

COMPUESTOS QUIMICOS CON ACCION ANTIVIRAL CONTRA VIRUS DENGUE Y OTROS FLAVIVIRUS.

5

Campo de la Técnica

La presente invención está relacionada con la industria farmacéutica, específicamente describe el uso de compuestos químicos que contienen dos subestructuras funcionalmente distintivas [C]-[A] para afectar o inhibir diferentes eventos del ciclo de replicación viral del virus Dengue relacionados con la entrada del virus a las células dianas y el ensamblaje de los viriones progenie. Dichos compuestos químicos son útiles para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la infección causada por los cuatro serotipos del virus de Dengue y por otros *flavivirus*.

15

Arte previo

El género *flavivirus* comprende alrededor de 70 virus incluyendo patógenos importantes responsables de elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en animales y humanos como son el virus Dengue, el virus del Nilo occidental, el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la fiebre amarilla, el virus de la encefalitis de St Louis y el virus del Valle Murray. Sin embargo, no existe una terapia específica disponible para el tratamiento de la infección por *flavivirus* y hasta la fecha, solo se han aprobado vacunas para uso humano contra tres virus de dicho género.

25

Entre los *flavivirus*, el virus Dengue constituye uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, especialmente en áreas tropicales y sub-tropicales. El virus Dengue se agrupa en cuatro serotipos: DEN1, DEN2, DEN3 y DEN4 y se transmite a los humanos a través de vectores, fundamentalmente, mosquito *Aedes aegypti*. El paciente infectado con virus Dengue puede ser asintomático o mostrar varios síntomas clínicos que incluyen desde fiebre indiferenciada (FI), fiebre del dengue (FD) hasta formas más graves y ocasionalmente fatales de la enfermedad, conocidas como fiebre hemorrágica del dengue (FHD) y síndrome de choque por dengue (SCD) (Guha-Sapir, D. y Schimmer, B. (2005) *Dengue fever: new paradigms for a changing epidemiology. Emerg. Themes. Epidemiol.* 2:1-10).

35

A pesar de la relevancia del Dengue para la salud pública, en la actualidad no existen vacunas ni drogas antivirales disponibles contra esta enfermedad (*Chaturvedi, U.C., Shrivastava, R., y Nagar, R. (2005) Dengue vaccines: problems and prospects. Indian J Med Res. 121:639-652*). Tampoco existe un
5 tratamiento específico; la terapia se basa en controlar los síntomas y compensar adecuadamente los efectos de la deshidratación y de las hemorragias, mientras el organismo genera anticuerpos neutralizantes contra el virus. El control de vectores es la única vía para prevenir la infección sin embargo, por lo general resulta poco eficaz (*Rico-Hesse, R. (2003) Microevolution and virulence of
10 dengue viruses. Adv. Virus Res. 59:315-341*).

Los mayores impedimentos para el desarrollo de vacunas contra el Dengue son la falta de una comprensión más completa de la patogénesis de FHD y la ausencia de un modelo animal satisfactorio. Además, la infección con uno de los serotipos no confiere inmunidad protectora de larga duración contra las
15 reinfecciones con los tres serotipos restantes (*SABIN, A.B. (1952) Research on dengue during World War II. Am J Trop. Med Hyg. 1:30-50*); peor aún, las infecciones heterólogas secundarias o terciarias han sido asociadas con FHD/SCD (*Halstead, S.B., Nimmannitya, S., y Cohen, S.N. (1970) Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease
20 severity to antibody response and virus recovered. Yale J Biol Med. 42:311-328. Halstead, S.B. (1988) Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science. 239:476-481*). En la patogénesis de FHD/SCD juega un papel importante el efecto conocido como amplificación dependiente de anticuerpos (ADA) (*Mady, B.J., Erbe, D.V., Kurane, I., Fanger, M.W., y Ennis, F.A. (1991)
25 Antibody-dependent enhancement of dengue virus infection mediated by bispecific antibodies against cell surface molecules other than Fc gamma receptors. J Immunol. 147:3139-3144*). Por lo tanto, una vacuna eficaz tiene que ser tetravalente y ser capaz de inducir respuesta protectora de anticuerpos neutralizantes contra los cuatro serotipos del virus Dengue simultáneamente.

30 Las vacunas tetravalentes de virus vivos atenuados constituyen los candidatos vacunales más promisorios (*Chaturvedi, U.C., Shrivastava, R., y Nagar, R. (2005) Dengue vaccines: problems and prospects. Indian J Med Res. 121: 639-652. Edelman, R. (2007) Dengue vaccines approach the finish line. Clin Infect. Dis.*

45:56-60). Los mismos han sido desarrollados combinando los cuatro serotipos atenuados del virus Dengue en una formulación tetravalente; los virus atenuados han sido obtenidos mediante pases seriados en células primarias de riñón de perro (Bhamarapravati, N. y Sutee, Y. (2000) *Live attenuated tetravalent dengue vaccine*. *Vaccine*. 18:44-47) o por tecnología de ADN recombinante mediante la introducción de mutaciones específicas en un clon de ADNc viral infeccioso (Durbin, A.P., Karron, R.A., Sun, W., Vaughn, D.W., Reynolds, M.J., Perreault, J.R., Thumar, B., Men, R., Lai, C.J., Elkins, W.R., Chanock, R.M., Murphy, B.R., y Whitehead, S.S. (2001) *Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in its 3'-untranslated region*. *Am J Trop.Med Hyg*. 65:405-413) o insertando genes que codifican proteínas estructurales (proteína premembrana y proteína envoltura) en cepas de virus Dengue atenuadas o en la cepa vacunal atenuada del virus de la fiebre amarilla 17D (Guirakhoo, F., Pugachev, K., Arroyo, J., Miller, C., Zhang, Z.X., Weltzin, R., Georgakopoulos, K., Catalan, J., Ocran, S., Draper, K., y Monath, T.P. (2002) *Viremia and immunogenicity in nonhuman primates of a tetravalent yellow fever-dengue chimeric vaccine: genetic reconstructions, dose adjustment, and antibody responses against wild-type dengue virus isolates*. *Virology*. 298:146-159). Los candidatos vacunales tetravalentes de virus vivo atenuado que se encuentran en ensayos clínicos (fase 1 y fase 2) han probado ser seguros e inmunogénicos (Edelman, R., Wasserman, S.S., Bodison, S.A., Putnak, R.J., Eckels, K.H., Tang, D., Kanesa-Thanan, N., Vaughn, D.W., Innis, B.L., y Sun, W. (2003) *Phase I trial of 16 formulations of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine*. *Am J Trop.Med Hyg*. 69:48-60. Sabchareon, A., Lang, J., Chanthavanich, P., Yoksan, S., Forrat, R., Attanath, P., Sirivichayakul, C., Pengsaa, K., Pojjaroen-Anant, C., Chambonneau, L., Saluzzo, J.F., y Bhamarapravati, N. (2004) *Safety and immunogenicity of a three dose regimen of two tetravalent live-attenuated dengue vaccines in five- to twelve-year-old Thai children*. *Pediatr.Infect.Dis.J*. 23:99-109. Sabchareon, A., Lang, J., Chanthavanich, P., Yoksan, S., Forrat, R., Attanath, P., Sirivichayakul, C., Pengsaa, K., Pojjaroen-Anant, C., Chokejindachai, W., Jagsudee, A., Saluzzo, J.F., y Bhamarapravati, N. (2002) *Safety and immunogenicity of tetravalent live-attenuated dengue vaccines in Thai adult volunteers: role of serotype concentration, ratio, and multiple doses*. *Am J Trop.Med Hyg*. 66:264-272.

Kanesa-Thanan, N., Sun, W., Kim-Ahn, G., Van Albert, S., Putnak, J.R., King, A., Raengsakulrach, B., Christ-Schmidt, H., Gilson, K., Zahradnik, J.M., Vaughn, D.W., Innis, B.L., Saluzzo, J.F., y Hoke, C.H., Jr. (2001) *Safety and immunogenicity of attenuated dengue virus vaccines (Aventis Pasteur) in human volunteers. Vaccine. 19:3179-3188*) al igual que las formulaciones monovalentes (ChimericVax-DEN 2 y rDEN4Δ30) de dos candidatos tetravalentes quiméricos (Guirakhoo, F., Kitchener, S., Morrison, D., Forrat, R., McCarthy, K., Nichols, R., Yoksan, S., Duan, X., Ermak, T.H., Kanesa-Thanan, N., Bedford, P., Lang, J., Quentin-Millet, M.J., y Monath, T.P. (2006) *Live attenuated chimeric yellow fever dengue type 2 (ChimeriVax-DEN2) vaccine: Phase I clinical trial for safety and immunogenicity: effect of yellow fever pre-immunity in induction of cross neutralizing antibody responses to all 4 dengue serotypes. Hum.Vaccin. 2:60-67. Durbin, A.P., Whitehead, S.S., McArthur, J., Perreault, J.R., Blaney, J.E., Jr., Thumar, B., Murphy, B.R., y Karron, R.A. (2005) rDEN4delta30, a live attenuated dengue virus type 4 vaccine candidate, is safe, immunogenic, and highly infectious in healthy adult volunteers. J Infect.Dis. 191:710-718*). Otros candidatos vacunales han sido desarrollados utilizando estrategias diferentes que incluyen vacunas de virus inactivado, vacunas de subunidades proteicas y vacunas de ADN (Hombach, J. (2007) *Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. Rev Panam.Salud Pública. 21:254-260*). Varios de estos candidatos inducen respuesta inmune protectora en modelos animales (Eckels, K.H. y Putnak, R. (2003) *Formalin-inactivated whole virus and recombinant subunit flavivirus vaccines. Adv.Virus Res. 61:395-418. Hermida, L., Bernardo, L., Martin, J., Alvarez, M., Prado, I., Lopez, C., Sierra, B.L., Martinez, R., Rodriguez, R., Zulueta, A., Perez, A.B., Lazo, L., Rosario, D., Guillen, G., y Guzman, M.G. (2006) A recombinant fusion protein containing the domain III of the dengue-2 envelope protein is immunogenic and protective in nonhuman primates. Vaccine. 24:3165-3171. Raviprakash, K., Apt, D., Brinkman, A., Skinner, C., Yang, S., Dawes, G., Ewing, D., Wu, S.J., Bass, S., Punnonen, J., y Porter, K. (2006) A chimeric tetravalent dengue DNA vaccine elicits neutralizing antibody to all four virus serotypes in rhesus macaques. Virology. 353:166-173*).

Las vacunas de virus vivos atenuados constituyen las vacunas virales más ventajosas porque a diferencia de las vacunas no replicativas inducen respuesta

de anticuerpos a largo plazo, requieren de un menor número de inoculaciones y generalmente son más baratas. Sin embargo, el desarrollo de la formulación tetravalente de estos candidatos vacunales presenta varios inconvenientes como son, lograr el nivel apropiado de atenuación de cada serotipo para garantizar

5 mínimo de reactogenicidad y máximo de inmunogenicidad (*Edelman, R., Wasserman, S.S., Bodison, S.A., Putnak, R.J., Eckels, K.H., Tang, D., Kanesa-
Thasan, N., Vaughn, D.W., Innis, B.L., y Sun, W. (2003) Phase I trial of 16
formulations of a tetravalent live-attenuated dengue vaccine. Am J Trop. Med Hyg. 69:48-60*); evitar la interferencia entre los diferentes serotipos de virus Dengue

10 que constituyen la formulación tetravalente (*Raviprakash, K., Apt, D., Brinkman, A., Skinner, C., Yang, S., Dawes, G., Ewing, D., Wu, S.J., Bass, S., Punnonen, J., y Porter, K. (2006) A chimeric tetravalent dengue DNA vaccine elicits neutralizing
antibody to all four virus serotypes in rhesus macaques. Virology. 353: 166-173*) para garantizar niveles de protección similares contra todos los serotipos y

15 confirmar que la vacuna es segura e inmunogénica en individuos infectados previamente con otros *flavivirus*. Estudios recientes demostraron que la inmunización con el candidato monovalente quimérico ChimericVax- DEN 2 en individuos con inmunidad previa al virus de la fiebre amarilla no produce interferencia (*Talarico, L.B., Pujol, C.A., Zibetti, R.G., Faria, P.C., Nosedá, M.D.,
20 Duarte, M.E., y Damonte, E.B. (2005) The antiviral activity of sulfated
polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. Antiviral Res. 66:103-110*). Existen otras limitaciones en el desarrollo de vacunas de virus vivo atenuado, ya que no se puede descartar la posibilidad de que ocurra recombinación entre la cepa vacunal y el virus salvaje dando lugar a

25 un nuevo virus con propiedades no deseadas o que ocurra la reversión al fenotipo virulento. Por otro lado, generalmente estas vacunas están contraindicadas para las personas inmunodeprimidas e infectadas con Virus de la Inmunodeficiencia Humana (*Edelman, R. (2007) Dengue vaccines approach the
finish line. Clin Infect. Dis. 45:56-60*). Además, la formulación tetravalente requiere

30 un régimen de inmunización con múltiples dosis.

La terapia antiviral representa una buena alternativa para el tratamiento de la enfermedad del Dengue, especialmente cuando existen varios obstáculos (anteriormente mencionados) que imposibilitan la obtención de una vacuna

efectiva a corto plazo. Los inhibidores están dirigidos a bloquear procesos claves dentro del ciclo de replicación viral como son la entrada del virus a la célula hospedero (Talarico, L.B., Pujol, C.A., Zibetti, R.G., Faria, P.C., Nosedá, M.D., Duarte, M.E., y Damonte, E.B. (2005) *The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell*. *Antiviral Res.* 66:103-110. Ono, L., Wollinger, W., Rocco, I.M., Coimbra, T.L., Gorin, P.A., y Sierakowski, M.R. (2003) *In vitro and in vivo antiviral properties of sulfated galactomannans against yellow fever virus (BeH111 strain) and dengue 1 virus (Hawaii strain)*. *Antiviral Res.* 60:201-208. Pujol, C.A., Estevez, J.M., Carlucci, M.J., Ciancia, M., Cerezo, A.S., y Damonte, E.B. (2002) *Novel DL-galactan hybrids from the red seaweed *Gymnogongrus torulosus* are potent inhibitors of herpes simplex virus and dengue virus*. *Antivir.Chem Chemother.* 13:83-89), el procesamiento de la poliproteína viral (Chanprapaph, S., Saparpakorn, P., Sangma, C., Niyomrattanakit, P., Hannongbua, S., Angsuthanasombat, C., y Katzenmeier, G. (2005) *Competitive inhibition of the dengue virus NS3 serine protease by synthetic peptides representing polyprotein cleavage sites*. *Biochem Biophys Res Commun.* 330:1237-1246), la replicación de genoma viral (Migliaccio, G., Tomassini, J.E., Carroll, S.S., Tomei, L., Altamura, S., Bhat, B., Bartholomew, L., Bosserman, M.R., Ceccacci, A., Colwell, L.F., Cortese, R., De Francesco, R., Eldrup, A.B., Getty, K.L., Hou, X.S., LaFemina, R.L., Ludmerer, S.W., MacCoss, M., McMasters, D.R., Stahlhut, M.W., Olsen, D.B., Hazuda, D.J., y Flores, O.A. (2003) *Characterization of resistance to non-obligate chain-terminating ribonucleoside analogs that inhibit hepatitis C virus replication in vitro*. *J Biol Chem.* 278: 49164-49170) y el ensamblaje de la partícula viral (Courageot, M.P., Frenkiel, M.P., Dos Santos, C.D., Deubel, V., y Despres, P. (2000) *Alpha-glucosidase inhibitors reduce dengue virus production by affecting the initial steps of virion morphogenesis in the endoplasmic reticulum*. *J Virol.* 74: 564-572. Whitby, K., Pierson, T.C., Geiss, B., Lane, K., Engle, M., Zhou, Y., Doms, R.W., y Diamond, M.S. (2005) *Castanospermine, a potent inhibitor of dengue virus infection in vitro and in vivo*. *J Virol.* 79: 8698-8706). Los mismos se han sido identificados utilizando diferentes métodos que incluyen, pesquizado de alto flujo (Novartis Institute for Tropical Diseases. (2005) *New technologies for high-throughput screening and lead discovery of anti-viral compounds*. *Dengue Digest.* 2:1-2), diseño racional basado en la estructura

cristalográfica de proteínas virales (Hrobowski, Y.M., Garry, R.F., y Michael, S.F. (2005) *Peptide inhibitors of dengue virus and West Nile virus infectivity*. *Virology*. 2: 49-59), pesquizaje virtual de grandes librerías de compuestos químicos (Yang, J.M., Chen, Y.F., Tu, Y.Y., Yen, K.R., y Yang, Y.L. (2007) *Combinatorial computational approaches to identify tetracycline derivatives as flavivirus inhibitors*. *PLoS ONE*. 2: 428-437), evaluación de inhibidores conocidos para otros flavivirus (Migliaccio, G., Tomassini, J.E., Carroll, S.S., Tomei, L., Altamura, S., Bhat, B., Bartholomew, L., Bosserman, M.R., Ceccacci, A., Colwell, L.F., Cortese, R., De Francesco, R., Eldrup, A.B., Getty, K.L., Hou, X.S., LaFemina, R.L., Ludmerer, S.W., MacCoss, M., McMasters, D.R., Stahlhut, M.W., Olsen, D.B., Hazuda, D.J., y Flores, O.A. (2003) *Characterization of resistance to non-obligate chain-terminating ribonucleoside analogs that inhibit hepatitis C virus replication in vitro*. *J Biol Chem*. 278: 49164-49170), terapia ARN antisentido (Snapp, M.B. (1992) *Occupational stress, social support, and depression among black and white professional-managerial women*. *Women Health*. 18: 41-79. Holden, K.L., Stein, D.A., Pierson, T.C., Ahmed, A.A., Clyde, K., Iversen, P.L., y Harris, E. (2006) *Inhibition of dengue virus translation and RNA synthesis by a morpholino oligomer targeted to the top of the terminal 3' stem-loop structure*. *Virology*. 344: 439-452), inmunización pasiva (Goncalvez, A.P., Men, R., Wernly, C., Purcell, R.H., y Lai, C.J. (2004) *Chimpanzee Fab fragments and a derived humanized immunoglobulin G1 antibody that efficiently cross-neutralize dengue type 1 and type 2 viruses*. *J Virol*. 78: 12910-12918) y otros. Entre las proteínas virales utilizadas como blanco se encuentran: proteínas estructurales como la proteína de la envoltura y no estructurales con actividad proteasa/helicasa y polimerasa/metil-transferasa conocidas como NS3 y NS5 respectivamente.

El bloqueo de la entrada del virus a la célula resulta una estrategia antiviral muy atractiva porque impide el inicio de la infección. En el caso del virus Dengue, el blanco para atacar es la proteína de la envoltura (proteína E). Esta proteína constituye el principal determinante antigénico del virus Dengue y es responsable de los eventos esenciales requeridos durante la entrada del virus a la célula, que comprenden el reconocimiento de los receptores celulares (Crill, W.D. y Roehrig, J.T. (2001) *Monoclonal antibodies that bind to domain III of dengue virus E glycoprotein are the most efficient blockers of virus adsorption to Vero cells*. *J*

Virology. 75:7769-7773) y la fusión entre las membranas virales y hospederas (Allison, S.L., Schlich, J., Stiasny, K., Mandl, C.W., y Heinz, F.X. (2001) *Mutational evidence for an internal fusion peptide in flavivirus envelope protein E*. *J Virol*. 75:4268-4275).

- 5 La proteína E pertenece al grupo de proteínas virales de fusión clase II y está formada por tres dominios I, II y III. El dominio I comprende la región amino terminal (residuos 1-51, 133-192 y 281-295 en virus Dengue DEN2) pero se localiza en el centro del monómero en la estructura tridimensional. El dominio II o dominio de dimerización (residuos 52-132 y 193-280) está compuesto por dos
10 elongaciones que emanan del dominio I donde cada elongación contiene un lazo en la punta, en un caso el péptido de fusión (lazo "cd" residuos 100-108) y en el otro el lazo "ij" (residuos 243-248), otra región interesante presente en dicho dominio se conoce como "bisagra" y se localiza en la interfase dominio I-II. El dominio III (residuos 296-395) presenta un plegamiento similar a las
15 inmunoglobulinas y contiene sitios de unión para receptores celulares. La región "tallo" (residuos 396-447) conecta el dominio III al dominio transmembrana.

- En el virión inmaduro (forma intracelular del virus, anterior a la exocitosis) la proteína E se asocia con la proteína premembrana (proteína preM) formando heterodímeros (Zhang, Y., Corver, J., Chipman, P.R., Zhang, W., Pletnev, S.V.,
20 Sedlak, D., Baker, T.S., Strauss, J.H., Kuhn, R.J., y Rossmann, M.G. (2003) *Structures of immature flavivirus particles*. *EMBO J*. 22:2604-2613). Una porción considerable de la proteína preM cubre a la proteína E protegiéndola de una fusión prematura mientras pasa a través del ambiente ácido de la red trans del complejo Golgi (Guirakhoo, F., Bolin, R.A., y Roehrig, J.T. (1992) *The Murray Valley encephalitis virus prM protein confers acid resistance to virus particles and alters the expression of epitopes within the R2 domain of E glycoprotein*. *Virology*. 191:921-931). El procesamiento de la proteína preM por proteasas celulares desestabiliza la interacción preM-E y promueve la formación de los dímeros de proteína E presentes en el virión maduro infeccioso; seguidamente los viriones
25 maduros son liberados al medio extracelular. Después que el virus entra a la célula por endocitosis mediada por receptores, queda expuesto al pH ácido del endosoma lo cual provoca la disociación reversible de los dímeros de proteína E que cambian irreversiblemente a trímeros (Allison, S.L., Schlich, J., Stiasny, K.,
30

Mandl, C.W., Kunz, C., y Heinz, F.X. (1995) *Oligomeric rearrangement of tick-borne encephalitis virus envelope proteins induced by an acidic pH*. *J Virol.* 69: 695-700). La transición de dímero a trímero que experimenta la proteína E está estrechamente relacionada con el proceso de fusión.

- 5 El desarrollo de inhibidores de entrada del virus Dengue a la célula puede estar basada en al menos una de los siguientes estrategias: interferencia de la interacción entre la proteína E y los receptores celulares o la inhibición del proceso de fusión de la membrana viral con la membrana endosomal.

La primera estrategia antiviral ha sido poco explotada debido al poco
10 conocimiento acerca del mecanismo de unión del virus Dengue a la célula, aunque en los últimos años, han sido propuestas algunas moléculas como posibles receptores en ciertos tipos celulares (*Chen, Y.C., Wang, S.Y., y King, C.C. (1999) Bacterial lipopolysaccharide inhibits dengue virus infection of primary human monocytes/macrophages by blockade of virus entry via a CD14-dependent*
15 *mechanism. J Virol.* 73: 2650-2657. *Tassaneetrithep, B., Burgess, T.H., Granelli-Piperno, A., Trumpfheller, C., Finke, J., Sun, W., Eller, M.A., Pattanapanyasat, K., Sarasombath, S., Birx, D.L., Steinman, R.M., Schlesinger, S., y Marovich, M.A. (2003) DC-SIGN (CD209) mediates dengue virus infection of human dendritic cells. J Exp Med.* 197: 823-829. *Hilgard, P. y Stockert, R. (2000) Heparan sulfate proteoglycans initiate dengue virus infection of hepatocytes. Hepatology.* 32:1069-
20 1077). Una de estas moléculas es el heparan sulfato (HS) (*Chen, Y., Maguire, T., Hileman, R.E., Fromm, J.R., Esko, J.D., Linhardt, R.J., y Marks, R.M. (1997) Dengue virus infectivity depends on envelope protein binding to target cell heparan sulfate. Nat Med.* 3:866-871), cuyo descubrimiento permitió identificar
25 compuestos análogos que interfieren *in vitro* el reconocimiento del virus a la célula (*Talarico, L.B., Pujol, C.A., Zibetti, R.G., Faria, P.C., Nosedá, M.D., Duarte, M.E., y Damonte, E.B. (2005) The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. Antiviral Res.* 66:103-110. *Pujol, C.A., Estevez, J.M., Carlucci, M.J., Ciancia, M., Cerezo, A.S., y*
30 *Damonte, E.B. (2002) Novel DL-galactan hybrids from the red seaweed Gymnogongrus torulosus are potent inhibitors of herpes simplex virus and dengue virus. Antivir.Chem Chemother.* 13:83-89. *Ono, L., Wollinger, W., Rocco, I.M., Coimbra, T.L., Gorin, P.A., y Sierakowski, M.R. (2003) In vitro and in vivo antiviral*

properties of sulfated galactomannans against yellow fever virus (BeH111 strain) and dengue 1 virus (Hawaii strain). Antiviral Res. 60:201-208. Shigeta, S., Mori, S., Kodama, E., Kodama, J., Takahashi, K., y Yamase, T. (2003) Broad spectrum anti-RNA virus activities of titanium and vanadium substituted polyoxotungstates.

5 *Antiviral Res. 58:265-271). Recientemente se demostró que uno de los miméticos polisulfatados del HS (PI-88), induce efecto protector en ratones infectados con virus Dengue. Sin embargo, el uso in vivo de los miméticos del HS como antivirales está restringido principalmente, debido a su actividad anticoagulante y también, su baja biodisponibilidad como resultado de su unión a proteínas*
10 *plasmáticas (Lee, E., Pavy, M., Young, N., Freeman, C., y Lobigs, M. (2006) Antiviral effect of the heparan sulfate mimetic, PI-88, against dengue and encephalitic flaviviruses. Antiviral Res. 69:31-38).*

El segundo enfoque antiviral ha progresado considerablemente durante los últimos años gracias a la determinación de la estructura cristalográfica de la
15 *proteína E del virus Dengue antes (Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., y Harrison, S.C. (2003) A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein. Proc.Natl Acad.Sci U.S.A. 100: 6986-6991. Zhang, Y., Zhang, W., Ogata, S., Clements, D., Strauss, J.H., Baker, T.S., Kuhn, R.J., y Rossmann, M.G. (2004) Conformational changes of the flavivirus E glycoprotein. Structure. 12: 1607-1618)*
20 *y después de ocurrir la fusión (Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., y Harrison, S.C. (2004) Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. Nature. 427: 313-319). La información estructural proveniente de otros flavivirus también ha contribuido favorablemente al desarrollo de inhibidores de fusión. (Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., y Harrison, S.C. (1995) The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. Nature. 375: 291-298. Bressanelli, S., Stiasny, K., Allison, S.L., Stura, E.A., Duquerroy, S., Lescar, J., Heinz, F.X., y Rey, F.A. (2004) Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation. EMBO J. 23:728-738).*

30 *Modis y col., determinaron la estructura del fragmento soluble (residuos 1-394) de la proteína E dimérica del virus Dengue DEN2 en presencia y ausencia del detergente β -octil glucósido (BOG) (Modis, Y.; Ogata, S.; Clements, D.; Harrison, S.C. (2003) A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein.*

Proc.Natl Acad.Sci U.S.A. 100: 6986- 6991). La diferencia clave entre ambas estructuras consiste en la redistribución local de la horquilla-beta "kl" (residuos 268-280) lo cual hace accesible un bolsillo hidrofóbico donde se acomoda una molécula de BOG. La horquilla-beta "kl" fue identificada como un elemento estructural importante para la iniciación de los cambios conformacionales a pH ácido que conducen a la formación de los trímeros post-fusogénicos.

Los cambios estructurales detectados en la proteína E pre-fusogénica corroboraron observaciones previas realizadas por Rey y col., (Rey, F.A.; Heinz, F.X.; Mandl, C.; Kunz, C.; Harrison, S.C. (1995) *The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. Nature. 375: 291-298*) quienes propusieron por primera vez, que la base del dominio II podía funcionar como una posible bisagra o articulación, cuyos movimientos elevarían el extremo del dominio II por encima de la membrana viral y realzarían el péptido de fusión. Su hipótesis se basó en el análisis de la estructura cristalográfica del fragmento soluble de la proteína E del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y las mutaciones en residuos de la interfase dominio I-II de varios *flavivirus* que afectan la virulencia y el umbral de pH fusogénico. La estructura del complejo proteína E-BOG revela que dichas mutaciones corresponden en su mayoría a residuos cuyas cadenas laterales forman el bolsillo hidrofóbico (Modis, Y.; Ogata, S.; Clements, D.; Harrison, S.C. (2003) *A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein. Proc.Natl Acad.Sci U.S.A. 100: 6986- 6991*).

Modis y col., proponen a la horquilla-beta "kl" y el bolsillo asociado a la misma que comprende los residuos de la interfase dominio I-II (residuos 47-54, 128-137 y 187-207) y además, el núcleo hidrofóbico situado por debajo de la horquilla-beta "kl" como blancos para el desarrollo de candidatos terapéuticos contra virus Dengue y otros virus que contengan proteínas de envoltura clase II, en caso de que se utilicen los residuos correspondientes a los citados en la proteína E del virus Dengue (*Aplicación de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

El sitio donde se une la molécula de BOG en la interfase dominio I-II en el dímero E fue utilizado recientemente como blanco para el diseño de inhibidores de fusión mediante pesquizaje virtual (Yang, J.M., Chen, Y.F., Tu, Y.Y., Yen, K.R., y Yang, Y.L. (2007) *Combinatorial computational approaches to identify tetracycline*

derivatives as flavivirus inhibitors. PLoS.ONE. 2:428-437). Se identificaron dos compuestos derivados de la tetraciclina con actividad inhibitoria contra virus Dengue (valores de IC50 de 67.1 μ M y 55.6 μ M respectivamente).

Otra zona de la proteína E dimérica que puede ser utilizada para inhibir la infección viral por flavivirus fue descrita por China y col. (*Aplicación de patente: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, WO/2007/059715, 2005*). China y col. identificaron un epítoto topográfico expuesto en la superficie de la proteína E y en la superficie de los viriones maduros, altamente conservado entre los serotipos de virus Dengue a partir de un análisis *in silico* de la conservación de secuencia en la proteína E. El epítoto está compuesto por 25 residuos y se localiza en el extremo del dominio II. China y col., diseñaron moléculas neutralizantes utilizando fragmentos variables de anticuerpos que reconocen el epítoto conservado. Las moléculas neutralizantes desarrolladas son capaces de unir simultáneamente de dos a tres copias de dicho epítoto en la superficie del virión maduro. Dichas moléculas muestran un incremento en la afinidad de unión por el virión y una capacidad neutralizante varios órdenes más potentes comparados con los anticuerpos neutralizantes que reconocen el epítoto conservado y además, logran neutralizar los cuatro serotipos del virus Dengue y otros *flavivirus*. Resulta interesante que la actividad antiviral de dichas moléculas no depende de la bivalencia sino de la unión de dichas moléculas al epítoto conservado lo cual interfiere en la función biológica de la proteína E. Por lo tanto, el epítoto localizado en el extremo del dominio II pudiera emplearse para el diseño de moléculas pequeñas inhibidores de fusión.

La resolución de la estructura del ectodominio soluble de la proteína E trimérica post-fusogénica (Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., y Harrison, S.C. (1995) *The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. Nature. 375: 291-298*) por Modis y col., revela notables diferencias respecto a la forma dimérica pre-fusogénica. En los dímeros los monómeros se disponen horizontalmente y antiparalelos mientras que los trímeros se orientan verticalmente y cada subunidad se sitúa paralela a su vecina. En la proteína trimérica se observa que el ectodominio de cada monómero se dobla en si mismo, dirigiendo la región C-terminal hacia el péptido de fusión lo cual se logra cambiando la orientación de los dominios II y III. Se confirmó que en la formación

del trímero ocurren cambios conformacionales en la interfase dominio I-II que permiten la rotación del dominio II (aproximadamente 30°) respecto al dominio I. Esto último concuerda con observaciones previas realizadas por otros investigadores (Bressanelli, S., Stiasny, K., Allison, S.L., Stura, E.A., Duquerroy, S., Lescar, J., Heinz, F.X., y Rey, F.A. (2004) *Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation*. *EMBO J.* 23: 728-738. Zhang, Y., Zhang, W., Ogata, S., Clements, D., Strauss, J.H., Baker, T.S., Kuhn, R.J., y Rossmann, M.G. (2004) *Conformational changes of the flavivirus E glycoprotein*. *Structure*. 12: 1607-1618) aunque la horquilla-beta "kl" no adopta la conformación abierta observada en el complejo proteína E-BOG. El dominio III experimenta el desplazamiento más significativo durante la transición de dímero a trímero, el mismo rota cerca de 70° y se coloca (residuo 395) a 39 Å del péptido de fusión.

En el extremo de cada monómero queda expuesto el péptido de fusión, los cuales se juntan para formar un ancla aromático de inserción a membrana en la punta del trímero que queda completamente expuesto en la superficie molecular. Este ancla aromático está formado por tres residuos hidrofóbicos (Trp-101, Leu-107 y Phe-108) conservados entre todos los *flavivirus*. Modis y col. proponen que el péptido de fusión penetra alrededor de 6 Å en la capa de hidrocarburos de la membrana hospedero y pudiera desestabilizar la estructura de la membrana. El péptido de fusión parece mantener la misma conformación cuando se oculta en la interfase oligomérica en el dímero de proteína E previo a la fusión, cuando se inserta a la membrana lipídica o cuando queda expuesto al solvente durante la disociación reversible de los dímeros (Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., y Harrison, S.C. (1995) *The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution*. *Nature*. 375: 291-298). Las zonas de contacto entre los monómeros que forman el trímero incluyen residuos del dominio II, dominio I-III y también, residuos que forman la región "tallo" de un monómero interactuando con el dominio II del monómero vecino. Modis y col., proponen que la región "tallo" pudiera ocupar un canal que se origina en la interfase del trímero y se extiende desde la base hasta el extremo del dominio II.

Dichos autores dieron a conocer nuevos sitios de interés farmacológico en la proteína E a partir del análisis de la estructura post-fusogénica (*Aplicación de*

patente: *Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*). Entre ellos se incluyen el péptido de fusión, la región "tallo" o fragmentos de la misma, por ejemplo, residuos 396-429 y residuos 413-447; las regiones en los trímeros de proteína E involucradas en la unión de los
5 residuos 396-429 de la región "tallo"; los residuos del dominio II en la interfase del trímero que forman el canal donde se une la región "tallo"; la cadena polipeptídica que conecta dominio I-III (residuos 294-301); los residuos que forman la interfase dominio I-III (residuos 38-40, 143-147, 294-296 y 354-365), los residuos del dominio II involucrados en la trimerización y en general todos los residuos
10 involucrados en el cambio conformacional de la región "tallo" que conduce a la formación de la estructura post-fusogénica (*Aplicación de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

En este sentido, se diseñaron péptidos inhibidores basados en la secuencia de la
15 región "tallo" los que parecen interferir las interacciones entre esta y la región 1-395 en la conformación trimérica. Estos péptidos actúan contra los cuatro serotipos del virus Dengue y el virus del Nilo occidental y no mostraron citotoxicidad *in vitro*. (*Hrobowski, Y.M., Garry, R.F., y Michael, S.F. (2005) Peptide inhibitors of dengue virus and West Nile virus infectivity. J. Virol 2: 49-59*).

Modis y col., propusieron también, un posible mecanismo de fusión y diferentes
20 estrategias para inhibir dicho proceso en varios puntos que incluyen el diseño de compuestos que logren impedir (a) el movimiento de la horquilla-beta "kl"; (b) la interacción de la horquilla-beta "kl" con el bolsillo hidrofóbico situado por debajo de la misma; (c) el movimiento de los residuos de la región de los dominios I y III
25 y (d) la terminación de los cambios conformacionales post-fusión mediante la interacción con los residuos del dominio II de cada subunidad en la interfase del trímero (*Aplicación de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Definiciones

El término "**flavivirus**" se refiere a cualquiera de los virus siguientes: virus Dengue tipo 1 (DEN1), virus Dengue tipo 2 (DEN2), virus Dengue tipo 3 (DEN3), virus Dengue tipo 4 (DEN4), virus del Nilo Occidental (VNO), Virus de encefalitis

de St Louis, virus de la encefalitis japonesa, virus de la fiebre amarilla, virus kunjin, virus de la enfermedad de la selva Kyasanur, virus de encefalitis transmitida por garrapata (VETG), virus del Valle Murray, virus LANGAT, virus de la enfermedad Louping, virus Powassan y virus Omsk de la fiebre hemorrágica, incluyendo de manera general, a los virus con una identidad de genoma superior al 70% respecto a los virus anteriormente mencionados. El término **“enfermedades causadas por flavivirus”** se refiere a cualquier enfermedad o desorden causado por la infección con un *flavivirus*. El término **“modular”** cuando se aplica a una función biológica se refiere a la capacidad de un determinado compuesto químico y/o condición experimental, de regular (activar/estimular o inhibir/suprimir) un proceso o actividad biológica determinada. El término **“afectar”** cuando se aplica a una función biológica se refiere a la acción de provocar alteración o modificación con influencia negativa sobre un proceso biológico en particular.

El término **“proteína E del virus Dengue”** se refiere a la glicoproteína de la envoltura perteneciente a cualquier serotipo del virus Dengue. El término **“proteína E dimerica pre-fusogénica”** se refiere a la conformación de la glicoproteína de la envoltura del virus Dengue y otros *flavivirus* en el virión maduro antes de ocurrir la fusión viral. El término **“proteína E trimérica post-fusogénica”** se refiere a la conformación de la glicoproteína de la envoltura del virus Dengue y otros *flavivirus* en el virión maduro después de ocurrir la fusión viral.

El término **“dominio”** cuando se aplica a un polipéptido, se refiere a una región específica dentro de ese polipéptido que comprende una estructura particular o media una función particular. El término **“dominio II”** se refiere al motivo estructural determinado por los residuos 52-132 y 193-280 en la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes de dicha proteína en otros *flavivirus*. El término **“subestructura”** se refiere a una parte o fragmento de un compuesto químico.

El término **“horquilla ij”** se refiere al motivo estructural determinado por los residuos ²³⁷LVTFKNPHAKKQDVV²⁵² en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes a dicha región en otros *flavivirus*. El término **“lazo ij”** se refiere al motivo estructural determinado por los

residuos ²⁴²NPHAKKQ²⁴⁸ en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes a dicha región en otros *flavivirus*. El término “**cavidad asociada al lazo “ij”** o **surco asociado al lazo “ij”** o **hendidura asociada al lazo “ij”** se refiere a la zona de la proteína de la

5 envoltura que comprende los residuos ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG¹⁰⁰, ¹⁰³NGC¹⁰⁵, ¹¹¹GGIVT¹¹⁵ y ²⁴⁵AKKQDV²⁵⁰ en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes a dicha región en otros *flavivirus*. El término “**péptido de fusión**” se refiere al motivo estructural determinado por los residuos ¹⁰⁰GWGNGCGLF¹⁰⁸ en el dominio II de la proteína

10 E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes a dicha región en otros *flavivirus*.

El término “**unión o anclaje**” se refiere a la asociación entre dos moléculas debido a interacciones electrostáticas y/o hidrofóbicas y/o iónicas y/o enlaces de hidrógeno bajo condiciones fisiológicas o simuladas *in silico*. El término “**sitio de**

15 **unión**” se refiere a una zona en una proteína donde se puede acomodar un determinado compuesto o molécula de ligando. Dicha zona puede ser descrita y caracterizada de diferentes maneras, por ejemplo, por algunos o todos los aminoácidos que la conformen, considerando todos los átomos de cada residuo aminoácido, o solo los átomos que forman el esqueleto carbonado o solo los

20 átomos de las cadenas laterales de los residuos incluyendo o no los carbonos alpha.

El término “**compuesto químico o ligando**” se refiere a cualquier agente, molécula, complejo u otra entidad que sea capaz de unirse o interactuar con una proteína en un sitio de unión particular. El término “**complejo receptor-ligando**”

25 se refiere a la asociación entre la proteína E del virus Dengue u otros *flavivirus* y cualquier compuesto químico bajo condiciones fisiológicas o simuladas *in silico*. El término “**receptor o molécula blanco o molécula diana**” se refiere a una molécula, por ejemplo la proteína E del virus Dengue, donde se desea unir un compuesto químico determinado y dicha unión o interacción pudiera modular la

30 actividad de la misma. Por ejemplo una molécula blanco puede ser la proteína E del virus Dengue y el sitio de unión puede ser la **hendidura asociada al lazo “ij”**.

El término “**ancla o estructura de anclaje**” se refiere a una subestructura química que comprende los grupos de átomos que garantizan la unión o anclaje del compuesto químico al sitio de unión en la molécula blanco.

5 El término “**acomodar**” cuando se aplica a un compuesto químico o ligando, se refiere a que la conformación espacial adoptada por dicho compuesto químico o ligando se ajusta geométricamente al sitio de unión en el receptor.

10 El término “**pesquizaje virtual**” se refiere a la identificación y diseño *in silico* de compuestos químicos con potencialidad para unirse y modular la función de una proteína blanco determinada. Existen dos variantes de **pesquizaje virtual** las cuales se conocen como: **pesquizaje virtual** basado en el receptor, si se cuenta con la estructura tridimensional del receptor (PVBR) o **pesquizaje virtual** basado en el ligando (PVBL), si se cuenta con la información estructural de ligandos conocidos para la molécula blanco de interés, aunque también es frecuente la combinación de ambas variantes.

15 El término “**acoplamiento molecular**” se refiere a la orientación de un ligando en el sitio de unión de una proteína utilizando algoritmos computacionales y la evaluación del complejo receptor-ligando generado.

20 El término “**grupo funcional**” se refiere a estructuras submoleculares o sea grupos de átomos específicos dentro de las moléculas, caracterizados por una conectividad y composición específica elemental, que confiere reactividad a la molécula que los contiene.

25 El término “**farmacóforo**” se refiere a un conjunto de características esenciales (por ejemplo, estéricas y electrónicas) contenidas en una molécula o ligando que garantizan interacciones intermoleculares con una molécula blanco determinado y que le otorgan actividad biológica específica a dicha molécula o ligando. En la química moderna computacional, se emplean “**modelos de farmacóforo o modelos farmacofóricos**” para definir y agrupar las características esenciales de una o más moléculas responsables de su actividad biológica y que son utilizados para la identificación de otras moléculas o ligandos que compartan las
30 características señaladas y que por lo tanto, se espera que posean actividad biológica. Un modelo de farmacóforo permite agrupar diferentes ligandos con diferentes grupos químicos, donde uno o más grupos químicos corresponden a

una o más propiedades definidas en el modelo de farmacóforo y donde dichos grupos químicos se localizan a la distancia fijada para cada una de las propiedades en el modelo de farmacóforo. Un modelo de farmacóforo puede contener algunas de las siguientes propiedades, por ejemplo, presencia de

5 grupos aromáticos y/o grupos hidrofóbicos y/o grupos aceptores de enlace de hidrógeno y/o grupos donores de enlace de hidrógeno y/o cationes y/o aniones.

El término "**grupo apolar o no polar**" se refiere a un grupo químico en el cual la densidad de carga electrónica es esencialmente uniforme lo cual no le permite interactuar con otros grupos químicos mediante enlaces por enlace de hidrógeno

10 y/o interacciones de tipo dipolo-dipolo. Los grupos no polares o apolares interactúan entre sí a través de interacciones débiles de tipo Van der Waals. Por el contrario, el término "**grupo polar**" se refiere a un grupo químico en el cual la distribución de electrones es desigual lo cual le permite tomar parte en interacciones electrostáticas.

15 El término "**alquilo**" se refiere un radical derivado de un hidrocarburo alifático de cadena lineal (no ramificada) o ramificada, donde dicho grupo alquilo está constituido por un número de carbonos designado (e.j., "alquilo C₁-C₁₀" representa a un alquilo que puede estar formado por uno hasta diez átomos de carbonos). El radical alquilo puede estar saturado, mono- o poliinsaturado y

20 puede contener radicales di- y multivalentes. Ejemplos de radicales de hidrocarburos saturados incluyen, pero no se limitan a, grupos como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, 2,3-dimetilbutilo y otros. Ejemplos de grupos alquilo insaturados incluyen, pero no se limitan a, vinilo, 2-propenilo, 2-butenilo, 1,4-hexadienilo, 1,3-pentadienilo, etinilo, 3-propinilo, 3-butinilo, 2,4-heptadiinilo y

25 otros. Nótese, que el término "**alquilo**" incluye radicales divalentes derivado de un hidrocarburo alifático de cadena lineal o ramificada. Ejemplos de alquilo divalentes incluyen pero no se limitan a, -CH₂CH₂CH₂CH₂-; -CH₂CH=CHCH₂-; -CH₂C≡CCH₂-; -CH₂CH₂CH(CH₂CH₂CH₃)CH₂- y otros. El término "**heteroalquilo**" por si solo o combinado con otros términos, se refiere a un radical derivado de un

30 hidrocarburo alifático de cadena lineal (no ramificada) o ramificada, constituido por al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo de los siguientes: O, N, P, Si y S. Los heteroátomos presentes en el radical heteroalquilo pueden ser iguales o diferentes. El heteroátomo puede ubicarse en cualquier posición

interna del grupo heteroalquilo o en la posición a partir de la cual el grupo heteroalquilo se une al resto de la molécula. El radical heteroalquilo puede estar saturado, mono o poliinsaturado y puede contener radicales di- y multivalentes. Ejemplos de grupos heteroalquilo incluyen, pero no se limitan a, -CH₂-CH₂-O-CH₃, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)-CH₃, -CH₂-CH₂-S(O)₂-CH₃, -CH=CH-O-CH₃, -CH₂-CH=N-OCH₃, -CH=CH-N(CH₃)-CH₃, -O-CH₂-CH₃ y otros. En el radical heteroalquilo puede suceder que hasta dos o tres heteroátomos se dispongan de manera consecutiva, por ejemplo, -CH₂-NH-OCH₃ y -CH₂-O-Si(CH₃)₃. Nótese que el término "heteroalquilo" incluye radicales divalentes derivado de un hidrocarburo alifático de cadena lineal o ramificada, constituido por al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo. Ejemplos de heteroalquilo divalentes incluyen pero no se limitan a, -CH₂-CH₂-S-CH₂-CH₂- y -CH₂-S-CH₂-CH₂-NH-CH₂-.

De acuerdo a la definición de heteroalquilo, descrita con anterioridad, quedan incluido grupos como -C(O)R'; -C(O)NR'; -NR'R''; -OR', -SR' y/o -SO₂R'.

En la presente invención, en varias ocasiones, se hace referencia a los heteroalquilo y seguidamente, a grupos particulares de heteroalquilo como los anteriormente mencionados. Nótese, que los términos heteroalquilo y cualquiera de los siguientes: C(O)R'; -C(O)NR'; -NR'R''; -OR', -SR' y/o -SO₂R' no son redundantes ni mutuamente exclusivos. En todo caso, los grupos heteroalquilo particulares como -NR'R'' y otros, se mencionan para ganar en claridad.

Los términos "**cicloalquilo**" y "**heterocicloalquilo**" por si solos o en combinación con otros términos, se refiere a radicales derivados de hidrocarburos alicíclicos, constituidos por uno o más anillos fusionados o unidos covalentemente, anillos que pueden ser saturados, mono o poliinsaturados, donde en el caso de **cicloalquilo** están constituidos solo por átomos de carbono e hidrógeno mientras que en el caso de **heterocicloalquilo**, incluyen al menos un heteroátomo de los siguientes: O, N y S. Ejemplos de cicloalquilo monocíclicos incluyen, pero no se limitan a, ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 2-ciclobutinilo, 1,3-ciclohexadienilo y otros. Ejemplos de cicloalquilo formados por varios anillos enlazados incluyen, pero no se limitan a, ciclobutilciclopentilo y otros. Ejemplos de cicloalquilo formados por varios anillos fusionados, incluyen los compuestos policíclicos que tienen dos o más átomos de carbono comunes a dos o más

anillos, por ejemplo biciclo [4,2,0] octanilo, bicilo [3,1,1] heptanilo, bicilo [4,4,0] decanilo y otros; y compuestos bicíclicos con un solo átomo de carbono común a ambos anillos, conocido como espiranos entre los que se encuentran por ejemplo, espiro [3,4] octanilo. Ejemplos de heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, dioxanilo, piperidinilo, morfolinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, tiolanilo y otros. Nótese, que los términos “cicloalquilo” y “heterocicloalquilo” incluyen radicales divalentes derivados de hidrocarburos alicíclicos, constituidos por uno o más anillos fusionados o unidos covalentemente, anillos que pueden ser saturados, mono o poliinsaturados, donde en el caso de cicloalquilo están constituidos solo por átomos de carbono e hidrógeno mientras que en el caso de heterocicloalquilo, incluyen al menos un heteroátomo.

El término “**arilo**” se refiere a un radical hidrocarburo aromático poliinsaturado constituido por un anillo (e.j., fenilo) o varios anillos (preferiblemente de uno a tres anillos) fusionados (e.j., naftilo, antrilo y otros) o unidos covalentemente (e.j., bifenilo). El término “**heteroarilo**” se refiere a un radical hidrocarburo aromático (preferiblemente de uno a tres anillos) que contienen al menos un heteroátomo de la siguiente lista de átomos: N, O y S (en cada anillo simple en el caso de que se trate de varios anillos). Ejemplos de grupos arilo y heteroarilo incluyen pero no se limitan a, 1-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolil, 3-pirazolil, 2-imidazolil, pyrazynil, 2-oxazolil, 2-thiazolil, 3-furil, 2-thienyl, 4-pyridyl, 2-benzotiazolil, purinil, 5-indolil, 6-isoquinolil y otros. Los términos “arilo” y “heteroarilo” incluyen radicales divalentes derivados de un hidrocarburo aromático constituido solo por átomos de carbono e hidrógeno en el primer caso, y radicales divalentes derivados de un hidrocarburo aromático poliinsaturado constituido por uno o más anillos constituido por átomos de carbono e hidrógeno y al menos un heteroátomo.

El término “**ariloalquilo**” se refiere a los radicales formados por uno o más grupos arilo unido a uno o más grupos alquilo (e.j., bencilo, fenilo, estireno y otros). El término “**heteroariloalquilo**” se refiere a radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unido a uno o más grupos arilo y/o radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unido a uno o más grupos alquilo (e.j., 2,5-dimetilfurano) y/o radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unido a uno o más grupos heteroarilo.

El término "**arilocicloalquilo**" se refiere a los radicales formados por uno o más grupos arilo unido a uno o más grupos cicloalquilo (e.j., bencilo, fenilo, cumeno, estireno, vinilbenceno y otros). El término "**heteroarilocicloalquilo**" se refiere a radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unido a uno o más grupos cicloalquilo, y/o radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo unido a uno o más grupos arilo y/o radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo unidos a uno o más grupos heteroarilo.

El término "**alquilocicloalquilo**" se refiere a los radicales formados por uno o más anillos cicloalquilo sustituido con uno o más radicales alquilo. El término "**heteroalquilocicloalquilo**" se refiere a radicales formados por uno o más grupos heteroalquilo unido a uno o más anillos cicloalquilo, y/o radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo sustituido con uno o más grupos alquilo y/o radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo sustituido con uno o más grupos heteroalquilo.

El término "**oxo**" se refiere a un átomo de oxígeno doblemente enlazado por ejemplo, a cualquiera de los siguientes átomos: carbono, nitrógeno, azufre y fósforo. El término "**halógeno**" se refiere a átomos de fluor, cloro, bromo o yodo. El término "**heteroátomo**" se refiere a cualquier átomo diferente de carbono o hidrógeno. Usualmente, oxígeno, nitrógeno, sulfuro, fósforo, boro, cloro, bromo o yodo.

El término "**miembros**" en el contexto de radicales derivados de hidrocarburos alicíclicos y radicales aromáticos se refiere al total de átomos que forman un anillo, incluyendo a los heteroátomos en el caso de heterocicloalquilo y heteroarilo.

El término "**opcionalmente**" significa que el evento que se describe puede o no ocurrir, y que se tienen en cuenta tanto eventos que ocurran como eventos que no ocurran.

El término "**constituyente**" se refiere a un átomo o grupos de átomos que forman parte de la cadena principal (o sea átomos o grupos de átomos no sustituyentes) de un radical del tipo alquilo y/o heteroalquilo opcionalmente sustituidos o no sustituidos. También se refiere a un átomo o grupos de átomos miembros de un

radical del tipo cicloalquilo y/o heterocicloalquilo y/o arilo y/o heteroarilo opcionalmente sustituidos o no sustituidos.

En el caso de los radicales alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo se consideran tanto las formas sustituidas como formas no sustituidas de los mismos; las formas sustituidas pueden tener uno o más sustituyentes iguales o diferentes. El término “**sustituyente**” se refiere a un átomo o grupo de átomos que reemplazan a un átomo de hidrógeno en la cadena principal de un hidrocarburo. Los sustituyentes incluyen pero no se limitan a, -OH; -NH₂; -SH; -CN; -NO₂; =O; halógeno; -OR'; -OC(O)R'; -C(O)R'; -NR'R''; =NR'; =N-OR'; -C(O)NR'R''; -OC(O)NR'R''; -NR''C(O)R'; -NR'-C(O)NR'R''; -NR''C(O)OR'; -NR-C(NR'R'')=NR'''; -S(O)R', -S(O)₂R'; -SR'; -S(O)₂NR'R''; -NRSO₂R'; -SiR'R''R'''; alquilo; heteroalquilo; cicloalquilo; heterocicloalquilo; arilo; heteroarilo; donde R', R'' y R''' son independientemente hidrógeno, grupo alquilo sustituido o no sustituido, grupo heteroalquilo sustituido o no sustituido, grupo cicloalquilo sustituido o no sustituido, grupo heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, grupo arilo sustituido o no sustituido, grupo heteroarilo sustituido o no sustituido. El término “**sustituido**” cuando se aplica a un radical se refiere a un radical que contiene uno o más de los sustituyentes anteriormente mencionados.

El término “**enlace de H o puente de hidrógeno**” se refiere a un enlace entre un grupo A-H y un átomo o grupo de átomos B presentes en la misma molécula o moléculas diferentes. El grupo funcional A-H contiene un átomo de hidrógeno electropositivo y se conoce como “**donor de H**”; A se corresponde con oxígeno, nitrógeno o fluor. El átomo o grupo B, contiene al menos un par de electrones libres no localizados y se conoce como “**aceptor de H**”; B se corresponde con oxígeno, nitrógeno o fluor. El átomo de oxígeno puede estar simple o doblemente enlazado y el átomo de nitrógeno puede estar simple, doble o triplemente enlazado. Un único átomo de hidrógeno puede participar simultáneamente en la formación de dos puentes de hidrógeno. Por ejemplo, un grupo A-H puede formar simultáneamente puentes de hidrógeno con dos grupos B, a lo cual se le conoce como “puentes de hidrógeno bifurcados o puentes de hidrógeno con tres centros”. Los grupos donores de puentes de hidrógeno débiles involucran grupos A-H, donde A puede ser un átomo de carbono (C-H) o donde A puede ser un átomo de azufre (S-H). Solamente tres tipos de C-H son lo suficientemente ácidos para

formar puentes de hidrógenos y corresponden a alquinos terminales ($RC\equiv CH$), algunos alcanos halogenados como el cloroformo ($CHCl_3$) y HCN. Los grupos aceptores de puente de hidrógenos débiles involucran grupos B, donde B es igual a un átomo de cloro o a un átomo de azufre.

- 5 El término “**grupos portadores de carga negativa**” se refiere a un átomo o grupo de átomos con carga formal negativa no adyacentes a un átomo o grupos de átomos con carga formal positiva.

El término “**grupos portadores de carga positiva**” se refiere a un átomo o grupo de átomos con carga formal positiva no adyacentes a un átomo o grupos de
10 átomos con carga formal negativa.

Descripción detallada de la invención

Racionalidad de la invención

- 15 La presente invención describe el uso de compuestos químicos con dos subestructuras funcionalmente distintivas de acuerdo a la fórmula **[C]-[A]** que afectan o inhiben diferentes eventos del ciclo de replicación viral del virus Dengue relacionados con la entrada del virus a las células dianas y el ensamblaje de los viriones progenie. Dichos compuestos químicos se unen a un parche de la
20 superficie de la proteína E del virus Dengue, el cual se localiza en el extremo del dominio II y se define en la presente invención como **surco asociado al lazo “ij”**. Los compuestos químicos de la presente invención se caracterizan por presentar dos subestructuras funcionalmente relevantes, de acuerdo a la fórmula siguiente:



- 25 Donde,

[A], es definida como **ancla**, y corresponde a una subestructura química, capaz de unirse al **surco asociado al lazo “ij”** de la proteína E.

- [C]**, se le denomina **cabeza** y corresponde a una subestructura química compuesta por 1-30 átomos, que se encuentra unida covalentemente a la
30 subestructura **[A]**, **[C]** es preferentemente voluminosa, de carácter polar o apolar, carga neta positiva o negativa, alifático o aromático, **[C]** favorece la capacidad de los compuestos químicos de la presente invención de interferir o modular una o varias de las interacciones intermoleculares que involucran al péptido fusión,

esenciales en varias etapas del ciclo de replicación viral, tales como: a) las interacciones que involucran la formación del heterodímero preM-E, b) las interacciones entre estos heterodímeros preM-E necesarias para el ensamblaje-brote de los viriones inmaduros, c) el proceso de maduración de los viriones producto del cambio de estructura cuaternaria de heterodímeros preM-E a homodímeros de proteína E, d) asociación y/o la disociación de los dímeros de proteína E característicos de los viriones maduros y e) el anclaje de la proteína E a la membrana endosomal de la célula infectada que inicia el proceso de fusión de membranas.

- 10 La subestructura **ancla** descrita en la presente invención interactúa con al menos tres de los residuos que forman el **surco asociado al lazo "ij"**, el cual está conformado por las regiones ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG¹⁰⁰, ¹⁰³NGC¹⁰⁵, ¹¹¹GGIVT¹¹⁵ y ²⁴⁵AKKQDV²⁵⁰ de la proteína E del virus DEN2 (cepa S1) y los residuos correspondientes a dichas regiones en otros *flavivirus*. Específicamente, la
- 15 **hendidura asociada al lazo "ij"** está conformada por cadenas laterales con grupos hidroxilos de los residuos Thr-68, Thr-70, Ser-72 y Thr-115; grupo carbonilo de la cadena principal de los residuos Asp-98, Ala-245, Lys-246, Gln-248 y Val-250 y grupo carbonilo de la cadena lateral de los residuos Asn-103, Gln-248 y Asp-249; grupo amino de la cadena principal del residuo Gln-248;
- 20 grupos alifáticos como cadenas laterales de los residuos Val-97, Ile-113, grupo metilo del residuo Thr-70 y porción alifática contenida en la cadena lateral de butilamonio de los residuos Lys-246 y Lys-247; grupo guanidinio del residuo Arg-99 y grupo amonio de los residuos Lys-246 y Lys-247. Por tanto, la cavidad está recubierta por grupos de átomos donores y/o aceptores de enlace de hidrógeno;
- 25 grupos de átomos con carga positiva y negativa y grupos de átomos con carácter hidrofóbico. Esta heterogeneidad favorece la ocurrencia de diferentes interacciones con las moléculas de ligando como, interacciones electrostáticas, hidrofóbicas, iónicas y enlaces por puente de hidrógeno.

- La subestructura **ancla** descrita en la presente invención forma enlaces puente
- 30 de hidrógeno preferentemente, con alguno de los siguientes átomos donores y aceptores de las cadenas laterales de los siguientes residuos: Thr-68 y/o Thr-70, Ser-72, Asn-103, Thr-115, Lys-246, Gln-248 y Asp-249; o con alguno de los siguientes átomos donores y aceptores de la cadena principal de los residuos:

Asp-98, Ala-245, Lys-246, Gln-248 y Val-250. Por otro lado, la subestructura **ancla** pudiera establecer interacciones hidrofóbicas por ejemplo, con cadenas laterales alifáticas de los residuos Val-97, Ile-113, grupo metilo del residuo Thr-70 y porción alifática contenida en la cadena lateral de butilamonió de los residuos Lys-246 y Lys-247 e interacciones electrostáticas con la cadena lateral de los residuos: Asp-98, Arg-99, Asp-249, Lys-246 y Lys-247.

La subestructura **cabeza** descrita en la presente invención interactúa con al menos uno de los siguientes residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108. Una representación de la presente invención incluye subestructuras **cabeza** que interactúan con al menos uno de los siguientes residuos del monómero vecino presente en la estructura dimérica de la proteína E en los viriones maduros: Arg-2, Gly-5, Ile-6, Ser-7, Asn-8, His-27, Gly-28, Glu-44 y Asp-154. En otra representación de la presente invención se incluyen subestructuras **cabeza** que interactúan con al menos uno de los siguientes residuos presentes en el lazo "ij": Ala-245 y His-244 o residuo Asp-98 localizado en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

En la presente invención el término "**residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij"**" se refiere a los siguientes residuos pertenecientes a la **cavidad asociada al lazo "ij"** que constituyen puntos esenciales de interacción con las subestructuras **anclas** descritas en la presente invención: Thr-70, Ser-72, Val-97, Asp-98, Arg-99, Asn-103, Ile-113, Thr-115, Ala-245, Lys-246, Lys-247, Gln-248 Asp-249 y Val-250.

Descripción del sitio de unión

La subestructura **ancla** de los compuestos descritos en esta invención se acomoda en el **surco asociado al lazo "ij"** de la proteína E del virus Dengue. Dicho **surco** se observa en las estructuras cristalográficas de la proteína E dimérica del virus Dengue correspondiente a los serotipos 2 y 3 (Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., y Harrison, S.C. (2003) *A ligand-binding pocket in the dengue virus envelope glycoprotein*. *Proc.Natl Acad.Sci U.S.A.* 100:6986-6991. Zhang, Y., Zhang, W., Ogata, S., Clements, D., Strauss, J.H., Baker, T.S., Kuhn, R.J., y Rossmann, M.G. (2004) *Conformational changes of the flavivirus E glycoprotein*. *Structure*. 12: 1607-1618. Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., y Harrison, S.C.

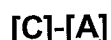
(2005) *Variable surface epitopes in the crystal structure of dengue virus type 3 envelope glycoprotein*. *J Virol.* 79:1223-31). En estas estructuras, el lazo "ij" adopta una conformación "abierta" conformando la hendidura mencionada con anterioridad. La conformación abierta de la horquilla "ij" parece ser estabilizada por interacciones favorables con residuos del dominio I del monómero vecino del dímero. El surco descrito es alargado, estrecho, poco profundo y ocupa un área de aproximadamente 320 Å². Sin embargo, dicha conformación abierta del lazo "ij" no se observa en las estructuras cristalográficas de la proteína E trimérica post-fusogénica del virus Dengue serotipo 2 (Modis, Y., Ogata, S., Clements, D., y Harrison, S.C. (2004) *Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion*. *Nature.* 427:313-319), la estructura dimérica y trimérica post-fusogénica de la proteína de E del VETG (Rey, F.A., Heinz, F.X., Mandl, C., Kunz, C., y Harrison, S.C. (1995) *The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution*. *Nature* 375: 291-298. Bressanelli, S., Stiasny, K., Allison, S.L., Stura, E.A., Duquerroy, S., Pescar, J., Heinz, F.X., Rey, F.A. (2004) *Structure of a flavivirus envelope glycoprotein in its low-pH-induced membrane fusion conformation*. *EMBO J.* 23:728-738) ni tampoco en las estructuras cristalográficas de la proteína E monomérica del VNO (Figura 1) (Kanai, R., Kar, K., Anthony, K., Gould, L.H., Ledizet, M., Fikrig, E., Marasco, W.A., Koski, R.A., y Modis, Y. (2006) *Crystal structure of west nile virus envelope glycoprotein reveals viral surface epitopes*. *J Virol.* 80:11000-11008. Nybakken, G.E., Nelson, C.A., Chen, B.R., Diamond, M.S., y Fremont, D.H. (2006) *Crystal structure of the West Nile virus envelope glycoprotein*. *J Virol.* 80:11467-74). En estas estructuras, el lazo "ij" adopta una conformación cerrada, que cambia radicalmente la topografía de esta región de la superficie, desapareciendo la hendidura descrita en la presente invención. Sin embargo, varias evidencias estructurales indican que esta es una región flexible, que puede adoptar conformaciones diferentes en dependencia de las interacciones en las que se encuentre involucrada. En el caso de la proteína E del virus DEN2, el lazo "ij" adopta una conformación abierta en los dímeros y una conformación cerrada en los trímeros post-fusogénicos, participando en diferentes interacciones intermoleculares con residuos del dominio I, en el primer caso y residuos del dominio II, en el segundo. En los viriones inmaduros los heterodímeros preM-E interactúan entre sí dando origen a proyecciones en la superficie de los viriones. Cada proyección constituye una unidad asimétrica del

virión y está compuesta por tres heterodímeros preM-E, en los cuales el lazo "ij" interactúa con residuos de un heterodímero vecino. Los tres heterodímeros no adoptan una orientación simétrica C3, por lo que los contactos intermoleculares entre los heterodímeros no son idénticos. Así, el lazo "ij" interactúa, en un caso, con residuos del propio lazo "ij" correspondiente a otro monómero de la proteína E en la unidad asimétrica, y en el otro caso interactúa con residuos del péptido de fusión. Por tanto, el lazo "ij" participa en diferentes interacciones intermoleculares, relevantes en los diferentes estadios del ciclo de replicación viral, desde la morfogénesis o ensamblaje de los viriones, la maduración de la envoltura y el proceso de fusión de membranas. La flexibilidad intrínseca del lazo "ij" es evidente, bien por las diferencias estructurales (RMS) observadas en las diferentes estructuras cristalográficas resueltas de la proteína E del virus de DEN2 (estructuras diméricas y triméricas) y/o en los factores de temperaturas elevados en comparación con otras regiones de la proteína y en particular con regiones del dominio II, como es el caso de la estructura dimérica de la proteína E de DEN3 (Figuras 2 y 3). La flexibilidad de esta región, por tanto parece ser esencial para acomodarse a los diferentes entornos estructurales e interacciones intermoleculares en que participa la proteína E a lo largo del ciclo de replicación viral. Por tanto, una novedad relevante de la presente invención es la identificación de la conformación abierta del lazo "ij" como región diana para el desarrollo de moléculas antivirales contra el virus Dengue y otros *flavivirus*, donde dichas moléculas interfieren con las interacciones y/o cambios estructurales del lazo "ij" y dicha interferencia inhibe o modula una o varias etapas del ciclo de replicación viral.

Las estructuras cristalográficas de la proteína E de otros *flavivirus*, muestran una conformación cerrada del lazo "ij", sin embargo los valores del factor de temperatura de los residuos que forman el lazo "ij" en dichas estructuras son elevados (Figura 3), como se observa en las estructuras monoméricas del VNO y la estructura dimérica del VETG, sugiriendo que el lazo "ij" es una zona flexible que pudiera experimentar diferentes estados conformacionales y adoptar también conformaciones abiertas como la observada para los virus DEN2 y DEN3.

Descripción de las subestructuras Anclas

Los compuestos químicos descritos en la presente invención para atenuar o inhibir la infección por virus Dengue se caracterizan por presentar dos subestructuras funcionalmente distintivas, de acuerdo a la fórmula siguiente:



5 Donde,

el **ancla [A]** contiene al menos tres de los siguientes elementos: a) un elemento donador de puente de hidrógeno (D_{1-4}), y/o b) un elemento aceptor y/o portador de carga negativa (A_{1-2-} , A_3), y/o c) un elemento hidrofóbico (H_{1-3}), y/o d) un elemento aceptor y/o donador de puente de hidrogeno (D/A), y/o e) un elemento
10 simultáneamente aceptor-donador de puente de hidrogeno ($D+A$), y dichos elementos (a) – (e) son seleccionados entre los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D definido en la Figura 5. Los elementos del modelo farmacofórico corresponden a un átomo o grupo de átomos designados como: D_1 , D_2 , D_3 , D_4 , A_1^- , A_2^- , A_3 , D/A , H_1 , H_2 , H_3 y $D+A$, donde dichos elementos se
15 encuentran preferentemente separados a una distancia interatómica definida en la matriz de distancia (I). En ciertas representaciones de la presente invención se permiten desviaciones de la distancia interatómica de $\pm 1\text{\AA}$ con respecto al valor indicado en la matriz de distancia interatómica (I). En otras representaciones de la presente invención se admiten desviaciones de la distancia interatómica de $\pm 2\text{\AA}$
20 con respecto al valor indicado en la matriz de distancia interatómica (I).

Los elementos del modelo farmacofórico D_1 , D_2 , D_3 , D_4 , A_1^- , A_2^- , A_3 , D/A , H_1 , H_2 , H_3 y $D+A$ describen interacciones potenciales entre la subestructura **ancla [A]** de la presente invención y residuos presentes en la **hendidura asociada al lazo "ij"** incluyendo enlaces por puente de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e
25 interacciones electrostáticas.

Los elementos D_1 , D_2 , D_3 y D_4 se corresponden cada uno a un átomo o grupos de átomos donores de puente de hidrógeno.

Los elementos A_1^- y A_2^- se corresponden cada uno a un átomo o grupos de átomos aceptores de puente de hidrógeno y/o portadores de carga neta (o
30 parcialmente) negativa.

El elemento A_3 se corresponde con un átomo o grupos de átomos aceptores de puente de hidrógeno.

- El elemento **D/A** se puede corresponder con un átomo o grupo de átomos aceptores de puentes de hidrógeno (en este caso se identifica en la presente invención como "**D/A** en condición aceptor") o el elemento **D/A** se puede corresponder con un átomo o grupos de átomos donores de puentes de hidrógeno (en este caso se identifica en la presente invención como "**D/A** en condición donador") o el elemento **D/A** se puede corresponder con un átomo o grupos de átomos simultáneamente aceptores y donores de puentes de hidrógeno (en este caso se identifica en la presente invención como "**D/A** en condición aceptor-donor").
- 10 El elemento **D+A** se corresponde con un átomo o grupo de átomos simultáneamente aceptores y donores de puentes de hidrógeno.

Los elementos **H₁**, **H₂**, **H₃** se corresponden con un átomo o grupos de átomos no polares.

- (I) Matriz de distancias interatómicas (en Å) para los elementos contenidos en el modelo farmacofórico definido en la Figura 5.

Distancia (Å)	D₁	A₂⁻	D₂	D₄	D/A	D+A	H₁	H₂	D₃	A₁⁻	A₃	H₃
D₁	0	7,0	2,9	17,4	12,9	10,2	5,1	9,3	4,2	3,9	10,6	7,2
A₂⁻	7,0	0	6,0	16,0	4,0	11,8	7,1	6,6	3,4	10,0	7,3	3,9
D₂	2,9	6,0	0	15,5	8,6	11,6	5,0	8,0	3,0	5,8	8,4	5,2
D₄	17,4	16,0	15,5	0	13,4	5,2	13,0	9,7	14,8	17,3	9,0	12,4
D/A	12,9	4,0	8,6	13,4	0	10,0	8,6	5,2	6,0	12,8	4,9	3,8
D+A	10,2	11,8	11,6	5,2	10,0	0	8,1	5,3	10,5	12,7	6,5	8,6
H₁	5,1	7,1	5,0	13,0	8,6	8,1	0	5,3	4,4	5,1	7,7	5,5
H₂	9,3	6,6	8,0	9,7	5,2	5,3	5,3	0	6,0	10,4	3,7	3,9
D₃	4,2	3,4	3,0	14,8	6,0	10,5	4,4	6,0	0	7,1	7,0	3,2
A₁⁻	3,9	10,0	5,8	17,3	12,8	12,7	5,1	10,4	7,1	0	12,4	9,6
A₃	10,6	7,3	8,4	9,0	4,9	6,5	7,7	3,7	7,0	12,4	0	3,9
H₃	7,2	3,9	5,2	12,4	3,8	8,6	5,5	3,9	3,2	9,6	3,9	0

- En la presente invención los elementos **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄** y **D/A** (en este caso corresponde a "**D/A** en condición donador") de la subestructura **ancla [A]** corresponden cada uno a un átomo o grupos de átomos donores de puentes de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -NH, -NH₂, -NH₃⁺, =NH y -SH; los cuales pueden corresponder

- a: a) sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: alquilo y/o arilo y/o cicloalquilo y/o arilocalquilo y/o arilocicloalquilo y/o alquilocicloalquilo, b) constituyentes y/o sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: heteroalquilo y/o heteroarilo y/o heterocicloalquilo y/o heteroarilocalquilo y/o heteroarilocicloalquilo y/o heteroalquilocicloalquilo, c) particularmente, grupo -OH presente en grupos funcionales de fórmula ROH; grupo -NH presente en grupos funcionales de fórmula RNH₂, RR'NH, R(O)NHR', R(O)NH₂; grupo =NH presente en grupos funcionales de fórmula RC(=NH)R'; RC(=NH)H; grupo -SH presente en grupos funcionales de fórmula RSH donde R, R' son independientemente hidrógeno, radical alquilo no sustituido o sustituido, radical heteroalquilo no sustituido o sustituido, radical cicloalquilo no sustituido o sustituido, radical heterocicloalquilo no sustituido o sustituido, radical arilo no sustituido o sustituido, radical heteroarilo no sustituido o sustituido. Una representación de la presente invención incluye elementos **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄** y **D/A** (en este caso corresponde a "D/A en condición donador") de la subestructura **ancla [A]** que se corresponden cada uno independientemente con el grupo -C≡CH, los cuales pueden corresponder a: a) constituyente o sustituyente de cualquiera de los siguientes radicales: alquilo y/o cicloalquilo y/o heteroalquilo y/o heterocicloalquilo y/o arilocalquilo y/o arilocicloalquilo y/o alquilocicloalquilo y/o heteroarilocalquilo y/o heteroarilocicloalquilo y/o heteroalquilocicloalquilo, b) sustituyentes de radicales arilo y/o heteroarilo. Otra representación de la presente invención incluye elementos **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄** y **D/A** (en este caso corresponde a "D/A en condición donador") de la subestructura **ancla [A]** que se corresponden cada uno independientemente con grupo -CH presente en HCN.
- En la presente invención los elementos **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄** y **D/A** (en este caso corresponde a "**D/A** en condición donador") en ningún caso se corresponden con: a) grupo -OH presente en grupo -C(O)OH, -S(O)OH, -P(O)OH; b) grupo -NH presente en CF₃-NH-S(O)₂-; c) grupo -NH presente en tetrazol.

En la presente invención los elementos **A₁**, **A₂**, **A₃** y **D/A** (en este caso corresponde a "**D/A** en condición aceptor") de la subestructura **ancla [A]** se corresponden a un átomo o grupos de átomos aceptores de puentes de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -C=O y/o -N=O y/o -S=O y/o -P=O y/o -O-, los cuales pueden

- corresponder a: a) sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: alquilo y/o arilo y/o cicloalquilo y/o ariloalquilo y/o arilocicloalquilo y/o alquilocicloalquilo, b) constituyentes o sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: heteroalquilo y/o heteroarilo y/o heterocicloalquilo y/o heteroariloalquilo y/o heteroarilocicloalquilo y/o heteroalquilocicloalquilo, c) particularmente, grupo C=O presente en grupos funcionales de fórmula RC(O)X , RC(O)R' , RC(O)H , RCOO^- , RC(O)OH , RC(O)OR' , ROC(O)OR' , C(O)NR'R'' ; grupo -NH presente en grupos funcionales de fórmula RNO_2 ; RNO ; grupo -S=O presente en grupos funcionales de fórmula $\text{RS(O)}_2\text{OH}$, $\text{RS(O)}_2\text{R'}$, RS(O)R' ; grupo -P=O presente en grupos funcionales de fórmula HOPO(OR)_2 , RP(O)(OH)_2 , ROP(O)(OH)_2 ; grupo -O- presente en grupos funcionales de fórmula ROR' , RC(O)OR' , ROOR' donde X igual a halógeno y R, R', R'' son independientemente hidrógeno, radical alquilo no sustituido o sustituido, radical heteroalquilo no sustituido o sustituido, radical cicloalquilo no sustituido o sustituido, radical heterocicloalquilo no sustituido o sustituido, radical arilo no sustituido o sustituido, radical heteroarilo no sustituido o sustituido.

En una representación de la presente invención los elementos $\mathbf{A}_1^-$ y $\mathbf{A}_2^-$ de la subestructura **ancla [A]** se corresponden a un átomo o grupos de átomos portadores de carga neta (y/o parcialmente) negativa, por ejemplo: átomos de oxígeno de los grupo oxo e hidroxilo presentes en -C(O)OH ; -S(O)OH ; RR'P(O)(OH) ; RR'OP(O)(OH) ; ROP(O)(OH)_2 ; RP(O)(OH)_2 ; $\text{(RO)}_2\text{P(O)(OH)}$; $\text{RS(O)}_2\text{OH}$; $\text{ROS(O)}_2\text{OH}$; átomo de nitrógeno presente en la trifluorometilsulfonamida; átomos de nitrógeno no sustituidos presente en grupo tetrazol.

- En la presente invención los elementos $\mathbf{D+A}$ y $\mathbf{D/A}$ (en este caso corresponde a "D/A en condición aceptor-donor") de la subestructura **ancla [A]** corresponden a un átomo o grupos de átomos simultáneamente donores y aceptores de puentes de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -OH , -CONHR , -CONH_2 .
- En la presente invención los elementos $\mathbf{H}_1$, $\mathbf{H}_2$, $\mathbf{H}_3$ de la subestructura **ancla [A]** se corresponden cada uno con un átomo o grupos de átomos no polares seleccionados independientemente de cualquiera de los radicales siguientes: a) radical alquilo o heteroalquilo $\text{C}_1\text{-C}_{15}$ con no más de siete heteroátomos de

cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; b) radical cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituidos o sustituido; c) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituido o sustituido; d) radical ariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; e) radical heteroariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 o heteroalquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos, opcionalmente no sustituido o sustituido; f) radical alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo de 3-7 miembros, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; g) radical heteroalquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 o heteroalquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos opcionalmente no sustituido o sustituido; h) radical arilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unido a uno o más radicales cicloalquilo de 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical heteroarilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico H_1 y dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos D_1 y/o D_2 y/o D_3 y/o A_1^- ; k) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico H_2 y dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos A_3 y/o D/A y/o $D+A$; l)

radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico H_3 y dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos D_3 y/o A_2 y/o A_3 y/o D/A.

5 **Sitios claves de interacción para los elementos D_1 , D_2 , D_3 y D_4 del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo “ij”**

Una representación de la presente invención incluye que D_1 comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Asp-98 y/o uno o más átomos de
10 hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena lateral correspondiente al grupo carboxiamida del residuo Asn-103 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”**.

Una representación de la presente invención incluye que D_2 comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Asp-98 y/o uno o más átomos de
15 hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Ala-245 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”** y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Lys-246 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”**.

20 Una representación de la presente invención incluye que D_3 comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Lys-246 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”**.

Una representación de la presente invención incluye que D_4 comparta uno o más
25 átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno de la cadena lateral correspondiente al grupo carboxilato del residuo Asp-249 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”** y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno de la cadena principal correspondiente al grupo carbonilo del residuo Val-250 presente en la **cavidad asociada al lazo “ij”**.

30 **Sitios claves de interacción para los elementos A_1 y A_2 del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo “ij”**

Una representación de la presente invención incluye que A_1^- acepte uno o más átomos de hidrógeno del grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o A_1^- sea portador de carga neta (y/o parcialmente) negativa y establezca interacciones electrostáticas con el grupo amonio portador de carga positiva del residuo Lys-246 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que A_2^- acepte un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o A_2^- sea portador de carga neta (y/o parcialmente) negativa y establezca interacciones electrostáticas con el grupo guanidinio portador de carga positiva del residuo Arg-99 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Sitios claves de interacción para el elemento D/A del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo "ij"

Una representación de la presente invención incluye que **D/A** acepte el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o **D/A** acepte el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **D/A** comparta uno o más átomos de hidrógeno con el oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o **D/A** comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **D/A** acepte el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o **D/A** comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **D/A** comparta uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la

cadena lateral del residuo Ser-72 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o **D/A** acepte el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Sitios claves de interacción para el elemento A₃ del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo "ij"

Una representación de la presente invención incluye que **A₃** acepte un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-115 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o un átomo de hidrógeno del grupo amino de la cadena principal del residuo Gln-248 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Sitios claves de interacción para el elemento D+A del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo "ij"

Una representación de la presente invención incluye que **D+A** acepte un o más átomos de hidrógeno del grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-247 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o comparta uno o más átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno de la cadena lateral de carboxilato del residuo Asp-249 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Sitios claves de interacción para los elementos H₁, H₂ y H₃ del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo "ij"

Una representación de la presente invención incluye que **H₁** establezca interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **H₁** establezca interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de las cadenas laterales de butilamonio de los residuos Lys-246 y Lys-247 presentes en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **H₂** establezca interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-247 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **H₂** establezca interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de

butilamonio del residuo Lys-247 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y/o **H₂** establezca interacciones hidrofóbicas con el grupo metilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 presente en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Una representación de la presente invención incluye que **H₃** establezca interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de los residuos Val-97 y Ile-113 ambos presentes en la **cavidad asociada al lazo "ij"**.

Descripción de las subestructuras Cabezas

En la presente invención la subestructura **cabeza [C]** o R_c corresponde a cualquiera de las siguientes:

- a) hidrógeno; b) radical alquilo o heteroalquilo C₁-C₁₀ con no más de tres heteroátomos opcionalmente no sustituido o sustituido; c) radical cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto de uno, dos o tres anillos, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; d) radical arilo o heteroarilo compuesto de uno, dos o tres anillos, cada uno formado de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituido o no sustituido; e) radical ariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; f) radical heteroariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos, opcionalmente no sustituido o sustituido; g) radical alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; h) radical heteroalquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos opcionalmente no sustituido o sustituido; i) radical arilocicloalquilo

- compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unido a uno o más radicales cicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; j) radical heteroarilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; k) radical seleccionado entre los radicales b)-j), donde dicho sustituyentes comprenden uno o más grupos portadores de carga positiva seleccionados entre los grupos siguientes: RNH_2 , RNHR' , $\text{RNR}'\text{R}''$, $\text{RC}(\text{NRR}')=\text{NR}''$, $\text{C}(\text{NR}'\text{R}'')_2=\text{NR}'''$; $\text{RNHC}(\text{NR}'\text{R}'')=\text{NR}'''$; $\text{C}(\text{RNH})_2=\text{NR}'$; $\text{RC}(\text{R}'\text{NH})=\text{NR}''$; l) radical seleccionado entre los radicales b)-j), donde dicho sustituyentes comprenden uno o más grupos portadores de carga negativa seleccionados entre los grupos siguientes: $\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $\text{S}(\text{O})\text{OH}$; $\text{RR}'\text{P}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{RR}'\text{OP}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{ROP}(\text{O})(\text{OH})_2$; $\text{RP}(\text{O})(\text{OH})_2$; $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{RS}(\text{O})_2\text{OH}$; $\text{ROS}(\text{O})_2\text{OH}$; grupo tetrazol.

Mecanismo de inhibición

Los compuestos químicos descritos en la presente invención inhiben la infección por el virus Dengue por uno o varios de los siguientes mecanismos:

- A) Afectación del proceso de morfogénesis y/o ensamblaje de los viriones,
 - B) Interferencia con el tráfico exocítico y el proceso de maduración de los viriones,
 - C) Modulación de la estabilidad de los viriones maduros,
 - D) Afectación del proceso de fusión de membranas.
- El papel de la subestructura **ancla** de los compuestos descritos en la presente invención consiste en garantizar el anclaje de estos a la **hendidura asociada al lazo "ij"** y por tanto, permitir la localización de dichos compuestos químicos en la vecindad del extremo del dominio II de la proteína E. Esta región del dominio II está involucrada en varias interacciones intermoleculares que caracterizan a esta proteína como son las interacciones preM-E, la formación de dímeros de proteína E de los viriones maduros y la interacción de la proteína E con la membrana endosomal necesaria en el proceso de fusión. Por tanto, la unión de estos

compuestos a la proteína E, interfiere y/o modifica estas interacciones intermoleculares provocando la afectación de la función biológica de la proteína asociada a cada interacción particular y así provocando un efecto inhibitorio de la o las etapas del ciclo de replicación viral relacionadas con dicha función.

- 5 Tal es el caso del proceso de **morfogénesis y/o ensamblaje de los viriones**, una etapa caracterizada por el brote de estos en la membrana del retículo endoplasmático y la cual es mediada por interacciones laterales que se establecen entre las proteínas preM y E. Los compuestos de la presente invención y la proteína preM compiten por la unión a la proteína E interfiriendo de esta forma con el proceso de brote. Además de la subestructura **ancla**, la subestructura **cabeza** también favorece la actividad de estos compuestos, contribuyendo a una mayor afinidad y/o interferencia estérica. El bloqueo de la interacción preM-E, provoca además que el péptido de fusión quede expuesto al solvente, desprovisto de la protección que aporta la proteína preM. Así, la proteína E queda expuesta a interacciones anticipadas con las membranas intracelulares o con la propia membrana del virión, afectando de esta forma el **tráfico intracelular por la vía exocítica y la maduración de los viriones** en partículas totalmente infectivas. La subestructura **cabeza** puede contribuir también en esta etapa, así una cabeza apolar y voluminosa aumenta la afinidad del complejo proteína E-ligando por la membrana y estéricamente interfiere con la **formación de homodímeros de proteína E**, característicos de la envoltura de los viriones maduros. La elección de la subestructura **cabeza** adecuada es esencial también para **modular la estabilidad de los viriones maduros**. Una posibilidad es la desestabilización de los homodímeros de proteína E por impedimentos estéricos y/o mediante interacciones atómicas desfavorables de la estructura **cabeza** con átomos del monómero vecino. Como resultado, estos viriones son más inestables y propensos a inactivación temprana en el ambiente extracelular e intracelular. También es posible el diseño de subestructuras **cabezas** que garanticen interacciones favorables con residuos del monómero vecino, contribuyendo a la estabilización adicional de los homodímeros. El efecto biológico en este caso también conduce a la atenuación de la infectividad de los viriones, interfiriendo con los cambios de estructura cuaternaria asociados al **proceso de fusión de membranas** que ocurre en las vesículas endosomales al

producirse la entrada del virus a las células. Un aumento en estabilidad de los dímeros disminuye el pH umbral del proceso de fusión, mientras que la desestabilización lo eleva, en ambos casos afectando el proceso. La subestructura **cabeza** descrita en esta invención también puede alterar las propiedades hidropáticas del péptido de fusión, modificando la capacidad de interacción con la membrana endosomal. De manera tal, que una subestructura **cabeza** apolar provoca un aumento de la afinidad de unión a membrana mientras que una subestructura **cabeza** polar induce el efecto contrario. En cualquier caso, la interacción de la subestructura **cabeza** con el péptido de fusión afecta el **proceso de fusión con la membrana endosomal**.

La invención contempla las composiciones farmacéuticas que contengan uno o más de los compuestos químicos o sus sales farmacéuticamente aceptables, así como excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables que las contengan. Además, la invención también incluye el uso de compuestos químicos para la manufactura de medicamentos para el tratamiento del virus Dengue y otros *flavivirus*. La invención también incluye el uso de dichos compuestos o variantes de los mismos para la prevención y/o tratamiento de infecciones en seres vivos provocadas por *flavivirus*, con la ocurrencia de al menos la reducción de un síntoma de la enfermedad.

Un aspecto novedoso de la presente invención que constituye una ventaja con respecto a otras estrategias de desarrollo de compuestos antivirales enfocados en la inhibición y/o interferencia de etapas individuales de ciclo de replicación viral, radica en que los compuestos descritos en la presente invención son diseñados para interferir con varias etapas del ciclo de replicación del virus potenciando el efecto antiviral. Como estos compuestos están dirigidos a un sitio de unión biológicamente relevante el cual se conserva evolutivamente en estos virus, la posibilidad de generación de mutantes de escape viables también disminuye.

Metodología para la identificación de las subestructuras Anclas

Los compuestos químicos se identificaron empleando métodos computacionales, específicamente combinando los resultados del pesquizado virtual por acoplamiento molecular y el empleo de un modelo farmacofórico. Se utilizó un modelo de la proteína E del virus Dengue dimérica pre-fusogénica conforme a la

estructura del virión maduro y una base de datos de compuestos químicos. Dicho modelo se construyó superponiendo de manera independiente el dominio II y los dominios I+III de la proteína E del virus Dengue DEN2 (1TG8) con los dominios correspondientes en la estructura de la partícula viral madura del virus Dengue DEN2 (1THD) determinada por criomicroscopía electrónica (Crio-ME) utilizando el programa Whatif (Vriend, G. (1990) *WHAT IF: a molecular modeling and drug design program. J Mol Graph. 8:52-56*) y la posterior minimización de energía en la interfase dominio I-II (Ejemplo 1). La región diana de la proteína E utilizada como sitio de unión en las simulaciones de acoplamiento molecular corresponde a la **cavidad asociada al lazo “ij”** descrita en la presente invención. Se utilizó el programa Dock (Kuntz, I.D., Blaney, J.M., Oatley, S.J., Langridge, R. y Ferrin, T.E. (1982) *A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. J Mol Biol. 161:269-88*) para orientar y evaluar millones de conformaciones de compuestos químicos provenientes de la base de datos ZINC (Irwin, J.J. y Shoichet, B.K (2005) *ZINC - A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening. J. Chem. Inf. Model. 45:177-182*) en la **cavidad asociada al lazo “ij”** presente en el modelo de la proteína E construido. Se seleccionaron los compuestos químicos con mayores valores de energía de unión (por ejemplo, Energía $\leq -35 \text{ kJmol}^{-1}$ de acuerdo a la evaluación con la función de energía del programa Dock versión 4) y se realizó el análisis visual del modo de unión en el receptor de dichos complejos receptor-ligando. Finalmente se seleccionaron, un grupo de compuestos químicos que además de originar complejos receptor-ligando con valores de energía de unión elevados (Energía $\leq -35 \text{ kJmol}^{-1}$), los mismo adoptan conformaciones que se acomodan en la **cavidad asociada al lazo “ij”** y establecen interacciones mediante enlaces por puentes de hidrógeno y/o interacciones hidrofóbicas y/o interacciones electrostáticas según las predicciones *in silico* con varios de los residuos que a continuación se mencionan:

a) residuos que forman dicha cavidad, por ejemplo: Thr-70, Ser-72, Val-97, Asp-98, Arg-99, Asn-103, Ile-113, Thr-115, Ala-245, Lys-246, Lys-247, Gln-248 y Asp-249.

b) residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108.

c) residuos correspondientes al monómero vecino presente en la estructura dimérica de los viriones maduros: Arg-2, Gly-5, Ile-6, Ser-7, Asn-8, His-27, Gly-28, Glu-44 y Asp-154.

d) residuos presentes en el lazo "ij", por ejemplo: His-244.

5

El análisis de las predicciones *in silico* del modo unión a la **hendidura asociada al lazo "ij"** de cada uno de los compuestos químicos seleccionados en el experimento de pesquizaje virtual permitió detectar la presencia de subestructuras con interacciones potencialmente favorables con los **residuos**

10

claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij" definidos en la presente invención. Las subestructuras identificadas permitieron la definición de un modelo farmacofórico 3D (Figura 5) de interacciones interatómicas favorables con los **residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij"**.

15

La construcción de dicho modelo farmacofórico se complementó con programa Pocket (*Chen J. y Lai L. (2006) Pocket v.2: Further Developments on Receptor-Based Pharmacophore Modeling. J. Chem. Inf. Model. 46: 2684 -2691*). Dicho modelo farmacofórico 3D fue utilizado para la identificación de otras subestructuras **anclas** y compuestos químicos utilizando el programa 3DFS (*Wang, T. y Zhou, J. (1998) 3DFS: A New 3D Flexible Searching System for Use*

20

in Drug Design. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 38: 71-77). Los compuestos químicos obtenidos del pesquizaje virtual y del empleo del modelo de farmacóforo 3D se muestran en el Ejemplo 2. Las subestructuras **anclas** descritas en la presente invención contienen al menos tres de los siguientes elementos: a) un elemento donador de puente de hidrógeno (**D₁₋₄**), y/o b) un elemento aceptor y/o portador de

25

carga negativa (**A₁₋**, **A₂₋**, **A₃**), y/o c) un elemento hidrofóbico (**H₁₋₃**), y/o d) un elemento aceptor y/o donador de puente de hidrogeno (**D/A**), y/o e) un elemento simultáneamente donador-aceptor de puente de hidrogeno (**D+A**), y dichos elementos (a) – (e) son seleccionados entre los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D y las mismas se describen en el Ejemplo 3. Las

30

interacciones intermoleculares entre las subestructuras **anclas** descritas en la presente invención y los **residuos claves para el anclaje al surco asociado al lazo "ij"** se ilustra en el Ejemplo 4. La capacidad de inhibir infección por virus Dengue de los compuestos químicos descritos en la presente invención fue

evaluada *in vitro* en ensayos de inhibición de formación de placas en células Vero según se describe en el Ejemplo 5.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FIGURAS

Figura 1. Representación de la superposición estructural del dominio II de uno de los monómeros de la proteína E de los siguientes *flavivirus*: virus del dengue, virus del Nilo occidental y virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. Se observa la **cavidad asociada al lazo “ij”** en el extremo del dominio II en las estructuras dimérica pre-fusogénicas de la proteína E del virus del dengue DEN2 con identificador 1OKE, 1TG8 y 1OAN y virus Dengue DEN3 con identificador 1UZG, donde el lazo “ij” adopta una conformación abierta. Esta conformación abierta del lazo “ij” no se aprecia en las estructuras monoméricas 2HG0 y 2I69 de la proteína E del virus del Nilo occidental ni en la estructura dimérica pre-fusogénica 1SVB del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas ni tampoco en las estructuras trimérica post-fusogénicas 1OK8 del virus Dengue DEN2 y 1URZ del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. Representación de la estructura secundaria con el programa Chimera (*Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., y Ferrin, T.E. (2004) UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis. J. Comput. Chem. 25:1605-1612*).

Figura 2. Diferencias estructurales entre la horquilla “ij” de la proteína E dimérica-prefusogénica 1TG8, 1OAN, 1OKE del virus Dengue DEN2, proteína E trimérica-post-fusogénica 1OK8 del virus Dengue DEN2 y proteína E dimérica pre-fusogénica 1UZG del virus Dengue DEN3. Se utilizó la estructura 3D de la proteína E dimérica-prefusogénica del virus dengue DEN2 con identificador 1TG8 como molde para realizar la superposición.

Figura 3. Alineamiento de secuencias del dominio II de los virus Dengue, virus del Nilo Occidental y virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y los valores de factor de temperatura por residuo reportados para cada una de las siguientes estructuras: proteína E dimérica del virus Dengue DEN2 (1TG8, 1OAN, 1OKE), proteína E dimérica del virus Dengue DEN3 (1UGZ), proteína E trimérica post-fusogénica del virus Dengue DEN2 (1OK8), proteína dimérica (1SVB) y trimérica postfusogénica (1URG) del virus de la encefalitis transmitida por

garrapatas y proteína E monomérica (2HG0 y 2I69) del virus del Nilo Occidental. Los valores de factor de temperatura de los residuos que constituyen la horquilla "ij" están sombreados y la secuencia de aminoácidos que comprenden la horquilla "ij" está subrayada.

5 **Figura 4.** Representación del modelo de la proteína E dimérica del virus Dengue serotipo 2 compatible con el virión maduro y el sitio de unión (**cavidad asociada al lazo "ij"**) utilizado como blanco en los experimentos *in silico* de pesquizaje virtual. Se muestra el conjunto de esferas utilizadas para orientar los ligandos en el sitio de unión y los residuos de la proteína E que se tienen en cuenta para la
10 evaluación de la energía intermolecular receptor-ligando aparecen contenidos en una caja. Se utilizó el programa Chimera (Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., y Ferrin, T.E. (2004) UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis. *J. Comput. Chem.* 25:1605-1612).

15 **Figura 5.** Representación esquemática del modelo farmacofórico 3D descrito en la presente invención en el **surco asociado al lazo "ij"**.

Figura 6. Descripción de los elementos del modelo farmacofórico contenidos en las subestructuras **anclas** A-SIJ023, A-SIJ118 y A-SIJ121 y la descripción del modo de unión.

20 **EJEMPLOS DE REALIZACIÓN**

Ejemplo 1. Construcción del modelo de proteína E compatible con el virión maduro.

Para seleccionar la estructura 3D de la proteína E del virus Dengue como
25 molécula diana para realizar experimentos *in silico* se analizaron las estructuras cristalográficas de dicha proteína anotadas en la base de datos de estructura tridimensional de proteínas, PDB (Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., y Bourne, V. (2000) *The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research.* 28:235-242) determinadas por
30 cristalografía de rayos-X y Crio-ME. A pesar de que la estructura de la proteína E del virus Dengue determinada por Crio-ME posee baja resolución, la misma resulta útil porque aporta información acerca de la orientación entre los diferentes dominios, la separación entre los monómeros en el dímero y las regiones de la

proteína E que están expuestas en la superficie del virión maduro. Con el objetivo de comparar la estructura de la proteína E dentro y fuera del contexto del virión maduro, se realizó la superposición del dominio II de la estructura del virión maduro determinada por Crio-ME (1THD) y las estructuras cristalográficas de la proteína E dimérica 1OAN, 1OKE y 1TG8. La superposición estructural se realizó con la opción *motif* del programa Whatif que se basa en tomar fragmentos de determinada longitud de una de las proteínas y tratar de superponerlo en los fragmentos de la otra (molde) buscando la mayor cantidad de aminoácidos equivalentes entre las dos estructuras con un mínimo valor de desviación cuadrática media (RMSD). La superposición estructural mostró que la estructura del dominio II y del **surco asociado al lazo "ij"** se conserva entre todas las estructuras analizadas (1OAN, 1OKE, 1TG8) con un RMSD de los átomos CA menores a 0.7 Å; sin embargo, se observan diferencias en la estructura 3D de los dímeros de proteína E obtenidos por cristalografía de rayos-X y por Crio-ME. Los dímeros cristalográficos son más compactos siendo la separación entre los monómeros menor con respecto al dímero E obtenido por Crio-ME en la superficie del virión maduro. Por lo tanto, se determinó no utilizar ninguna de las estructuras cristalográficas de la proteína E dimérica del virus Dengue anotadas en la base de datos PDB como receptor para las simulaciones de acoplamiento molecular *in silico*. En cambio, se empleó como receptor un modelo atómico de la proteína E del virus Dengue compatible con la estructura pseudo atómica del virión maduro determinada por Crio-ME. Dicho modelo se construyó combinando la información estructural disponible determinada por Crio-ME (1THD) y por cristalografía de Rayos-X (1TG8) de la proteína E dimérica. Se dividió la estructura de la proteína E dimérica 1TG8 en dos partes dominio II y dominio I+III, las cuales fueron superpuestas de manera independiente con sus dominios correspondientes en la estructura 1THD usando el programa Whatif. Seguidamente se realizó una minimización de energía para optimizar la geometría de las distancias y ángulos de enlace correspondientes a la conexión entre dominio I y II y por último, se chequeó el modelo obtenido con la opción *fulchk* del programa Whatif. En la Figura 4 se muestra el modelo 3D de la proteína E dimérica construido compatible con el virión maduro utilizado en la presente invención y se muestra además, la región diana utilizada como sitio de unión (corresponde a la **cavidad asociada al lazo "ij"** descrita en la presente

invención) en los experimentos de pesquizaje virtual y para la obtención de información adicional para la construcción del modelo de farmacóforo 3D.

Ejemplo 2. Pesquizaje virtual de una librería de compuestos químicos

mediante simulaciones de acoplamiento molecular. Construcción y empleo de un modelo de farmacóforo 3D.

La metodología de pesquizaje virtual se empleó para la identificación *in silico* de compuestos químicos con interacciones potencialmente favorables con residuos de la **cavidad asociada al lazo “ij”** de la proteína E del virus DEN2. La simulación del acoplamiento molecular consistió en la orientación y evaluación energética de diferentes conformaciones de los compuestos químicos contenidos en la base de datos ZINC (versión 5) en la **cavidad asociada al lazo “ij”** de la proteína E del virus DEN2 utilizando el programa Dock (versiones 4.01 y 6.1). Las coordenadas del receptor, se obtienen del modelo atómico de la proteína E del virus DEN2 dimérica compatible con la estructura del virión maduro descrito en el Ejemplo 1. El sitio de unión corresponde al surco asociado al lazo “ij” formado por los residuos: ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG¹⁰⁰, ¹⁰³NGC¹⁰⁵, ¹¹¹GGIVT¹¹⁵ y ²⁴⁵AKKQDV²⁵⁰ del modelo atómico de la proteína E del virus DEN2 (cepa S1) descrito en el Ejemplo 1. La orientación de los compuestos químicos en la **cavidad asociada al lazo “ij”** se fija mediante un conjunto de esferas, las cuales para el caso de la **cavidad asociada al lazo “ij”** se muestran en la Figura 4.

Se consideró en la evaluación energética de los complejos receptor-ligando generados la contribución energética de cualquier residuo del receptor que se localiza como máximo a una distancia de 5Å del conjunto de esferas mencionadas con anterioridad. La evaluación energética del receptor se realizó previa a la simulación del acoplamiento molecular con el programa Grid (herramienta accesorio del programa Dock). Se consideró el ligando como una molécula flexible, para lo cual se desarrollaron dos iniciativas: en primer lugar, se generaron varias conformaciones de cada uno de los compuestos químicos presentes en la base de datos ZINC con los programas Corina y Rotate (Sadowski, J. (1997) *A hybrid approach for addressing ring flexibility in 3D database searching. J Comput Aided Mol Des.* 11:53-60) y en segundo lugar, se empleó la opción flexible del programa Dock (versiones 4.01 y 6.1). En el primer

caso, se orientaron las conformaciones obtenidas para cada compuesto en el modelo atómico de la proteína E compatible con la estructura del virión maduro utilizando la variante rígida del programa Dock (versiones 4.01 y 6.1). En ambos casos, se evaluó el modo de unión de cada complejo receptor-ligando generado empleando diferentes funciones de puntuación del programa Dock (por ejemplo, función química, función de energía y función de contacto) así como otras funciones de puntuación por ejemplo, la función de puntuación del programa AutoDock (Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K. y Olson, A. J. (1998) *Automated Docking Using a Lamarckian Genetic Algorithm and Empirical Binding Free Energy Function*. *J Comput Chem*. 19: 1639-1662) y la función de puntuación X-Score (Wang, R.; Lai, L.; Wang, S. Further (2002) *Development and Validation of Empirical Scoring Functions for Structure-Based Binding Affinity Prediction*. *J. Comput Aided Mol. Des*. 16: 11-26). Se seleccionaron solo las mejores conformaciones de cada compuesto químico acopladas en el sitio de unión (por ejemplo, Energía ≥ -35 kJmol⁻¹ caso del programa Dock versión 4.01). Para cada una de las conformaciones de los compuestos seleccionados se realizó el análisis visual del modo de unión.

Finalmente, el análisis visual permitió distinguir entre los compuestos químicos con una unión favorable desde el punto de vista energético aquellos compuestos químicos que se acomodan en la **cavidad asociada al lazo "ij"** y que además interactúan con:

a) residuos que forman dicha cavidad, por ejemplo: Thr-70, Ser-72, Val-97, Asp-98, Arg-99, Asn-103, Ile-113, Thr-115, Ala-245, Lys-246, Lys-247, Gln-248 y Asp-249.

b) residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108.

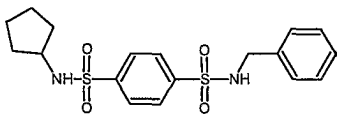
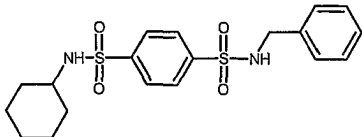
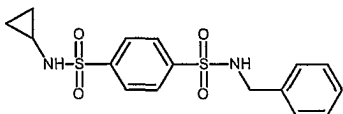
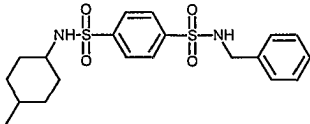
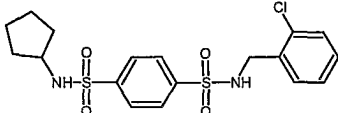
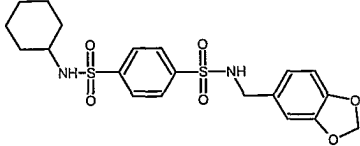
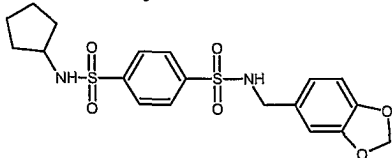
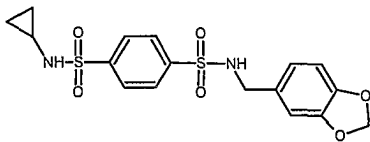
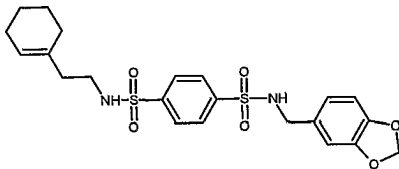
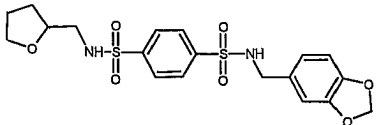
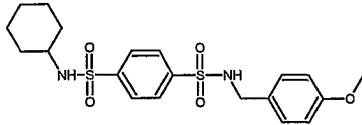
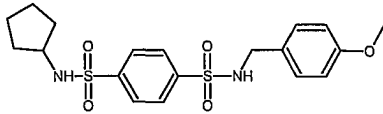
c) residuos correspondientes al monómero vecino presente en la estructura dimérica de los viriones maduros: Arg-2, Gly-5, Ile-6, Ser-7, Asn-8, His-27, Gly-28, Glu-44 y Asp-154.

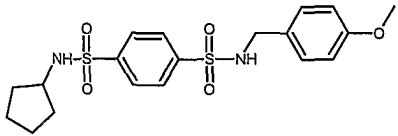
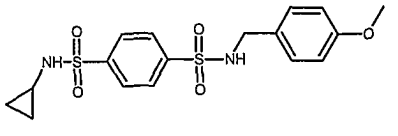
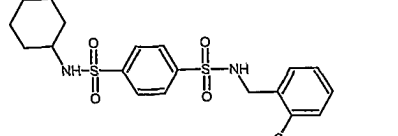
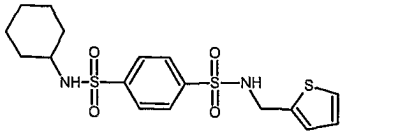
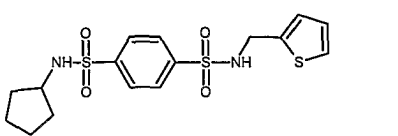
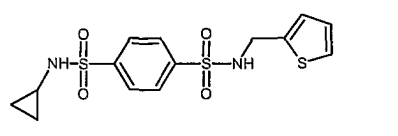
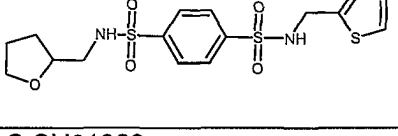
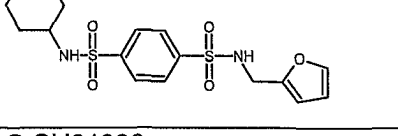
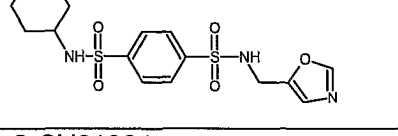
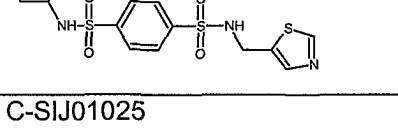
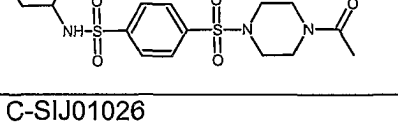
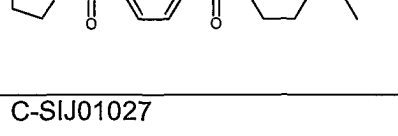
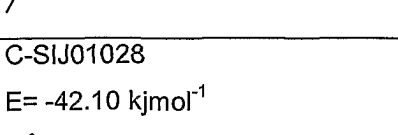
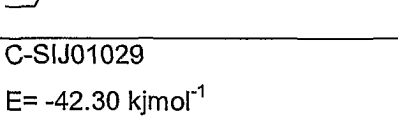
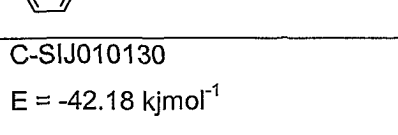
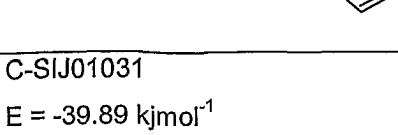
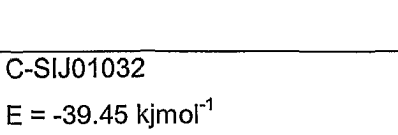
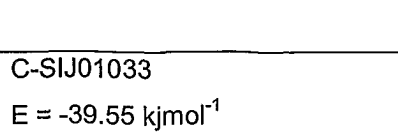
d) residuos presentes en el lazo "ij", por ejemplo: His-244.

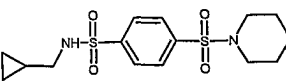
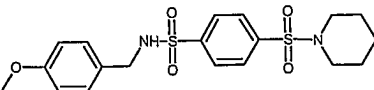
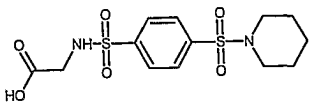
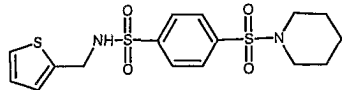
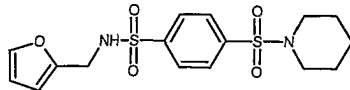
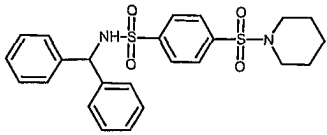
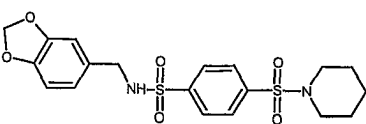
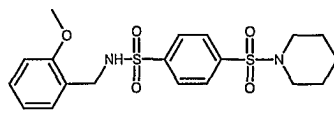
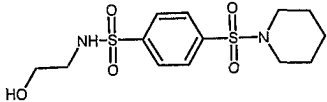
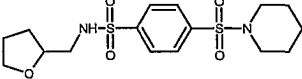
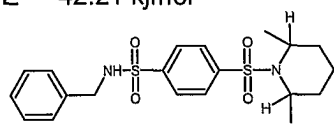
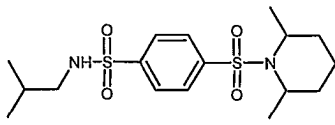
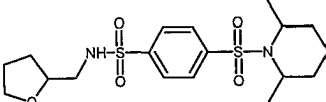
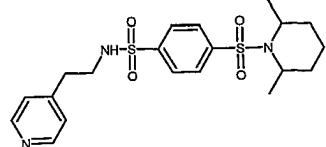
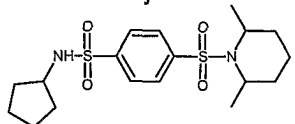
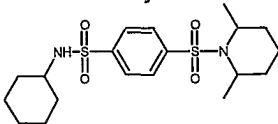
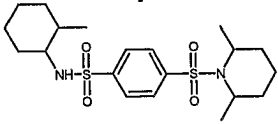
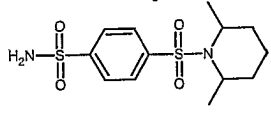
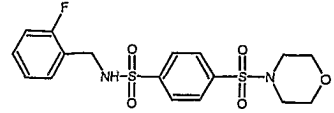
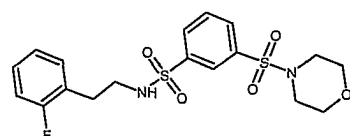
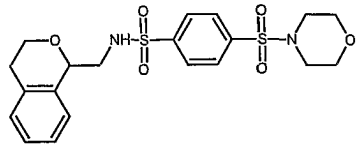
A continuación (Tabla 1) se muestran los compuestos químicos seleccionados mediante pesquizaje virtual y empleo del modelo farmacofórico 3D. Dicho compuestos químicos se unen a la **cavidad asociada al lazo "ij"** mediante interacciones atómicas anteriormente descritas según las predicciones realizadas

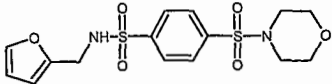
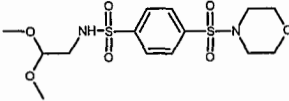
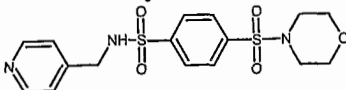
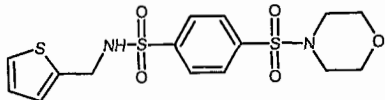
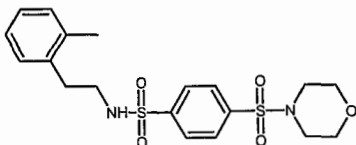
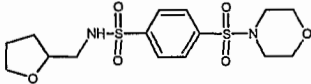
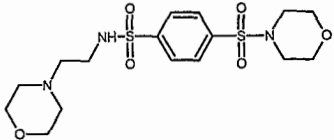
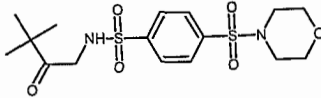
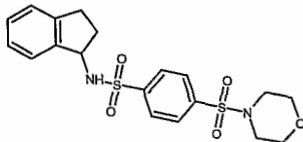
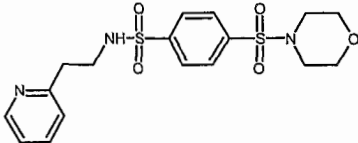
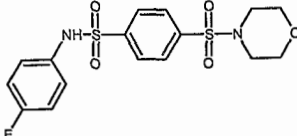
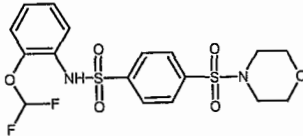
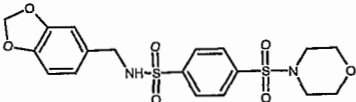
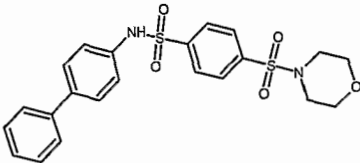
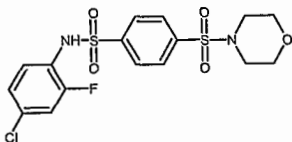
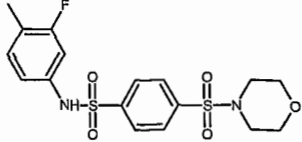
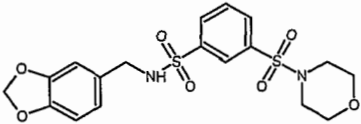
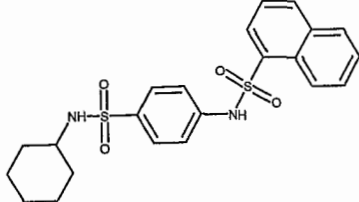
5 *in silico*.

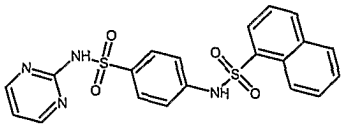
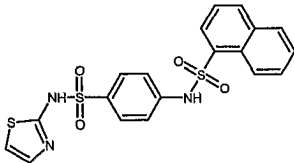
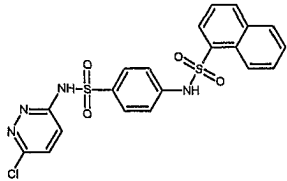
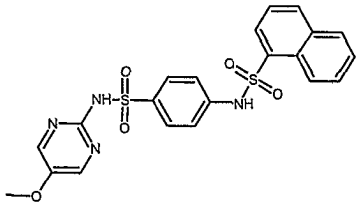
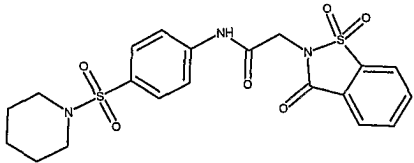
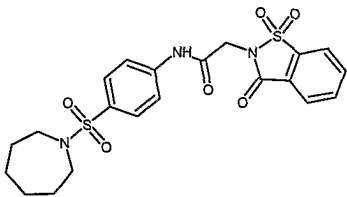
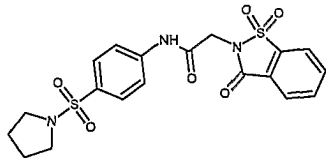
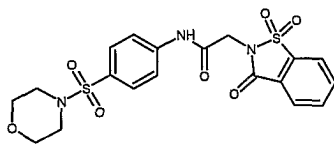
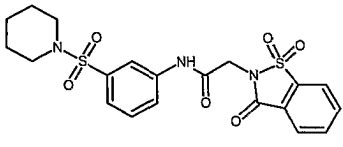
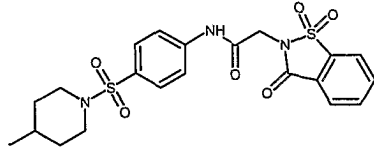
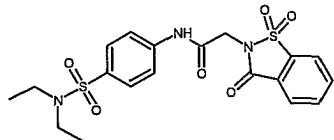
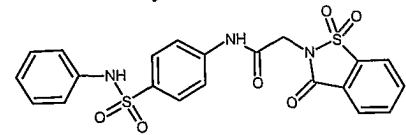
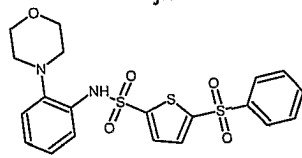
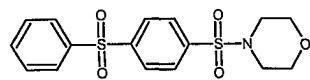
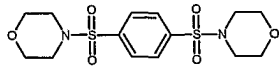
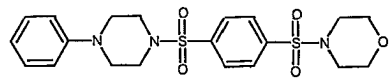
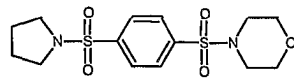
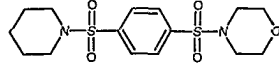
Tabla 1. Estructura 2D y valor de energía de unión de los compuestos químicos con una unión potencialmente favorable de acuerdo a la evaluación energética obtenida con las funciones de puntuación del programa Dock (versiones 4.01 y 6.1) y AutoDock y con un modo de unión complementario con la geometría y
10 composición química de los grupos de átomos que forman el sitio de unión. Los valores de energía que se reportan se obtuvieron con la función de energía del programa Dock 4.01.

C-SIJ01001 $E = -42.95 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01002 $E = -42.90 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01003 $E = -42.87 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01004 $E = -42.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01005 $E = -43.00 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01006 $E = -45.29 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01007 $E = -43.61 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01008 $E = -38.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01009 $E = -38.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01010 $E = -38.91 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01011 $E = -42.21 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01012 $E = -39.11 \text{ kJmol}^{-1}$ 

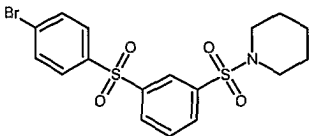
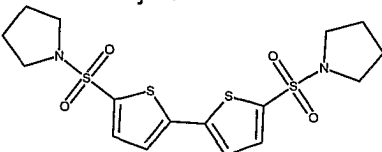
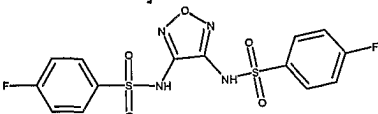
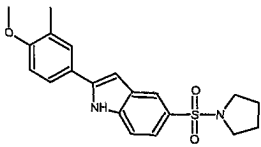
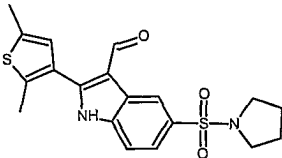
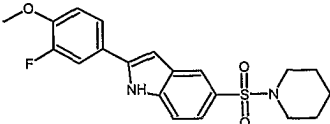
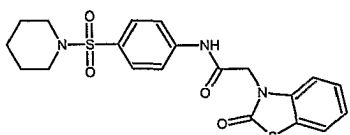
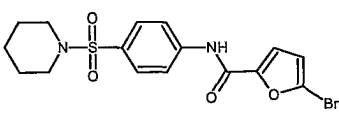
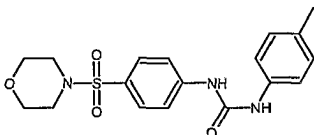
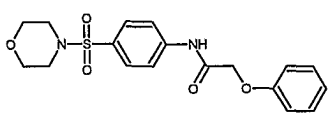
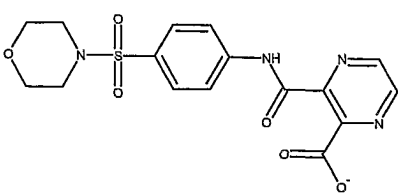
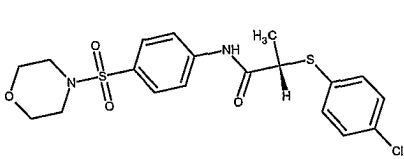
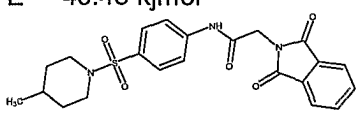
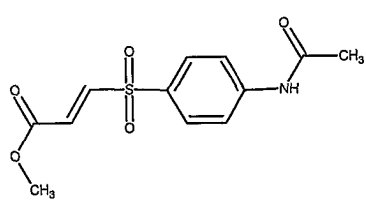
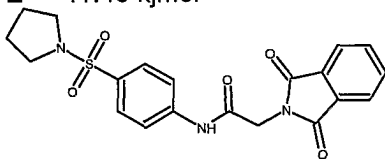
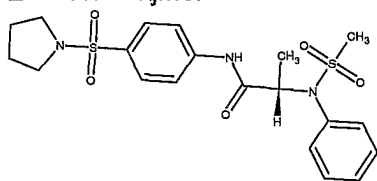
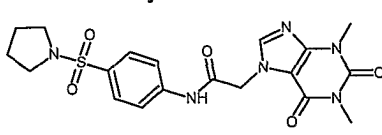
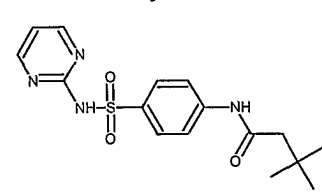
C-SIJ01013 E = -40.82 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01014 E = -40.86 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01015 E = -43.28 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01016 E = -43.28 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01017 E = -39.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01018 E = -39.93 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01019 E = -39.55 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01020 E = -43.26 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01021 E = -43.32 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01022 E = -43.37 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01023 E = -41.85 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01024 E = -38.60 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01025 E = -38.54 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01026 E = -38.81 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01027 E = -38.99 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01028 E = -42.10 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01029 E = -42.30 kJmol⁻¹ 	C-SIJ010130 E = -42.18 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01031 E = -39.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01032 E = -39.45 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01033 E = -39.55 kJmol⁻¹ 

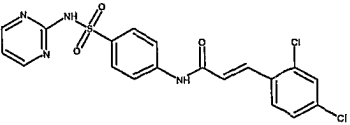
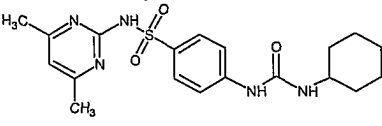
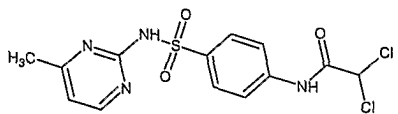
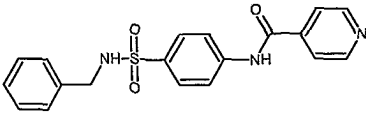
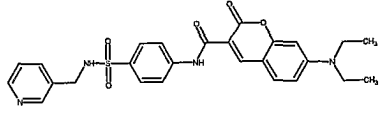
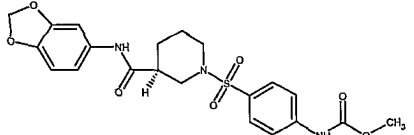
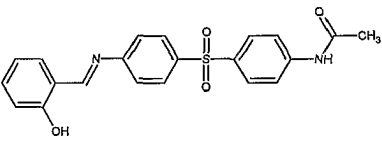
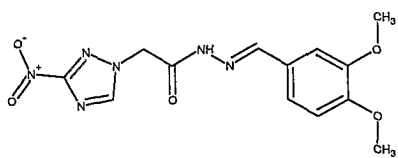
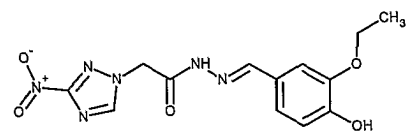
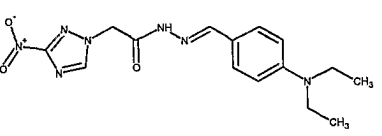
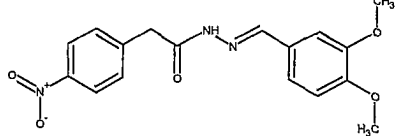
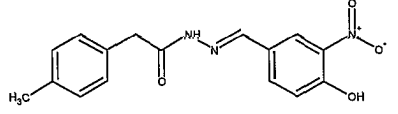
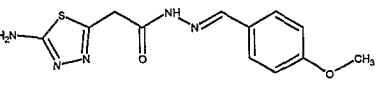
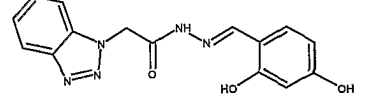
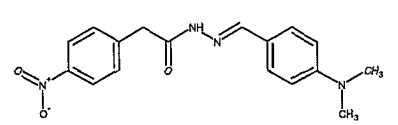
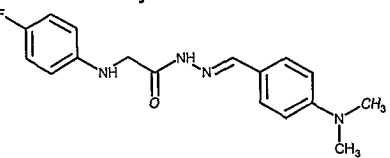
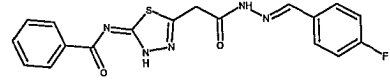
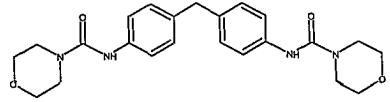
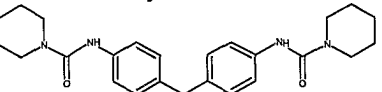
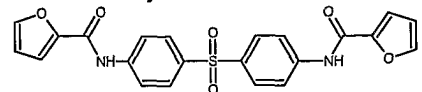
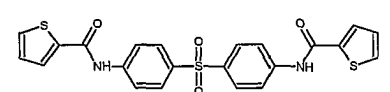
C-SIJ01034 E = -39.70 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01035 E = -38.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01036 E = -40.25 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01037 E = -39.50 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01038 E = -39.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01039 E = -39.43 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01040 E = -39.21 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01041 E = -39.34 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01042 E = -38.95 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01043 E = -38.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01044 E = -42.21 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01045 E = -40.79 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01046 E = -40.25 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01047 E = -40.13 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01048 E = -39.87 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01049 E = -40.11 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01050 E = -40.02 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01051 E = -39.79 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01052 E = -43.63 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01053 E = -43.42 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01054 E = -43.51 kJmol⁻¹ 

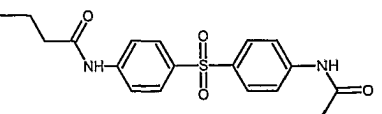
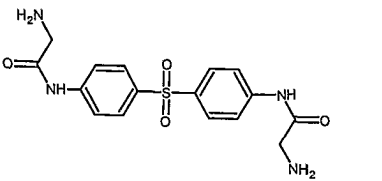
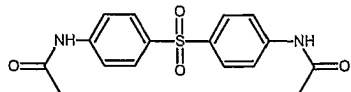
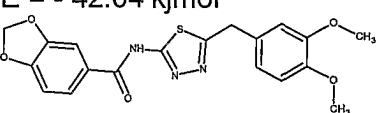
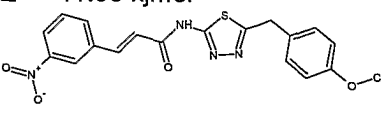
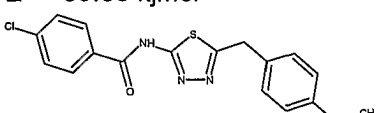
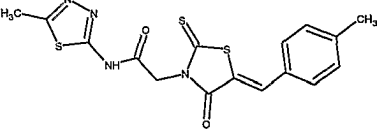
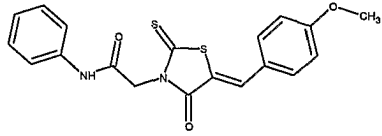
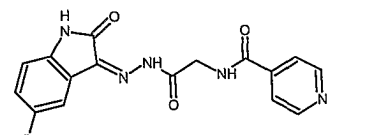
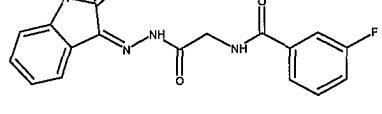
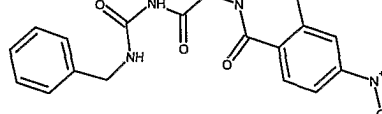
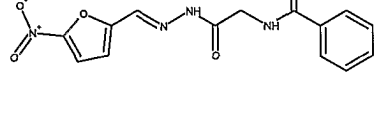
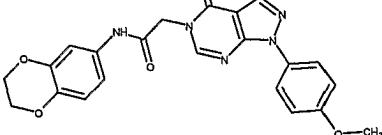
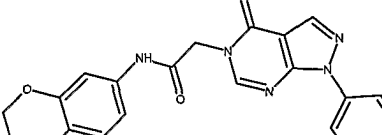
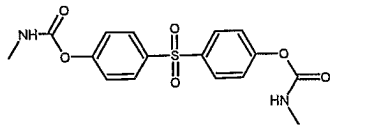
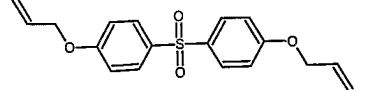
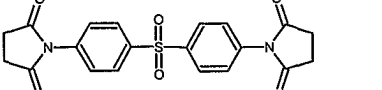
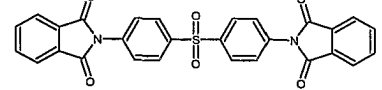
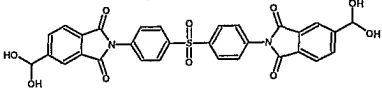
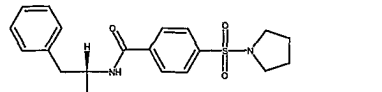
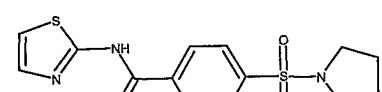
C-SIJ01055 $E = -42.91 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01056 $E = -42.87 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01057 $E = -42.17 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01058 $E = -42.10 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01059 $E = -42.35 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01060 $E = -41.25 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01061 $E = -41.62 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01062 $E = -42.15 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01063 $E = -42.06 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01064 $E = -42.06 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01065 $E = -41.36 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01066 $E = -42.09 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01067 $E = -42.19 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01068 $E = -41.90 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ01069 $E = -41.86 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ01070 $E = -41.64 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ02071 $E = -37.69 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ03072 $E = -38.61 \text{ kJmol}^{-1}$ 

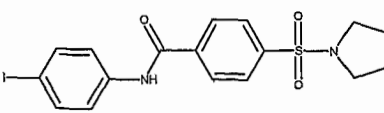
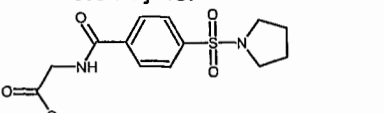
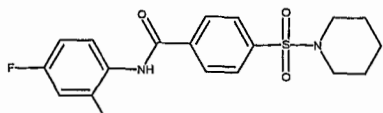
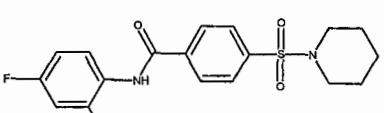
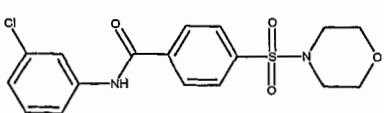
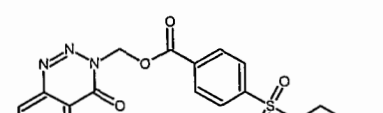
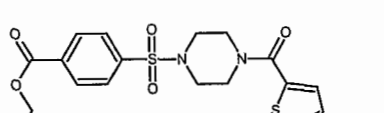
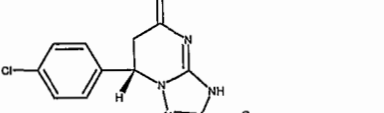
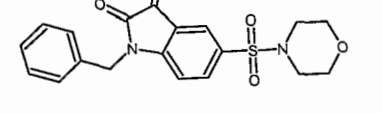
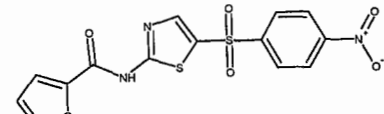
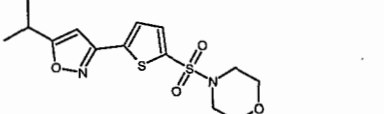
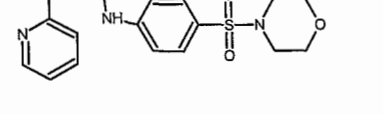
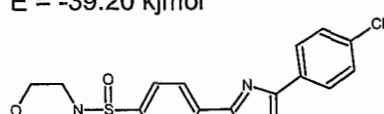
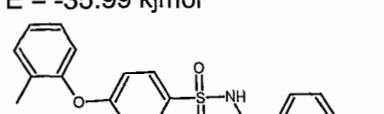
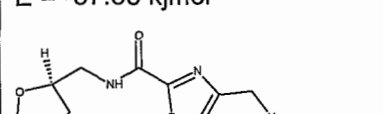
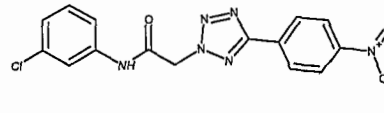
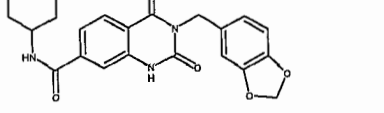
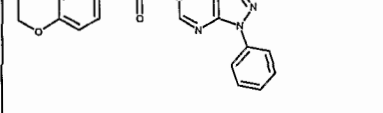
C-SIJ03073 E = -39.43 kJmol⁻¹ 	C-SIJ03074 E = -38.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ03075 E = -38.56 kJmol⁻¹ 
C-SIJ03076 E = -39.65 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04077 E = -42.76 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04078 E = -42.15 kJmol⁻¹ 
C-SIJ04079 E = -42.57 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04080 E = -41.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04081 E = -41.87 kJmol⁻¹ 
C-SIJ04082 E = -42.05 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04083 E = -42.74 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04084 E = -41.88 kJmol⁻¹ 
C-SIJ05085 E = -49.25 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06086 E = -40.84 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06087 E = -40.84 kJmol⁻¹ 
C-SIJ06088 E = -40.73 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06089 E = -40.24 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06090 E = -39.81 kJmol⁻¹ 
C-SIJ06091 E = -39.34 kJmol⁻¹	C-SIJ06092 E = -39.53 kJmol⁻¹	C-SIJ06093 E = -40.11 kJmol⁻¹

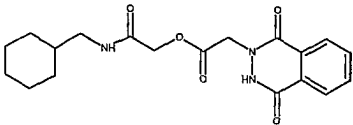
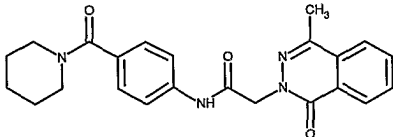
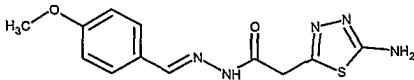
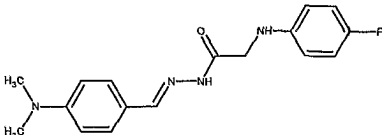
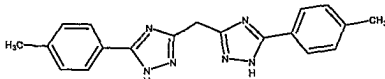
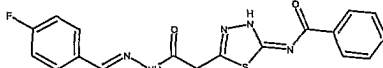
C-SIJ06094 $E = -40.04 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06095 $E = -39.76 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06096 $E = -38.82 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06097 $E = -40.81 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06098 $E = -39.77 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06099 $E = -40.01 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06100 $E = -39.95 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06101 $E = -40.92 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06102 $E = -40.05 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06103 $E = -39.82 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06104 $E = -38.80 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06105 $E = -40.43 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06106 $E = -40.85 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06107 $E = -40.96 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06108 $E = -39.56 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06109 $E = -40.14 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06110 $E = -43.61 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06111 $E = -42.21 \text{ kJmol}^{-1}$
C-SIJ06112 $E = -42.34 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06113 $E = -42.13 \text{ kJmol}^{-1}$	C-SIJ06114 $E = -42.01 \text{ kJmol}^{-1}$

C-SIJ07115 $E = -39.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ08116 $E = -35.57 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ090117 $E = -39.53 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ10118 $E = -37.69 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ10119 $E = -35.89 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ10120 $E = -38.85 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11121 $E = -43.71 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11122 $E = -39.65 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11123 $E = -37.49 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11124 $E = -38.44 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11125 $E = -41.12 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11126 $E = -45.11 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11127 $E = -46.48 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11128 $E = -35.90 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11129 $E = -41.45 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11130 $E = -41.32 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11131 $E = -40.35 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11132 $E = -35.49 \text{ kJmol}^{-1}$ 

C-SIJ11133 $E = -40.75 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11134 $E = -40.61 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11135 $E = -37.03 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11136 $E = -39.52 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11137 $E = -41.65 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ11138 $E = -41.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ11139 $E = -40.67 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12140 $E = -37.94 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12141 $E = -36.98 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ120142 $E = -37.00 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12143 $E = -35.03 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12144 $E = -38.16 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ12145 $E = -35.89 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12146 $E = -35.76 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12147 $E = -35.90 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ12148 $E = -36.05 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ12149 $E = -39.86 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ13150 $E = -38.28 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ130151 $E = -38.95 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ13152 $E = -43.54 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ131543 $E = -40.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 

C-SIJ13154 $E = -35.46 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ13155 $E = -36.24 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ13156 $E = -35.92 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ14157 $E = -42.04 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ14158 $E = -41.95 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ14159 $E = -39.65 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ15160 $E = -37.64 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ15161 $E = -36.49 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ16162 $E = -40.99 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ16163 $E = -35.49 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ16164 $E = -38.32 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ16165 $E = -39.61 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ17166 $E = -41.78 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ17167 $E = -41.81 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ18168 $E = -35.12 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ18169 $E = -35.81 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ19170 $E = -39.59 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ19171 $E = -45.83 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ19172 $E = -51.76 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ20173 $E = -45.26 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ20174 $E = -36.16 \text{ kJmol}^{-1}$ 

C-SIJ20175 E = -37.22 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20176 E = -36.91 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20177 E = -39.12 kJmol⁻¹ 
C-SIJ20178 E = -39.12 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20179 E = -37.61 kJmol⁻¹ 	C-SIJ21180 E = -45.03 kJmol⁻¹ 
C-SIJ21181 E = -38.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ22182 E = -39.43 kJmol⁻¹ 	C-SIJ23183 E = -38.58 kJmol⁻¹ 
C-SIJ24184 E = -35.70 kJmol⁻¹ 	C-SIJ25185 E = -35.58 kJmol⁻¹ 	C-SIJ26186 E = -38.48 kJmol⁻¹ 
C-SIJ27187 E = -39.20 kJmol⁻¹ 	C-SIJ28188 E = -35.99 kJmol⁻¹ 	C-SIJ29189 E = -37.53 kJmol⁻¹ 
C-SIJ30190 E = -37.16 kJmol⁻¹ 	C-SIJ31191 E = -40.77 kJmol⁻¹ 	C-SIJ32192 E = -41.81 kJmol⁻¹ 

C-SIJ33193 $E = -36.16 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ34194 $E = -37.32 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ35195 $E = -36.51 \text{ kJmol}^{-1}$ 
C-SIJ36196 $E = -37.44 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ37197 $E = -36.37 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ38198 $E = -39.86 \text{ kJmol}^{-1}$ 

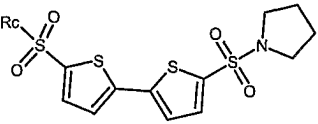
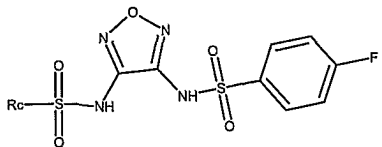
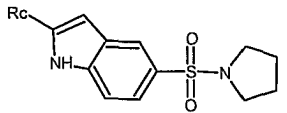
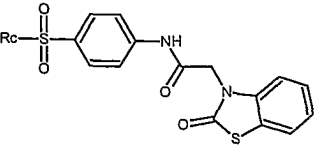
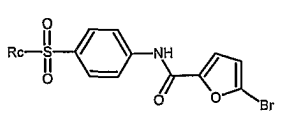
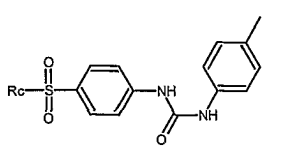
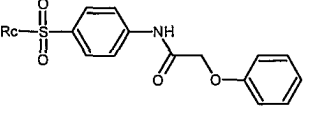
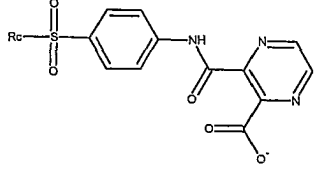
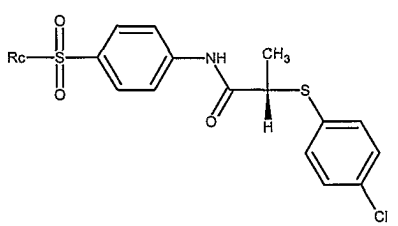
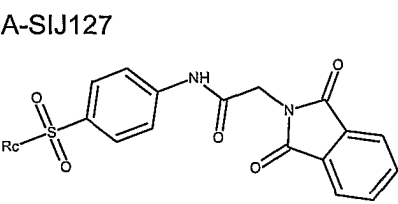
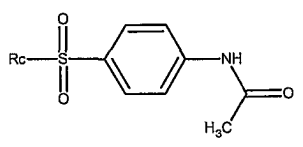
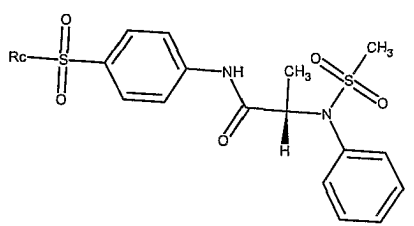
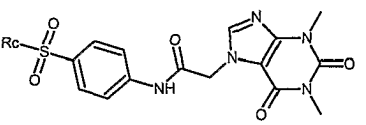
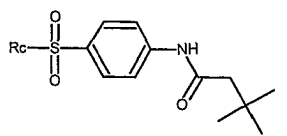
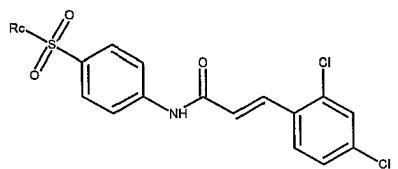
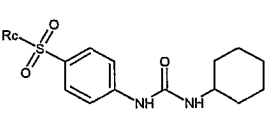
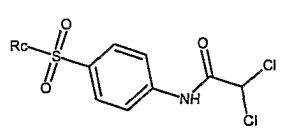
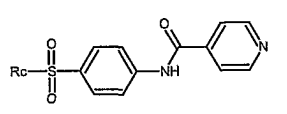
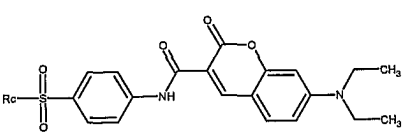
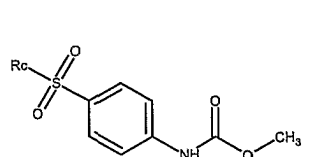
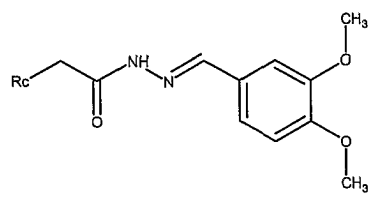
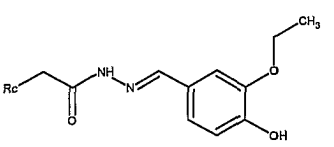
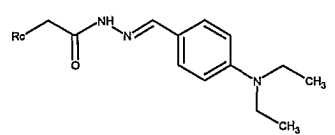
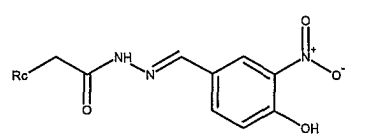
Ejemplo 3. Descripción de subestructuras anclas.

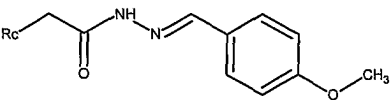
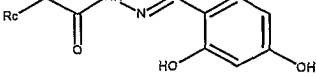
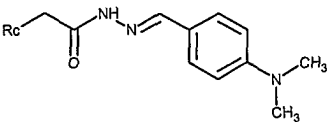
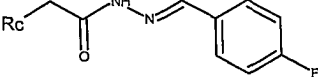
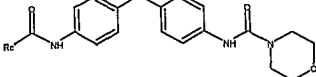
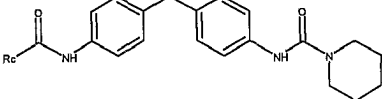
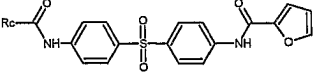
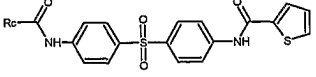
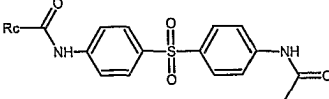
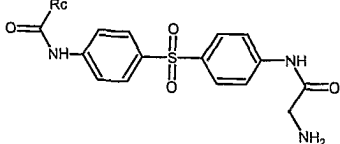
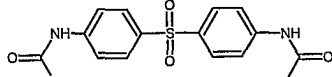
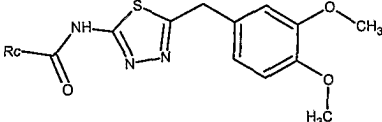
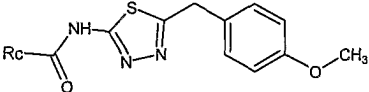
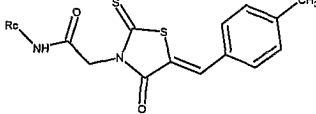
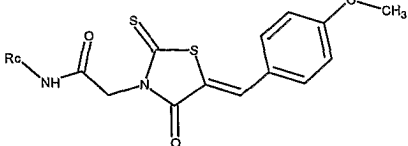
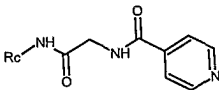
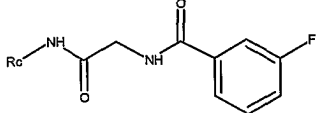
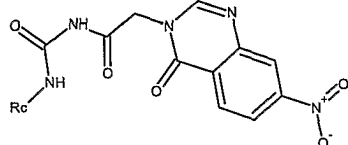
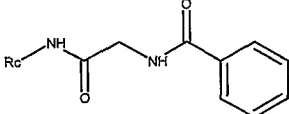
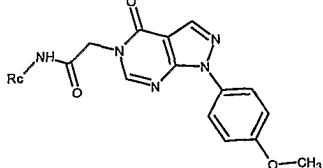
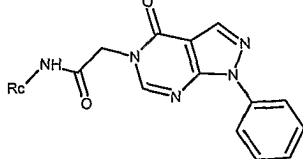
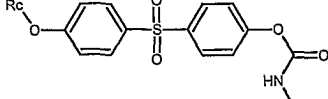
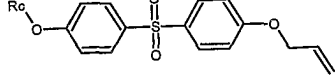
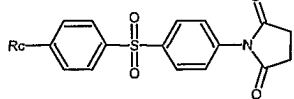
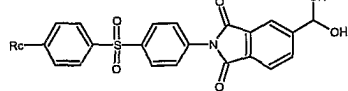
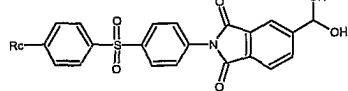
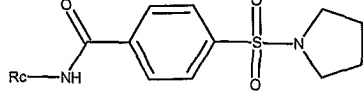
El análisis visual de las predicciones *in silico* del modo unión a la **hendidura asociada al lazo "ij"** de los compuestos químicos con mayores valores de energía de unión permitió detectar la presencia de subestructuras con interacciones potencialmente favorables con los **residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij"** que incluyen: Thr-70, Ser-72, Val-97, Asp-98, Arg-99, Asn-103, Ile-113, Thr-115, Ala-245, Lys-246, Lys-247, Gln-248 Asp-249 y Val-250. Dichas subestructuras son reconocidas como subestructuras **anclas** en la presente invención. Las subestructuras **anclas** permitieron la definición de un modelo farmacofórico 3D (Figura 5) de interacciones interatómicas favorables con los **residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij"**. La construcción del modelo farmacofórico 3D descrito en la presente invención se complementó con el programa 3DFS (Wang, T. y Zhou, J. (1998) 3DFS: A New 3D Flexible Searching System for Use in Drug Design. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 38: 71-77). Dicho modelo farmacofórico 3D fue utilizado para la identificación *in silico* de nuevas subestructuras **anclas**, que posteriormente fueron orientadas y evaluadas en el sitio de unión del receptor utilizando el programa Dock, de manera similar a como se describe en el Ejemplo 2. Las subestructuras **anclas** fueron agrupadas según similitud química y modo de unión en el **surco asociado al lazo "ij"**. Las subestructuras **anclas** descritas en la presente invención contienen al menos tres de los siguientes elementos: a)

un elemento donador de puente de hidrógeno (**D₁₋₄**), y/o b) un elemento aceptor y/o portador de carga negativa (**A₁₋**, **A₂₋**, **A₃**), y/o c) un elemento hidrofóbico (**H₁₋₃**), y/o d) un elemento aceptor y/o donador de puente de hidrogeno (**D/A**), y/o e) un elemento simultáneamente donor-aceptor de puente de hidrogeno (**D+A**), y

5 dichos elementos (a) – (e) son seleccionados entre los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D y se describen a continuación:

A-SIJ001 	A-SIJ002 	A-SIJ006
A-SIJ011 	A-SIJ015 	A-SIJ016
A-SIJ020 	A-SIJ021 	A-SIJ022
A-SIJ023 	A-SIJ028 	A-SIJ030
A-SIJ044 	A-SIJ052 	A-SIJ053
A-SIJ073 	A-SIJ078 	A-SIJ085
A-SIJ086 	A-SIJ111 	A-SIJ115

A-SIJ116 	A-SIJ117 	A-SIJ118 
A-SIJ121 	A-SIJ122 	A-SIJ123 
A-SIJ124 	A-SIJ125 	A-SIJ126 
A-SIJ127 	A-SIJ128 	A-SIJ130 
A-SIJ131 	A-SIJ132 	A-SIJ133 
A-SIJ134 	A-SIJ135 	A-SIJ136 
A-SIJ137 	A-SIJ138 	A-SIJ140 
A-SIJ141 	A-SIJ142 	A-SIJ144 

A-SIJ145 	A-SIJ146 	A-SIJ147 
A-SIJ149 	A-SIJ150 	A-SIJ151 
A-SIJ152 	A-SIJ153 	A-SIJ154 
A-SIJ155 	A-SIJ156 	A-SIJ157 
A-SIJ159 	A-SIJ160 	A-SIJ161 
A-SIJ162 	A-SIJ163 	A-SIJ164 
A-SIJ0165 	A-SIJ166 	A-SIJ167 
A-SIJ168 	A-SIJ169 	A-SIJ170 
A-SIJ171 	A-SIJ172 	A-SIJ173 

A-SIJ174 	A-SIJ179 	A-SIJ180
A-SIJ181 	A-SIJ182 	A-SIJ183
A-SIJ184 	A-SIJ185 	A-SIJ186
A-SIJ188 		

Ejemplo 4. Relación modelo farmacofórico-subestructura ancla.

Cada uno de los elementos del modelo farmacofórico descrito en la presente invención interactúa con al menos tres de los **residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij"**. Las subestructuras **anclas** descritas en la presente invención contienen al menos tres de los elementos presentes en el modelo farmacofórico. A continuación se describe el modo de unión de algunas subestructuras **anclas**.

10 Ancla A-SIJ023

La subestructura **ancla A-SIJ023** contiene los siguientes elementos del modelo farmacofórico: **D₁**, **A₁⁻**, **A₂⁻**, **D/A**, **H₃** y **H₂** tal como se muestra en la Figura 6 (a). El grupo NH que se corresponde con el elemento **D₁** comparte el átomo de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena lateral del residuo Asn-103. Los átomos de oxígeno del grupo sulfonil (más próximo a la

subestructura **cabeza** (Rc)) que se corresponden con el elemento **A₁⁻** establecen interacciones electrostáticas con el grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246. Los átomos de oxígeno del restante grupo sulfonil presente en la subestructura **ancla** se corresponden con el elemento **A₂⁻** y aceptan el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72. El grupo oxo que se corresponde con el elemento **D/A** interactúa con el grupo NH de la cadena principal del residuo Gln-248 mediante enlaces de hidrógeno. Dos grupos CH₂ del radical piperazinil se corresponden con el elemento **H₃** y establecen interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de los residuos Val-97 e Ile-113. El grupo CH₃ que se corresponde con el elemento **H₂** mantiene interacciones hidrofóbicas con porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente con carbonos Cβ y Cδ.

Ancla A-SIJ118

La subestructura **ancla A-SIJ118** contiene los siguientes elementos del modelo farmacofórico: **D₁**, **A₁⁻**, **A₂⁻**, **H₃** y **H₂** tal como se muestra en la Figura 6 (b). El grupo NH que se corresponde con el elemento **D₁** comparte el átomo de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98. El átomo de oxígeno que se corresponden con el elemento **A₁⁻** forma puente de hidrógeno e interacciones electrostáticas con el grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246. Los átomos de oxígeno del grupo sulfonil se corresponden con el elemento **A₂⁻** y establecen puentes de hidrógeno aceptando el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72. Los átomos de carbono del grupo pirrol que se corresponden con el elemento **H₃** establecen interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de los residuos Val-97 e Ile-113 y los que se corresponden con el elemento **H₂** mantiene interacciones hidrofóbicas con porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente con carbonos Cβ y Cδ.

Ancla A-SIJ121

La subestructura **ancla A-SIJ121** contiene los siguientes elementos del modelo farmacofórico: **D₂**, **A₁⁻**, **A₂⁻** y **H₂** tal como se muestra en la Figura 6 (c). El grupo NH que se corresponde con el elemento **D₂** comparte el átomo de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-

246. Los átomos de oxígeno del grupo sulfonil que se corresponden con el elemento A_1^- establecen interacciones electrostáticas y puente de hidrógeno con el grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246. El átomo de oxígeno y/o el átomo de azufre que se corresponden con el elemento A_2^- forman puente de hidrógeno con el grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72. Los átomos de carbono que se corresponden con el elemento H_2 establecen interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente con carbonos C β y C δ .

Ejemplo 5. Ensayos experimentales.

10 Inhibición de la infección viral en células Vero.

Con el objetivo de demostrar la capacidad de los compuestos químicos descritos en la presente invención de inhibir la infección viral por el virus Dengue *in vitro*, los mismos fueron evaluados en ensayos de inhibición de formación de placas en células Vero.

15 Las células Vero se crecieron en placas de 24 pozos hasta que la monocapa alcanzó aproximadamente 90% de confluencia y se realizaron dos lavados de la monocapa con medio MEM sin SFB. Preparaciones de DENV2 equivalente a una multiplicidad de infección de 0.1 fueron preincubadas en medio MEM con y sin la presencia de los compuestos químicos (100 μ M) por espacio de 1 hora a temperatura ambiente. Luego las mezclas virus/compuesto y virus/control fueron incubadas con las monocapas durante 1 hora a 37° C. Al concluir la incubación las células se lavaron nuevamente y se incubaron 5 días a 37° C en medio de alta densidad (MEM suplementado con aminoácidos no esenciales, 1% SFB, 1% carboximetilcelulosa), para propiciar la formación de las placas de lisis. Para la tinción se empleó Naphtol Blue Black 0.1% en acetato de sodio 0.15 Mol/L. En cada experimento se ensayaron dos réplicas por cada punto y se realizaron tres determinaciones independientes. El porcentaje de inhibición de la infección fue calculado de acuerdo a la expresión siguiente:

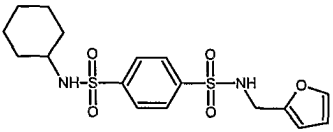
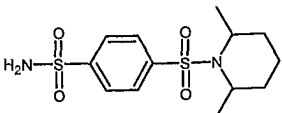
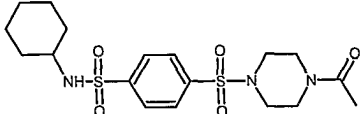
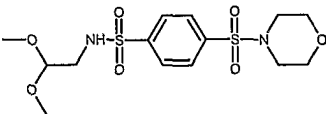
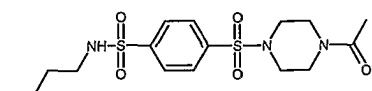
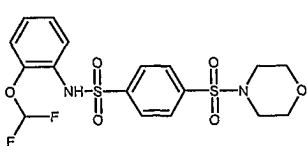
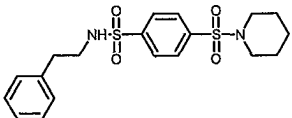
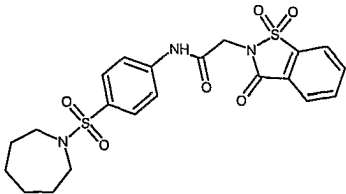
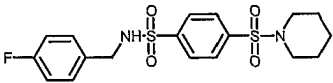
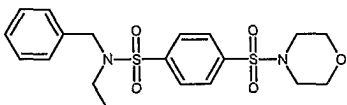
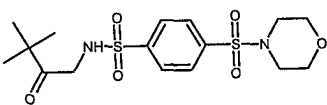
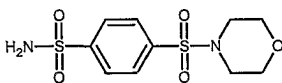
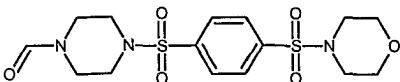
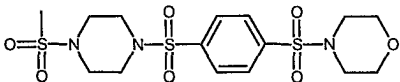
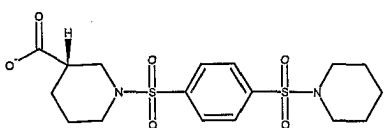
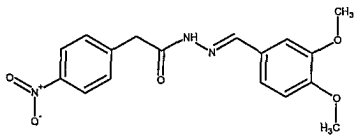
$$I = 100x \left[1 - \frac{No.placas}{No.Placas.virus.control.} \right]$$

30 Como se observa en la Tabla 3, compuestos descritos en la presente invención muestran actividad antiviral (I) contra el virus Dengue DEN2 a la concentración

ensayada. El efecto antiviral observado para el 80% de los compuestos es moderado ($30\% \leq I < 70\%$) o potente ($70\% \leq I \leq 100\%$). El conjunto de compuestos activos incluye compuestos que contienen diferentes subestructuras **anclas**, así como diferentes subestructuras **cabezas** para una misma subestructura **ancla**, indicando la factibilidad del diseño de antivirales descritos en la presente invención a partir de "núcleos" químicos diversos.

Tabla 3. Medición del efecto antiviral *in vitro* contra virus Dengue DEN2 de varios de los compuestos químicos descritos en la presente invención.

Compuesto (identificador)	Inhibición (%)	Compuesto (identificador)	Inhibición (%)
	-		-
C-SIJ01002	++	C-SIJ01034	+
	+		++
C-SIJ01003	+	C-SIJ01039	++
	++		++
C-SIJ01006	++	C-SIJ01042	++
	+		+
C-SIJ01008	+	C-SIJ01045	+
	++		++
C-SIJ01009	++	C-SIJ01047	++

C-SIJ01020 	++	C-SIJ01051 	+
C-SIJ01023 	++	C-SIJ01056 	++
C-SIJ01026 	+	C-SIJ01066 	++
C-SIJ01031 	++	C-SIJ04078 	++
C-SIJ01033 	+	C-SIJ06097 	++
C-SIJ01062 	++	C-SIJ06099 	+
C-SIJ06102 	+	C-SIJ06103 	++
C-SIJ06111 	++	C-SIJ12143 	++

++ indica $70\% \leq I \leq 100\%$ + indica $30\% \leq I < 70\%$ - indica $30\% < I \leq 0\%$

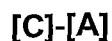
Para descartar que la actividad antiviral observada sea producto de alteraciones celulares y citotoxicidad inducida por los compuestos, monocapas de células vero fueron expuestas por 24 horas a soluciones de estos compuestos preparadas a una concentración de 500 uM y la viabilidad celular fue determinada por el
5 ensayo de MTT (ensayo de proliferación celular TACS™, R&D systems, Minneapilis, MN). No se observaron diferencias significativas de la viabilidad de las células tratadas con los compuestos y las células control no tratadas o tratadas con DMSO.

Especificidad de la actividad inhibitoria.

- 10 Con el objetivo de determinar si los compuestos inhiben específicamente la infección de las células por el virus de Dengue (y otros flavivirus relacionados), se testó el efecto inhibitorio de estos compuestos contra virus no relacionados como el virus vaccinia y el virus mengo. Ninguno de estos compuestos mostró efecto inhibitorio significativo contra estos virus.

REIVINDICACIONES

- 1- Uso de compuestos químicos para la preparación de una composición farmacéutica para atenuar o inhibir la infección por el virus Dengue, donde dichos compuestos contengan dos subestructuras funcionalmente distintivas de acuerdo a la fórmula siguiente:



Donde,

[A] es definida como **ancla** y corresponde a una subestructura química capaz de unirse al **surco asociado al lazo "ij"** de la proteína E definido en la presente invención, y dicha subestructura **ancla** adopta una conformación que comprende al menos tres de los siguientes elementos: a) un elemento donador de puente de hidrógeno (**D₁₋₄**), y/o b) un elemento aceptor de puente de hidrógeno y/o portador de carga negativa (**A₁⁻**, **A₂⁻**, **A₃**), y/o c) un elemento hidrofóbico (**H₁₋₃**), y/o d) un elemento aceptor y/o donador de puente de hidrogeno (**D/A**), y/o e) un elemento simultáneamente donor-aceptor de puente de hidrogeno (**D+A**), y dichos elementos (a) – (e) son seleccionados entre los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D siguiente: **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄**, **A₁⁻**, **A₂⁻**, **A₃**, **D/A**, **H₁**, **H₂**, **H₃** y **D+A**, donde:

Las distancias interatómicas entre los elementos **D₁**, **D₂**, **D₃**, **D₄**, **A₁⁻**, **A₂⁻**, **A₃**, **D/A**, **H₁**, **H₂**, **H₃** y **D+A** del modelo farmacofórico de la presente invención son las siguientes: $[D_1]-[D_2] = 2.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[D_3] = 4.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[D_4] = 17.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[A_1^-] = 3.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[A_2^-] = 7.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[A_3] = 10.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[D+A] = 10.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[D/A] = 12.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[H_1] = 5.1 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[H_2] = 9.3 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_1]-[H_3] = 7.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[D_3] = 3.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[D_4] = 15.5 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[A_1^-] = 5.8 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[A_2^-] = 6.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[A_3] = 8.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[D+A] = 11.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[D/A] = 8.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[H_1] = 5.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[H_2] = 8.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_2]-[H_3] = 5.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[D_4] = 14.8 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[A_1^-] = 7.1 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[A_2^-] = 3.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[A_3] = 7.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[D+A] = 10.5 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[D/A] = 6.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[H_1] = 4.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[H_2] = 6.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_3]-[H_3] = 3.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[A_1^-] = 17.3 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[A_2^-] = 16.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[A_3] = 9.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[D+A] = 5.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[D/A] = 13.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[H_1] = 13.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[H_2] = 9.7 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D_4]-[H_3] =$

$12.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[A_2^-] = 10.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[A_3] = 12.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[D+A] = 12.7 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[D/A] = 12.8 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[H_1] = 5.1 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[H_2] = 10.4 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_1^-]-[H_3] = 9.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[A_3] = 7.3 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[D+A] = 11.8 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[D/A] = 4.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[H_1] = 7.1 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[H_2] = 6.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_2^-]-[H_3] = 3.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_3]-[D+A] = 6.5 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_3]-[D/A] = 4.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_3]-[H_1] = 7.7 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_3]-[H_2] = 3.7 \pm 1 \text{ \AA}$, $[A_3]-[H_3] = 3.9 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D+A]-[D/A] = 10.0 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D+A]-[H_1] = 8.1 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D+A]-[H_2] = 5.3 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D+A]-[H_3] = 8.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D/A]-[H_1] = 8.6 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D/A]-[H_2] = 5.2 \pm 1 \text{ \AA}$, $[D/A]-[H_3] = 3.8 \pm 1 \text{ \AA}$, $[H_1]-[H_2] = 5.3 \pm 1 \text{ \AA}$, $[H_1]-[H_3] = 5.5 \pm 1 \text{ \AA}$, $[H_2]-[H_3] = 3.9 \pm 1 \text{ \AA}$;

D₁, D₂, D₃ y D₄ corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos donores de puentes de hidrógeno; **A₁⁻** y **A₂⁻** corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos caracterizados por ser aceptores de puente de hidrógeno y/o portadores de carga negativa; **D/A** corresponde a un átomo o grupo de átomos aceptores y/o donores de puentes de hidrógeno; **A₃** corresponde a un átomo o grupo de átomos aceptores de puente de hidrógeno; **H₁, H₂, H₃** se corresponde cada uno con un átomo o grupos de átomos no polares; **D+A** se corresponde con un átomo o grupos de átomos simultáneamente aceptores y donores de puentes de hidrógeno;

[C] definida como **cabeza** corresponde a una subestructura química unida covalentemente a la subestructura **ancla [A]** y dicha subestructura aporta o favorece la capacidad de las moléculas de la presente invención de inhibir la infección por virus Dengue afectando o modulando una o más de las interacciones intermoleculares que involucran a la proteína E.

2- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dichos elementos farmacofóricos **D₁, D₂, D₃ y D₄** de la subestructura **ancla [A]**, corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos donores de puentes de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -NH, -NH₂, -NH₃⁺, =NH y -SH; **D₁** establece enlace por puentes de hidrógeno con la proteína E donando: a) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carboxiamida de la cadena lateral del residuo Asn-103; **D₂** establece enlace por puentes de hidrógeno donando:

a) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Ala-245 y/o c) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246; **D₃** establece enlace por puentes de hidrógeno donando uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246; **D₄** establece enlace por puentes de hidrógeno donando: a) uno o más átomos de hidrógeno a uno o ambos átomos de oxígeno del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Val-250.

3- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dichos elementos farmacofóricos **A₁⁻** y **A₂⁻** de la subestructura **ancla [A]** corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos caracterizados por ser: a) aceptores de puente de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -C=O, -N=O, -S=O, -P=O y -O- y/o b) portadores de carga neta (y/o parcialmente) negativa, seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: átomos de oxígeno de los grupos oxo e hidroxilo presentes en -C(O)OH, -S(O)OH, RR'P(O)(OH), RR'OP(O)(OH), ROP(O)(OH)₂, RP(O)(OH)₂, (RO)₂P(O)(OH), RS(O)₂OH, ROS(O)₂OH, átomo de nitrógeno presente en la trifluorometilsulfonamida, átomos de nitrógeno no sustituidos presente en grupo tetrazol; **A₁⁻** interactúa con el residuo Lys-246 mediante: a) puente de hidrógeno con el grupo amonio de la cadena lateral y/o b) interacciones electrostáticas con el grupo amonio portador de carga positiva; **A₂⁻** se caracteriza por: a) aceptar el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y/o b) establecer interacciones electrostáticas con el grupo guanidinio portador de carga positiva del residuo Arg-99.

4- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho elemento farmacofórico **D/A** de la subestructura **ancla [A]** corresponde a: a) un átomo o grupo de átomos aceptores de puentes de

hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: $-C=O$, $-N=O$, $-S=O$, $-P=O$ y $-O-$ o b) un átomo o grupos de átomos donores de puentes de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: $-OH$, $-NH$, $-NH_2$, $-NH_3^+$, $=NH$ y $-SH$ o c) un átomo o grupos de átomos simultáneamente aceptores y donores de puentes de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: $-OH$, $-CONHR$, $-CONH_2$; **D/A** interactúa con la proteína E por medio de una de las siguientes maneras: a) **D/A** establece enlace por puentes de hidrógeno aceptando: a) el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y/o b) el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70; b) **D/A** establece enlace por puentes de hidrógeno donando uno o más átomos de hidrógeno al: a) átomo del oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y/o b) átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70; c) **D/A** establece enlaces por puentes de hidrógeno: a) aceptando el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y b) donando uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70; d) **D/A** establece enlaces por puentes de hidrógeno: a) donando uno o más átomos de hidrógeno al átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y b) aceptando el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70.

5- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho elemento farmacofórico **A₃** de la subestructura **ancla [A]** corresponde a un átomo o grupo de átomos aceptores de puente de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: $-C=O$, $-N=O$, $-S=O$, $-P=O$ y $-O-$; **A₃** establece enlace por puente de hidrógeno con la proteína E aceptando: a) un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-115 y/o b) un átomo de hidrógeno del grupo amino de la cadena principal del residuo Gln-248.

6- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dichos elementos farmacofóricos **H₁**, **H₂**, **H₃** de la subestructura **ancla [A]** se corresponde cada uno con un átomo o grupos de átomos no polares

seleccionados independientemente de cualquiera de los radicales siguientes: a) radical alquilo o heteroalquilo C₁-C₁₅ con no más de siete heteroátomos de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; b) radical cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituidos o sustituido; c) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituido o sustituido; d) radical ariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; e) radical heteroariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos, opcionalmente no sustituido o sustituido; f) radical alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo de 3-7 miembros, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; g) radical heteroalquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos opcionalmente no sustituido o sustituido; h) radical arilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unido a uno o más radicales cicloalquilo de 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical heteroarilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico H₁ y

dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos **D₁** y/o **D₂** y/o **D₃** y/o **A₁⁺**; k) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico **H₂** y dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos **A₃** y/o **D/A** y/o **D+A**; l) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho radical contiene el elemento del modelo farmacofórico **H₃** y dichos sustituyentes y/o heteroátomos constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos **D₃** y/o **A₂** y/o **A₃** y/o **D/A**; **H₁** establece interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio de: a) el residuo Lys-246 o b) los residuos Lys-246 y Lys-247; **H₂** establece interacciones hidrofóbicas con: a) la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-247 o b) con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-247 y el grupo metilo de la cadena lateral del residuo Thr-70; **H₃** establece interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de los residuos Val-97 y Ile-113.

7- Uso de compuestos químicos de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho elemento farmacofórico **D+A** de la subestructura **ancla [A]** se corresponde con un átomo o grupos de átomos simultáneamente aceptores y donores de puentes de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -CONHR, -CONH₂; **D+A** establece puentes de hidrógeno con la proteína E al: a) aceptar uno o más átomos de hidrógeno del grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-247 y/o b) compartir uno o más átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249.

8- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 1, donde dichas distancias interatómicas están comprendidas en el rango de $\pm 2\text{\AA}$.

9- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 1 donde **[C]** corresponde a un átomo de hidrógeno.

10- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 1 donde **[C]** corresponde a cualquiera de las siguientes subestructuras químicas: a) radical alquilo o heteroalquilo C₁-C₁₀ con no más de tres heteroátomos

opcionalmente no sustituido o sustituido; b) radical cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto de uno, dos o tres anillos, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; c) radical arilo o heteroarilo compuesto de uno, dos o tres anillos, cada uno formado de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituido o no sustituido; d) radical ariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; e) radical heteroariloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 o heteroalquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos, opcionalmente no sustituido o sustituido; f) radical alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada opcionalmente no sustituido o sustituido; g) radical heteroalquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponde a grupos alquilo C_1-C_5 o heteroalquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada con no más de 3 heteroátomos opcionalmente no sustituido o sustituido; h) radical arilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unido a uno o más radicales cicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical heteroarilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente no sustituidos o sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho sustituyentes comprenden uno o más grupos portadores de carga positiva; k) radical seleccionado entre los radicales (a) – (i), donde dicho sustituyentes comprenden uno o más grupos portadores de carga negativa.

- 11- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha subestructura **[C]** contiene sustituyentes portadores de carga positiva y dichos sustituyentes son seleccionados entre los grupos siguientes: RNH_2 , RNHR' , $\text{RNR}'\text{R}''$, $\text{RC}(\text{NRR}')=\text{NR}''$, $\text{C}(\text{NR}'\text{R}'')_2=\text{NR}'''$; $\text{RNHC}(\text{NR}'\text{R}'')=\text{NR}'''$; $\text{C}(\text{RNH})_2=\text{NR}'$; $\text{RC}(\text{R}'\text{NH})=\text{NR}''$.
- 12- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 1 donde dicha subestructura **[C]** contiene sustituyentes portadores de carga negativa y dichos sustituyentes son seleccionados entre los grupos siguientes: $\text{C}(\text{O})\text{OH}$; $\text{S}(\text{O})\text{OH}$; $\text{RR}'\text{P}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{RR}'\text{OP}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{ROP}(\text{O})(\text{OH})_2$; $\text{RP}(\text{O})(\text{OH})_2$; $(\text{RO})_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})$; $\text{RS}(\text{O})_2\text{OH}$; $\text{ROS}(\text{O})_2\text{OH}$; grupo tetrazol.
- 13- Uso de compuestos químicos de acuerdo a las reivindicaciones 1-12 para atenuar e inhibir la infección por un virus del género *Flavivirus*, y dicho virus se refiere a uno de los virus siguientes: Dengue tipo 1, Dengue tipo 2, Dengue tipo 3, Dengue tipo 4, virus del Nilo Occidental, Virus de encefalitis de St Louis, virus de la encefalitis japonesa, virus de la fiebre amarilla, virus kunjin, virus de la enfermedad de la selva Kyasanur, virus de Encephalitis Transmitida por Garrapata, virus del Valle Murray, virus LANGAT, virus de la enfermedad Louping y virus Powassan.
- 14- Uso de compuestos químicos de acuerdo a las reivindicaciones 1-12, donde la subestructura **cabeza [C]** interactúe con al menos uno de los residuos siguientes: a) residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108, b) residuos correspondientes al monómero vecino presente en la estructura dimérica de los viriones maduros: Arg-2, Gly-5, Ile-6, Ser-7, Asn-8, His-27, Gly-28, Glu-44 y Asp-154, c) residuo His-244 presente en el lazo "ij", d) residuos Ala-245 y Asp-98 pertenecientes a la **cavidad asociada al lazo "ij"**.
- 15- Uso de compuestos químicos de acuerdo a las reivindicaciones 1-12, donde la subestructura **ancla [A]** corresponde a uno de los siguientes radicales: A-SIJ001, A-SIJ002, A-SIJ006, A-SIJ011, A-SIJ015, A-SIJ016, A-SIJ020, A-SIJ021, A-SIJ022, A-SIJ023, A-SIJ028, A-SIJ030, A-SIJ044, A-SIJ052, A-SIJ053, A-SIJ072, A-SIJ078, A-SIJ085, A-SIJ086, A-SIJ111, A-

SIJ115, A-SIJ118, A-SIJ116, A-SIJ117, A-SIJ121, A-SIJ122, A-SIJ123, A-SIJ124, A-SIJ125, A-SIJ126, A-SIJ127, A-SIJ128, A-SIJ130, A-SIJ131, A-SIJ132, A-SIJ133, A-SIJ134, A-SIJ135, A-SIJ136, A-SIJ137, A-SIJ138, A-SIJ140, A-SIJ141, A-SIJ142, A-SIJ144, A-SIJ145, A-SIJ146, A-SIJ147, A-SIJ149, A-SIJ150, A-SIJ151, A-SIJ152, A-SIJ153, A-SIJ154, A-SIJ155, A-SIJ156, A-SIJ157, A-SIJ158, A-SIJ160, A-SIJ161, A-SIJ162, A-SIJ163, A-SIJ164, A-SIJ165, A-SIJ166, A-SIJ167, A-SIJ168, A-SIJ169, A-SIJ170, A-SIJ171, A-SIJ172, A-SIJ173, A-SIJ174, A-SIJ179, A-SIJ180, A-SIJ181, A-SIJ182, A-SIJ183, A-SIJ184, A-SIJ185, A-SIJ186 y A-SIJ188.

16- Uso de compuestos químicos de acuerdo a las reivindicaciones 1-12, donde dichos compuestos químicos se corresponden con cualquiera de los siguientes: C-SIJ01001 hasta C-SIJ01070, C-SIJ02071, C-SIJ03072 hasta C-SIJ03076, C-SIJ04077 hasta C-SIJ04084, C-SIJ05085, C-SIJ-06086 hasta C-SIJ06114, C-SIJ07115, C-SIJ08116, C-SIJ09117, C-SIJ10118 hasta C-SIJ10120, C-SIJ11121 hasta C-SIJ11139, C-SIJ012140 hasta C-SIJ12149, C-SIJ013150 hasta C-SIJ013156, C-SIJ14157 hasta C-SIJ14159, C-SIJ15160 hasta C-SIJ15165, C-SIJ17166 hasta C-SIJ17167, C-SIJ18168 hasta C-SIJ18169, C-SIJ19170 hasta C-SIJ19172, C-SIJ20173 hasta C-SIJ20179, C-SIJ21180 hasta C-SIJ21181, C-SIJ22182, C-SIJ23183, C-SIJ24184, C-SIJ25185, C-SIJ26186, C-SIJ27187, C-SIJ28188, C-SIJ29189, C-SIJ30190, C-SIJ31191, C-SIJ32192, C-SIJ33193, C-SIJ34194, C-SIJ-35195, C-SIJ36196, C-SIJ37197 y C-SIJ38198.

17- Uso de compuestos químicos de acuerdo con la reivindicación 16 donde se utilizen tautómeros, isómeros geométricos, formas ópticamente activas como enantiómeros, diastereoisómeros, formas racémicas así como las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos químicos descritos en la presente invención.

18- Uso de compuestos químicos para la para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención y/o tratamiento de las infecciones provocadas por virus Dengue y otros *flavivirus* de compuestos químicos de acuerdo a las reivindicaciones 1-12, 15 y 16.

19- Método para diseñar compuestos químicos que atenúen o inhiban infección del virus Dengue, utilizando el modelo farmacofórico descrito en la reivindicación 1.

5 20- Método para identificar y/o diseñar compuestos químicos según la reivindicación 19, para la preparación de una composición farmacéutica que inhiba o atenúe la infección por virus Dengue, donde dichos compuestos interfieran o modulen una o varias de las siguientes etapas del ciclo de replicación viral: a) interacciones que involucran la formación del heterodímero preM-E; y/o b) interacciones entre heterodímeros preM-E
10 necesarias para el ensamblaje-brote de los viriones inmaduros; y/o c) maduración de los viriones producto del cambio de estructura cuaternaria de heterodímeros preM-E a homodímeros de proteína E; y/o d) asociación y/o disociación de los dímeros de proteína E característicos de los viriones maduros; y/o e) anclaje de la proteína E a la membrana endosomal de la
15 célula infectada que inicia el proceso de fusión de membranas.