do tipo butenolídeo.....	17
<b>3 OBJETIVO</b> .....	20
3.1 Ojetivo Geral .....	20
3.2 Objetivos Específicos .....	20
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	21
<b>5 PRODUTO</b> .....	22
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	35
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>ANEXOS</b> .....	40

## 1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma transformação caracterizada pela ampliação desproporcional do peso corporal em relação à altura, devido à agregação de gordura. A obesidade é considerada uma pandemia do século atual pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e outras organizações internacionais (ABARCA-GÓMEZ *et al.*, 2017).

A prevalência de sobrepeso e obesidade está aumentando a um ritmo alarmante em muitos países. A população de obesos adultos mais que dobrou no país 2003 e 2019, passando de 12,2% para 26,8% (IBGE, 2020). O aumento da prevalência da obesidade é explicado pelas mudanças comportamentais ocorridas nas últimas décadas principalmente devido a uma dieta irregular e sedentarismo (OMS, 2015). Nos países de renda média os sistemas de vigilância têm detectado tendências crescentes de obesidade ao longo do tempo (FERREIRA *et al.*, 2019).

A síndrome metabólica (SM) é um complexo de fatores de risco inter-relacionados para doenças cardiovasculares e Diabetes Mellitos (DM2) manifestado por hiperglicemia, hipertensão, dislipidemia e obesidade abdominal (MUSSI e PETRÓSK, 2019).

Estima-se que a SM afete uma quantidade significativa da população adulta e a prevalência está aumentando devido à obesidade e sedentarismo, principalmente em pessoas com mais de 60 anos. A SM foi associada a um risco aumentado de DM2, doença cardiovascular e mortalidade. Indivíduos afetados pela SM ou obesidade são 5 vezes mais propensos a desenvolver DM2. A partir daí a morbimortalidade cardiovascular foi significativamente maior na presença de SM (SOUZA *et al.*, 2015).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma condição muito comum caracterizada pelo acúmulo de lipídios no fígado que pode levar a estágios de fibrose, cirrose e carcinoma hepatocelular (HENA) mais avançado. A prevalência mundial da doença hepática gordurosa não foi determinada, mas parece ser a doença hepática mais comum no mundo ocidental (DIAS *et al.*, 2009). O principal mecanismo da DHGNA está relacionado à resistência à insulina (RI), o sedentarismo a má alimentação têm sido implicados na agressão e sobrecarga hepática da DHGNA que está intimamente relacionada a DM2 e à obesidade, doenças que atingiram proporções epidêmicas em todo o mundo (SOUZA *et al.*, 2014).

Várias estratégias precisam ser otimizadas para fornecer alternativas para a prevenção e tratamento da DHGNA no cenário da obesidade. Sendo assim, devem-se procurar novas substâncias capazes de controlar essa doença.

Uma estratégia muito utilizada é a síntese de novas substâncias baseada em produtos

naturais. As lactonas do tipo butenólídeos constituem um grupo de substâncias naturais que apresentam uma diversidade de atividades biológicas (BARBOSA *et al.*, 2010). Diante desse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Obesidade

A obesidade é estipulada pela demasia de gordura corporal, ligada a vários riscos para a saúde, englobando os aspectos sociais, comportamentais e biológicos. A partir da abundância de gordura é possível identificar predisposição para doenças crônicas não transmissíveis, como por exemplo, o diabetes, as doenças cardiovasculares, câncer dentre outras (ALMEIDA *et al.*, 2017).

As principais causas pertinentes a obesidade, pode-se referir a uma alimentação inadequada com elevada quantidade de carboidratos e açúcares, pouco consumo de frutas e sedentarismo. Fatores genéticos influenciam no ganho de peso e na dificuldade do emagrecimento (SHOLER *et al.*, 2016).

A obesidade possui coeficientes genéticos, os quais por meio de um rastreamento pode-se indicar quais filhos com pais obesos terá probabilidade de se tornarem também obesos. Entretanto, visto que pais e filhos, além da semelhança dos genes, aquerenciam os hábitos semelhantes de alimentação e atividade física (TEIXEIRA *et al.*, 2016).

O diagnóstico da obesidade é feito com base em um parâmetro prescrito pela Organização Mundial da Saúde índice de massa corporal (IMC) obtido a partir da relação entre peso corporal (kg) e tamanho (m)<sup>2</sup> de pessoas físicas. Por meio desse parâmetro pessoas com IMC igual ou superior a 30 kgm<sup>2</sup> são consideradas obesas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1988).

Na literatura é consenso que a etiologia da obesidade é bastante complexa apresentando um caráter multifatorial (WORLD HEALTH ORGANIZATION., 1988). Dessa forma, engloba uma série de fatores do indivíduo incluindo históricos, políticos socioeconômicos, psicossociais ideológicos e culturais, bem como ambientais e genéticos.

Observamos, no entanto, que em geral, os fatores de obesidade mais estudados são os fatores ideológicos relacionados ao estilo de vida principalmente no que diz respeito às combinações de dietas e atividade física. Essas investigações se concentraram em questões associadas ao aumento da ingestão energética de dietas e redução da atividade física com uma combinação de estilos de vida sedentária perfis de estilo de vida ocidental moderno (MONTEIRO; MONDINI, 1998).

## 2.2 Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica (SM) é uma desordem complexa caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares comumente associados à deposição central de gordura e resistência à insulina. A síndrome metabólica (SM) é um grupo de anormalidades que inclui diabetes mellitus (DM), obesidade, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica (HAS), todos os fatores de risco para o desenvolvimento, doenças cardiovasculares (DCV) e insuficiência renal crônica (IRC) (TRAN *et al.*, 2020).

A síndrome metabólica (SM) é desenhada por obesidade abdominal, escoltada de níveis ilustres de glicose em jejum, resistência à insulina, hipertensão arterial e dislipidemia. Configurando importante coeficiente de risco para o desenvolvimento de outras comorbidades clínicas, especialmente diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e doenças cardiovasculares (LIMA *,et al.*, 2021).

A resistência à insulina em pacientes obesos também pode aumentar o risco do indivíduo adquirir diversas patologias crônicas. Nota-se também que em alguns estudos surgiu uma hipótese se a inflamação do tecido adiposo poderia contribuir diretamente para resistência á insulina em indivíduos obesos e conseqüentemente ocasionar um processo inflamatório. Uma vezque as anormalidades metabólicas ligadas à Resistência a insulina são geralmente encontradas em pacientes com obesidade abdominal (MARTINS *et al.*, 2015).

Uma situação frequentemente relacionada à SM é a anomalia endotelial, caracterizada por alterações da estruturação vascular arterial, precipuamente do endotélio e da membrana basal capilar, que despertam complicações microvasculares. Comumente, o remodelamento da membrana basal endotelial desencadeia processos de erosão e trombose vascular em indivíduos com distúrbios metabólicos (TRAN *et al.*, 2020)

O excesso de gordura depositado ao entorno dos vasos e órgãos viscerais colaboram para a instalação de quadro inflamatório crônico de baixo grau, resistência à insulina, desordens também comuns na obesidade (MARTINS *et al.*, 2015).

## 2.3 Esteatose hepática gordurosa não alcoólica

Entende-se que a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) consiste em um acúmulo excessivo de gordura em mais de 5% das células hepáticas de uma pessoa que não consome bebidas alcoólicas ou usa pequenas doses. Trauma e a resposta são disfuncionais, podendo evoluir para patologias mais graves como cirrose e carcinoma



hepatocelular (FANG *et al.*, 2018).

A Esteatose hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é considerada a desordem hepática mais comum nos países industrializados com prevalência progressivamente maior nas últimas décadas, possivelmente associado a mudanças nos hábitos alimentares e estilo de vida (CRUZ *et al.*, 2016)

No território brasileiro, verificou que a prevalência da doença variou entre 20 e 40%, (CRUZ *et al.* 2016), pacientes afetados pela DHGNA a maior parte são assintomática, mas alguns deles, em estágio da esteato-hepatite, apresentar mal-estar, incômodo na parte superior do abdome e fadiga, podendo encontrar hepatomegalia (BRUNT *et al.*, 2015). Entretanto, o curso da doença é enganoso, geralmente com diagnóstico acidental através de exames complementares de imagem (ALWIS NMW *et al.*, 2016).

A patogênese da DHGNA não está explícita de forma integral (KUPCOVA *et al.*, 2019). Entretanto os avanços dos estudos, a teoria dos “dois hits” foi substituída pelo modelo de “múltiplos hits”, que incorpora diversos processos, incluindo lipotoxicidade, ativação do sistema imune, fatores genéticos e ambientais. Ferro hepático, hormônios intestinais, deficiências de antioxidantes e bactérias intestinais estão implicados no desenvolvimento da DHGNA (MAURICE, MANOUSOU, 2018).

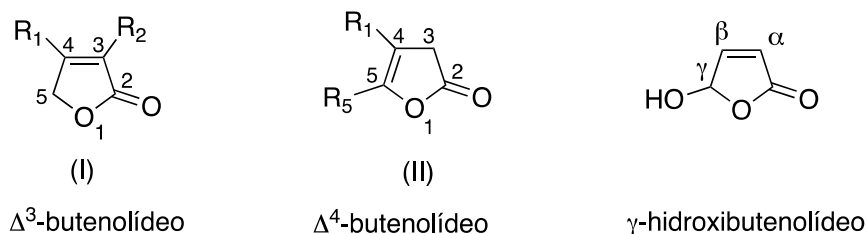
A biópsia hepática é um padrão para diagnóstico e estratificação histológica da DHGNA, além de executar papel no prognóstico da doença ao permitir avaliar a presença ou não de fibrose periportal, importante indicativo de complicações em longo prazo (DEBES, 2015).

As doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas (DHGNA) incluem basicamente duas categorias histologicamente definidas que são fígado gorduroso não alcoólico que caracteriza por uma esteatose hepática isolada com ou sem inflamação específica moderada e o esteato por hepatite não alcoólica (NASH), que apresenta como agravante a presença de lesão hepatocelular mesmo sem fibrose (VIDIGAL, *et al.*, 2013).

#### 2.4 Lactonas do tipo butenolídeo

Os butenolídeos são lactonas cíclicas de cinco membros. Suas estruturas podem ser representadas por anéis do tipo I e II (Figura 1) e estão presentes em uma diversidade de produtos naturais isolados de plantas, algas e esponjas (BARBOSA *et al.*, 2010). Quando se

tem uma hidroxila na posição 5 do butenolídeo, também chamada de posição  $\gamma$ , tem-se um  $\gamma$ -hidroxibutenolídeo ou 5-hidroxibutenolídeo (TILVI *et al.*, 2019).



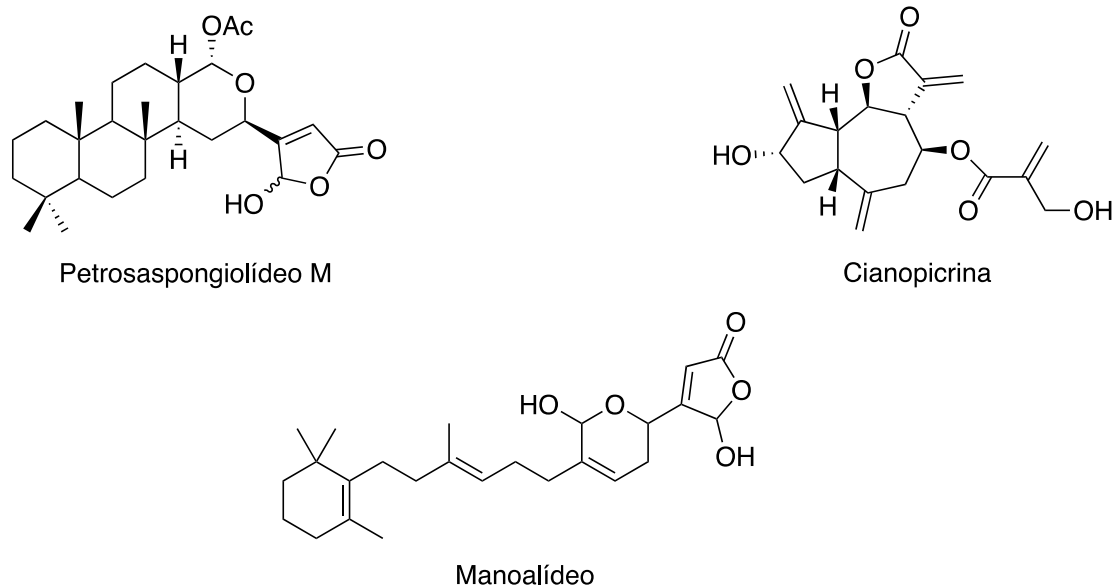
**Figura 1** - Estruturas gerais dos butenolídeos.

Como exemplos desses butenolídeos de origem natural, pode-se destacar o petrosaspongiolídeo M que é um metabólito que pertence à família dos sesquiterpenos marinhos e possui em sua estrutura a unidade  $\gamma$ -hidroxibutenolídeo, como se pode observar na Figura 2. Esse butenolídeo foi isolado da esponja marinha *Petrosaspongia nigra* e apresenta grande atividade anti-inflamatória (RANDAZZO *et al.*, 1998).

O manoalídeo é um composto isolado de uma esponja marinha e possui atividade anti-inflamatória (LEE, 1994; SILVA; SCHEUER, 1980). O manoalídeo, cuja estrutura é mostrada na Figura 2, possui uma unidade 5-hidroxibutenolídeo com um substituinte na posição 4 do anel da furanona.

Já a cianopicrina é uma  $\gamma$ -butirolactona tricíclica sesquiterpênica encontrada em folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.) e causa uma forte perda de peso com redução da gordura corporal (Figura 2) (GROTHER *et al.*, 2020; ELSEBAL *et al.*, 2016).

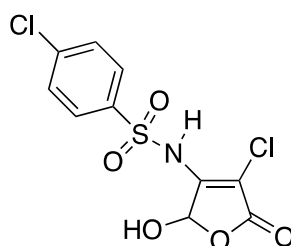
Produtos naturais bioativos são considerados fontes promissoras para o desenvolvimento de novas drogas, pois as estruturas das moléculas de origem natural servem como modelo para a síntese de diversos compostos com o objetivo de avaliação suas atividades biológicas (GUERRETO *et al.*, 2007).



**Figura 2** - Estruturas do petrosaspongiolídeo M, cianopicrina e manoalídeo.

Como se percebe, moléculas de origem natural contendo a unidade lactona do tipo butenolídeo apresentam significativa importância no contexto de moléculas biologicamente ativas. Em consonância com esse fato e reconhecendo-se a importância dos produtos naturais na descoberta de novas moléculas biologicamente ativas, sintetizou-se e avaliou-se no presente trabalho uma nova lactona do tipo  $\gamma$ -hidroxibutenolídeo, a 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona. A funcionalização dessa estrutura foi feita por meio da adição da sulfonamida na posição 4 do anel butenolídeo (Figura 3).

Para avaliação da sua atividade biológica o composto foi administrado em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica.



**Figura 3** - Lactona sintetizada e avaliada no presente trabalho.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral:**

- Avaliar o efeito da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona na esteatose hepática em camundongos obesos.

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- Avaliar os efeitos da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona no peso corporal e do fígado dos camundongos obesos tratado.
- Avaliar efeitos dos tratamentos na prevenção da esteatose hepática;

## 4 METODOLOGIA

O preparo da 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona foi realizado na Universidade Federal de Itajubá. Detalhes da síntese e dados de caracterização espectroscópica e espectrométrica da referida substância podem ser encontrados no anexo A.

Para a análises das atividades metabólicas foram selecionados 48 camundongos swiss machos com oito semanas de idade, obesos e divididos em seis grupos conforme o tratamento da dieta: ST (grupo padrão), ST+ATB (grupo padrão + antibiótico), ST+LC (grupo padrão + lactona) HFD (dieta hiperlipídica), HFD+ATB (dieta hiperlipídica + antibiótico), HFD+LC (dieta hiperlipídica + lactona).

A indução a obesidade teve duração de quatro meses e o tratamento com o antibiótico e lactona durante um mês. Os animais foram pesados a cada três dias durante todo o período de indução da SM e tratamento e a ingestão alimentar foram avaliados diariamente. Após o término do tratamento os animais foram eutanasiados por decaptação em guilhotina, foram coletadas amostras de sangue e o fígado.

A análise histológica desta pesquisa foi realizada no laboratório de Pesquisa do Hospital Universitário Clemente de Faria - PPGCS em Montes Claros, MG foi analisado com técnicas de histologias.

O peso corporal e do fígado, e a glicemia em jejum dos animais foram realizadas no laboratório biotério da Universidade Estadual de Montes Claros – UNIMONTES.

Os dados foram tabulados em uma planilha do Microsoft Excel, versão 2010, sistema operacional Windows. Aplicaram-se cálculos de estatística básica ao universo total de dados com a proposta de se conhecerem as médias (aritmética, geométrica e mediana), desvios padrões e respectivas dispersões visualizadas por meio de gráficos lineares, por meio de análise de variância ANOVA submetida em teste comparativo pelo Tukey ( $p > 0,05$ ) de probabilidade.

As delimitações qualitativas e quantitativas das informações foram interpretadas em gráficos e ilustrações, posteriormente analisados, discutidos e ponderados para elaboração do produto, artigo científico, que foi submetido no periódico *Gastroenterologia y Hepatolia*. conforme apresentado no Anexo B.

## 5. PRODUTO

### ORIGINAL ARTICLE

## Oral treatment with a hydroxybutenolide: 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one improves hepatic steatosis in obese mice

Suely Rodrigues Pereira<sup>b</sup>, Bruna Viana Caldas<sup>b</sup>, Daniel Silva Moraes<sup>a</sup>, Túlio Duque Esteves<sup>c</sup>, Ana Carolina Corrêa Americo<sup>c</sup>, Eder do Couto Tavares<sup>c</sup>, André Luiz Sena Guimarães<sup>a</sup>, Alfredo Batista de Paula<sup>a</sup>, Ulisses Alves Pereira<sup>b</sup>, Sérgio Henrique Sousa Santos<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup> Health Science Laboratory, Postgraduate Program in Health Science, Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, Brazil.

<sup>b</sup> Institute of Agricultural Sciences (ICA), Postgraduate Program in Food and Health, dual Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Montes Claros, Minas Gerais, Brazil

<sup>c</sup> Institute of physics and chemistry Universidade Federal de Itajubá, Minas Gerais, Brazil

Contributing authors: Suely Rodrigues Pereira: suelyengalimentos@gmail.com; Bruna Viana caldas: caldas.brun@gmail.com ; Daniel Silva Moraes: silvamoraes.daniel@gmail.com; Túlio Duque Esteves: tuliодук@gmail.com; Ana Carolina Corrêa Americo: accamerico@gmail.com; Eder do Couto Tavares: eder@unifei.edu.br; André Luiz Sena Guimarães: andreluizguimaraes@gmail.com; Alfredo Mauricio Batista de Paula: ambpatologi@gmail.com; Ulisses Alves Pereira: ulisses\_ap@yahoo.com.br

Corresponding author: Sérgio Henrique Sousa Santos: sergiosousas@hotmail.com

\*Institute of Agricultural Sciences. Food Engineering College, Federal University of Minas Gerais (UFMG). Avenida Universitária, 1.000 – Bairro Universitário, 39.404-547, Montes Claros, MG, Brazil. Phone: +55 (38) 3224-8327; E-mail: sergiosousas@hotmail.com

### ABSTRACT

Liver steatosis is becoming a common Metabolic Syndrome (MS) feature and is mainly characterized by lipid hepatic deposition commonly associated with obesity. There is a crescent need for new medicaments and treatments to improve liver steatosis and butenolides stands as a promising drug class. Thus, the aim of the present study was to evaluate the effect of a new lactone called 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one in the treatment of liver steatosis in obese mice. 48 Swiss male mice with 8 weeks of age were used and allocated in the bioterium of the State University of Montes Claros. Mice were randomly assigned for the six groups: ST (standard group), ST+ATB (standard group + antibiotic), ST+LC (standard group + lactone), HFD (fatty diet), HFD+ATB (fatty diet + antibiotic), HF+LC (fatty diet + lactone). The animals were weighed every three days throughout liver steatosis induction. Obesity induction for four months and antibiotic and lactone treatment for one month. Animals were added every three days throughout the period of MS induction and treatment and food intake was daily. After the end of the treatment, the animals were euthanized by guillotine decapitation, samples of blood and liver were collected. Histological analyze and fasting blood glucose measurement were performed. The main results demonstrate a decrease in liver steatosis after lactone treatment. In conclusion the present study showed that 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one molecule may be a promising treatment for liver metabolic disturbances.

**Keywords:** Obesity; non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome.

## 1. INTRODUCTION

Obesity is a chronic disease resulting from a positive energy balance associated with disproportional accumulation of adipose tissue which can compromise individual health and is related to behavioral and physiological mechanisms disruptions causing a series of changes in the endocrine system commonly associated with insulin resistance, cardiovascular diseases and liver steatosis [1, 2].

The Brazilian population has experienced changes in nutritional profile, emphasizing the increase in the supply of industrialized foods for children since their first years of life [3]. Foods consumed by the young population are recognized by the exorbitant index of sugar, salt, saturated fats, trans, low index of complex carbohydrates and fibers, in addition to processed or ultra-processed foods, such as biscuits, sausages, canned foods, soft drinks and ready meals [4].

Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) is a complex disease modulated by several metabolic, genetic, environmental and intestinal microbiota mechanisms, being characterized by fatty acids infiltration in hepatocytes, accompanied by inflammation, oxidative stress and cellular injury [5].

Non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD) basically include two histologically defined categories characterized by an isolated hepatic steatosis with or without moderate nonspecific inflammation and nonalcoholic steatohepatitis (NASH), which presents as aggravating the presence of hepatocellular injury [6].

Several strategies have been optimized to provide alternatives for the prevention and treatment of NAFLD in the context of obesity. The use of oral drugs and medicaments are crucial options. The butenolides represent a compound class that include the lactones of five members and that are present in a diversity of natural products isolated from plants, algae and sponges [7]. When there is a hydroxi group in position 5 of butanolide ring, also called position  $\gamma$ , it is called a  $\gamma$ -hydroxybutenolide or 5-hydroxybutenolide [8].

As examples of these butenolides of natural origin, it can be highlighted the petrosaspongiolide M which is a metabolite that belongs to the family of marine sesquiterpenes and has in its structure the unit  $\gamma$ -hydroxybutenolide. This butenolide was isolated from the marine sponge *Petrosaspongia nigra* and has great anti-inflammatory activity [9]. The manoalide is a compound isolated from a marine sponge and has anti-inflammatory activity [10]. The cyanopicrin is a tricyclic butyric sesquiterpene found in

artichoke leaves (*Cynara scolymus* L.) and causes strong weight loss with reduced body fat [11, 12, 13].

In line with these studies and recognizing the importance of natural products in the discovery of new biologically active molecules, a new lactone of the type  $\gamma$ -hydroxybutenolide, 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one was synthesized and fully characterized by IV, NMR and HR-ESI-MS and had its biological activity evaluated on treating liver steatosis in obese mice.

## 2. METHODS

### Development of the substance 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5*H*)-one

Route synthetic and characterization data of the title compound are described in the Figure 1 in the Supplementary Material.

#### Study design

For this study, 48 8-week-old Swiss male mice from and allocated in the bioterium of the State University of Montes Claros were used. The mice were randomly distributed into four groups, among which two were fed with standard diet (DP) ad libitum and the other two with a high-fat diet 60% (HD) ad libitum for 17 weeks to induce MS. After this period, treatment with the following groups was initiated, each with 8 animals: standard diet without Lactone (PD); standard diet plus Amoxiline (DP+ATB); standard diet plus Lactone (DP+LC); high-fat diet without Lactone (HD); more Amoxiline (DH+ATB) and a high-fat diet plus Lactone (DH+LC). They were kept in controlled conditions of light (12-hour cycle light and dark) and temperature (21°C).

#### Diet Preparation

The standard diet is (Purina – Labina®) is composed of 66% carbohydrates, 23% protein and 11% fat, with a total of 3.95 Kcal per 1g. The high-fat diet is produced with 40.57% cornstarch, 14% casein, 15.5% dextrinized starch, 10% sucrose, 10% soybean oil, 5% cellulose and fiber, 3.5% mineral mix AIN-93 M, 1% of vitamin mix AIN-93, 0.18%



of L-cysteine, 0.25% of choline bitartrate and 0.0008% of terc- butylquinone, having a composition of 24% of carbohydrates, 15% of proteins and 61% of fat, representing a total of 5.28 Kcal per 1g of diet. DH was prepared and packaged according to the determinations of the Official Association of Analytical Chemistry [14,15] and all components were acquired by Rhooster® LTDA (São Paulo, SP, and Brazil) diets prepared according to [16]. Both diets were available ad libitum throughout the period of MS induction and treatment.

### **Body weight measurement, food intake and tissue collection**

The animals were weighed every three days during the entire period of MS induction and treatment and food intake was evaluated daily. After the end of treatment, the animals were euthanized by guillotine decapitation, blood, white adipose tissue (epididymis, subcutaneous, mesenteric and retroperitoneal), brown adipose tissue and liver were collected. The tissues were weighed and immediately frozen in liquid nitrogen and then stored in a freezer at -80°C, a fragment of the liver was fixer in 10% formaldehyde solution.

### **Drugs and administration**

Lactone 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(*5H*)-one and an antibiotic Amoxiline were diluted in filtered water and administered orally through the use of the gavage technique, at a dose of 70 mg/kg/day, every day for 30 days. Both substances were previously diluted in filtered water before administration. Being given four months of diet without medication and then four weeks of medication. All animals in the inclusive groups of the control groups without receiving water by gavage in the groups every day.

### **Glucose tolerance test (GTT)**

GTT the animals were fasted overnight and given intraperitoneally D-glucose at the rate of 2 mg/g animal weight and glucose levels were evaluated at 0, 15, 30, 60 and 120 min after the administration. For the measurement of glycemia, a standard glycosimeter was used.

### **Histological staining by hematoxylin and eosin**

The hepatic tissue fixed in 10% formaldehyde was dehydrated through a series of graded alcohol and xylene, and then incorporated into paraffin. Sections of 5 $\mu$ m were cut and prepared for hematoxylin and eosin staining. Images were obtained from optical microscopy, Microscope FSX100 Olympus® (Life Science, USA), with an increase of 200X. From each blushed blade, five photos taken from random fields were obtained. The images were analyzed with the help of the Java image processing program Image-J (Wayne Rasband, Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). The fat area of the hepatocytes (stabatasis) was determined by the area of the fat droplets divided by the total area of the photo in  $\mu$ m<sup>2</sup>.

### **Statistical analysis**

Data were tabulated in a Microsoft Excel spreadsheet, version 2010, spreadsheets (Microsoft®, Redmond, Washington, USA).

For qualitative delimitation, the histological analysis was performed. And for quantitative analysis, the ANOVA analyzed with 95% of data confidence ( $p < 0.05$ ) was adopted, to evaluate new hydroxybutenolide with sulfonamide compound effect on treating liver steatosis in obese mice and the treatments were compared by the Tukey test ( $p < 0.05$ ).

Basic statistical calculations were applied to the total universe of data with the proposal of knowing the means (arithmetic, geometric and median), standard deviations and respective dispersions visualized through linear graphs of time series.

Laboratory analyzes at the Research Laboratory of the University Hospital were carried out in 30 days in the period from 2021 to 2022.

### **Ethical aspects of research**

This study was carried out within the research line of the Project entitled: “Food and health” and approved by the Research Ethics Committee of the State University of Montes Claros (UNIMONTES) under registration Certificate of Presentation for Ethical Appreciation (CAAE) n° 126/2021. Furthermore, was authorized by the Human Resources Department of the University Hospital. And the study animals were obtained from the Unimontes vivarium, granted and authorized for research use under the Free and Informed Consent Term (ICF),

voluntarily, after clarifying the study proposal at all stages. Absolute confidentiality of the information was guaranteed, as well as the privacy and anonymity of those involved.

### 3. RESULTS

Lactone treatment resulted in metabolic improvements in relation to animal weight. After treatment, body weight showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) from standard diet (ST) with ST+LC, as well as highly significant ( $p < 0.01$ ) between ST+ATB with ST+LC (Fig. 1A).

However, the HFD compared with HFD+LC showed in figure 1A, a significant difference ( $p < 0.05$ ), with lactone being a substance that potentiated this effect..

Regarding liver weight, there was no significant difference between the diets (ST, ST+ATB, ST+LC), and the hyperlipidic diet (HFD) compared with the diet with the HFD+ATB and HFD+LC diets showed high significance. of ( $p < 0.05$ ) (Fig. 1B).

In figure 1C, the analysis of the fasting glycemic index for the standard group (ST) compared to (ST + ATB) shows that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ), as well as the ST diet with the ST +LC ( $p < 0.05$ ). In (HFD) compared to (HFD+ LC) there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) showing a reduction in the glycemia of the treated animals.

The liver histological data showed no difference between the eutrophic control (ST) and their respective treatments, for the diameter of the hepatocytes. However, the HFD group differed from the other groups HFD+LC, ( $p < 0.01$ ) and HFD+ATB, ( $p < 0.01$ ), as shown in (Fig. 2A). Thus, it can be observed that the diet with the use of lactone reduced the diameter of the adipocytes. the HFD group showed an increase in hepatic steatosis while antibiotic treatment promoted a reduction in steatosis. The group that received lactone promoted more significant improvements with a decrease in the size of adipocytes. in (Fig. 2B).

### 4. DISCUSSION

In the present study, the effects of lactone on hepatic steatosis in male mice were evaluated for the first time using a model of obesity, induced by a high-fat diet. The main results showed a greater deposition of hepatic fat in the liver of mice that received a high-fat diet compared to other diets, corroborating other findings [17, 18, 19].

The development of hepatic steatosis in high-fat fed mice. In contrast, animals fed a standard diet did not show steatosis.

On the other hand, [17] showed that gallic acid was able to induce liver changes even in animals fed a high-fat diet, results also found in [18] who found a significant reduction of lipids in the liver with the use of diet with gallic acid. Results of lactone in the diet in the mice of the present work showed similar results to these other products on the market.

On the other hand, [19] verified in studies of the glycemic profile, inflammatory markers and biochemical parameters of mice fed with fermented milk drink with the addition of clove essential oil that the dosage of 2 ml of this treatment showed no evidence of change in terms of inflammation, steatosis and fibrosis.

Obesity induces a series of changes, and the liver is the most affected central organ of metabolism, demonstrating the contribution of hepatic steatosis in cardiovascular and renal changes associated with obesity and type II diabetes mellitus. In their results they found a decrease in body weight after treatment with Enalapril, as well as reduced size of epididymal fat pad (EFP), reducing hepatic steatosis, decreasing angiotensin converting enzyme expression and increasing angiotensin converting enzyme 2 expression, as well as in the present study, the lactone substance obtained the same effect of reducing hepatic steatosis [20].

The ecogenicidade hepatic function and the measurement of steatosis were lower in the obese groups treated with Enalapril, also modulating the expressions of the angiotensin-converting enzymes ACE2/ACE [20].

The measurement of the animal's liver weight and histological analysis showed changes in the animal model used. Thus, animals treated with diet with lactone nutrition associated with a standard or high-fat diet in this study showed metabolic improvements. The liver condition that is associated with the overweight and hyperglycaemia changes presented by the HD group occurs because obesity and insulin resistance increase the rate of lipolysis in adipose tissue and transport of free fatty acids to the liver [21].

In the present study, it is it was noted that lactone promoted weight reduction. In swiss male mice obesity may be the origin of the formation of danger signals, such as the increase of free fatty acids, and consequently activate the NLRP3 inflammasome leading to the release of inflammatory signals [22, 23].

The main problem involved in the origin of hepatic steatosis is related to IR, which causes an imbalance between the import and export of fat to the liver [19-20]. Histological analysis of the liver showed that animals treated with the new substance reduced the accumulation. of fat inside the hepatocytes.

Liver disease is the leading cause in the world with an estimated prevalence of 25% to 45% in most studies, increasing with obesity and diabetes, which, in turn, have a prevalence of 70% to 80% within these groups. [24]

One of the classic solutions for the treatment of diseases, including metabolic syndrome, is the use of drugs, but they have side effects and affect organs responsible for metabolizing them, mainly due to incorrect or irrational use. The ingestion of natural compounds is an affordable option to reduce the risk of developing several diseases, especially those resulting from deregulation of metabolism. In the present study, it was observed that the synthetic lactone reduced the weight of obese mice. [22]

Regardless of the way to be conducted (dietary, drug or surgical), the treatment of obesity requires identification and change of inadequate lifestyle components of the individual, including changes in diet and physical activity [24] Analyzes carried out in the present study estimate that lactone showed weight reduction in treated animals. Although, it suggests changes in the diet and physical activity of animals.

## **5. CONCLUSIONS**

The new substance, lactone, promoted a multifunctional effect in animals, with reduction of glycemia and obesity, also affecting benefits to minimize the progression of non-alcoholic hepatic steatosis in mice. Lactone shows a potential therapeutic alternative.

After treatment, body weight showed a substantial difference in the lactone + standard diet groups, as well as weight reduction and greater effort with a high-fat diet + lactone. The lactone consumption was associated with no weight to the animals, through the promotion of diet consumption and the glycemetic index. It showed a significant histological improvement with hepatocytes accessories.

In conclusion, note in the present study that the animal model reduced to obesity had weight reduction when consuming a lactone did present a reduction in the hepatocytes observed in the histological analysis.

## REFERENCES

1. Izquierdo.A.G; Crujeiras A, B; Casanueva F, F; Carreira M.C. leptin, obesity, and leptin resistance: where are we 25 years later *nutr.v.11, n.11, p.270-271 nov. 2019*
2. Brazil. Ministry of health.Health care department. Primarycare department.Obesity. Brasilia: health ministry; 2016
3. Fonseca, J.G.; Drummond, M.G. Consumption of processed foods in childhood. *Brazilian Journal of Life Sciences, v. 6, 2018*
4. Motter, A.F.; Vasconcelos, F.A.G.; Correa, E.N.; Andrade, D.F. Food outlets and association with overweight/obesity in schoolchildren in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. *Public health notebooks, v.31, n.3, p.620-632.2015.*
- 5.OliveiraI.V.A;Santos.B.N.S;Machado.I.E;Malta.D.C;Melendez.G.V;Mendes.M.F., prevalence of metabolic syndrome and its components in the Brazilian adult population *science & public health, 25:4280. 2020;*
6. Vidigal F.C; Bressan.J; Babio.N; Salvadó .J.S ;prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. *bmc public health. 2013.,*
7. Barbosa, L. C. A.; Teixeira, R. R.; Pinheiro, P. F.; Maltha, C. R. A.; Demuner, A. J. Estratégias para a síntese de  $\gamma$ -alquilidenobutenolídeos. *Quim.Nova,v. 33, n. 5, p. 1163-1174, 2010.*
8. Tilvi, S.; khan, N.; majik, M. S.  $\gamma$ -hydroxybutenolide containing marine natural products and their synthesis: a review. *curr. org. chem, v.23, p. 2436–2468, 2019.*
9. Randazzo, A.; debitus, C.; minale, L.; pastor, P.G.; alcaraz, M.J.; payá,M.; gomez-paloma, L. petrosaspongiolides M-R: new potent and selective phospholipase a2 inhibitors from new caledonian marine sponge petrosaspongia nigra. *j. nat. prod., 61, 571-575, 1998.*
10. Lee, G. Ç. M. process of using anti-inflammatory furanones as selective calcium channel inhibitors. Patent number, V.5, n 376, p.676-678, 1994.
11. Grothe, T.; roemer, E.; wabnitz, P. use of tricyclic sesquiterpene lactones in the treatment of obesity and related diseases and non- therapeutic treatable conditions. United States patent application publication. 2020.
12. Elsebal, M. F.; mocan, A.; atanasov, A. G. cynaropicrin: a comprehensive research review and therapeutic potential as an anti-hepatitis c virus agent. *Front. pharmacology. 7, artigo 472, 2016.*
13. Guerreto, M. D.; Aquino, M.; Bruno, I; Terencio, M.C.; Paya, M.; Riccio, R. Gomez-

Paloma, synthesis and pharmacological evaluation of a selected library of new potential antiinflammatory agents bearing the -hydroxybutenolide scaffold: a new class of inhibitors of prostanoïd production through the selective modulation of microsomal prostaglandin e synthase-1 expression. *J. med. chem.* 50, 2176-2184, 2007.

14. Speakman, J. R.; MITCHELL, S. E. Caloric restriction. *Molecular aspects of medicine.* 2011 Jun; 32 (3); 159- 221. PubMed PMID:21840335.

15. White, J. V. et al. Academy Malnutrition Work G, et al. Consensus statement: Academy of nutrition and dietetics and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition: characteristics recommended for the identification and documentation of adult malnutrition (undernutrition). *Open Journal of parenteral and enteral nutrition.* 2012 May; 36 (3): 275 – 3. PubMed PMID: 22535923.

16. Guimarães, V. H. D.; Lelis, D. De F.; Oliveira, L. P.; Borém, L. M. A.; Guimarães, F. A. D.; Farias, L.C.; Paula, A. M. B. De; Guimarães, A. L. S.; Santos, S. H. S. Comparative study of dietary fat: lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model, 2020. *Archives of Physiology and Biochemistry*, DOI: 10.1080/13813455.2020.1835986

17. Chao, J., Huo, T.I., Cheng, H.Y., Tsai, J.C., Liao, J.W., Lee, M.S., Qin, X.M., Hsieh, M.T., Pao, L.H., Peng, W.H., 2014. Gallic acid ameliorated impaired glucose and lipid homeostasis in high fat diet-induced NAFLD mice. *PLoS One* 9, e96969.

18. Jang, A., Srinivasan, P., Lee, N.Y., Song, H.P., Lee, J.W., Lee, M., Jo, C., 2008. Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acid-linoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid, gallic acid, and linoleic acid on high-fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice. *Chem. Biol. Interact.* 174, 109–117.

19. Sousa, J. N. Paraíso A F, Oliveira J M, Lelis D, F Santos E M, Lima J, Pet al. Oral gallic acid improve liver steatosis and metabolism modulating hepatic lipogenic markers in obese mice. *Experimental Gerontology* 134. 110881, 2020.

20. Moraes, D. S. Enalapril improves obesity associated liver injury ameliorating systemic metabolic markers by modulating Angiotensin Converting Enzymes ACE/ ACE2 expression in high-fat feed mice. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* Volume 152, February 2021, 106501. <https://doi.org/10.1016/j.prostaglandins.2020.106501>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1098882320300940?via%3Dihub>. Acesso: 15 de fevereiro de 2022.

21. Singal, A.G. Manjunath H, Yopp A C, Beg S M, Marrero A J, Gopal P, Waljee A K. the effect of pnp1a3 on fibrosis progression and development of Hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *The American journal of gastroenterology*, v.109, n.3, p.325-34. 2014.

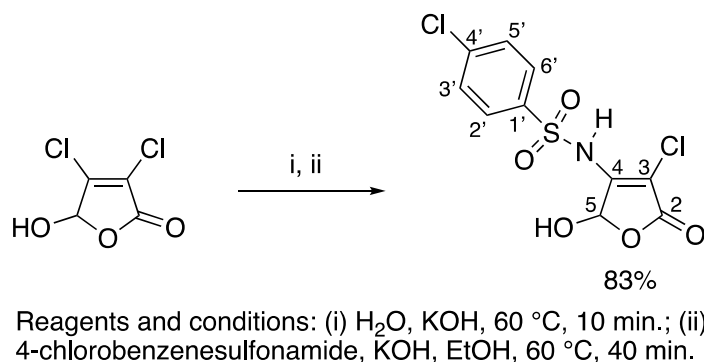
22. Vandanmagsar, B The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nature medicine*, v.17, n.2, p.179-88. 2011.

23. Wen, H. . Gris D, Lei Y, Jha S, Zhang .L, Huang M. T.H, *et al.* 1. fatty acid-induced nlrp3-asc inflammasome activation interferes with insulin signaling. *Nature immunology*, v.12, n.5, p.400-408, 2011.

24. Duseja A, Singhy S P. Singhy ,Saraswatz V.A, Subrat K. A ,Chawla Y K., Chowdhuryk S , Dhiman R K. et al. non-alcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome-position paper of the Indian national association for the study of the liver, endocrine society of india, indian college of cardiology and indian society of gastroenterology. Journal Of clinical and experimental pathology, v.5, n.1, p.51-68. 2015.



## SUPPLEMENTARY MATERIAL



**Figure 1.** Preparation of 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(*5H*)-one.

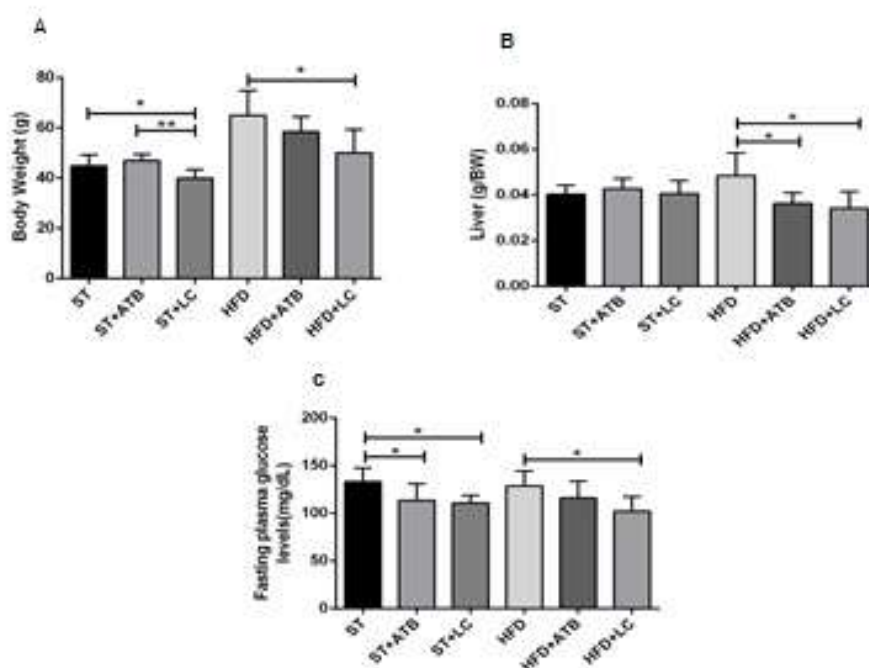
### 1. Synthesis

Infrared spectra were recorded on a PerkinElmer SPECTRUM 100, equipped with scanning from 4000 to 500 cm<sup>-1</sup>. The <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded on a Bruker DRX-400 Avance (400 MHz), using deuterated chloroform as a solvent and tetramethylsilane (TMS) as internal standard ( $\delta = 0$ ). High resolution mass spectra were recorded on a Shimadzu LCMS-IT-TOF. Analytical thin layer chromatography analysis was conducted on aluminum packed precoated silica gel plates.

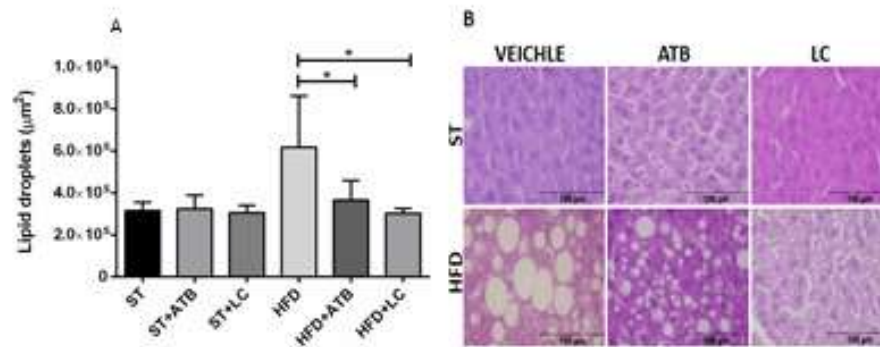
Synthesis and characterization of 3-chloro-4-(*p*-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(*5H*)-one.

In a round-bottomed flask (100 mL), were added mucochloric acid (0.169 g, 1.0 mmol), distilled water (10.0 mL) and potassium hydroxide (2.8 mg, 0.05 mmol). The system was kept under magnetic stirring at 60°C for 10 minutes. Then, 4-chlorobenzenesulfonamide (1.0 mmol, 0.191 g) and KOH (0.05 mmol, 2.8 mg) were previously solubilized in ethanol, (10 mL) and dropped into this flask resulting yellowish solution that was kept under stirring and heating for 40 minutes. Concentrated HCl was then added and the pH was reduced to approximately 1.0. The resulting solution was extracted with chloroform (3 x 20 mL). The organic phases were combined, dried over anhydrous sodium sulfate and concentrated under reduced pressure, yielding a pale yellow solid that was recrystallized from a mixture of acetone:water (1:1). The product was obtained as yellow crystals in 83% yield (0.269 g). IR

(ATR)  $\nu$  (max/cm<sup>-1</sup>) 3400-2200; 3329; 1726; 1325; 1148. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  5,09 (bs, 2H, -NH, OH), 6,07 (s, 1H, H-5), 7,50 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8 Hz, H-3', H-5'), 7,85 (d, 2H, <sup>3</sup>J = 8 Hz, H-3', H-5'). <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  96,6 (C-5), 127,9 (C-2', C-6', C-3), 129,5 (C-3', C-5'), 139,4 (C-4'), 140,1 (C-1'), 149,1 (C-4), 164,8 (C=O). HRMS calcd. for C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S<sup>-1</sup>: 321,9349, found 321,9289.



**Figure 1.** Final body weight, liver and glucose of mice fed standard and experimental diets. A) Body weight (g); B) Liver weight (g/BW); C) Fasting plasma glucose levels (mg/dL). \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; ANOVA. ST: standard diet; ST+ATB: standard diet with antibiotic; ST+LC: standard diet with lactone; HFD: High-fat diet; HFD+ATB: High-fat diet with antibiotic; HFD+LC: High-fat diet with lactone



**Figure 2.** H&E staining of mice fed standard and experimental diets. A) Epididymal adipose tissue adipocyte area ( $\mu\text{m}^2$ ); B) Macroscopic and histological images. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; ANOVA. ST: standard diet; ST+ATB: standard diet with antibiotic; ST+LC: standard diet with lactone; HFD: High-fat diet; HFD+ATB: High-fat diet with antibiotic; HFD+LC: High-fat diet with lactone

## 6. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que o tratamento com a lactona sintética do tipo  $\gamma$ -hidroxibutenolídeo tem potencialidades para reduzir obesidade e índice glicêmico, sendo bem sucedida no tratamento dos animais.

A princípio, o uso da lactona permitiu controlar a esteatose hepática e glicemia, provavelmente prevenindo a progressão, como alternativa terapêutica relevante no tratamento das doenças e obesidade nos camundongos.

Ressalta a importância da redução nos adipócitos e índice glicêmico com lactona associado às dietas, com melhora histológica significativa e com reduções da área de adipócitos, do peso corporal, propiciando fatores benéficos para qualidade de vida.

Recomenda-se prosseguir com novos estudos utilizando a lactona na dieta de animais e futuramente humana, fomentando a prevenção da obesidade e esteatose hepática não alcoólica.

## REFERÊNCIAS

Abarca-Gómez L, Abdeen ZA, Hamid ZA, Abu-Rmeileh NM, Acosta-Cazares B, Acuin C, et al. Tendências mundiais no índice de massa corporal, baixo peso, sobrepeso e obesidade de 1975 a 2016: uma análise conjunta de 2.416 estudos de medição de base populacional em 128,9 milhões de crianças, adolescentes e adultos. *A Lanceta*.2017;390 (10113):2627–2642.

Almeida M de L, Campos, KFC, Randow, R., Guerra Vde A. *Revista Eletrônica Gestão e Saúde*, 2017; 8(1):114-139.

Alwis NMW de, Anstee QM, Day CP. How to diagnose nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases*. 2016;34(1):19-26.

Borba C de S, Lemos IGS, Hayasida NM de Epidemiologia e fatores de risco cardiovasculares em jovens adultos: revisão da literatura. *Revista Saúde e Desenvolvimento Humano*, maio 2015;31;3(1):51-60.

Barbosa LCA, Teixeira R R, Pinheiro P F, Maltha CRA, Demuner AJ. Estratégias para a síntese de  $\gamma$ -alquilidenobutenolídeos. *Quim. Nova*, 2010; 33(5):1163-1174.

Brunt EM, Wong V W-S, Nobili V, Christopher PD, Sookoian S, Maher JJ, et al. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 2015;1(17).

Cruz JF, Cruz MAF, Machado Neto J, Santana DS de, Oliveira CC da C, Lima S O. Prevalence and sonographic changes compatible with fatty liver disease in patients referred for abdominal ultrasound examination in Aracaju, SE. *Radiologia Brasileira*. 2016; 49(1).

Elsebel MF, Mocan A, Atanasov AG. Cynaropicrin: A comprehensive research review and therapeutic potential as an anti-hepatitis C virus Agent. *Front. Pharmacol.*, 2016; 7, art 472.

Debes MS. Non-alcoholic fatty liver disease overview. *Journal of Liver*. 2015;4(2).

Dias, J. L.; Voorpostel, C.; Ananias, F. Efeito do resveratrol na Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica (DHGNA): uma revisão sistemática da literatura. *J Health Sci Inst*. 2021;39(2):143-7.

Fang, YI; Chen H.; Wang Cl.; Liang, L. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From & quot;two hit theory & quot; to & quot; multiple hit model & quot;; *World J Gastroenterology*, 2018; 24(27):2974-83.

Ferreira APS, Szwarcwald CL, Damacena GN. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013.

Revista Brasileira de Epidemiologia, 2019; 22.

Guerreto MD, Aquino M, Bruno I, Terencio MC, Paya M, Riccio R, Gomez- Paloma L. Synthesis and pharmacological evaluation of a selected library of new potential anti-inflammatory agents bearing the hydroxybutenolide scaffold: a new class of inhibitors of prostanoïd production through the selective modulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 expression. *J. Med. Chem.*, 2007;50: 2176-2184.

Guimarães VHD, Lelis D de F, Oliveira LP, Borém LMA, Guimarães FAD, Farias LC de, Paula AMB, Guimarães ALS, Santos SHS. Comparative study of dietary fat: lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model. *Archives of Physiology and Biochemistry.* 1-11, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/loi/iarp20>. Acesso em 25 de fevereiro 2022.

Grothe T, Roemer E, Wabnitz P. Use of tricyclic sesquiterpene lactones in the treatment of obesity and related diseases and non-therapeutic treatable conditions. United States Patent Application Publication. Pub. Feb. 2020.

IBGE, Ultraprocessados ganham espaço e somam 18,4% das calorias adquiridas em casa. Abril de 2020. Disponível em: [https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia - noticias/2012](https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia%20-%20noticias/2012). Acesso em 12 de fevereiro de 2022.

Kupcova V, Fedelešová M, Bulas J, Kozmonová P, Turecký L. Overview of the pathogenesis, genetic, and non-invasive clinical, biochemical and scoring methods in the assessment of NAFLD. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019 Sep 24;16(19):3570.

Lee, G. C. M. Process of using anti-inflammatory furanones as selective calcium channel inhibitors. Patent number 1994;5:376-676.

Lima Tr, Silva Das, Giehl Mwc, D'orsi E, González-Chica da. Clusters of Cardiometabolic Risk Factors and Their Association with Atherosclerosis and Chronic Inflammation among Adults and Elderly in Florianópolis, Southern Brazil. *Arq Bras Cardiol.* 2021;117(1),39-48.

Martins F, Campos DH, Pagan LU, Martinez PF, Okoshi K, Okoshi MP, et al.. High-fat Diet Promotes Cardiac Remodeling in an Experimental Model of Obesity. *Arq Bras Cardiol.* 2015; 105(5):479-86.

Maurice J, Manousou P. Non-alcoholic fatty liver disease. *Clinical medicine*, 2018;18(3): 245-250.

Monteiro, C.A.; Mondini, L. Relevância epidemiológica da desnutrição e da obesidade em distintas classes sociais: métodos de estudo e aplicação à população brasileira. *Revista*

Brasileira de Epidemiologia. 1998;1(1):28- 39.

Mussi, R. F. F.; Petróski, E. L. Síndrome metabólica e fatores associados em quilombolas baianos, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2019; 24:2481-2490.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Relatório Mundial de Envelhecimento e Saúde–Resumo. 2015. 28 p.

Silva E D de, Scheuer P J. Manoalide, an antibiotic sesterterpenoid from the marine sponge *Luffariella variabilis* (polejaeff). *Tetrahedron Lett*. 1980; 21:1611-1614.

Souza AV de, Guedes JC, Mazini Filho ML, Condessa VA, Condessa LA, de Jesus RP. Doença hepática gordurosa não alcoólica: Revisão de literatura. *Rev Cienc Saude*. 2015; 4(1):47-6. Disponível em: [http://186.225.220.186:7474/ojs/index.php/rcsfmit\\_zero/article/view/167](http://186.225.220.186:7474/ojs/index.php/rcsfmit_zero/article/view/167). Acesso em 15 de fevereiro de 2022.

Schöler M, Zavarize L D, Bock PM. Exercícios físicos no combate ao sobrepeso e obesidade: Intensidade Versus Estresse Oxidativo, *Rev. Ciência em Movimento*, Rio Grande do Sul. 2016;1(36):71-85.

Randazzo A., Debitus C, Minale L, Pastor P G, Alcaraz MJ, Payá M, Gomez-Paloma L. Petrosaspongiolides M-R petrosaspongiolides m-r: new potent and selective phospholipase a2 inhibitors from new caledonian marine sponge *petrosaspongia nigra*. *J Nat Prod*. 1998; 61:571-575.

Teixeira RC, Costa S de P, Oliveira G. V., Candido F N, Rafael L M, Mazini Filho M L. Influências da mídia e das relações sociais na obesidade de escolares e a Educação Física como ferramenta de prevenção. *Cinergis*, Santa Cruz do Sul, abr./jun. 2016; 17(2):162-167.

Tilvi, S.; Khan, S.; Majik, M. S.  $\gamma$ -Hydroxybutenolide containing marine natural products and their synthesis: a review. *Curr Org Chem* 2019; 23:2436–2468.

Tran V, de Silva TM, Sobey CG, Lim K, Drummond GR, Vinh A, Jelinic M. The Vascular Consequences of Metabolic Syndrome: Rodent Models, Endothelial Dysfunction, and Current Therapies. *Front Pharmacol*. 2020, 11:148.

Vidigal F de C, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. *BMC Public Health* 2013, 13:1198 Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/13/1198>. Acesso em 15 de fevereiro de 2022.

World Health Organization. Obesity: presenting and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on obesity. Geneva: WHO. 1998.

World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva: WorldHealth Organization. 2015.

## ANEXO A

### Técnicas espectroscópicas e espectrométricas

#### Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para a CCD foram utilizadas placas ALDRICH de sílica gel 60 (espessura de 0,25 mm) sobre suporte em alumínio. Após a eluição, as placas foram observadas em câmara de luz ultravioleta de  $\lambda = 254$  nm (ESPECTRLINE modelo CM10) e reveladas com solução de permanganato de potássio (3 g de  $\text{KMnO}_4$ , 20 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e 5 mL de KOH 5% em 300 mL de água).

#### Espectroscopia no infravermelho

Os espectros no infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro PerkinElmer SPECTRUM 100, disponível no Centro Analítico do Instituto de Física e Química da UNIFEI. As amostras foram analisadas pelo método de reflectância.

#### Ressonância magnética nuclear

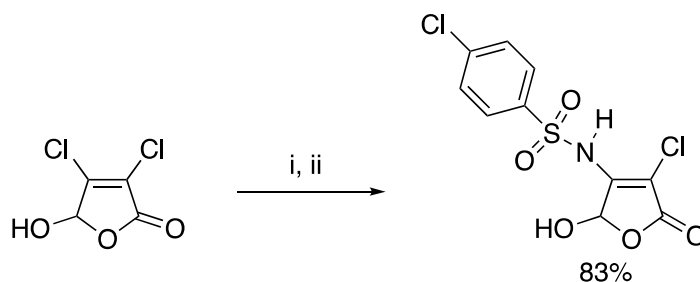
Os espectros de RMN foram registrados nos espectrômetros Bruker DRX-400 Avance (400 MHz) localizados no Laboratório de Ressonância Magnética de Alta Resolução (Laremar) do Departamento de Química da UFMG. As soluções foram preparadas utilizando-se clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Os experimentos RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram obtidos a 25 °C.

#### Espectrometria de massas de alta resolução

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos utilizando equipamento de Espectrometria de Massa de Cromatografia Líquida Shimadzu LCMS-IT-TOF do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

#### Síntese de 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona



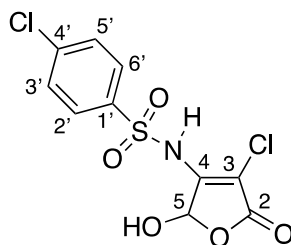


Reagentes e condições: (i) H<sub>2</sub>O, KOH, 60 °C, 10 min.; (ii) 4-clorobenzenosulfonamida, KOH, EtOH, 60 °C, 40 min.

Em um balão de 100 mL, adicionaram-se 1,0 mmol (0,169 g) de ácido mucoclórico, 10,0 mL de água destilada e 0,05 mmol (2,8 mg) de hidróxido de potássio. Manteve-se o sistema sob agitação à 60°C durante 10 minutos. Em seguida, gotejou-se nesse balão 1,0 mmol (0,191 g) de 4- clorobenzenosulfonamida e 0,05 mmol (2,8 mg) de KOH previamente solubilizados em 10 mL de etanol. Após o gotejamento a solução amarelada resultante foi mantida sob agitação e aquecimento por 40 minutos.

Após esse período, adicionou-se HCl concentrado e o pH foi reduzido para aproximadamente 1,0. Extraiu-se com clorofórmio (3 x 20 mL). As fases orgânicas foram reunidas, secadas com sulfato de sódio anidro e, após filtração, o filtrado foi concentrado em evaporador rotatório sob vácuo e aquecimento, obtendo-se um sólido amarelo-pálido. Os produtos, quando possível, foram recristalizados numa mistura de acetona:água 1:1. O produto foi obtido na forma de cristais amarelos em 83% de rendimento (0,269 g).

### Dados referentes ao composto 3-cloro-4-(*p*-clorofenilsulfonilamino)-5-hidroxifuran-2(5*H*)-ona



**FM:** C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>5</sub>S

**M:** 324,13 g.mol<sup>-1</sup>

**Aspecto:** Sólido amarelo-pálido

**Infravermelho** (ν<sub>máx</sub>/cm<sup>-1</sup>): 3400-2200; 3329; 1726; 1325; 1148.

**EM (modo aniônico),  $m/z$ :** Calculado para  $C_{10}H_6Cl_2NO_5S^{-1}$ : 321,9349. Experimental para  $C_{10}H_6Cl_2NO_5S^{-1}$ : 321,9289

**RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  5,09 (sl, 2H, -NH, OH), 6,07 (s, 1H, H-5), 7,50 (d, 2H,  $^3J = 8$  Hz, H-3', H-5'), 7,85 (d, 2H,  $^3J = 8$  Hz, H-3', H-5').

**RMN  $^{13}C$  (100 MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  96,6 (C-5), 127,9 (C-2', C-6', C-3), 129,5 (C-3', C-5'), 139,4 (C-4'), 140,1 (C-1'), 149,1 (C-4), 164,8 (C=O).

## ANEXO B

## Gastroenterología y Hepatología

## Oral treatment with a hydroxybutenolide: 3-chloro-4-(p-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5H)-one improves hepatic steatosis in obese mice

--Borrador del manuscrito--

<b>Número del manuscrito:</b>	
<b>Tipo de artículo:</b>	Original
<b>Palabras clave:</b>	Obesity; non-alcoholic fatty liver disease, metabolic syndrome
<b>Autor correspondiente:</b>	Sérgio Henrique Sousa Santos, PhD UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais Montes Claros, MG BRAZIL
<b>Primer autor:</b>	Suely Rodrigues Pereira
<b>Orden de autores:</b>	Suely Rodrigues Pereira Bruna Viana Caldas Daniel Silva Moraes Túlio Duque Esteves Ana Carolina Corrêa Americo Eder Couto Tavares André Luiz Sena Guimarães Alfredo Batista de Paula Ulisses Alves Pereira Sérgio Henrique Sousa Santos, PhD
<b>Resumen:</b>	Liver steatosis is becoming a common Metabolic Syndrome (MS) feature and is mainly characterized by lipid hepatic deposition commonly associated with obesity. There is a crescent need for new medicaments and treatments to improve liver steatosis and butenolides stands as a promising drug class. Thus, the aim of the present study was to evaluate the effect of lactone (hydroxybutenolide with sulfonamide) in the treatment of liver steatosis in obese. 48 Swiss male + with 8 weeks of age were used and allocated in the bioterium of the State University of Montes Claros. Mice were randomly assigned for the six groups: ST (standard group), ST + ATB (standard group + antibiotic), ST+LC (standard group + substance), HF (fatty diet), HF+ATB, HF+LC. The animals were weighed every three days throughout liver steatosis induction and treatment. After the end of the treatment, the animals were euthanized by guillotine decapitation, samples of blood and liver were collected. Histological analyze and fasting blood glucose measurement were performed. The main results demonstrate a decrease in liver steatosis after lactone treatment. In conclusion the present study showed that (3-chloro (p-chlorophenylsulfonylamino)-5-hydroxyfuran-2(5H)-ona) molecule may be a promising treatment for liver metabolic disturbances.
<b>Revisores sugeridos:</b>	Ana Cristina Simões e Silva acssilva@hotmail.com Gabriela Mendes gabrielalemosmendes@gmail.com Lucineia de Pinho lucineiapinho@hotmail.com
<b>Revisores a los que se opone:</b>	