

## ASGPR A DC-SIGN: C-LEKTINOVÉ RECEPTORY SE SLIBNÝM POTENCIÁLEM V MEDICINÁLNÍ CHEMII

PETRA MÉNOVÁ\*

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6  
petra.menova@vscht.cz

Došlo 22.9.20, přijato 30.11.20.

Klíčová slova: sacharidy, lektiny, asialoglykoproteinový receptor, receptor DC-SIGN, cílený transport léčiv, inhibice

### Obsah

1. Úvod
2. Asialoglykoproteinový receptor
  - 2.1. Konjugáty léčivá látka–polymerní nosič–ligand
  - 2.2. Konjugáty nukleová kyselina–ligand
  - 2.3. Nanotransportéry
3. Receptor DC-SIGN
  - 3.1. Syntetické ligandy DC-SIGN receptoru
  - 3.2. Interakce viru SARS-CoV-2 s DC-SIGN receptorem
4. Závěr

### 1. Úvod

Lektiny jsou membránové proteiny, které s vysokou mírou specificity rozpoznávají a váží sacharidy, a to jak volné, tak vázané v glykoproteinech a glykolipidech. Ty se v přírodě vyskytují zejména jako součást glykokalyxu – ochranného obalu na povrchu prokaryotických i eukaryotických buněk. Řada studií prokázala, že složení glykokalyxu se mění v maligních či nemocných buňkách<sup>1</sup>. Glykokalyx tak slouží jako jakýsi identifikační štítek buňky. Rozpoznání sacharidových složek v glykokalyxu a interakce cukr–lektin hrají podstatnou roli v řadě biologických procesů, jako jsou buněčné rozpoznávání, signalizace a adheze a zprostředkování interakcí patogen–hostitel<sup>2</sup>. Rostlinné lektiny se dostaly do našeho povědomí převážně jako nežádoucí a ve vyšších koncentracích toxické látky obsažené v obilovinách a luštěninách, nacházejí však široké uplatnění v biologii a medicíně, kde se používají např. v hematologii<sup>3</sup> či terapii rakoviny<sup>4</sup>. Živočišné lektiny jako součást přirozeného imunitního systému plní

funkci „pattern recognition“ receptorů (PRR), které rozpoznávají dvě hlavní skupiny molekul: molekuly typické pro mikrobiální patogeny – patogen-asociované molekulární vzory (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) a molekulární vzory asociované s poškozením (damage-associated molecular patterns, DAMP), které pochází z hostitelovy buňky a uvolňují se při jejím poškození nebo smrti. Lektiny tak mohou přispívat k ochranné imunitní reakci, např. během infekce, ale mohou se účastnit i patologické imunitní odpovědi.

Lektiny se vyznačují mělkými vazebnými místy a nízkou afinitou k monovalentním ligandům ( $K_d$  se pohybuje v rozmezí jednotek mM až desítek  $\mu$ M). Jejich selektivita a síla vazby je dána multivalencí, tj. příspěvkem několika monovalentních interakcí v rámci jedné molekuly. Zatímco afinita vyjadřuje sílu interakce jednoho vazebného místa s jedním antigenem, avidita je definována jako síla, kterou polyvalentní protilátka interaguje s polyvalentním antigenem. Avidita vzrůstá s afinitou jednoho vazebného místa pro jeden antigen a s počtem simultánně se uplatňujících vazebných míst. I když afinita jednotlivých vazebných míst k sacharidům je nízká, antigeny jsou vázány s velkou aviditou. Lektiny obvykle vytvářejí oligomery, a mají tak více vazebných míst vedle sebe. Oligo- a polysacharidy, jež s nimi interagují, často obsahují více vazebných motivů.

Rostlinné lektiny se nejčastěji dělí do skupin podle rozpoznávaných monosacharidů, které jsou součástí složitějších struktur. Rozlišujeme tak lektiny rozpoznávající mannosu, galaktosu a *N*-acetylgalaktosamin, *N*-acetyl-



Ing. Petra Měnová, Ph.D. vystudovala organickou chemii na VŠCHT Praha. V letech 2015 až 2017 absolvovala postdoktorandskou stáž na německém Max Planck Institutu, kde se ve skupině prof. Seebergera věnovala chemii sacharidů. Od roku 2017 působí jako odborná asistentka na VŠCHT Praha, kde vede skupinu medicínské chemie. Hlavní oblastí jejího zájmu jsou lektiny a jejich interakce s malými molekulami. Kromě toho se zabývá popularizací chemie a prací s talentovanou mládeží, je místopředsedkyní ústředního výboru chemické olympiády a věnuje se vzdělávání učitelů.

\* Autorka je laureátkou Ceny Alfreda Badera za bioorganickou a bioanorganickou chemii pro rok 2020.

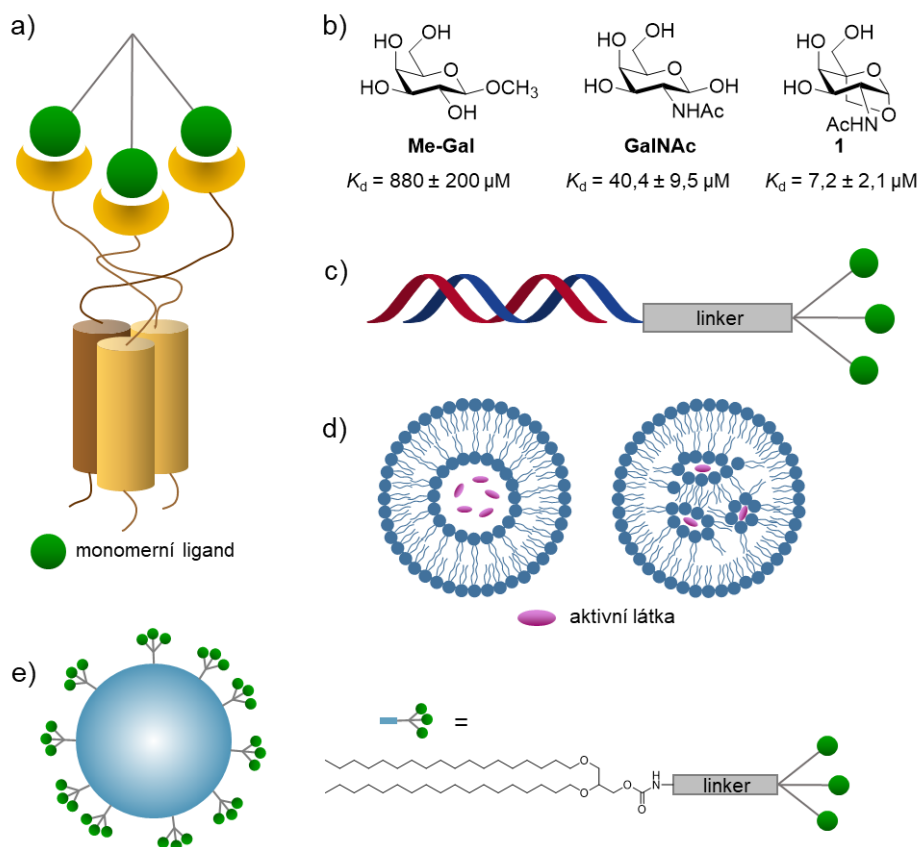
glukosamin, *N*-acetylneuraminovou (sialovou) kyselinu a fukosu. Živočišné lektiny se na základě strukturní podobnosti dělí do rodin, z nichž nejpočetnější a nejvíce prostudované jsou lektiny typu C a typu S (cit.<sup>5</sup>). C-lektinové receptory (CLR) vyžadují pro svou aktivitu přítomnost vápenatých iontů, které zprostředkovávají vazbu k přirozenému ligandu. Dělí se dále do 16 skupin a jen u člověka bylo popsáno více než 100 proteinů obsahujících C-lektinovou doménu<sup>6</sup>. Lektiny typu S, známé také jako galektiny, váží  $\beta$ -galaktosidy, nejsou závislé na přítomnosti vápenatých kationtů, bývají rozpustné ve vodě a pro stabilitu a zachování aktivity vyžadují mírně redukční prostředí, což je vysvětleno přítomností volné sulfanylové skupiny<sup>7</sup>. U člověka bylo do dnešní doby popsáno 12 galektinů<sup>8</sup>. Představiteli dalších rodin lektinů jsou například lektiny typu I (zahrnující podrodinu sigleců, tj. proteinů rozpoznávajících sialovou kyselinu), lektiny typu P, X a další.

S ohledem na značnou šíři tématu se následující text zaměří pouze na C-lektiny a na zvolených dvou příkladech, receptorech ASGPR a DC-SIGN, budou diskutovány pokroky ve vývoji syntetických ligandů těchto receptorů a jejich možné využití v klinické praxi.

## 2. Asialoglykoproteinový receptor (ASGPR)

Játra jsou životně důležitý orgán, hrající klíčovou roli v metabolismu, detoxikaci a skladování živin. Více než 80 % objemu jater a 60 % jejich celkové buněčné populace tvoří parenchymální buňky nazývané hepatocyty. Právě v nich je soustředěna hlavní metabolická činnost jater. Hepatocelulární karcinom (HCC) je jedním z nejrozšířenějších maligních nádorů ve světě a podle statistik WHO je čtvrtým nejsmrtelnějším, s velmi nízkou mírou přežití<sup>9,10</sup>. Vznik tohoto karcinomu je úzce spojován s chronickým onemocněním jater, zejména hepatitidou B a C. Virus hepatitidy B je považován za významný lidský karcinogen a je zodpovědný za vznik až 60 % případů HCC (cit.<sup>11</sup>).

Asialoglykoproteinový receptor (ASGPR, známý také jako Ashwellův–Morellův receptor) je C-lektinový receptor nacházející se téměř výhradně na povrchu hepatocytů. Patří mezi receptory zprostředkovávající endocytózu: rozpoznává desialylované glykoproteiny s terminální galaktosou (Gal) nebo *N*-acetylgalaktosaminem (GalNAc) a následně je internalizuje dovnitř buněk. Díky vysoké koncentraci na povrchu hepatocytů (až 500 000 receptorů/hepatocyt), minimálnímu výskytu na jiných místech



Obr. 1. ASGPR receptor a jeho cílení. a) Trimerní struktura ASGPR receptoru se třemi sacharidovými vazebnými místy; b) monovalentní sacharidové ligandy<sup>16,77</sup>; c) konjugát siRNA s trivalentním ASGPR ligandem; d) lipozom (vlevo) a lipidová nanočástice (vpravo) transportující aktivní látku; e) transportní částice modifikovaná na povrchu trivalentními ASGPR ligandy a struktura lipidů modifikovaného trivalentním ligandem

v organismu a snadné dostupnosti z krevního řečiště je ASGPR ideálním cílem pro transport léčiv do jater<sup>12</sup>. Léčivá látka, případně transportní částice obsahující léčivou látku, je modifikována ligandem specifickým pro receptor nacházející se na cílových buňkách, v tomto případě receptor ASGPR na hepatocytech, a interakce ligand–receptor poté zajišťuje dopravení léčivé látky na místo určení. Cílelý transport přináší mnoho výhod, zejména snížení vedlejších účinků léčiva, snížení velikosti a četnosti dávek a také pokles fluktuace koncentrace léčiva v krevním řečišti pacientů.

ASGPR je hetero-oligomer tvořený dvěma podjednotkami, H1 a H2. Nejčastěji se vyskytuje jako trimer obsahující dvě podjednotky H1 a jednu podjednotku H2 (obr. 1a). Podobně jako u jiných lektinů, je i u ASGPR afinita k monosacharidovým ligandům nízká ( $K_d$  se pohybuje ve stovkách  $\mu\text{M}$ ) a zvyšuje se multivalencí. S ohledem na převažující trimerní strukturu receptoru se v praxi nejvíce osvědčily trivalentní ligandy. Pokud je zachována vhodná prostorová geometrie a polarita linkeru, dostává se afinita až do nanomolárních hodnot<sup>13–15</sup>.

Jako monovalentní jednotky využívané pro syntézu multivalentních ligandů nejčastěji slouží galaktosa nebo *N*-acetylgalaktosamin. M. G. Finn ve spolupráci s firmou Pfizer vyvinul bicyklický analog *N*-acetylgalaktosaminu **1**, který díky uzamčené poloze klíčových OH skupin vykazuje o řád vyšší afinitu a vynikající hodnotu účinnosti ligandu (ligand efficiency, LE; vazebná energie vztažená na jeden nevodíkový atom) (obr. 1b). Tento ligand pak použil pro přípravu trivalentního ligandu a v pilotní studii prokázal jeho selektivní vychytání v hepatocytech<sup>16</sup>.

V následující části budou diskutovány možnosti cílelého transportu léčivých látek k hepatocytům s využitím selektivních ASGPR ligandů.

### 2.1. Konjugáty léčivá látka–polymerní nosič–ligand

Jednou z možných strategií cílelého transportu léčiv k hepatocytům je „označení“ účinné látky ASGPR-selektivním ligandem. Základem struktury je polymerní nosič, který nese jak ASGPR ligandy, tak vlastní účinnou látku. Ta bývá vázána linkerem labilním v kyselém prostředí. V krevním řečišti je tak vazba k účinné látce stabilní, zatímco v endosomu, jehož vnitřní prostředí se vyznačuje nižší hodnotou pH, dojde k uvolnění účinné látky. Příklady takových konjugátů určených k cílelému transportu účinných látek do jater jsou např. methotrexát vázaný na galaktosylovaný albumin<sup>17</sup>, doxorubicin vázaný *N*-acetylgalaktosaminem, modifikovaný poly-*N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamid (HMPA)<sup>18</sup> nebo fullerén vázaný na vodorozpustný polysacharid pullulan<sup>19</sup>.

Poměrně novou a slibně se rozvíjející oblastí je cílelý transport genů a nukleových kyselin. Vzhledem ke své velikosti a zápornému náboji nemohou nukleové kyseliny proniknout do buňky samy o sobě, ale vyžadují transportní nosič. S výhodou jsou využívány galaktosylované polykationické polymery, jako např. poly-L-lysin (PLL), které tvoří stabilní komplexy s plasmidy, a díky přítomnosti

galaktosy dochází k jejich efektivnímu transportu k hepatocytům a transfekci<sup>12,20</sup>.

### 2.2. Konjugáty nukleová kyselina–ligand

Konjugáty „small interfering“ RNA se selektivními ASGPR ligandy, v literatuře označované jako GalNAc-siRNA konjugáty, jsou intenzivně studovány pro terapeutické využití RNA interference (obr. 1c)<sup>21–23</sup>. Princip RNA interference je následující: interakcí dvouvláknové siRNA s buněčnými proteiny vzniká tzv. RISC komplex, dochází k rozpletení duplexu siRNA, spárování s cílovým úsekem messengerové RNA (mRNA) a její degradaci, čímž je zabráněno expresi této mRNA. RNA interference má velký potenciál v léčbě řady onemocnění od rakoviny<sup>24</sup> přes virové infekce<sup>25,26</sup> po neurodegenerativní onemocnění<sup>27</sup>. V listopadu 2019 byl v USA schválen první GalNAc-siRNA konjugát, givosiran (Givlaari<sup>®</sup>, Alnylam Pharmaceuticals), určený pro léčbu akutní jaterní porfyrie. Řada dalších GalNAc-siRNA konjugátů je nyní v klinických studiích. V nejpokročilejších fázích jsou revusiran (léčba kardiomyopatie, fáze III klinického testování, Alnylam Pharmaceuticals)<sup>28</sup>, inclisiran (léčba hypercholesterolemie, fáze III klinického testování, Novartis)<sup>29</sup> a fitusiran (léčba hemofilie, fáze II klinického testování, Sanofi)<sup>30</sup>.

### 2.3. Nanotransportéry

V nanomedicině je cílelý transport léčiv založen na enkapsulaci léčivé látky v nanočástici, přičemž povrch nanočástice interaguje se specifickými receptory na povrchu buňky, k níž je třeba léčivo dopravit. V závislosti na svém charakteru mohou nanočástice enkapsulovat hydrofobní i hydrofilní látky. Mají vysokou transportní kapacitu, chrání léčivou látku před degradací a umožňují její řízené uvolnění v místě určení<sup>12</sup>. Modifikace povrchu nanotransportérů specifickými ASGPR ligandy tak může usnadnit selektivní dopravení léčivých látek či genů do hepatocytů<sup>31</sup>. Mezi nejpožívanější nanočástice pro cílelý transport léčiv patří lipozomy a lipidové nanočástice (lipid nanoparticles, LNP). Zatímco lipozom je dutina ohraničená lipidovou dvouvrstvou, lipidová nanočástice nemusí mít ve všech částech na povrchu dvouvrstvu, místy připomíná spíše micelu s menšími micelárními útvary uvnitř, které obalují transportovaný materiál (obr. 1d).

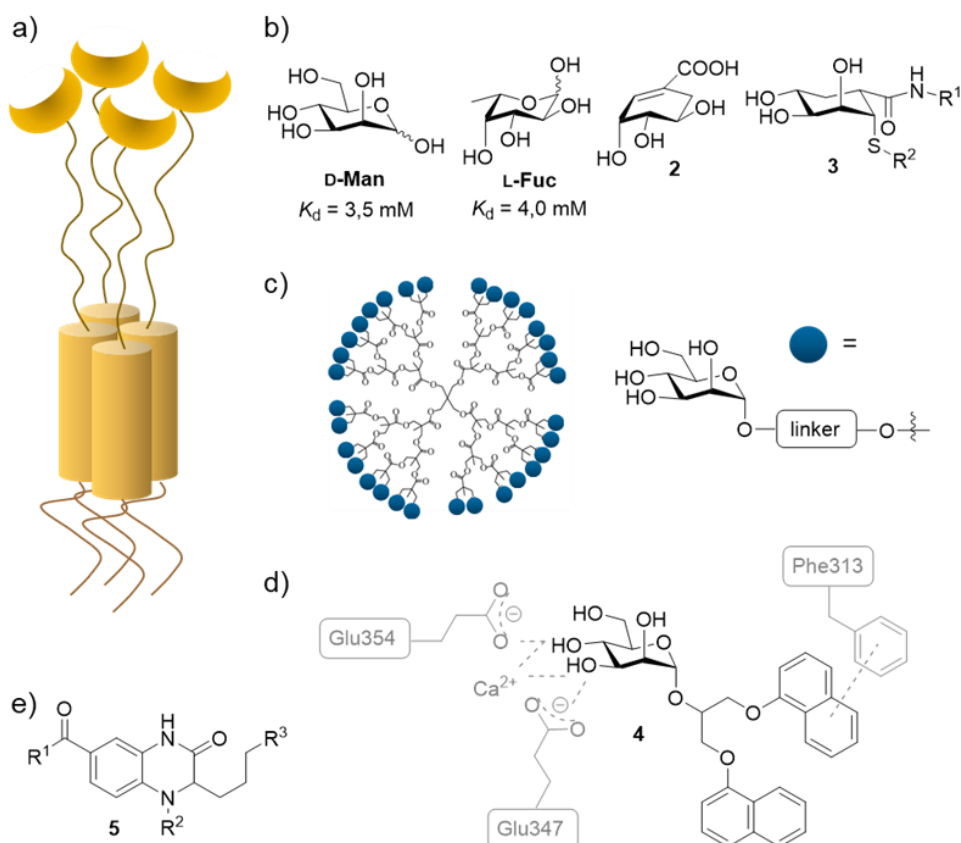
Cílelý transport lipozomů modifikovaných na povrchu galaktosou či mannosou k různým typům jaterních buněk byl poprvé popsán již na začátku 80. let minulého století<sup>32,33</sup>. O 25 let později byly galaktosylované lipozomy využity pro enkapsulaci kancerostatika doxorubicinu a jeho cílelému transportu do hepatocytů<sup>34</sup>. Od té doby byly galaktosylované liposomy použity k enkapsulaci a cílelému transportu řady dalších kancerostatik, např. cytarabinu<sup>35</sup>, oridoninu<sup>36</sup> a lipofilních derivátů norcantharimidu<sup>37</sup>, a antivirotik, včetně anti-HIV léčiv azidothymidinu<sup>38</sup> a stavudinu<sup>39</sup>.

Lipidové nanočástice se s výhodou používají k cílelému transportu terapeutických nukleových kyselin,

a to proto, že maskují jejich záporný náboj, chrání je před degradací DNAsami či RNAsami a zabraňují jejich zachycení v endosomech<sup>40</sup>. S ohledem na záporný náboj nukleových kyselin se jako hlavní složka LNP využívají kationické lipidy, ve kterých polární „hlavu“ tvoří nabitá aminoskupina. Dříve používané kvarterní amoniové soli jsou v poslední době vytlačovány terciárními aminy, které jsou elektroneutrální v krevním řečišti a k jejich protonizaci dochází v endosomu po vstupu do buňky. Protonizace je následována změnou tvaru částice a uvolněním nákladu do cytosolu<sup>41–43</sup>. Za účelem transportu siRNA byly vyvinuty LNP obsahující GalNAc–PEG–lipid. Zatímco lipid se svou hydrofobní částí zanoří do nanočástice, PEG reguluje velikost nanočástice a stabilizuje ji a trimerní GalNAc ASGPR ligand zajišťuje cílení nanočástice na hepatocyty<sup>44</sup>. H. Harashima využil takovéto LNP pro transport tří siRNA cílených proti mRNA viru hepatitidy B a pozoroval výrazné snížení virových antigenů v séru a HBV genomické DNA<sup>45</sup>.

### 3. Receptor DC-SIGN

Receptor DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin) se vyskytuje zejména na povrchu buněk přirozeného imunitního systému (makrofágů a dendritických buněk), kde plní funkci „pattern recognition“ receptoru. Umožňuje tak imunitním buňkám rozpoznat nepřítele, ať již exogenní patogen nebo vlastní poškozenou buňku, a spustit kaskádu imunitní odpovědi. Jeho hlavní úlohou je rozpoznávání glykanů bohatých na mannosu a fukosu, které se vyskytují na povrchu patogenů: virů (HIV, eboly, cytomegaloviru), bakterií (*M. tuberculosis*, *S. pneumoniae*), hub i parazitů<sup>46</sup>. Rozpoznání patogenu je následováno jeho internalizací, zpracováním antigenního materiálu a jeho prezentací na povrchu dendritické buňky T-lymfocytům<sup>47</sup>. DC-SIGN tak tvoří jakýsi most mezi vrozenou (dendritické buňky) a získanou imunitou (T-lymfocyty). Bylo prokázáno, že některé patogeny, např. virus HIV-1 a virus hepatitidy C, jsou sice DC-SIGN receptorem rozpoznány, ale místo aby došlo k jejich eliminaci, zneužívají tyto patogeny dendritické buňky jako trojského koně ke svému šíření se po organismu a napadení T-lymfocytů<sup>46–48</sup>. Dá se tedy očeká-



Obr. 2. DC-SIGN receptor a jeho ligandy. a) Tetramerní struktura DC-SIGN receptoru se čtyřmi sacharidovými vazebnými místy; b) sacharidové ligandy a glykomimetika<sup>49,50,53,57,58</sup>; c) dendrimer s navázanou mannosou<sup>51</sup>; d) monovalentní mannosid nesoucí v anomerní poloze dva arylly a klíčové interakce ve vazebném místě<sup>61</sup>; e) chinoxalinon jako první identifikovaný nesacharidový ligand<sup>63</sup>

vat, že by inhibice DC-SIGN receptoru měla vést k zamezení nebo alespoň omezení šíření těchto patogenů.

DC-SIGN je homotetramer s velmi mělkými a hydrofilními sacharidovými vazebnými místy (obr. 2a). Podobně jako ostatní lektiny má velmi nízkou afinitu k monomerním ligandům ( $K_d(\text{Man}) = 3,5 \text{ mM}$  (cit.<sup>49</sup>),  $K_d(\text{Fuc}) = 4,0 \text{ mM}$  (cit.<sup>50</sup>), obr. 2b), kterou příroda obchází multivalencí prostřednictvím oligosacharidů ( $K_d(\text{Lewis-x}) = 800 \text{ }\mu\text{M}$ ,  $K_d(\text{Man}_9\text{-GlcNAc}_2) = 26 \text{ }\mu\text{M}$ ). Oligosacharidy však nejsou z pohledu medicíně vhodné kandidáty na léčiva kvůli své nízké biodostupnosti a stabilitě, ne příliš vysoké selektivě vazby k jednotlivým receptorům a časově i finančně náročné syntéze.

### 3.1. Syntetické ligandy DC-SIGN receptoru

Při návrhu a syntéze DC-SIGN ligandů je nutné překonat několik překážek. Kromě nízké afinity při monovalentní interakci s přirozeným ligandem je velkým problémem také selektivita mezi příbuznými lektiny. V případě DC-SIGN je největším kompetitorem Langerin, C-lektinový receptor nacházející se v Langerhansových buňkách v pokožce. Langerin hraje důležitou roli v ochraně organismu před patogeny a jeho inhibice by v tomto ohledu byla značně nežádoucí.

V současné době jsou studovány tři typy ligandů pro DC-SIGN receptor: (a) multivalentní systémy obsahující terminální mannosu či fukosu, (b) sacharidová mimetika, (c) malé nesacharidové molekuly interagující se sekundárními vazebnými místy.

Inspirováni přírodou, syntetičtí chemici v posledních deseti letech připravili řadu multivalentních systémů založených na dendrimerech<sup>51–53</sup>, nanočásticích<sup>54</sup>, fullerenech<sup>55</sup> či calix[n]arenech<sup>56</sup> (obr. 2c). Pomocí optimalizace architektury a vzdálenosti mezi jednotlivými DC-SIGN ligandy dosáhli mikro- až nanomolárních afinit. Uvedené systémy mají bohužel stále řadu nevýhod, zejména nízkou biodostupnost a selektivitu.

Vysokou polaritu a nízkou stabilitu přirozených sacharidových ligandů je možné obejít použitím glykomimetik, tj. nesacharidových molekul, které svou strukturou a prostorovým uspořádáním klíčových funkčních skupin mimikují sacharidy. V řadě studií byla s úspěchem použita kyselina šikimová (2) či deriváty cyklohexantriolu (3) (obr. 2c)<sup>53,57,58</sup>. Mezi další glykomimetika studovaná jako potenciální ligandy DC-SIGN receptoru patří fukosylamidy<sup>59</sup> a pseudo-1,2-mannosidy<sup>60</sup>.

M. Anderluh vyvinul monovalentní inhibitory DC-SIGN založené na mannose, k níž jsou glykosidovou vazbou přes glycerolový linker vázány dva aryle. Zatímco OH skupiny mannosy interagují přes  $\text{Ca}^{2+}$  kation se dvěma zbytky kyseliny glutamové, aryle se podílejí na hydrofobních a  $\pi$ - $\pi$  interakcích s benzenovým jádrem fenylalaninu v hydrofobní kapse sacharidového vazebného místa (obr. 2d). V případě bis(naftylového) derivátu 4 byl pozorován stonásobný nárůst afinity ve srovnání s nesubstituovanou mannosou<sup>61</sup>.

Zatímco multivalentní mannosylované ligandy a glykomimetika byly v posledních patnácti letech intenzivně

studovány, nesacharidové ligandy zůstávaly mimo pole zájmu, a to z důvodu mělkosti a vysoké hydrofilnosti vazebného místa. Skupina L. Kiessling v rámci vysokokapacitního screeningu dvou chemických knihoven, čítajících dohromady 36 000 látek, identifikovala několik malých molekul s mikromolární afinitou<sup>62</sup>. Mezi hity se opakoval strukturální motiv chinoxalinonu 5 (obr. 2e). V následné studii byl tento motiv dále optimalizován, až bylo dosaženo submikromolární afinity<sup>63</sup>. V žádné další studii však tyto látky nebyly ani použity, ani dále rozvíjeny.

Revoluci v oblasti nesacharidových ligandů přinesla studie Ch. Rademachera, v níž byla pomocí NMR technik a povrchové plasmonové rezonance (surface plasmon resonance, SPR) testována knihovna 986 fragmentů, tj. malých „drug-like“ molekul s vlastnostmi vhodnými pro budoucí léčiva (polarita, rozpustnost, bazicita, aj.). Fragmentsy samy o sobě nejsou vhodnými kandidáty na léčiva, protože jsou příliš malé a nedosahují dostatečných afinit k cílovým strukturám, jejich dalším opracováním (fragment growing) či spojováním (fragment linking) je však možné zvýšit afinitu a zachovat nebo vylepšit farmakologické vlastnosti. Rademacherova studie potvrdila existenci pěti sekundárních vazebných míst DC-SIGN receptoru, která jsou na rozdíl od primárního sacharidového vazebného místa hydrofobní a schopná interagovat s nesacharidovými molekulami. Těchto vazebných míst je možné využít při hledání alosterických inhibitorů či větších molekul interagujících současně s primárním a sekundárním vazebným místem<sup>64</sup>.

Kromě snahy o přímou inhibici DC-SIGN receptoru, která by měla vést k zamezení šíření patogenů v organismu, je DC-SIGN i atraktivním cílem pro doručení antigenů k dendritickým buňkám. Modifikace antigenů oligomannosidy vedla k zvýšenému vychytávání těchto antigenů dendritickými buňkami a jejich prezentaci T-lymfocytům<sup>65,66</sup>. Řada studií zabývajících se vývojem vakcín proti rakovině využila pro dopravu antigenního materiálu či nukleové kyseliny mannosylované nosiče, např. chitosanové nanočástice<sup>67,68</sup> či lipozomy<sup>69</sup>.

### 3.2. Interakce viru SARS-CoV-2 s DC-SIGN receptorem

Rok 2020 je poznamenán pandemií onemocnění COVID-19, způsobeného novým koronavirem SARS-CoV-2. Krátce po potvrzení prvních případů bylo prokázáno, že tento virus využívá pro vstup do buňky receptor angiotensin konvertující enzym II (ACE2), s nímž interaguje prostřednictvím svého spike proteinu<sup>70</sup>. Zajímavé je, že ačkoli byla prokázána stejná afinita virů SARS-CoV-1 a SARS-CoV-2 k ACE2, virus SARS-CoV-2 se šíří mnohem rychleji<sup>71</sup>. Dá se tedy předpokládat existence pomocných mechanismů usnadňujících šíření viru a jeho proniknutí do buňky.

Spike protein viru SARS-CoV-2 je hustě glykosylován a předpokládá se, že glykany virus chrání před útokem protilátek a také mohou přispívat k jeho vysoké infekčnosti díky interakci s hostitelskými lektiny. Tato interakce může být virem zneužita k dosažení a trans-infekci ACE2+ buněk<sup>72</sup>. Protože cca 28 % glykanů představují oligo-

mannosidy, nabízí se otázka, zda a případně jak dochází k interakci viru SARS-CoV-2 s DC-SIGN receptorem. Interakce glykosylovaného spike proteinu s DC-SIGN receptorem skutečně byla prokázána<sup>73,74</sup>, stejně jako jeho následná internalizace<sup>75</sup>. DC-SIGN tedy může být dalším receptorem umožňujícím vstup viru do buněk. Infekce buněk vrozeného imunitního systému by také mohla přispívat k přehnané imunitní odpovědi u těžkých případů onemocnění. Syntetické ligandy DC-SIGN receptoru by tak mohly inhibovat interakci viru s buňkami nesoucími DC-SIGN receptory a mohly by mít potenciál v prevenci či léčbě onemocnění. V pilotních studiích využil B. Ernst mannosylovaný poly-L-lysin k inhibici interakce spike protein–DC-SIGN<sup>75</sup> a F. Fieschi ukázal, že multivalentní glykomimetikum Polyman26 nejen inhibuje interakci spike proteinu s DC-SIGN receptorem, ale inhibuje také následnou trans-infekci Vero buněk, které jsou k infekci velmi náchylné<sup>72</sup>. Závěrem je nutné podotknout, že DC-SIGN není jediným lektinem studovaným v souvislosti se šířením viru SARS-CoV-2; byla prokázána i interakce s receptory L-SIGN, MGL, Siglec-3, Siglec-9 a Siglec-10 (cit.<sup>76</sup>).

#### 4. Závěr

S ohledem na funkce lektinů v antimikrobiální obraně a imunitní rovnováze je cílení lektinů slibnou strategií pro formování imunitní odpovědi v kontextu infekcí, autoimunitních reakcí, rakoviny a vakcinace. Zatímco interakce ASGPR receptoru s *N*-acetylgalaktosaminy se již využívá v klinické praxi k cílenému transportu terapeutických nukleových kyselin do hepatocytů, pro DC-SIGN receptor jsou stále hledány vhodné ligandy s potenciálním využitím v antivirové a antimikrobiální léčbě a v cílení antigenů jako součásti vakcín k dendritickým buňkám.

*Děkuji České společnosti chemické a nadaci Bader Philanthropies za podporu.*

#### Seznam zkratk

ACE2	angiotenzin konvertující enzym II (angiotensin-converting enzyme II)
ASGPR	asialoglykoproteinový receptor (asialoglycoprotein receptor)
CLR	lektinový receptor typu C, C-lektinový receptor (C-type lectin receptor)
DAMP	molekulární vzor asociovaný s poškozením (damage-associated molecular pattern)
DC-SIGN	dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin
Fuc	fukosa
Gal	galaktosa
GalNAc	<i>N</i> -acetylgalaktosamin
GlcNAc	<i>N</i> -acetylglukosamin
HBV	virus hepatitidy B
HCC	hepatocelulární karcinom (hepatocellular carcinoma)

$K_d$	disociační konstanta
LE	účinnost ligandu (ligand efficiency)
LNP	lipidová nanočástice (lipid nanoparticle)
Man	mannosa
PAMP	patogen-asociovaný molekulární vzor (pathogen-associated molecular pattern)
PEG	polyethylenglykol
PRR	pattern recognition receptor
SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2
siRNA	small interfering RNA
SPR	povrchová plasmonová rezonance (surface plasmon resonance)

#### LITERATURA

1. Buffone A., Jr., Weaver V. M.: *J. Cell Biol.* 219, e201910070 1 (2019).
2. Hoving J. C., Wilson G. J., Brown G. D.: *Cell. Microbiol.* 16, 185 (2014).
3. Gorakshakar A. C., Ghosh K.: *Asian J. Transfus. Sci.* 10, 12 (2016).
4. Bah C. S. F., Fang E. F., Ng T. B.: *Medicinal Applications of Plant Lectins*. Springer, Dordrecht 2013.
5. Kilpatrick D. C.: *Biochim. Biophys. Acta* 1572, 187 (2002).
6. Cummings R. D., McEver R. P., v knize: *Essentials of Glycobiology* (Varki A., Cummings R. D., Esko J. D., Stanley P., Hart G. W., Aebi M., Darvill A. G., Kinoshita T., Packer N. H., Prestegard J. H., Schnaar R. L., Seeberger P. H., ed.), kap. 34, str. 435. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.
7. Cummings R. D., Liu F.-T., Vasta G. R., v knize: *Essentials of Glycobiology* (Varki A., Cummings R. D., Esko J. D., Stanley P., Hart G. W., Aebi M., Darvill A. G., Kinoshita T., Packer N. H., Prestegard J. H., Schnaar R. L., Seeberger P. H., ed.), kap. 36, str. 469. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.
8. Brinchmann M. F., Patel D. M., Iversen M. H.: *Mediators Inflamm.* 2018, 9186940 (2018).
9. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>, staženo 13. 9. 2020.
10. Mazzanti R., Gramantieri L., Bolondi L.: *Mol. Aspects Med.* 29, 130 (2008).
11. Hayashi P. H., Di Bisceglie A. M.: *Med. Clin. North Am.* 89, 371 (2005).
12. D'Souza A. A., Devarajan P. V.: *J. Control. Release* 203, 126 (2015).
13. Lee Y. C., Townsend R. R., Hardy M. R., Lönngren J., Arnarp J., Haraldsson M., Lönn H.: *J. Biol. Chem.* 258, 199 (1983).
14. Cecioni S., Imberty A., Vidal S.: *Chem. Rev.* 115, 525 (2015).
15. Huang X., Leroux J.-C., Castagner B.: *Bioconjugate Chem.* 28, 283 (2017).
16. Sanhueza C. A. a 25 spoluautorů: *J. Am. Chem. Soc.* 139, 3528 (2017).
17. Han J.-H., Oh Y.-K., Kim D.-S., Kim C.-K.: *Int. J. Pharmaceut.* 188, 39 (1999).

18. Seymour L. W., Ferry D. R., Anderson D., Hesslewood S., Julyan P. J., Poyner R., Doran J., Young A. M., Burtles S., Kerr D. J.: *J. Clin. Oncol.* 20, 1668 (2002).
19. Liu J., Tabata Y.: *J. Drug Target.* 18, 602 (2010).
20. Thapa B., Kumar P., Zeng H., Narain R.: *Biomacromolecules* 16, 3008 (2015).
21. Springer A. D., Dowdy S. F.: *Nucl. Acid Ther.* 28, 109 (2018).
22. Zhu L., Mahato R. I.: *Bioconjugate Chem.* 21, 2119 (2010).
23. Nair J. K. a 24 spoluautorů: *J. Am. Chem. Soc.* 136, 16958 (2014).
24. Mansoori B., Sandoghchian Shotorbani S., Baradaran B.: *Adv. Pharm. Bull.* 4, 313 (2014).
25. Leonard J. N., Schaffer D. V.: *Gene Ther.* 13, 532 (2006).
26. Levanova A., Poranen M. M.: *Front. Microbiol.* 9, 2151 (2018).
27. Ghosh R., Tabrizi S. J.: *Alzheimers Res. Ther.* 9, 82 (2017).
28. Judge D. P. a 15 spoluautorů: *Cardiovasc. Drugs Ther.* 34, 357 (2020).
29. Ray K. K. a 10 spoluautorů: *New Engl. J. Med.* 382, 1507 (2020).
30. Pipe S., Ragni M. V., Négrier C., Yu Q., Bajwa N., Caminis J., Mei B., Andersson S. R.: *Blood* 134, 1138 (2019).
31. Wu J., Zern M. A.: *J. Hepatol.* 24, 757 (1996).
32. Ghosh P., Bachhawat B. K., Surolia A.: *Arch. Biochem. Biophys.* 206, 454 (1981).
33. Ghosh P., Das P. K., Bachhawat B. K.: *Arch. Biochem. Biophys.* 213, 266 (1982).
34. Wang S., Deng Y., Xu H., Wu H., Qiu Y., Chen D.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 62, 32 (2006).
35. Terada T., Iwai M., Kawakami S., Yamashita F., Hashida M.: *J. Control. Rel.* 111, 333 (2006).
36. Guo B., Cheng Y., Li N., Li X., Jin M., Li T., Li J.: *J. Drug Target.* 21, 257 (2013).
37. Liu X., Han M., Xu J., Geng S., Zhang Y., Ye X., Gou J., Yin T., He H., Tang X.: *Int. J. Pharmaceut.* 520, 98 (2017).
38. Garg M., Jain N. K.: *J. Drug Target.* 14, 1 (2006).
39. Garg M., Dutta T., Jain N. K.: *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 67, 76 (2007).
40. Witzigmann D., Kulkarni J. A., Leung J., Chen S., Cullis P. R., van der Meel R.: *Adv. Drug Deliv. Rev.* S0169 (2020).
41. Evers M. J. W., Kulkarni J. A., van der Meel R., Cullis P. R., Vader P., Schiffelers R. M.: *Small Methods* 2, 1700375 (2018).
42. Cullis P. R., Hope M. J.: *Mol. Ther.* 25, 1467 (2017).
43. Kowalski P. S., Rudra A., Miao L., Anderson D. G.: *Mol. Ther.* 27, 710 (2019).
44. Akinc A. a 24 spoluautorů: *Mol. Ther.* 18, 1357 (2010).
45. Sato Y., Matsui H., Yamamoto N., Sato R., Munakata T., Kohara M., Harashima H.: *J. Control. Rel.* 266, 216 (2017).
46. van Kooyk Y., Geijtenbeek T. B. H.: *Nature Rev. Immunol.* 3, 697 (2003).
47. Geijtenbeek T. B. H., Torensma R., van Vliet S. J., van Duijnhoven G. C. F., Adema G. J., van Kooyk Y., Figdor C. G.: *Cell* 100, 575 (2000).
48. Bermejo-Jambrina M., Eder J., Helgers L. C., Hertoghs N., Nijmeijer B. M., Stunnenberg M., Geijtenbeek T. B. H.: *Front. Immunol.* 9, 590 (2018).
49. Holla A., Skerra A.: *Protein Eng. Des. Sel.* 24, 659 (2011).
50. Valverde P., Delgado S., Martínez J. D., Vendeville J.-B., Malassis J., Linclau B., Reichardt N.-C., Cañada F. J., Jiménez-Barbero J., Ardá A.: *ACS Chem. Biol.* 14, 1660 (2019).
51. Reina J. J., Rojo J.: *Braz. J. Pharm. Sci.* 49, 109 (2013).
52. Bertolotti B. a 11 spoluautorů: *Org. Biomol. Chem.* 15, 3995 (2017).
53. Bernardi A., Sattin S.: *Eur. J. Org. Chem.* 2020, 4652 (2020).
54. Martínez-Avila O., Hijazi K., Marradi M., Clavel C., Champion C., Kelly C., Penadés S.: *Chemistry* 15, 9874 (2009).
55. Luczkowiak J., Muñoz A., Sánchez-Navarro M., Ribeiro-Viana R., Ginieis A., Illescas B. M., Martín N., Delgado R., Rojo J.: *Biomacromolecules* 14, 431 (2013).
56. Morbioli I., Porkolab V., Magini A., Casnati A., Fieschi F., Sansone F.: *Carbohydr. Res.* 453-454, 36 (2017).
57. Prost L. R., Grim J. C., Tonelli M., Kiessling L. L.: *ACS Chem. Biol.* 7, 1603 (2012).
58. Bernardi A., Cheshev P.: *Chem. Eur. J.* 14, 7434 (2008).
59. Andreini M. a 13 spoluautorů: *Org. Biomol. Chem.* 9, 5778 (2011).
60. Thépaut M. a 11 spoluautorů: *J. Am. Chem. Soc.* 135, 2518 (2013).
61. Tomašić T., Hajšek D., Švajger U., Luzar J., Obermajer N., Petit-Haertlein I., Fieschi F., Anderluh M.: *Eur. J. Med. Chem.* 75, 308 (2014).
62. Borrok M. J., Kiessling L. L.: *J. Am. Chem. Soc.* 129, 12780 (2007).
63. Mangold S. L., Prost L. R., Kiessling L. L.: *Chem. Sci.* 3, 772 (2012).
64. Aretz J., Baukmann H., Shanina E., Hanske J., Wawrzinek R., Zapol'skii V. A., Seeberger P. H., Kaufmann D. E., Rademacher C.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 56, 7292 (2017).
65. Aarnoudse C. A., Bax M., Sánchez-Hernández M., García-Vallejo J. J., van Kooyk Y.: *Int. J. Cancer* 122, 839 (2008).
66. Srinivas O., Larriou P., Duverger E., Bousser M.-T., Monsigny M., Fonteneau J.-F., Jotereau F., Roche A.-C.: *Bioconjugate Chem.* 18, 1547 (2007).
67. Kim T. H., Jin H., Kim H. W., Cho M.-H., Cho C. S.: *Mol. Cancer Ther.* 5, 1723 (2006).
68. Yao W., Peng Y., Du M., Luo J., Zong L.: *Mol. Pharmaceut.* 10, 2904 (2013).

69. Markov O. V., Mironova N. L., Shmendel E. V., Serikov R. N., Morozova N. G., Maslov M. A., Vlassov V. V., Zenkova M. A.: *J. Control. Rel.* 213, 45 (2015).
70. Zhou P. a 28 spoluautorů: *Nature* 579, 270 (2020).
71. Walls A. C., Park Y.-J., Tortorici M. A., Wall A., McGuire A. T., Veesler D.: *Cell* 181, 281 (2020).
72. Thépaut M. a 13 spoluautorů: bioRxiv 2020.08.09.242917 (2020).
73. Gao C. a 13 spoluautorů: bioRxiv 2020.07.29.227462 (2020).
74. Amraie R. a 10 spoluautorů: bioRxiv 2020.06.22.165803 (2020).
75. Jonathan C., Butrint A., Xiaohua J., Timothy S., Li-juan P., Adrian H., Said R., Beat E.: ChemRxiv 10.26434/chemrxiv.13072025.v1 (2020).
76. Chiodo F. a 10 spoluautorů: bioRxiv 2020.05.13.092478 (2020).
77. Mamidyala S. K. a 15 spoluautorů: *J. Am. Chem. Soc.* 134, 1978 (2012).

**P. Měnová** (*University of Chemistry and Technology, Prague*): **ASGPR and DC-SIGN: C-Type Lectin Receptors with a Promising Potential for Medicinal Chemistry**

Lectins are carbohydrate-binding proteins which are involved in plethora of vital processes such as cellular communication, cell migration and cell recognition. Many lectins play an important role in pathogen recognition and initiation of the immune response. Many of these receptors are uniquely expressed on defined cell subsets, which allows for specific targeting of these cells in the complex biological environment. This review highlights the relevance and main obstacles in using lectins as drug targets and discusses in detail the progress that has been made in targeting hepatocytes through the asialoglycoprotein receptor and dendritic cells through the DC-SIGN receptor.

**Keywords:** carbohydrates, lectins, asialoglycoprotein receptor, DC-SIGN receptor, drug targeting, inhibition

*Acknowledgements*

*The author acknowledges the Czech Chemical Society and Bader Philanthropies foundation for support.*