

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 506**

51 Int. Cl.:

A61K 31/428	(2006.01) A61K 31/433	(2006.01)
A61K 31/495	(2006.01) A61K 31/40	(2006.01)
A61K 31/00	(2006.01) A61K 31/4192	(2006.01)
A61K 31/496	(2006.01) A61K 31/34	(2006.01)
A61K 31/4453	(2006.01) A61K 31/505	(2006.01)
A61K 31/5375	(2006.01) A61K 31/55	(2006.01)
A61K 31/5377	(2006.01) A61P 31/14	(2006.01)
A61K 31/425	(2006.01)	
A61K 31/381	(2006.01)	
A61K 31/404	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2009** **PCT/CU2009/000002**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.09.2009** **WO09106019**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2009** **E 09714439 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017** **EP 2258356**

54 Título: **Compuestos químicos que tienen actividad antiviral contra el virus dengue y otros flavivirus**

30 Prioridad:

29.02.2008 CU 20080028

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

21.12.2017

73 Titular/es:

**CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y
BIOTECNOLOGÍA (100.0%)
Avenida 31 entre 158 y 190 Cubanacán Playa
Ciudad de La Habana 10600, CU**

72 Inventor/es:

**MAZOLA REYES, YULIET;
CHINEA SANTIAGO, GLAY;
GUIROLA CRUZ, OSMANY;
VERA ALVAREZ, ROBERTO;
HUERTA GALINDO, VIVIAN;
FLEITAS SALAZAR, NORALVIS y
MUSACCHIO LASA, ALEXIS**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 647 506 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos químicos que tienen actividad antiviral contra el virus dengue y otros flavivirus.

5 Campo de aplicación

La invención se relaciona 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 del virus Dengue relacionados con la entrada del virus a las células huésped 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 Dengue y por otros *flavivirus*.

Estado de la técnica

15 El género *flavivirus* comprende alrededor de 70 virus que incluyen 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 las vacunas aprobadas para el uso en seres humanos se dirigen sólo contra tres virus de este género.

Entre los flavivirus, el virus Dengue es uno de los problemas de salud más importantes 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 el mosquito *Aedes aegypti*. El paciente infectado con virus Dengue puede ser asintomático o sintomático, con síntomas clínicos tales como fiebre indiferenciada (FI), fiebre del dengue (FD) y dos más graves y ocasionalmente fatales, conocidos como fiebre hemorrágica por 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).

30 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 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 por dengue pero por lo general es poco eficaz (Rico-Hesse, R. (2003) *Microevolution and virulence of dengue viruses. Adv. Virus Res.* 59:315-341).

Los impedimentos más importantes para el desarrollo de vacunas contra el dengue son la falta de una comprensión más completa sobre 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 la reinfección con los tres serotipos restantes (SABIN, AB. (1952) *Research on dengue during World War II. Am J Trop. Med Hyg.* 1:30-50); peor aún las infecciones heterólogas secundarias o terciarias se han asociado a FHD/SCD (Halstead, S.B., Nimmannitya, S., y Cohén, S.N. (1970) *Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease 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, BJ., Erbe, D.V., Kurane, L., Fanger, M.W., y Ennis, F.A. (1991) *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 una respuesta protectora de anticuerpos neutralizantes simultáneamente contra los cuatro serotipos del virus Dengue.

Las vacunas tetravalentes de virus dengue vivo atenuado son 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). Estos se han desarrollado mediante la combinación de los cuatro serotipos del virus Dengue atenuado en una formulación tetravalente; los virus se obtuvieron 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 mediante la 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 mediante la inserción de genes que codifican proteínas estructurales (proteína de envoltura y proteína de premembrana) en cepas de virus Dengue atenuadas o en la cepa vacunal 17D del virus de la fiebre amarilla (Guirakhoo, F., Pugachev, K., Arroyo, J., Miller, C., Zhang, Z.X., Weltzin, R., Georgakopoulos, K., Catalán, 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., Pojaroen-Anant, C., Chambonneau, L., Saluzzo, J.F., y Bhamarapavati, 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., Pojaroen-Anant, C., Chokeyindachai, W., Jagsudee, A., Saluzzo, J.F., y Bhamarapavati, 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., Gisson, 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 de dos candidatos tetravalentes quiméricos (ChimericVaxDEN-2 y rDEN4Δ30) (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 se han desarrollado mediante el uso de estrategias diferentes, tales como 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 inmunológica 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., López, C., Sierra, B.L., Martínez, R., Rodríguez, R., Zulueta, A., Pérez, 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 vivo atenuado son 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 una formulación tetravalente tiene varias desventajas tales como, lograr el nivel apropiado de atenuación de cada serotipo para garantizar el mínimo de reactogenicidad y el máximo de inmunogenicidad (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); evitar la interferencia entre los diferentes serotipos de virus Dengue 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); garantizar niveles de protección similares contra todos los serotipos y confirmar que la vacuna es segura e inmunogénica en individuos infectados previamente con otros *flavivirus*. Estudios recientes demuestran que la inmunización con el candidato vacunal monovalente quimérico ChimericVax DEN-2 en individuos con inmunidad al virus de la fiebre amarilla no causa interferencia *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*. Existen otras limitaciones en el desarrollo de vacunas de virus vivo atenuado, ya que no puede descartarse la posibilidad de que ocurra recombinación entre la cepa vacunal y el virus salvaje lo que da lugar a un nuevo virus con propiedades no deseadas o que causa la reversión al fenotipo virulento. Por otro lado, generalmente estas vacunas están contraindicadas para individuos inmunodeprimidos y para los infectados con el 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 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 eficaz a corto plazo. Los inhibidores se diseñan para bloquear procesos claves del ciclo de replicación viral tales como la entrada del virus a la célula huésped (Talarico, L.B., Pujol, C.A., Zibetti, R.G., Faría, 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 inhibidores se han identificado mediante el uso de varios 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*. *Virol.J*. 2: 49-59), pesquizado 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 contra 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 génica de 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), inmunidad pasiva (Gonzalez, 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 usadas como blancos se encuentran la proteína estructural tal como la glicoproteína de la envoltura y unas no estructurales con actividad proteasa/helicasa y actividad polimerasa/metiltransferasa conocidas como NS3 y NS5 respectivamente.

El bloqueo de la entrada del virus a la célula resulta una estrategia muy atractiva para el diseño antiviral porque impide la aparición de la infección. En el caso del virus Dengue, el objetivo para atacar es la proteína de la envoltura (proteína E). Esta proteína es el principal determinante antigénico del virus Dengue y es responsable de los eventos esenciales requeridos durante la entrada del virus a la célula huésped, que incluyen el reconocimiento de 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 Virol*. 75:7769-7773) y la fusión entre las membranas virales y del huésped (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).

La proteína E pertenece a las proteínas de fusión de clase II y consiste en tres dominios I, II y III. El dominio I comprende la región amino terminal (residuos 1-51, 133-192 y 281-295 en el 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) se compone de dos elongaciones que emanan del dominio I. Cada elongación contiene un lazo en la punta, un lazo es el péptido de fusión (llamado lazo "cd" residuos 100-108) y el otro lazo corresponde al lazo "ij" (residuos 243-248). Otra región interesante que pertenece al dominio II es la "bisagra" y se localiza en la interfase dominio I-II. El dominio III (residuos 296-395) tiene un plegamiento típico similar a las inmunoglobulinas y contiene sitios de unión para receptores celulares. La región "tallo" (residuos 396-447) conecta el dominio III al dominio transmembrana.

La proteína E se asocia con la proteína de membrana precursora (proteína preM) formando heterodímeros en el virión inmaduro (forma intracelular del virus antes de la exocitosis) (Zhang, Y., Corver, J., Chipman, P.R., Zhang, W., Pletnev, S.V., 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 de Golgi (TGN) (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 de preM-E y promueve la formación de los dímeros de proteína E en el virión maduro infeccioso. Después, los viriones maduros se liberan al medio extracelular. Después que los virus entran a la célula huésped mediante endocitosis mediada por receptores, se exponen a un pH bajo en el endosoma lo que promueve reversiblemente la disociación de los dímeros de proteína E en trímeros irreversiblemente (Allison, S.L., Schlich, J., Stiasny, K., 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 se relaciona estrechamente con el proceso de fusión.

El desarrollo de inhibidores del virus Dengue para bloquear la entrada del virus a la célula huésped puede basarse en al menos una de las siguientes estrategias: interferencia de la interacción entre la proteína E y los receptores celulares o inhibición del proceso de fusión entre la membrana viral y la membrana endosomal huésped.

- 5 La primera estrategia para el diseño antiviral se ha explotado muy poco debido a la falta de conocimiento acerca del mecanismo de unión del virus Dengue a la célula. Aunque en los últimos años se han propuesto 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 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., Bix, 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*. 32:1069-1077). Una de estas moléculas es el heparán 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 condujo a la identificación de compuestos similares que interfieren *in vitro* en el evento de reconocimiento del receptor de células huésped (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 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*. *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, su uso *in vivo* como antivirales está restringido principalmente debido a su actividad anticoagulante y también a su baja biodisponibilidad debido a su unión a proteínas 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 debido a la determinación de las estructuras cristalógicas de la 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) y después de ocurrir la fusión de membranas (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 disponible de otros flavivirus también ha contribuido positivamente 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., Lesear, 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).

Modis y otros, determinaron la estructura de un fragmento soluble (residuos 1-394) del dímero de la proteína E del virus Dengue DEN2 en presencia y ausencia del detergente n-octil- β -D-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 las dos estructuras es una redistribución local de la horquilla-beta "kl" (residuos 268-280) lo cual hace accesible un bolsillo hidrofóbico que acomoda una molécula de BOG. La horquilla-beta "kl" se identificó como un elemento estructural clave para la iniciación de los cambios conformacionales que conducen a la formación de los trímeros de postfusión a pH ácido.

Los cambios estructurales detectados en la proteína E de prefusión confirmaron las observaciones previas realizadas por Rey y otros, (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 tiene características similares a una bisagra y un movimiento bisagra sobre esta región elevaría la punta del dominio II por encima de la membrana viral y realzarían el péptido de fusión en prominencia. Su hipótesis se basó en el análisis de la estructura cristalográfica de un fragmento soluble de la proteína E del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y la existencia de mutaciones en la interfase dominio I-II que afectan la virulencia y el umbral del pH de fusión en varios *flavivirus*. La estructura del dímero de la proteína E en el complejo con BOG revela que estas mutaciones corresponden en su mayoría a residuos cuyas cadenas laterales cubren 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 otros, proponen la horquilla-beta "kl", la horquilla-beta "kl" asociada al bolsillo hidrofóbico que comprende los residuos de la interfase dominio I-II (residuos 47-54, 128-137 y 187-207) y el núcleo hidrofóbico situado debajo de la horquilla-beta "kl" como regiones blancas para el desarrollo de candidatos terapéuticos contra una enfermedad causada por el virus Dengue y otros virus que tienen una proteína de clase II (*solicitud de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

El sitio ocupado por la molécula de BOG en la interfase dominio I-II se usó recientemente como un objetivo para diseñar inhibidores del proceso de fusión de membrana mediante el uso del pesquizado 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). Como resultado, se identificaron dos compuestos derivados de la tetraciclina con efecto inhibitorio sobre la propagación del virus Dengue (valores de IC₅₀ igual a 67,1 µM y 55,6 µM, respectivamente).

China y otros, describieron otra zona de los dímeros de la proteína E que pudiera usarse para inhibir la infección causada por *flavivirus* (*solicitud de patente: Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, WO/2007/059715, 2005*). China y otros, identificaron un epítipo topográfico expuesto en la superficie de la proteína E y en la superficie de los viriones maduros, que se conserva altamente entre todos los serotipos de virus Dengue de acuerdo con un análisis *in silico* de la conservación de secuencia de la proteína E. El epítipo está compuesto por 25 residuos y se localiza en el extremo del dominio II. China y otros, diseñaron moléculas neutralizantes utilizando fragmentos variables de anticuerpos que reconocen el epítipo conservado. Las moléculas neutralizantes desarrolladas son capaces de unir simultáneamente de dos a tres copias de dicho epítipo en la superficie del virión maduro. Dichas moléculas muestran una mayor avidéz y una capacidad neutralizante varios órdenes de magnitud en comparación con las de los anticuerpos neutralizantes que reconocen el epítipo conservado y además, logran neutralizar los cuatro serotipos del virus Dengue y otros *flavivirus*.

Resulta interesante que la actividad antiviral de estas moléculas no depende de la bivalencia sino de la unión de estas moléculas al epítipo conservado lo cual interfiere con la función biológica de la proteína E. Por lo tanto, el epítipo localizado en el extremo del dominio II puede usarse para el diseño de moléculas pequeñas de inhibidores del proceso de fusión.

La resolución del ectodominio soluble de la proteína E en su estado trimérico, de postfusión por Modis y otros, revela notables diferencias de la forma dimérica, de prefusión (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). Los monómeros en la proteína E dimérica se disponen horizontalmente y antiparalelos mientras que en el trímero se orientan verticalmente, y cada subunidad se sitúa paralela a su vecina.

En la proteína E trimérica, el ectodominio completo de la proteína E se dobla en sí mismo, lo que dirige la región C-terminal hacia el lazo de fusión debido a las disposiciones en las orientaciones relativas de los dominios I y II.

Se confirmó que durante la formación del trímero ocurren cambios conformacionales en la interfase dominio I-II que permiten la rotación del dominio II (alrededor de 30°) respecto al dominio I. Esto 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 la proteína E dimérica que forma el complejo con el ligando BOG.

El dominio III experimenta el desplazamiento más significativo durante la transición de dímero a trímero. El mismo rota alrededor de 70° y se sitúa (residuo 395) 39Å más cerca del péptido de fusión.

Los péptidos de fusión de las tres subunidades se exponen completamente en la superficie molecular y se juntan para formar un ancla aromática de inserción en membrana en la punta del trímero de la proteína E. Este ancla aromática se forma por tres residuos hidrofóbicos (Trp-101, Leu-107 y Phe-108) conservados entre todos los *flavivirus*.

Modis y otros, proponen que el lazo de fusión penetra alrededor de 6Å en la capa de hidrocarburos de la membrana objetivo y su inserción pudiera imponer deformaciones en la membrana de las células objetivo.

El péptido de fusión parece mantener fundamentalmente la misma conformación, ya sea cuando se aloja en otra subunidad, se inserta en una membrana lipídica, o se expone al solvente acuoso durante la disociación reversible de los dímeros de proteína E (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 áreas de contacto entre los monómeros en el trímero de proteína E incluyen residuos del dominio II, residuos en la interfase de empaque entre dominio I-III y los residuos situados en la región tallo que interactúa con los residuos del dominio II vecino. Modis y otros, proponen que la región tallo pudiera ocluir un canal originado en la interfase del trímero, que se extiende desde la parte superior del dominio II hasta la base del dominio II.

Estos autores proponen nuevas regiones que pueden constituir sitios de interés farmacológico en la proteína E a partir del análisis de la estructura de postfusión (*Solicitud de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

Estas regiones objetivo de fármacos incluyen el péptido de fusión, la región tallo o una porción de esta, por ejemplo, los residuos 396-429 y residuos 413-447; las regiones en el trímero implicadas en la unión de los residuos 396-429 de la región tallo; los residuos del dominio II en la interfase del trímero que forman el canal donde se unen los residuos 396-429 de la región tallo; el conector dominio I-dominio III (residuos 294-301); residuos que forman la interfase dominio I-III (residuos 38-40, 143-147, 294-296 y 354-365), residuos del dominio II implicados en la trimerización y en general, todos los residuos implicados en el cambio conformacional de la región tallo que conducen a la formación de las conformaciones postfusión (*Solicitud 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 región tallo los que parecen interferir en las interacciones entre la región tallo y la región comprendida por los residuos 1-395 en la conformación trimérica de la proteína E. 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 otros, proponen además un posible mecanismo del proceso de fusión y diferentes estrategias para inhibir este proceso en varias etapas que incluyen el diseño de compuestos pequeños que impidan (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 horquilla "kl"; (c) el movimiento de los residuos en la interfase dominio I-III; (d) la terminación de los cambios conformacionales postfusión mediante la interacción con los residuos del dominio II en la interfase del trímero formada por el dominio II de cada subunidad en el trímero postfusión (*Solicitud de patente: Children's Medical Center Corporation Modis Y, Harrison S, Arnold B, WO/2005/002501, 2003*).

Descripción de la invención

Definiciones

El término "*flavivirus*" se refiere a cualquiera de los virus siguientes: virus Dengue serotipo 1 (DEN1), virus Dengue serotipo 2 (DEN2), virus Dengue serotipo 3 (DEN3), virus Dengue serotipo 4 (DEN4), virus del Nilo Occidental (VNO), Virus de la 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 garrapatas (VETG), virus del Valle Murray, virus LANGAT, virus de la enfermedad de Louping y virus Powassan y virus Omsk de la fiebre hemorrágica, que incluyen de manera general, todos los virus con una identidad de genoma viral completo 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 de un sujeto con un *flavivirus*. El término "*modular*" cuando se usa como referencia a una función biológica se refiere a la capacidad de un determinado compuesto químico y/o condición experimental para regular (activar/estimular o inhibir/suprimir) un proceso o actividad biológica determinada. El término "afectar" cuando se usa como referencia a una función biológica se refiere a la acción de provocar una alteración o modificación con influencia negativa sobre una función biológica determinada.

El término "proteína E del virus Dengue" se refiere a la glicoproteína de envoltura derivada de cualquiera de los cuatro serotipos del virus Dengue. El término "proteína E dimerica de prefusión" se refiere a la conformación adoptada por la glicoproteína de envoltura en la superficie de los viriones de Dengue maduros (u otros *flavovirus*) antes de ocurrir la fusión viral. El término "proteína E trimérica de postfusión" se refiere a la conformación adoptada por la glicoproteína de envoltura en la superficie de los viriones Dengue maduros (u otros *flavivirus*) después de ocurrir la fusión viral.

El término "dominio" cuando se usa como referencia a un polipéptido se refiere a una región específica dentro de dicho polipéptido que comprende una estructura particular o media una función particular. El término "dominio II" se refiere al motivo estructural que comprende los residuos 52-132 y 193-280 en la proteína E del virus Dengue serotipo 2 (cepa S1) y aquellos residuos equivalentes a los mencionados previamente que pertenecen a las glicoproteínas de envoltura de otros *flavivirus*. El término "subestructura" se refiere a una porción o fragmento de un compuesto químico.

El término "horquilla-beta ij" se refiere al motivo estructural comprendido por los residuos ²³⁷LVTFKNPHAKKQDVV²⁵² en el dominio II de la proteína E del virus Dengue serotipo 2 (cepa S1) y aquellos residuos equivalentes a los mencionados anteriormente que pertenecen a las glicoproteínas de envoltura de otros *flavivirus*. El término "lazo ij" se refiere al motivo estructural comprendido por los residuos ²⁴²NPHAKKQ²⁴⁸ en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y aquellos residuos equivalentes a los mencionados anteriormente

- que pertenecen a las glicoproteínas de envoltura de 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 región de la proteína de envoltura comprendida por los residuos ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG¹⁰⁰, ¹⁰³NGC¹⁰⁵, ¹¹¹GGIVT¹¹⁵, ²⁴⁵AKKQDV²⁵⁰ en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y aquellos residuos equivalentes a los mencionados anteriormente que pertenecen a la glicoproteína de envoltura de otros *flavivirus*. El término "péptido de fusión" se refiere al motivo estructural comprendido por los residuos ¹⁰⁰GWGNGCGLF¹⁰⁸ en el dominio II de la proteína E del virus Dengue DEN2 (cepa S1) y los residuos equivalentes a los mencionados anteriormente que pertenecen a la glicoproteína de envoltura de otros *flavivirus*.
- El término "unión o anclaje" se refiere a la asociación entre dos moléculas debido a interacciones electrostáticas y/o interacciones hidrofóbicas y/o interacciones iónicas y/o puentes de hidrógeno bajo condiciones fisiológicas o simuladas *in silico*. El término "sitio de unión" se refiere a una zona en una proteína donde puede acomodarse un determinado compuesto o ligando. Esta zona podría describirse y caracterizarse de diferentes maneras, por ejemplo, por algunos o todos los aminoácidos que la conforman, considerando todos los átomos de cada residuo aminoácido, o solo los átomos que forman el esqueleto carbonado, o solo los átomos de las cadenas laterales de los residuos que incluyen o no los carbonos alfa.
- El término "compuesto químico o ligando" se refiere a cualquier agente, molécula, complejo u otra entidad capaz de unirse a o interactuar con una proteína en un sitio de unión determinado. El término "complejo receptor-ligando" se refiere a la asociación entre la proteína E del virus Dengue (u otros *flavivirus*) con cualquier compuesto químico bajo condiciones fisiológicas o simuladas *in silico*. El término "receptor" u "objetivo" se refiere a una molécula, por ejemplo, la proteína E del virus Dengue donde es posible que esta se una a un compuesto químico determinado, y esta unión o interacción pudiera modular la actividad de la proteína. Por ejemplo, la proteína E del virus Dengue puede ser un objetivo 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 el grupo de átomos que garantizan la unión o el anclaje del compuesto químico al sitio de unión en la molécula objetivo.
- El término "acomodar" cuando se usa como referencia a un compuesto químico o ligando, se refiere a la conformación espacial adoptada por dicho compuesto químico o ligando que se ajusta geométricamente al sitio de unión del receptor.
- El término "pesquizado virtual" se refiere a la identificación y diseño *in silico* de compuestos químicos con el potencial de unirse y modular la función de una proteína objetivo determinada. Existen dos variantes de pesquizado virtual conocidos como: pesquizado virtual basado en el receptor usado cuando se encuentra disponible la estructura tridimensional del receptor (PVBR) o pesquizado virtual basado en el ligando (PVBL), usado cuando se encuentra disponible la información estructural de ligandos conocidos para una molécula objetivo dada, aunque también es frecuente la combinación de ambas variantes.
- El término "acoplamiento molecular" se refiere a la orientación de un ligando en el sitio de unión de una proteína mediante el uso de algoritmos computacionales y la evaluación del complejo receptor-ligando generado.
- El término "grupo funcional" se refiere a estructuras submoleculares, o sea grupo específico de átomos dentro de las moléculas caracterizadas por una composición y conectividad elemental específica, lo que confiere reactividad a la molécula que los contiene.
- El término "farmacóforo" se refiere a las características esenciales (por ejemplo, estéricas y electrónicas) presentes en una molécula o ligando que garantizan las interacciones intermoleculares con una molécula objetivo determinada y que le otorgan una actividad biológica específica a dicha molécula o ligando.
- En la química moderna computacional, se emplea "modelo de farmacóforo" o "modelo farmacofórico" para definir y agrupar las características esenciales de una o más moléculas responsables de su actividad biológica, y se usan para la identificación de nuevas moléculas o ligandos que comparten las características identificadas y que por lo tanto, se espera que posean actividad biológica. Un modelo de farmacóforo permite agrupar diferentes ligandos que tienen 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 sitúan a la distancia fijada que corresponde a cada propiedad en el modelo de farmacóforo. Un modelo de farmacóforo puede contener algunas de las siguientes propiedades, por ejemplo, la presencia de grupos aromáticos y/o grupos hidrofóbicos y/o grupos aceptores de enlace de hidrógeno y/o grupos donadores de enlace de hidrógeno y/o cationes y/o aniones.
- El término "grupo apolar o grupo no polar" se refiere a un grupo químico en el cual la densidad de carga electrónica es fundamentalmente uniforme lo cual no le permite su interacción con otros grupos químicos mediante puentes de hidrógeno y/o interacción dipolo-dipolo. Los grupos no polares o grupos 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 no es uniforme lo cual permite su participación en interacciones electrostáticas.
- El término "alquilo" se refiere a un radical derivado de un hidrocarburo alifático con una cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada que tiene un número definido de átomos de carbono (es decir, "alquilo C₁-C₁₀" corresponde a

un alquilo que puede estar formado por uno a diez átomos de carbono). El radical alquilo puede encontrarse completamente saturado, mono o poliinsaturado y 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 radicales alquilo insaturados incluyen, pero no se limitan a, grupos tales como vinilo, 2-propenilo, 2-butadienilo, 1,4-hexadienilo, 1,3-pentadienilo, etinilo, 3-propinilo, 3-butinilo, 2,4-pentadienilo y otros. Note que el término "alquilo" como se usa en la presente, incluye radicales divalentes de hidrocarburos alifáticos con una cadena lineal o ramificada. Ejemplos de radicales alquilo divalentes incluyen, pero no se limitan a, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CCH}_2-$; $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ y otros. El término "heteroalquilo" por si solo o combinado con otro término, se refiere a un radical de hidrocarburo alifático con una cadena lineal (es decir, no ramificada) o ramificada que consiste en al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado de los siguientes: O, N, P, Si y S. Los heteroátomos en el radical heteroalquilo pueden ser iguales o diferentes. El heteroátomo puede situarse en cualquier posición interna del grupo heteroalquilo o en la posición en la que el grupo heteroalquilo se une al resto de la molécula. El radical heteroalquilo puede encontrarse completamente saturado, mono o poliinsaturado y puede incluir radicales di y multivalentes. Ejemplos de radicales heteroalquilo incluyen, pero no se limitan a, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S(O)-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S(O)}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH=N-OCH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH-N(CH}_3\text{)-CH}_3$, $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$ y otros. En el radical heteroalquilo, pueden colocarse de manera consecutiva hasta dos o tres heteroátomos, tales como, por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$ y $-\text{CH}_2\text{-O-Si(CH}_3\text{)}_3$. Note que el término "heteroalquilo" como se usa en la presente incluye radicales divalentes de hidrocarburo alifático con una cadena lineal o ramificada que consiste en al menos un átomo de carbono y al menos un heteroátomo. Ejemplos de heteroalquilo divalente incluyen, pero no se limitan a, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2-$ y $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_2-$.

El término "heteroalquilo", como se usa en la presente, incluye grupos tales como $-\text{C(O)R'}$; $-\text{C(O)NR'}$; $-\text{NR'R''}$; $-\text{OR'}$, $-\text{SR'}$ y/o $-\text{SO}_2\text{R'}$.

En la presente invención, en varias ocasiones, cuando se menciona "heteroalquilo", es seguido por menciones de grupos específicos heteroalquilo, tales como los anteriormente mencionados. Note que los términos heteroalquilo y cualquiera de los siguientes: C(O)R' ; $-\text{C(O)NR'}$; $-\text{NR'R''}$; $-\text{OR'}$, $-\text{SR'}$ y/o $-\text{SO}_2\text{R'}$ no son redundantes ni mutuamente exclusivos. En todo caso, los grupos heteroalquilo específicos, tales como $-\text{NR'R''}$ y otros, se mencionan para ganar en claridad.

Los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo", por si solos o en combinación con otros términos, se refieren a radicales de hidrocarburos alicíclicos derivados, que tienen uno o más anillos fusionados o anillos unidos covalentemente, anillos que pueden estar saturados, mono o poliinsaturados, donde en el caso de "cicloalquilo", los anillos tienen solo átomos de carbono e hidrógeno, mientras que en el caso de "heterocicloalquilo", los anillos incluyen al menos un heteroátomo de los siguientes: O, N y S. Ejemplos de cicloalquilo monocíclico incluyen, pero no se limitan a, ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, 2-ciclobutinilo, 1,3-ciclohexadienilo y otros. Ejemplos de cicloalquilo compuesto por varios anillos covalentemente unidos incluyen, pero no se limitan a, ciclobutildiciclopentilo y otros. Ejemplos de cicloalquilo formado por múltiples anillos fusionados, incluyen los compuestos policíclicos que tienen dos o más átomos de carbono compartidos por dos o más anillos, por ejemplo biciclo-[4,2,0] octanilo, biciclo-[3,1,1] heptanilo, biciclo [4,4,0] decanilo y otros; y compuestos bicíclicos con un solo átomo de carbono compartido por ambos anillos, conocidos como espirano 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. Note que los términos "cicloalquilo" y "heterocicloalquilo" incluyen radicales divalentes de hidrocarburos alicíclicos compuestos por uno o más anillos, fusionados o unidos covalentemente, donde tales anillos pueden estar completamente saturados, mono o poliinsaturados, donde en el caso de cicloalquilo, los anillos están compuestos solo por átomos de carbono e hidrógeno mientras que en el caso del heterocicloalquilo, se encuentra presente al menos un heteroátomo.

El término "arilo" se refiere a un radical de hidrocarburo aromático, poliinsaturado que puede ser un anillo simple (es decir, fenilo) o múltiples anillos (preferentemente de uno a tres anillos) fusionados (es decir, naftilo, antrilo y otros) o unidos covalentemente (es decir, bifenilo). El término "heteroarilo" se refiere a un radical de hidrocarburo aromático (preferentemente de uno a tres anillos) que contiene al menos un heteroátomo de los siguientes: N, O y S (en cada anillo simple en el caso de que se trate de múltiples anillos). Ejemplos de grupos "arilo" y "heteroarilo" incluyen, pero no se limitan a, 1-naftilo, 4-bifenilo, 1-pirrolilo, 3-pirazolilo, 2-imidazolilo, pirazinilo, 2-oxazolilo, 2-tiazolilo, 3-furilo, 2-tienilo, 4-piridilo, 2-benzotiazolilo, purinilo, 5-indolilo, 6-isoquinolilo y otros. Los términos "arilo" y "heteroarilo" incluyen radicales divalentes derivados de un hidrocarburo aromático, hidrocarburo compuesto solo por átomos de carbono e hidrógeno, en el primer caso, y radicales divalentes derivados de un hidrocarburo aromático que tiene uno o más anillos de átomos de carbono e hidrógeno con I menos un heteroátomo.

El término "arilalquilo" incluye los radicales en los que un grupo arilo se une a uno o más grupos alquilo (por ejemplo, bencilo, fenilo, estireno y otros). El término "heteroarilalquilo" se refiere a los radicales formados por uno o más grupos heteroalquilo unidos a uno o más grupos arilo y/o los radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unidos a uno o más grupos alquilo (por ejemplo, 2,5-dimetilfurano) y/o los radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unidos a uno o más grupos heteroalquilo.

El término "arilcicloalquilo" se refiere a los radicales formados por uno o más grupos arilo unidos a uno o más grupos cicloalquilo (por ejemplo, bencilo, fenilo, cumeno, estireno, vinilbenceno y otros). El término "heteroarilcicloalquilo" se refiere a los radicales formados por uno o más grupos heteroarilo unidos a uno o más grupos cicloalquilo, y/o los radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo unidos a uno o más grupos arilo y/o los radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo unidos a uno o más grupos heteroarilo.

El término "alquilcicloalquilo" se refiere a los radicales formados por uno o más anillos cicloalquilo sustituidos con uno o más radicales alquilo. El término "heteroalquilcicloalquilo" se refiere a los radicales formados por uno o más grupos heteroalquilo unidos a uno o más anillos cicloalquilo, y/o los radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo sustituidos con uno o más grupos alquilo y/o los radicales formados por uno o más grupos heterocicloalquilo sustituidos 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 flúor, cloro, bromo y yodo. El término "heteroátomo" se refiere a cualquier átomo diferente de carbono o hidrógeno, usualmente oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, boro, cloro, bromo o yodo.

El término "miembros" en el contexto de radicales derivados de hidrocarburos cíclicos e hidrocarburos aromáticos se refiere al total de átomos que comprenden un anillo, e incluye 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 grupo de átomos que forman parte de la cadena principal (o sea, átomos o grupo de átomos que no son sustituyentes) de un radical alquilo y/o heteroalquilo, opcionalmente sustituidos o no sustituidos. También se refiere a un átomo o grupo de átomos que son miembros de un radical cicloalquilo y/o un radical heterocicloalquilo y/o radical arilo y/o radical heteroarilo opcionalmente sustituidos o no sustituidos.

En el caso de alquilo, heteroalquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo se consideran tanto las formas sustituidas como formas no sustituidas; las formas sustituidas pueden tener uno o más sustituyentes iguales o diferentes. El término "sustituyentes" 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, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido. El término "sustituido" cuando se usa como referencia a un radical se refiere a un radical que contiene uno o más de los sustituyentes anteriormente mencionados.

El término "enlace de H o interacción por enlace de hidrógeno" se refiere a un enlace entre un grupo funcional A-H y un átomo o grupo de átomos B en la misma molécula o una molécula diferente. El grupo funcional A-H contiene un átomo de hidrógeno electropositivo y se conoce como "donador de enlace de H"; A corresponde a oxígeno, nitrógeno o flúor. El átomo o grupo B, contiene al menos un par de electrones libres no deslocalizados y se conoce como "aceptor de enlace de H"; B corresponde a oxígeno, nitrógeno o flúor. El átomo de oxígeno puede tener un enlace simple o doble y el átomo de nitrógeno puede tener un enlace simple, doble o triple. Un átomo simple de hidrógeno puede formar simultáneamente dos puentes de hidrógeno. Por ejemplo, un A-H simple puede formar simultáneamente enlaces de hidrógeno con dos átomos B, lo cual se conoce como "enlaces de hidrógeno bifurcados o tres enlaces de hidrógeno centrales. Los donadores de enlaces de hidrógeno débiles incluyen 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 enlaces C-H son lo suficientemente ácidos para formar puentes de hidrógeno y estos se encuentran en alquinos terminales (RC≡CH), cloroformo (CHCl₃) y HCN. Los grupos aceptores de enlaces de hidrógeno débiles incluyen grupos B, donde B es un átomo de cloro o un átomo de azufre.

El término "grupos cargados negativamente" se refiere a un átomo que porta una carga formal negativa no adyacente a un átomo o grupo de átomos con una carga formal positiva.

El término "grupos cargados positivamente" se refiere a un átomo que porta una carga formal positiva no adyacente a un átomo o grupo de átomos con una carga formal negativa.

Descripción detallada de la invención

Racionalidad de la invención

La presente invención describe compuestos químicos para el uso en el tratamiento del virus dengue y otros flavivirus que contienen dos subestructuras funcionalmente distintivas de acuerdo con la fórmula [C]-[A] que afectan o inhiben diferentes eventos del ciclo de replicación del virus Dengue relacionados con la entrada del virus a las células huésped y el ensamblaje de los viriones progenie. Estos compuestos químicos se unen a un parche de la superficie de la proteína E del virus Dengue, que se localiza en el extremo del dominio II y se define en la presente invención como el surco asociado al lazo "ij". Los compuestos químicos descritos para usar en la presente invención son como se definen en las reivindicaciones y se caracterizan por la presencia de dos subestructuras funcionalmente relevantes, de acuerdo con la fórmula siguiente:



donde,

[A], se define como ancla, y corresponde a una subestructura química capaz de unirse al surco asociado al lazo "ij" en la proteína E.

[C] se le denomina cabeza y corresponde a una subestructura química compuesta por 1-30 átomos, que se une covalentemente a la subestructura [A], [C] es preferentemente voluminosa, que tiene un carácter polar o no polar, carga neta positiva o carga neta negativa, alifático o aromático, [C] favorece la capacidad de los compuestos químicos descritos para usar en la presente invención para interferir o modular una o más interacciones intermoleculares que implican al péptido fusión, que son esenciales en varias etapas del ciclo de replicación viral tales como: a) las interacciones durante la formación de heterodímeros preM-E, b) las interacciones entre estos heterodímeros preM-E necesarias para el ensamblaje-liberación de los viriones maduros, c) el proceso de maduración de los viriones debido al cambio de la estructura cuaternaria de heterodímeros preM-E en homodímeros de proteína E, d) la 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 lo que activa el proceso de fusión de membranas.

La subestructura ancla descrita para usar en la presente invención interactúa con al menos tres de los residuos que forman el surco asociado al lazo "ij", el cual está formado por las regiones ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG^{100, 103}, ^{105, 111}NGC^{105, 111}, ^{115, 245}GGIVT^{115, 245} y ²⁵⁰AKKQDV²⁵⁰ de la proteína E del virus DEN2 (cepa S1) y los residuos de las regiones equivalentes mencionadas anteriormente que pertenecen a otros *flavivirus*. Específicamente, el surco asociado al lazo "ij" se forma por los grupos hidroxilo de la cadena lateral de los residuos Thr-68, Thr-70, Ser-72 y Thr-115; los grupos carbonilo de la cadena principal de los residuos Asp-98, Ala-245, Lys-246, Gln-248 y Val-250, y los grupos carbonilo de la cadena lateral de los residuos Asn-103, Gln-248 y Asp-249; el grupo amino de la cadena principal del residuo Gln-248; los grupos alifáticos de la cadena lateral de los residuos Val-97 e Ile-113, el grupo metilo de la cadena principal del residuo Thr-70 y la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio de los residuos Lys-246 y Lys-247; el grupo guanidinio del residuo Arg-99 y el grupo amonio de los residuos Lys-246 y Lys-247. Por lo tanto, la cavidad se cubre con grupos de átomos donadores de enlace de hidrógeno y/o aceptores de enlace de hidrógeno; con grupos de átomos cargados negativamente y positivamente y grupos de átomos con carácter hidrofóbico. Esta heterogeneidad favorece la ocurrencia de diferentes interacciones con ligandos tales como, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, interacciones iónicas y puentes de hidrógeno.

La subestructura ancla descrita para usar en la presente invención forma puentes de hidrógeno preferentemente, con cualquiera de los siguientes átomos donadores de enlace de H de las cadenas laterales y átomos aceptores de enlace de H 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 cualquiera de los siguientes átomos donadores de enlace de H de la cadena principal y átomos aceptores de enlace de H 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 de la cadena lateral del residuo Thr-70 y porción alifática de la cadena lateral de butilamonio de los residuos Lys-246 y Lys-247 e interacciones electrostáticas con las cadenas laterales de los residuos: Asp-98, Arg-99, Asp-249, Lys-246 y Lys-247.

La subestructura ancla se define de acuerdo con las reivindicaciones.

La subestructura cabeza descrita para usar 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. En una modalidad de la presente invención, las subestructuras cabezas interactúan con al menos uno de los siguientes residuos que pertenecen al monómero vecino en la estructura dimérica de la proteína E de los viriones maduros: Arg-2, Gly-5, Ile-6, Ser-7, Asn-8, His-27, Gly-28, Glu-44 y Asp-154. En otra modalidad de la presente invención, la subestructura cabeza interactúa con al menos uno de los siguientes residuos del lazo "ij": Ala-245 e His-244 o residuo Asp-98 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".

La subestructura cabeza se define de acuerdo con las reivindicaciones.

En la presente invención, el término "residuos claves para el anclaje a la hendidura asociada al lazo "ij" se refiere a los siguientes residuos que pertenecen 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 para el uso en la presente invención se acomoda en el surco asociado al lazo "ij" de la proteína E del virus Dengue. Este surco se observa en las estructuras cristalográficas de la proteína E dimérica del virus Dengue 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" que forma la hendidura mencionada anteriormente. La conformación abierta adoptada por la horquilla-beta "ij" puede estabilizarse mediante interacciones favorables con residuos del dominio I del monómero vecino en el dímero. El surco descrito anteriormente es alargado, estrecho, poco profundo y cubre un área de aproximadamente 320 Å². Sin embargo, dicha conformación abierta adoptada por el lazo "ij" no se observa en las estructuras cristalográficas de la proteína E trimérica de postfusión 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 proteína E de postfusión dimérica y trimérica de 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 de 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 la interacción en las que se encuentre implicada. En el caso de la proteína E del virus DEN2, el lazo "ij" adopta una conformación abierta en el estado dimérico y una conformación cerrada en la forma trimérica de postfusión, participando en diferentes interacciones intermoleculares con residuos del dominio I y del dominio II respectivamente. 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 del heterodímero vecino. Los tres heterodímeros no adoptan una orientación asimétrica C3, por lo que los contactos intermoleculares entre los heterodímeros no son idénticos. Así, el lazo "ij" interactúa, en un caso, con residuos del lazo "ij" del otro monómero de la proteína E en la unidad asimétrica, y en el otro caso, el lazo "ij" interactúa con residuos del péptido de fusión. Por lo tanto, el lazo "ij" participa en diferentes interacciones intermoleculares, que son relevantes en las diferentes etapas 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, ya sea por las diferencias estructurales (RMS) observadas en varias estructuras cristalográficas resueltas de la proteína E del virus DEN2 (estructuras diméricas y triméricas) y/o en los factores de temperaturas elevadas en comparación con otras regiones de la proteína E, y en particular con regiones del dominio II, por ejemplo en la estructura de la proteína E dimérica del virus DEN3 (Figuras 2 y 3). Por lo tanto, la flexibilidad de este lazo "ij" parece ser esencial para acomodarse en los diferentes entornos estructurales e interacciones intermoleculares en las 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 objetivo para el desarrollo de antivirales contra el virus Dengue y otros *flavivirus*, donde dichas moléculas interfieren con las interacciones y/o cambios estructurales del lazo "ij" y esta interferencia inhibe o modula una o más 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 estas estructuras son elevados (Figura 3), como se refleja en la estructura monomérica de VNO y la estructura dimérica de VETG de la proteína E, lo que sugiere que el lazo "ij" es una zona flexible que pudiera experimentar diferentes cambios conformacionales y pudiera adoptar también conformaciones abiertas como la observada en los virus DEN2 y DEN3.

Descripción de las subestructuras Anclas

Los compuestos químicos descritos para usar en la presente invención para atenuar o inhibir la infección por virus Dengue se caracterizan por la presencia de dos subestructuras funcionalmente distintivas relevantes, como se define en la reivindicaciones, de acuerdo con la fórmula siguiente:



donde,

el ancla [A] contiene al menos tres de los siguientes elementos: a) un enlace de hidrógeno (D₁₋₄), y/o b) un aceptor de enlace de hidrógeno y/o un grupo cargado negativamente (A₁₋₂, A₃), y/o c) un elemento hidrofóbico (H₁₋₃), y/o d) un

elemento aceptor de enlace de hidrógeno y/o donador de enlace de hidrógeno (D/A), y/o e) un elemento simultáneamente aceptor-donador de enlace de hidrógeno (D+A), y estos elementos (a) - (e) se seleccionan entre los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D definido en la Figura 5. Los elementos del modelo de farmacóforo corresponden a un átomo o grupo de átomos designados como: D₁, D₂, D₃, D₄, A₁⁻, A₂⁻, A₃, D/A, H₁, H₂, H₃ y D+A, donde dichos elementos se separan preferentemente a una distancia interatómica definida en la matriz de distancia (I). En ciertas modalidades de la presente invención, se permiten desviaciones de la distancia interatómica de $\pm 1\text{Å}$ con respecto al valor indicado en la matriz de distancia interatómica (I). En otra modalidad de la presente invención, se admiten desviaciones de la distancia interatómica de $\pm 2\text{Å}$ con respecto al valor indicado en la matriz de distancia interatómica (I).

Los elementos del modelo de farmacóforo D₁, D₂, D₃, D₄, A₁⁻, A₂⁻, A₃, D/A, H₁, H₂, H₃ y D+A describen interacciones potenciales entre la subestructura ancla [A] de la presente invención y residuos de la hendidura asociada al lazo "ij" que incluyen enlaces por puente de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones electrostáticas.

Los elementos D₁, D₂, D₃ y D₄ corresponden cada uno a un átomo donador de enlace de hidrógeno o grupo de átomos donadores de enlace de hidrógeno.

Los elementos A₁⁻ y A₂⁻ corresponden cada uno a un átomo aceptor de enlace de hidrógeno o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno y/o con carga neta (o parcialmente) negativa.

El elemento A₃ corresponde a un átomo donador de enlace de hidrógeno o grupo de átomos donadores de enlace de hidrógeno.

El elemento D/A puede corresponder a un átomo o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno (en este caso, se identifica en la presente como "D/A en condición de aceptor") o el elemento D/A puede corresponder a un átomo o grupo de átomos donadores de enlace de hidrógeno (en este caso, se identifica en la presente como "D/A en condición de donador") o el elemento D/A puede corresponder a un átomo o grupo de átomos que son simultáneamente aceptores y donadores de enlace de hidrógeno (en este caso, se identifica en la presente como "D/A en condición de aceptor-donador").

El elemento D+A corresponde a un átomo o grupo de átomos que son simultáneamente aceptores y donadores de enlace de hidrógeno.

Los elementos H₁, H₂, H₃ corresponden a un átomo no polar o grupos de átomos no polares.

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

Distancia (Å)	D ₁	A ₂ ⁻	D ₂	D ₄	D/A	D+A	H ₁	H ₂	D ₃	A ₁ ⁻	A ₃	H ₃
D ₁	0	7,0	2,9	17,4	12,9	10,2	5,1	9,3	4,2	3,9	10,6	7,2
A ₂ ⁻	7,0	0	6,0	16,0	4,0	11,8	7,1	6,6	3,4	10,0	7,3	3,9
D ₂	2,9	6,0	0	15,5	8,6	11,6	5,0	8,0	3,0	5,8	8,4	5,2
D ₄	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
H ₁	5,1	7,1	5,0	13,0	8,6	8,1	0	5,3	4,4	5,1	7,7	5,5
H ₂	9,3	6,6	8,0	9,7	5,2	5,3	5,3	0	6,0	10,4	3,7	3,9
D ₃	4,2	3,4	3,0	14,8	6,0	10,5	4,4	6,0	0	7,1	7,0	3,2
A ₁ ⁻	3,9	10,0	5,8	17,3	12,8	12,7	5,1	10,4	7,1	0	12,4	9,6
A ₃	10,6	7,3	8,4	9,0	4,9	6,5	7,7	3,7	7,0	12,4	0	3,9
H ₃	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 de donador") de la subestructura ancla [A] corresponden a un átomo o grupo de átomos donadores de enlace 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 arilalquilo y/o arilcicloalquilo y/o alquilcicloalquilo, b) constituyentes y/o sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: heteroalquilo y/o heteroarilo y/o heterocicloalquilo y/o heteroarilalquilo y/o heteroarilcicloalquilo 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, un alquilo sustituido o no sustituido, un heteroalquilo sustituido o no sustituido, un cicloalquilo sustituido o no sustituido, un heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, un arilo sustituido o no sustituido, un heteroarilo sustituido o no sustituido. En una modalidad de la presente invención, cada elemento D₁, D₂, D₃, D₄ y D/A (en este caso corresponde a "D/A en condición de donador") de la subestructura ancla corresponden independientemente al grupo -C≡CH, los cuales pueden corresponder a: a) constituyentes o sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: alquilo y/o cicloalquilo y/o heteroalquilo y/o heterocicloalquilo y/o arilalquilo y/o arilcicloalquilo y/o alquilocicloalquilo y/o heteroarilalquilo y/o heteroarilcicloalquilo y/o heteroalquilocicloalquilo, b) sustituyentes de radicales arilo y/o heteroarilo. En otra modalidad de la presente invención, cada elemento D₁, D₂, D₃, D₄ y D/A (en este caso corresponde a "D/A en condición de donador") de la subestructura ancla [A] corresponden independientemente al 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 de donador") en ningún caso corresponden a: a) grupo -OH presente en -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 de aceptor") de la subestructura ancla [A] corresponden a un átomo o grupos de átomos aceptores de enlace de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los siguientes grupos: -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 arilalquilo y/o arilcicloalquilo y/o alquilocicloalquilo, b) constituyentes o sustituyentes de cualquiera de los siguientes radicales: heteroalquilo y/o heteroarilo y/o heterocicloalquilo y/o heteroarilalquilo y/o heteroarilcicloalquilo 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 RNO₂, RNO; grupo -S=O presente en grupos funcionales de fórmula: RS(O)₂OH, RS(O)₂R', 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 es igual a halógeno y R, R', R" son independientemente hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, heterocicloalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido.
- En una modalidad de la presente invención los elementos A₁⁻ y A₂⁻ de la subestructura ancla [A] corresponden a un átomo con carga neta (o parcialmente) negativa o grupo de átomos con carga neta (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; (RO)₂P(O)(OH); RS(O)₂OH; ROS(O)₂OH; átomos de nitrógeno presentes en trifluorometilsulfonamida; átomos de nitrógeno no sustituidos presente en tetrazol.
- En la presente invención, los elementos D+A y D/A (en este caso corresponde a "D/A en condición aceptor de donador") de la subestructura ancla [A] corresponden a un átomo o grupos de átomos que son simultáneamente elementos donadores y aceptores de enlace de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los siguientes: -OH, -CONHR, -CONH₂.
- En la presente invención, cada elemento H₁, H₂, H₃ de la subestructura ancla [A] corresponden a un átomo no polar o grupo de átomos no polares seleccionados independientemente de cualquiera de los radicales siguientes: a) radical alquilo o heteroalquilo C₁-C₁₅ que no tiene más de siete heteroátomos, de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido o no sustituido; b) cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; c) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada anillo de 5-7 miembros, fusionados o enlazados, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; d) radical arilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido o no sustituido; e) radical heteroarilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada anillo tiene 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; f) radical alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo de 3-7 miembros, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; g) heteroalquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada anillo tiene 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada con no más de tres heteroátomos opcionalmente sustituidos o no sustituidos; h) radical arilcicloalquilo 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) heteroarilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada anillo de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales (a) - (i), donde dicho radical contiene el elemento H₁ del modelo de farmacóforo 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 H₂y dichos heteroátomos sustituyentes y/o constituyentes comprenden los elementos farmacofóricos A₃y/o D/A y/o D+A; l) radical seleccionado entre los radicales (a) - (i), donde dicho radical contiene el elemento H₃y sus heteroátomos sustituyentes y/o constituyentes comprenden los elementos D₃y/o A₂y/o A₃ y/o D/A.
- 5 Sitios claves de interacción para los elementos D₁, D₂, D₃ y D₄del modelo farmacofórico en la cavidad asociada al lazo "ij"
- 10 En una modalidad de la presente invención, D₁ comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena lateral del residuo Asn-103 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 15 En una modalidad de la presente invención,D₂ comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Ala-245 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246 presente en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 20 En una modalidad de la presente invención, D₃ comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 25 En una modalidad de la presente invención, D₄ comparte uno o más átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Val-250 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- Sitios claves de interacción para los elementos A₁y A₂ del modelo de farmacóforo en la cavidad asociada al lazo "ij"
- 30 En una modalidad de la presente invención, A₁⁻ acepta 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 A₁⁻que porta una carga neta (y/o parcialmente) negativa y establece interacciones electrostáticas con el grupo amonio que tiene una carga positiva situada en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 35 En una modalidad de la presente invención, A₂⁻ acepta un átomo de hidrógeno del hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o A₂⁻que porta una carga neta (y/o parcialmente) negativa y establece interacciones electrostáticas con el grupo guanidinio que porta una carga positiva del residuo Arg-99 situada en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 40 Sitios claves de interacción para el elemento D/A del modelo de farmacóforo en la cavidad asociada al lazo "ij"
- 45 En una modalidad de la presente invención,D/A acepta el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o D/A acepta el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 50 En una modalidad de la presente invención, comparte uno o más átomos de hidrógeno con el oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o D/A comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 55 En una modalidad de la presente invención, D/A comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o D/A comparte uno o más átomos de hidrógeno con el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- 60 Sitios claves de interacción para el elemento A₃ del modelo de farmacóforo en la cavidad asociada al lazo "ij"
- 65 En una modalidad de la presente invención, A₃ acepta un átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-115 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o un átomo de hidrógeno del grupo amino de la cadena principal del residuo Gln-248 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".
- Sitios claves de interacción para el elemento D+A del modelo de farmacóforo en la cavidad asociada al lazo "ij"

En una modalidad de la presente invención, D+A acepta uno o más átomos de hidrógeno del grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-247 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o comparte uno o más átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".

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

En una modalidad de la presente invención, H₁ establece interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".

En una modalidad de la presente invención, H₁ establece interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio de los residuos Lys-246 y Lys-247 situados en la cavidad asociada al lazo "ij".

En una modalidad de la presente invención, H₂ establece interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-247 situado en la cavidad asociada al lazo "ij". En una modalidad de la presente invención, H₂ establece interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-247 situado en la cavidad asociada al lazo "ij" y/o H₂ establece interacciones hidrofóbicas con el grupo metilo de la cadena lateral del residuo Thr-70 situado en la cavidad asociada al lazo "ij".

En una modalidad de la presente invención, H₃ establece interacciones hidrofóbicas con la cadena lateral de los residuos Val-97 y Ile-113, ambos situados en la cavidad asociada al lazo "ij".

Descripción de las subestructuras Cabezas

En la presente invención, la subestructura cabeza [C] o Rces cualquiera de las siguientes:

a) hidrógeno; b) alquilo C₁-C₁₀ o heteroalquilo C₁-C₁₀ con no más de tres heteroátomos opcionalmente sustituidos o no sustituidos; c) 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 sustituidos o no sustituidos; d) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno tiene de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituido o no sustituido; e) radical arilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; f) radical heteroarilalquilo 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 alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; g) alquilocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo, cada uno de 3-7 miembros, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponden al alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; h) 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 corresponden a alquilo C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical arilcicloalquilo 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 heteroarilcicloalquilo 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 que tienen de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; k) el radical seleccionado entre los radicales (b) – (j), donde sus sustituyentes comprenden uno o más grupos con carga positiva seleccionados de los siguientes: RNH₂, RNHR', RNR'R'', RC(NRR')=NR'', C(NR'R'')₂=NR''', RNHC(NR'R'')=NR''', C(RNH)₂=NR'', RC(R'NH)=NR'', l) el radical seleccionado entre los radicales b)-j), donde sus sustituyentes comprenden uno o más grupos con carga negativa seleccionados de los siguientes: 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; tetrazol.

Mecanismo de inhibición

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

- A) La afectación del proceso de morfogénesis y/o ensamblaje de los viriones,
- B) La interferencia con el tráfico exocítico y el proceso de maduración de los viriones,
- C) La modulación de la estabilidad de los viriones maduros,
- D) La afectación del proceso de fusión de membranas.

El papel de la subestructura ancla de los compuestos químicos descritos en la presente invención es garantizar el anclaje de estos en la hendidura asociada al lazo "ij" y por tanto, permitir la localización de estos compuestos químicos en la vecindad del extremo del dominio II de la proteína E. Esta región del dominio II está implicada en varias interacciones intermoleculares que caracterizan a esta proteína tales como las interacciones preM-E, la formación de los dímeros de proteína E en los viriones maduros y las interacciones entre la proteína E y la membrana endosomal

necesaria para el proceso de fusión. Por tanto, la unión de los compuestos químicos, descritos en la presente invención, a la proteína E interfiere y/o modifica estas interacciones intermoleculares que provocan la afectación de la función biológica de la proteína E asociada a cada interacción particular y por lo tanto, causa un efecto inhibitorio de una o más etapas del ciclo de replicación viral relacionado con la función biológica afectada.

Este es el caso del proceso de morfogénesis y/o ensamblaje de los viriones, una etapa caracterizada por la liberación del virión en la membrana del retículo endoplasmático y la cual es mediada por interacciones colaterales entre las proteínas preM y E. Los compuestos descritos en la presente invención y la proteína preM compiten por la unión a la proteína E lo que interfiere el proceso de liberación. Junto con 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 las interacciones preM-E provoca además que el péptido de fusión quede expuesto al solvente, sin la protección que aporta la proteína preM. Así, la proteína E queda expuesta a interacciones prematuras con las membranas intracelulares o con la propia membrana del virión, afectando de esta forma una vía del tráfico intracelular a través de la vía exocítica y la maduración de los viriones en las partículas virales con infectividad completa. La subestructura cabeza puede contribuir también en esta etapa, después una cabeza no polar 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 mediante interferencia estérica y/o mediante interacciones atómicas desfavorables entre la subestructura cabeza y los 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, lo que contribuye a una estabilización adicional de los homodímeros. El efecto biológico, en este caso, también conduce a la atenuación de la infectividad de los viriones, lo que interfiere con los cambios de las estructuras cuaternarias asociados al proceso de fusión de membranas que ocurre en las vesículas endosomales durante la entrada del virus a las células huésped. Un aumento en la estabilidad de los dímeros causa la disminución del pH umbral del proceso de fusión; mientras que el aumento de la inestabilidad del dímero eleva el valor umbral del pH de fusión, en ambos casos el proceso de fusión se afecta. La subestructura ancla descrita en la presente invención también puede alterar las propiedades hidropáticas del péptido de fusión, modificando su capacidad de interacción con la membrana endosomal. De manera tal, que una subestructura cabeza no polar 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 entre la subestructura cabeza con el péptido de fusión afecta la fusión viral con la membrana endosomal.

En la presente se describen composiciones farmacéuticas que contienen uno o más compuestos químicos o sus sales farmacéuticamente aceptables de estas, como otros vehículos o aditivos que los contienen permitidos farmacéuticamente. Además, en la presente se describe el uso de compuestos químicos para la manufactura de fármacos para el tratamiento del virus Dengue y otros *flavivirus*. La invención también incluye el uso de dichos compuestos químicos o variantes de los estos para la prevención y/o el tratamiento de infecciones en seres humanos 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 del ciclo de replicación viral radica en que los compuestos químicos descritos para usar en la presente invención se diseñan para interferir con varias etapas del ciclo de replicación del virus potenciando el efecto antiviral. Ya que estos compuestos se dirigen a un sitio de unión biológicamente relevante, el cual se conserva evolutivamente en estos virus, la posibilidad de generación de mutantes de escape también disminuye.

Metodología para la identificación de las subestructuras Anclas

Los compuestos químicos se identificaron mediante el uso de métodos computacionales, específicamente combinando los resultados del pesquizado virtual mediante acoplamiento molecular y el empleo de un modelo de farmacóforo. Se usó un modelo de la proteína E dimerica de prefusión de acuerdo con 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 dominios equivalentes en la estructura de la partícula viral madura de DEN2 (1THD) determinada mediante criomicroscopía electrónica (Crio-ME) mediante el uso del programa Whatif (Vriend, G. (1990) *WHAT IF: a molecular modeling and drug design program*. *J Mol Graph*. 8:52-56) y además la reducción al mínimo de energía de los residuos de la interfase dominio I-II (Ejemplo 1). La región objetivo de la proteína E usada como sitio de unión en las simulaciones de acoplamiento molecular corresponde a la cavidad asociada al lazo "ij" descrita en la presente invención. La orientación y evaluación de millones de conformaciones de compuestos químicos 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" el modelo construido de la proteína E mediante el uso del programa Dock (Kuntz, LD., 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). Se seleccionaron los compuestos químicos con los mayores valores de energía de unión (por ejemplo, Energía ≤ -35 kJmol⁻¹ de acuerdo con la evaluación hecha con la función de energía del programa Dock (versión 4) y se analizó visualmente su modo de unión predicho en el receptor. Finalmente, se seleccionaron un grupo de compuestos químicos

no solo debido a sus valores de energía de unión elevados (Energía ≤ -35 kJmol⁻¹) sino también porque los mismos adoptan conformaciones que se acomodan en la cavidad asociada al lazo "ij" que tienen interacciones mediante enlaces por puentes de hidrógeno y/o interacciones hidrofóbicas y/o interacciones electrostáticas de acuerdo con las predicciones *in silico* con varios de los residuos mencionados a continuación:

- a) residuos que forman esta 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 que corresponden al monómero vecino 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 del lazo "ij", por ejemplo: His-244.

El análisis de las predicciones *in silico* del modo de unión en la hendidura asociada al lazo "ij" de cada uno de los compuestos químicos seleccionados mediante los experimentos de pesquizado virtual permitió la detección de subestructuras con interacciones potencialmente favorables con los residuos 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". La construcción de este modelo farmacofórico se complementó con el 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 se usó junto con el programa 3DFS para la identificación de otras subestructuras anclas y compuestos químicos (1998) 3DFS: A New 3D Flexible Searching System for Use in Drug Design. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 38: 71-77). Los compuestos químicos identificados mediante el pesquizado virtual y mediante el uso del modelo de farmacóforo se muestran en el Ejemplo 2. Las subestructuras anclas descritas en la presente invención comprenden al menos uno de los siguientes elementos: a) un elemento donador de enlace de hidrógeno (D₁₋₄), y/o b) un grupo aceptor de enlace de hidrógeno y/o cargado negativamente (A₁-, A₂-, A₃), y/o c) un elemento hidrofóbico (H₁₋₃), y/o d) un elemento aceptor y/o donador de enlace de hidrógeno (D/A), y/o e) un elemento simultáneamente donador-aceptor de enlace de hidrógeno (D+A), y todos estos elementos (a) - (e) se seleccionan de los elementos que constituyen el modelo farmacofórico 3D descrito en la presente invención, que se describen en el Ejemplo 3. Las 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 ilustran en el Ejemplo 4. La capacidad de los compuestos químicos descritos para el uso en la presente invención para inhibir la infección por virus Dengue se evaluó *in vitro* en un ensayo de inhibición en placas en células Vero como 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 Dengue, virus del Nilo occidental y virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. Se muestra la cavidad asociada al lazo "ij" en el extremo del dominio II en las estructuras diméricas de prefusión de la proteína E del virus Dengue serotipo 2 que tiene los identificadores 1OKE, 1TG8 y 1OAN y el virus Dengue serotipo 3 con identificador 1UZG, donde el lazo "ij" adopta una conformación abierta. Esta conformación abierta del lazo "ij" no se observa en las estructuras monoméricas 2HG0 y 2I69 de la proteína E del virus del Nilo Occidental ni en la estructura dimérica de prefusión 1SV8 del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. La representación de la estructura secundaria mediante el uso del 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 de prefusión 1TG8, 1OAN, 1OKE del virus Dengue DEN2, proteína E trimérica de postfusión 1OK8 del virus Dengue DEN2 y la proteína E trimérica de postfusión 1UZG del virus Dengue DEN3. Se usó la estructura 3D de la proteína E dimérica de prefusión del virus Dengue DEN2 con identificador 1TG8 como molde para la superposición.

Figura 3. Alineamiento de secuencias del dominio II del virus Dengue, virus del Nilo Occidental y virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y los factores de temperatura de los residuos reportados en cada una de las siguientes estructuras: proteína E dimérica del virus Dengue DEN2 (1TG8, 1OAN, 1OKE), proteína E dimérica del virus Dengue DEN3 (1 UGZ), proteína E trimérica de postfusión del virus Dengue DEN2 (1OK8), proteína E trimérica de prefusión (1URG) del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y la proteína E trimérica de prefusión (1SVB) del virus de la encefalitis transmitida por garrapatas y la proteína E monomérica (2HG0 y 2I69) del virus del Nilo Occidental. Los factores de temperatura de los residuos que constituyen la horquilla "ij" se somborean y la secuencia de aminoácidos que comprende la horquilla "ij" se subraya.

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") usado como objetivo para los experimentos *in silico* de pesquizado virtual. Se muestra el grupo de esferas usadas para orientar los ligandos en el sitio de unión y los residuos de la proteína E considerados para la evaluación de la energía intermolecular receptor-ligando se encierran en una caja. Se usó 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 5. Representación esquemática del modelo de farmacóforo 3D en el surco asociado al lazo "ij".

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

EJEMPLOS

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

La selección de la estructura 3D de la proteína E del virus Dengue para los experimentos *in silico* se basó en el análisis de todas las estructuras cristalográficas de dicha proteína en el Banco de Datos 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) resueltas mediante cristalografía por rayos-X y Crio-ME. A pesar de que la estructura de la proteína E del virus Dengue resuelta mediante el uso de Crio-ME tiene baja resolución, resulta útil porque aporta información sobre la orientación entre los diferentes dominios, la distancia entre los monómeros en el dímero y las regiones expuestas de la proteína E en la superficie del virión maduro. Con el objetivo de comparar la estructura de la proteína E dentro y fuera del virión maduro, se realizó la superposición del dominio II de la estructura del virión maduro obtenida mediante la estructura Crio-ME (1THD) y las estructuras cristalográficas de la proteína E dimérica 1OAN, 1OKE y 1TG8. La superposición estructural se realizó con el programa Whatif mediante el uso del comando `motif` el que superpone fragmentos estructurales de una determinada longitud de una proteínas en la otra proteína (molde) buscando la mayor cantidad de aminoácidos equivalentes entre las dos estructuras con un valor de desviación cuadrática media (RMSD) más bajo. La superposición estructural muestra que la estructura del dominio II y el surco asociado al lazo "ij" se conserva entre todas las estructuras analizadas (1OAN, 1OKE, 1TG8) que tienen valores de RMSD de los carbonos alfa menores a 0.7Å; sin embargo, se observan diferencias estructurales entre los dímeros obtenidos mediante cristalografía de rayos-X y mediante Crio-ME. Los dímeros cristalográficos por rayos X son más compactos teniendo la separación más corta entre los monómeros que comparan los dímeros E sobre la superficie del virión maduro obtenido mediante el experimento Crio-ME. Por lo tanto, se determinó no usar ninguna de las estructuras disponibles de la proteína E del virus Dengue como receptor de la base de datos PDB para las simulaciones de acoplamiento molecular *in silico*. En cambio, se usó un modelo atómico de la proteína E del virus Dengue compatible con la estructura pseudo atómica de la proteína E del virus Dengue sobre el virión maduro. Este modelo se construyó combinando la información estructural disponible de la proteína E dimérica de los experimentos por Crio-ME (1THD) y por cristalografía de Rayos-X (1TG8). Se dividió la estructura de la proteína E 1TG8 en dos partes dominio II y dominio I+III, las cuales se superponen de manera independiente con los dominios correspondientes en la estructura 1THD mediante el uso del programa Whatif. Seguidamente, se realizó una minimización de energía para optimizar la geometría de las distancias y ángulos de enlace del conector dominio I-II y por último, se chequeó el modelo obtenido con el programa Whatif mediante el uso del comando `fulchk`. La Figura 4 se muestra el modelo 3D de la proteína E dimérica compatible con el virión maduro usado en la presente invención y se muestra además, la región objetivo usada como sitio de unión (que corresponde a la cavidad asociada al lazo "ij" descrita en la presente invención) en los experimentos de pesquijaje virtual y para obtener la información adicional para la construcción del modelo de farmacóforo 3D.

Ejemplo 2. Pesquijaje virtual de una librería de compuestos químicos mediante simulaciones de acoplamiento molecular. Construcción y uso de un modelo de farmacóforo 3D.

La metodología de pesquijaje virtual se usó para la identificación *in silico* de compuestos químicos que tienen interacciones potenciales favorables con residuos de la cavidad asociada al lazo "ij" en la proteína E del virus DEN2. La simulación del acoplamiento molecular consistió en la orientación y la evaluación energética de diferentes conformaciones de compuestos químicos de la base de datos ZINC (versión 5) en la cavidad asociada al lazo "ij" en la proteína E del virus DEN2 mediante el uso del 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 en la estructura del virión maduro como se describe en el Ejemplo 1. El sitio de unión corresponde al surco asociado al lazo "ij" formado por los residuos: ⁶⁸TTTDSRC⁷⁴, ⁹⁷VDRG¹⁰⁰, ¹⁰³NGC¹⁰⁵, ¹¹¹GGIVT¹¹⁵, 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 grupo de esferas, esferas usadas en la cavidad asociada al lazo "ij" se muestran en la Figura 4.

Se consideró en la evaluación energética de la interacción de los complejos receptor-ligando la contribución energética de cualquier residuo del receptor situado a una distancia máxima de 5Å del grupo de esferas mencionadas anteriormente. La evaluación energética del receptor se realizó previamente a la simulación del acoplamiento molecular con el programa Grid (una herramienta accesoria del programa Dock). Se consideró el ligando como una molécula flexible mediante el desarrollo de dos estrategias diferentes: en primer lugar, la generación de varias conformaciones de cada compuestos químico de la base de datos ZINC mediante el uso de 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, mediante el uso de la opción flexible del programa Dock (versiones 4.01 y 6.1). En el primer caso, se orientaron las conformaciones obtenidas de cada compuesto en el modelo atómico de la proteína E compatible con la estructura del virión maduro mediante el uso de la variante rígida del programa Dock (versiones 4.01 y 6.01). En ambos

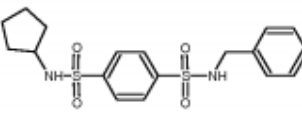
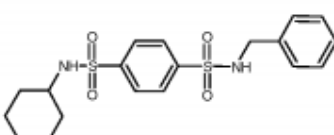
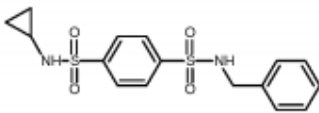
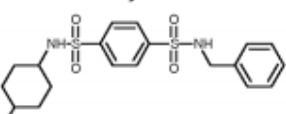
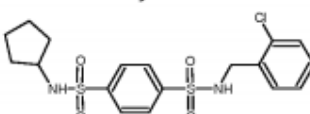
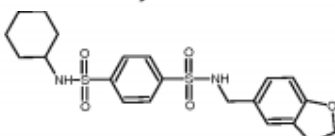
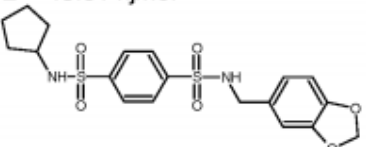
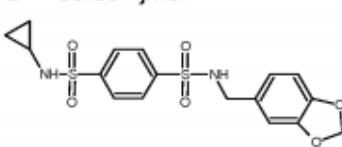
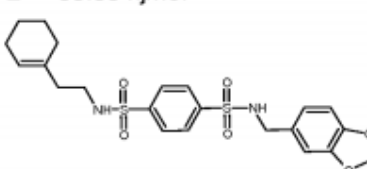
casos, se evaluó el modo de unión de cada complejo receptor-ligando mediante el uso de diferentes funciones de puntuación del programa Dock (por ejemplo, función química, función de energía y función de contacto) así como también otras funciones de puntuación tales como, la función implementada en el programa AutoDock (Morris, G.M., Goodsell, D.S., Haliday, 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 acoplado molecularmente en el sitio de unión (por ejemplo, Energía ≥ -35 kJmol⁻¹ en caso del programa Dock versión 4.01). Se analizó visualmente el modo de unión de cada una de las conformaciones seleccionadas.

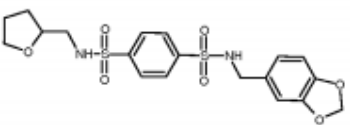
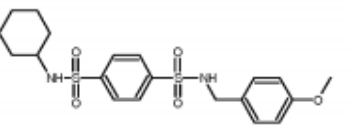
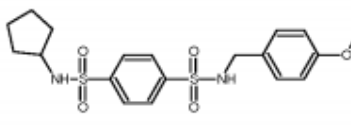
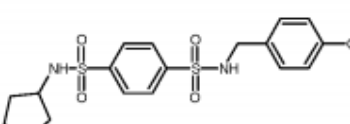
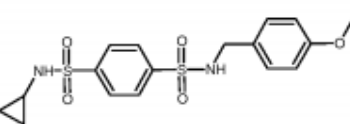
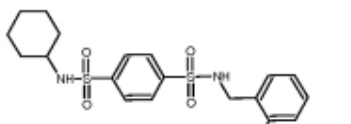
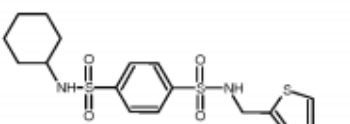
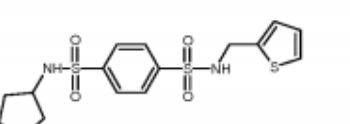
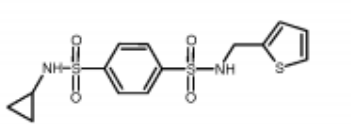
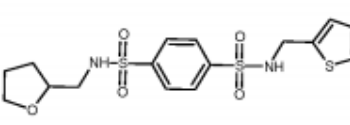
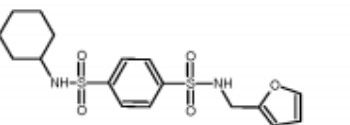
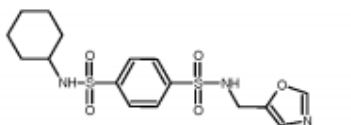
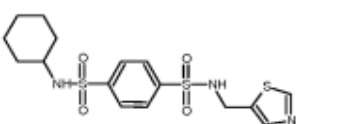
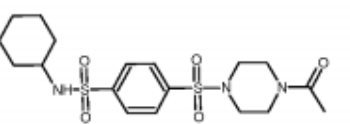
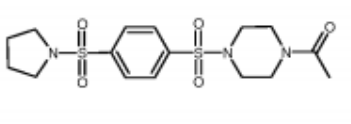
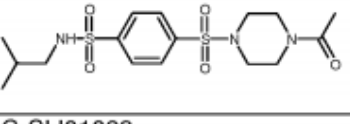
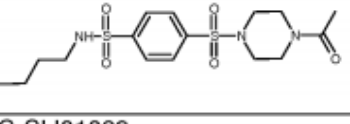
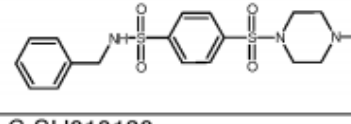
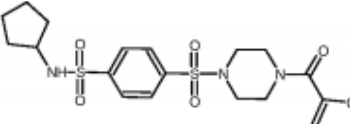
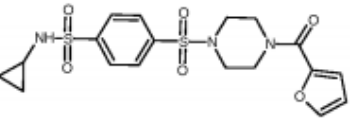
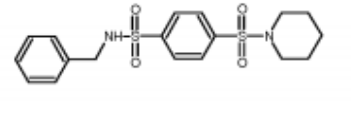
Finalmente, el análisis visual permitió distinguir entre los compuestos químicos con interacciones favorables desde el punto de vista energético, los compuestos químicos que se acomodan en la cavidad asociada al lazo "ij" y que además interactúan con:

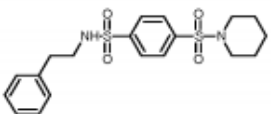
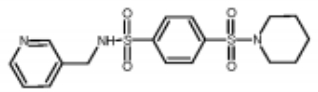
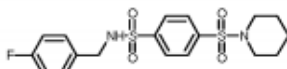
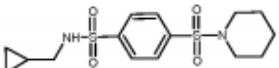
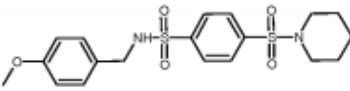
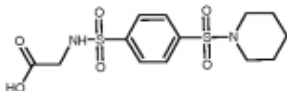
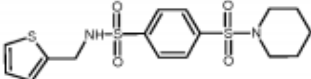
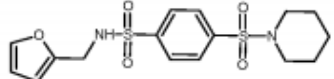
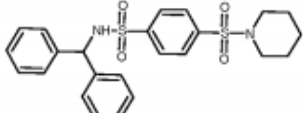
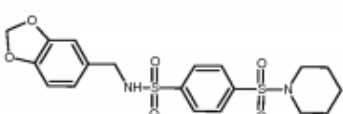
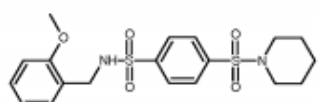
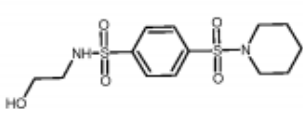
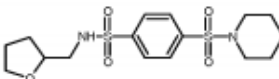
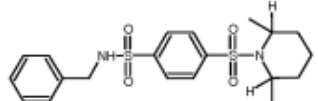
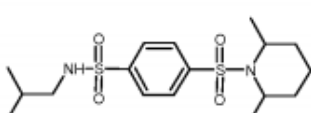
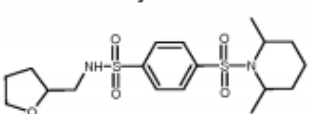
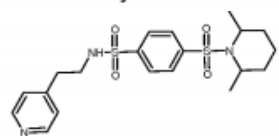
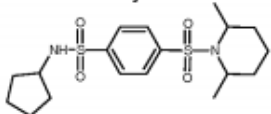
- los residuos que forman la cavidad asociada al lazo "ij", por ejemplo: Thr-70, Ser-72, Val-97, Asp-98, Arg-99, Asn-103, Ile-113, Thr-115, Ala-245, Lys-246, Lys-247, Gln-248 y Asp-249.
- los residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108.
- los residuos del monómero vecino 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.
- los residuos del lazo "ij", por ejemplo: His-244.

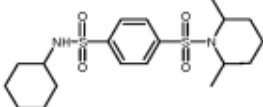
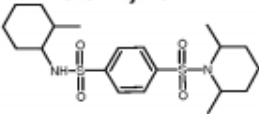
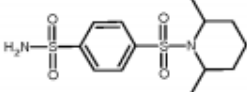
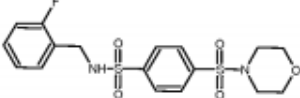
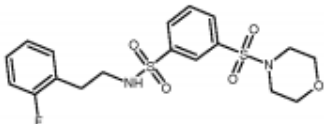
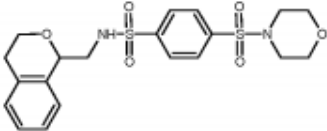
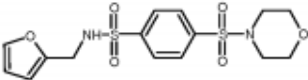
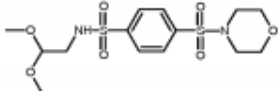
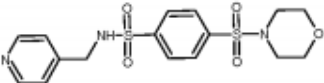
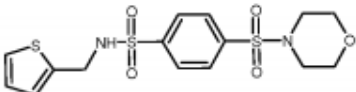
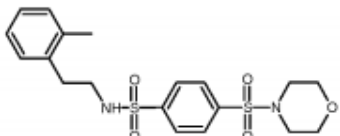
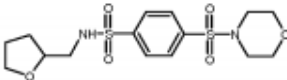
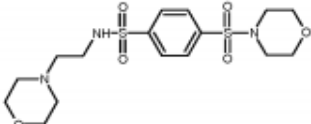
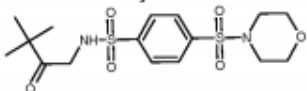
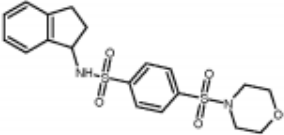
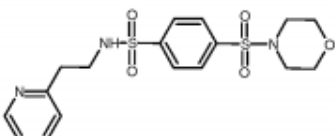
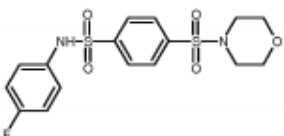
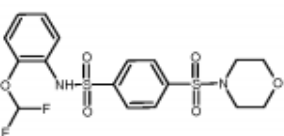
A continuación (Tabla 1) se muestran los compuestos químicos seleccionados mediante pesquijaje virtual y mediante el uso del modelo de farmacóforo 3D. Dichos compuestos químicos se unen a la cavidad asociada al lazo "ij" mediante las interacciones atómicas anteriormente descritas de acuerdo con las predicciones *in silico*.

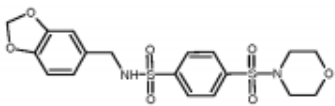
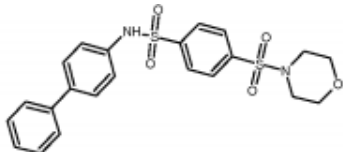
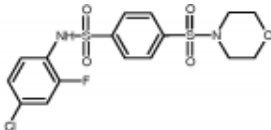
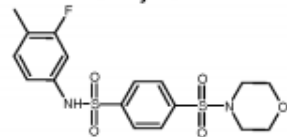
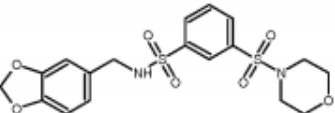
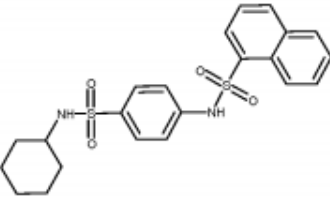
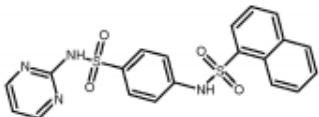
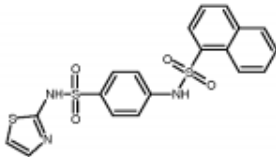
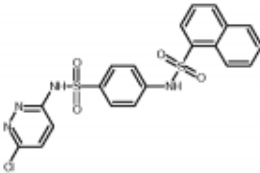
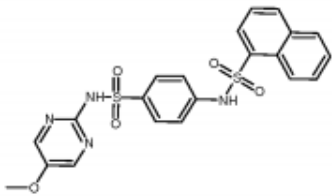
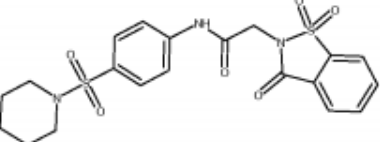
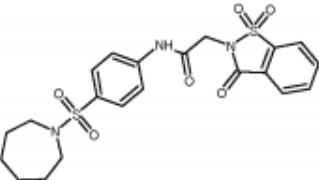
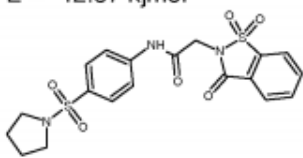
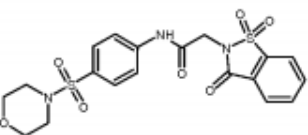
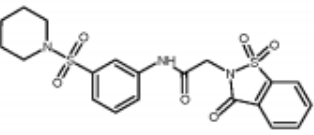
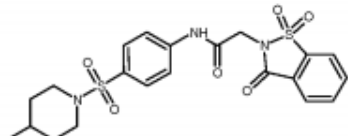
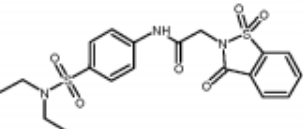
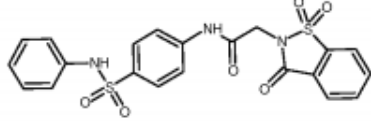
Tabla 1. Estructura 2D y valor de energía de unión de los compuestos químicos con una unión potencial favorable de acuerdo con la evaluación energética realizada con las funciones de puntuación de los programas Dock (versiones 4.01 y 6.1) y AutoDock y de acuerdo con la geometría y la composición química de los átomos que forman el sitio de unión. Los valores de energía reportados se calcularon con la función de energía del programa Dock 4.01.

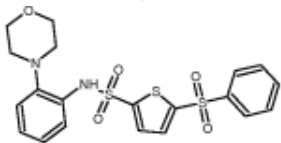
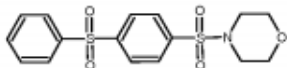
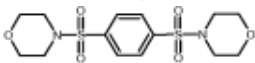
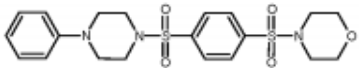
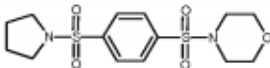
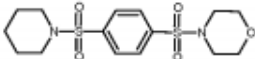
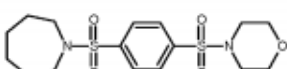
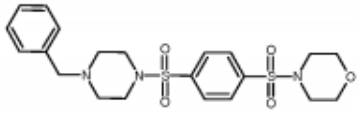
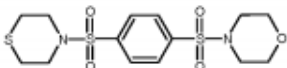
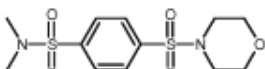
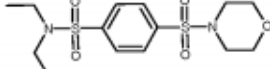
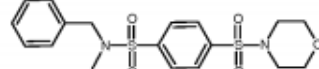
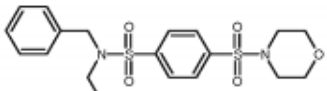
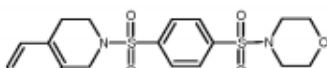
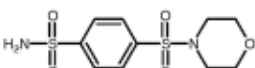
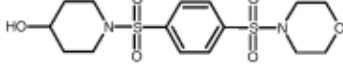
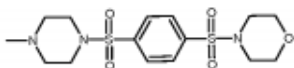
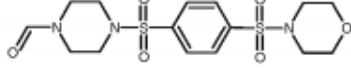
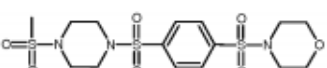
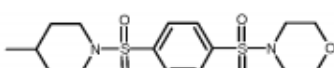
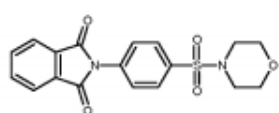
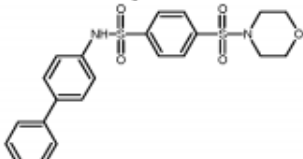
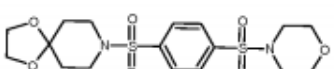
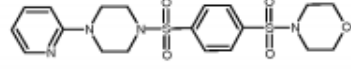
C-SIJ01001 E = -42.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01002 E = -42.90 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01003 E = -42.87 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01004 E = -42.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01005 E = -43.00 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01006 E = -45.29 kJmol⁻¹ 
C-SIJ01007 E = -43.61 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01008 E = -38.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01009 E = -38.83 kJmol⁻¹ 

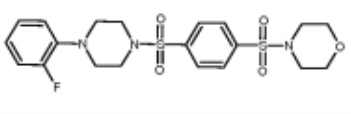
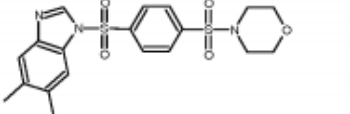
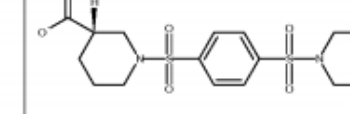
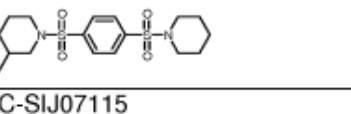
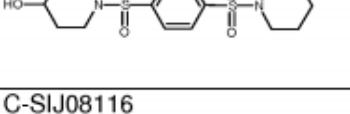
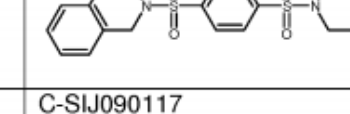
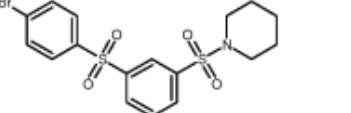
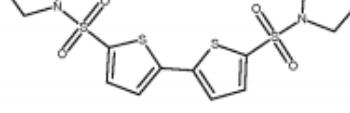
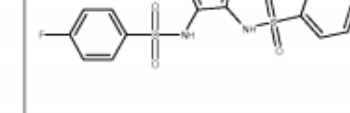
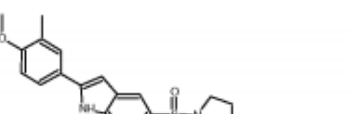
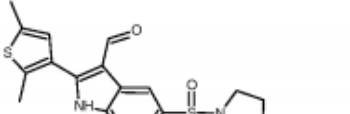
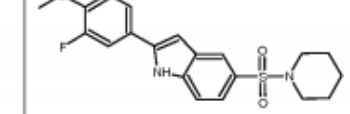
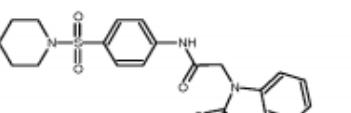
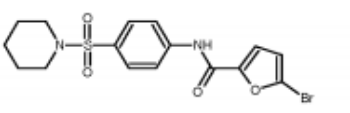
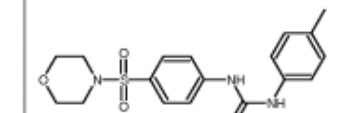
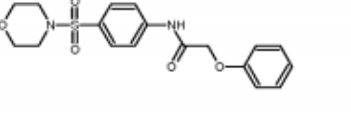
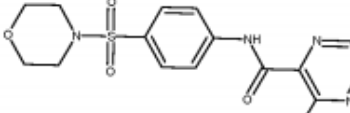
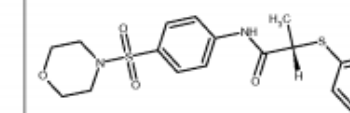
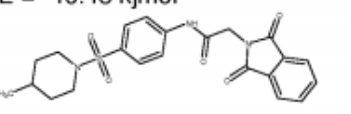
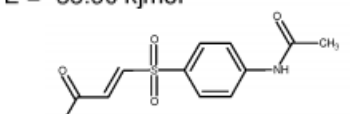
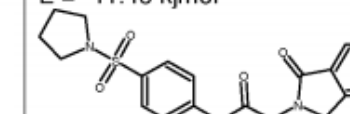
5	C-SIJ01010 E = -38.91 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01011 E = -42.21 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01012 E = -39.11 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ01013 E = -40.82 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01014 E = -40.86 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01015 E = -43.28 kJmol⁻¹ 
15			
20	C-SIJ01016 E = -43.28 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01017 E = -39.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01018 E = -39.93 kJmol⁻¹ 
25			
30	C-SIJ01019 E = -39.55 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01020 E = -43.26 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01021 E = -43.32 kJmol⁻¹ 
35			
40	C-SIJ01022 E = -43.37 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01023 E = -41.85 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01024 E = -38.60 kJmol⁻¹ 
45	C-SIJ01025 E = -38.54 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01026 E = -38.81 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01027 E = -38.99 kJmol⁻¹ 
50			
55	C-SIJ01028 E = -42.10 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01029 E = -42.30 kJmol⁻¹ 	C-SIJ010130 E = -42.18 kJmol⁻¹ 
60			

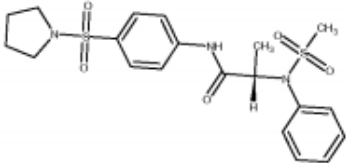
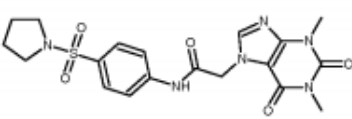
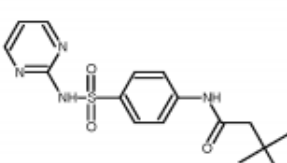
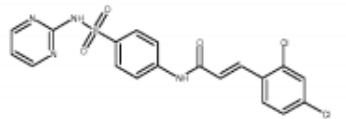
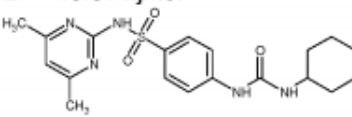
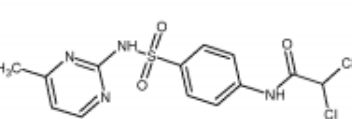
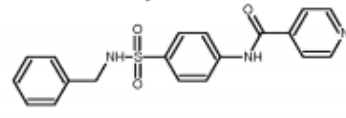
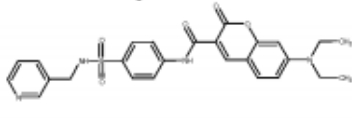
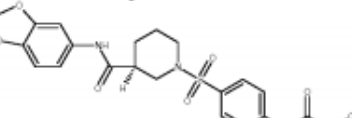
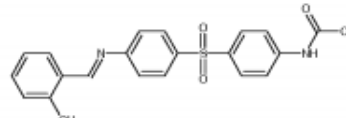
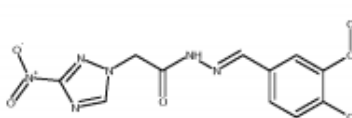
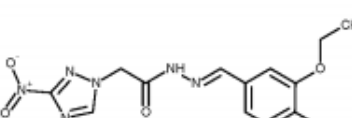
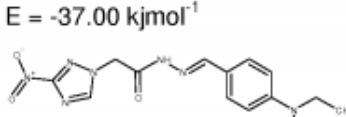
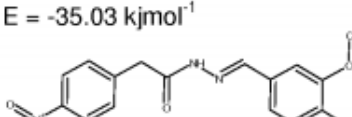
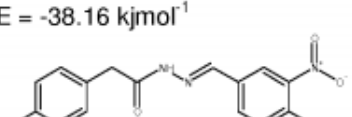
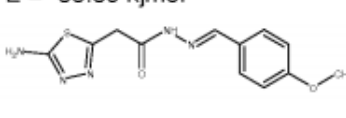
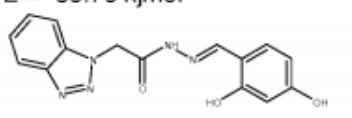
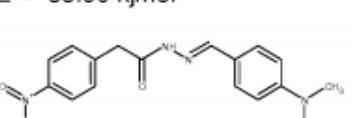
5	C-SIJ01031 E = -39.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01032 E = -39.45 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01033 E = -39.55 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ01034 E = -39.70 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01035 E = -38.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01036 E = -40.25 kJmol⁻¹ 
15	C-SIJ01037 E = -39.50 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01038 E = -39.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01039 E = -39.43 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ01040 E = -39.21 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01041 E = -39.34 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01042 E = -38.95 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ01043 E = -38.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01044 E = -42.21 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01045 E = -40.79 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ01046 E = -40.25 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01047 E = -40.13 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01048 E = -39.87 kJmol⁻¹ 
35			
40			
45			
50			

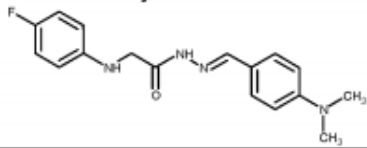
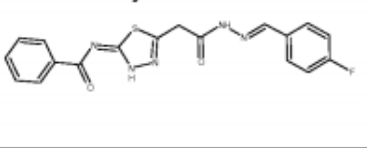
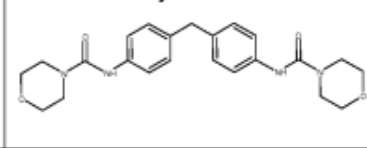
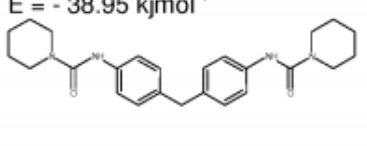
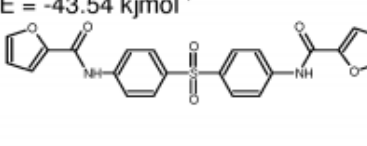
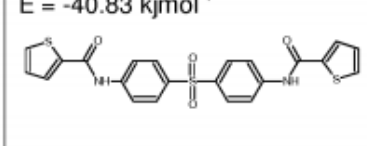
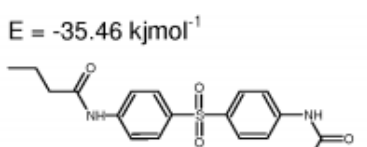
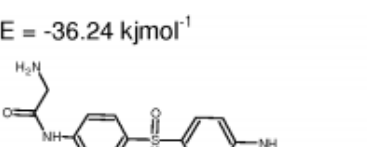
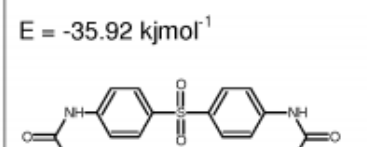
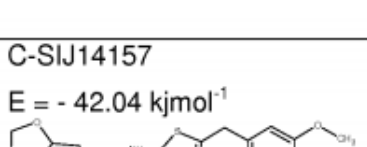
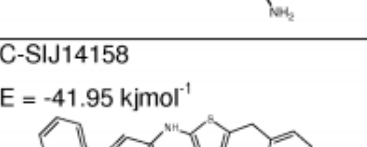
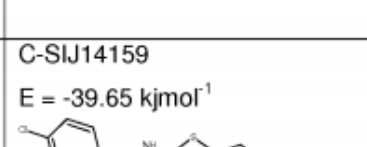
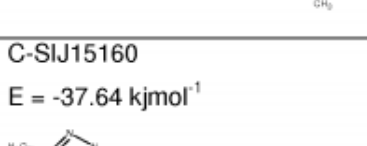
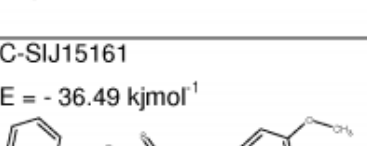
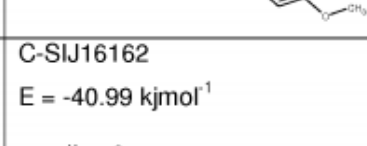
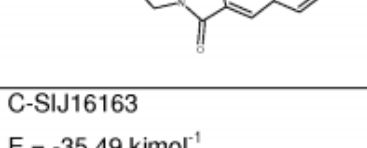
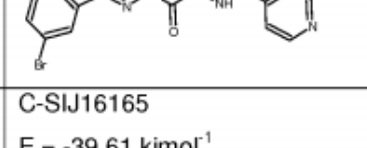
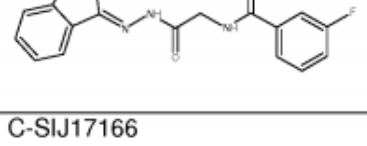
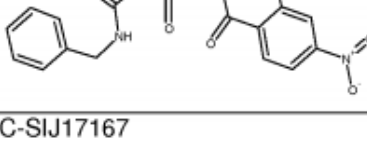
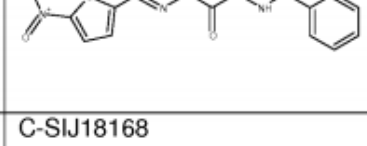
5	C-SIJ01049 E = -40.11 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01050 E = -40.02 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01051 E = -39.79 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ01052 E = -43.63 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01053 E = -43.42 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01054 E = -43.51 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ01055 E = -42.91 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01056 E = -42.87 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01057 E = -42.17 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ01058 E = -42.10 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01059 E = -42.35 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01060 E = -41.25 kJmol⁻¹ 
40	C-SIJ01061 E = -41.62 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01062 E = -42.15 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01063 E = -42.06 kJmol⁻¹ 
50	C-SIJ01064 E = -42.06 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01065 E = -41.36 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01066 E = -42.09 kJmol⁻¹ 

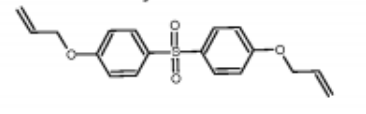
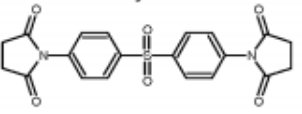
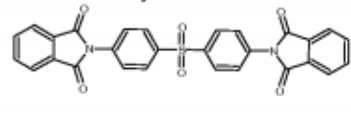
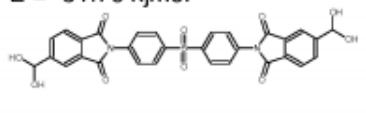
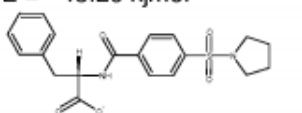
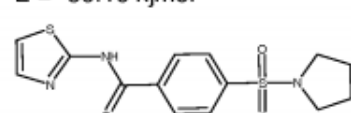
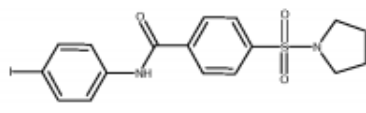
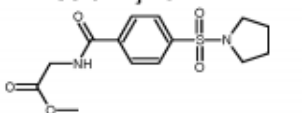
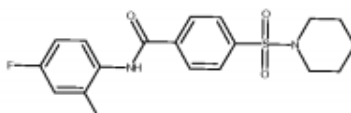
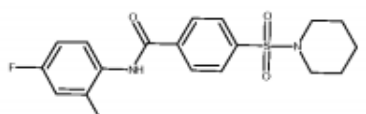
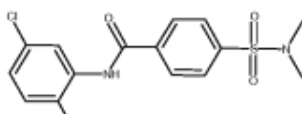
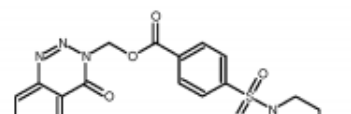
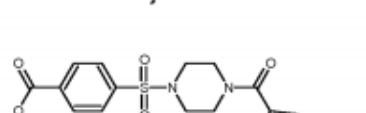
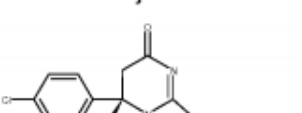
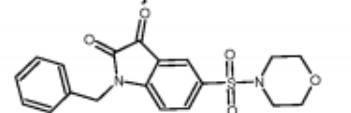
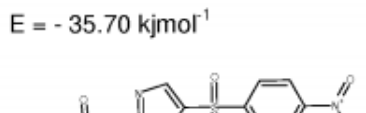
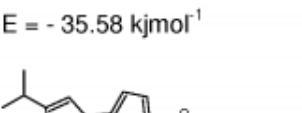
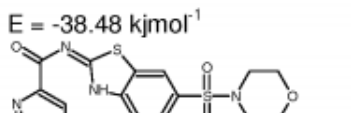
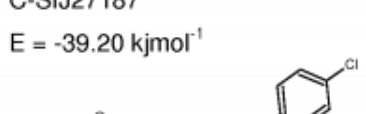
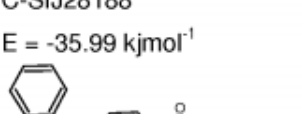
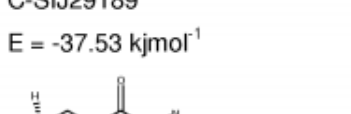
5	C-SIJ01067 E = -42.19 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01068 E = -41.90 kJmol⁻¹ 	C-SIJ01069 E = -41.86 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ01070 E = -41.64 kJmol⁻¹ 	C-SIJ02071 E = -37.69 kJmol⁻¹ 	C-SIJ03072 E = -38.61 kJmol⁻¹ 
15	C-SIJ03073 E = -39.43 kJmol⁻¹ 	C-SIJ03074 E = -38.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ03075 E = -38.56 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ03076 E = -39.65 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04077 E = -42.76 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04078 E = -42.15 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ04079 E = -42.57 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04080 E = -41.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04081 E = -41.87 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ04082 E = -42.05 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04083 E = -42.74 kJmol⁻¹ 	C-SIJ04084 E = -41.88 kJmol⁻¹ 
35			
40			
45			
50			
55			
60			

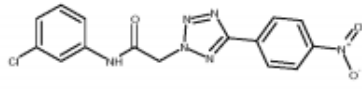
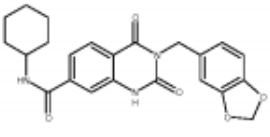
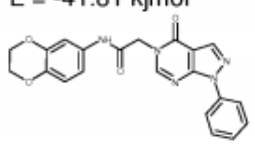
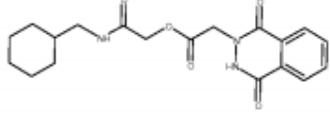
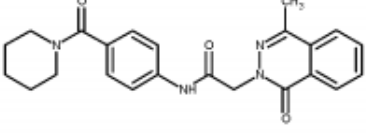
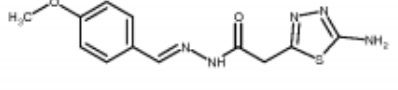
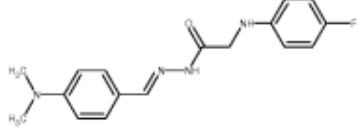
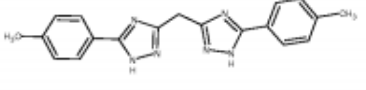
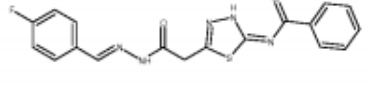
5	C-SIJ05085 E = -49.25 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06086 E = -40.84 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06087 E = -40.84 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ06088 E = -40.73 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06089 E = -40.24 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06090 E = -39.81 kJmol⁻¹ 
15			
20	C-SIJ06091 E = -39.34 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06092 E = -39.53 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06093 E = -40.11 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ06094 E = -40.04 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06095 E = -39.76 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06096 E = -38.82 kJmol⁻¹ 
30			
35	C-SIJ06097 E = -40.81 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06098 E = -39.77 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06099 E = -40.01 kJmol⁻¹ 
40	C-SIJ06100 E = -39.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06101 E = -40.92 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06102 E = -40.05 kJmol⁻¹ 
45			
50	C-SIJ06103 E = -39.82 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06104 E = -38.80 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06105 E = -40.43 kJmol⁻¹ 
55	C-SIJ06106 E = -40.85 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06107 E = -40.96 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06108 E = -39.56 kJmol⁻¹ 
60			

5	C-SIJ06109 E = -40.14 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06110 E = -43.61 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06111 E = -42.21 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ06112 E = -42.34 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06113 E = -42.13 kJmol⁻¹ 	C-SIJ06114 E = -42.01 kJmol⁻¹ 
15			
20	C-SIJ07115 E = -39.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ08116 E = -35.57 kJmol⁻¹ 	C-SIJ090117 E = -39.53 kJmol⁻¹ 
25			
30	C-SIJ10118 E = -37.69 kJmol⁻¹ 	C-SIJ10119 E = -35.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ10120 E = -38.85 kJmol⁻¹ 
35			
40	C-SIJ11121 E = -43.71 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11122 E = -39.65 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11123 E = -37.49 kJmol⁻¹ 
45			
50	C-SIJ11124 E = -38.44 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11125 E = -41.12 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11126 E = -45.11 kJmol⁻¹ 
55			
60	C-SIJ11127 E = -46.48 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11128 E = -35.90 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11129 E = -41.45 kJmol⁻¹ 

5	C-SIJ11130 E = -41.32 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11131 E = -40.35 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11132 E = -35.49 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ11133 E = -40.75 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11134 E = -40.61 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11135 E = -37.03 kJmol⁻¹ 
15	C-SIJ11136 E = -39.52 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11137 E = -41.65 kJmol⁻¹ 	C-SIJ11138 E = -41.83 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ11139 E = -40.67 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12140 E = -37.94 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12141 E = -36.98 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ120142 E = -37.00 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12143 E = -35.03 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12144 E = -38.16 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ12145 E = -35.89 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12146 E = -35.76 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12147 E = -35.90 kJmol⁻¹ 
35			
40			
45			
50			
55			

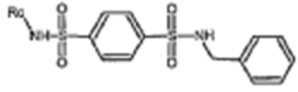
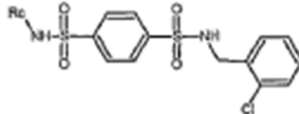
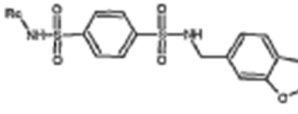
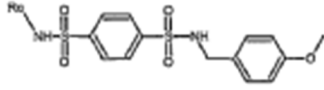
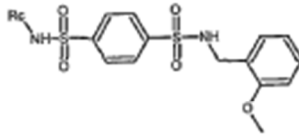
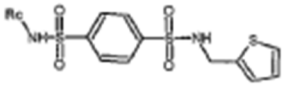
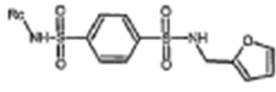
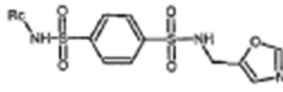
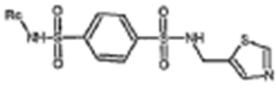
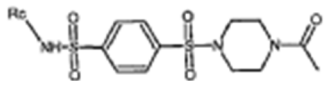
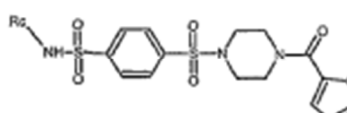
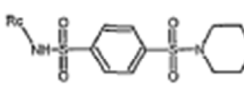
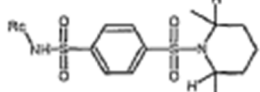
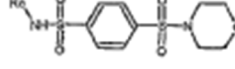
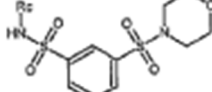
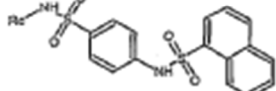
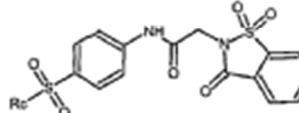
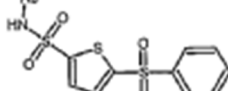
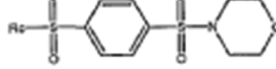
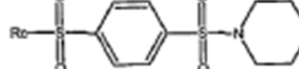
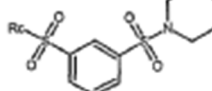
5	C-SIJ12148 E = -36.05 kJmol⁻¹ 	C-SIJ12149 E = -39.86 kJmol⁻¹ 	C-SIJ13150 E = -38.28 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ130151 E = -38.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ13152 E = -43.54 kJmol⁻¹ 	C-SIJ131543 E = -40.83 kJmol⁻¹ 
15	C-SIJ13154 E = -35.46 kJmol⁻¹ 	C-SIJ13155 E = -36.24 kJmol⁻¹ 	C-SIJ13156 E = -35.92 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ14157 E = -42.04 kJmol⁻¹ 	C-SIJ14158 E = -41.95 kJmol⁻¹ 	C-SIJ14159 E = -39.65 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ15160 E = -37.64 kJmol⁻¹ 	C-SIJ15161 E = -36.49 kJmol⁻¹ 	C-SIJ16162 E = -40.99 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ16163 E = -35.49 kJmol⁻¹ 	C-SIJ16164 E = -38.32 kJmol⁻¹ 	C-SIJ16165 E = -39.61 kJmol⁻¹ 
35	C-SIJ17166 E = -41.78 kJmol⁻¹ 	C-SIJ17167 E = -41.81 kJmol⁻¹ 	C-SIJ18168 E = -35.12 kJmol⁻¹ 
40			
45			
50			
55			
60			

5	C-SIJ18169 E = -35.81 kJmol⁻¹ 	C-SIJ19170 E = -39.59 kJmol⁻¹ 	C-SIJ19171 E = -45.83 kJmol⁻¹ 
10	C-SIJ19172 E = -51.76 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20173 E = -45.26 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20174 E = -36.16 kJmol⁻¹ 
15	C-SIJ20175 E = -37.22 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20176 E = -36.91 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20177 E = -39.12 kJmol⁻¹ 
20	C-SIJ20178 E = -39.12 kJmol⁻¹ 	C-SIJ20179 E = -37.61 kJmol⁻¹ 	C-SIJ21180 E = -45.03 kJmol⁻¹ 
25	C-SIJ21181 E = -38.83 kJmol⁻¹ 	C-SIJ22182 E = -39.43 kJmol⁻¹ 	C-SIJ23183 E = -38.58 kJmol⁻¹ 
30	C-SIJ24184 E = -35.70 kJmol⁻¹ 	C-SIJ25185 E = -35.58 kJmol⁻¹ 	C-SIJ26186 E = -38.48 kJmol⁻¹ 
35	C-SIJ27187 E = -39.20 kJmol⁻¹ 	C-SIJ28188 E = -35.99 kJmol⁻¹ 	C-SIJ29189 E = -37.53 kJmol⁻¹ 
40			
45			
50			
55			
60			

C-SIJ30190 $E = -37.16 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ31191 $E = -40.77 \text{ kJmol}^{-1}$ 	C-SIJ32192 $E = -41.81 \text{ kJmol}^{-1}$ 
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 $E = -39.86 \text{ kJmol}^{-1}$ 

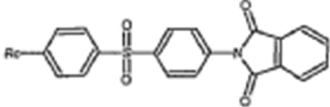
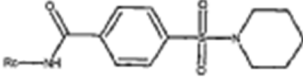
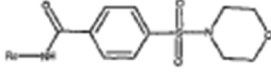
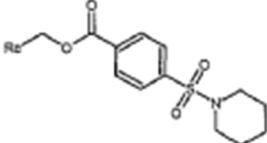
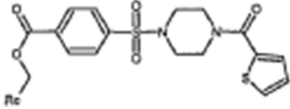
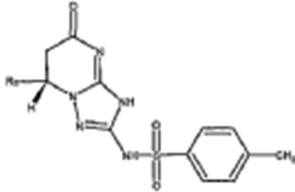
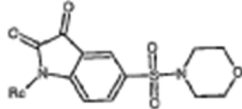
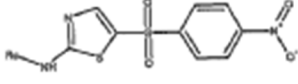
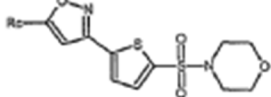
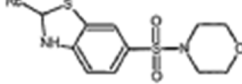
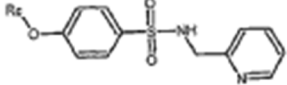
Ejemplo 3. Descripción de subestructuras anclas.

El análisis visual del modo de unión predicho *in silico* de los compuestos químicos acoplados molecularmente a la hendidura asociada al lazo "ij" con los mayores valores de energía permitió la detección de subestructuras con interacciones potenciales 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 se reconocen como subestructuras anclas en la presente invención. Las subestructuras anclas permiten la definición de un modelo farmacofórico 3D (Figura 5) que tiene 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 esta invención se complementó mediante el uso del 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 se usó para la identificación *in silico* de nuevas subestructuras anclas, que posteriormente se orientaron en el sitio de unión del receptor y se evaluaron mediante el uso del programa Dock, de manera similar a como se describe en el Ejemplo 2. Las subestructuras anclas se agruparon basado en su similitud química y el 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 enlace de hidrógeno (D_{1-4}), y/o b) un elemento aceptor de enlace de hidrógeno y/o grupo con carga negativa (A_1 , A_2 , A_3), y/o c) un elemento hidrofóbico (H_{1-3}), y/o d) un elemento aceptor de enlace de hidrógeno y/o donador de enlace de hidrógeno (D/A), y/o e) un elemento simultáneamente donador-aceptor de enlace de hidrógeno (D+A), y estos elementos (a) - (e) se seleccionan 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 

5	A-SIJ116 	A-SIJ117 	A-SIJ118
10	A-SIJ121 	A-SIJ122 	A-SIJ123
15	A-SIJ124 	A-SIJ125 	A-SIJ126
20	A-SIJ127 	A-SIJ128 	A-SIJ130
25	A-SIJ131 	A-SIJ132 	A-SIJ133
30	A-SIJ134 	A-SIJ135 	A-SIJ136
35	A-SIJ137 	A-SIJ138 	A-SIJ140
40	A-SIJ141 	A-SIJ142 	A-SIJ144
45			
50			
55			
60			

5	A-SIJ145 	A-SIJ146 	A-SIJ147
10	A-SIJ149 	A-SIJ150 	A-SIJ151
15	A-SIJ152 	A-SIJ153 	A-SIJ154
20	A-SIJ155 	A-SIJ156 	A-SIJ157
25	A-SIJ159 	A-SIJ160 	A-SIJ161
30	A-SIJ162 	A-SIJ163 	A-SIJ164
35	A-SIJ0165 	A-SIJ166 	A-SIJ167
40	A-SIJ168 	A-SIJ169 	A-SIJ170
45	A-SIJ171 	A-SIJ172 	A-SIJ173
50			
55			
60			

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

Ejemplo 4. Relación modelo de farmacóforo-subestructura ancla.

Cada elementos del modelo de farmacóforo 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 de farmacóforo. A continuación se describe el modo de unión de algunas subestructuras anclas.

Ancla A-SU023

La subestructura ancl A-SIJ023 contiene los siguientes elementos del modelo de farmacóforo: D₁, A₁⁻, A₂⁻, D/A, H₃ y H₂ como se muestra en la Figura 6 (a). El grupo NH que 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 sulfonilo (más próximo a la subestructura cabeza (Rc)) que corresponden al elemento A₁⁻ establecen interacciones electrostáticas con el grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246. Los átomos de oxígeno del restante grupo sulfonilo en la subestructura ancla corresponden al elemento A₂⁻ y aceptan el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72. El grupo oxo que corresponde al 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 corresponden con el elemento H₃ y forman interacciones hidrofóbicas con las cadenas laterales de los residuos Val-97 e Ile-113. El grupo CH₃ que corresponde al elemento H₂ implica interacciones hidrofóbicas con porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente con átomos de carbono Cβ y Cδ.

Ancla A-SIJ118

La subestructura ancla A-SIJ118 contiene los siguientes elementos del modelo de farmacóforo: D₁, A₁⁻, A₂⁻, H₃ y H₂ tal como se describe en la Figura 6 (b). El grupo NH que corresponde al elemento D₁ comparte su átomo de hidrógeno con el átomo de oxígeno del grupo carbonilo de la cadena lateral del residuo Asp-98. El átomo de oxígeno que corresponde al elemento A₁⁻ forma enlace de hidrógeno e interacciones electrostáticas con el grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-246. Los átomos de oxígeno del grupo sulfonilo corresponden al elemento A₂⁻ y participan en el enlace 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 corresponden al elemento H₃ forman interacciones hidrofóbicas con la cadena lateral de los

residuos Val-97 e Ile-113 y los que se corresponden al elemento H₂ implica interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente los carbonos Cβ y Cδ.

Ancla A-SIJ121

La subestructura ancla A-SIJ121 contiene los siguientes elementos del modelo de farmacóforo: D₂, A₁⁻, A₂⁻ y H₂ tal como se muestra en la Figura 6 (c). El grupo NH que corresponde al elemento D₂ comparte su átomo de hidrógeno con el oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys- 246. Los átomos de oxígeno del grupo sulfonilo que corresponden al elemento A₁⁻ establecen interacciones electrostáticas y enlace 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 corresponden al elemento A₂⁻ forman enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72. Los átomos de carbono que corresponden al elemento H₂ participan en interacciones hidrofóbicas con la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246, particularmente con los átomo de carbono Cβ y Cδ.

Ejemplo 5. Ensayos experimentales

Inhibición de la infección viral en células Vero.

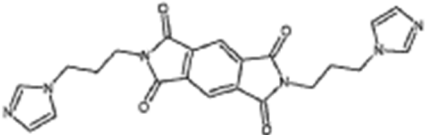
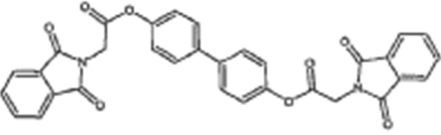
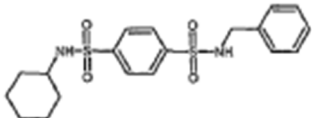
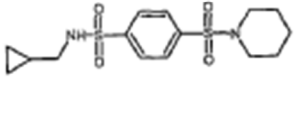
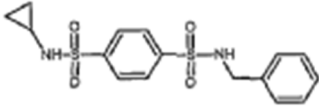
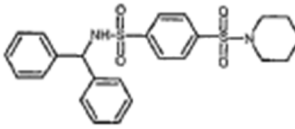
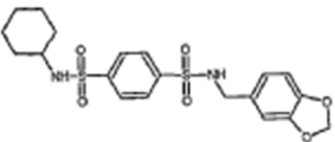
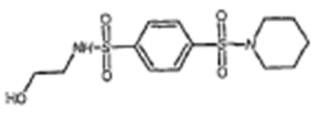
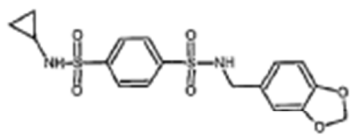
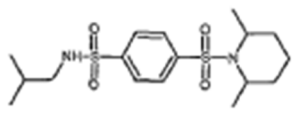
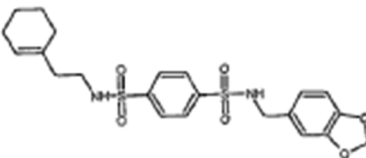
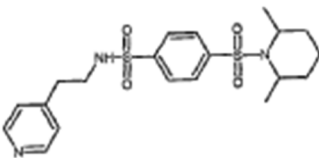
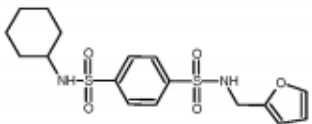
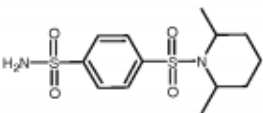
Con el objetivo de demostrar la capacidad de los compuestos químicos descritos en la presente para inhibir la infección viral por el virus Dengue *in vitro*, los mismos se evaluaron en ensayos de inhibición de en placas en células Vero.

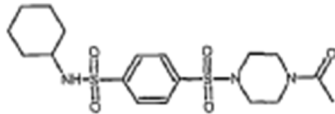
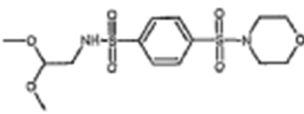
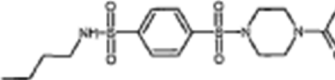
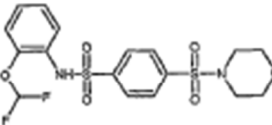
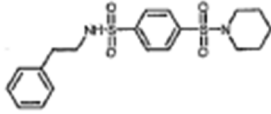
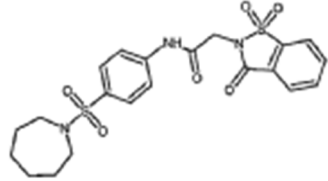
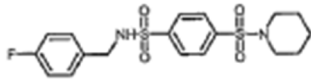
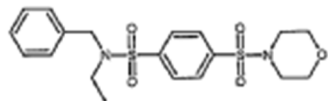
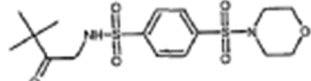
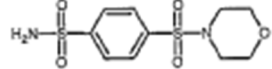
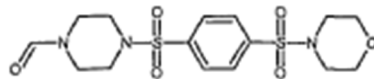
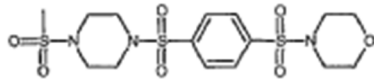
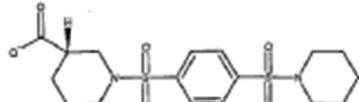
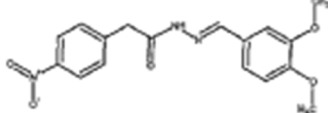
Las células Vero se crecieron en placas de 24 pozos hasta que la monocapa alcanzó alrededor del 90% de confluencia y se realizaron dos lavados de la monocapa con medio MEM sin SFB. Las preparaciones de virus DEN2 equivalente a una multiplicidad de infección de 0.1 se preincubaron en medio MEM con y sin la presencia de los compuestos químicos (100 uM) por alrededor de 1 hora a temperatura ambiente. Después, la mezcla virus/compuestos y la mezcla virus/control se incubaron con las monocapas durante 1 hora a 37° C. Después de finalizada la incubación, las células se lavaron nuevamente y se incubaron durante 5 días a 37° C en medio de alta densidad (MEM complementado con aminoácidos no esenciales, 1 % SFB, 1 % carboximetilcelulosa) para propiciar la formación de las placas de lisis. Para la tinción se usó 0.1 % Naphtol Blue Black 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 se calculó de acuerdo a la expresión siguiente:

$$I = 100 \times \left[1 - \frac{\text{Núm. de placas}}{\text{Núm. de placas virus control}} \right]$$

Como se observa en la Tabla 3, los compuestos descritos en la presente invención muestran actividad antiviral (I) contra el virus DEN2 a la concentración ensayada. El efecto antiviral observado para el 80% de los compuestos químicos es moderado (30% < R < 70%) o potente (70% < I < 100%). El conjunto de compuestos químicos activos incluye compuestos que contienen diferentes subestructuras anclas, así como también diferentes subestructuras cabezas de una misma subestructura ancla, lo que indicala factibilidad del diseño de antivirales descrito en la presente invención a partir de varios "núcleos" químicos.

Tabla 3. Medición del efecto antiviral *in vitro* contra virus DEN2 de varios 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 	+

5	C-SIJ01023 	++	C-SIJ01056 	++
10	C-SIJ01026 	+	C-SIJ01066 	++
15	C-SIJ01031 	++	C-SIJ04078 	++
20	C-SIJ01033 	+	C-SIJ06097 	++
25	C-SIJ01062 	++	C-SIJ06099 	+
30	C-SIJ06102 	+	C-SIJ06103 	++
35	C-SIJ06111 	++	C-SIJ12143 	++

++indica70%≤I<100%

*indica 30%<I<70%

indica 30%<I≤ 0%

Evaluación de la toxicidad de los compuestos químicos.

Para descartar que la actividad antiviral observada sea debido a alteraciones celulares y citotoxicidad inducida por los compuestos, las monocapas de células Vero se expusieron durante 24 horas a soluciones de estos compuestos preparadas a una concentración de 500 uM y la viabilidad celular se determinó mediante el ensayo de MTT (ensayo de proliferación celular TACS™, R&D systems, Minneapolis, MN). No se observaron diferencias significativas de la viabilidad de las células tratadas con los compuestos químicos y las células control no tratadas o tratadas con DMSO.

Especificidad de la actividad inhibitoria.

Con el objetivo de determinar si los compuestos químicos inhiben específicamente las células infectadas por el virus Dengue (y otros *flavivirus* relacionados), se ensayó el efecto inhibitorio de estos compuestos químicos 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. Compuesto químico para el uso en la atenuación o inhibición de la infección por el virus Dengue, donde dicho compuesto químico comprende dos subestructuras funcionalmente diferentes de acuerdo con la fórmula siguiente:

[C]-[A]

en donde,

[A] se define como ancla y corresponde a una subestructura química que se une al surco asociado al lazo "ij" en la proteína E, y en donde dicha subestructura adopta una conformación que comprende al menos tres de los siguientes elementos:

a) un elemento donador de enlace de hidrógeno (D_{1-4}), y/o

b) un elemento aceptor de enlace de hidrógeno y/o elemento cargado negativamente (A_{1-} , A_{2-} , A_3), y/o

c) un elemento hidrofóbico (H_{1-3}), y/o

d) un elemento aceptor y/o donador de enlace de hidrógeno (D/A), y/o

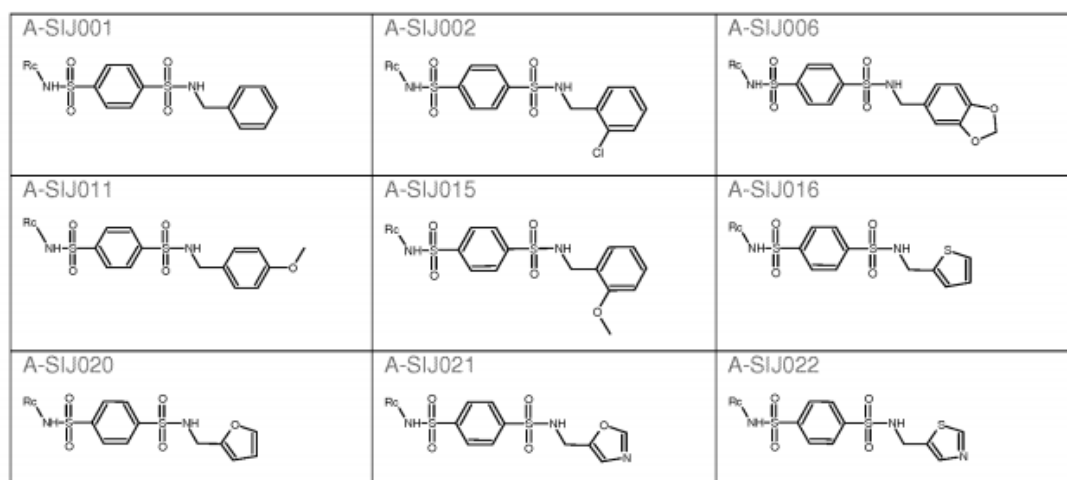
e) un elemento simultáneamente donador-aceptor de enlace de hidrógeno ($D+A$),

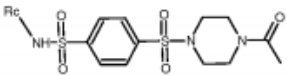
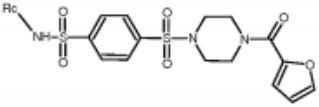
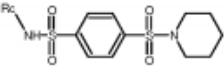
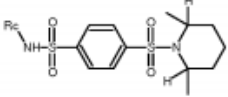
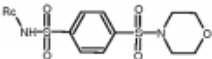
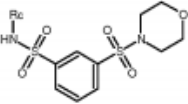
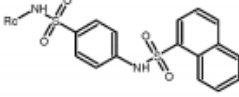
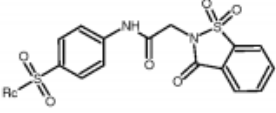
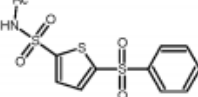
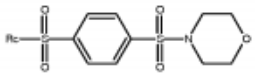
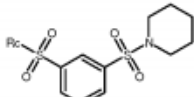
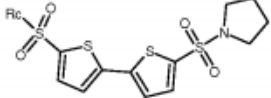
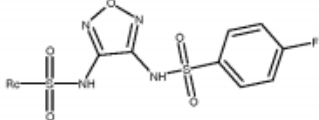
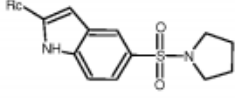
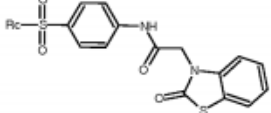
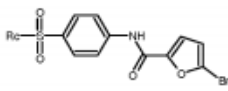
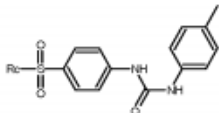
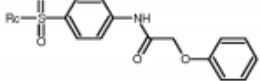
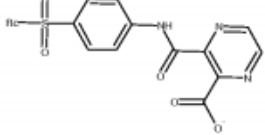
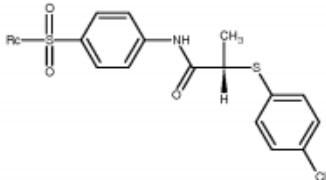
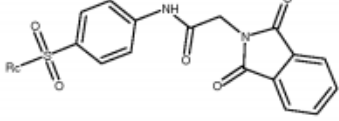
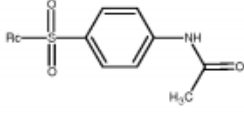
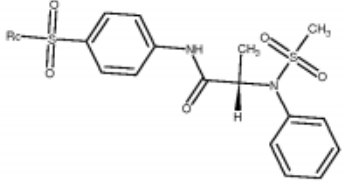
y en donde los elementos (a) - (e) se seleccionaron de los elementos siguientes que constituyen el modelo de farmacóforo 3D siguiente: D_1 , D_2 , D_3 , D_4 , A_{1-} , A_{2-} , A_3 , D/A , H_1 , H_2 , H_3 y $D+A$, en donde:

las distancias interatómicas entre los elementos D_1 , D_2 , D_3 , D_4 , A_{1-} , A_{2-} , A_3 , D/A , H_1 , H_2 , H_3 y $D+A$ son las siguientes: $[D_1]-[D_2] = 2.9 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[D_3] = 4.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[D_4] = 17.4 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[A_{1-}] = 3.9 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[A_{2-}] = 7.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[A_3] = 10.6 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[D+A] = 10.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[D/A] = 12.9 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[H_1] = 5.1 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[H_2] = 9.3 \pm 1\text{\AA}$, $[D_1]-[H_3] = 7.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[D_3] = 3.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[D_4] = 15.5 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[A_{1-}] = 5.8 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[A_{2-}] = 6.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[A_3] = 8.4 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[D+A] = 11.6 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[D/A] = 8.6 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[H_1] = 5.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[H_2] = 8.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_2]-[H_3] = 5.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[D_4] = 14.8 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[A_{1-}] = 7.1 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[A_{2-}] = 3.4 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[A_3] = 7.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[D+A] = 10.5 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[D/A] = 6.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[H_1] = 4.4 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[H_2] = 6.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_3]-[H_3] = 3.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[A_{1-}] = 17.3 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[A_{2-}] = 16.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[A_3] = 9.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[D+A] = 5.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[D/A] = 13.4 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[H_1] = 13.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[H_2] = 9.7 \pm 1\text{\AA}$, $[D_4]-[H_3] = 12.4 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[A_{2-}] = 10.0 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[A_3] = 12.4 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[D+A] = 12.7 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[D/A] = 12.8 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[H_1] = 5.1 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[H_2] = 10.4 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{1-}]-[H_3] = 9.6 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[A_3] = 7.3 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[D+A] = 11.8 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[D/A] = 4.0 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[H_1] = 7.1 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[H_2] = 6.6 \pm 1\text{\AA}$, $[A_{2-}]-[H_3] = 3.9 \pm 1\text{\AA}$, $[A_3]-[D+A] = 6.5 \pm 1\text{\AA}$, $[A_3]-[D/A] = 4.9 \pm 1\text{\AA}$, $[A_3]-[H_1] = 7.7 \pm 1\text{\AA}$, $[A_3]-[H_2] = 3.7 \pm 1\text{\AA}$, $[A_3]-[H_3] = 3.9 \pm 1\text{\AA}$, $[D+A]-[D/A] = 10.0 \pm 1\text{\AA}$, $[D+A]-[H_1] = 8.1 \pm 1\text{\AA}$, $[D+A]-[H_2] = 5.3 \pm 1\text{\AA}$, $[D+A]-[H_3] = 8.6 \pm 1\text{\AA}$, $[D/A]-[H_1] = 8.6 \pm 1\text{\AA}$, $[D/A]-[H_2] = 5.2 \pm 1\text{\AA}$, $[D/A]-[H_3] = 3.8 \pm 1\text{\AA}$, $[H_1]-[H_2] = 5.3 \pm 1\text{\AA}$, $[H_1]-[H_3] = 5.5 \pm 1\text{\AA}$, $[H_2]-[H_3] = 3.9 \pm 1\text{\AA}$;

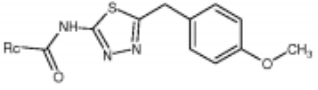
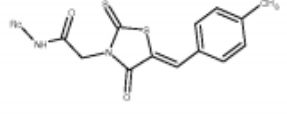
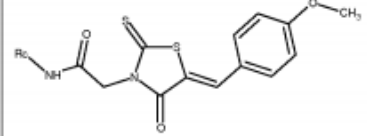
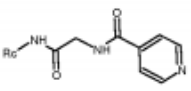
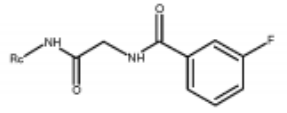
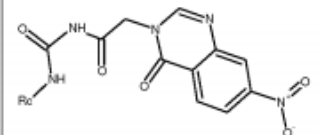
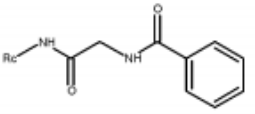
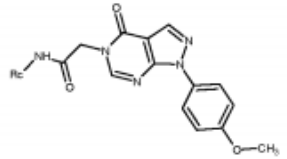
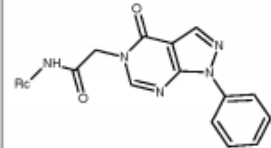
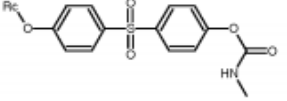
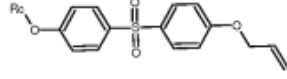
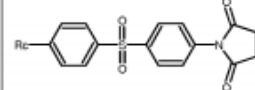
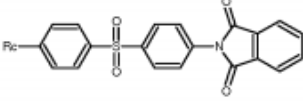
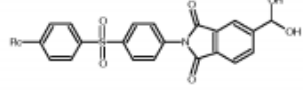
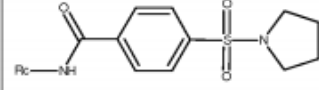
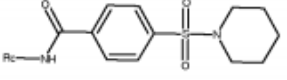
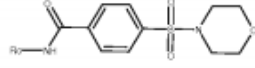
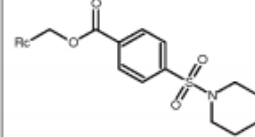
D_1 , D_2 , D_3 y D_4 corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos donadores de enlace de hidrógeno; A_{1-} y A_{2-} corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno y/o un átomo o grupo de átomos que se cargan negativamente; D/A corresponde a un átomo o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno y/o donadores de enlaces de hidrógeno; A_3 corresponde a un átomo o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno; H_1 , H_2 , H_3 corresponde cada uno a un átomo o grupos de átomos no polares; $D+A$ corresponde a un átomo o grupos de átomos que son simultáneamente donores-aceptores de enlace de hidrógeno;

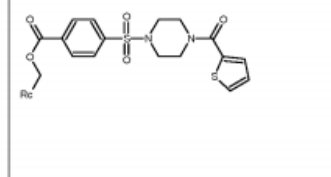
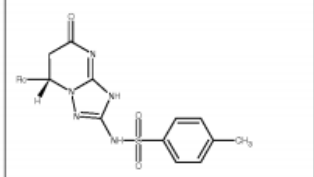
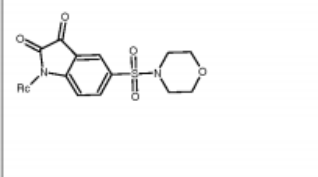
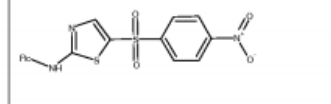
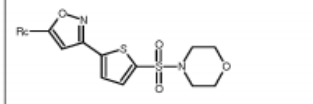
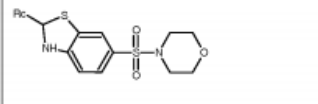
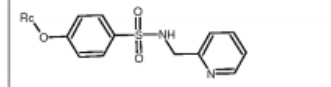
[C] se define como cabeza y corresponde a una subestructura química unida covalentemente a la subestructura ancla [A] y dicha subestructura aporta o favorece la capacidad de las moléculas descritas en la presente invención para inhibir la infección por virus Dengue afectando o modulando una o más de las interacciones intermoleculares en las que se implica la proteína E; y en donde la subestructura ancla [A] es cualquiera de los siguientes radicales:



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 

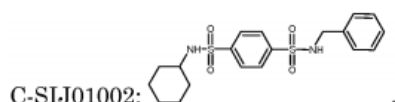
A-SIJ131	A-SIJ132	A-SIJ133
A-SIJ134	A-SIJ135	A-SIJ136
A-SIJ137	A-SIJ138	A-SIJ140
A-SIJ141	A-SIJ142	A-SIJ144
A-SIJ145	A-SIJ146	A-SIJ147
A-SIJ149	A-SIJ150	A-SIJ151
A-SIJ152	A-SIJ153	A-SIJ154
A-SIJ155	A-SIJ156	A-SIJ157

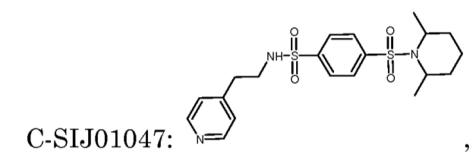
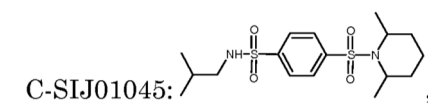
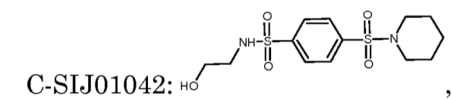
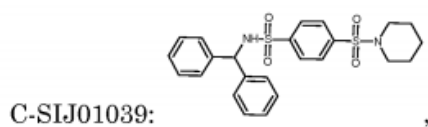
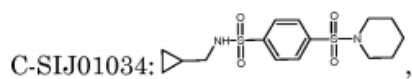
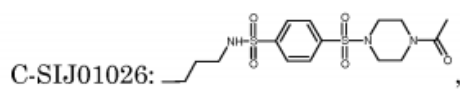
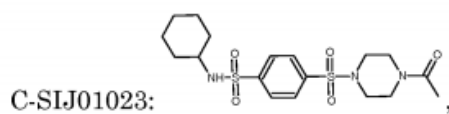
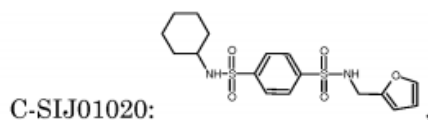
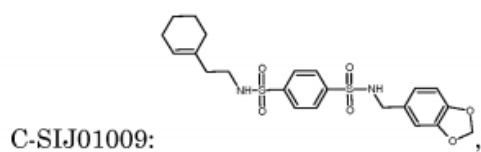
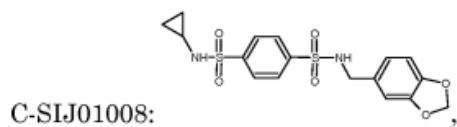
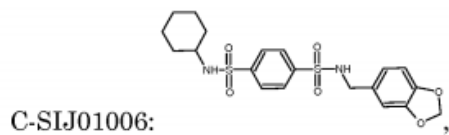
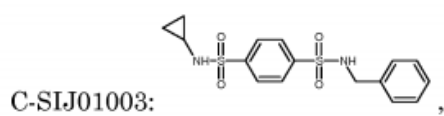
A-SIJ159 	A-SIJ160 	A-SIJ161 
A-SIJ162 	A-SIJ163 	A-SIJ164 
A-SIJ165 	A-SIJ166 	A-SIJ167 
A-SIJ168 	A-SIJ169 	A-SIJ170 
A-SIJ171 	A-SIJ172 	A-SIJ173 
A-SIJ174 	A-SIJ179 	A-SIJ180 

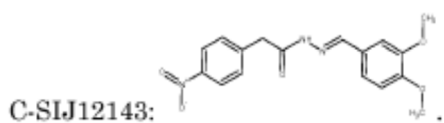
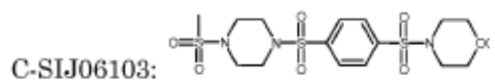
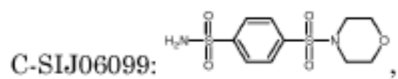
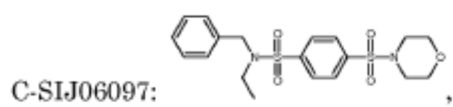
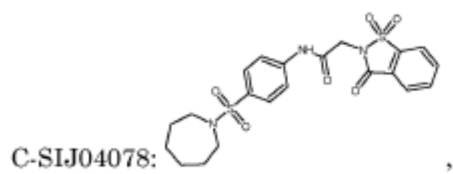
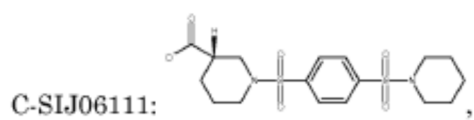
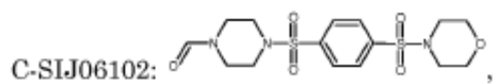
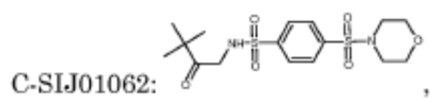
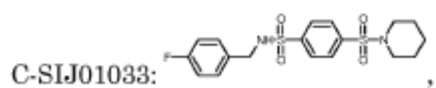
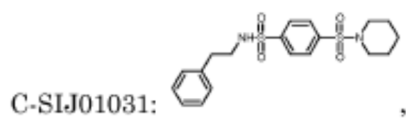
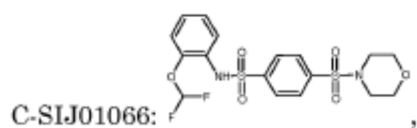
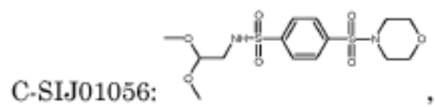
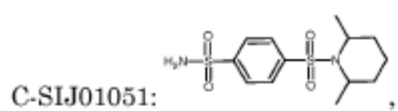
A-SIJ181 	A-SIJ182 	A-SIJ183 
A-SIJ184 	A-SIJ185 	A-SIJ186 
A-SIJ188 		

y en donde [C] es cualquiera de las siguientes subestructuras químicas: a) radical alquilo C₁-C₁₀ o radical heteroalquilo C₁-C₁₀ con no más de tres heteroátomos opcionalmente sustituidos o no sustituidos; 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 sustituidos o no sustituidos; c) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada uno compuesto por 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; d) radical arilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilos, donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituida o no sustituida; e) radical heteroarilalquilo 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 cualquiera de los sustituyentes corresponde al radical alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada que tiene más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; f) radical alquilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres radicales cicloalquilo, cada anillo compuesto por 3-7 miembros, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituida o no sustituida; g) radical heteroalquilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada anillo compuesto por 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponden a grupos alquilo o heteroalquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada que tienen no más de tres heteroátomos opcionalmente sustituidos o no sustituidos; h) radical arilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unidos a uno o más radicales cicloalquilo, cada anillo puede tener 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical heteroarilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, cada anillo compuesto por 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unidos a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, cada uno compuesto por 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales: (a) - (i), donde sus sustituyentes comprenden uno o más grupos cargados positivamente; k) radical seleccionado entre los radicales (a) - (i) donde sus sustituyentes comprenden uno o más grupos cargados negativamente; o en donde [C] corresponde a un átomo de hidrógeno.

- Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la subestructura ancla [A] es cualquiera de los siguientes radicales: A-SIJ001, A-SIJ006, A-SIJ020, A-SIJ023, A-SIJ030, A-SIJ044, A-SIJ052, A-SIJ078, A-SIJ140 como se define en la reivindicación 1.
- Compuesto químico para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho compuesto químico corresponde a cualquiera de los siguientes:







y

4. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los elementos farmacofóricos D₁, D₂, D₃ y D₄ de la subestructura ancla [A], corresponden cada uno a un átomo o grupo de átomos que son donadores de enlace de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -NH, -NH₂, -NH₃⁺, =NH y -SH; D₁ establece enlace de hidrógeno con la proteína E donando: a) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carboxiamida de la cadena lateral del residuo Asn-103; D₂ establece enlace de hidrógeno donando: a) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Asp-98 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Ala-245 y/o c) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246; D₃ establece enlace de hidrógeno donando uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Lys-246; D₄ establece enlace de hidrógeno donando: a) uno o más átomos de hidrógeno a uno o ambos oxígenos del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249 y/o b) uno o más átomos de hidrógeno al oxígeno del grupo carbonilo de la cadena principal del residuo Val-250.
5. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en 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 enlace de hidrógeno seleccionados independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: -C=O, -N=O, -S=O, -P=O y -O- y/o b) grupo con carga neta (y/o parcialmente) negativa, seleccionado independientemente de cualquiera de los grupos siguientes: átomos de oxígeno de los grupos oxo e hidroxilo 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 en trifluorometilsulfonamida, átomos de nitrógeno no sustituidos en tetrazol; A₁- interactúa con el residuo Lys-246 mediante: a) enlace de hidrógeno con el grupo amonio de la cadena lateral y/o b) interacciones electrostáticas con el grupo amonio con carga positiva; A₂- se caracteriza por: a) aceptar el átomo de hidrógeno del residuo Ser-72 y/o establecer interacciones electrostáticas con el grupo guanidinio con carga positiva del residuo Arg-99.
6. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el elemento farmacofórico D/A de la subestructura ancla [A] corresponde a: a) un átomo aceptor de enlace de hidrógeno o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -C=O, -N=O, -S=O, -P=O y -O- o b) un átomo donador de enlace de hidrógeno o grupo de átomos donadores de enlace de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -NH, -NH₂, -NH₃⁺, =NH y -SH o c) un átomo o grupos de átomos simultáneamente donores-aceptores de enlace de hidrógeno seleccionado de cualquiera de los grupos siguientes: -OH, -CONHR, -CONH₂; D/A interactúa con la proteína E por medio de cualquier de las siguientes maneras: a) D/A establece enlace 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 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 de hidrógeno: a) aceptando átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Ser-72 y b) donando el átomo de hidrógeno del átomo de oxígeno del grupo hidroxilo de la cadena lateral del residuo Thr-70; d) D/A establece enlaces de hidrógeno: a) donando uno o más átomos de hidrógeno al 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.
7. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el elemento farmacofórico A₃ de la subestructura ancla [A] corresponde a un átomo aceptor de enlace de hidrógeno o grupo de átomos aceptores de enlace de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -C=O, -N=O, -S=O, -P=O y -O-; A₃ establece enlace 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.
8. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los elementos farmacofóricos H₁, H₂, H₃ de la subestructura ancla [A] corresponde cada uno a un átomo no polar o grupo de átomos no polares seleccionados independientemente de cualquiera de los radicales siguientes: a) radical alquilo C₁-C₁₅ o heteroalquilo C₁-C₁₅ que tiene no más de siete heteroátomos con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; b) radical cicloalquilo o heterocicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada anillo que tiene de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; c) radical arilo o heteroarilo compuesto por uno, dos o tres anillos, cada anillo que tiene de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; d) radical arilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo, donde uno o más sustituyentes corresponden a alquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituidos o no sustituidos; e) radical heteroarilalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo que tienen 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno de los sustituyentes corresponde a radical alquilo C₁-C₅ o heteroalquilo C₁-C₅ concadena lineal o ramificada con no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; f) radical alquilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos

cicloalquilo que tienen 3-7 miembros, fusionados o enlazados donde uno o más sustituyentes corresponden al radicalalquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituida o no sustituida; g) radical heteroalquilo cicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo que tienen 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, fusionados o enlazados, donde uno o más sustituyentes corresponden a radicalalquilo C₁-C₅ o radical heteroalquilo C₁-C₅ con cadena lineal o ramificada que tiene no más de 3 heteroátomos opcionalmente sustituidos o no sustituidos; h) radical arilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo unidos a uno o más radicales cicloalquilo de 3-7 miembros, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; i) radical heteroarilcicloalquilo compuesto por uno, dos o tres anillos arilo o heteroarilo, que tienen cada uno de 5-7 miembros y no más de tres heteroátomos, unido a uno o más anillos cicloalquilo o heterocicloalquilo, que tienen cada uno de 3-7 miembros y no más de tres heteroátomos, opcionalmente sustituidos o no sustituidos; j) radical seleccionado entre los radicales (a) - (i), donde dicho radical contiene el elemento H₁ del modelo farmacofórico y 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 H₂ del modelo farmacofórico y 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 H₃ del modelo farmacofórico y 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 cadena lateral de butilamonio de: a) residuo Lys-246 o b) Lys-246 y Lys-247; H₂ establece interacciones hidrofóbicas con: a) la porción alifática de la cadena lateral de butilamonio del residuo Lys-246 o b) 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 la cadena lateral de los residuos Val-97 e Ile-113.

9. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho elemento farmacofórico D+A de la subestructura ancla [A] corresponde con un átomo o grupos de átomos de elementos simultáneamente donores y aceptores de enlace de hidrógeno seleccionados de cualquiera de los grupos siguientes: -OH₁-CONHR, -CONH₂; D+A establece enlace de hidrógeno con la proteína E cuando: a) acepta uno o más átomos de hidrógeno del grupo amonio de la cadena lateral del residuo Lys-247 y/o b) comparte uno o más átomos de hidrógeno con uno o ambos átomos de oxígeno del grupo carboxilato de la cadena lateral del residuo Asp-249.

10. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dichas distancias interatómicas están comprendidas en el intervalo de $\pm 2\text{\AA}$.

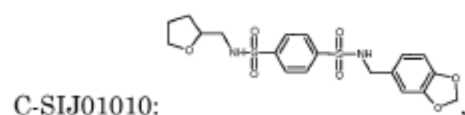
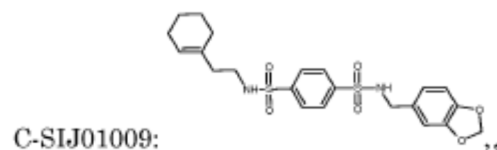
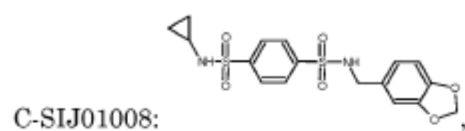
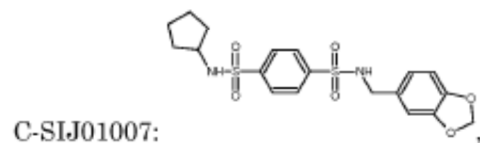
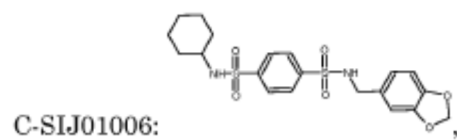
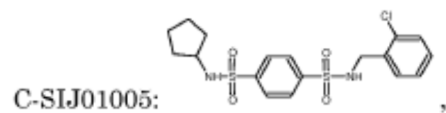
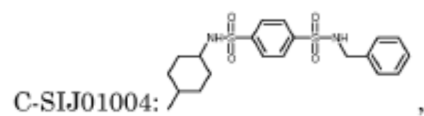
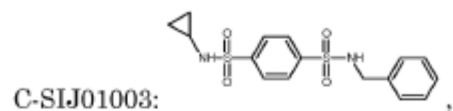
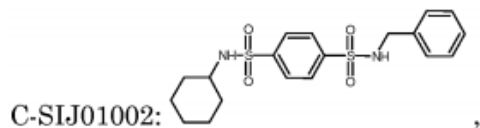
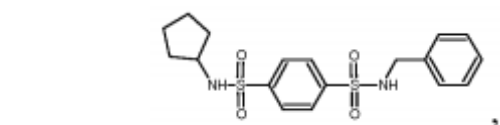
11. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha subestructura [C] contiene sustituyentes con carga positiva y dichos sustituyentes se seleccionan entre los siguientes: RNH₂, RNHR', RNR'R", RC(NRR')=NR", C(NR'R")₂=NR""; RNHC(NR'R")=NR""; C(RNH)₂=NR'; RC(R'NH)=NR".

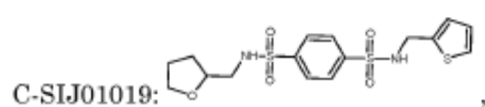
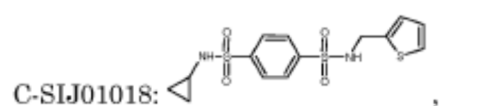
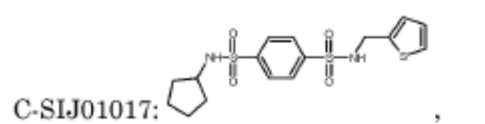
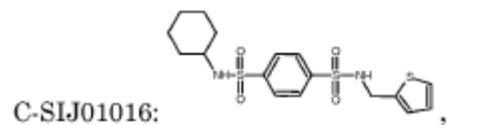
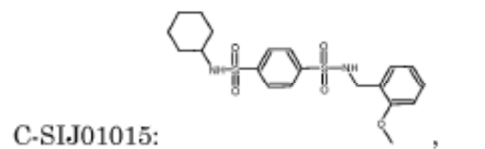
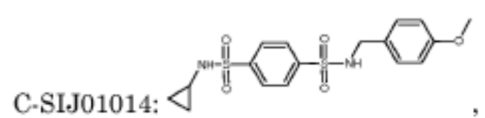
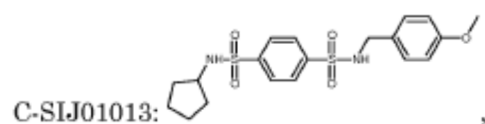
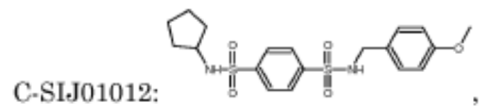
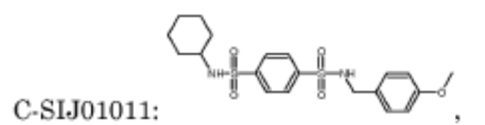
12. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha subestructura [C] contiene sustituyentes con carga negativa y dichos sustituyentes se seleccionan entre los siguientes: C(O)OH; S(O)OH; RR'P(O)(OH); R'OP(O)(OH); ROP(O)(OH)₂; RP(O)(OH)₂; (RO)₂P(O)(OH); RS(O)₂OH; ROS(O)₂OH; grupo tetrazol.

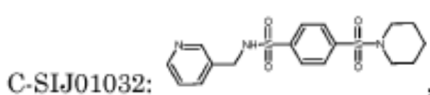
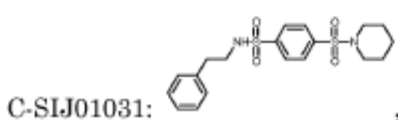
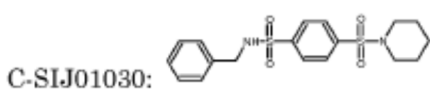
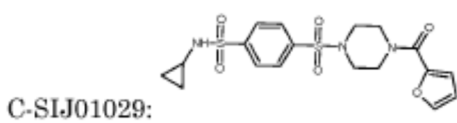
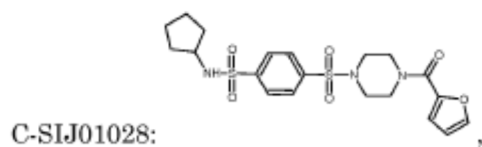
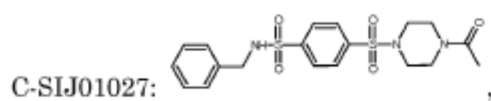
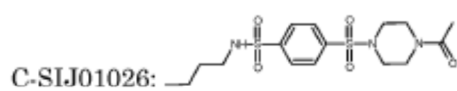
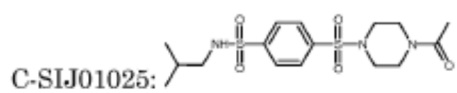
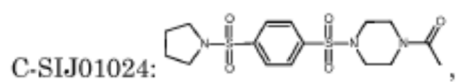
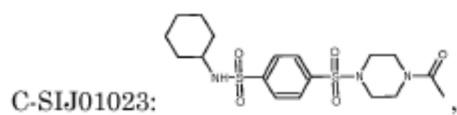
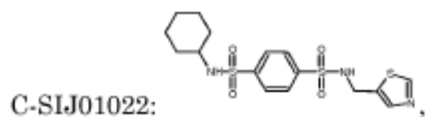
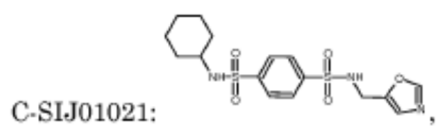
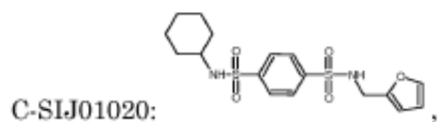
13. Compuesto químico de acuerdo con las reivindicaciones 1-12, para usar en la atenuación o inhibición de una infección causada por un virus del género *flavivirus*, en donde dicho virus se refiere a cualquiera de los virus siguientes: virus Dengue tipo 1, virus Dengue tipo 2, virus Dengue tipo 3, virus Dengue tipo 4, virus del Nilo Occidental, virus de la 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 la encefalitistrasmitada por garrapatas, virus del Valle Murray, virus LANGAT, virus de la enfermedad de Louping y virus Powassan.

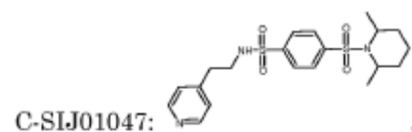
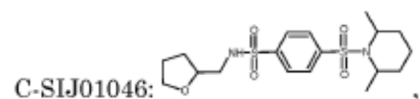
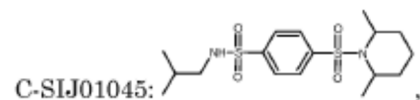
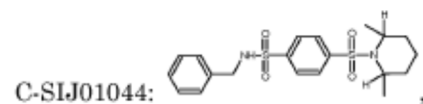
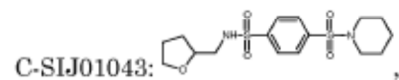
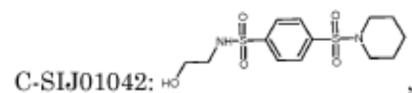
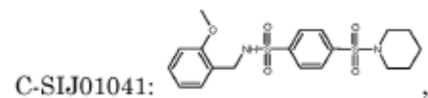
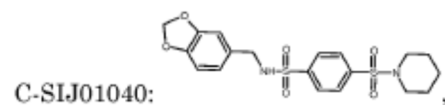
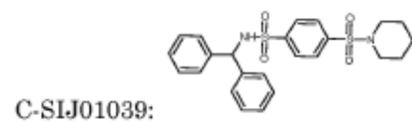
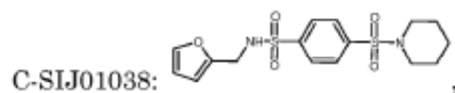
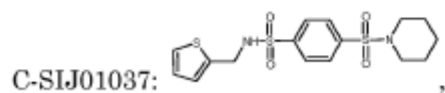
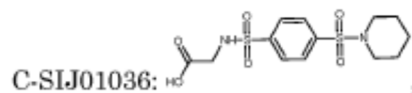
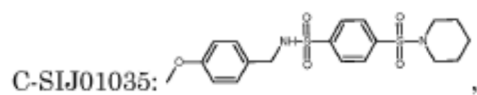
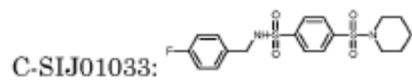
14. Compuesto químico para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la subestructura cabeza [C] interactúa con al menos uno de los residuos siguientes: a) residuos que forman el péptido de fusión: Gly-100, Trp-101, Gly-102 y Phe-108, b) residuos que corresponden al monómero vecino 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 que pertenecen al surco asociado al lazo "ij".

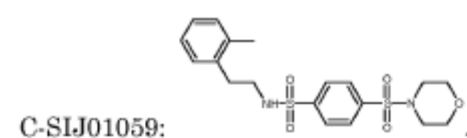
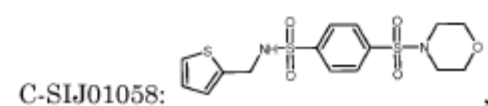
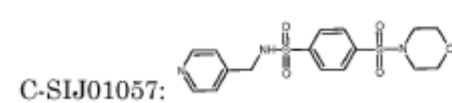
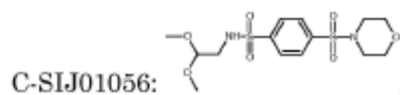
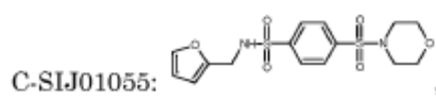
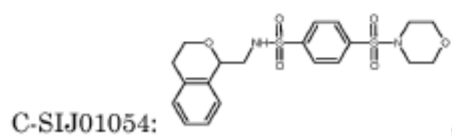
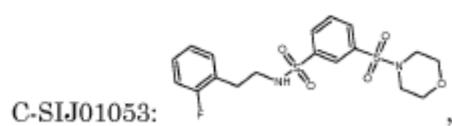
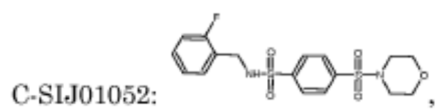
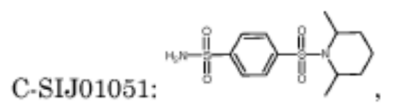
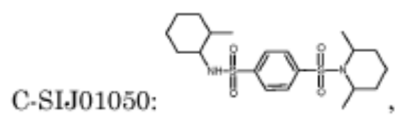
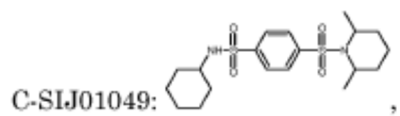
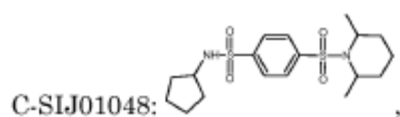
15. Compuesto químico para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, y 4-12 en donde dicho compuesto químico es cualquiera de los siguientes:

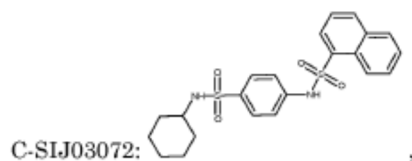
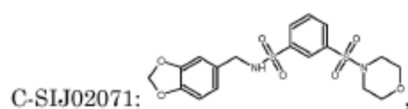
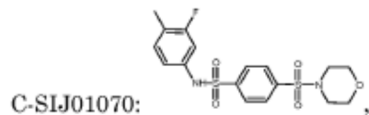
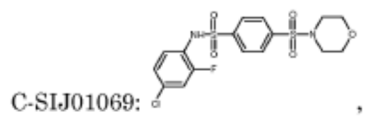
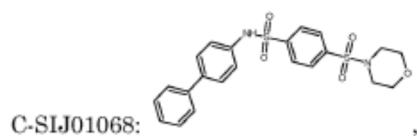
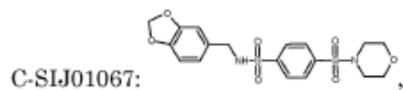
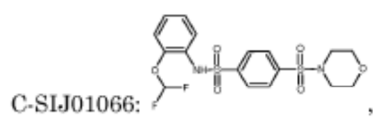
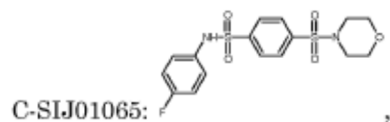
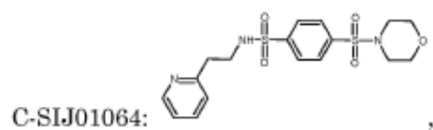
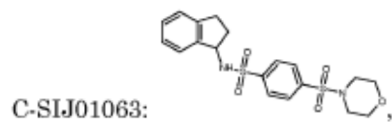
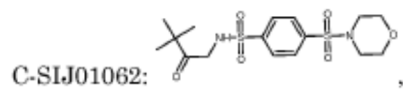
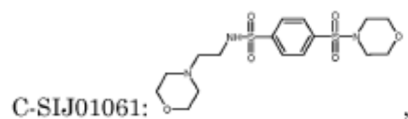
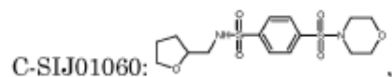


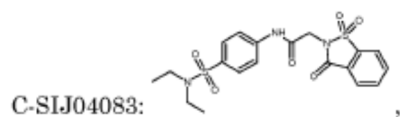
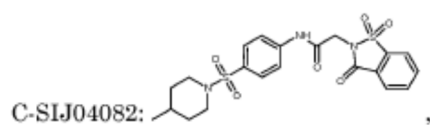
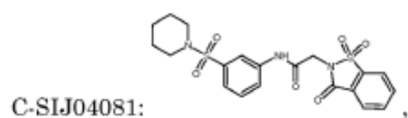
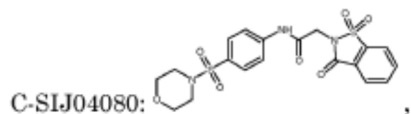
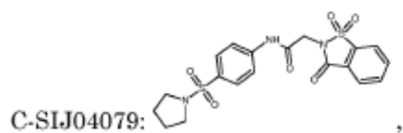
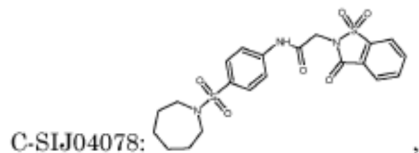
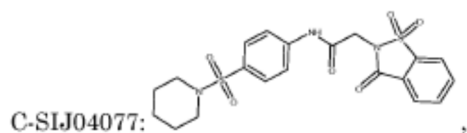
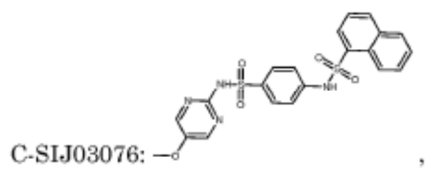
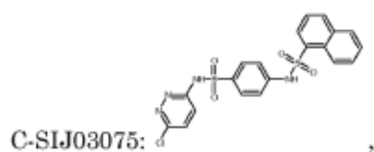
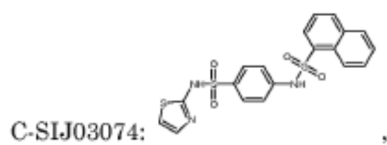
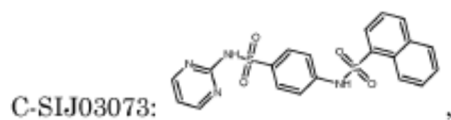


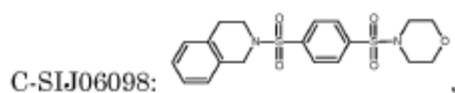
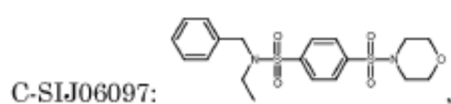
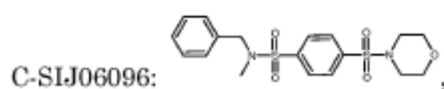
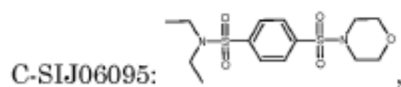
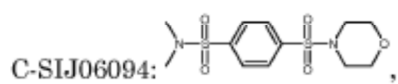
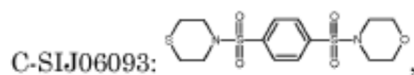
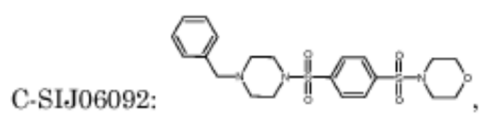
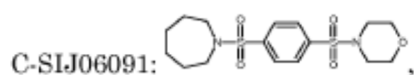
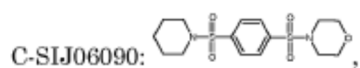
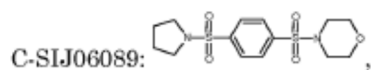
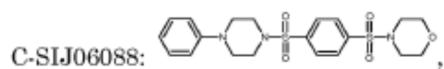
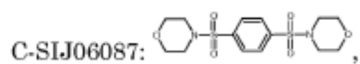
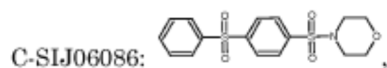
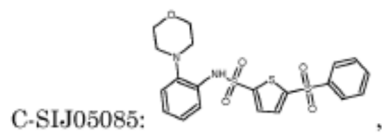
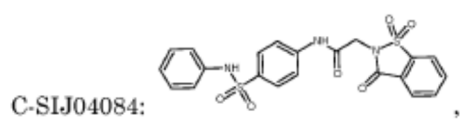


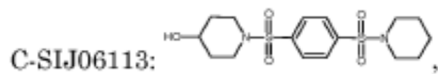
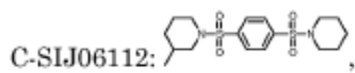
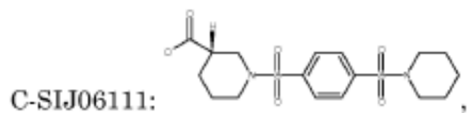
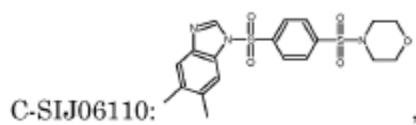
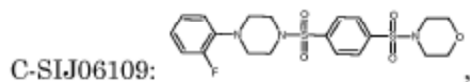
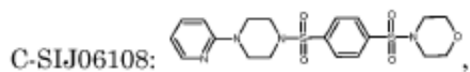
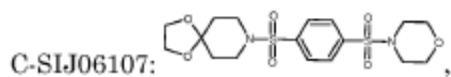
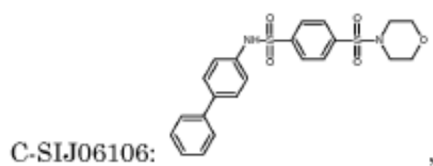
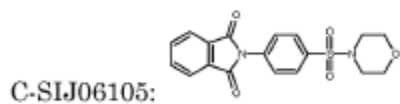
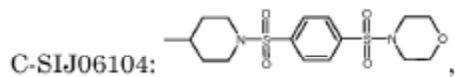
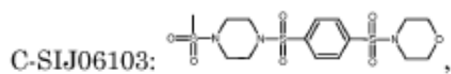
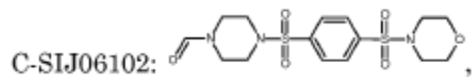
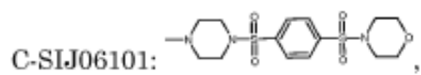
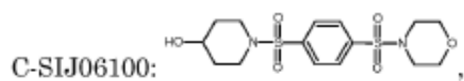
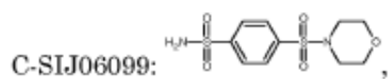


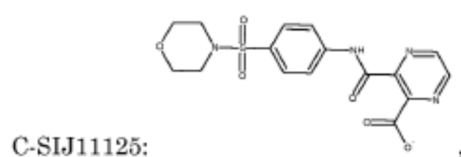
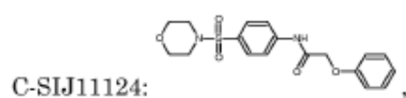
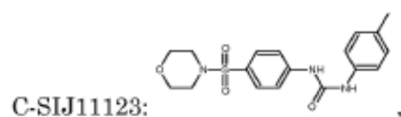
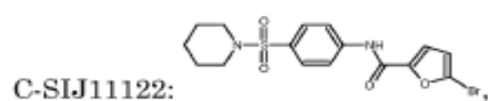
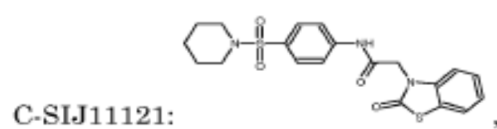
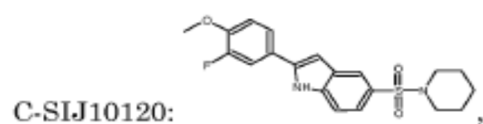
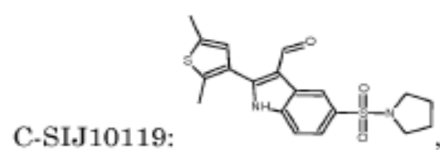
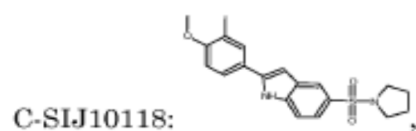
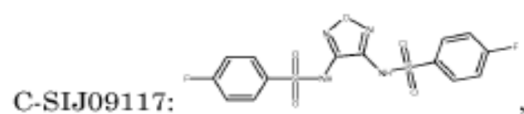
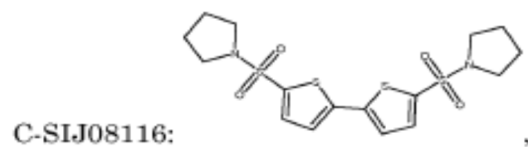
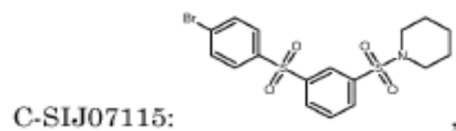
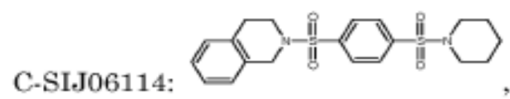


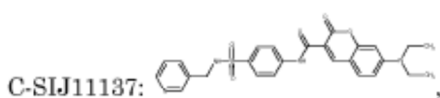
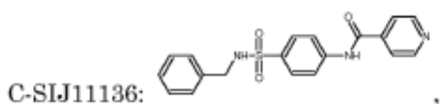
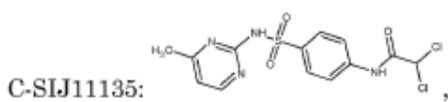
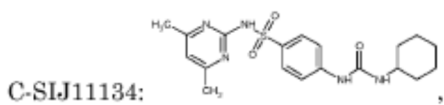
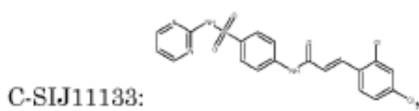
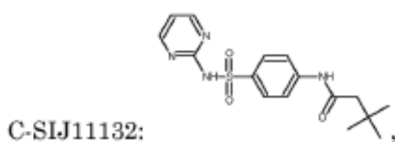
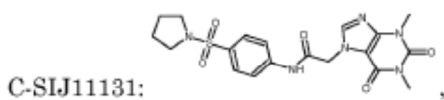
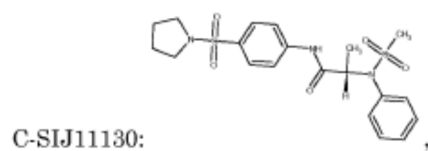
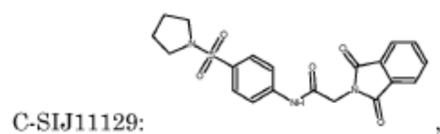
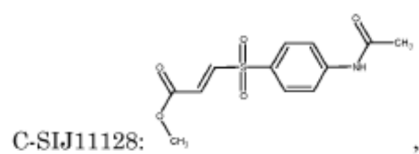
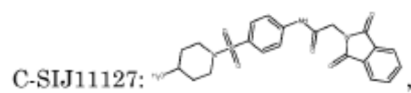
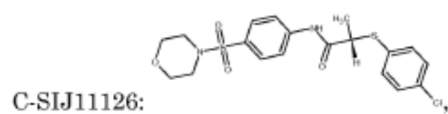


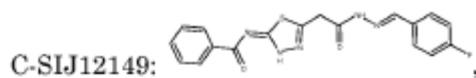
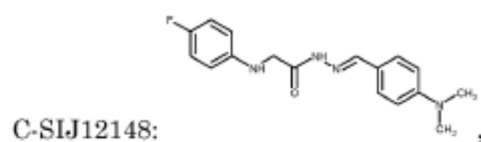
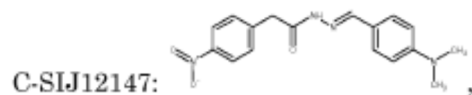
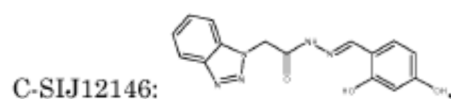
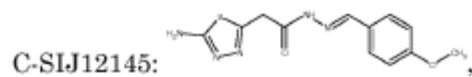
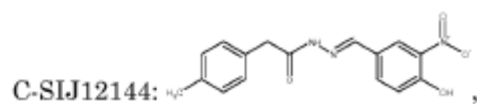
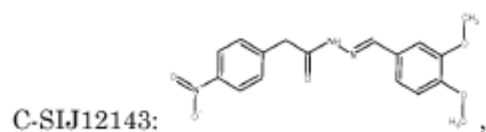
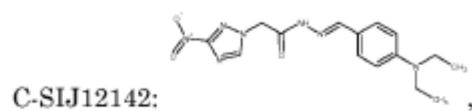
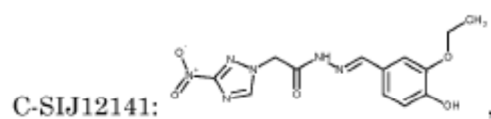
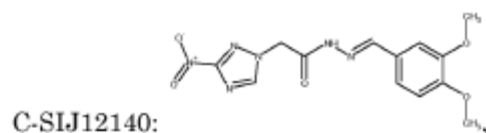
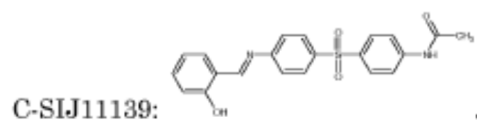
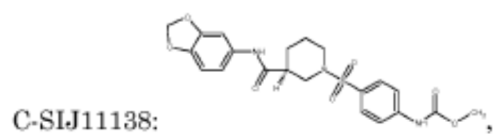


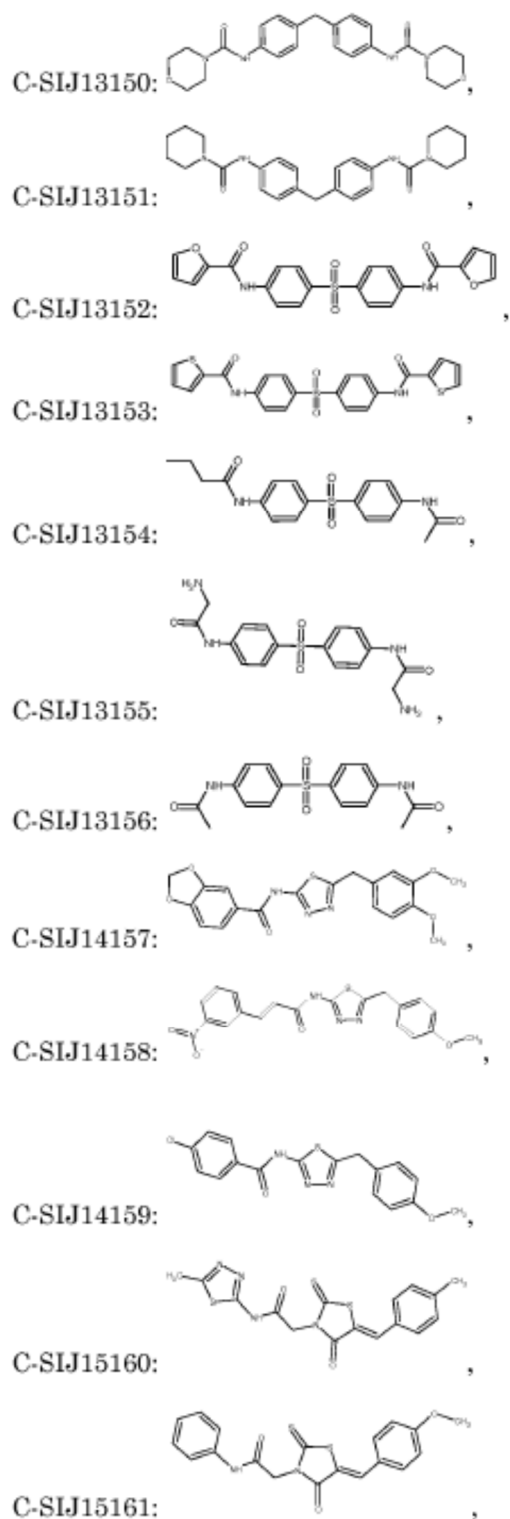


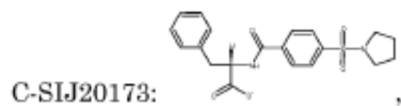
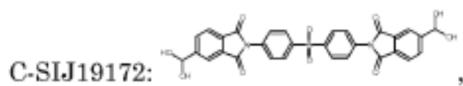
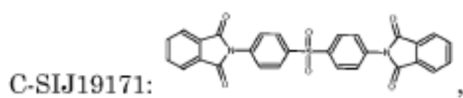
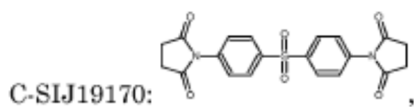
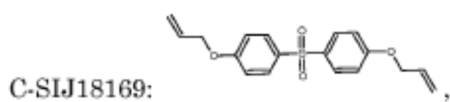
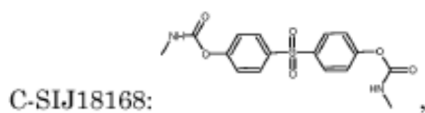
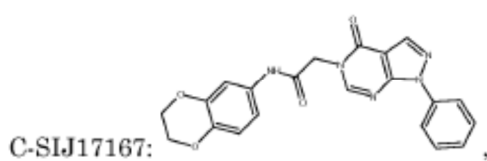
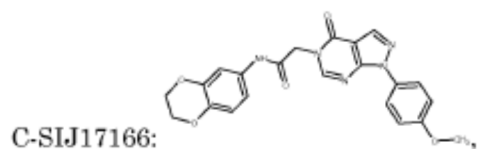
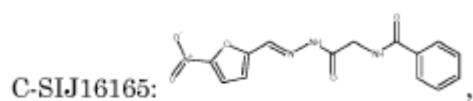
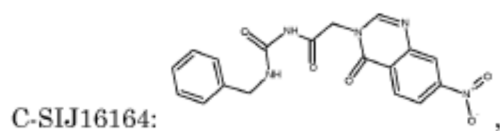
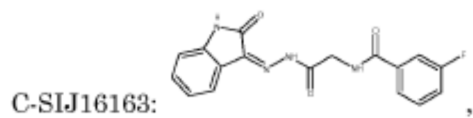
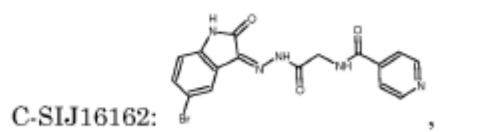


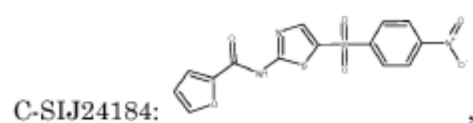
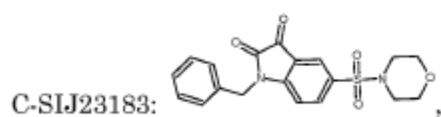
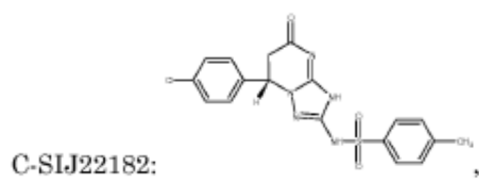
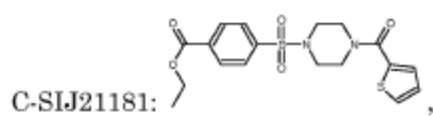
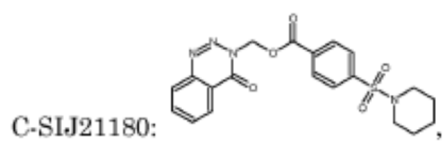
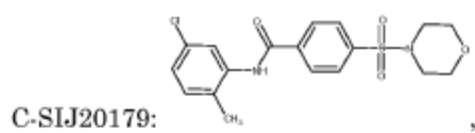
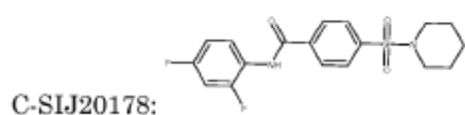
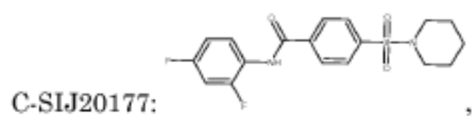
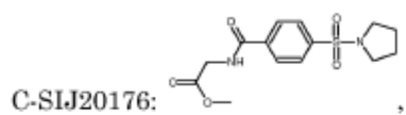
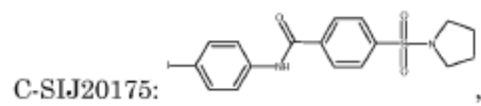
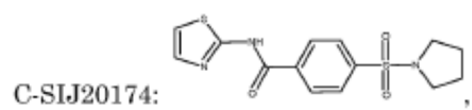


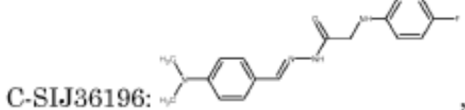
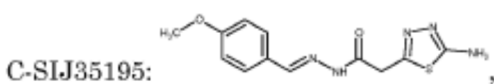
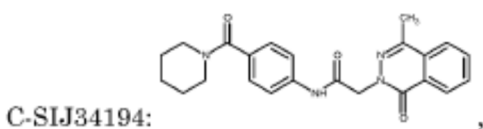
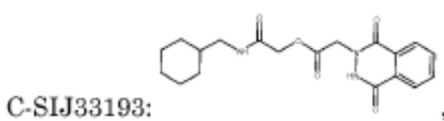
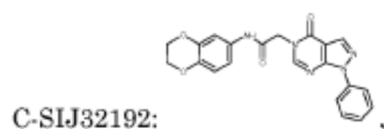
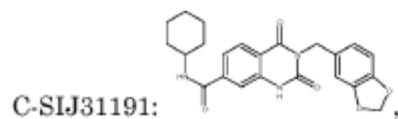
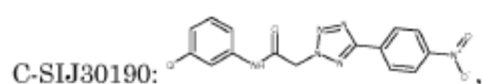
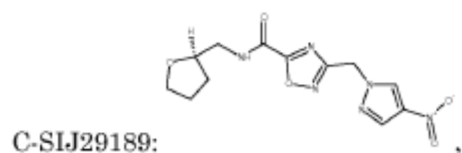
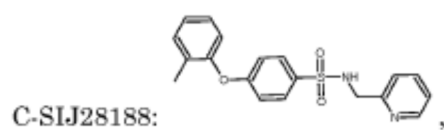
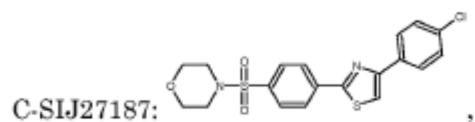
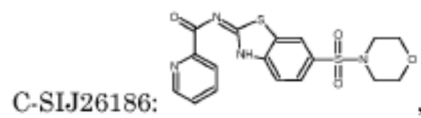
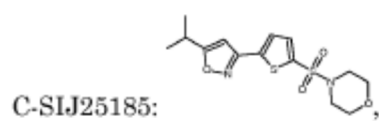


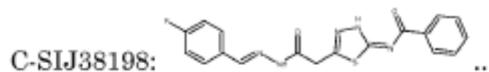
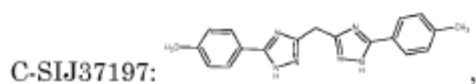












5

10

15

16. Compuesto químico para usar de acuerdo con la reivindicación 15, en donde se usan tautómeros, isómeros geométricos, formas ópticamente activas tales como enantiómeros, diastereoisómeros, formas racémicas así como también sales farmacéuticamente aceptadas de los compuestos químicos.
17. Compuesto químico de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, y 15 para usar en la prevención y/o el tratamiento de infecciones causadas por el virus Dengue y otros *flavivirus*.

Figura 1

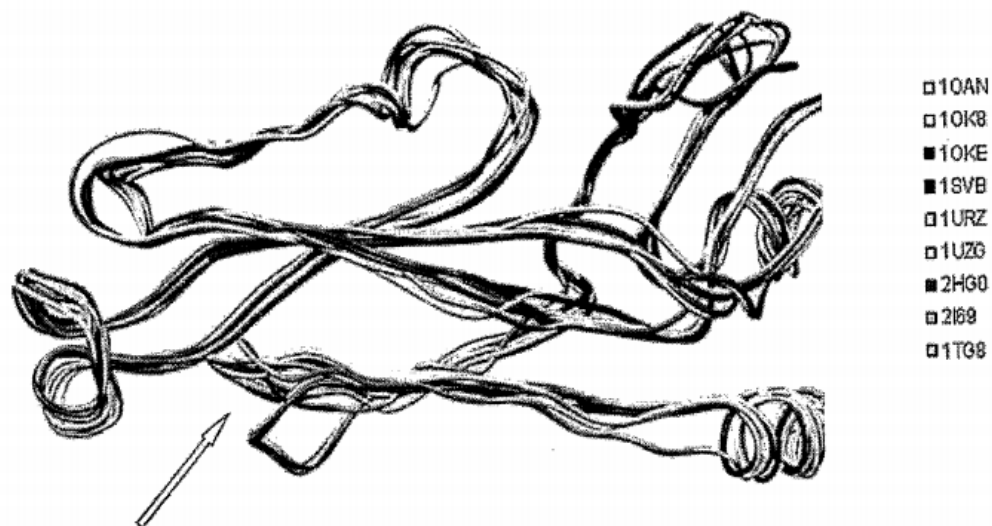


Figura 2

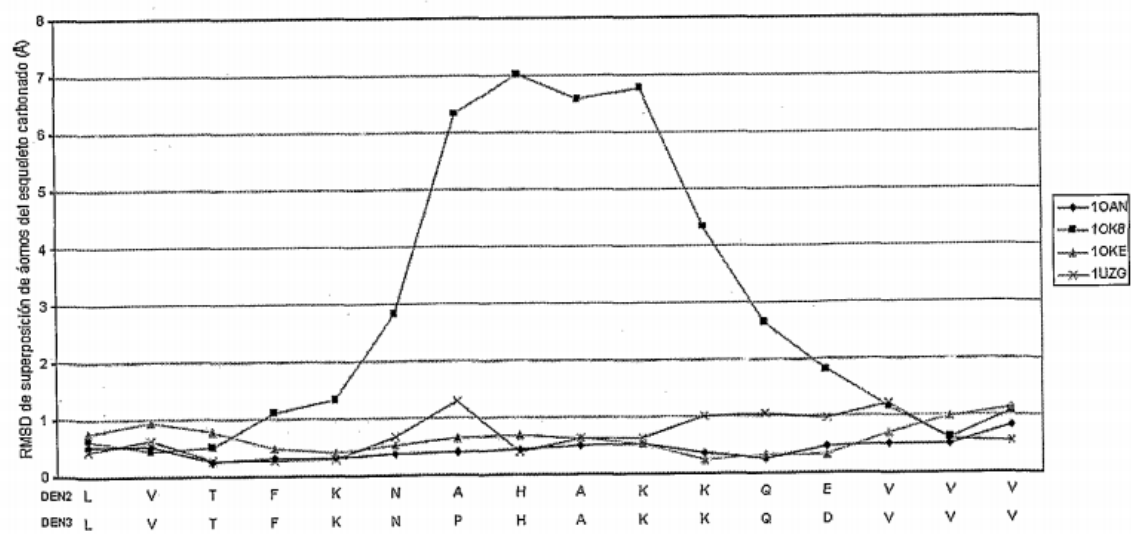


Figura 3

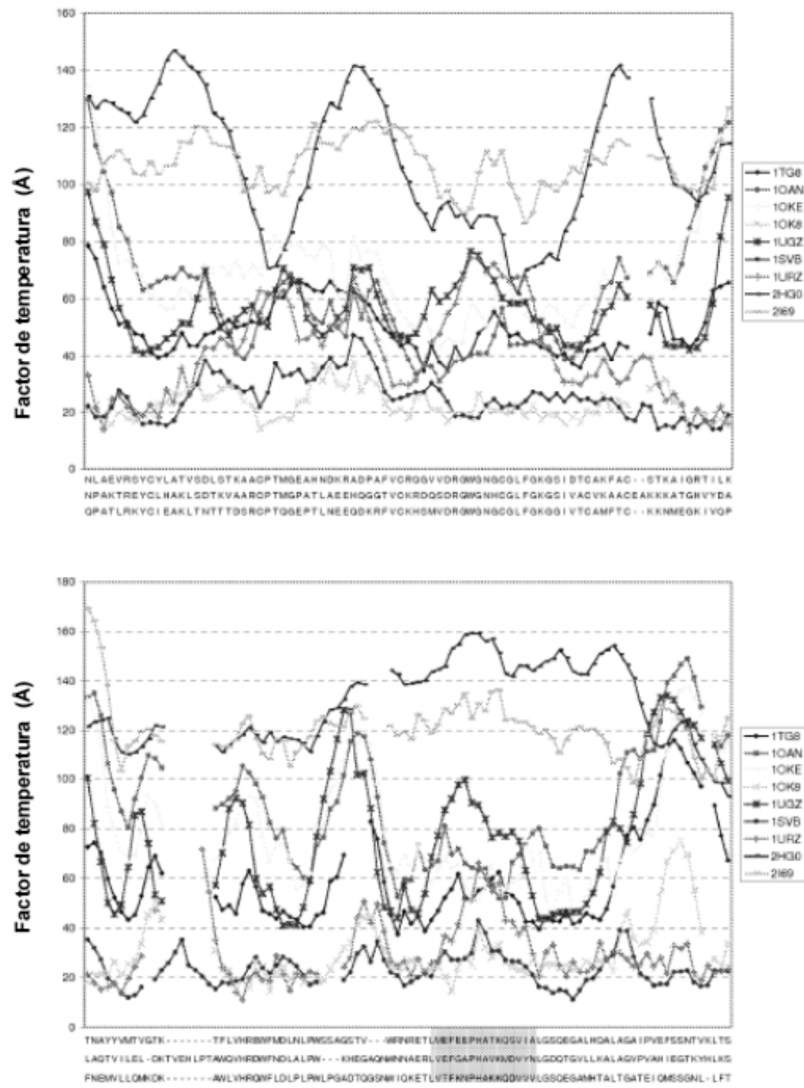


Figura 4.

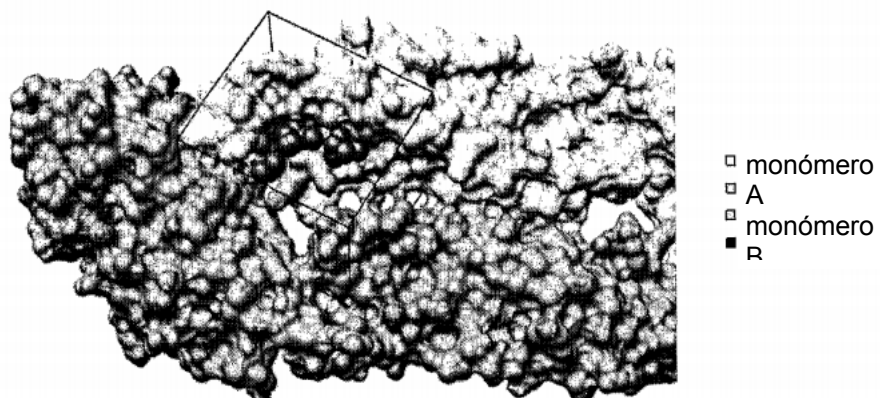


Figura 5.

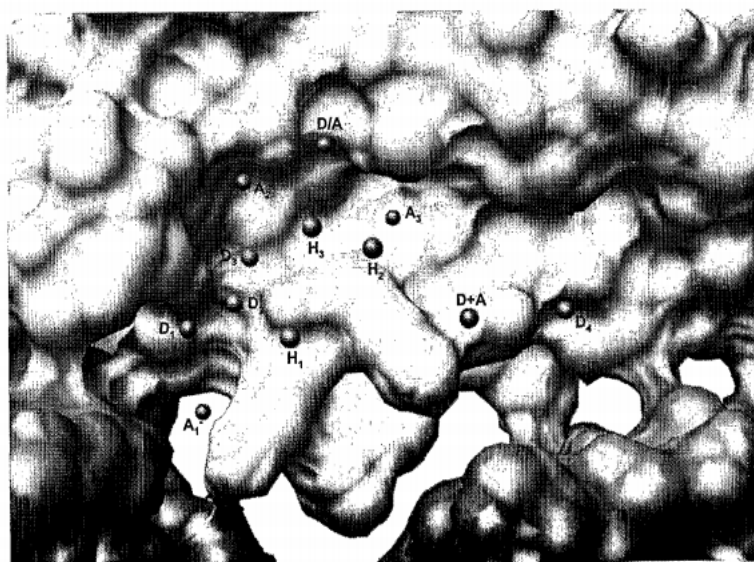
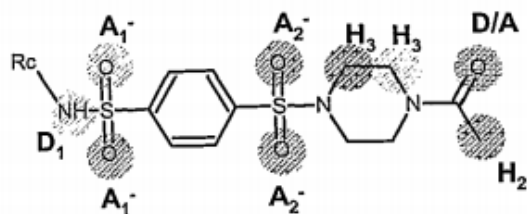
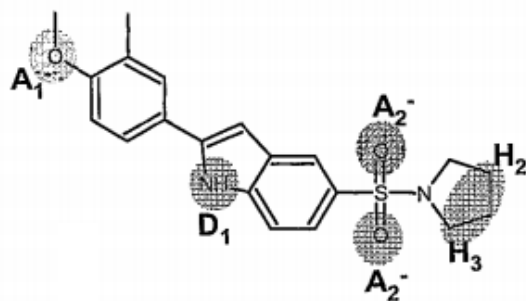


Figura 6.**(a) Ancla A-SIJ023****(b) Ancla A-SIJ118****(c) Ancla A-SIJ121**