



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

*“ANTIVIRALES BASADOS EN LA QUÍMICA DE CARBOHIDRATOS:
ANTAGONISTAS DE DC-SIGN”*

AUTOR: Luis Fernández Romero

TUTORA: María Josefa Hernaiz Gómez-Degano

CONVOCATORIA: Junio 2020

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. ANTECEDENTES.....	2
3. OBJETIVOS	3
4. METODOLOGÍA	3
5. INTRODUCCIÓN	3
1. Lectina DC-SIGN	3
2. Patogénesis del VIH mediada por DC-SIGN	5
6. DESARROLLO	6
1. Modelo QSAR	6
1. Lacto-N-fucopentosa III	7
2. Tetrasacárido man ₄	8
2. Estrategias para la síntesis de antagonistas de DC-SIGN	8
1. Antagonistas monovalentes	9
1. Derivados de carbohidratos	9
2. No derivados de carbohidratos	11
2. Antagonistas multivalentes	12
1. BH30SucMan	13
2. Polyman 26	15
7. CONCLUSIONES.....	17
8. BIBLIOGRAFÍA.....	18

ABREVIATURAS

VIH (virus de la inmunodeficiencia humana); **ITIN** (inhibidor de la retrotranscriptasa inversa análogo de los nucleósidos); **ITINN** (inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos); **ITINNt** (inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleótidos); **IP** (inhibidores de la proteasa); **IF** (inhibidor de la fusión); **II** (inhibidor de la integrasa); **ACCR5** (antagonista del coreceptor CCR5); **DC-SIGN** (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin); **CD** (célula dendrítica); **APC** (células presentadoras de antígenos)

ABSTRACT

DC-SIGN is a lectin that has sparked the interest of the scientific community over the last few years as a mediator of the infection of various pathogens, as are the Human Immunodeficiency Virus or Ebola virus. Antagonists of this lectin could present as a new alternative towards antiretroviral therapy (in the context of the HIV virus), and it could offer new pharmacodynamic and resistances profiles, which could benefit today's therapy. In this paper we are going to review the main antagonist developed against this lectin, as well as its quantitative structure-activity relationship.

RESUMEN

DC-SIGN es una lectina que ha despertado el interés de la comunidad científica en los últimos años por su papel como mediador en la infección de diversos patógenos, como son el Virus de la Inmunodeficiencia Humana o el Ébola. Los inhibidores de esta proteína podrían presentarse como una alternativa más al tratamiento antirretroviral en el caso del VIH, además de ofrecer nuevos perfiles farmacodinámicos y de resistencias que podrían beneficiar a la terapéutica actual. En este trabajo revisaremos los principales antagonistas que se han desarrollado frente a esta lectina, así como su relación estructura-actividad con la lectina.

ANTECEDENTES

La terapia antirretroviral ha supuesto un cambio positivo en la evolución de las enfermedades infecciosas. Disponemos de multitud de principios activos, que usados solos o en combinación con otros, permiten el control, la erradicación o la cronificación de enfermedades que hasta entonces resultaban mortales. El VIH es el virus en el que más esfuerzo se ha volcado por parte de la comunidad científica. La terapéutica actual consiste en la **combinación de dos o más fármacos** [1], de posología variable, que se deben administrar a lo largo de toda la vida del paciente. El perfil de efectos adversos también es muy diverso, incluyendo reacciones de hipersensibilidad (el *abacavir* induce reacciones alérgicas en pacientes con el alelo HLA-B*5701) [2]; reducción de la capacidad renal (como es el caso del *tenofovir*) [3]; e incluso alargando el intervalo QT (el *saquinavir* produce este fenómeno) [4]. A su vez, habría que sumarle las **interacciones fármaco-fármaco**: por ejemplo, el uso de *rilpivirina* [5] con carbamazapina, fenobarbital, rifampicina o la familia de los prazoles; ya que es un potente inductor del citocromo CYP3A e induce un aumento del pH gástrico. En este contexto, y dado que se trata de una **medicación mantenida a lo largo de la vida**, es importante que los fármacos administrados sean lo más seguros posibles y presenten un perfil de efectos adversos mínimo, para así interferir lo menos posible con la vida del paciente, y con otros tratamientos concomitantes.

Tabla 1: principales antivirales utilizados en la terapia contra el VIH.

Grupo farmacológico	Principio activo	Grupo farmacológico	Principio activo
ITIN ^a	Zidovudina Didanosina Zalcitabina Stavudina Lamivudina <i>Abacavir</i> Emtricitabina <i>Rilpivirina</i>	ITINN ^b	<i>Saquinavir</i> Ritonavir Indinavir Nelfinavir Amprenavir Lopinavir Atazanavir Darunavir
ITINN ^t ^c	<i>Tenofovir</i>	IP ^d	Nevirapine Delavirdine Efavirenz
IF ^e	Enfuvirtida	ACCR5 ^g	Maraviroc
II ^f	Dolutegravir Raltegravir Elvitegravir		

a (ITIN): inhibidor de la retrotranscriptasa inversa análogo de los nucleósidos; **b (ITINN):** inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos; **c (ITINnt):** inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleótidos, **d (IP):** inhibidores de la proteasa; **e (IF):** inhibidor de la fusión; **f (II):** inhibidor de la integrasa; **g (ACCR5):** antagonista del correptor CCR5.

El éxito de la terapia depende, en su mayor parte de la **adherencia** del paciente al régimen terapéutico, que se puede ver reforzada por factores como la relación médico-paciente, o afectada por la tolerabilidad al tratamiento. Los efectos crónicos y a corto plazo pueden ser un motivo que conduzca a la falta de adherencia, con el consiguiente desarrollo de resistencias y fracaso terapéutico [1, 6]. Por ello, el **desarrollo de nuevos fármacos** capaces de frenar el desarrollo del virus, manteniendo una buenas pautas posológicas y cuyas características farmacodinámicas y perfil de tolerancia les hagan buenos candidatos para ser utilizados en la terapéutica, debe ser un objetivo prioritario. Otro aspecto a tener en consideración es el **precio** del tratamiento, lo que le hace inaccesible en aquellos países donde el sistema sanitario no se hace cargo de los gastos de los tratamientos crónicos; o en los países en vías de desarrollo, que no disponen de amplia accesibilidad al tratamiento [6].

Al margen del tratamiento, la **profilaxis** es la mejor herramienta que poseemos para la prevención de la infección. El uso de preservativos, así como la terapia pre y postexposición al VIH resultan seguros y eficaces en la prevención de la infección [7]. No obstante, la terapia es costosa, impidiendo su uso en países subdesarrollados; y el uso del preservativo todavía no está arraigado en los países con mayor prevalencia de VIH [1].

En este contexto, **los antagonistas de DC-SIGN pueden ofrecer:** nuevos perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos que complementen a la terapéutica actual, nuevos perfiles de resistencia y potencial uso sistémico y tópico (en profilaxis).

OBJETIVOS:

El **objetivo** de esta revisión es dar a conocer la lectina DC-SIGN, sus implicaciones en la patogénesis de algunos microorganismos (destacando el VIH), y los principales antagonistas que se han desarrollado frente a esta lectina. De esta revisión podremos extraer la importancia de estos inhibidores como futura apuesta en el desarrollo de fármacos sistémicos y microbicidas tópicos que ayuden a frenar la transmisión del virus.

METODOLOGÍA:

Para la realización de este trabajo se realizó una **revisión bibliográfica** de diversos artículos científicos y tesis doctorales disponibles en distintas bases de datos: PubMed, Google Scholar, Elsevier, Scielo, Research Gate, UCM-prints, CSIC y Nature entre enero y mayo de 2020. Los principales términos utilizados en la búsqueda fueron: DC-SIGN, antagonistas DC-SIGN, lectinas tipo II, antagonistas derivados de carbohidratos, antivirales VIH. La mayor parte de los artículos consultados se encontraban en inglés. Algunas moléculas fueron escritas usando ChemDraw.

INTRODUCCIÓN:

1. LECTINA DC-SIGN.

La **lectina DC-SIGN** (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin), también llamada **CD209**, es un receptor expresado principalmente por las células dendríticas inmaduras (y por algunas poblaciones de macrófagos), y cuya función principal es el reconocimiento, y posterior anclaje, de la fracción azucarada en la superficie de glicoproteínas,

teniendo afinidad por estructuras con una elevada densidad de manosas y fucosas [8, 9]. DC-SIGN es una lectina de tipo C, el tipo más común (galectinas, lectinas tipo I, lectinas tipo S...) y estudiado de lectina [10]. **Sus principales receptores humanos** van a ser las **moléculas de adhesión intercelular 2 y 3** (ICAM-2, ICAM-3), que regulan la respuesta inmunitaria. ICAM-2 media la migración de las células dendríticas (DC) a los nodos linfáticos. ICAM-3 media la interacción entre las CD y los linfocitos T en reposo, estabilizando su interacción y favoreciendo el contacto peptidos-CMH con los TLRs [10]. No obstante, el interés principal de esta lectina no es su habilidad como mediador de la inmunidad, sino su capacidad para **interaccionar con las glicoproteínas de diversos patógenos**, permitiendo así su internalización en vesículas endocíticas, que se constituirán en endolisosomas que serán procesados a través de los Complejos Mayores de Histocompatibilidad I y II (CMH-I, CMH-II), induciendo un cambio conformacional en las propias CD que pasan a APCs (células presentadoras de antígenos) [11]. Estas APCs viajarán a los nódulos linfáticos, donde interaccionarán con los TLR de los linfocitos T inactivados. Este receptor resulta por tanto clave en el proceso de reconocimiento de patógenos, el procesamiento de sus antígenos y en desarrollar una respuesta inmune adaptativa eficaz.

Esta función puede ser utilizada, sin embargo, como **parte del mecanismo infectivo en diversos patógenos** [8-12], como pueden ser: virus (*VIH-1* y *VIH-2*, *SIV-1*, *Ébola*, *Hepatitis C*, *SARS*, *Citomegalovirus* o *Dengue*), bacterias (*Helicobacter pylori*, *Mycobacterium Tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae*), hongos (*Candida albicans*), y parásitos (*Schistosoma mansoni*, *Leishmania pifanoi*) entre otros. DC-SIGN va a interactuar mediante diversos mecanismos con las glicoproteínas de estos microorganismos, pudiendo desencadenar su propia infección en *cis* o la de otras células inmunitarias en *trans*, mecanismos que se tratarán más adelante.

DC-SIGN es una proteína transmembrana de tipo II perteneciente a la familia de las lectinas tipo C, que reconoce carbohidratos de manera calcio dependiente. **Estructuralmente** presenta tres dominios principales [8-12]:

- **Un dominio de reconocimiento de carbohidratos (CDR)**, que es una estructura globular consistente en 12 láminas β , dos hélices α , tres puentes disulfuro y tres cationes Ca^{2+} . Esta estructura forma dos bucles, en los cuales se alojan los 3 cationes de calcio. Los cationes en posición uno y tres son fundamentales para el mantenimiento de la estructura de la proteína, y forman enlaces adicionales con los residuos azucarados adyacentes al monosacárido central. El catión en posición dos se octocordina con el sustrato y es el responsable del reconocimiento [8]. Este dominio es el responsable de la interacción entre DC-SIGN y los carbohidratos de ciertas glicoproteínas propias, como pueden ser ICAM-2 e ICAM-3; y también con las glicoproteínas de patógenos como gp120 (VIH), GP1 (ébola)... entre otros.
- **Un dominio transmembrana, denominado cuello**, formado por 7 cadenas peptídicas de 23 aminoácidos que se repiten de forma completa, y una cadena adicional incompleta. El **cuello** de la proteína resulta fundamental para el desempeño de su actividad, puesto que es el responsable de los fenómenos de oligomerización (DC-SIGN es un tetrámero) [8, 9]. Esta capacidad, que comparte con otras lectinas tipo C, permite aumentar su afinidad y especificidad por los sustratos que reconoce. El cuello permite separar el CDR de la superficie celular, lo que permite interacciones múltiples con los glicanos que reconoce [9]. El proceso de tetramerización es pH-dependiente [10]. Además, DC-SIGN tiene la capacidad de formar clusters en la membrana plasmática, formando microdominios con una elevada afección por el sustrato. Estos microdominios están implicados a su vez en el proceso de internalización de patógenos [8].
- **Un dominio intracelular**, en el extremo N-terminal, que media procesos de internalización, reciclaje y señalización celular.

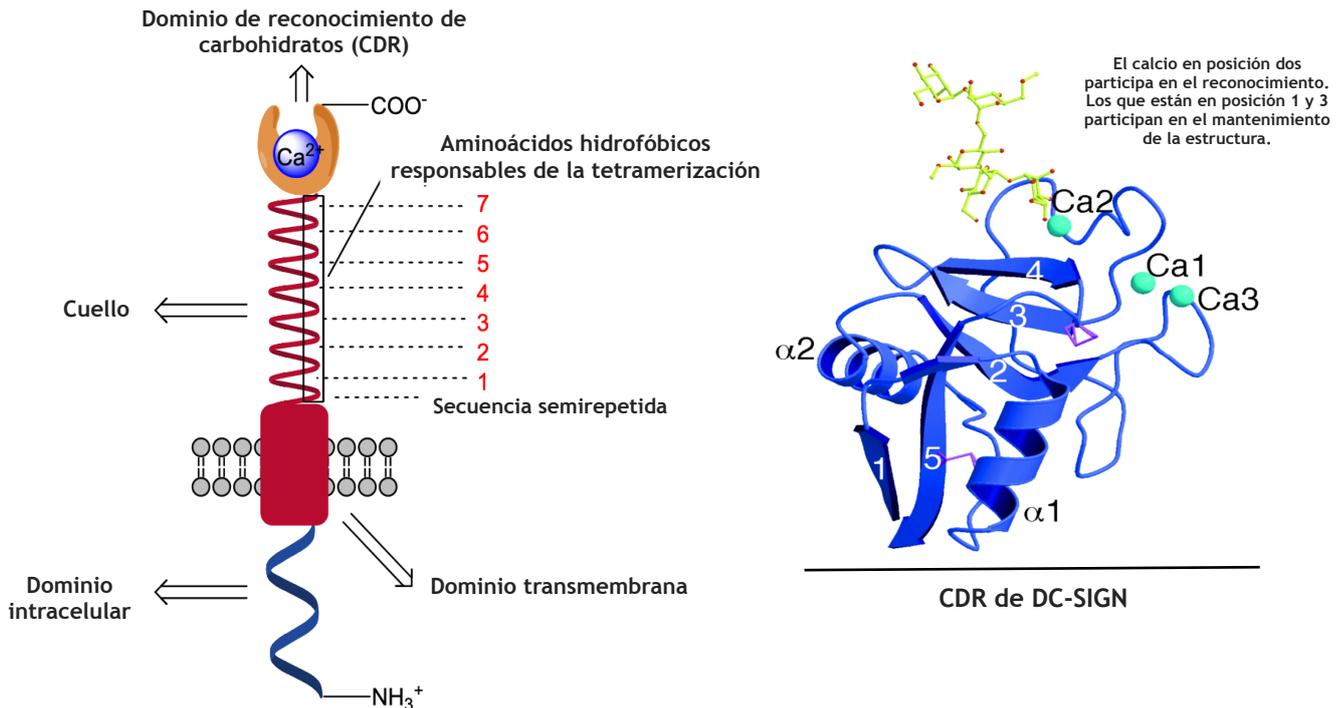


Figura 1: estructura de la lectina DC-SIGN y su CDR [9,14]

2. PATOGÉNESIS DEL VIH MEDIADA POR DC-SIGN:

El **virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)** es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA). Se trata de un retrovirus del género *Lentivirus* (familia Retroviridae) que fundamentalmente ataca a los linfocitos CD4⁺ colaboradores, indispensables en el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa [1]. La infección progresa lentamente, destruyendo la respuesta inmune y dejando al individuo susceptible a la aparición de infecciones oportunistas frente a las que es incapaz de luchar, lo que da lugar a una elevada tasa de mortalidad y comorbilidades asociadas.

Las principales **vías de transmisión** principales son sexual, parenteral y vertical (perinatal) [13]. La partícula viral es esférica, con un diámetro de 120 nm. Presenta una envoltura lipídica y una nucleocápsida que contiene el material genético, en forma de dos hebras simples de ARN. En la superficie se expresan dos glucoproteínas: gp41 y gp120, necesarias para el reconocimiento de los receptores de superficie de las células diana [11]. La glicoproteína gp120 resulta de especial importancia, puesto que contienen residuos altamente manosilados (high-mannose) que son los que van a interactuar con los receptores CD4, los correceptores CXCR4/CCR5 y la lectina DC-SIGN [8-12].

El ciclo biológico del VIH se puede dividir en dos fases: **temprana**, que finaliza al producirse la integración del ADN proviral en el genoma de la célula infectada; y **tardía** que requiere la transcripción del material genético viral y la formación de una progenie viral infectiva [1,12].

DC-SIGN es un **receptor clave en el proceso temprano de infección**, principalmente por la vía sexual [13]. Tras el contacto del patógeno con el epitelio, el virus de la inmunodeficiencia humana se une de manera activa a las células dendríticas inmaduras del epitelio (células de Langerhans) [15], que son las principales células que expresan esta lectina (DC-SIGN). Estas células dendríticas son altamente móviles: tras su unión a un antígeno migran a los nódulos linfáticos donde presentan

los antígenos, unidos a los complejos mayores de histocompatibilidad de clase I y II, a las células T inmaduras, interactuando con los receptores Toll-like y desencadenando una respuesta inmune adaptativa [13]. El VIH, sin embargo, utiliza este mecanismo de presentación antigénica para promocionar la infección de los linfocitos T CD4+. Esto lo hace a través de dos mecanismos:

- **Infección en cis:** la infección de las propias CD que presenten CD4+ conduce a la producción de novo de partículas víricas infectivas, que se liberan en los nódulos linfáticos. Se ha demostrado que las células dendríticas inmaduras son capaces de retener partículas víricas activas durante más de 6 días [14].
- **Infección en trans:** este es el mecanismo por el que las células dendríticas transfieren de manera directa el VIH a las células diana, (en el caso del VIH los linfocitos T CD4+). Esto lo hacen a su vez, a través de dos vías: bien mediante **sinapsis infecciosa**, en la que la partícula vírica, anclada a DC-SIGN, es puesta en contacto con los receptores CD4+ y los correceptores CXCR4 o CCR5, promoviendo el proceso de infección y estabilizando el contacto entre ambas partes; o bien mediante la utilización de **exosomas**, en la que las partículas víricas ancladas a DC-SIGN son internalizadas en vesículas endocíticas y más tarde regurgitadas en exosomas, presentando capacidad infectiva (este proceso también se conoce como **transferencia de segunda fase**) [14].

Es importante resaltar estos mecanismos de infección porque atendiendo a cual inhiban los antagonistas se podrán administrar para vía sistémica o para vía tópica (preferentemente usado en la profilaxis).

DESARROLLO:

1. MODELO Q-SAR:

La relación cuantitativa estructura-actividad resulta fundamental para entender como se relaciona la lectina DC-SIGN con sus sustratos, así como para entender los fundamentos sobre los que se basarán sus antagonistas. El dominio de reconocimiento de carbohidratos (CDR) reconoce de forma selectiva glicanos con D-manosa o L-fucosa terminales [8, 9, 10, 16]. Estos monosacáridos son la mínima forma de interacción con la lectina (estructuras más sencillas con afinidad por DC-SIGN), y la mayoría de los compuestos destinados a inhibir esta lectina se basan en la estructura de la D-manosa y la L-fucosa para establecer las interacciones con el centro activo. La unión de estos monosacáridos por sí mismos es bastante débil, con unas K_i (D-manosa) de 13,1 mM y una K_i (L-fucosa) de 6,7 mM [8], lo que demuestra la necesidad de interacciones adicionales para reforzar el proceso de unión (la mayor parte de los antirretrovirales utilizados en la terapéutica actual son eficaces a concentraciones nanomolares, e incluso picomolares) [1].

En las **etapas iniciales de la búsqueda de antagonistas de DC-SIGN** se buscaron todos aquellos glicanos con afinidad por la lectina, con el fin de elucidar qué estructuras químicas tenían la mayor capacidad de unión [17, 18]. Estas estructuras químicas sirvieron como molde para el estudio y la elaboración posterior de antagonistas más eficaces [10, 18]. En la siguiente tabla se recogen algunos de los **oligosacáridos** que presentan afinidad por DC-SIGN [8]. La **estructura** corresponde a la fracción de la molécula responsable de las interacciones con el centro activo. Se incluyen las afinidades por la lectina, ya que estos valores sirven para poder comparar los distintos compuestos. El uso de técnicas distintas para medir las afinidades hacen que la comparación no sea del todo representativa, pudiendo solo compararse en términos relativos.

Tabla 2: Principales mono/oligosacáridos con afinidad por DC-SIGN [8].

NOMBRE	ESTRUCTURA	TÉCNICA	AFINIDAD POR DC-SIGN
Manosa	D-manosa	Competición con BSA-Man*	$K_i = 13,1$ mM
High manosse	Man ₉ -GlcNAc ₂	Competición con BSA-Man*	$K_i = 0,21$ mM
Fucosa	L-fucose	Competición con BSA-Man*	$K_i = 6,7$ mM
Gp120 (VIH)	Man ₉ -GlcNAc ₂	Biosensor	$K_d = 0,3$ mM
Antígeno Lewis x	Galβ1-4(Fuca1-3)GlcNAc	Array de Carbohidratos	IC ₅₀ = 5 μM
Antígeno Lewis a	Galβ1-3(Fuca1-4)GlcNAc	Array de Carbohidratos	IC ₅₀ = 2.4 μM

*BSA-Man: conjugado multivalente de albúmina de suero bovino con manosa

El modo de unión de estos oligosacáridos es complejo, puesto que DC-SIGN es una lectina con varios modos de unión (presenta cierta flexibilidad) y con diversos requerimientos espaciales para poder establecer las interacciones adicionales [9, 10, 16]. Se han realizado numerosos estudios de la proteína DC-SIGN cristalizada asociada a diversas moléculas (Man₉-GlcNAc₂, trisacárido de Lewis X, el tetrasacárido Man₄, LNFP III... entre otros [8, 16]) que han aportado una gran cantidad de información. En este apartado vamos a analizar el modelo de unión del tetrasacárido Man₄ y la lacto-N-fucopentosa III. Las conclusiones que se extraen de estas dos moléculas son extrapolables a la mayoría de compuestos desarrollados como antagonistas de DC-SIGN, y se exponen a continuación:

1. Lacto-N-fucopentosa III (LNFP III)

La lacto-N-fucopentosa III (LNFP III) es un pentasacárido que contiene el trisacárido de Lewis X (forma parte de los antígenos del sistema Lewis). Lo que se observó a través de los ensayos de cristalización y de difracción de rayos X fue que la interacción de esta molécula con el CDR de DC-SIGN se produce a través de la coordinación de los hidroxilos 3 (en posición ecuatorial) y 4 (en posición axial) de la alfa-L-fucosa con el calcio en posición 2, formándose una estructura de octocoordinación (el calcio se encuentra coordinado con 5 aminoácidos: Glu-347, Asn-349, Glu-354, Asn-365, Asp-366) [9, 10, 16]. Debido a la distinta orientación de los hidroxilos en 3 y 4 la molécula gira, alejando el resto de la molécula de la superficie de la proteína (figura 2). Esta rotación acerca el hidroxilo en posición 2 a la Val351, dando lugar a interacciones de van der Waals. La galactosa del trisacárido de Lewis interacciona en un sitio adyacente del centro activo (interacción entre el grupo 4-OH y el Glu358; y el grupo 6-OH y la Leu371 y el Asp367) [19]. Todo esto contribuye a la elevada afinidad de la LNFP III por el CDR.

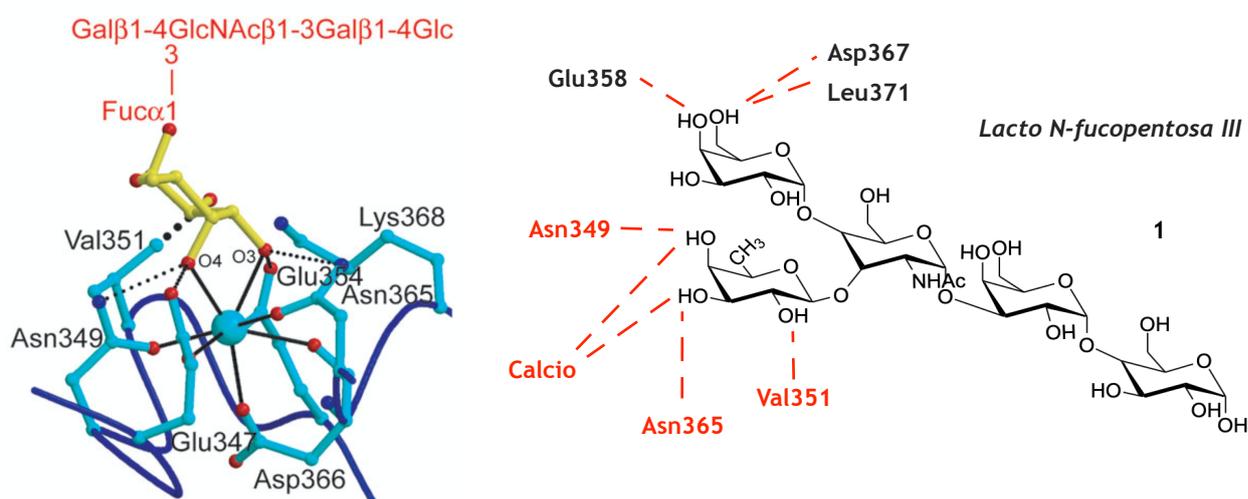


Figura 2: interacción entre el pentasacárido LNFP III y el CDR de DC-SIGN [16, 19].

2. Tetrasacárido Man₄:

El **tetrasacárido Man₄** es una fracción del oligosacárido “high-mannose” (tabla 2), que es el oligosacárido que mayor afinidad ha demostrado por DC-SIGN [8]. Esta estructura se encuentra también presente en la proteína gp120 del VIH. Su forma de interaccionar con el CDR no es muy distinto del demostrado por LNFP III. Los hidroxilos 3 y 4, en posición ecuatorial, interaccionan con el calcio en posición dos, formando una estructura de octocoordinación (el calcio se encuentra coordinado con 5 aminoácidos: Glu-347, Asn-349, Glu-354, Asn-365, Asp-366) [20]. Que ambos hidroxilos estén en posición ecuatorial sitúa la molécula sobre la superficie de la proteína con elevada complementariedad, dándose interacciones de van der Waals entre la Phe313 y la fracción Man-alfa1-6Man [10]. El residuo terminal de manosa establece enlaces de hidrógeno con la Ser360 en el dominio de unión secundario. El grupo 2-hidroxilo se encuentra en posición axial, lo que le permite establecer interacciones adicionales con el centro activo (con el residuo amino de la asparagina-365) [16].

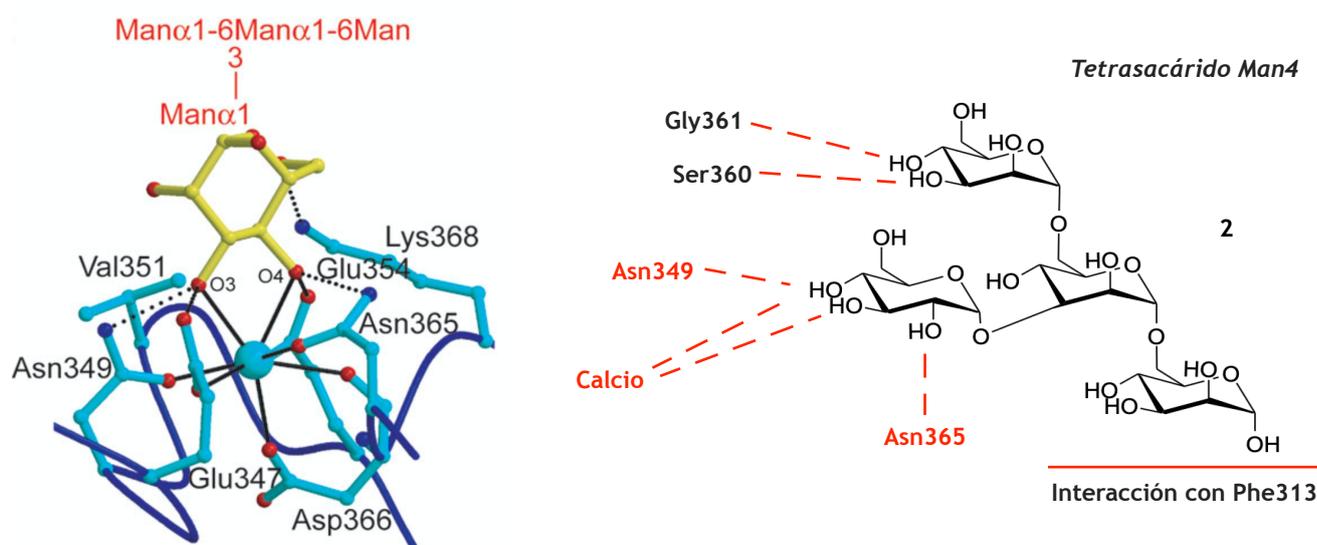


Figura 3: interacción entre el tetrasacárido Man₄ y el CDR de DC-SIGN [16, 20].

La interacción entre los carbohidratos y el CDR de DC-SIGN es, por tanto:

- **Multivalente.** Presenta un dominio de interacción primario (con el calcio) y dominios de interacción secundaria, en estructuras adyacentes al sitio activo. Sustratos que sean afines también a estos dominios secundarios tienen una mayor afinidad.
- **Específica.** Los monosacáridos centrales necesitan una disposición concreta para establecer interacciones funcionales con el dominio principal (hidroxilos 2, 3 y 4). Las restricciones espaciales son numerosas. La forma en la que se disponen los radicales adyacentes al monosacárido central es clave para que se den interacciones adicionales y se mejore la afinidad de los sustratos.
- **Flexible.** Existen estudios que apuntan a que DC-SIGN presenta cierto rango de flexibilidad conformacional, permitiendo la unión de un mismo sustrato de formas distintas.

2. ESTRATEGIAS PARA LA ELABORACIÓN DE ANTAGONISTAS DE DC-SIGN.

DC-SIGN es una lectina de tipo C con la capacidad para adherirse a carbohidratos. Por tanto, la elaboración de un antagonista eficaz necesita de la utilización de estas estructuras azucaradas para aumentar la afinidad con esta proteína. No obstante, esto plantea una serie de **desventajas farmacocinéticas** [8-10], ya que los azúcares y sus uniones son rápidamente degradados en el

plasma sanguíneo. Multitud de enzimas como las esterasas son capaces de hidrolizar los enlaces O-glucosídicos que unen los oligosacáridos, haciendo que se necesiten nuevas estrategias en la síntesis de estos compuestos para evitar la degradación del principio activo antes de que llegue al sitio activo y la consecuente falta de actividad.

En este capítulo discutiremos los **principales antagonistas de esta proteína, su relación estructura-actividad y las principales estrategias de síntesis.**

1. ANTAGONISTAS MONOVALENTES:

Los antagonistas monovalentes son aquellos que solo son capaces de inhibir una unidad de DC-SIGN a la vez [10]. Por tanto, su interés radica en la capacidad de inhibición de la forma monomérica. Tenemos dos tipos: derivados de carbohidratos, y no derivados de carbohidratos. Ambos se detallan a continuación.

1.1 DERIVADOS DE CARBOHIDRATOS:

Los antagonistas monovalentes derivados de carbohidratos presentan un reducido peso molecular, y están formados por mono y oligosacáridos, así como sus miméticos derivados. La estructura general de estos antagonistas son: un **monosacárido central**, que es el que establece las interacciones con el centro activo de DC-SIGN; un **biosimilar del enlace glicosídico**, ya que estos tipos de enlaces tienen una pobre actividad farmacocinética y son muy susceptibles de ser degradados por las enzimas plasmáticas; y los **radicales adyacentes**, que son responsables de establecer interacciones adicionales con el centro activo del enzima e influyen en la afinidad del sustrato [9, 10].

En la siguiente figura se recogen los **principales componentes y características esenciales** de los antagonistas monovalentes derivados de carbohidratos.

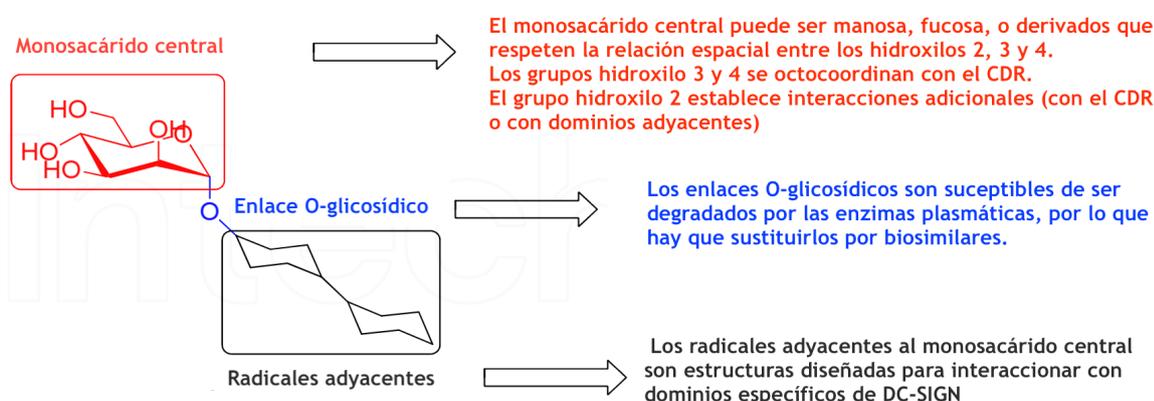


Figura 4: estructura y características generales de los antagonistas monovalentes derivados de carbohidratos [10].

1.1.1 Características del monosacárido central:

El **monosacárido central es el responsable de las interacciones con el centro activo de DC-SIGN** [8-10]. Estas interacciones son las responsables de la afinidad de la lectina por su sustrato, mientras que su especificidad viene definida por las restricciones espaciales del centro activo y las interacciones de las estructuras adyacentes al monosacárido central [16]. El monosacárido central tiene una serie de posiciones fijadas: por un lado debe tener dos grupos hidroxilo en 3 y 4 (compuestos 3-6), ya que serán estos los que interactúen con el calcio, formando un complejo de

octocoordinación; y por otro lado, debe tener un grupo capaz de formar enlaces de hidrógeno en la posición 2 (compuestos 3-6), como puede ser un grupo hidroxilo, o un grupo amino (compuesto 5).

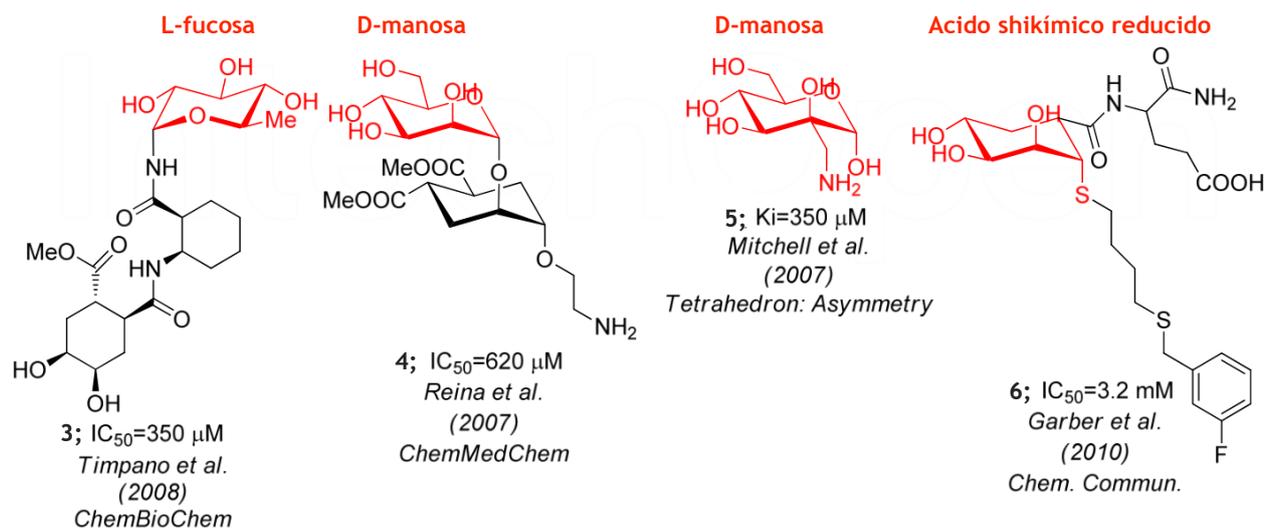


Figura 5: algunos de los compuestos que presentan afinidad por DC-SIGN habiendo sufrido modificaciones estructurales para mejorar su actividad [10].

La mayor parte de las moléculas propuestas como monosacárido central son derivados de la D-manosa (compuestos 4 y 5), a pesar de que la L-fucosa (compuesto 3) es el monosacárido libre con mayor afinidad por el CDR [8]. Otros trabajos han resaltado la capacidad de utilizar glicomiméticos derivados del ácido shikímico reducido (compuesto 6) [9, 10, 21] como monosacárido central, ya que se respeta la relación espacial entre los hidroxilos 2, 3 y 4.

1.1.2 Elección de biosimilares del enlace O-glucosídico

Los enlaces O-glucosídicos presentan una serie de desventajas farmacocinéticas, principalmente, su baja estabilidad metabólica (son fácilmente atacados por glicosidasas). Esto conduce a una disminución del efecto terapéutico. Para evitarlo existen diversas estrategias: la **inhibición de glicosidasas** (descartable por los potenciales efectos adversos) [10]; uso de **enlaces tioglucosídicos** (compuesto 6), resistentes a la acción de las glicosidasas; uso de **glicomiméticos**, como los C-glucósidos [22], que carecen de actividad anomérica, lo que les da resistencia metabólica a las glicosidasas y las glicosiltransferasas; uso de **enlaces tiólicos** para unir monosacáridos adyacentes [23].

1.1.3 Elección de los radicales adyacentes al monosacárido central

La fracción adyacente al monosacárido central es de vital importancia. Como se vió en el apartado de QSAR, los radicales adyacentes al monosacárido central no solo pueden **interaccionar con el centro activo de la lectina** (Ej: interacción entre el grupo 4-OH y el Glu358, y el grupo 6-OH y la Leu371 y el Asp367 de la galactosa terminal del trisacárido de Lewis X) [16]; si no que además son capaces de interaccionar con **sitios adyacentes** al mismo, aumentando la afinidad del sustrato por DC-SIGN (Ej: el residuo terminal de manosa del tetrasacárido Man₄ establece enlaces de hidrógeno con la Ser360 en el dominio de unión secundario). Los radicales adyacentes al monosacárido central generalmente establecen interacciones mediadas por enlaces de hidrógeno y puentes acuosos. La complementariedad es también importante para aumentar la afinidad [9, 10].

Las **interacciones hidrofóbicas** son también un aspecto a tener en consideración (Ej: interacción hidrofóbica de la Lacto-N-fucopentosa III y la Val351; o la interacción del tetrasacárido Man₄ con

la Phe313) [16]. Algunas estrategias se han elaborado en la síntesis de estos compuestos: el compuesto 4, de la figura 5, contiene en el segundo “monosacárido” dos **ésteres de metilo**, que hacen más lipófila la molécula (además, al ser un derivado no monosacárido carece de carbono anomérico, por lo que no tiene un enlace glucosídico susceptible de ser atacado por una glicosidasa) [22]. Sobre este compuesto se realizaron una **serie de modificaciones** (introducción de dos grupos benzamida) con el fin de hacerlo aún más lipófila y que así pueda interactuar con una mayor afinidad con el bolsillo hidrofóbico de la Phe313. Esta modificación aumento la IC_{50} de 620 μM a 12,5 μM , casi 50 veces superior, lo que señala la importancia de las interacciones hidrofóbicas [23].

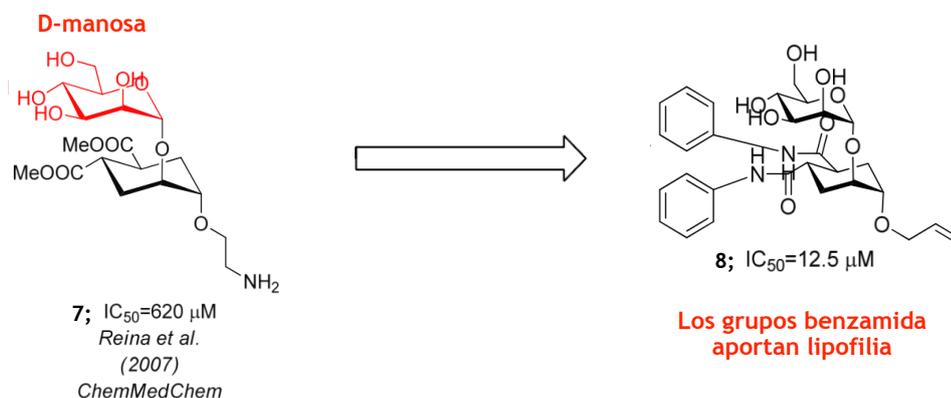


Figura 6: modificaciones realizadas al compuesto de Reina et al. para aumentar su afinidad por el bolsillo hidrofóbico de la Phe313 en DC-SIGN. [10, 23]

1.2 NO DERIVADOS DE CARBOHIDRATOS.

Los antagonistas monovalentes derivados de carbohidratos presentan una serie de inconvenientes según nos aproximamos a ellos: muchas de las lectinas necesitan de **interacciones multivalentes** para producir una unión potente, por lo que las interacciones de los derivados de estructuras azucaradas muchas veces resultan débiles con la enzima (rango de inhibición del orden milimolar); además, tienen malas características farmacocinéticas, ya que son susceptibles de sufrir degradaciones enzimáticas antes de llegar al sitio de acción [8-10]. Mediante el screening molecular de alta capacidad se pueden encontrar moléculas capaces de bloquear estas proteínas. Ejemplos de que esto se ha conseguido con otras proteínas serían, por ejemplo, los **inhibidores de la neuraminidasa**, utilizados en el tratamiento de la infección grave por Influenza virus [17]. No obstante, en el campo de las lectinas la pregunta permanecía abierta.

En el trabajo realizado por Borrok, J et al [25] utilizaron un conjugado de manosa-isotiocianato de fluoresceína-BSA, que se unía de forma selectiva a DC-SIGN de manera multivalente. Se hicieron competir diversos sustratos, después de realizar un proceso de selección, que se habían encontrado en las librerías Chembridge DIVERSet y la Chemical Diversity Labs (ChemDiv), que podían inhibir la lectina DC-SIGN en concentraciones del rango micromolar. Los más potentes son los que aparecen reflejados en la figura 7. Las IC_{50} de los compuestos activos (figura 7) se encontraban entre 1,6 y 32 micromolar, demostrando una fuerza de inhibición unas 1000 veces superior a la que presentan los monosacáridos de unión a DC-SIGN; y superior a oligosacáridos de elevada afinidad como es $\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ ($K_i = 0,21 \text{ mM}$) [8]. También se comprobó su capacidad de inhibición en la adhesión celular mediada por esta proteína (uniéndose a ICAM-2 e ICAM-3). **El mecanismo de unión de estos compuestos a DC-SIGN no es del todo conocido**, ya que carecen de las estructuras funcionales típicas que interactúan con las lectinas tipo C. Se plantean como hipótesis que estos inhibidores se unan a los bolsillos hidrofóbicos cercanos al sitio activo [24], aunque se necesitan más estudios para extraer conclusiones fiables. El análisis de la estructura mediante cristalografía y difracción de rayos X aportarían información al respecto. Todavía no se ha evaluado su capacidad inhibitoria *in vivo*.

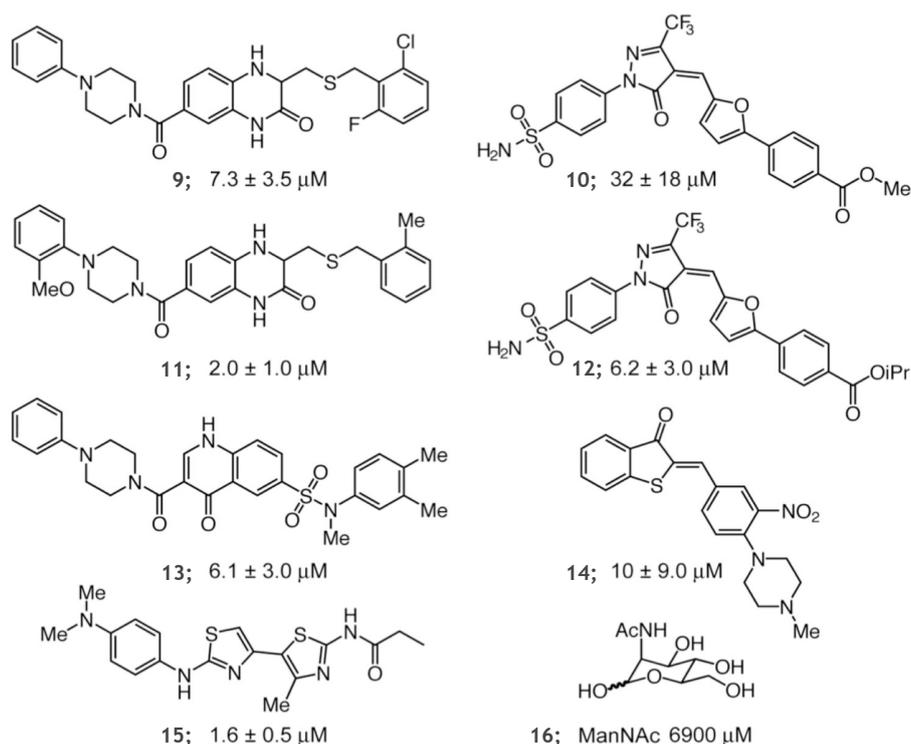


Figura 7: estructura de los antagonistas más potentes no derivados de carbohidratos [25].

2. ANTAGONISTAS MULTIVALENTES:

Los antagonistas multivalentes son aquellos que pueden **unirse a más de una unidad de DC-SIGN a la vez**, estando por tanto enfocados a la inhibición de su forma tetramérica (algunos incluso interaccionan con los *clusters* de DC-SIGN) [16]. Esto presenta una serie de **ventajas**, y es que la tetramerización incrementa sobremanera la especificidad y la avidéz por el sustrato de DC-SIGN, lo que favorece sus características farmacodinámicas.

Numerosos trabajos [8-10, 21-26] han aportado sus respectivos antagonistas multivalentes, cada uno con estrategias propias en su elaboración. La estrategia de elaboración de estos antagonistas consiste, principalmente, en la **combinación de varios antagonistas monovalentes a un soporte polimérico a través de espaciadores**. Esta estructura cumple varias funciones:

- Los **antagonistas monovalentes** van a ser los responsables de interaccionar con el centro activo de la lectina, siendo responsables de la afinidad y la avidéz del antagonista por DC-SIGN. Los antagonistas monovalentes van a necesitar las mismas propiedades que hemos estudiado anteriormente (posiciones de los hidroxilos 2, 3 y 4; estructuras adyacentes al monosacárido central...), ya que cuanto más potentes sean, mayor será la inhibición combinada de la forma multivalente. [26]
- El **soporte polimérico** cumple la función de unir los antagonistas monovalentes. Estos soportes van a tener una arquitectura dendrítica: a partir de un núcleo de crecimiento se van a ir introduciendo radicales. La disposición de los radicales va a ser muy importante, afectando a la arquitectura de la molécula: los *dendrimeros* van a tener muchos radicales, presentando una estructura globular; mientras que los *dendrones*, cuyo crecimiento solo se da en una dirección y presentan menos radicales, van a atener una estructura más lineal [27].

- Los **espaciadores** se encargan de distribuir espacialmente los grupos funcionales de la molécula, para así asegurarnos de que los antagonistas pueden unirse al menos a dos CDRs, lo que incrementa enormemente la avidéz de DC-SIGN por el sustrato [10]. Estos espaciadores deben, además, tener un buen balance entre *rigidez* (ya que reduce la energía libre de rotación, favoreciendo la unión a la lectina) y *flexibilidad* (lo que le permite adaptarse a DC-SIGN) [28]. Bajo estas premisas se han desarrollado los compuestos con espaciadores aromáticos, que detallaremos cuando hablemos de Polyman 26 [21].

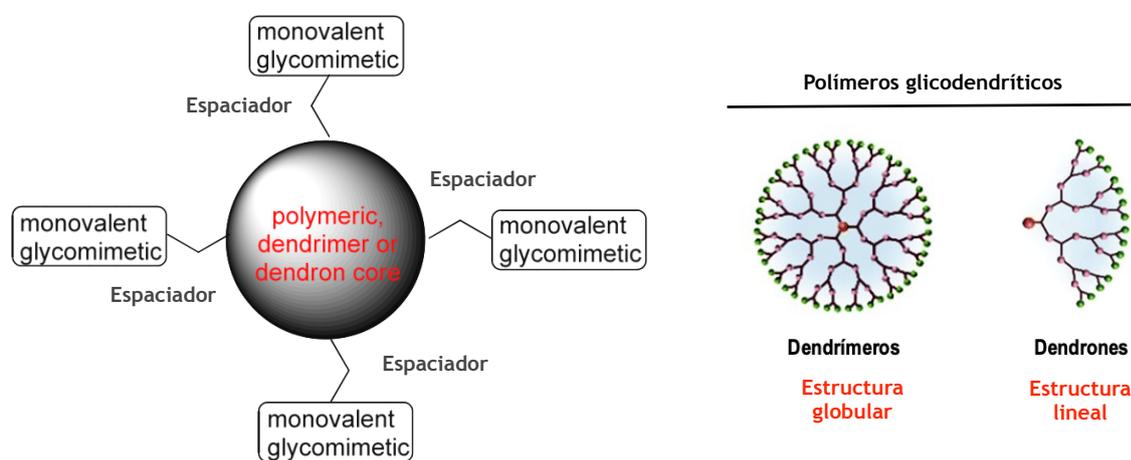


Figura 8: estructura general de los antagonistas multivalentes [10].
Arquitectura de los dendrímeros y los dendrones [27].

En este apartado vamos a analizar dos antagonistas multivalentes: BH30SucMan; y Polyman 26. **BH30SucMan** fue el primer antagonista multivalente diseñado, y es uno de los compuestos sobre los que más información se posee actualmente [8, 10]. Servirá para ilustrar las estrategias de síntesis basadas en dendrímeros. **Polyman 26** es una de los últimos compuestos desarrollados, y de los que ha presentado mejor perfil farmacocinético [21]. Servirá para ilustrar la síntesis basada en los espaciadores aromáticos y dendrones.

2.1 **BH30SucMan:**

BH30SucMan fue el primer antagonista multivalente diseñado, descrito en los trabajos de Rojo y Delgado, y posteriormente desarrollado en la tesis doctoral de Juan José Reina Martín [8]. BH30SucMan es un polímero glicodendrítico diseñado para interactuar de manera multivalente con DC-SIGN. Es un **dendrímtero** (tiene un núcleo de crecimiento central, de donde emergen las ramificaciones, dándole una estructura globular) [27]. Está formado por un núcleo de pentaeritrol (**núcleo de crecimiento**) esterificado con ácido 2,2-bis-(hidroximetil) propiónico, formando una estructura altamente ramificada, con 32 grupos hidroxilo (figura 7). Estos grupos hidroxilo fueron funcionalizados con anhídrido succínico, para aportar grupos carboxílicos sobre los que unir la 2-hidroxiethylamina, formando así el complejo BH30SucL. El grupo hidroxilo restante es sobre el que se adiciona la alfa-D-manopiranososa, formándose así el polímero BH30SucMan. BH30SucL será el grupo control, ya que carece de manosa y por tanto no puede establecer interacciones con el centro activo de la lectina.

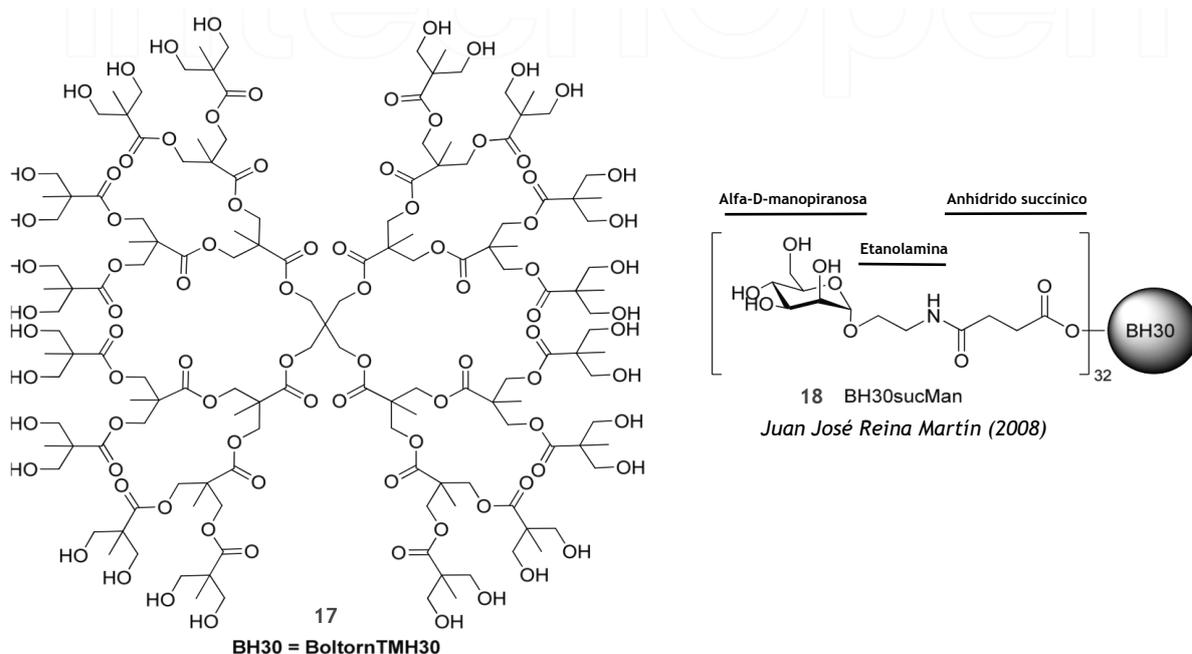


Figura 9: estructura de los polímeros glicodendríticos BH30 y BH30SucMan [10].

Los primeros estudios biológicos realizados comprobaron la **capacidad de inhibición de la BH30SucMan frente a la interacción entre DC-SIGN y la proteína GP1 del virus del Ébola [8]**. Se incubaron células Jurkat, que expresan DC-SIGN en su superficie, con partículas víricas pseudotipadas (partículas víricas construidas de forma artificial que no presentan capacidad de autoensamblaje) del virus del Ébola, que expresaban la enzima luciferasa. Tras la incubación con y sin estos dos compuestos (BH30SucMan y BH30SucL) se comprobó, mediante la adición de luciferina, que BH30SucMan inhibía de manera notable las **infecciones en cis**, con concentraciones del rango micromolar ($IC_{50} = 0,337 \mu M$). BH30SucL no presentaba una capacidad inhibitoria destacable, demostrando la importancia del residuo de alfa-D-manopiranososa en la interacción con la lectina.

Para comprobar su efectividad en las **infecciones en trans** se utilizó la línea celular K562, que expresaba DC-SIGN en su superficie con las mismas partículas víricas pseudotipadas del virus del Ébola. Se cultivaron estas líneas celulares con y en ausencia del inhibidor, y posteriormente se incubaron con células HeLa, que eran permisivas al virus. Tras la segunda incubación se separan las líneas celulares y se volvió a medir la actividad de la luciferasa, comprobándose que las células que habían estado en contacto con el inhibidor BH30SucMan resultaban un 60% menos infectivas que las que no habían estado en contacto con el inhibidor. BH30SucL no presentó capacidad inhibitoria. Por tanto, **los ensayos in vitro demostraron su potencial para frenar ambas formas de infección en el virus del Ébola.**

En el caso del VIH, lo primero que se comprobó fue la afinidad del polímero glicodendrítico BH30SucMan por gp120 [8]. Para ello se funcionalizó un chip con la proteína de la cápside vírica gp120, y se puso en contacto con DC-SIGN en presencia y ausencia del polímero glicodendrítico. La interacción fue medida mediante biosensores, observándose una disminución de la interacción de forma dosis dependiente a la concentración de BH30SucMan. El análisis de la curva permitió establecer una $IC_{50} = 50 \mu M$. Tras comprobar la afinidad de BH30SucMan por la proteína gp120 del VIH se pasó a los ensayos celulares, con el fin de observar si **se traducía esta afinidad in vivo**. Para ello se fijaron en pocillos partículas víricas de VIH-1, que fueron puestas en contacto con el polímero glicodendrítico a distintas concentraciones. Tras esta puesta en contacto se adicionaron células de la línea PM-1 (linfocitos T comerciales que expresan CD-209 en su superficie). Tras 6

días de cultivo se adicionó un anticuerpo anti p-24, ya que el antígeno p-24 es un marcador de la infección viral por VIH. Los resultados pusieron de manifiesto la nula actividad inhibidora de BH30SucMan sobre las líneas celulares PM-1. Un ensayo similar fue realizado sobre **células extraídas del cuello del útero**, comprobándose también que BH30SucMan era incapaz de inhibir la infección en cis por parte del VIH. **También se realizaron ensayos de inhibición de la infección en trans.** Para ello se cogieron las CD procedentes del tejido extraído del cuello del útero (que estaban ya infectadas después del experimento anterior) y se cultivaron con células de la línea PM-1. Los resultados fueron desalentadores, no presentándose capacidad de inhibición.

Por tanto, **BH30SucMan demuestra capacidad para inhibir el virus del Ébola, pero se ha demostrado ineficaz en frenar cualquier forma de infección del VIH.** Lo que estos resultados señalan es la necesidad de mejorar la estructura química del polímero glicodendrítico; bien a nivel del soporte multivalente (scaffold), o bien a nivel de los antagonistas monovalentes que interaccionan con el CDR.

Algunos ejemplos de estas modificaciones los encontramos en los trabajos de Luczkowiak et al [10] (figura 10), donde utilizaron el dimanósido sintetizado por Reina et al (compuesto 4) [9] para dar lugar al compuesto 19, con una actividad 6 veces superior a la presentada por BH30SucMan ($IC_{50} = 62$ nM) para reducir las infecciones en trans. También utilizaron el trimanósido sintetizado por Sattin et al para dar lugar al compuesto 20 (figura 8), que presentaba también una buena capacidad inhibitoria ($IC_{50} = 31,5$ nM).

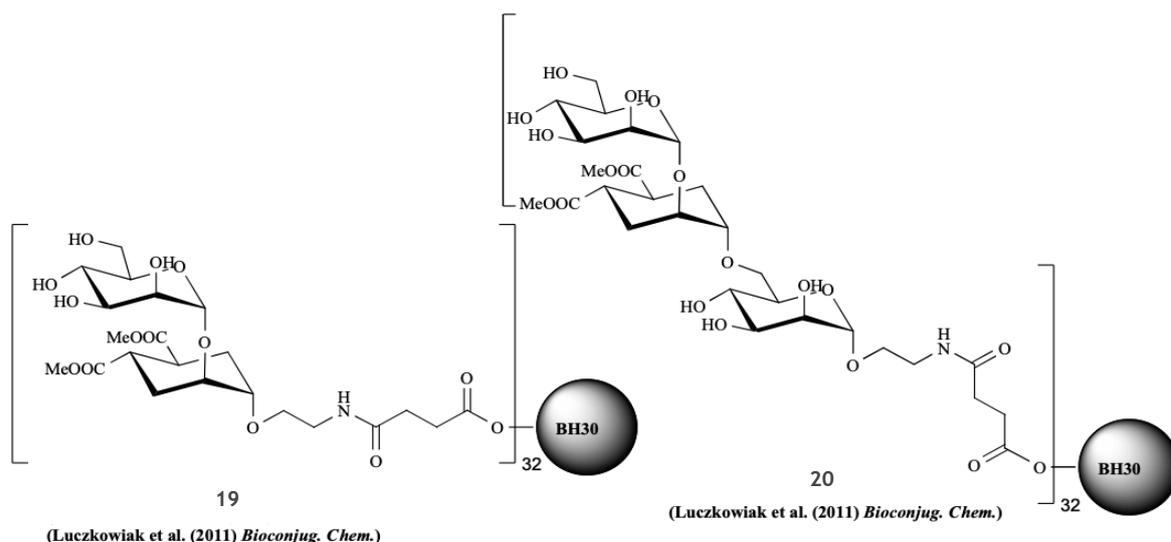


Figura 10: modificaciones estructurales de BH30SucMan realizadas por Luczkowiak et al [10].

2.2 Polyman 26.

Polyman 26 es un carbohidrato sintético, de elevado peso molecular, diseñado para interaccionar de manera multivalente con DC-SIGN [21]. El diseño de este antagonista es muy particular, ya que resulta de la combinación de **dendrones** (polímeros dendríticos que a partir de un núcleo crecen en una sola dirección, generando estructuras más lineales) sobre los que se anclan los glicomiméticos, con un **espaciador aromático (rod, del inglés vara)** que le confiere rigidez y distribuye espacialmente los grupos funcionales de la molécula. En la figura 11 se ilustra la **estructura general de estos antagonistas**. En el centro aparece el espaciador aromático, que se une mediante dos puentes de etilenglicol al pentaeritrol. El pentaeritrol es el **núcleo de crecimiento del dendrón**, donde se anclan los 1,2,3-triazoles. Sobre los 1,2,3 triazoles se anclan los antagonistas monovalentes.

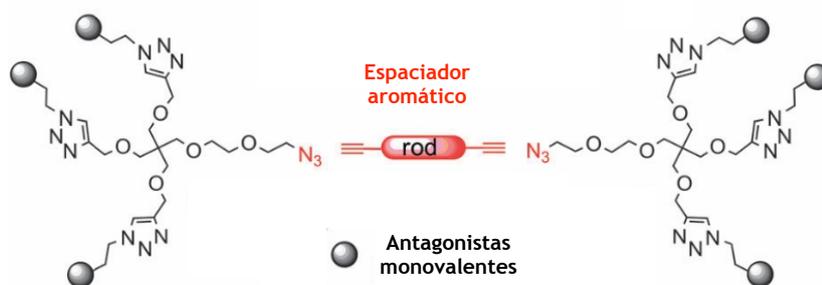


Figura 11: estructura general de los antagonistas basados en dendrones asociados a espaciadores aromáticos. [28]

En el caso de **Polyman 26** (figura 12) cabría destacar 3 partes principales: por un lado, los **6 núcleos azucarados**, situados 3 a cada lado del espaciador; por otro lado el **pentaeritrol**, que actúa como núcleo de crecimiento del dendrón y punto de conexión entre los 3 núcleos azucarados y el espaciador; y por último el **espaciador aromático**. Los núcleos azucarados están formados por un residuo de manosa, que en la forma típica de interacción con esta enzima presenta los grupos hidroxilo 3 y 4 dispuestos de forma ecuatorial, mientras que el 2 está en posición axial. Asociado a este azúcar (unión alfa 1-4) encontramos un ciclohexano, que presenta dos radicales de tirosina en 3 y 4 (función de anclaje a bolsillos hidrofóbicos). Este se une por un puente de dos carbonos a un residuo de 1,2,3-triazol, que ya se une al pentaeritrol, conector de los tres núcleos azucarados.

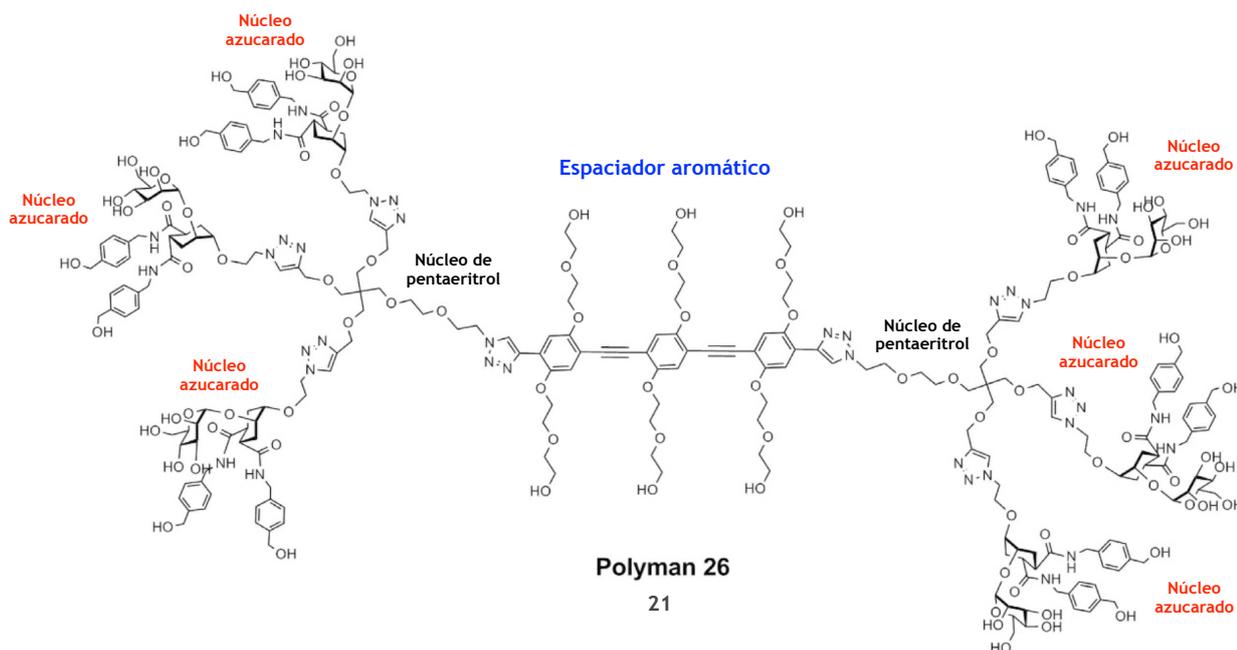


Figura 12: estructura de Polyman 26, antagonista multivalente de DC-SIGN. [21]

El **espaciador** es una estructura aromática en la que se conjugan los electrones del 1,2,3-triazol con 3 bencenos y dos puentes etílicos. Esta estructura aromática es importante, porque debe conferirle tanto **rigidez** (lo que reduce su energía libre rotacional favoreciendo la unión del compuesto a la lectina) como **flexibilidad** (lo que le permite adaptarse a DC-SIGN) a la molécula, mantenidas en equilibrio. Además, esta estructura aromática le proporciona la capacidad de ser **fluorescente**, cualidad que fue aprovechada por Berzi et al [21] para medir la inhibición y la capacidad de internalización de esta molécula. En este estudio se comprobó que tras 10 minutos de incubación con células dendríticas inmaduras derivadas de monocitos se había producido la internalización del

complejo DC-SIGN-Polyman 26, comprobándose que se producía una regulación positiva en la síntesis de citoquinas proinflamatorias (IL-6, TNF-alfa) y que se podía inhibir la infección en trans por parte del VIH-1. A una concentración de 0,5 μM de Polyman 26 se comprobó una inhibición del 98%, presentando una $\text{IC}_{50} = 24 \text{ nM}$. Esta inhibición de la infección en trans es dosis dependiente. Es importante resaltar que Polyman 26 es uno de los pocos compuestos que ha logrado actividad inhibidora en concentraciones del orden nanomolar, mucho más eficaces que los antagonistas monovalentes, o los primeros antagonistas multivalentes. Esto le sitúa a la cabeza como candidato a ser un posible microbicida de uso tópico para frenar la infección por VIH. No obstante, más ensayos deben realizarse para asegurar su seguridad y efectividad in vivo.

CONCLUSIONES:

DC-SIGN es una lectina tipo II, calcio dependiente, que reconoce residuos de D-manosa y L-fucosa terminales anclados a estructuras propias (ICAM-2 e ICAM-3) y extrañas (gp120 del VIH, GP1 del Ébola...). Presenta un **papel importante en la patogénesis temprana del VIH**, y sus antagonistas podrían suponer una barrera extra de protección frente a la infección del virus del SIDA. Presenta además multitud de interacciones con otros patógenos, por lo que el estudio de su inhibición podría resultar beneficioso en varias infecciones simultáneamente.

La comunidad científica ha volcado mucho esfuerzo en el estudio de esta lectina. Los **estudios cristalográficos** de diversos compuestos asociados al CDR de DC-SIGN aportaron grandes volúmenes de información sobre qué características debían tener los compuestos para inhibir de manera eficiente esta lectina. Sobre estos estudios se **propusieron multitud de moléculas**. Las primeras propuestas eran moléculas sencillas, derivadas de carbohidratos, que inhibían de forma **monovalente** el CDR de DC-SIGN. Esta inhibición, no obstante, era muy débil, con IC_{50} del orden milimolar, lo que puso de manifiesto la necesidad de desarrollar otro tipo de antagonistas. Posteriormente a estas, salieron los **antagonistas multivalentes**, basándose principalmente en el uso combinado de antagonistas monovalentes anclados a soportes poliméricos. Las estrategias de síntesis son complejas, basándose en el uso de polímeros dendríticos (dendrímeros y dendrones), y en el uso de espaciadores aromáticos. Estos nuevos antagonistas demostraron una **eficacia y afinidad por la lectina mucho más elevada**, con IC_{50} del orden micromolar e incluso nanomolar; lo que señala la importancia de la presentación multivalente en la afinidad por DC-SIGN.

En lo referente a la estructura, existen varias consideraciones a tener en cuenta. El **monosacárido central** debe respetar la relación espacial entre los hidroxilos 2, 3 y 4. De otra forma no se podría coordinar con el CDR de DC-SIGN. El monosacárido central más utilizado en la síntesis de antagonistas es la D-manosa debido a que sus hidroxilos 3 y 4 están en posición ecuatorial, lo que favorece la complementariedad con la superficie de la lectina. Los **glicomiméticos** son buenas alternativas, mientras respeten estas consideraciones, ya que presentan mayor estabilidad metabólica (sustitución del enlace O-glicosídico, ausencia de actividad anomérica). Los **radicales adyacentes** al monosacárido central son de elevada importancia. Su diseño está enfocado a unirse a sitios adyacentes al dominio de reconocimiento de DC-SIGN. En los antagonistas multivalentes cobran especial importancia dos aspectos: el soporte polimérico y el espaciador. El **soporte polimérico** (dendrímeros y dendrones) deben anclar un número suficiente de antagonistas monovalentes para que se puedan dar interacciones multivalentes con varios CDR. El **espaciador** debe tener una buena relación flexibilidad/rigidez para asegurar la máxima afinidad.

Resaltar, finalmente, que si bien los ensayos in vitro y en modelos celulares experimentales son muy prometedores, es necesario realizar **ensayos in vivo para evaluar la eficacia y seguridad de estos compuestos**. El estudio y comercialización de estos nuevos antimicrobianos podría resultar de utilidad a la terapéutica actual, especialmente en infecciones como el VIH, aportando nuevos fármacos de uso sistémico y tópico.

BIBLIOGRAFÍA:

1. José A. Pérez Molina, Rosa Polo, Esteban Martínez et al. **Documento de consenso de GeSIDA/plan nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana.** (Enero 2019). Ministerio de sanidad, consumo y bienestar social. Disponible en: http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2019/02/Guia_Tar_Gesida_Ene_2019.pdf
2. Centro de información de medicamentos de la AEMPS (CIMA) [Internet]. **Ficha técnica del abacavir.** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/81173/81173_ft.pdf
3. Centro de información de medicamentos de la AEMPS (CIMA) [Internet]. **Ficha técnica del tenofovir.** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/81635/FichaTecnica_81635.html.pdf
4. Centro de información de medicamentos de la AEMPS (CIMA) [Internet]. **Ficha técnica del saquinavir.** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/81635/FichaTecnica_81635.html.pdf
5. Centro de información de medicamentos de la AEMPS (CIMA) [Internet]. **Ficha técnica del rilpivirina.** Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/81635/FichaTecnica_81635.html.pdf
6. Rosa Polo, Hernando Knobel, Ramón Morillo et al. **Documento de consenso para mejorar la adherencia a la farmacoterapia en pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en tratamiento antirretroviral.** (Febrero 2020). Ministerio de sanidad, consumo y bienestar social. Disponible en: http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2020/04/GUIA_GESIDA_febrero_2020_Adherencia.pdf
7. Organización Mundial de la Salud (OMS). **Estrategia mundial del sector de la salud contra el VIH (2016–2021).** Printed by the WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland. Disponible en: <https://www.who.int/hiv/strategy2016-2021/ghss-hiv/es/>
8. José Juan Reina Martín (2008). **Diseño y síntesis de ligandos basados en carbohidratos y estudio de la interacción con la lectina DC-SIGN** (tesis para optar al grado de Doctor). Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/9288>
9. Jeroen Geurtsen, Nicole N. Driessen and Ben J. Appelmelk. **Mannose–fucose recognition by DC-SIGN.** Microbial Glycobiology 2009, Elsevier Inc. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150001/>
10. Marko Anderluh. **DC-SIGN Antagonists – A Paradigm of C-Type Lectin Binding Inhibition.** (2012) Carbohydrates – Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology. Department of Medicinal Chemistry, University of Ljubljana, Faculty of Pharmacy, Ljubljana, Slovenia. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/50627>
11. T. B. H. Geijtenbeek, S. J. van Vliet, G. C. F. van Duijnhoven, C. G. Figdor, Y. van Kooyka. **DC-SIGN, a Dendritic Cell-Specific HIV-1 Receptor Present in Placenta That Infects T Cells In Trans - A Review.** (2001) IFPA and Harcourt Publishers Ltd Placenta (2001), 22, Supplement A, Trophoblast Research, 15, S19–S23. DOI: 10.1053/plac.2001.0674

12. Luczkowiak, J. (2015). **DC-SIGN como modelo de receptor de reconocimiento de patógenos: interacción con las glicoproteínas de la envoltura de los virus VIH-1 y Ébola y su papel en la patogénesis viral** (Tesis para optar al grado de Doctor) - E-Prints Complutense. Universidad Complutense, Madrid. Retrieved 8 April 2020. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/30460/>
13. Ronaldo Celerino da Silva, Ludovica Segat, Sergio Crovella. **Role of DC-SIGN and L-SIGN receptors in HIV-1 vertical transmission.** Human Immunology 72 (2011) 305–311. Disponible en: 10.1016/j.humimm.2011.01.012
14. Stuart G. Turville, Kurt Vermeire, Jan Balzarini, and Dominique Schols (2005). **Sugar-Binding Proteins Potently Inhibit Dendritic Cell Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Infection and Dendritic-Cell-Directed HIV-1 Transfer.** Rega Institute for Medical Research, Katholieke Universiteit Leuven, B-3000 Leuven, Belgium. JOURNAL OF VIROLOGY, Nov. 2005, p. 13519–13527. doi: 10.1128/JVI.79.21.13519–13527.2005
15. Graham Simmons, Jacqueline D. Reeves, Case C. Grogan, Luk H. Vandenberghe, Frederic Baribaud, J. Charles Whitbeck, Emily Burke et al. **DC-SIGN and DC-SIGNR Bind Ebola Glycoproteins and Enhance Infection of Macrophages and Endothelial Cells.** Virology 305, 115–123 (2003). Doi:10.1006/viro.2002.1730
16. Yuan Guo, Hadar Feinberg, Edward Conroy, Daniel A Mitchell, Richard Alvarez, Ola Blixt et al. **Structural basis for distinct ligand-binding and targeting properties of the receptors DC-SIGN and DC-SIGNR.** Nature Structural & Molecular Biology Volume 11 Number 7 July (2004). Disponible en: doi:10.1038/nsmb784.
17. Thuong H. Tran, Rasha El Baz, Andrea Cuconati, James Arthos, Pooja Jain and Zafar K. Khan. **A Novel High-Throughput Screening Assay to Identify Inhibitors of HIV-1 gp120 Protein Interaction with DC-SIGN.** J Antivir Antiretrovir. 2011 October 17; 3: 49–54. DOI: 10.4172/jaa.1000035
18. Marko Anderluh, Urban Švajger, Gregor Jug, Nataša Obermajer. **DC-SIGN Antagonists, a Potential New Class of Anti-Infectives.** Current Medicinal Chemistry. March 2012. DOI: 10.2174/092986712799320664
19. Protein Data Bank (PDB). **Crystal Structure of DC-SIGN carbohydrate recognition domain complexed with LNFP III (Dextra L504).** [Internet]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/3d-view/1SL5/1>
20. Protein Data Bank (PDB). **Crystal Structure of DC-SIGN carbohydrate recognition domain complexed with Man₄.** [Internet]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/3d-view/1SL4/1>
21. Angela Berzi¹, Stefania Ordanini², Ben Joosten, Daria Trabattoni, Alessandra Cambi, Anna Bernardi & Mario Clerici. **Pseudo-Mannosylated DC-SIGN Ligands as Immunomodulants.** Scientific Reports 6:35373. DOI: 10.1038/srep35373
22. Benedetta Bertolotti, Beata Oroszovaa, Ieva Sutkeviciute, Ladislav Kniezo, Franck Fieschi, Kamil Parkan et al. **Nonhydrolyzable C-disaccharides, a new class of DC-SIGN ligands.** Carbohydrate Research 435 (2016) 7-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2016.09.005>

23. Alice Tamburrini, Silvia Achilli, Francesca Vasile, Sara Sattin, Corinne Vivès, Cinzia Colombo. **Facile access to pseudo-thio-1,2-dimannoside, a new glycomimetic DC-SIGN antagonist.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25 (2017) 5142–5147. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2017.03.046>
24. Tihomir Tomašić, David Hajšek, Urban Švajger, Jernej Luzar, Nataša Obermajer, Isabelle Petit-Haertlein et al. **Monovalent mannose-based DC-SIGN antagonists: Targeting the hydrophobic groove of the receptor.** *European Journal of Medicinal Chemistry*, Volume 75, 2014, Pages 308-326, ISSN 0223-5234, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.01.047> (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523414000932>)
25. M. Jack Borrok, Laura L. Kiessling. **Non-Carbohydrate Inhibitors of the Lectin DC-SIGN.** *J Am Chem Soc.* 2007 October 24; 129(42): 12780–12785. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2546503/pdf/nihms62732.pdf>
26. Bernd Lepenies, Junghoon Lee, Sanjiv Sonkaria. **Targeting C-type lectin receptors with multivalent carbohydrate ligands.** *Advanced Drug Delivery Reviews* 65 (2013) 1271–1281. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2013.05.007>
27. Francisco Javier Ramos Soriano. **Sistemas glicodendríticos como herramientas en biomedicina.** Sevilla, 2017. CSIC. Tesis para optar al grado de Doctor. Disponible en: <https://idus.us.es/handle/11441/60407>
28. Stefania Ordanini, Norbert Varga, Vanessa Porkolab, Michel Thepaut, Laura Belvisi, Andrea Bertaglia et al. **Designing nanomolar antagonists of DC-SIGN-mediated HIV infection: ligand presentation using molecular rods.** *Chem. Commun.*, 2015, 51, 3816. Disponible en: 10.1039/c4cc09709b