

4-МЕТИЛУМБЕЛЛИФЕРОН, ИНГИБИТОР ГИАЛУРОНАН-СИНТАЗЫ, ПРЕПЯТСТВУЕТ РАЗВИТИЮ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ, ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ, ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ И АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Обзор

© 2025 В.В. Федорова¹, А. Цитрина², Н. Халимани¹, Ю. В. Котелевцев^{1*}

¹ Сколковский институт науки и технологий,
121205 Москва, Россия; электронная почта: y.kotelevtsev@skoltech.ru

² Университет имени Давида Бен-Гуриона в Негеве, 8410501 Беэр-Шева, Израиль

Поступила в редакцию 24.09.2024

После доработки 24.11.2024

Принята к публикации 08.12.2024

Гиалуроновая кислота (ГК) является основным структурообразующим полимером внеклеточного матрикса. Метаболизм ГК играет важную роль в межклеточном взаимодействии в норме и при различных патологиях. Синтез ГК осуществляется гиалуронан-синтазами (HAS), представленными у млекопитающих тремя высокоомологичными изоформами HAS1, HAS2 и HAS3. До настоящего времени не описано высокоспецифичных конкурентных ингибиторов HAS. Наиболее широко применяется для ингибирования синтеза ГК *in vivo* и в культуре клеток 4-метилумбеллиферон (4-МУ), природное соединение кумаринового ряда. Обзор посвящен рассмотрению молекулярных основ терапевтического действия 4-МУ. Будут рассмотрены многочисленные эксперименты на культурах тканей, животных моделях заболеваний и первые клинические исследования с применением 4-МУ, доказывающие, что, наряду со многими рецепторами и транскрипционными факторами, основной фармакологической мишенью этого соединения является наиболее распространенная изоформа гиалуронан-синтазы HAS2, и именно с ингибированием синтеза ГК связаны фармакологические эффекты 4-МУ в онкологических, аутоиммунных, дегенеративных и гиперкомпенсированных регенеративных процессах (фиброз, образование шрамов). Новые клинические препараты на основе более специфичных ингибиторов HAS2 будут первыми в классе для лечения широкого ряда заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 4-метилумбеллиферон, одестон, гимекромон, ингибирование гиалуронан-синтазы, гиалуроновая кислота.

DOI: 10.31857/S0320972525010017 EDN: CREXLL

«Самая плодотворная основа для открытия нового лекарства – начать со старого лекарства»

Сэр Джеймс Блэк, лауреат Нобелевской премии 1988 года в области медицины

ВВЕДЕНИЕ

В постгеномную эру создание новых терапевтических препаратов опирается на детальное знание сигнальных путей и участвующих в них ключевых эффекторов, или фармакологических мишеней: ферментов, рецепторов, транскрипционных факторов. При этом по-прежнему важную

роль в выявлении и валидации фармакологических мишеней играют физиологически активные вещества. К настоящему времени накопилось большое количество экспериментальных данных, подтверждающих терапевтическое действие 4-метилумбеллиферон (4-МУ), природного соединения кумаринового ряда, в животных моделях онкологических, аутоиммунных, дегенеративных

Принятые сокращения: ГК – гиалуроновая кислота; ВКМ – внеклеточный матрикс; 4-МУ – 4-метилумбеллиферон; 4-МУГ – 4-метилумбеллиферон-бета-Д-глюкуронид; HAS – гиалуронан-синтаза.

* Адресат для корреспонденции.

и гиперпролиферативных заболеваний. Данный обзор посвящен валидации гиалуронан-синтазы как главной фармакологической мишени 4-МУ, что является необходимым этапом при создании новых в классе лекарственных препаратов – ингибиторов синтеза гиалуроновой кислоты (ГК).

РОЛЬ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Внеклеточный матрикс (ВКМ), составляющий основу соединительной ткани, является высокоорганизованной внеклеточной структурой, обеспечивающей механическую целостность и межклеточное взаимодействие.

ВКМ состоит из полимерных углеводов – гликозаминогликанов (ГАГ) и различных белков (в основном фибриллярных) и протеогликанов (ПГ). ВКМ является одновременно барьером и депо для пептидных гормонов и цитокинов. Он также непосредственно генерирует химические и механические сигналы, необходимые для поддержания гомеостаза тканей. Патологические процессы при ряде системных заболеваний приводят к перестройке ВКМ, изменениям в его структуре, что в конечном итоге способствует изменению тканевой архитектуры и способствует развитию таких заболеваний, как фиброз, остеоартрит и рак [1, 2].

ГК, полимер, состоящий из остатков D-глюкуроновой кислоты и D-N-ацетилглюкозамина, соединенных поочередно β -1,4- и β -1,3-гликозидными связями; он является основным по массе компонентом внеклеточного матрикса. Гомеостаз ГК поддерживается синтетической активностью гиалуронан-синтаз (HAS) и распадом под действием гиалуронидаз и химической дегградации в основном под действием активных форм кислорода. Известны три изоформы фермента гиалуронан-синтазы: HAS1, активная в эмбриогенезе; HAS2, основная изоформа как в эмбриогенезе, так и в большинстве тканей в постнатальном периоде, синтезирующая высокомолекулярные формы (ВМФ) размером 1000–6000 кДа; HAS3, синтезирующая низкомолекулярные формы ГК (НМФ), менее 250 кДа. ГК с высокой молекулярной массой обычно ассоциируется с противовоспалительными, антиангиогенными и противораковыми свойствами. Напротив, низкомолекулярные фракции ГК проявляют провоспалительные и проангиогенные эффекты и способствуют клеточной адгезии. Хотя эти свойства ГК общепризнаны, механизмы, лежащие в их основе, не полностью понятны и остаются предметом исследований [3].

Кроме того, в организме человека существуют различные типы гиалуронидаз, расщепляющих ГК. Наиболее подробно охарактеризованны

ми являются HYAL-1 и HYAL-2. HYAL-2 расщепляет ГК на фрагменты длиной приблизительно в 50 мономеров (≈ 20 кДа), в то время как HYAL-1 расщепляет ГК на тетрасахаридные фрагменты (≈ 1600 Да), которые впоследствии подвергаются дальнейшему разложению в лизосомах [4]. Патологические процессы, такие как нарушение метаболических путей ГК, рак, повреждение и воспаление тканей, могут изменить этот баланс, увеличивая концентрацию НМФ ГК. Существует множество убедительных доказательств вовлечения ГК в патологические процессы развития хронического воспаления, свойственного таким заболеваниям, как диабет 2-го типа, цирроз печени, астма, а также в процессы прогрессии и метастазирования рака. Так, ГК увеличивает адгезию и подвижность метастазирующих клеток меланомы [5], увеличивает подвижность клеток рака поджелудочной железы [6] и простаты [7], затрудняет доставку лекарств к опухолям [8–10], способствует развитию устойчивости к лекарствам [11], усиливает клеточное деление [12] и действует как фактор регуляции иммунитета [13]. Увеличение экспрессии ГК в строме опухоли является негативным прогностическим признаком [14–18].

Уровень ГК в крови является маркером фиброза печени. Синтез ГК в фиброзной печени осуществляется фибробластами, происходящими из активированных звездчатых клеток. В норме звездчатые клетки не экспрессируют основной фермент, продуцирующий ГК во взрослых тканях, гиалуронан-синтазы 2-го типа (HAS2), и не синтезируют ГК, но поражение печени приводит к выработке TGF- β , запускающего трансдифференциацию звездчатых клеток в миофибробласты и драматически увеличивающего экспрессию HAS2 в них [19]. Накопление ГК в паренхиме вызывает активацию Notch1-сигнального пути в звездчатых клетках, что приводит к их активации, повышенному синтезу межклеточного матрикса и развитию фиброза [20]. Таким образом, HAS2 и HAS3 являются важной фармакологической мишенью в терапии заболеваний, связанных с патологической активацией синтеза ГК, в частности, фиброза печени.

Молекулярные механизмы синтеза ГК гиалуронан-синтазами млекопитающих приобретают важное значение в связи с целенаправленным поиском специфических ингибиторов – потенциальных лекарственных препаратов. Наиболее полно эти механизмы рассмотрены в обзоре DeAngelis и Zimmer [21]. В течение нескольких лет после открытия бактериального фермента из стрептококка, SpHAS, были открыты три изоформы HAS позвоночных (изоферменты HAS1, -2, -3) и вирусная HAS (CvHAS вируса хлореллы *Paramecium bursaria*, PBCV-1). CvHAS демонстрирует сходство в общей

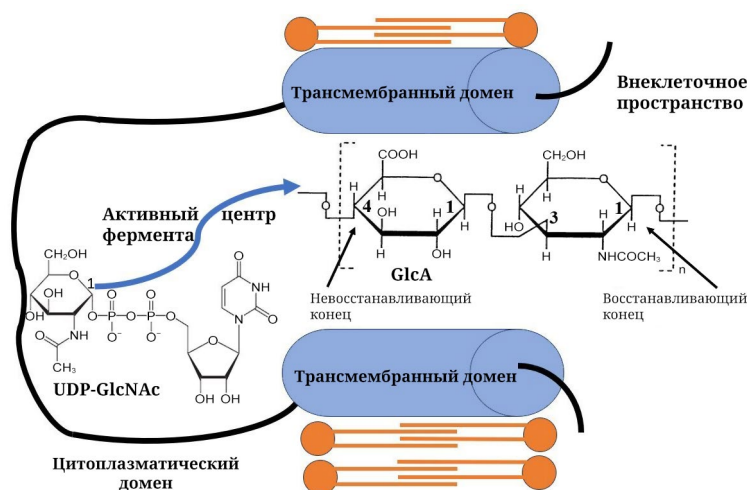


Рис. 1. Схема синтеза ГК с участием гиалуронан-синтазы. UDP-GlcNAc – уридин-5'-дифосфат-N-ацетилглюкозамин; GlcA – глюконовая кислота

архитектуре трансмембранных (ТМ) доменов, с двумя ТМ-спиралями на N-конце и четырьмя – на С-конце, и цитоплазматического домена с активным центром фермента. Все эти ферменты относятся к первому классу гликозилтрансфераз, однако HAS позвоночных и вирусная CvHAS добавляют сахара с невосстанавливающего конца (рис. 1), в отличие от SpHAS, у которой рост цепи осуществляется с восстанавливающего конца.

Ферменты позвоночных, CvHAS и SpHAS, имеют гликозилтрансферазный домен второго типа (GT-2), позволяющий осуществлять реакции с обоими мономерами: как с уридин-5'-дифосфат-глюкуроновой кислотой (UDP-GlcA), так и с уридин-5'-дифосфат-N-ацетилглюкозамином (UDP-GlcNAc). Методом электронной криомикроскопии установлена трехмерная структура вирусного фермента CvHAS [22]. Повсеместно применяющимся и единственным хорошо охарактеризованным ингибитором синтеза ГК является 4-МУ, способный значительно снижать экспрессию гиалуронан-синтаз HAS2/HAS3 [1]. В клинической медицине 4-МУ известен под торговым названием «Гимекромон» или «Одестон». Этот препарат одобрен к применению в странах Европы и Азии и рутинно используется в качестве гепатопротектора и для лечения спазмов и дискинезии желчных протоков. Так, в Италии препарат распространяется под названием «Cantabilin» и авторизован агентством лекарственных средств Италии (Italian Medicines Agency; AIC no. 02130002).

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ 4-МУ НА СИНТЕЗ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Данные о конкурентном ингибировании или даже о прямом взаимодействии 4-МУ с ферментом

отсутствуют. 4-МУ не влияет на ферментативную активность солилизованного фермента [23]. Наиболее распространенная гипотеза постулирует, что 4-МУ является конкурентным субстратом для уридин-5'-дифосфат-глюкуронозилтрансферазы (UGT), таким образом, истощая клеточный пул уридин-5'-дифосфат-глюкуроновой кислоты (UDP-GlcA), необходимой для синтеза ГК [24–26] (рис. 2).

Эта гипотеза также не подтверждена экспериментально. Против нее свидетельствует то, что 4-МУ не влияет на синтез других гликозаминогликанов, в состав которых входят те же мономеры, что и в ГК. Кроме того, кумарины с алкилированным гидроксилом 7, которые не могут быть субстратом для UGT, все равно обладают высокой ингибирующей способностью в исследованиях *in vitro* [27]. Показано, что 4-МУ снижает уровень экспрессии мРНК HAS2 [25, 28, 29] и одновременно повышает уровень экспрессии гиалуронидазы 1 (*Hyal1*) [30], а также снижает уровни фосфоорилазы и дегидрогеназы уридин-5'-дифосфат-глюкозы [31]. При этом неизвестно, как именно осуществляется транскрипционная регуляция синтеза ГК и насколько механизм избирателен для этих мРНК (рис. 3).

4-МУ, как было показано нами и другими исследователями [32, 33], имеет множественные мишени, не связанные прямо с метаболизмом ГК. Не исключено, что снижение накопления ГК в среде при исследованиях *in vitro* является кумулятивным действием нескольких параллельных процессов, включая возможное истощение субстрата, а также экспериментально показанным снижением экспрессии HAS2 и увеличением экспрессии *Hyal1* [30]. Известно также, что экспрессия HAS2 регулируется ядерными рецепторами, в частности, глюкокортикоидным рецептором, и экспрессия HAS2 практически полностью подав-

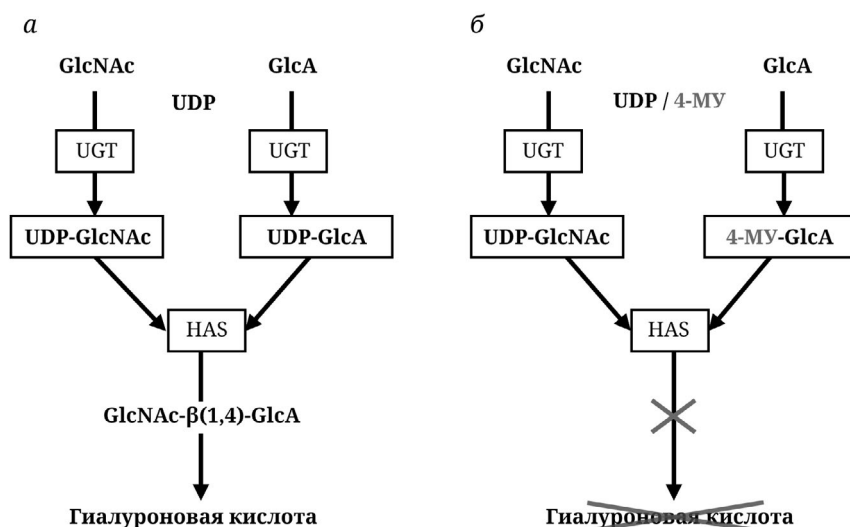


Рис. 2. Предполагаемый механизм действия 4-МУ на синтез ГК. *а* – Схема представляет нормальный путь синтеза ГК. *б* – Схема показывает замещение UDP пулом 4-МУ, вследствие чего HAS не может синтезировать ГК. GlcNAc – N-ацетилглюкозамин; GlcA – глюкуроновая кислота; 4-МУ – 4-метилумбеллиферон; UDP – уридин-5'-дифосфат; UGT – уридин-5'-дифосфат-глюкуронозилтрансфераза; UDP-GlcNAc – уридин-5'-дифосфат-N-ацетилглюкозамин; UDP-GlcA – уридин-5'-дифосфат-глюкуроновая кислота; HAS – гиалуронан-синтаза; GlcNAc-β(1,4)-GlcA – N-ацетил-глюкозамин-β(1,4)-глюкуроновая кислота. Рисунок заимствован из статьи Nagy et al., 2015 [26]

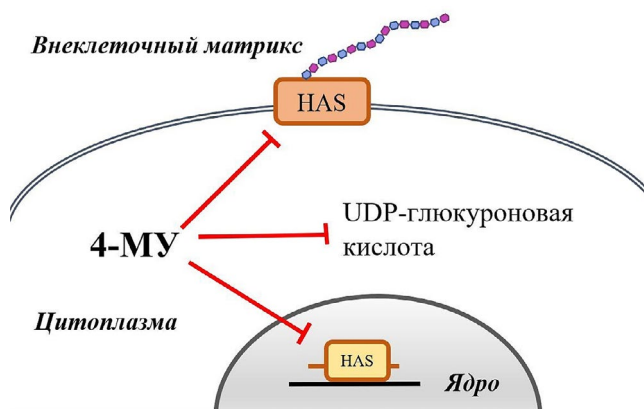


Рис. 3. Схематическое представление путей ингибирования синтеза ГК 4-МУ. Действие 4-МУ осуществляется несколькими способами: либо истощением предшественника ГК, UDP-глюкуроновой кислоты; либо ингибированием экспрессии гена, кодирующего HAS2 в ядре; либо опосредованным ингибированием активности гиалуронан-синтазы. 4-МУ – 4-метилумбеллиферон; HAS2 – гиалуронан-синтаза. Рисунок заимствован из обзора Vitale et al. [1]

ляется дексаметазоном [34]. Исследования выявили изменения клеточного цикла и p53-пути при воздействии 4-МУ [35, 36].

ДЕЙСТВИЕ 4-МУ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ РАКА, АУТОИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ И ПРОЦЕССЫ ВОСПАЛЕНИЯ

4-МУ оказывает действие на такие связанные с прогрессией опухоли процессы, как миграция,

пролиферация, инвазия раковых клеток и ангиогенез. Клетки микроокружения опухоли, представленные эндотелиальными клетками, клетками иммунной системы и фибробластами, также испытывают влияние 4-МУ. Все эти процессы сопряжены с активными изменениями в строении и составе межклеточного матрикса, основным компонентом которого является ГК. Эти работы обосновывают разработку лекарств, направленных на изменение свойств межклеточного матрикса. Такой подход является многообещающим в лечении различных видов рака, а 4-МУ представляет собой уже допущенный к применению препарат, который может быть использован в новом качестве.

На мышинной модели фиброза печени, вызванном четыреххлористым углеродом, нами было показано, что образованию коллагеновых тяжей предшествует синтез ГК вдоль границ печеночных долек. 4-МУ препятствовал первоначальному образованию тяжей ГК и приводил к значительному уменьшению коллагеновых фибриллярных образований вокруг печеночных долек [30]. Показательно, что в нашей последующей работе нокдаун гена, кодирующего HAS2, при помощи специфичной siRNA воспроизводил действие 4-МУ на ряд сигнальных путей и транскрипцию ряда ключевых генов, приводя к подавлению фиброза печени [37].

Отдельный интерес представляет возможность применения 4-МУ для лечения заболеваний головного мозга. ВКМ злокачественных глиом, а также глиобластом отличается повышенным

содержанием ГК, стимулирующей адгезивные и инвазивные процессы опухоли [38]. 4-МУ является малой молекулой, способной преодолевать гематоэнцефалический барьер и ингибировать синтез главного компонента внеклеточного матрикса, ГК, что создало предпосылки для исследования этого вещества для терапии глиом и глиобластом. Так, на мышинных моделях было показано, что высокие дозы 4-МУ снижали синтез ГК, одновременно усиливая апоптоз и снижая пролиферацию и миграцию клеток глиобластомы [39–41]. Действие 4-МУ на клетки глиомы заключалось в снижении

пролиферации *in vitro* и *in vivo* путем регуляции процессов аутофагии [42]. Кроме того, в работе Chistyakov et al. [43] доказана способность 4-МУ ингибировать воспалительный ответ астроцитов. Пероральный прием 4-МУ приводил к значимому снижению ГК в спинном и головном мозге мышей, снижению синаптической стабильности и реактивации нейропластичности, что приводило к улучшению памяти [44].

Данные по доклиническим исследованиям 4-МУ для лечения различных типов заболеваний приведены в табл. 1.

Таблица 1. Доклинические исследования действия 4-МУ на различные заболевания

Орган/система	Исследуемая болезнь	Год	Тип исследования	Ссылка
Воспаление	острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС)	2013	<i>in vitro</i>	[45]
		2015	<i>in vitro</i>	[46]
	аллергическое воспаление	2022	<i>in vitro</i>	[47]
	аллергический ринит	2022	<i>in vitro/in vivo</i>	[48]
	воспаление	2022	<i>in vitro</i>	[49]
Голова и шея	плоскоклеточный рак полости рта	2022	<i>in vitro</i>	[50]
Желчевыводящие пути	дискинезия желчных протоков	1984	<i>in vivo</i>	[51]
	желчные колики	1995	<i>in vivo</i>	[52]
Иммунный ответ	орбитопатия Грейвса	2020	<i>in vitro</i>	[53]
	отторжение трансплантата	2021	<i>in vitro/in vivo</i>	[54]
	аутоиммунный ответ на трансплантированные островки Лангерганса	2020	<i>in vitro/in vivo</i>	[55]
	острое отторжение аллотрансплантата легкого	2021	<i>in vitro/in vivo</i>	[56]
Костный мозг	хронический миелоидный лейкоз	2013	<i>in vitro</i>	[57]
		2016	<i>in vitro</i>	[58]
		2017	<i>in vitro</i>	[59]
Легкие	мезотелиома плевры	2017	<i>in vitro/in vivo</i>	[60]
	фиброз легких и легочная гипертензия	2017	<i>in vivo</i>	[61]
Молочные железы	рак молочной железы	2019	<i>in vitro</i>	[62]
		2022	<i>in vitro</i>	[63]
Мочевой пузырь	рак мочевого пузыря	2017	<i>in vitro/in vivo</i>	[64]
Периферическая нервная система	злокачественная опухоль оболочки периферического нерва	2017	<i>in vitro/in vivo</i>	[65]

Таблица 1 (продолжение)

Орган/система	Исследуемая болезнь	Год	Тип исследования	Ссылка
Печень	гепатоцеллюлярная карцинома	2012	<i>in vitro/in vivo</i>	[66]
		2015	<i>in vitro/in vivo</i>	[67]
		2019	<i>in vitro/in vivo</i>	[29]
		2021	<i>in vitro/in vivo</i>	[68]
		2022	<i>in vitro/in vivo</i>	[69]
	метастазирование меланомы в печень	2005	<i>in vitro/in vivo</i>	[70]
	фиброз печени	2019	<i>in vivo</i>	[30]
	стеатогепатит	2021	<i>in vitro/in vivo</i>	[71]
Поджелудочная железа	рак поджелудочной железы	2006	<i>in vitro/in vivo</i>	[72]
		2016	<i>in vitro/in vivo</i>	[73]
		2017	<i>in vitro/in vivo</i>	[74]
		2018	<i>in vitro/in vivo</i>	[75, 76]
	аденокарцинома протоков поджелудочной железы	2019	<i>in vitro</i>	[77, 78]
Почки	почечно-клеточная карцинома	2013	<i>in vitro</i>	[79]
	ишемически-реперфузионное повреждение почек	2013	<i>in vivo</i>	[80]
	метастатический почечно-клеточный рак	2020	<i>in vitro</i>	[81]
	диабетическая болезнь почек	2021	<i>in vivo</i>	[82]
	прогрессирующая почечно-клеточная карцинома	2022	<i>in vitro/in vivo</i>	[83]
Простата	рак предстательной железы	2010	<i>in vitro</i>	[84]
		2015	<i>in vitro/in vivo</i>	[85]
Соединительная ткань	фибросаркома	2017	<i>in vitro</i>	[86]
		2019	<i>in vitro</i>	[87]
		2020	<i>in vitro</i>	[88]
		2021	<i>in vitro</i>	[89]
Толстый кишечник	колоректальная карцинома	2015	<i>in vitro/in vivo</i>	[90]
Центральная нервная система	глиобластома	2021	<i>in vitro</i>	[39, 40]
		2022	<i>in vitro/in vivo</i>	[91]
Эндометрий	эндометриоз	2016	<i>in vitro/in vivo</i>	[92]
		2020	<i>in vitro</i>	[93]
		2023	<i>in vivo</i>	[94]

Таблица 1 (окончание)

Орган/система	Исследуемая болезнь	Год	Тип исследования	Ссылка
Яичники	рак яичников	2014	<i>in vitro</i>	[95]
		2019	<i>in vitro/in vivo</i>	[96]
		2020	<i>in vitro</i>	[97]

**ПЕРСПЕКТИВА ЛЕЧЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ КОМБИНАЦИЯМИ С 4-МУ.
ДЕЙСТВИЕ НА ФИЗИЧЕСКИЙ БАРЬЕР
ОПУХОЛИ. ПРИМЕНЕНИЕ 4-МУ
В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА
ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ**

Окружающий клетки ВКМ, богатый ГК, составляет биологический барьер микроокружения опухоли. Этот барьер регулирует работу иммунных эффекторов [13, 98], ингибирует диффузию лекарственных препаратов [99], затрудняет поглощение ДНК-трансгенных комплексов при проведении генной терапии [100] и играет важную роль в приобретении резистентности к противоопухолевым препаратам [1, 11, 101].

Возможность изменения свойств микроокружения опухоли с целью улучшения результата различных противоопухолевых терапий в настоящее время активно исследуется. Патологическое микроокружение опухоли характеризуется гипоксией и высоким внутритканевым давлением жидкости, приводящим к прогрессии опухоли и развитию устойчивости к проводимому лечению [102]. Повышение внутритканевого давления рассматривается как наиболее важный барьер для эффективного распределения лекарственного препарата внутри опухоли. Причины повышения внутритканевого давления опухоли многочисленны и включают в себя наличие в опухоли развитой сети кровеносных сосудов, недостаточное развитие лимфатических сосудов, изменение компонентов внеклеточного матрикса и давление, создаваемое постоянно делящимися клетками опухоли [103, 104]. Повышенное содержание в окружающих опухоль тканях ГК способствует увеличению объема внеклеточного матрикса и, как следствие, повышению давления внутри опухоли [105, 106]. Высокое содержание ГК в микроокружении опухоли создает физический барьер, ограничивающий доступ моноклональных антител и иммунных клеток к опухолевой ткани. Это один из механизмов возникновения устойчивости опухолевых тканей к проводимой иммунотерапии [107].

Способность 4-МУ ингибировать синтез ГК создает предпосылки для его использования в

качестве адъювантной терапии при лечении рака в комбинации с первичной терапией. На различных моделях показано, что использование 4-МУ в качестве сопутствующей терапии различных видов рака повышает эффективность лечения, снижает токсичность противоопухолевых препаратов и помогает преодолеть возникшую химиорезистентность (табл. 2).

Согласно имеющимся данным по исследованию 4-МУ в качестве добавки к основной терапии, 4-МУ повышает радиочувствительность устойчивых к облучению клеток плоскоклеточного рака полости рта [50] и фибросаркомы [86–89]. Сорафениб в комбинации с 4-МУ эффективнее ингибирует пролиферацию, инвазию, формирование капилляров и индуцирует апоптоз клеток карциномы почек и эндотелиальных клеток [79, 83]. 4-МУ повышает эффективность 5-фторурацила [68] и гемцитабина [72] в отношении рака поджелудочной железы, ингибируя пролиферацию клеток и приводя к уменьшению размеров первичных опухолей и метастазов, а также увеличивая выживаемость больных животных. 4-МУ повышает чувствительность клеток глиобластомы к темозоломиду, усиливая действие препарата на клеточную гибель [41]. 4-МУ повышает цитотоксический эффект карбоплатина на клетки химиорезистентного рака яичников [96]. При совместном применении дихлорацетата и 4-МУ на модели плоскоклеточного рака пищевода происходит усиление апоптоза и ингибирования роста опухоли [108]. Клетки миелоидной лейкемии при обработке 4-МУ становились более чувствительными к доксирубицину [58] и увеличивали скорость старения [59]. На клетках меланомы показано, что комбинация вемурафениба с 4-МУ более эффективно снижала выживаемость раковых клеток по сравнению с монотерапией вемурафенибом [109]. 4-МУ повышает химиочувствительность клеток уротелиальной карциномы мочевого пузыря к доксирубицину и цисплатину [110]. 4-МУ значительно снижает внутритканевое давление опухоли и улучшает ее перфузию, способствуя более эффективной экспрессии аденовирусного трансгена при проведении иммунотерапии IL-12 (AdIL-12) для лечения колоректального рака [90]. При исследовании на модели рака печени 4-МУ

Таблица 2. Доклинические исследования эффективности лечения различных видов рака комбинациями лекарств с 4-МУ

Исследуемая болезнь	Основное лечение	Тип исследования	Год	Ссылка
Гепатоцеллюлярная карцинома	иммунотерапия: аденовирус, кодирующий IL-12 (AdIL-12)	<i>in vitro</i>	2018	[111]
Глиобластома	темозоломид	<i>in vitro</i>	2023	[41]
Злокачественная мезотелиома плевры	траметиниб	<i>in vitro/in vivo</i>	2017	[60]
Колоректальная карцинома	циклофосфамид с иммунотерапией (AdIL-12)	<i>in vitro/in vivo</i>	2015	[90]
Меланома	вемурафениб	<i>in vitro</i>	2021	[109]
Плоскоклеточный рак пищевода	дихлоруксусная кислота	<i>in vitro/in vivo</i>	2019	[108]
Плоскоклеточный рак полости рта	радиотерапия	<i>in vitro</i>	2022	[50]
Почечно-клеточная карцинома	сорафениб	<i>in vitro</i>	2013	[79]
Прогрессирующая почечно-клеточная карцинома	сорафениб	<i>in vitro/in vivo</i>	2022	[83]
Рак поджелудочной железы	5-фторурацил	<i>in vitro/in vivo</i>	2018	[76]
Рак поджелудочной железы	гемцитабин	<i>in vitro/in vivo</i>	2006	[72]
Рак яичника	карбоплатин	<i>in vitro/in vivo</i>	2019	[96]
Уротелиальная карцинома мочевого пузыря	цисплатин или доксорубицин	<i>in vivo</i>	2019	[110]
Фибросаркома	радиотерапия	<i>in vitro</i>	2021	[89]
		<i>in vitro</i>	2019	[87]
		<i>in vitro</i>	2017	[86]
Хронический миелоидный лейкоз	иматиниб	<i>in vitro</i>	2017	[59]
Хронический миелоидный лейкоз	доксорубицин	<i>in vitro</i>	2016	[58]

в комбинации с AdIL-12 привел к более выраженному ингибированию роста опухоли и повышению выживаемости мышей по сравнению с монотерапией [111].

**ПРИМЕНЕНИЕ 4-МУ В КАЧЕСТВЕ
ГЕПАТОПРОТЕКТОРА И ХОЛЕСТАТИКА
ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ
ПЕРВИЧНОЙ ТЕРАПИИ**

Ингибиторы иммунных чекпойнтов, цитокины и антитела к ним, используются в качестве иммуномодуляторов для усиления иммунологического ответа организма в ответ на опухоли и очаги хронического воспаления при ревматоид-

ных, аутоиммунных и воспалительных заболеваниях [112, 113]. Эти препараты успешно прошли клинические испытания и одобрены к применению европейским и американским агентствами по лекарственным средствам [114]. Однако до 17% пациентов, получающих подобную иммунотерапию, страдают от осложнений, связанных с повреждением печени и желчевыводящих протоков [115–119].

Для лечения возникшей гепатотоксичности, в зависимости от ее тяжести, рекомендуется прекратить прием ингибиторов иммунных чекпойнтов, в некоторых случаях показано применение кортикостероидов, а в более тяжелых случаях – применение иммуносупрессии [120–123]. В случае развития холестатической формы гепатотоксич-

ности, когда кортикостероиды оказываются неэффективны, улучшить показатели печени помогает урсodeоксихолиевая кислота [124–127]. Она обладает доказанными гепатопротекторными и желчегонными свойствами и считается стандартом терапии холестатических заболеваний печени с аутоиммунным компонентом, таких, например, как первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит [128–130]. В настоящее время опубликованных данных о влиянии 4-МУ на риск развития гепатотоксичности в ответ на иммунотерапию не обнаружено, но, как и в случае с урсodeоксихолиевой кислотой, доказанные холестатические и гепатопротекторные свойства 4-МУ делают его многообещающим кандидатом на проведение таких исследований.

Представленные данные создают предпосылки и указывают на необходимость проведения полноценных клинических испытаний 4-МУ в качестве адъювантной/дополнительной противоопухолевой терапии, которая способствует снижению содержания ГК, оказывает действие на ВКМ и микроокружение опухоли, снижает внутриканальное давление, улучшает перфузию опухоли, облегчает доступ лекарственных препаратов и оказывает гепатопротекторное и холестатическое действие, уменьшая таким образом риски развития гепатотоксичности при проведении иммунотерапии.

ТОПИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ 4-МУ В КАЧЕСТВЕ ВЕЩЕСТВА, ПРЕПЯТСТВУЮЩЕГО ОБРАЗОВАНИЮ РАСТЯЖЕК, ШРАМОВ, КЕЛОИДНЫХ РУБЦОВ, СОЛНЕЧНЫХ ОЖОГОВ И ОЧАГОВ ГИПОПИГМЕНТАЦИИ

Топическое нанесение 4-МУ приводит к эффективному ингибированию синтеза ГК в коже [131]. Показано, что 4-МУ предотвращает активацию кератиноцитов, снижает эпидермальную гиперпролиферацию [132] и скорость миграции келоидных кератиноцитов, уменьшая вероятность образования келоидных рубцов [133].

4-МУ усиливает процессы меланогенеза, что делает его перспективным кандидатом для лечения состояний кожи, связанных с гипопигментацией, а также применения в качестве косметического средства для создания естественного загара [134].

МЕТАБОЛИЗМ 4-МУ. ТОКСИЧНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА

4-МУ, как и все кумарины, слабо растворим в воде. Он является неполярной молекулой, и

поэтому легко преодолевает липидный барьер в кишечнике, практически полностью абсорбируется при оральном приеме и выводится с мочой и желчью [26]. Метильная группа в позиции 4 обеспечивает низкую токсичность препарата, предотвращая его метаболизм в кумарин-3,4-эпоксид под воздействием цитохрома P450, и слабые антикоагуляционные свойства по сравнению с другими кумаринами, такими как дикумарин и варфарин [135].

При поступлении в организм 4-МУ очень быстро и почти полностью метаболизируется в печени и тонком кишечнике в 4-метилумбеллифрон-бета-Д-глюкуронид (4-МУГ), что до настоящего времени ограничивало его применение для лечения только желчевыводящих протоков [1, 136–138]. При оральном приеме 4-МУ менее 3% исходной дозы лекарства достигает системного уровня в неизменном виде. При внутривенном введении 4-МУ его концентрация в крови в 10–30 раз выше [26, 139]. Время полужизни 4-МУ при оральном приеме составляет всего 28 минут для человека и 3 минуты – для мышей [140, 141]. При этом медианная концентрация 4-МУГ в плазме выше концентрации 4-МУ более чем в 3000 раз [26, 141]. Можно говорить, что при приеме лекарства большая его часть находится в организме в виде его метаболита 4-МУГ. Но несмотря на низкую биодоступность и короткое время полужизни препарата, 4-МУ оказывает эффективное ингибирующее влияние на синтез ГК при оральном приеме. Оказалось, что 4-МУГ так же эффективно, как и 4-МУ, ингибирует синтез ГК, а внутри клетки он гидролизует обратно до 4-МУ [137]. Поэтому для оценки фармакодинамики препарата необходимо принимать в расчет действие его метаболита, 4-МУГ. Эти данные создают предпосылки применения 4-МУ для лечения заболеваний далеко за пределами желчевыводящих путей. Так, являясь малой неполярной молекулой, 4-МУ способен преодолевать гематоэнцефалический барьер и эффективно ингибировать деление клеток глиомы [42].

Типичный режим дозирования 4-МУ для взрослого человека составляет 900–2400 мг/день [26]. При этом никаких мутагенных или генотоксических эффектов не обнаружено [1, 142, 143]. Клинические испытания в США на пациентах с хроническими гепатитами В и С (NCT00225537), а также на здоровых людях и на пациентах с заболеваниями дыхательной системы (NCT02780752) [144] доказали безопасность 4-МУ (см. табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на множество экспериментальных работ, демонстрирующих эффективность 4-МУ

Таблица 3. Клинические исследования 4-МУ в терапии различных заболеваний

Исследуемое заболевание/ цель исследования	Статус	Год	Ссылка/ идентификатор clinicaltrials.gov
Интерстициальные заболевания легких (The SOLID Study)	фаза II; набор участников не начат	2024	NCT06325696
Первичный склерозирующий холангит	фаза II; идет набор участников	2022	NCT05295680
COVID-19	неизвестно	2022	NCT05386420
Легочная гипертензия, включая интерстициальные заболевания легких (The SATURN Study)	фаза II; завершен	2021	NCT05128929
Здоровые участники; исследование влияния 4-МУ на синтез ГК	фаза I; завершен	2016	[144]/ NCT02780752
Билиарный сладж 2 стадии	нет информации	2016	[145]
Хронический вирус гепатита С и гепатита В	неизвестно	2005	NCT00225537
Дискинезия желчных протоков	нет информации	2005	[146]
Дискинезия желчных протоков	нет информации	2001	[147]
Дискинезия желчных протоков	нет информации	1995	[52]
Исследование биодоступности 4-МУ	нет информации	1993	[141]
Симптомы после операции на желчных протоках	нет информации	1988	[148]
Дискинезия желчных протоков после холецистэктомии	нет информации	1984	[51]

в различных животных моделях онкологических, иммунных и дегенеративных заболеваний, необходимо признать, что достоверные молекулярные механизмы действия остаются гипотетическими. Тем не менее существует доказательство того, что по крайней мере в модели фиброза печени нокаун гена, кодирующего HAS2, приводит не только к подавлению фиброза, но и к изменениям транскриптома, схожим с воздействием орального применения 4-МУ [37]. При этом нельзя исключить, что некоторые из механизмов действия 4-МУ могут быть независимыми от ингибирования синтеза ГК. Так, описаны независимые от ГК эффекты действия 4-МУ [62, 149]. Также 4-МУ может обладать различными противоопухолевыми механизмами в зависимости от типа рака. Однако, в совокупности, рассмотренные нами множественные данные об эффективности 4-МУ доказывают необходимость перехода к подробному изучению фармакокинетических и фармакодинамических аспектов, определяющих схему лечения (способ введения, дозы, влияющие на его биодоступность, время интервала между ними и график приема).

Первые токсикологические исследования в фазе I клинических исследований уже проведены [144], что позволяет уже сейчас перейти к клиническим исследованиям эффективности препарата (фаза IIa). Подобная тенденция наблюдается в мире. Так, в настоящее время планируется проведение клинических испытаний 4-МУ по лечению интерстициальных заболеваний легких и холангита (см. табл. 3).

При клинических испытаниях 4-МУ необходимо подобрать дозы с учетом конкретной патологии, скорости выведения его метаболитов и биодоступности. Создание новых форм, например, наночастиц, содержащих 4-МУ, является важным фактором, который не только позволит повысить биодоступность, но также создаст предпосылки для патентной защиты нового лекарственного средства.

И, наконец, если принять наши доводы о том, что главной фармакологической мишенью 4-МУ является гиалуронан-синтаза, разработка новых химических соединений с использованием 3Д-моделей HAS2/HAS3 и докинга потенциальных

лигандов с привлечением подходов искусственного интеллекта должна неизбежно привести к созданию оригинальных первых в классе таргетных лекарственных препаратов на основе ингибиторов гиалуронан-синтазы.

Вклад авторов. Ю.В. Котелевцев принимал участие в формулировании общей концепции обзора, подбору основных статей и руководил собственными экспериментальными работами, отраженными в обзоре. А. Цитрина и Н. Хали-

мани предоставили основные выводы из своих экспериментальных статей и участвовали в обсуждении текста обзора, вносили изменения. В.В. Федорова осуществляла сбор, анализ литературы и написала основной текст обзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vitale, D. L., Icardi, A., Rosales, P., Spinelli, F. M., Sevic, I., and Alaniz, L. D. (2021) Targeting the tumor extracellular matrix by the natural molecule 4-methylumbelliferone: a complementary and alternative cancer therapeutic strategy, *Front. Oncol.*, **11**, 710061, <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.710061>.
2. Rosales, P., Vitale, D., Icardi, A., Sevic, I., and Alaniz, L. (2024) Role of Hyaluronic acid and its chemical derivatives in immunity during homeostasis, cancer and tissue regeneration, *Semin. Immunopathol.*, **46**, 15, <https://doi.org/10.1007/s00281-024-01024-7>.
3. Tavianatou, A. G., Caon, I., Franchi M., Piperigkou, Z., Galesso, D., and Karamanos, N. K. (2019) Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer, *FEBS J.*, **286**, 2883-2908, <https://doi.org/10.1111/febs.14777>.
4. Jung, H. (2020) Hyaluronidase: an overview of its properties, applications, and side effects, *Arch. Plast. Surg.*, **47**, 297-300, <https://doi.org/10.5999/aps.2020.00752>.
5. Kudo, D., Kon, A., Yoshihara, S., Kakizaki, I., Sasaki, M., Endo, M., and Takagaki, K. (2004) Effect of a hyaluronan synthase suppressor, 4-methylumbelliferone, on B16F-10 melanoma cell adhesion and locomotion, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **321**, 783-787, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.07.041>.
6. Cheng, X. B., Kohi, S., Koga, A., Hirata, K., and Sato, N. (2016) Hyaluronan stimulates pancreatic cancer cell motility, *Oncotarget*, **7**, 4829-4840, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6617>.
7. Ricciardelli, C., Russell, D. L., Ween, M. P., Mayne, K., Suwiwat, S., Byers, S., Marshall, V. R., Tilley, W. D., and Horsfall, D. J. (2007) Formation of hyaluronan- and versican-rich pericellular matrix by prostate cancer cells promotes cell motility, *J. Biol. Chem.*, **282**, 10814-10825, <https://doi.org/10.1074/jbc.M606991200>.
8. Jacobetz, M. A., Chan, D. S., Neesse, A., Bapiro, T. E., Cook, N., Frese, K. K., Feig, C., Nakagawa, T., Caldwell, M. E., Zecchini, H. I., Lolkema, M. P., Jiang, P., Kultti, A., Thompson, C. B., Maneval, D. C., Jodrell, D. I., Frost, G. I., Shepard, H. M., Skepper, J. N., and Tuveson, D. A. (2013) Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer, *Gut*, **62**, 112-120, <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302529>.
9. Misra, S., Ghatak, S., Zoltan-Jones, A., and Toole, B. P. (2003) Regulation of multidrug resistance in cancer cells by hyaluronan, *J. Biol. Chem.*, **278**, 25285-25288, <https://doi.org/10.1074/jbc.C300173200>.
10. Toole, B. P., and Slomiany, M. G. (2008) Hyaluronan: a constitutive regulator of chemoresistance and malignancy in cancer cells, *Semin. Cancer Biol.*, **18**, 244-250, <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2008.03.009>.
11. Vitale, D. L., Spinelli, F. M., Del Dago, D., Icardi, A., Demarchi, G., Caon, I., García, M., Bolontrade, M. F., Passi, A., Cristina, C., and Alaniz, L. (2018) Co-treatment of tumor cells with hyaluronan plus doxorubicin affects endothelial cell behavior independently of VEGF expression, *Oncotarget*, **9**, 36585-36602, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26379>.
12. Kultti, A., Zhao, C., Singha, NC., Zimmerman, S., Osgood, R. J., Symons, R., Jiang, P., Li X., Thompson, CB., Infante, J. R., Jacobetz, M. A., Tuveson, D. A., Frost, G. I., Shepard, H. M., and Huang, Z. (2014) Accumulation of extracellular hyaluronan by hyaluronan synthase 3 promotes tumor growth and modulates the pancreatic cancer microenvironment, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 817613, <https://doi.org/10.1155/2014/817613>.
13. McBride, W. H., and Bard, J. B. (1979) Hyaluronidase-sensitive halos around adherent cells. Their role in blocking lymphocyte-mediated cytotoxicity, *J. Exp. Med.*, **149**, 507-515, <https://doi.org/10.1084/jem.149.2.507>.
14. Lipponen, P., Aaltomaa, S., Tammi, R., Tammi, M., Agren, U., and Kosma, V. M. (2001) High stromal hyaluronan level is associated with poor differentiation and metastasis in prostate cancer, *Eur. J. Cancer.*, **37**, 849-856, [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(00\)00448-2](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(00)00448-2).

15. Setälä, L. P., Tammi, M. I., Tammi, R. H., Eskelinen, M. J., Lipponen, P. K., Agren, U. M., Parkkinen, J., Alhava, E. M., and Kosma, V. M. (1999) Hyaluronan expression in gastric cancer cells is associated with local and nodal spread and reduced survival rate, *Br. J. Cancer.*, **79**, 1133-1138, <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690180>.
16. Anttila, M. A., Tammi, R. H., Tammi, M. I., Syrjänen, K. J., Saarikoski, S. V., and Kosma, V. M. (2000) High levels of stromal hyaluronan predict poor disease outcome in epithelial ovarian cancer, *Cancer Res.*, **60**, 150-155.
17. Bharadwaj, A. G., Kovar, J. L., Loughman, E., Elowsky, C., Oakley, G. G., and Simpson, M. A. (2009) Spontaneous metastasis of prostate cancer is promoted by excess hyaluronan synthesis and processing, *Am. J. Pathol.*, **174**, 1027-1036, <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080501>.
18. Sironen, R. K., Tammi, M., Tammi, R., Auvinen, P. K., Anttila, M., and Kosma, V. M. (2011) Hyaluronan in human malignancies, *Exp. Cell Res.*, **317**, 383-391, <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.11.017>.
19. Kim, J., and Seki, E. (2023) Hyaluronan in liver fibrosis: basic mechanisms, clinical implications, and therapeutic targets, *Hepatol. Commun.*, **7**, e0083, <https://doi.org/10.1097/HC9.0000000000000083>.
20. Yang, Y. M., Nouredin, M., Liu, C., Ohashi, K., Kim, S. Y., Ramnath, D., Powell, E. E., Sweet, M. J., Roh, Y. S., Hsin, I. F., Deng, N., Liu, Z., Liang, J., Mena, E., Shouhed, D., Schwabe, R. F., Jiang, D., Lu, S. C., Noble, P. W., and Seki, E. (2019) Hyaluronan synthase 2-mediated hyaluronan production mediates Notch1 activation and liver fibrosis, *Sci. Transl. Med.*, **11**, eaat9284, <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat9284>.
21. DeAngelis, P. L., and Zimmer, J. (2023) Hyaluronan synthases; mechanisms, myths, and mysteries of three types of unique bifunctional glycosyltransferases, *Glycobiology*, **33**, 1117-1127, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwad075>.
22. Maloney, F. P., Kuklewicz, J., Corey, R. A., Bi, Y., Ho, R., Mateusiak, L., Pardon, E., Steyaert, J., Stansfeld, P. J., and Zimmer, J. (2022) Structure, substrate recognition and initiation of hyaluronan synthase, *Nature*, **604**, 195-201, <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04534-2>.
23. Nakamura, T., Funahashi, M., Takagaki, K., Munakata, H., Tanaka, K., Saito, Y., and Endo, M. (1997) Effect of 4-methylumbelliferone on cell-free synthesis of hyaluronic acid, *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **43**, 263-268, <https://doi.org/10.1080/15216549700204041>.
24. Kakizaki, I., Kojima, K., Takagaki, K., Endo, M., Kannagi, R., Ito, M., Maruo, Y., Sato, H., Yasuda, T., Mita, S., Kimata, K., and Itano, N. (2004) A novel mechanism for the inhibition of hyaluronan biosynthesis by 4-methylumbelliferone, *J. Biol. Chem.*, **279**, 33281-33289, <https://doi.org/10.1074/jbc.M405918200>.
25. Kultti, A., Pasonen-Seppänen, S., Jauhiainen, M., Rilla, K. J., Kärnä, R., Pyöriä, E., Tammi, R. H., and Tammi, M. I. (2009) 4-Methylumbelliferone inhibits hyaluronan synthesis by depletion of cellular UDP-glucuronic acid and downregulation of hyaluronan synthase 2 and 3, *Exp. Cell Res.*, **315**, 1914-1923, <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2009.03.002>.
26. Nagy, N., Kuipers, H. F., Frymoyer, A. R., Ishak, H. D., Bollyky, J. B., Wight, T. N., and Bollyky, P. L. (2015) 4-methylumbelliferone treatment and hyaluronan inhibition as a therapeutic strategy in inflammation, autoimmunity, and cancer, *Front. Immunol.*, **6**, 123, <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00123>.
27. Tsitrina, A. A., Krasnylov, I. V., Maltsev, D. I., Andreichenko, I. N., Moskvina, V. S., Ivankov, D. N., Bulgakova, E. V., Nesterchuk, M., Shashkovskaya, V., Dashenkova, N. O., Khilya, V. P., Mikaelyan, A., and Kotelevtsev, Y. (2021) Inhibition of hyaluronan secretion by novel coumarin compounds and chitin synthesis inhibitors, *Glycobiology*, **31**, 959-974, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwab038>.
28. Saito, T., Dai, T., and Asano, R. (2013) The hyaluronan synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone exhibits antitumor effects against mesenchymal-like canine mammary tumor cells, *Oncol. Lett.*, **5**, 1068-1074, <https://doi.org/10.3892/ol.2013.1124>.
29. Sukowati, C. H. C., Anfuso, B., Fiore, E., Ie, S. I., Raseni, A., Vascotto, F., Avellini, C., Mazzolini, G., and Tiribelli, C. (2019) Hyaluronic acid inhibition by 4-methylumbelliferone reduces the expression of cancer stem cells markers during hepatocarcinogenesis, *Sci. Rep.*, **9**, 4026, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40436-6>.
30. Andreichenko, I. N., Tsitrina, A. A., Fokin, A. V., Gabdulkhakova, A. I., Maltsev, D. I., Perelman, G. S., Bulgakova, E. V., Kulikov, A. M., Mikaelyan, A. S., and Kotelevtsev, Y. V. (2019) 4-methylumbelliferone prevents liver fibrosis by affecting hyaluronan deposition, FSTL1 expression and cell localization, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 6301, <https://doi.org/10.3390/ijms20246301>.
31. Vigetti, D., Rizzi, M., Viola, M., Karousou, E., Genasetti, A., Clerici, M., Bartolini, B., Hascall, V. C., De Luca, G., and Passi, A. (2009) The effects of 4-methylumbelliferone on hyaluronan synthesis, MMP2 activity, proliferation, and motility of human aortic smooth muscle cells, *Glycobiology*, **19**, 537-546, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwp022>.
32. Tsitrina, A. A., Halimani, N., Andreichenko, I. N., Sabirov, M., Nesterchuk, M., Dashenkova, N. O., Romanov, R., Bulgakova, E. V., Mikaelyan, A., and Kotelevtsev, Y. (2023) 4-methylumbelliferone targets revealed by public data analysis and liver transcriptome sequencing, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 2129, <https://doi.org/10.3390/ijms24032129>.
33. Díaz, M., Pibuel, M., Paglilla, N., Poodts, D., Álvarez, E., Papademetrio, D. L., Hajos, S. E., and Lompardía, S. L. (2021) 4-Methylumbelliferone induces antitumor effects independently of hyaluronan synthesis inhibition in human acute leukemia cell lines, *Life Sci.*, **287**, 120065, <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120065>.

34. Zhang, W., Watson, C. E., Liu, C., Williams, K. J., and Werth, V. P. (2000) Glucocorticoids induce a near-total suppression of hyaluronan synthase mRNA in dermal fibroblasts and in osteoblasts: a molecular mechanism contributing to organ atrophy, *Biochem. J.*, **349**, 91-97, <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3490091>.
35. Saito, T., Tamura, D., Nakamura, T., Makita, Y., Ariyama, H., Komiyama, K., Yoshihara, T., and Asano, R. (2013) 4-methylumbelliferone leads to growth arrest and apoptosis in canine mammary tumor cells, *Oncol. Rep.*, **29**, 335-342, <https://doi.org/10.3892/or.2012.2100>.
36. Ban, H., Uchakina, O., and McKallip, R. J. (2015) Hyaluronic acid inhibitor 4-methylumbelliferone activates the intrinsic apoptosis pathway in K562 chronic myelogenous leukemia cells, *Anticancer Res.*, **35**, 5231-5240.
37. Halimani, N., Nesterchuk, M., Tsitrina, A. A., Sabirov, M., Andreichenko, I. N., Dashenkova, N. O., Petrova, E., Kulikov, A. M., Zatsepin, T. S., Romanov, R. A., Mikaelyan, A. S., and Kotelevtsev, Y. V. (2024) Knockdown of Hyaluronan synthase 2 suppresses liver fibrosis in mice via induction of transcriptomic changes similar to 4MU treatment, *Sci. Rep.*, **14**, 2797, <https://doi.org/10.1038/s41598-024-53089-x>.
38. Kim, Y., and Kumar, S. (2014) CD44-mediated adhesion to hyaluronic acid contributes to mechanosensing and invasive motility, *Mol. Cancer Res.*, **12**, 1416-1429, <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0629>.
39. Pibuel, M. A., Díaz, M., Molinari, Y., Poodts, D., Silvestroff, L., Lompardía, S. L., Franco, P., and Hajos, S. E. (2021) 4-Methylumbelliferone as a potent and selective antitumor drug on a glioblastoma model, *Glycobiology*, **31**, 29-43, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwaa046>.
40. Pibuel, M. A., Poodts, D., Díaz, M., Molinari, Y. A., Franco, P. G., Hajos, S. E., and Lompardía, S. L. (2021) Anti-tumor effect of 4MU on glioblastoma cells is mediated by senescence induction and CD44, RHAMM and p-ERK modulation, *Cell Death Discov.*, **7**, 280, <https://doi.org/10.1038/s41420-021-00672-0>.
41. Pibuel, M. A., Poodts, D., Sias, S. A., Byrne, A., Hajos, S. E., Franco, P. G., and Lompardía, S. L. (2023) 4-Methylumbelliferone enhances the effects of chemotherapy on both temozolomide-sensitive and resistant glioblastoma cells, *Sci. Rep.*, **13**, 9356, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35045-3>.
42. Yan, T., Chen, X., Zhan, H., Yao, P., Wang, N., Yang, H., Zhang, C., Wang, K., Hu, H., Li, J., Sun, J., Dong, Y., Lu, E., Zheng, Z., Zhang, R., Wang, X., Ma, J., Gao, M., Ye, J., Wang, X., Teng, L., Liu, H., and Zhao, S. (2021) Interfering with hyaluronic acid metabolism suppresses glioma cell proliferation by regulating autophagy, *Cell Death Dis.*, **12**, 486, <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03747-z>.
43. Chistyakov, D. V., Nikolskaya, A. I., Goriainov, S. V., Astakhova, A. A., and Sergeeva, M. G. (2020) Inhibitor of hyaluronic acid synthesis 4-methylumbelliferone as an anti-inflammatory modulator of LPS-mediated astrocyte responses, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 8203, <https://doi.org/10.3390/ijms21218203>.
44. Dubisova, J., Burianova, J. S., Svobodova, L., Makovicky, P., Martinez-Varea, N., Cimpean, A., Fawcett, J. W., Kwok, J. C. F., and Kubinova, S. (2022) Oral treatment of 4-methylumbelliferone reduced perineuronal nets and improved recognition memory in mice, *Brain Res. Bull.*, **181**, 144-156, <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.01.011>.
45. McKallip, R. J., Hagele, H. F., and Uchakina, O. N. (2013) Treatment with the hyaluronic acid synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone suppresses SEB-induced lung inflammation, *Toxins (Basel)*, **5**, 1814-1826, <https://doi.org/10.3390/toxins5101814>.
46. McKallip, R. J., Ban, H., and Uchakina, O. N. (2015) Treatment with the hyaluronic Acid synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone suppresses LPS-induced lung inflammation, *Inflammation*, **38**, 1250-1259, <https://doi.org/10.1007/s10753-014-0092-y>.
47. Wang, H. N., Xiang, Q. A., Lin, H. H., Chen, J. N., Guo, W. J., Guo, W. M., Yue, X. N., Zhao, Z. F., Ji K., and Chen, J. J. (2022) Plant-derived molecule 4-methylumbelliferone suppresses FcεRI-mediated mast cell activation and allergic inflammation, *Molecules*, **27**, 1577, <https://doi.org/10.3390/molecules27051577>.
48. Lee, S. N., Yoon, S. A., Song, J. M., Kim, H. C., Cho, H. J., Choi, A. M. K., and Yoon, J. H. (2022) Cell-type-specific expression of hyaluronan synthases HAS2 and HAS3 promotes goblet cell hyperplasia in allergic airway inflammation, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **67**, 360-374, <https://doi.org/10.1165/rcmb.2021-0527OC>.
49. Galkina, S. I., Fedorova, N. V., Ksenofontov, A. L., Golenkina, E. A., Serebryakova, M. V., Stadnichuk, V. I., Baratova, L. A., and Sud'ina, G. F. (2022) Inhibitor of hyaluronic acid synthesis 4-methylumbelliferone suppresses the secretory processes that ensure the invasion of neutrophils into tissues and induce inflammation, *Biomedicines*, **10**, 314, <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020314>.
50. Hasegawa, K., Saga, R., Ohuchi, K., Kuwahara, Y., Tomita, K., Okumura, K., Sato, T., Fukumoto, M., Tsuruga, E., and Hosokawa, Y. (2022) 4-Methylumbelliferone enhances radiosensitizing effects of radioresistant oral squamous cell carcinoma cells via hyaluronan synthase 3 suppression, *Cells*, **11**, 3780, <https://doi.org/10.3390/cells11233780>.
51. Quaranta, S., Rossetti, S., and Camarri, E. (1984) Double-blind clinical study on hymecromone and placebo in motor disorders of the bile ducts after cholecystectomy, *Clin. Ter.*, **108**, 513-517.
52. Krawzak, H. W., Heistermann, H. P., Andrejewski, K., and Hohlbach, G. (1995) Postprandial bile-duct kinetics under the influence of 4-methylumbelliferone (hymecromone), *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **33**, 569-572.

53. Yoon, Y., Chae, M. K., Lee, E. J., and Yoon, J. S. (2020) 4-Methylumbelliferone suppresses hyaluronan and adipogenesis in primary cultured orbital fibroblasts from Graves' orbitopathy, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **258**, 1095-1102, <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04528-3>.
54. Marshall, P. L., Nagy, N., Kaber, G., Barlow, G. L., Ramesh, A., Xie, B. J., Linde, M. H., Haddock, N. L., Lester, C. A., Tran, Q. L., de Vries, C. R., Hargil, A., Malkovskiy, A. V., Gurevich, I., Martinez, H. A., Kuipers, H. F., Yadava, K., Zhang, X., Evanko, S. P., Gebe, J. A., Wang, X., Vernon, R. B., de la Motte, C., Wight, T. N., Engleman, E. G., Krams, S. M., Meyer, E. H., and Bollyky, P. L. (2021) Hyaluronan synthesis inhibition impairs antigen presentation and delays transplantation rejection, *Matrix Biol.*, **96**, 69-86, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2020.12.001>.
55. Gebe, J. A., Gooden, M. D., Workman, G., Nagy, N., Bollyky, P. L., Wight, T. N., and Vernon, R. B. (2020) Modulation of hyaluronan synthases and involvement of T cell-derived hyaluronan in autoimmune responses to transplanted islets, *Matrix Biol. Plus*, **9**, 100052, <https://doi.org/10.1016/j.mbplus.2020.100052>.
56. Imani, J., Liu, K., Cui, Y., Assaker, J. P., Han, J., Ghosh, A. J., Ng, J., Shrestha, S., Lamattina, A. M., Louis, P. H., Hentschel, A., Esposito, A. J., Rosas, I. O., Liu, X., Perrella, M. A., Azzi, J., Visner, G., and El-Chemaly, S. (2021) Blocking hyaluronan synthesis alleviates acute lung allograft rejection, *JCI Insight.*, **6**, e142217, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.142217>.
57. Uchakina, O. N., Ban, H., and McCallip, R. J. (2013) Targeting hyaluronic acid production for the treatment of leukemia: treatment with 4-methylumbelliferone leads to induction of MAPK-mediated apoptosis in K562 leukemia, *Leuk. Res.*, **37**, 1294-1301, <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.07.009>.
58. Uchakina, O. N., Ban, H., Hostetler, B. J., and McCallip, R. J. (2016) Inhibition of hyaluronic acid formation sensitizes chronic myelogenous leukemia to treatment with doxorubicin, *Glycobiology*, **26**, 1171-1179, <https://doi.org/10.1093/glycob/cww064>.
59. Lompardía, S. L., Díaz, M., Papademetrio, D. L., Pibuel, M., Álvarez, É., and Hajos, S. E. (2017) 4-methylumbelliferone and imatinib combination enhances senescence induction in chronic myeloid leukemia cell lines, *Invest. New Drugs*, **35**, 1-10, <https://doi.org/10.1007/s10637-016-0397-9>.
60. Cho, H., Matsumoto, S., Fujita, Y., Kuroda, A., Menju, T., Sonobe, M., Kondo, N., Torii, I., Nakano, T., Lara, P. N., Gandara, D. R., Date, H., and Hasegawa, S. (2017) Trametinib plus 4-methylumbelliferone exhibits antitumor effects by ERK blockade and CD44 downregulation and affects PD-1 and PD-L1 in malignant pleural mesothelioma, *J. Thorac. Oncol.*, **12**, 477-490, <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2016.10.023>.
61. Collum, S. D., Chen, N. Y., Hernandez, A. M., Hanmandlu, A., Sweeney, H., Mertens, T. C. J., Weng, T., Luo, F., Molina, J. G., Davies, J., Horan, I. P., Morrell, N. W., Amione-Guerra, J., Al-Jabbari, O., Youker, K., Sun, W., Rajadas, J., Bollyky, P. L., Akkanti, B. H., Jyothula, S., Sinha, N., Guha, A., and Karmouty-Quintana, H. (2017) Inhibition of hyaluronan synthesis attenuates pulmonary hypertension associated with lung fibrosis, *Br. J. Pharmacol.*, **174**, 3284-3301, <https://doi.org/10.1111/bph.13947>.
62. Karalis, T. T., Heldin, P., Vynios, D. H., Neill, T., Buraschi, S., Iozzo, R. V., Karamanos, N. K., and Skandalis, S. S. (2019) Tumor-suppressive functions of 4-MU on breast cancer cells of different ER status: regulation of hyaluronan/HAS2/CD44 and specific matrix effectors, *Matrix Biol.*, **78-79**, 118-138, <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.04.007>.
63. Choi, B. H., Ryoo, I., Sim, K. H., Ahn, H. J., Lee, Y. J., and Kwak, M. K. (2022) High levels of hyaluronic acid synthase-2 mediate NRF2-driven chemoresistance in breast cancer cells, *Biomol. Ther. (Seoul)*, **30**, 368-379, <https://doi.org/10.4062/biomolther.2022.074>.
64. Morera, D. S., Hennig, M. S., Talukder, A., Lokeshwar, S. D., Wang, J., Garcia-Roig, M., Ortiz, N., Yates, T. J., Lopez, L. E., Kallifatidis, G., Kramer, M. W., Jordan, A. R., Merseburger, A. S., Manoharan, M., Soloway, M. S., Terris, M. K., and Lokeshwar, V. B. (2017) Hyaluronic acid family in bladder cancer: potential prognostic biomarkers and therapeutic targets, *Br. J. Cancer*, **117**, 1507-1517, <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.318>.
65. Ikuta, K., Ota, T., Zhuo, L., Urakawa, H., Kozawa, E., Hamada, S., Kimata, K., Ishiguro, N., and Nishida, Y. (2017) Antitumor effects of 4-methylumbelliferone, a hyaluronan synthesis inhibitor, on malignant peripheral nerve sheath tumor, *Int. J. Cancer*, **140**, 469-479, <https://doi.org/10.1002/ijc.30460>.
66. Piccioni, F., Malvicini, M., Garcia, M. G., Rodriguez, A., Atorrasagasti, C., Kippes, N., Piedra Buena, I. T., Rizzo, M. M., Bayo, J., Aquino, J., Viola, M., Passi, A., Alaniz, L., and Mazzolini, G. (2012) Antitumor effects of hyaluronic acid inhibitor 4-methylumbelliferone in an orthotopic hepatocellular carcinoma model in mice, *Glycobiology*, **22**, 400-410, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwr158>.
67. Piccioni, F., Fiore, E., Bayo, J., Atorrasagasti, C., Peixoto, E., Rizzo, M., Malvicini, M., Tirado-González, I., García, M. G., Alaniz, L., and Mazzolini, G. (2015) 4-methylumbelliferone inhibits hepatocellular carcinoma growth by decreasing IL-6 production and angiogenesis, *Glycobiology*, **25**, 825-835, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv023>.
68. Rodríguez, M. M., Onorato, A., Cantero, M. J., Domínguez, L., Bayo, J., Fiore, E., García, M., Atorrasagasti, C., Canbay, A., Malvicini, M., and Mazzolini, G. D. (2021) 4-methylumbelliferone-mediated polarization of

- M1 macrophages correlate with decreased hepatocellular carcinoma aggressiveness in mice, *Sci. Rep.*, **11**, 6310, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85491-0>.
69. Weiz, G., Molejon, M.L., Malvicini, M., Sukowati, C. H. C., Tiribelli, C., Mazzolini, G., and Breccia, J. D. (2022) Glycosylated 4-methylumbelliferone as a targeted therapy for hepatocellular carcinoma, *Liver Int.*, **42**, 444-457, <https://doi.org/10.1111/liv.15084>.
70. Yoshihara, S., Kon, A., Kudo, D., Nakazawa, H., Kakizaki, I., Sasaki, M., Endo, M., and Takagaki, K. (2005) A hyaluronan synthase suppressor, 4-methylumbelliferone, inhibits liver metastasis of melanoma cells, *FEBS Lett.*, **579**, 2722-2726, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.03.079>.
71. Yang, Y. M., Wang, Z., Matsuda, M., and Seki, E. (2021) Inhibition of hyaluronan synthesis by 4-methylumbelliferone ameliorates non-alcoholic steatohepatitis in choline-deficient L-amino acid-defined diet-induced murine model, *Arch. Pharm. Res.*, **44**, 230-240, <https://doi.org/10.1007/s12272-021-01309-7>.
72. Nakazawa, H., Yoshihara, S., Kudo, D., Morohashi, H., Kakizaki, I., Kon, A., Takagaki, K., and Sasaki, M. (2006) 4-methylumbelliferone, a hyaluronan synthase suppressor, enhances the anticancer activity of gemcitabine in human pancreatic cancer cells, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **57**, 165-170, <https://doi.org/10.1007/s00280-005-0016-5>.
73. Yoshida, E., Kudo, D., Nagase, H., Shimoda, H., Suto, S., Negishi, M., Kakizaki, I., Endo, M., and Hakamada, K. (2016) Antitumor effects of the hyaluronan inhibitor 4-methylumbelliferone on pancreatic cancer, *Oncol. Lett.*, **12**, 2337-2344, <https://doi.org/10.3892/ol.2016.4930>.
74. Nagase, H., Kudo, D., Suto, A., Yoshida, E., Suto, S., Negishi, M., Kakizaki, I., and Hakamada, K. (2017) 4-methylumbelliferone suppresses hyaluronan synthesis and tumor progression in SCID mice intra-abdominally inoculated with pancreatic cancer cells, *Pancreas*, **46**, 190-197, <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000741>.
75. Cheng, X. B., Sato, N., Kohi, S., Koga, A., and Hirata, K. (2018) 4-Methylumbelliferone inhibits enhanced hyaluronan synthesis and cell migration in pancreatic cancer cells in response to tumor-stromal interactions, *Oncol. Lett.*, **15**, 6297-6301, <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8147>.
76. Yoshida, E., Kudo, D., Nagase, H., Suto, A., Shimoda, H., Suto, S., Kakizaki, I., Endo, M., and Hakamada, K. (2018) 4-methylumbelliferone decreases the hyaluronan-rich extracellular matrix and increases the effectiveness of 5-fluorouracil, *Anticancer Res.*, **38**, 5799-5804, <https://doi.org/10.21873/anticanres.12919>.
77. Kudo, Y., Kohi, S., Hirata, K., Goggins, M., and Sato, N. (2019) Hyaluronan activated-metabolism phenotype (HAMP) in pancreatic ductal adenocarcinoma, *Oncotarget*, **10**, 5592-5604, <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27172>.
78. Suto, A., Kudo, D., Yoshida, E., Nagase, H., Suto, S., Mimura, J., Itoh, K., and Hakamada, K. (2019) Increase of tumor infiltrating $\gamma\delta$ T-cells in pancreatic ductal adenocarcinoma through remodeling of the extracellular matrix by a hyaluronan synthesis suppressor, 4-methylumbelliferone, *Pancreas*, **48**, 292-298, <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001211>.
79. Benitez, A., Yates, T. J., Shamaldevi, N., Bowen, T., Lokeshwar, V. B. (2013) Dietary supplement hycromone and sorafenib: a novel combination for the control of renal cell carcinoma, *J. Urol.*, **190**, 285-290, <https://doi.org/10.1016/j.juro.2012.12.011>.
80. Colombaro, V., Declèves, A. E., Jadot, I., Voisin, V., Giordano, L., Habsch, I., Nonclercq, D., Flamion, B., and Caron, N. (2013) Inhibition of hyaluronan is protective against renal ischaemia-reperfusion injury, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **28**, 2484-2493, <https://doi.org/10.1093/ndt/gft314>.
81. Jordan, A. R., Wang, J., Yates, T. J., Hasanali, S. L., Lokeshwar, S. D., Morera, D. S., Shamaladevi, N., Li, C. S., Klaassen, Z., Terris, M. K., Thangaraju, M., Singh, A. B., Soloway, M. S., and Lokeshwar, V. B. (2020) Molecular targeting of renal cell carcinoma by an oral combination, *Oncogenesis*, **9**, 52, <https://doi.org/10.1038/s41389-020-0233-0>.
82. Selman, G., Martinez, L., Lightle, A., Aguilar, A., Woltmann, D., Xiao, Y., Vazquez-Padron, R. I., and Salman, L. H. (2021) A hyaluronan synthesis inhibitor delays the progression of diabetic kidney disease in a mouse experimental model, *Kidney360*, **2**, 809-818, <https://doi.org/10.34067/KID.0004642020>.
83. Wang, J., Jordan, A. R., Zhu, H., Hasanali, S. L., Thomas, E., Lokeshwar, S. D., Morera, D. S., Alexander, S., McDaniels, J., Sharma, A., Aguilar, K., Sarcan, S., Zhu, T., Soloway, M. S., Terris, M. K., Thangaraju, M., Lopez, L. E., and Lokeshwar, V. B. (2022) Targeting hyaluronic acid synthase-3 (HAS3) for the treatment of advanced renal cell carcinoma, *Cancer Cell Int.*, **22**, 421, <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02818-1>.
84. Lokeshwar, V. B., Lopez, L. E., Munoz, D., Chi, A., Shirodkar, S. P., Lokeshwar, S. D., Escudero, D. O., Dhir, N., and Altman, N. (2010) Antitumor activity of hyaluronic acid synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone in prostate cancer cells, *Cancer Res.*, **70**, 2613-2623, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3185>.
85. Yates, T. J., Lopez, L. E., Lokeshwar, S. D., Ortiz, N., Kallifatidis, G., Jordan, A., Hoye, K., Altman, N., and Lokeshwar, V. B. (2015) Dietary supplement 4-methylumbelliferone: an effective chemopreventive and therapeutic agent for prostate cancer, *J. Natl. Cancer Inst.*, **107**, djv085, <https://doi.org/10.1093/jnci/djv085>.

86. Saga, R., Monzen, S., Chiba, M., Yoshino, H., Nakamura, T., and Hosokawa, Y. (2017) Anti-tumor and anti-invasion effects of a combination of 4-methylumbelliferone and ionizing radiation in human fibrosarcoma cells, *Oncol. Lett.*, **13**, 410-416, <https://doi.org/10.3892/ol.2016.5385>.
87. Saga, R., Hasegawa, K., Murata, K., Chiba, M., Nakamura, T., Okumura, K., Tsuruga, E., and Hosokawa, Y. (2019) Regulation of radiosensitivity by 4-methylumbelliferone via the suppression of interleukin-1 in fibrosarcoma cells, *Oncol. Lett.*, **17**, 3555-3561, <https://doi.org/10.3892/ol.2019.9990>.
88. Hasegawa, K., Saga, R., Takahashi, R., Fukui, R., Chiba, M., Okumura, K., Tsuruga, E., and Hosokawa, Y. (2020) 4-methylumbelliferone inhibits clonogenic potency by suppressing high molecular weight-hyaluronan in fibrosarcoma cells, *Oncol. Lett.*, **19**, 2801-2808, <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11370>.
89. Saga, R., Matsuya, Y., Takahashi, R., Hasegawa, K., Date, H., and Hosokawa, Y. (2021) 4-Methylumbelliferone administration enhances radiosensitivity of human fibrosarcoma by intercellular communication, *Sci. Rep.*, **11**, 8258, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87850-3>.
90. Malvicini, M., Fiore, E., Ghiaccio, V., Piccioni, F., Rizzo, M., Olmedo, Bonadeo L., García, M., Rodríguez, M., Bayo, J., Peixoto, E., Atorrasagasti, C., Alaniz, L., Aquino, J., Matar, P., and Mazzolini, G. (2015) Tumor microenvironment remodeling by 4-methylumbelliferone boosts the antitumor effect of combined immunotherapy in murine colorectal carcinoma, *Mol. Ther.*, **23**, 1444-1455, <https://doi.org/10.1038/mt.2015.112>.
91. Zhan, D., Yalcin, F., Ma, D., Fu, Y., Wei, S., Lal, B., Li, Y., Dzaye, O., Latterra, J., Ying, M., Lopez-Bertoni, H., and Xia, S. (2021) Targeting UDP- α -D-glucose 6-dehydrogenase alters the CNS tumor immune microenvironment and inhibits glioblastoma growth, *Genes Dis.*, **9**, 717-730, <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2021.08.008>.
92. Olivares, C. N., Alaniz, L. D., Menger, M. D., Barañao, R. I., Laschke, M. W., and Meresman, G. F. (2016) Inhibition of hyaluronic acid synthesis suppresses angiogenesis in developing endometriotic lesions, *PLoS One*, **11**, e0152302, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152302>.
93. McLaughlin, J. E., Santos, M. T., Binkley, P. A., Sultana, M., Tekmal, R. R., Schenken, R. S., and Knudtson, J. F. (2020) Inhibition of hyaluronic acid synthesis decreases endometrial cell attachment, migration, and invasion, *Reprod. Sci.*, **27**, 1058-1063, <https://doi.org/10.1007/s43032-019-00100-w>.
94. Olivares, C. N., Ricci, A. G., Bilotas, M. A., Alaniz, L., Barañao, R. I., and Meresman, G. F. (2023) Effects of pharmacological inhibition of hyaluronic acid synthesis on experimental endometriosis, *Eur. J. Clin. Invest.*, **53**, e13899, <https://doi.org/10.1111/eci.13899>.
95. Tamura, R., Yokoyama, Y., Yoshida, H., Imaizumi, T., and Mizunuma, H. (2014) 4-Methylumbelliferone inhibits ovarian cancer growth by suppressing thymidine phosphorylase expression, *J. Ovarian Res.*, **7**, 94, <https://doi.org/10.1186/s13048-014-0094-2>.
96. Lokman, N. A., Price, Z. K., Hawkins, E. K., Macpherson, A. M., Oehler, M. K., and Ricciardelli, C. (2019) 4-Methylumbelliferone inhibits cancer stem cell activation and overcomes chemoresistance in ovarian cancer, *Cancers (Basel)*, **11**, 1187, <https://doi.org/10.3390/cancers11081187>.
97. An, G., Park, S., Lee, M., Lim, W., and Song, G. (2020) Antiproliferative effect of 4-methylumbelliferone in epithelial ovarian cancer cells is mediated by disruption of intracellular homeostasis and regulation of PI3K/AKT and MAPK signaling, *Pharmaceutics*, **12**, 640, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12070640>.
98. Spinelli, F. M., Vitale, D. L., Icardi, A., Caon, I., Brandone, A., Giannoni, P., Saturno, V., Passi, A., García, M., Sevic, I., and Alaniz, L. (2019) Hyaluronan preconditioning of monocytes/macrophages affects their angiogenic behavior and regulation of TSG-6 expression in a tumor type-specific manner, *FEBS J.*, **286**, 3433-3449, <https://doi.org/10.1111/febs.14871>.
99. Höbarth, K., Maier, U., and Marberger, M. (1992) Topical chemoprophylaxis of superficial bladder cancer with mitomycin C and adjuvant hyaluronidase, *Eur. Urol.*, **21**, 206-210, <https://doi.org/10.1159/000474839>.
100. Ruponen, M., Honkakoski, P., Tammi, M., and Urtti, A. (2004) Cell-surface glycosaminoglycans inhibit cation-mediated gene transfer, *J. Gene Med.*, **6**, 405-414, <https://doi.org/10.1002/jgm.522>.
101. Miyamoto, H., Murakami, T., Tsuchida, K., Sugino, H., Miyake, H., and Tashiro, S. (2004) Tumor-stroma interaction of human pancreatic cancer: acquired resistance to anticancer drugs and proliferation regulation is dependent on extracellular matrix proteins, *Pancreas*, **28**, 38-44, <https://doi.org/10.1097/00006676-200401000-00006>.
102. Fang, H., and Declerck, Y. A. (2013) Targeting the tumor microenvironment: from understanding pathways to effective clinical trials, *Cancer Res.*, **73**, 4965-4977, <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-0661>.
103. Heldin, C. H., Rubin, K., Pietras, K., and Ostman, A. (2004) High interstitial fluid pressure – an obstacle in cancer therapy, *Nat. Rev. Cancer*, **4**, 806-813, <https://doi.org/10.1038/nrc1456>.
104. Padera, T. P., Stoll, B. R., Tooredman, J. B., Capen, D., di Tomaso, E., and Jain, R. K. (2004) Pathology: cancer cells compress intratumour vessels, *Nature*, **427**, 695, <https://doi.org/10.1038/427695a>.
105. Toole, B. P. (2004) Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue, *Nat. Rev. Cancer*, **4**, 528-539, <https://doi.org/10.1038/nrc1391>.

106. Friman, T., Gustafsson, R., Stuhr, L.B., Chidiac, J., Heldin, N. E., Reed, R. K., Oldberg, A., and Rubin, K. (2012) Increased fibrosis and interstitial fluid pressure in two different types of syngeneic murine carcinoma grown in integrin $\beta 3$ -subunit deficient mice, *PLoS One*, **7**, e34082, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034082>.
107. Singha, N. C., Nekoroski, T., Zhao, C., Symons, R., Jiang, P., Frost, G. I., Huang, Z., and Shepard, H. M. (2015) Tumor-associated hyaluronan limits efficacy of monoclonal antibody therapy, *Mol. Cancer Ther.*, **14**, 523-532, <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-14-0580>.
108. Twarock, S., Reichert, C., Bach, K., Reiners, O., Kretschmer, I., Gorski, D. J., Gorges, K., Grandoch, M., and Fischer, J. W. (2019) Inhibition of the hyaluronan matrix enhances metabolic anticancer therapy by dichloroacetate *in vitro* and *in vivo*, *Br. J. Pharmacol.*, **176**, 4474-4490, <https://doi.org/10.1111/bph.14808>.
109. Abildgaard, C., Rizza, S., Christiansen, H., Schmidt, S., Dahl, C., Abdul-Al, A., Christensen, A., Filomeni, G., and Guldberg, P. (2021) Screening of metabolic modulators identifies new strategies to target metabolic reprogramming in melanoma, *Sci. Rep.*, **11**, 4390, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83796-8>.
110. Anand, V., Khandelwal, M., Appunni, S., Gupta, N., Seth, A., Singh, P., Mathur, S., and Sharma, A. (2019) CD44 splice variant (CD44v3) promotes progression of urothelial carcinoma of bladder through Akt/ERK/STAT3 pathways: novel therapeutic approach, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **145**, 2649-2661, <https://doi.org/10.1007/s00432-019-03024-9>.
111. Rodríguez, M. M., Fiore, E., Bayo, J., Atorrasagasti, C., García, M., Onorato, A., Domínguez, L., Malvicini, M., and Mazzolini, G. (2018) 4Mu decreases CD47 expression on hepatic cancer stem cells and primes a potent antitumor T cell response induced by interleukin-12, *Mol. Ther.*, **26**, 2738-2750, <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.09.012>.
112. Hountondji, L., Ferreira De Matos, C., Lebossé, F., Quantin, X., Lesage, C., Palassin, P., Rivet, V., Faure, S., Pageaux, G. P., Assenat, É., Alric, L., Zahhaf, A., Larrey, D., Witkowski Durand Viel, P., Riviere, B., Janick, S., Dalle, S., Maria, A. T. J., Comont, T., and Meunier, L. (2023) Clinical pattern of checkpoint inhibitor-induced liver injury in a multicentre cohort, *JHEP Rep.*, **5**, 100719, <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2023.100719>.
113. Tawbi, H. A., Schadendorf, D., Lipson, E. J., Ascierto, P. A., Matamala, L., Castillo, Gutiérrez, E., Rutkowski, P., Gogas, H. J., Lao, C. D., De Menezes, J. J., Dalle, S., Arance, A., Grob, J. J., Srivastava, S., Abaskharoun, M., Hamilton, M., Keidel, S., Simonsen, K. L., Sobiesk, A. M., Li B., Hodi, F. S., and Long, G. V. (2022) Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in untreated advanced melanoma, *N. Engl. J. Med.*, **386**, 24-34, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2109970>.
114. Malnick, S. D. H., Abdullah, A., and Neuman, M. G. (2021) Checkpoint Inhibitors and Hepatotoxicity, *Biomedicines*, **9**, 101, <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020101>.
115. De Martin, E., Michot, J.M., Rosmorduc, O., Guettier, C., and Samuel, D. (2020) Liver toxicity as a limiting factor to the increasing use of immune checkpoint inhibitors, *JHEP Rep.*, **2**, 100170, <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2020.100170>.
116. Hernandez, N., and Bessone, F. (2022) Hepatotoxicity induced by biological agents: clinical features and current controversies, *J. Clin. Transl. Hepatol.*, **10**, 486-495, <https://doi.org/10.14218/JCTH.2021.00243>.
117. Shah, P., Sundaram, V., and Björnsson, E. (2020) Biologic and checkpoint inhibitor-induced liver injury: a systematic literature review, *Hepatol. Commun.*, **4**, 172-184, <https://doi.org/10.1002/hep4.1465>.
118. Peeraphatdit, T. B., Wang, J., Odenwald, M. A., Hu, S., Hart, J., and Charlton, M. R. (2020) Hepatotoxicity from immune checkpoint inhibitors: a systematic review and management recommendation, *Hepatology*, **72**, 315-329, <https://doi.org/10.1002/hep.31227>.
119. Delire, B., De Martin, E., Meunier, L., Larrey, D., and Horsmans, Y. (2022) Immunotherapy and gene therapy: new challenges in the diagnosis and management of drug-induced liver injury, *Front. Pharmacol.*, **12**, 786174, <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.786174>.
120. Haanen, J., Obeid, M., Spain, L., Carbone, F., Wang, Y., Robert, C., Lyon, A. R., Wick, W., Kostine, M., Peters, S., Jordan, K., and Larkin, J. (2022) Management of toxicities from immunotherapy: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up, *Ann. Oncol.*, **33**, 1217-1238, <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.001>.
121. Puzanov, I., Diab, A., Abdallah, K., Bingham, C. O. 3rd., Brogdon, C., Dadu, R., Hamad, L., Kim, S., Lacouture, M. E., LeBoeuf, N. R., Lenihan, D., Onofrei, C., Shannon, V., Sharma, R., Silk, A. W., Skondra, D., Suarez-Almazor, M. E., Wang, Y., Wiley, K., Kaufman, H. L., and Ernstoff, M. S. (2017) Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Toxicity Management Working Group, *J. Immunother. Cancer*, **5**, 95, <https://doi.org/10.1186/s40425-017-0300-z>.
122. Brahmer, J. R., Lacchetti, C., Schneider, B. J., Atkins, M. B., Brassil, K. J., Caterino, J. M., Chau, I., Ernstoff, M. S., Gardner, J. M., Ginex, P., Hallmeyer, S., Holter Chakrabarty, J., Leighl, N. B., Mammen, J. S., McDermott, D. F., Naing, A., Nastoupil, L. J., Phillips, T., Porter, L. D., Puzanov, I., Reichner, C. A., Santomasso, B. D., Seigel, C., Spira, A., Suarez-Almazor, M. E., Wang, Y., Weber, J. S., Wolchok, J. D., and Thompson, J. A. (2018) Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American society of clinical oncology clinical practice guideline, *J. Clin. Oncol.*, **36**, 1714-1768, <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.77.6385>.

123. Dougan, M., Wang, Y., Rubio-Tapia, A., and Lim, J. K. (2021) AGA Clinical practice update on diagnosis and management of immune checkpoint inhibitor colitis and hepatitis: expert review, *Gastroenterology*, **160**, 1384-1393, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.08.063>.
124. Doherty, G. J., Duckworth, A. M., Davies, S. E., Mells, G. F., Brais, R., Harden, S. V., Parkinson, C. A., and Corrie, P. G. (2017) Severe steroid-resistant anti-PD1 T-cell checkpoint inhibitor-induced hepatotoxicity driven by biliary injury, *ESMO Open*, **2**, e000268, <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2017-000268>.
125. Onishi, S., Tajika, M., Bando, H., Matsubara, Y., Hosoda, W., Muro, K., and Niwa, Y. (2020) Ursodeoxycholic acid and bezafibrate were useful for steroid-refractory, immune-related hepatitis: a case report, *J. Med. Case Rep.*, **14**, 230, <https://doi.org/10.1186/s13256-020-02541-3>.
126. Sato, K., Hayashi, M., Abe, K., Fujita, M., Takahashi, A., and Ohira, H. (2020) Pembrolizumab-induced sclerosing cholangitis in a lung adenocarcinoma patient with a remarkable response to chemotherapy: a case report, *Clin. J. Gastroenterol.*, **13**, 1310-1314, <https://doi.org/10.1007/s12328-020-01178-5>.
127. Robles-Díaz, M., Nezic, L., Vujic-Aleksic, V., and Björnsson, E. S. (2021) Role of ursodeoxycholic acid in treating and preventing idiosyncratic drug-induced liver injury. A systematic review, *Front. Pharmacol.*, **12**, 744488, <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.744488>.
128. Cullen, S. N., Rust, C., Fleming, K., Edwards, C., Beuers, U., and Chapman, R. W. (2008) High dose ursodeoxycholic acid for the treatment of primary sclerosing cholangitis is safe and effective, *J. Hepatol.*, **48**, 792-800, <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.12.023>.
129. Ma, H., Zeng, M., Han, Y., Yan, H., Tang, H., Sheng, J., Hu, H., Cheng, L., Xie, Q., Zhu, Y., Chen, G., Gao, Z., Xie, W., Wang, J., Wu, S., Wang, G., Miao, X., Fu, X., Duan, L., Xu, J., Wei, L., Shi, G., Chen, C., Chen, M., Ning, Q., Yao, C., and Jia, J. (2016) A multicenter, randomized, double-blind trial comparing the efficacy and safety of TUDCA and UDCA in Chinese patients with primary biliary cholangitis, *Medicine (Baltimore)*, **95**, e5391, <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000005391>.
130. Xiang, X., Yang, X., Shen, M., Huang, C., Liu, Y., Fan, X., and Yang, L. (2021) Ursodeoxycholic acid at 18-22 mg/kg/d showed a promising capacity for treating refractory primary biliary cholangitis, *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.*, **2021**, 6691425, <https://doi.org/10.1155/2021/6691425>.
131. Steen, E. H., Short, W. D., Li, H., Parikh, U. M., Blum, A., Templeman, N., Nagy, N., Bollyky, P. L., Keswani, S. G., and Balaji, S. (2021) Skin-specific knockdown of hyaluronan in mice by an optimized topical 4-methylumbelliferone formulation, *Drug Deliv.*, **28**, 422-432, <https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1886376>.
132. Rilla, K., Pasonen-Seppänen, S., Rieppo, J., Tammi, M., and Tammi, R. (2004) The hyaluronan synthesis inhibitor 4-methylumbelliferone prevents keratinocyte activation and epidermal hyperproliferation induced by epidermal growth factor, *J. Invest. Dermatol.*, **123**, 708-714, <https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2004.23409.x>.
133. Supp, D. M., Hahn, J. M., McFarland, K. L., and Glaser, K. (2014) Inhibition of hyaluronan synthase 2 reduces the abnormal migration rate of keloid keratinocytes, *J. Burn Care Res.*, **35**, 84-92, <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e3182a2a9dd>.
134. Kim, T., Kim, K. B., and Hyun, C. G. (2023) A 7-hydroxy 4-methylcoumarin enhances melanogenesis in B16-F10 melanoma cells, *Molecules*, **28**, 3039, <https://doi.org/10.3390/molecules28073039>.
135. Vassallo, J. D., Hicks, S. M., Born, S. L., and Daston, G. P. (2004) Roles for epoxidation and detoxification of coumarin in determining species differences in Clara cell toxicity, *Toxicol. Sci.*, **82**, 26-33, <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh237>.
136. Egan, D., O'Kennedy, R., Moran, E., Cox, D., Prosser, E., and Thornes, R. D. (1990) The pharmacology, metabolism, analysis, and applications of coumarin and coumarin-related compounds, *Drug Metab. Rev.*, **22**, 503-529, <https://doi.org/10.3109/03602539008991449>.
137. Nagy, N., Gurevich, I., Kuipers, H. F., Ruppert, S. M., Marshall, P. L., Xie, B. J., Sun, W., Malkovskiy, A. V., Rajadas, J., Grandoch, M., Fischer, J. W., Frymoyer, A. R., Kaber, G., and Bollyky, P. L. (2019) 4-Methylumbelliferyl glucuronide contributes to hyaluronan synthesis inhibition, *J. Biol Chem.*, **294**, 7864-7877, <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006166>.
138. Охлобыстин А. В., Уфимцева А. К. (2020) Применение гимекромона при заболеваниях желчевыводящих путей: возможности и перспективы, *Вопросы детской диетологии*, **18**, 66-74, <https://doi.org/10.20953/1727-5784-2020-5-66-74>.
139. Garrett, E. R., and Venitz, J. (1994) Comparisons of detections, stabilities, and kinetics of degradation of hymecromone and its glucuronide and sulfate metabolites, *J. Pharm. Sci.*, **83**, 115-116, <https://doi.org/10.1002/jps.2600830128>.
140. Takeda, S., and Aburada, M. (1981) The choleric mechanism of coumarin compounds and phenolic compounds, *J. Pharmacobiodyn.*, **4**, 724-734, <https://doi.org/10.1248/bpb1978.4.724>.
141. Garrett, E. R., Venitz, J., Eberst, K., and Cerda, J. J. (1993) Pharmacokinetics and bioavailabilities of hymecromone in human volunteers, *Biopharm. Drug Dispos.*, **14**, 13-39, <https://doi.org/10.1002/bdd.2510140103>.

142. Marshall, M. E., Mohler, J. L., Edmonds, K., Williams, B., Butler, K., Ryles, M., Weiss, L., Urban, D., Bueschen, A., and Markiewicz, M. (1994) An updated review of the clinical development of coumarin (1,2-benzopyrone) and 7-hydroxycoumarin, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **120**, S39-S42, <https://doi.org/10.1007/BF01377124>.
143. Lake, B. G. (1999) Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: relevance for human risk assessment, *Food Chem. Toxicol.*, **37**, 423-453, [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(99\)00010-1](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(99)00010-1).
144. Rosser, J. I., Nagy, N., Goel, R., Kaber, G., Demirdjian, S., Saxena, J., Bollyky, J. B., Frymoyer, A. R., Pacheco-Navarro, A. E., Burgener, E. B., Rajadas, J., Wang, Z., Arbach, O., Dunn, C. E., Kalinowski, A., Milla, C. E., and Bollyky, P. L. (2022) Oral hymecromone decreases hyaluronan in human study participants, *J. Clin. Invest.*, **132**, e157983, <https://doi.org/10.1172/JCI157983>.
145. Селезнева Э. Я., Мечетина Т. А., Орлова Ю. Н., Коричева Е. С., Войнован И. Н., Безаева И. В., Дубцова Е. А., Бордин Д. С. (2016) Сравнительное исследование эффективности монотерапии УДХК и комбинации УДХК с гимекромомом у больных с билиарным сладжем 2 стадии, *Экспериментальная клиническая гастроэнтерология*, **10**, 94-98.
146. Hoffmann, R. M., Schwarz, G., Pohl, C., Ziegenhagen, D. J., and Kruis, W. (2005) Bile acid-independent effect of hymecromone on bile secretion and common bile duct motility, *Dtsch. Med. Wochenschr.*, **130**, 1938-1943, <https://doi.org/10.1055/s-2005-872606>.
147. Abate, A., Dimartino, V., Spina, P., Costa, P. L., Lombardo, C., Santini, A., Del Piano, M., and Alimonti, P. (2001) Hymecromone in the treatment of motor disorders of the bile ducts: a multicenter, double-blind, placebo-controlled clinical study, *Drugs Exp. Clin. Res.*, **27**, 223-231.
148. Camarri, E., Marchettini, G. (1988) Hymecromone in the treatment of symptoms following surgery of the bile ducts, *Recenti Prog. Med.*, **79**, 198-202.
149. Ishizuka, S., Askew, E. B., Ishizuka, N., Knudson, C. B., and Knudson, W. (2016) 4-methylumbelliferone diminishes catabolically activated articular chondrocytes and cartilage explants via a mechanism independent of hyaluronan inhibition, *J. Biol. Chem.*, **291**, 12087-12104, <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.709683>.

4-METHYLUMBELLIFERONE, AN HYALURONAN SYNTHASE INHIBITOR, PREVENTS THE DEVELOPMENT OF ONCOLOGICAL, INFLAMMATORY, DEGENERATIVE AND AUTOIMMUNE DISORDERS

Review

V. V. Fedorova¹, A. Tsitrina², N. Halimani¹, and Y. V. Kotelevtsev^{1*}

¹ Skolkovo Institute of Science and Technology, 121205 Moscow, Russia; e-mail: y.kotelevtsev@skoltech.ru

² Ben-Gurion University of the Negev, 8410501 Be'er Sheva, Israel

In present review we consider numerous experiments on tissue cultures, animal models of diseases and the first clinical studies providing the prospects of creating new drugs based on 4-MU. We believe that along with many receptors and transcription factors, the main pharmacological target of 4-MU is the hyaluronan synthase, which produces the main component of the extracellular matrix, glycosaminoglycan, hyaluronic acid (HA). The pharmacological effects of 4-MU in oncological, autoimmune, degenerative and hypercompensated regenerative processes (fibrosis, scarring) are associated with inhibition of HA synthesis. Clinical drugs based on 4-MU will be the first in the class for the treatment of a wide range of diseases.

Keywords: 4-methylumbelliferone, odeston, hymecromone, hyaluronan synthase inhibition, hyaluronan synthase