

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2011/138489 A1

(43) Fecha de publicación internacional
10 de noviembre de 2011 (10.11.2011)

PCT

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61K 38/01 (2006.01) C07K 14/47 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2011/070318

(22) Fecha de presentación internacional:
4 de mayo de 2011 (04.05.2011)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201030675 6 de mayo de 2010 (06.05.2010) ES

(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US):
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) [ES/ES];
Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **RECIO SÁNCHEZ, Isidra** [ES/ES]; Instituto de Fermentaciones Industriales, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES).
RODRÍGUEZ SAINT-JEAN, Sylvia [ES/ES]; Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu, 9,

E-28040 Madrid (ES). **PÉREZ PRIETO, Sara Isabel** [ES/ES]; Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu, 9, E-28040 Madrid (ES). **LÓPEZ EXPÓSITO, Iván** [ES/ES]; Instituto de Fermentaciones Industriales, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **DE LAS HERAS SÁNCHEZ, Ana Isabel** [ES/ES]; Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu, 9, E-28040 Madrid (ES). **GÓMEZ RUIZ, José Angel** [ES/ES]; Instituto de Fermentaciones Industriales, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES). **RAMOS GONZÁLEZ, Mercedes** [ES/ES]; Instituto de Fermentaciones Industriales, Juan de la Cierva, 3, E-28006 Madrid (ES).

(74) Mandatario: **UNGRIA LÓPEZ, Javier**; Avenida Ramón y Cajal, 78, E-28043 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: USE OF CASEIN HYDROLYSATES AS ANTIVIRAL AGENTS

(54) Título : USO DE HIDROLIZADOS DE CASEÍNAS COMO ANTIVIRALES

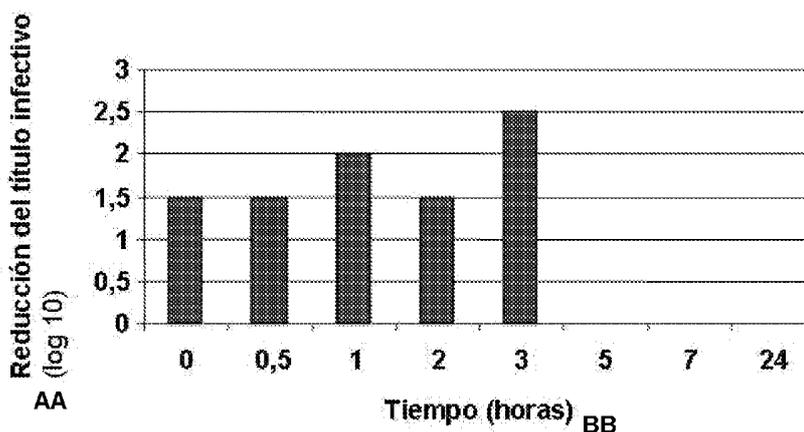


FIG. 1A.

AA reduction of the infectious titre (log 10)
BB time (hours)

(57) Abstract: The invention relates to the use of hydrolysates of bovine milk caseins with pepsin, and compositions containing said hydrolysates, as antiviral agents. Said hydrolysates and compositions are particularly suitable for use against salmonid virus, and, specifically, against infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) and infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV).

(57) Resumen:

[Continúa en la página siguiente]



WO 2011/138489 A1



RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT,

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))
- con la parte de lista de secuencias de la descripción (Regla 5.2(a))

Uso de hidrolizados de caseínas como antivirales.

La presente invención se encuentra dentro de la biología y la medicina, y en concreto se refiere al uso de hidrolizados enzimáticos de caseínas lácteas como antivirales, y en particular frente a virus de salmónidos, a las composiciones que contienen dichos hidrolizados, y a su procedimiento de obtención.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

En los últimos años, la fracción proteica de los alimentos ha sido objeto de numerosos estudios destinados a demostrar la actividad biológica de proteínas y péptidos alimentarios. La mayoría de las investigaciones realizadas han estado encaminadas a la utilización de estos péptidos como ingredientes en alimentos funcionales. Se ha demostrado que determinadas proteínas lácteas y péptidos derivados de las mismas ejercen diferentes actividades biológicas como por ejemplo actividad antimicrobiana frente a distintas bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y levaduras (Pellegrini 2003, *Curr. Pharm. Design* 9, 1225-1238; López-Expósito y Recio 2008, *Adv. Exp. Med. Biol.* 606, 271-293). La utilización de péptidos y proteínas alimentarias como agentes antimicrobianos en otras aplicaciones ha suscitado un notable interés dada la inocuidad de estos compuestos. Recientemente, se ha empezado a explorar la posible actividad antiviral de distintos fragmentos derivados de proteínas lácteas frente a algunos virus que afectan a mamíferos. Por ejemplo, la proteína láctea lactoferrina y modificaciones químicas de la misma encaminadas a modificar la carga superficial de la proteína, han demostrado una notable actividad frente al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV), o el citomegalovirus humano (HCMV) (Floris *et al.*, *Curr. Pharm. Design* 9, 2003, 1257-1275; Pan *et al.*, 2006, *Int. Dairy J.* 16, 1252-1261). Otras proteínas lácteas han demostrado actividad antiviral sólo tras la modificación química de las mismas para darles una carga marcadamente negativa o positiva. Así, por ejemplo, proteínas lácteas y de plasma químicamente modificadas con anhídrido succínico o acetiladas para aumentar la carga negativa, presentan potente actividad frente al virus HIV (Groenink *et al.*, 1997, *AIDS Res Hum Retroviruses*, 13,

179-85 ; Swart *et al.*, 1999. *J. Pept. Sci.* 5, 563-576). Por el contrario, proteínas lácteas con modificaciones destinadas a aumentar la carga positiva de las mismas han demostrado actividad frente al citomegalovirus humano (Swart *et al.*, 1999. *J. Pept. Sci.* 5, 563-576; Berkhout *et al.*, 2004. *Biometals* 17, 291-294; Groot *et al.*, 2005. *J. Virol.* 79, 3009-3015). La lactoferrina tiene actividad antiviral frente a Herpes simplex tipo 1 y 2 (Hasegawa *et al.*, 1994. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 47, 73-85), adenovirus (Arnold *et al.*, 2002. *Antiviral Res* 53, 153-158) virus del VIH (Harmesen *et al.* *J. Infect. Dis* 172, 1995, 380-388; Puddu *et al.*, 1998. *Int. J. Biochem. Cell B.* 30, 1055-1063; Van der Strate *et al.*, 2000. *Viral Immunol* 12, 197-203) virus de la hepatitis C (Tanaka *et al.*, 1999. *Jpn J Cancer Research* 90, 367-203). La mayoría de los estudios sugieren que la lactoferrina inhibe la entrada del virus a la célula hospedadora más que actuar sobre su replicación (Malazzeweska *et al.*, 2006. *Medycyne Weterynaryjna* 62, 1104-1107).

Sin embargo, hay menos estudios sobre la actividad antiviral de péptidos, es decir, fragmentos derivados de las proteínas lácteas. La mayoría de los estudios se han llevado a cabo sobre la lactoferrina, péptido derivado de la lactoferrina. Se ha demostrado que este péptido es activo frente a infecciones por citomegalovirus, adenovirus, calcivirus felino y herpes simplex, aunque la potencia antiviral era más baja que la de la proteína precursora (Andersen *et al.*, 2001. *Antiviral Res.* 51, 141-149; Di Biase *et al.*, 2003. *J. Med. Virol.* 69, 495-502; McCann *et al.*, 2003. *J. Appl. Microbiol.* 95, 1026-1033). Otros péptidos derivados de la lactoferrina que se corresponden con los fragmentos f(86-258) y f(324-329) son activos contra rotavirus (Superti *et al.*, 2001. *Biochim. Biophys. Acta-Gen. Subj.* 1528, 107-115), aunque estos fragmentos no contienen cargas positivas en su secuencia. Asimismo, se ha evaluado la actividad antiviral de péptidos cargados positivamente derivados de la κ -caseína como los fragmentos f(1-10), f(98-111), f(98-112) y otros cargados negativamente como el glicomacropéptido f(106-169). Estos fragmentos no presentan actividad frente al HIV (Berkhout *et al.*, 1997. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1, 1101-1107). El glicomacropéptido f(106-169) inhibe la hemoaglutinación del virus influenza (Kawasaki *et al.*, 1993. *Bios Biotech & Biochem*, 57, 1214-1215).

Hasta ahora, la mayoría de los estudios con proteínas y péptidos alimentarios se han hecho con virus humanos por lo que no existen datos sobre la actividad de estas proteínas o sus modificaciones químicas frente a virus implicados en enfermedades de peces. Los virus que afectan a peces teleósteos ofrecen gran interés ya que la acuicultura se ha intensificado y diversificado en todo el mundo, y los movimientos de animales vivos o sus productos, han acelerado la dispersión accidental de enfermedades, que ocasionan graves pérdidas económicas en este sector. Estos virus constituyen un modelo innovador para la determinación de la actividad biológica de péptidos y proteínas alimentarias, que pueden presentar características antivíricas o inmunoestimulantes y que podrían constituir un recurso como fármaco o como coadyuvante de vacunas DNA. Hasta ahora el planteamiento del uso de posibles antivíricos en peces de consumo no se ha desarrollado por ser moléculas tóxicas, o poco activas o demasiado costosas.

Los virus que afectan a peces teleósteos como el *Aquabirnavirus*, virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) y el *Novirhabdovirus*, virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHNV) causan infecciones sistémicas y producen alta mortalidad en truchas y otros salmónidos siendo responsables de graves pérdidas económicas en el sector de la acuicultura a nivel mundial. El IHNV puede causar pérdidas mayores del 90% en granjas afectadas y es endémico en el Noreste del Pacífico de América del Norte extendiéndose a otras áreas y países (La Patra *et al.*, 1996. *Ann. Rev. Fish Dis.* 6, 15–28.; Enzmann *et al.*, 1992. *Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol.* 12, 185.; Bootland y Leong, *Fish Diseases and Disorders*. Vol. 3, Viral, Bacterial and Fungal infections. 1999,. 57-121. El IPNV fue aislado por primera vez en Norte América en 1960 y se ha extendido a Europa y Japón. Este virus se ha aislado de otras especies de peces no salmónidos así como en crustáceos y moluscos y es el de mayor prevalencia en instalaciones españolas. (Wolf, *Fish Viruses and Fish Diseases.*, 1988, 115–157, Rodríguez *et al.*, 1997, *J Aquatic Animal Health* 9: 295-300. Rodríguez *et al.*, 2003. *Adv Virus Res* 62, 113-165.

Respecto a la utilización de los hidrolizados de caseína de la leche existe un documento (WO/2006/131586 "*Bioactive peptides identified in enzymatic hydrolyzates of milk caseins and method of obtaining same*") donde se reivindica el empleo de determinados péptidos por su actividad antimicrobiana, actividad inhibidora de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), actividad antihipertensiva y por su actividad como antioxidantes. Sin embargo no se describe su actividad antiviral. Tampoco se ha encontrado ningún documento sobre la posible utilización de los hidrolizados de caseína o alguno de sus péptidos frente al virus de la necrosis hematopoyética infecciosa, IHNV y frente al virus de la necrosis pancreática infecciosa, IPNV. Asimismo, también se ha recogido en otro documento (WO 00/15655) la actividad antimicrobiana frente a bacterias de algunos de los péptidos descritos en la presente invención pero no se ha considerado su posible actividad como antivirales.

Los hidrolizados de caseínas y péptidos derivados de la alfa s_2 -caseína (α_{s2} -caseína) podrían servir, además de formar parte de productos alimenticios ó productos farmacéuticos, para el tratamiento y la prevención de algunas enfermedades; particularmente podrían actuar como antivirales de peces y ser usados en acuicultura. La invención amplía las aplicaciones de las proteínas lácteas contribuyendo a su aprovechamiento y revalorización.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una serie de hidrolizados de caseína, que contienen una serie de péptidos con actividad antiviral, y en concreto, con actividad frente al virus de la necrosis hematopoyética infecciosa, IHNV y frente al virus de la necrosis pancreática infecciosa, IPNV

Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere al uso de un hidrolizado de caseína en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, a un hidrolizado de caseína para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En una realización preferida, el hidrolizado de caseína comprende al menos uno de los péptidos que se seleccionan de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el hidrolizado de caseína comprende al menos uno de los péptidos que se seleccionan de la lista que comprende: SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el hidrolizado de caseína comprende al menos el péptido de secuencia SEQ ID NO: 6

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral la padece un pez, más preferiblemente perteneciente al orden *Salmoniformes*, y aún más preferiblemente al género *Salmo* o al género *Oncorhynchus*.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el

virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

En esta memoria se entiende por “enfermedad viral” una enfermedad que se caracteriza por ser la manifestación clínica consecuenta a una infección provocada por un virus, y cuya acción invasiva y en su caso, dañina, ha perturbado la biología del hospedador afectado. Métodos para la detección del tipo de virus que actúa como agente patógeno son conocidos en el estado de la técnica, como por ejemplo, pero sin limitarse, mediante todas las técnicas de identificación molecular (sondas genéticas, Hibridación *in situ*, sobre colonias (*colony blotting*) y sobre membranas (*Southern blotting*), *microarrays* y *microchips* de DNA, técnicas basadas en la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) como por ejemplo, PCR aleatoria, PCR anidada y RT-PCR, reacción en cadena de la ligasa (LCR), reacción de la Q-replicasa, técnica de la sonda cíclica (CPT), amplificación basada en la transcripción: TAS y replicación de secuencia autosostenida (3SR), estudio del polimorfismo de ácidos nucleicos, mediante, por ejemplo, análisis de restricción (RFLP y AFLP), análisis de DNA mitocondrial, electroforesis de campo pulsado (OFAGE, CHEF, etc.), ribotipia, secuenciación de DNA, análisis de proteínas de origen microbiano (análisis electroforético, electroforesis bidimensional,...), inmunodetección de proteínas (*Western blotting*). Inmunolocalización celular: inmunofluorescencia directa e indirecta. Microscopía de fluorescencia y confocal), y citometría de flujo. Se detectan también mediante aislamiento en Cultivos Celulares e identificación por seroneutralización.

Birnaviridae es una familia de virus que afecta a animales. Incluye los siguientes géneros:

Género *Aquabirnavirus*; especie tipo: Virus de la necrosis pancreática infecciosa.

Género *Avibirnavirus*; especie tipo: Virus de la enfermedad bursal infecciosa.

Género *Entombirnavirus*; especie tipo: Virus X de la *Drosophila*.

Rhabdoviridae es una familia de virus infectivos para animales y plantas. Entre los animales infectados están insectos, peces y mamíferos, incluidos los humanos. *Rhabdoviridae* es una familia de virus infectivos para animales y plantas. Entre los animales infectados están insectos, peces y mamíferos, incluidos los humanos. La familia incluye los siguientes géneros:

Género *Cytorhabdovirus*; especie tipo: Virus de la necrosis amarilla de la lechuga.

Género *Ephemerovirus*; especie tipo: Virus de la fiebre efímera bovina.

Género *Lyssavirus*; especie tipo: Virus de la rabia.

Género *Novirhabdovirus*; especie tipo: Virus de la necrosis hematopoyética infecciosa.

Género *Nucleorhabdovirus*; especie tipo: Virus del enanismo amarillo de la patata.

Género *Vesiculovirus*; especie tipo: Virus de la estomatitis vesicular.

Adicionalmente se conoce un gran número de virus que todavía no han sido asignados a ningún género.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso de una composición, de ahora en adelante composición de la invención, que comprende un hidrolizado enzimático de caseína, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, a una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral. En una realización preferida de este aspecto de la invención, la composición es una composición farmacéutica.

En otra realización preferida, el hidrolizado enzimático de caseína de la composición comprende al menos uno de los péptidos que se seleccionan de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO:

17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, el hidrolizado de caseína comprende al menos uno de los péptidos que se seleccionan de la lista que comprende: SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO 11, o cualquiera de sus combinaciones.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

En otra realización preferida, la composición de la invención además comprende otro principio activo. En otra realización preferida, la composición de la invención además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 1 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 2 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el

virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 3 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 4, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 4 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el

virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 5 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 6, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de

secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 6 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 7, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 7 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*.

En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 8, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 8 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 9, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 9 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En

otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 10, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 10 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 11, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 11 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 12 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 13, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 13 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 14, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 14 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 15, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 15 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el

virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 16, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 16 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 17, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 17 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el

virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 18, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 18 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 19, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de

secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 19 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 20, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, al péptido de secuencia aminoacídica SEQ ID NO: 20 para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus

de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

Los péptidos del hidrolizado enzimático de caseína de la invención son péptidos, y pueden actuar como ingredientes activos en composiciones, preferiblemente en composiciones farmacéuticas.

Como se emplea aquí, el término “principio activo”, “sustancia activa”, “sustancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” ó “ingrediente farmacéuticamente activo” significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente (actividad metabólica, inmunológica,...) en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad o condición médica, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales.

Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere al uso de una composición que comprende un péptido que se selecciona de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, y SEQ ID NO: 20, o cualquiera de sus combinaciones, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral, o alternativamente, a una composición que comprende un péptido que se selecciona de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, y SEQ ID NO: 20, o cualquiera de sus combinaciones, para su uso en el tratamiento de una enfermedad viral. En una realización preferida, el péptido se selecciona de la lista que comprende: SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID

NO: 9, SEQ ID NO: 10. y SEQ ID NO: 11, o cualquiera de sus combinaciones.

Por tanto, el péptido de la invención puede formularse en una composición, útil para el tratamiento de una enfermedad viral. El uso de péptidos como potenciales agentes terapéuticos presenta la ventaja de su gran especificidad y su elevada actividad, presentando en general baja toxicidad y pocos efectos secundarios. Además, no se acumulan en el organismo, ya que poseen una vida media relativamente corta (Adresi y Soto, 2002. *Current Medicinal Chemistry* 9: 963–978; Lien & Lowman 2003. *TRENDS in Biotechnology* 21:556-562). En una realización preferida de este aspecto de la invención, la composición es una composición farmacéutica.

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Birnaviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa (*infectious pancreatic necrosis virus* ó IPNV).

En otra realización preferida de este aspecto de la invención, la enfermedad viral es provocada por un virus de la familia *Rhabdoviridae*. En otra realización más preferida de este aspecto de la invención, el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*. En otra realización aún más preferida, el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (*infectious hematopoietic necrosis virus* ó IHNV).

La composición de la presente invención puede, por tanto, formularse para su administración a un animal, y más preferiblemente a un mamífero, incluyendo al hombre, en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Preferiblemente puede formularse para su administración a un pez, más preferiblemente perteneciente al orden *Salmoniformes*, y aún más preferiblemente al género *Salmo* o al género *Oncorhynchus*. Así,

pueden estar, sin limitarse, en disolución acuosa estéril o en fluidos biológicos, tal como suero. Las disoluciones acuosas pueden estar tamponadas o no tamponadas y tienen componentes activos o inactivos adicionales. Los componentes adicionales incluyen sales para modular la fuerza iónica, conservantes incluyendo, pero sin limitarse a, agentes antimicrobianos, antioxidantes, quelantes, y similares, y nutrientes incluyendo glucosa, dextrosa, vitaminas y minerales. Alternativamente, las composiciones pueden prepararse para su administración en forma sólida. Las composiciones pueden combinarse con varios vehículos o excipientes inertes, incluyendo pero sin limitarse a; aglutinantes tales como celulosa microcristalina, goma tragacanto, o gelatina; excipientes tales como almidón o lactosa; agentes dispersantes tales como ácido algínico o almidón de maíz; lubricantes tales como estearato de magnesio, deslizantes tales como dióxido de silicio coloidal; agentes edulcorantes tales como sacarosa o sacarina; o agentes aromatizantes tales como menta o salicilato de metilo.

Tales composiciones y/o sus formulaciones pueden administrarse a un animal, incluyendo un mamífero y, por tanto, al hombre, en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, intraperitoneal, intravenoso, intramuscular, subcutáneo, intracecal, intraventricular, oral, enteral, parenteral, intranasal o dérmico. Preferiblemente, la administración es oral.

La dosificación para obtener una cantidad terapéuticamente efectiva depende de una variedad de factores, como por ejemplo, la edad, peso, sexo, tolerancia,... del animal, incluyendo al hombre. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de péptidos, o profármacos, derivados o análogos de dicho péptido que produzcan el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características propias de dichos profármacos, derivados o análogos y el efecto terapéutico a conseguir. Los "adyuvantes" y "vehículos farmacéuticamente aceptables" que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los vehículos conocidos por los técnicos en la materia.

El término "medicamento", hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales, y aún más preferiblemente en peces, y aún más preferiblemente en los organismos del orden Salmoniformes. En el contexto de la presente invención, por tanto, la composición farmacéutica de la invención sería también un medicamento.

En esta memoria se entiende por "pez" animales vertebrados acuáticos, generalmente ectotérmicos, recubiertos en su mayoría por escamas y dotados de aletas, que permiten su desplazamiento en el medio acuático. Taxonómicamente pertenecen a tres grupos: agnatos o peces sin mandíbulas, condriictios o peces cartilagosos y osteictios o peces óseos.

En esta memoria los organismos del orden *Salmoniformes* son organismos celulares, del Supereino *Eukaryota*, reino *Metazoa*, phylum *Chordata*, superclase *Gnathostomata*, clase *Actinopterygii*. El orden *Salmoniformes* incluye las familias *Galaxiidae*, *Retropinnidae*, *Osmeridae*, y *Salmonidae*. Dentro de la familia *Salmonidae* se encuentran los géneros *Coregonus*, *Prosopium*, *Stenodus*, *Brachymystax*, *Hucho*, *Oncorhynchus*, *Parahucho*, *Salmo*, *Salvelinus*, *Salvelinus* y *Thymallus*.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1: Reducción del título infectivo frente al virus IHNV con hidrolizados de proteínas obtenidos tras diferentes tiempos de hidrólisis usando dosis de 100 µg /ml de cada hidrolizado. (A) Hidrolizado de caseínas (B) Hidrolizado de β-caseína (C) Hidrolizado de α_{S2}-caseína (D) Hidrolizado de α_S-caseína.

Fig. 2: Rendimiento viral en el tiempo tras infectar con IHNV las células en presencia y ausencia de los hidrolizados de caseína total y α_{s2} -caseína a dosis de 100 $\mu\text{g/ml}$.

Fig. 3: Porcentaje de células infectadas con IHNV mediante la detección de antígenos antivirales a las 48 horas post-infección mediante citometría de flujo, en el control de células no infectadas (A), en control de células infectadas (B) y en las células infectadas tratadas con los hidrolizados de caseína total y de α_{s2} -caseína.

Fig. 4: Título infectivo frente a IHNV incorporando los hidrolizados al ensayo 30 minutos antes de la infección, al mismo tiempo que la infección, o 60 minutos tras la infección.

Fig. 5: Análisis por FPLC del hidrolizado de α_{s2} -CN

Fig. 6: Porcentaje de inhibición del virus IHNV y reducción del título infectivo utilizando distintas concentraciones de las fracciones C, D y E obtenidas mediante intercambio catiónico (según nomenclatura usada en tabla 2). (A) % Inhibición virus IHNV. (B) Reducción título infectivo virus IHNV.

Fig. 7: Porcentaje de inhibición y reducción del título infectivo frente al virus IHNV con diferentes concentraciones del péptido α_{s2} -caseína f(183-207), sintetizado químicamente, y el hidrolizado péptico de α_{s2} -caseína del que procede dicho péptido.

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la especificidad y efectividad del hidrolizado de caseínas y de los péptidos que contienen sobre virus de peces.

Materiales y Métodos

Obtención de caseína bovina

La caseína isoeléctrica se preparó por precipitación a pH 4,6 de leche entera por adición de 2 M HCl hasta pH, 4,6 seguido de centrifugación a 4500 g durante 15 min. El precipitado de caseína se lavó tres veces con agua acidulada y posteriormente se liofiliza. Las fracciones de α_s -caseína, β -caseína y κ -caseína procedían de diferentes casas comerciales

Obtención de α_{s2} -CN bovina

La α_{s2} -CN se preparó siguiendo el método de *Vreeman y Van Riel, 1990 (Neth Milk Dairy Journal 44,43-48)* con algunas modificaciones. A partir de la caseína liofilizada se preparó una disolución en agua milli-Q[®] (Millipore, Billerica, USA) a una concentración del 8% (p/v). Con la ayuda de NaOH se incrementó el pH a 7, se añadió DTT (1.2 %, p/p) y se agitó a 5 °C para conseguir la completa disolución de las caseínas. Posteriormente se calentó a 80°C para inactivar la plasmina y al llegar a esa temperatura se interrumpió el calentamiento dejando que la temperatura bajara por si misma a 60 °C, momento en el que la solución se transfirió a un baño con hielo para alcanzar una temperatura de 20 °C. Una vez alcanzada esta temperatura se ajustó el pH a 6,5 y se añadió lentamente y en frío, con continua agitación, 1-propanol hasta alcanzar una concentración del 40 % (v/v). La solución resultante se dejó toda la noche en un baño en hielo en cámara fría a 2 °C. Al día siguiente la solución se centrifugó a 17000 g durante 30 minutos a 5 °C. El precipitado conteniendo la α_{s2} -CN se lavó con 1-propanol al 40 % y se centrifugó en las condiciones descritas anteriormente. Por último, el precipitado se congeló y se liofilizó.

Hidrólisis de caseína con pepsina

Para llevar a cabo la hidrólisis se preparó una disolución acuosa al 0,5 % (p/v) de caseína isoeléctrica, de α_s -caseína, de α_{s2} -caseína, de β -caseína, o de κ -caseína, ajustándose el pH a 3 con HCl 1 M. Posteriormente, se añadió pepsina porcina (EC 3.4.23.1, 570 U/mg) a una concentración final del 3.7% (p/p). La hidrólisis se realizó a 37 °C durante 24 horas, con agitación, tomando alícuotas a las 0,5, 1, 2, 3, 5, 7 y 24 horas. Para terminar la reacción se calentó a 80 °C durante 20 minutos y se ajustó el

pH a 7 con NaOH 1 M. El hidrolizado se centrifugó a 16000 g durante 15 minutos, recogándose el sobrenadante para la posterior evaluación de la actividad antiviral.

Aislamiento de fracciones peptídicas de la α_2 -CN bovina mediante cromatografía de intercambio iónico (FPLC)

El aislamiento de fracciones peptídicas se llevó a cabo usando un equipo de FPLC, y una columna de intercambio catiónico HiLoad™ 26/10 SP Sepharose Fast Flow (Pharmacia, Uppsala, Suecia). Las fases A y B estaban constituidas por NH₄HCO₃ 10 mM (ajustado a pH 7,0 con HCOOH) y NH₃ 1,5 M, respectivamente. Las muestras se prepararon en la fase A a una concentración de 5 mg/mL, inyectándose un volumen de 5 mL mediante un Superloop™ (Pharmacia) de 50 mL. Se utilizó un flujo de 5 mL/min. Tras 20 minutos con 100% de solvente A, se aplicó un gradiente del 0 al 50% del solvente B en 60 minutos, seguido de 20 minutos con el 50% del solvente B. La detección se llevó a cabo a una absorbancia de 214 nm. La temperatura de la columna y de las fases móviles fue de 9°C. Se recogieron las fracciones de varios análisis cromatográficos.

Análisis mediante RP-HPLC acoplado on-line a espectrometría de masas en tandem (RP-HPLC-MS/MS)

Las diferentes fracciones recogidas del FPLC se analizaron por RP-HPLC-MS/MS. Se empleó un equipo Esquire-LC (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Alemania). El equipo de HPLC (serie 1100) estaba formado por una bomba cuaternaria, un inyector automático, un sistema de degasificación de eluyentes y un detector ultravioleta de longitud de onda variable (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania) acoplado en línea a un espectrómetro de masas de trampa iónica Esquire 3000 (Bruker Daltonik). La columna fue una columna Hi-Pore C18 (250 x 4,6 mm d.i., 5 µm de tamaño de partícula) (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, EEUU). El disolvente A fue una mezcla de agua y ácido trifluoroacético (1000:0.37) y el disolvente B una mezcla de acetonitrilo y ácido trifluoroacético (1000:0.27). Se inyectaron 50 µl de muestra preparada a una concentración de 4,5 mg/ml. Se empleó un flujo de 0.8 ml/min, con un gradiente lineal del 0% al 50% de disolvente B en 60

minutos. El eluyente se monitorizó a 214 nm y el flujo de la muestra hacia el nebulizador del espectrómetro de masas fue de 275 µl/min. La ionización por ESI utilizó N₂ como agente nebulizador (8 L/min), presión de nebulización de 60 psi, temperatura de secado de 350 °C y un voltaje del capilar de 4 KV. Los espectros de masa se adquirieron en el rango de 100-2500 m/z y se empleó un rampa de fragmentación comprendida entre 0.3 y 2 V. Como sistema de adquisición de datos se utilizó el programa Esquire Control™ 5.0 y para identificar la secuencia de los diferentes péptidos se utilizaron los programas informáticos Data Analysis™ 3.0, Sequence Editor™ 2.1 y Biotools™ 2.1 todos ellos de Bruker Daltonik (Bruker Daltonik, Alemania).

Actividad biológica:

Células y Cultivo de Virus.

Se eligió la línea celular BF-2 por su susceptibilidad a diversos virus. *Rodríguez Saint-Jean & Pérez Prieto, 2006 (Veterinary Immunology and Immunopathology 110: 1-10)*. Esta línea celular procede de alevines del pez sol, *Lepomis macrochirus* y se adquirió en la American Type Culture Collection (ATCC CRL 1681). Las células se cultivaron en medio de crecimiento Leiboviz (L15, Gibco, Invitrogen, Barcelona) a 25°C, suplementada con 100 unidades/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin, 2 mM de L-glutamina y 10% de suero fetal bovino (FBS, Gibco). Para el mantenimiento de la monocapa celular, se utilizó el mismo medio pero disminuyendo el porcentaje de suero fetal al 2%.

Para el cultivo y propagación de los virus a ensayar, las células a las 24 horas de su siembra y con una monocapa subconfluyente, fueron infectadas con 1000 TCID₅₀/ml de virus y se incubaron a 15 o 20°C (según los virus) hasta que los efectos citopáticos (CPE) producidos por el virus afectaban a toda la monocapa celular. En ese momento se recogieron los sobrenadantes, se centrifugaron a baja velocidad (900 g) durante 5 minutos para retirar los restos celulares y se repartieron alícuotas de la suspensión de virus en tubos eppendorff que se conservaron a -80°C hasta su utilización. El título infectivo del pase de

virus se determinó calculando la dosis infectiva 50% (TCID₅₀/mL) que se detalla más adelante.

Los virus utilizados proceden de la ATCC y fueron el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV, ATCC VR1318) y el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHNV, ATCC VR714). La cantidad de virus que se utiliza en la infección debe ser la suficiente para que a los 3 días post-infección (IPNV) y 7 días (IHNV) se observe lisis total en las células sin tratar con compuesto (control virus).

Citotoxicidad de los compuestos:

Para determinar la toxicidad de los hidrolizados y sus fracciones en cultivos celulares se utilizó un ensayo de viabilidad celular de los cultivos tratados y sin tratar, según el método de *Renault et al., 1991 (Diseases of Aquatic Organisms 10, 23–29)* de valoración colorimétrica. A monocapas confluentes de células BF-2 creciendo en placas de plástico desechable de 96 pocillos, se les retiró el medio de crecimiento y se reemplazó por diferentes concentraciones de los hidrolizados o péptidos a ensayar, diluidos en medio de mantenimiento. A los controles de células se les añadió el mismo volumen de medio de mantenimiento sin compuesto. Las placas se incubaron a 15 °C durante 3-7 días y tras la retirada del medio, se tiñeron las monocapas con una solución de cristal violeta al 1% (w/v) en etanol al 20 % durante 10 min. Tras lavado y secado al aire se midió la absorbancia en un lector de microplacas (Bio-Rad ®) a 590 nm. Los resultados se presentan como porcentajes de células supervivientes, donde el 100% representa la absorbancia de las células control. A la concentración citotóxica del compuesto que ocasiona un 50% de inhibición del crecimiento celular se le denomina CT₅₀.

Inhibición de efectos citopáticos de los virus y determinación de dosis inhibitoria 50.

La actividad antiviral se determina por la capacidad de los compuestos para inhibir los efectos citopáticos (lisis) del virus y proteger la monocapa celular y se calcula mediante el porcentaje de células viables tras la infección. Brevemente, se infectaron células BF-2 (aproximadamente 10⁵ ml⁻¹) cultivadas en placas de 48 pocillos con 1000 TCID₅₀/ml de virus y

diferentes concentraciones del hidrolizado o sus fracciones o péptidos diluidos en medio de mantenimiento. Los cultivos se incubaron a las temperaturas óptimas para cada virus 20°C para IPNV y 15°C para IHNV. Se observaron diariamente al microscopio y cuando los efectos citopáticos (CPE) en las células infectadas y no tratadas fueron totales (4 + o un 100 % de afectación de la monocapa celular) se tiñeron las monocapas con una solución de cristal violeta al 1% (w/v) en etanol al 20 % durante 10 min. Los CPE totales suelen ser de 3 días para IPNV y 7 días para IHNV. Los resultados se presentan como porcentajes de células supervivientes, el 100% representa la absorbancia de las células control no infectadas y tratadas del mismo modo que las células infectadas (control células) y 0 son las células infectadas con virus y sin tratar con los extractos (control Virus).

Reducción de título infectivo de los virus tratados con los compuestos.

Se determina el título infectivo de los virus que se han multiplicado en presencia de diferentes dosis de hidrolizados o sus derivados. Brevemente, se infectaron células BF-2 (aproximadamente 10^5 mL⁻¹) cultivadas en placas de 48 pocillos con 1000 TCID₅₀/ml de virus en presencia de diferentes concentraciones de los compuestos, diluidos en medio de mantenimiento. Como controles se mantuvieron células no tratadas pero infectadas (control virus) y células no tratadas y no infectadas (control células). Los cultivos se incubaron a las temperaturas óptimas para cada virus.

Tras la aparición de efectos citopáticos en los controles de virus, se recogieron todos los cultivos celulares con sus sobrenadantes, tanto tratados como los controles de virus y se sometieron a sonicación para liberar el virus intracelular, se centrifugaron a muy baja velocidad durante 5 minutos y se titularon en placas de 96 pocillos de células BF2. Se determinan así los rendimientos de virus infectivo en las células tratadas y no tratadas. La estimación del número de virus o unidades infecciosas por unidad de volumen se conoce con el nombre de titulación. El virus tratado con compuesto y el virus sin tratar se titula por el método de TCID₅₀/ml (Dosis infectiva 50 % en cultivos celulares). Las monocapas se

inocularon con diluciones seriadas (decimales) de la suspensión viral (sin compuesto y con compuesto). Después de un periodo de incubación de 3 días para IPNV y 7 para IHNV se tiñeron las monocapas y se calcula el título infectivo. El título infectivo se calcula mediante la dilución del punto final, que es la dilución (decimal) más alta en la que el virus infecta al 50% de los pocillos inoculados. El título se expresa como el recíproco de esta dilución, en unidades infectivas (TCID₅₀) (*Tissue culture infective dose* 50%) por mL.

Ejemplo 1: Actividad antiviral frente a virus de salmónidos (IPNV y IHNV) de hidrolizados de caseína total y de hidrolizados de diferentes fracciones caseínicas.

La tabla 1 presenta los resultados obtenidos sobre la evaluación de la actividad antiviral frente a virus de salmónidos (IPNV y IHNV) de hidrolizados de caseína total y de hidrolizados de diferentes fracciones caseínicas con tiempos de hidrólisis comprendidos entre 0.5 a 24 horas. Estos resultados muestran que la hidrólisis con pepsina de la fracción caseínica genera péptidos con actividad frente al virus IHNV. El índice terapéutico más alto con un valor de 30 se alcanzó en el hidrolizado de caseína total obtenido tras 3 horas de hidrólisis, seguido por el hidrolizado de caseína total con un tiempo de hidrólisis más corto (índice terapéutico de 6) (productos 1 a 5, de la Tabla 1). El hidrolizado obtenido de la α_{s2} -caseína purificada alcanzó un índice terapéutico de 30 después de 3 horas de hidrólisis, pero no a tiempos de hidrólisis superiores o inferiores. Ninguno de los hidrolizados obtenidos de otras fracciones caseínicas α_s -, κ - or β -caseína alcanzó este índice terapéutico, siendo el rango de valores de 2.8 a 6. Estos resultados pueden indicar que la actividad puede ser debida principalmente a péptidos derivados de la α_{s2} -caseína aunque no se puede excluir que otros péptidos puedan contribuir a la actividad.

Tabla 1: Citotoxicidad y actividad antiviral de hidrolizados de caseína bovina frente virus que afectan a salmónidos.

	Compuesto ^a	Tiempo hydr (h)	CT ₅₀ T (μg/ml)	Virus Testados MIC ₅₀	
				IPNV (TI)	IHNV(TI)
1	Caseína Total	0	2800	NA	500 (6)
2	Hidrolizado de caseína total	0,5	3000	NA	500 (6)
3	Hidrolizado de caseína total	1	3000	NA	500 (6)
4	Hidrolizado de caseína total	2	3000	NA	500 (6)
5	Hidrolizado de caseína total	3	3000	1000 (3)	100 (30)
6	Hidrolizado de caseína total	5	3000	NA	NA
7	Hidrolizado de caseína total	7	3000	NA	NA
8	Hidrolizado de caseína total	24	3000	NA	NA
9	α _{s2} -caseína	0	3000	NA	1000 (3)
10	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	0,5	3000	NA	1000 (3)
11	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	1	3000	NA	1000 (3)
12	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	2	3000	NA	1000 (3)
13	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	3	3000	1000 (3)	100 (30)
14	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	5	3000	NA	NA
15	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	7	3200	NA	NA
16	Hidrolizado de α _{s2} -caseína	24	3200	NA	NA
17	β-caseína	0	3000	1000 (3)	1000 (3)
18	Hidrolizado de β-caseína	0,5	3000	1000 (3)	1000 (3)
19	Hidrolizado de β-caseína	1	3000	1000 (3)	1000 (3)
20	Hidrolizado de β-caseína	2	2800	1000 (2,8)	1000 (2,8)
21	Hidrolizado de β-caseína	3	2800	1000 (2,8)	1000 (2,8)
22	Hidrolizado de β-caseína	5	2800	NA	NA
23	Hidrolizado de β-caseína	7	3000	NA	NA
24	Hidrolizado de β-caseína	24	3000	NA	NA
25	κ-caseína	0	>1000	NA	NA
26	Hidrolizado de κ-caseína	3	>1000	NA	NA
27	α _s -caseína	0	3000	NA	500 (6)
28	Hidrolizado de α _s -caseína	1	3000	NA	500 (6)
29	Hidrolizado de α _s -caseína	2	3000	NA	500 (6)
30	Hidrolizado de α _s -caseína	3	3000	NA	1000 (3)

31	Hidrolizado de α_s -caseína	5	3000	NA	NA
----	------------------------------------	---	------	----	----

Todos los experimentos se realizaron por triplicado en células BF-2
 CT_{50} es la dosis o concentración del compuesto que presenta el 50 % de toxicidad en cultivos celulares.
 MIC_{50} es la concentración del compuesto que inhibe el 50 % los efectos citopáticos del virus
 TI es el índice terapéutico= CT_{50}/MIC_{50} .

La Fig. 1 muestra la reducción del título infectivo del virus IHNV determinado con una dosis de 100 $\mu\text{g/ml}$ de los hidrolizados. Los mejores resultados se obtuvieron con los hidrolizados de caseínas totales y con los hidrolizados obtenidos a partir de la fracción de α_{s2} -caseína. Se observa una reducción de 1,5-2,5 \log_{10} del título infectivo para los hidrolizados de caseína obtenidos durante las primeras tres horas de hidrólisis. Para los hidrolizados obtenidos a partir de la α_{s2} -caseína se observó actividad hasta 7 horas de hidrólisis, siendo el hidrolizado más activo el obtenido tras 3 horas (2,5 \log_{10}).

Utilizando los dos hidrolizados más activos, caseína total 3h y α_{s2} -caseína 3h, se realizaron experimentos multiciclo donde se determinó el título infectivo tras infectar las células en presencia y ausencia de los hidrolizados a distintos tiempos post-infección: 1, 2, 3, 5 y 7 días. Los resultados se muestran en la Fig. 2. Con ambos hidrolizados se reduce significativamente el título infectivo con respecto a las células infectadas control a todos los tiempos hasta 7 días tras la infección. Cabe destacar que con el hidrolizado de α_{s2} -caseína no se detecta el virus en las primeras 48 h tras la infección. Estos resultados también se confirmaron mediante la detección de los antígenos virales a las 48 horas mediante citometría de flujo. En la figura 3 se muestra el porcentaje de células infectadas en el control de células infectadas, en el control de células no infectadas y en las células infectadas tratadas con los hidrolizados. A las 48 horas, el porcentaje de células infectadas en las muestras tratadas con el hidrolizado de α_{s2} -caseína fue similar al encontrado en las células sin infectar.

Con el objetivo de evaluar si los hidrolizados eran activos en los primeros estadios del ciclo del virus o durante la replicación viral, se realizaron

ensayos de tiempo de adición, en los que el hidrolizado se incorporaba al ensayo 30 minutos antes de la infección, al mismo tiempo que la infección, o 60 minutos tras la infección. Se observó que la mayor reducción del título infectivo frente a IHNV se obtuvo cuando se incorpora el hidrolizado al mismo tiempo que se produce la infección y que por tanto, los hidrolizados deben actuar durante la adsorción de los virus a las células (Figura 4).

Ejemplo 2: Actividad antiviral frente al virus de salmónido IHNV de diferentes fracciones del hidrolizado de α_{s2} -caseína.

Con el fin de identificar los péptidos responsables de la actividad antiviral en el hidrolizado péptico de α_{s2} -caseína, éste se fraccionó mediante cromatografía de intercambio catiónico (figura 5) y los fragmentos contenidos en cada fracción se identificaron mediante HPLC acoplado on line a espectrometría de masas en tándem. Los resultados de la identificación se muestran en la tabla 2. También se evaluó la actividad antiviral frente al virus IHNV (figura 6). Las fracciones A y B no tienen actividad frente al virus IHNV, mientras que las fracciones C, D y E, exhibieron actividad antiviral en distinto grado, siendo las fracciones C y D las más activas. En concreto, es la fracción C la que consiguió una mayor reducción del título infectivo (2 unidades logarítmicas) a una concentración más baja (750 $\mu\text{g/ml}$).

El péptido mayoritario en esta fracción es el fragmento 183-207 de la α_{s2} -caseína, un péptido con marcado carácter catiónico y que había sido previamente descrito por su actividad antibacteriana frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Recio y Visser, *Biochim Biophys Acta* 1428, 1999, 314-326; WO 00/15655). Sin embargo, no se había descrito la actividad antiviral de este fragmento. Además, no se puede descartar la actividad de otros fragmentos ya que la fracción D también exhibe notable actividad antiviral y no contiene este fragmento.

Se evaluó la actividad del péptido frente al virus IHNV tanto mediante la determinación del porcentaje de inhibición como la reducción del título infectivo. En las gráficas de la figura 7 se muestran estos valores de actividad para el péptido puro obtenido por síntesis química, en

comparación con los valores de actividad obtenidos para el hidrolizado de α_{s2} -caseína del que procede el péptido. Se observa que el péptido 183-207 es activo frente al virus IHNV y de la determinación del título infectivo se puede concluir que es uno de los péptidos responsables de la actividad el hidrolizado aunque no se puede descartar la actividad aditiva o sinérgica de otros péptidos presentes en el hidrolizado

Tabla 2. Identificación de los diferentes péptidos presentes en las fracciones obtenidas mediante cromatografía de intercambio catiónico. Identificación realizada por HPLC-MS/MS. En negrita se muestra el péptido mayoritario en cada fracción y en paréntesis la carga del ión fragmentado.

	Masa observada	Masa calculada	Ion seleccionado para MS/MS	Secuencia	Aminoácidos	SEQ ID NO:
acción A	1058.4	1059.0	1059.4	43-51	VVRNANEEE	1
acción B	972.5	973.0	973.5	89-95	YQKFPQY	2
	2125.8	2126.4	1063.9	147-163	FTKTKLTEEEKNRLNF	3
acción C	1124.6	1125.3	1125.6	191-199	KPWIQPKTK	4
	3001.5	3002.5	1001.5 (3)	183-206	VYQHQAAMKPWIQPKTKVIPYVRY	5
	3115.5	3115.7	1039.5 (3)	183-207	VYQHQAAMKPWIQPKTKVIPYVRYL	6
acción D	864.6	865.0	865.6	147-153	FTKTKL	7
	2011	2011.3	1006.5 (2)	164-179	LKKISQRYQKFALPQY	8
	2353.2	2353.8	1177.6 (2)	164-182	LKKISQRYQKFALPQYLKT	9
	2125	2125.5	1063.5(2)	164-180	LKKISQRYQKFALPQYL	10
	2272.2	2272.6	1137.1(2)	162-179	NFLKKISQRYQKFALPQY	11

acción						
E	921.5	922.0	922.5	167-173	ISQRYQK	12
	793.2	793.8	794.3	167-172	ISQRYQ	13
	1290.7	1291.5	1291.7	164-173	LKKISQRYQK	14
	864.6	864.9	865.6	147-153	FTKKTCL	15
	1034.6	1035.2	1035.6	164-171	LKKISQRY	16
	1437.8	1438.7	1438.8	164-174	LKKISQRYQKF	17
	1068.5	1069.2	1069.5	167-174	ISQRYQKF	18
	1621.8	1622.9	811.9 (2)	164-176	LKKISQRYQKFAL	19
	2353.2	2353.8	1177.6 (2)	164-182	LKKISQRYQKFALPQYLKT	20

REIVINDICACIONES

1. Uso de un hidrolizado de caseína en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral.
2. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación anterior, donde el hidrolizado de caseína comprende uno de los péptidos que se selecciona de la lista que comprende: SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, o cualquiera de sus combinaciones.
3. Uso de un hidrolizado de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde el hidrolizado de caseína comprende uno de los péptidos que se selecciona de la lista que comprende: SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 SEQ ID NO: 11, o cualquiera de sus combinaciones.
4. Uso de un hidrolizado de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde el hidrolizado de caseína comprende al menos el péptido de secuencia SEQ ID NO: 6.
5. Uso de un hidrolizado de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la enfermedad viral la padece un pez.
6. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 5, donde el pez pertenece al orden *Salmoniformes*.
7. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 6, donde el pez del orden *Salmoniformes* pertenece al género *Salmo* o al género *Oncorhynchus*.

8. Uso de un hidrolizado de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el virus pertenece a la familia *Birnaviridae*.
9. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 8, donde el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*.
10. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 9, donde el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa.
11. Uso de un hidrolizado de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el virus pertenece a la familia *Rhabdoviridae*.
12. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 11, donde el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*.
13. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 12, donde el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa.
14. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad viral.
15. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación anterior, donde la composición es una composición farmacéutica.
16. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 14-15, donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable

17. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 14-16, donde la composición además comprende otro principio activo.
18. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 14-17, donde la enfermedad viral la padece un pez.
19. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación 18, donde el pez pertenece al orden *Salmoniformes*.
20. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación 19, donde el pez del orden *Salmoniformes* pertenece al género *Salmo* o al género *Oncorhynchus*.
21. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 14-20, donde el virus pertenece a la familia *Birnaviridae*.
22. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación 21, donde el virus de la familia *Birnaviridae* pertenece al género *Aquabirnavirus*.
23. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación 22, donde el virus del género *Aquabirnavirus* es el virus de la necrosis pancreática infecciosa.
24. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según cualquiera de las reivindicaciones 14-20, donde el virus de RNA pertenece a la familia *Rhabdoviridae*.
25. Uso de una composición que comprende un hidrolizado enzimático de caseína según la reivindicación 24, donde el virus de la familia *Rhabdoviridae* pertenece al género *Novirhabdovirus*.

26. Uso de un hidrolizado de caseína según la reivindicación 25, donde el virus del género *Novirhabdovirus* es el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa.

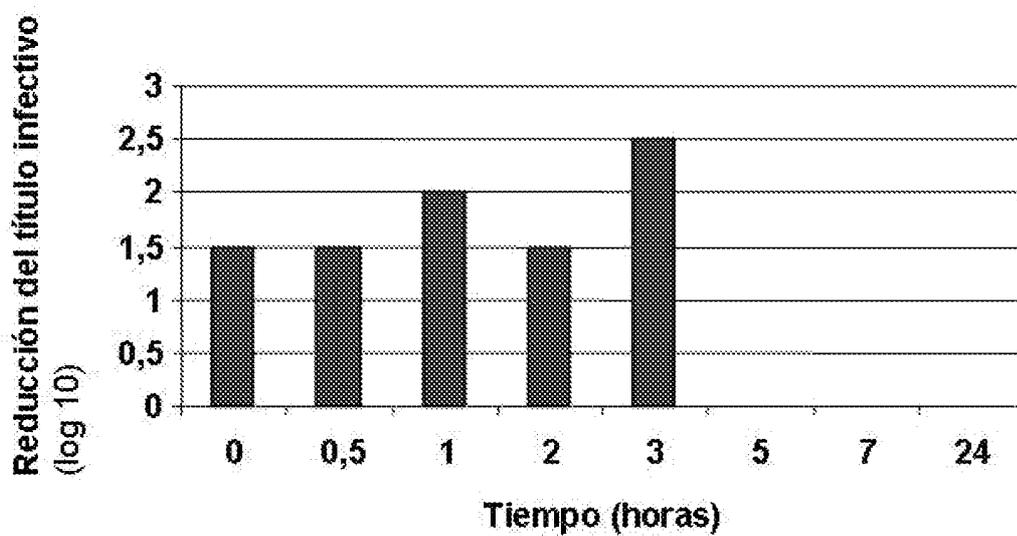


FIG. 1A.

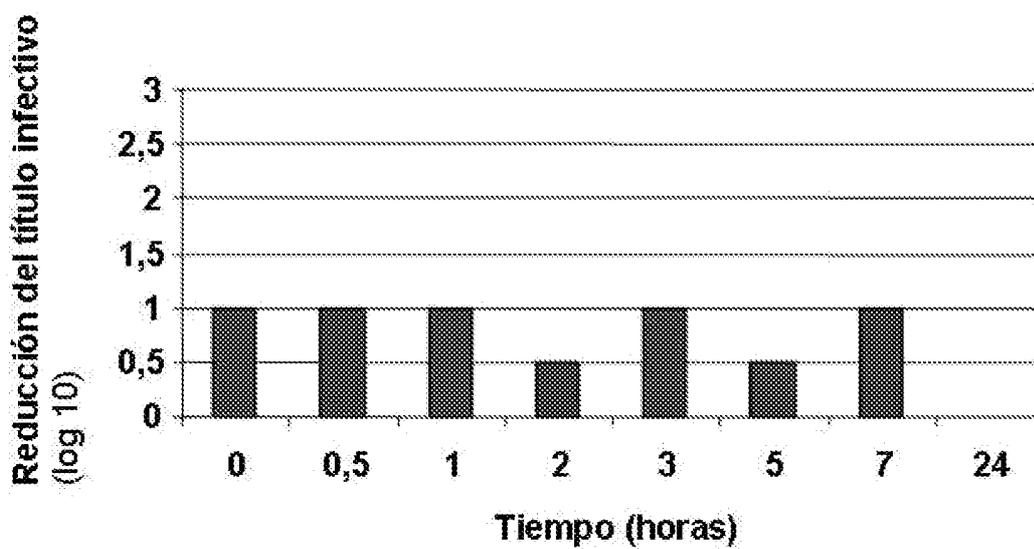


FIG. 1B.

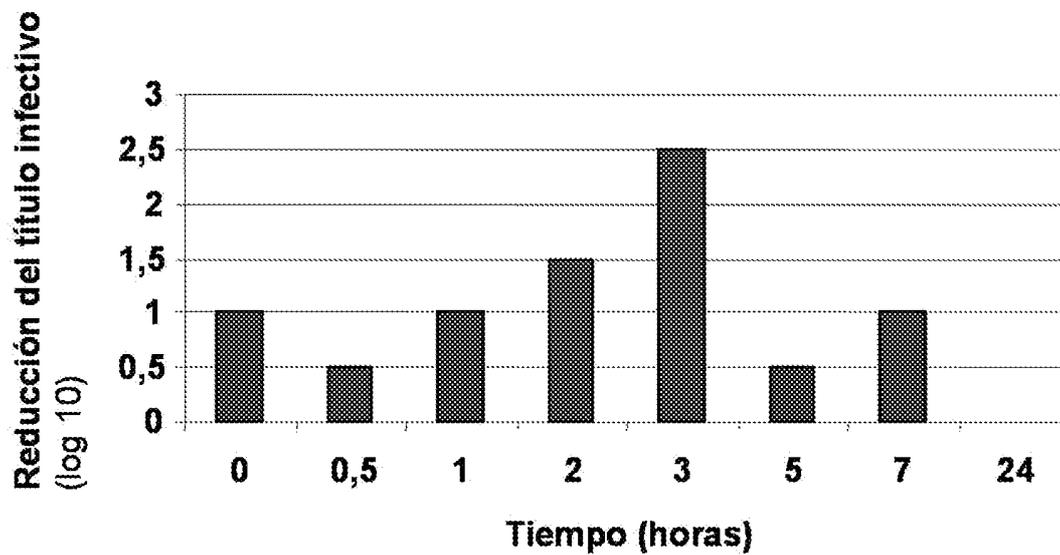


FIG. 1C.

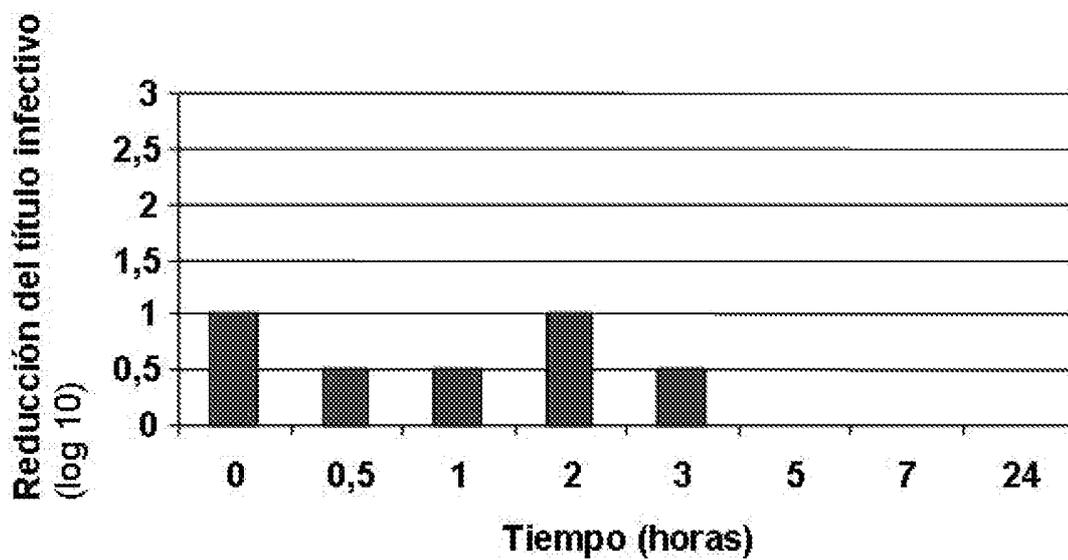


FIG. 1D.

3/11

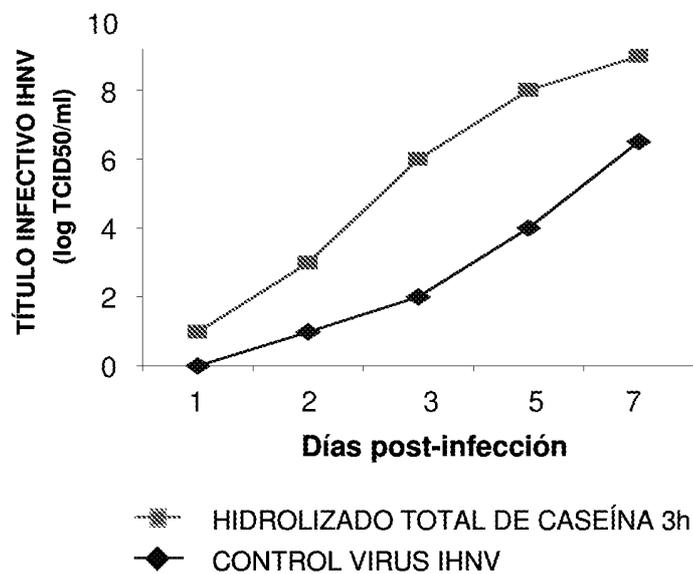


FIG. 2A.

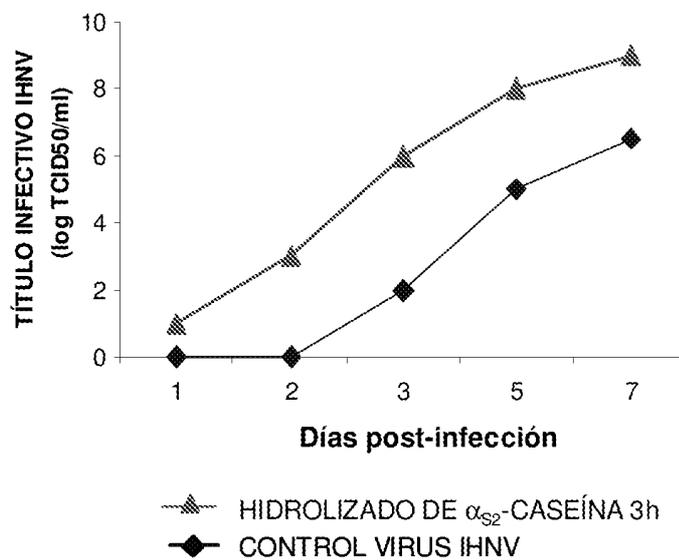


FIG. 2B

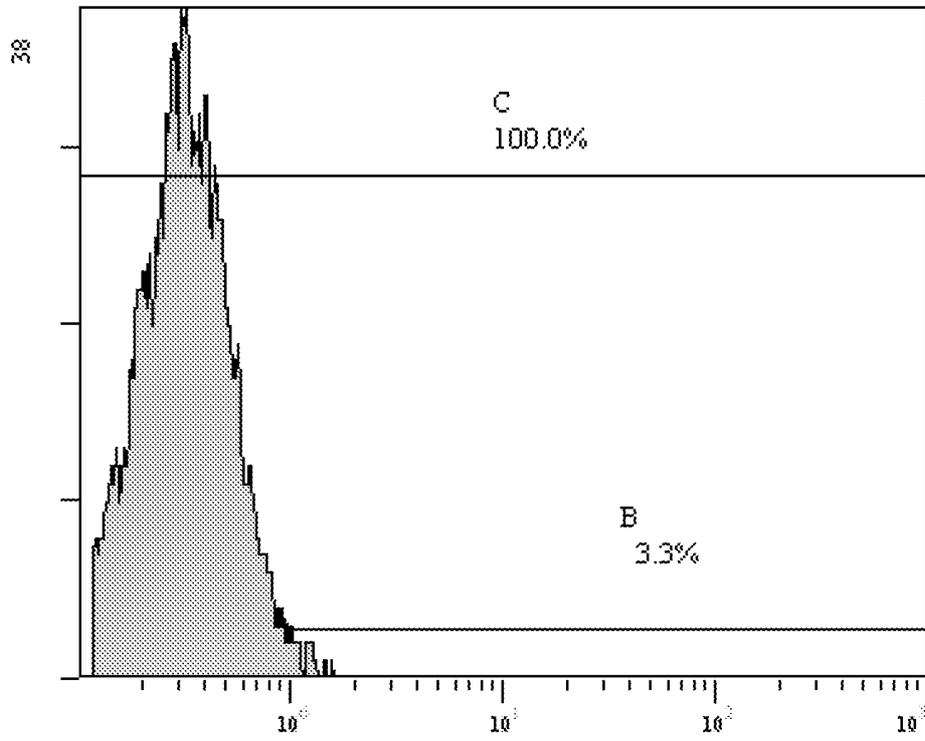


FIG.3A.

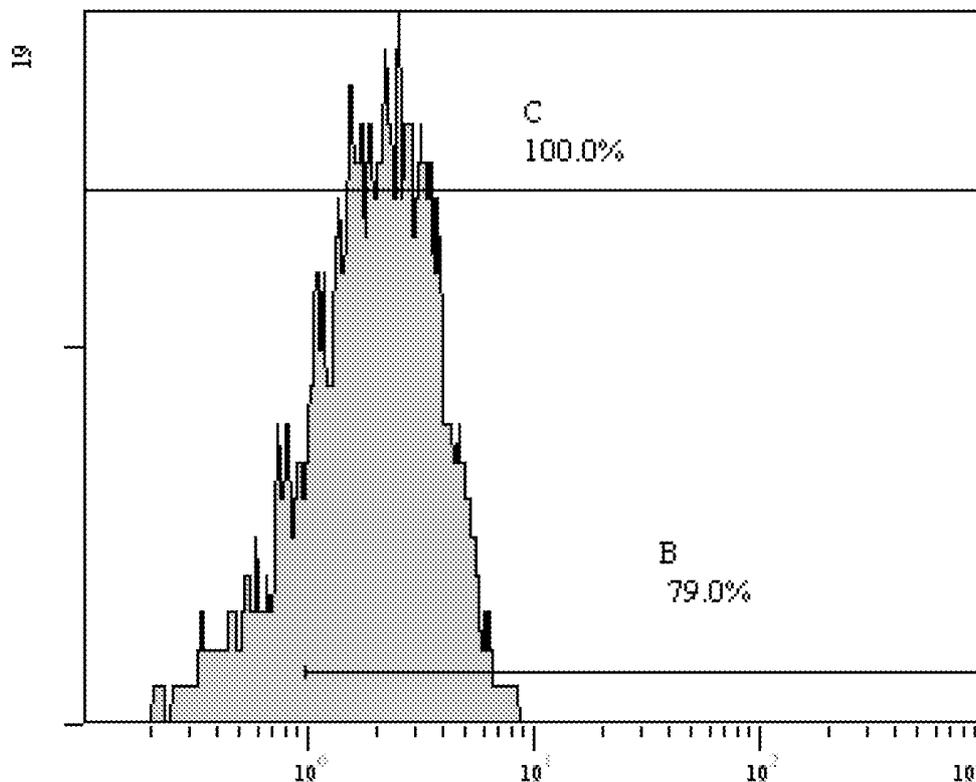


FIG.3B.

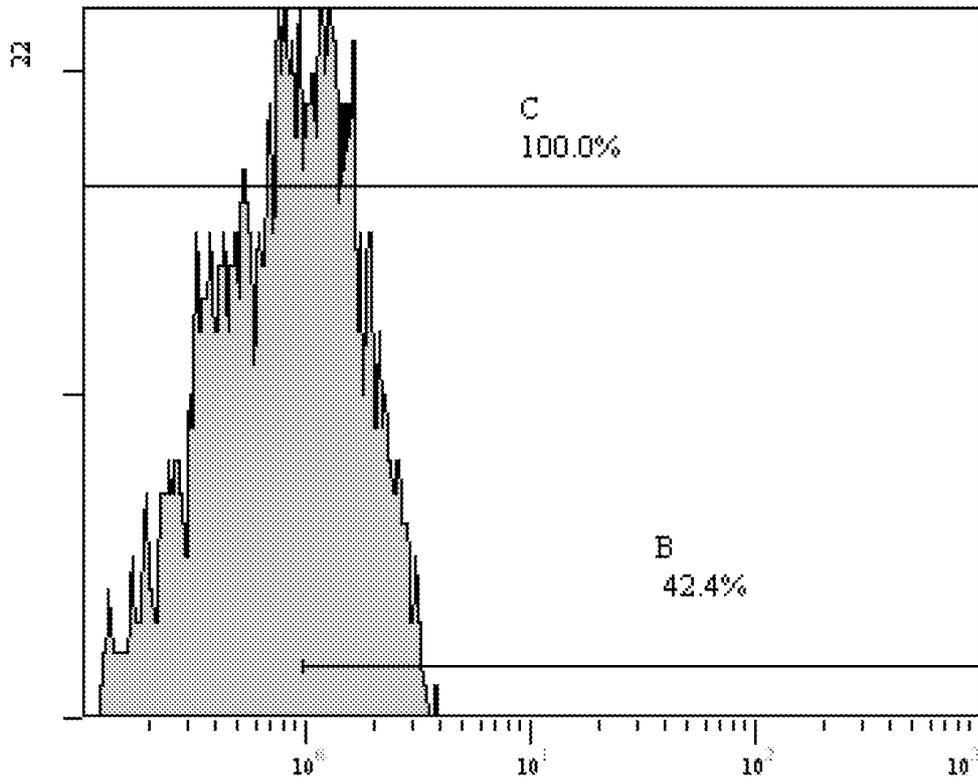


FIG.3C.

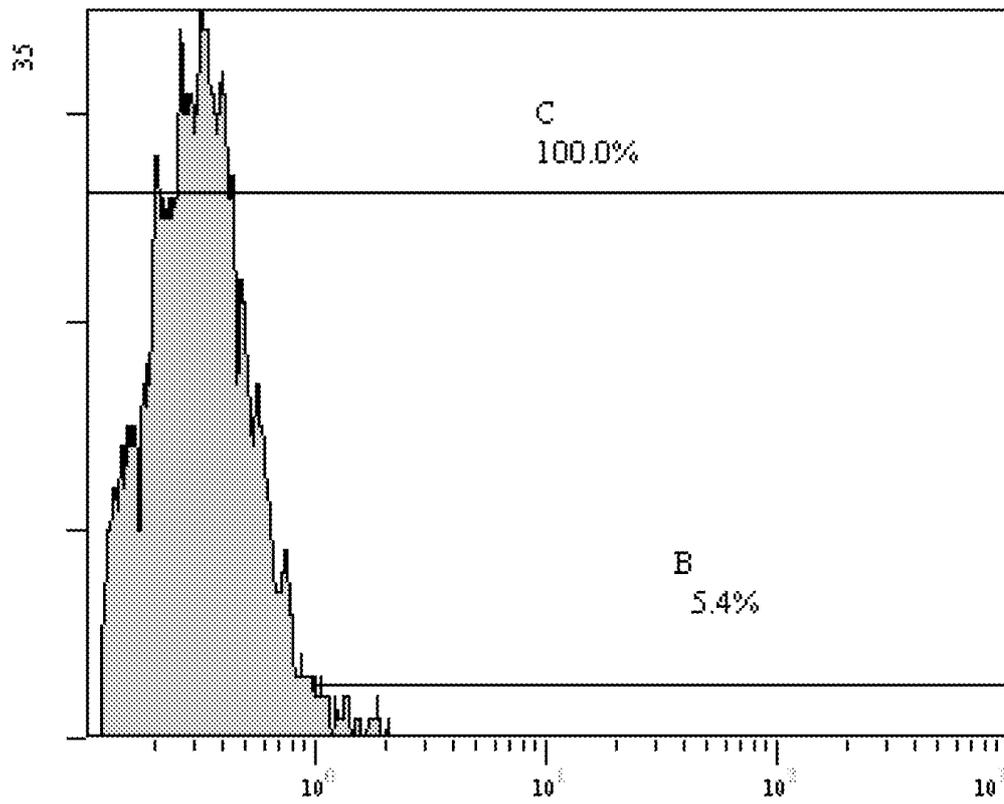


FIG.3D.

8/11

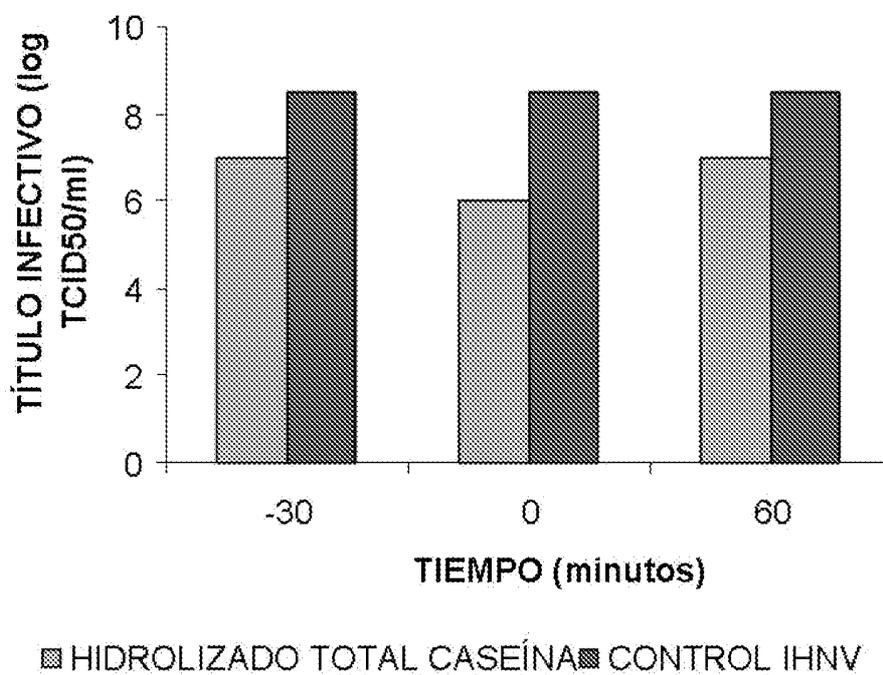


FIG.4A.

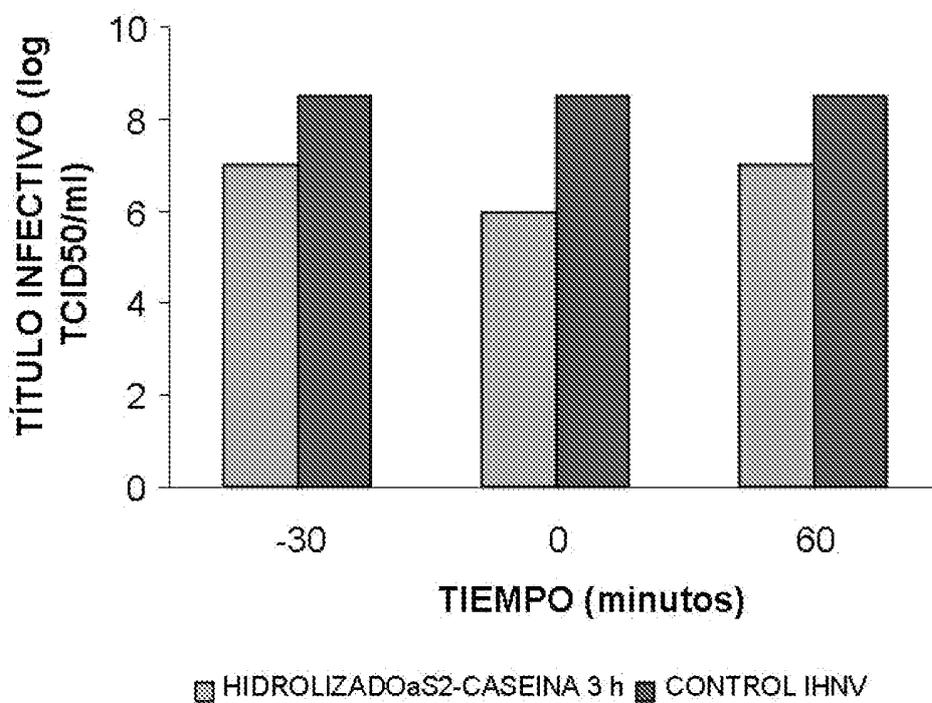


FIG.4B.

9/11

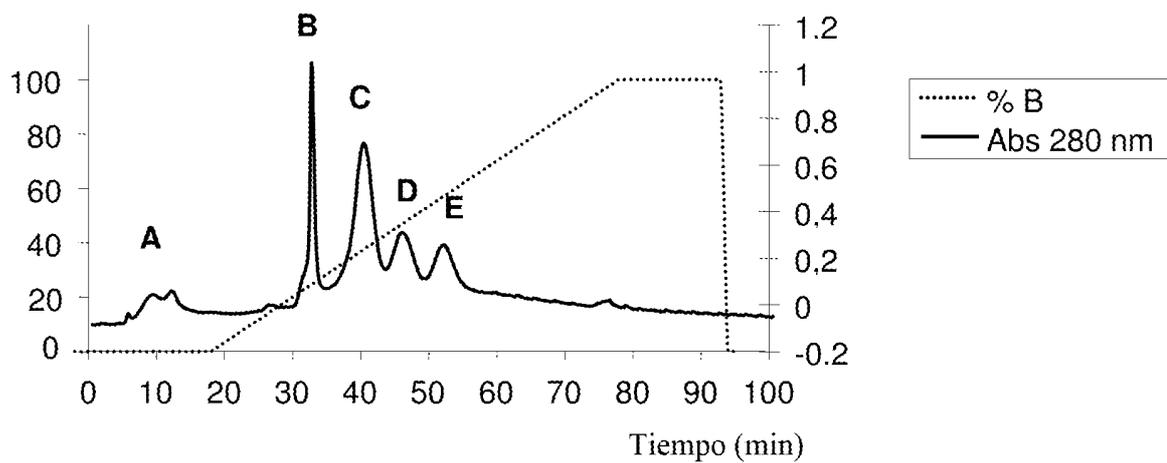


FIG.5.

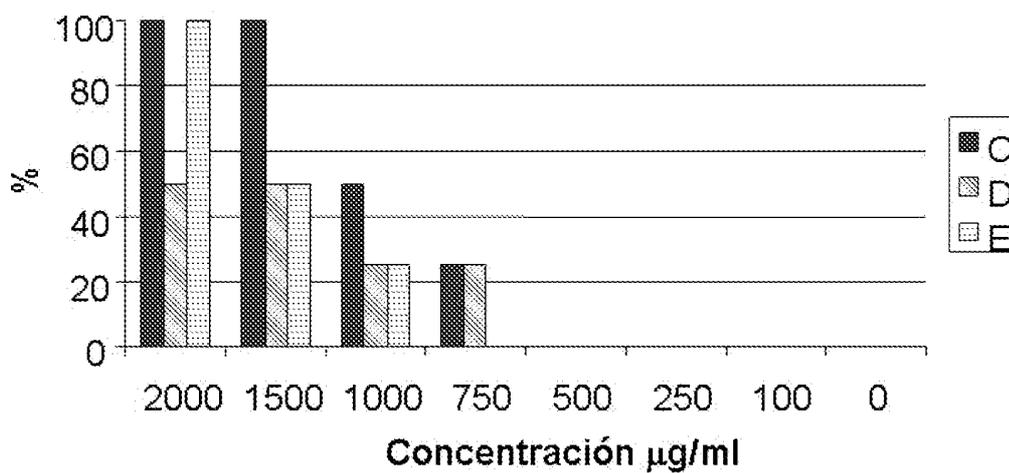


FIG.6A.

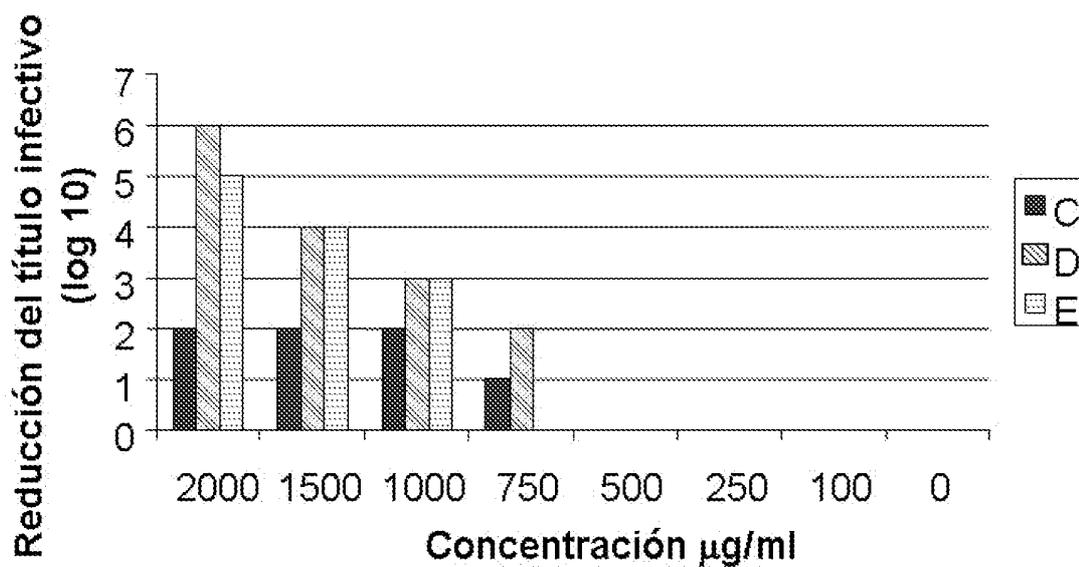


FIG.6B.

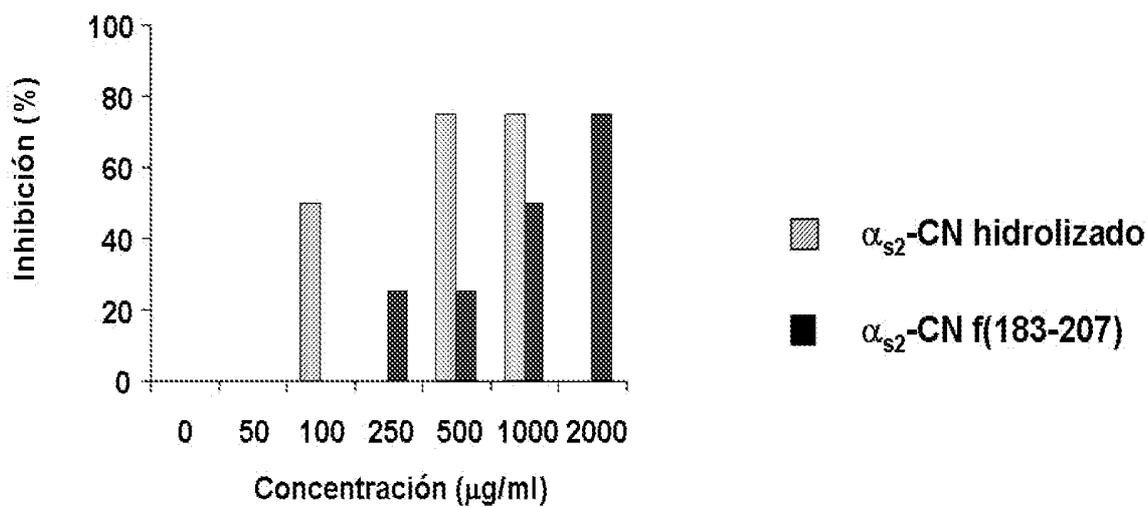


FIG.7A.

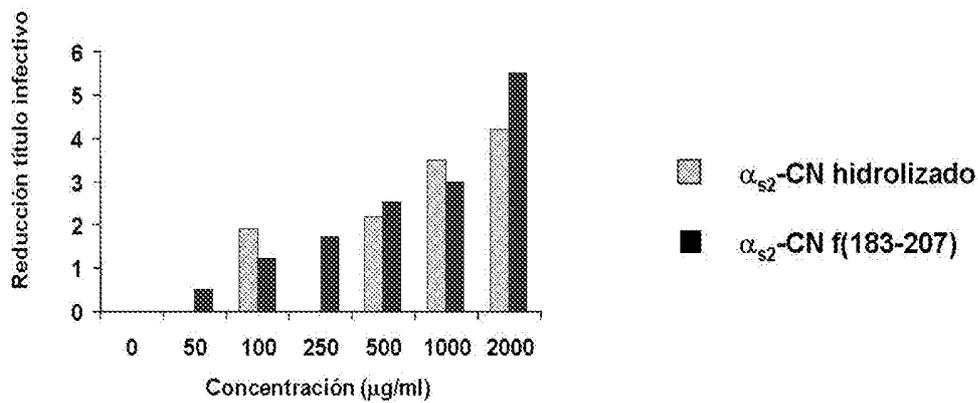


FIG.7B.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/ES2011/070318

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, C07K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, COMPDX, NPL, XPESP, Uniprot, Euro Patents, Japan Patents, Korea Patents, US Patents

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RECIO, I., VISSER, S. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine α_{s2} -casein. <i>Biochimica et Biophysica Acta</i> . August 1999, Vol. 1428, N° 2-3, pages 314 - 326. ISSN 0304-4165.	1-4, 14-17
A	US 2004/0167073 A1 (SIDELMAN, Z.) 26.08.2004, paragraphs [0288 - 0302]; paragraphs [0346 - 0374]; paragraphs [0454 - 0470].	1-4, 14-17
A	WO 2006/118459 A1 (CAMPINA NEDERLAND HOLDING B. V. & ADVITECH INC.) 09.11.2006, the whole document.	1, 14-17
A	WO 1995/032727 A1 (ABBOTT LABORATORIES) 07.12.1995, the whole document.	1, 14-17

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search
30/09/2011

Date of mailing of the international search report
(10/10/2011)

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer
E. Relaño Reyes

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Telephone No. 91 3498504

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: **1, 2, 11, 12, 14, 24, 25 1, 2, 11, 12, 14, 24, 25 (partially), 8-10, 21-23 (in full)**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

(See additional sheet)

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070318

Information on patent family members

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 20040167073 A1	26.08.2004	WO2003/018606 A2 AU 2002324323 A1 NO 20040880 A MXP04001890 A EP 1556074 A2 CN 1694719 A ZA 200401574 HU 0500995 A2 BR 0212625 A US 7666996 B2 US 2010317601 A1	06.03.2003 10.03.2003 20.04.2004 18.06.2004 27.07.2005 09.11.2005 28.02.2007 02.05.2007 19.06.2007 23.02.2010 16.12.2010
----- WO 2006/118459 A1	----- 09.11.2006	EP 1874327 A1 JP 2008539229 A US 2009074893 A1	----- 09.01.2008 13.11.2008 19.03.2009
----- WO1995/032727 A1	----- 07.12.1995	CA 2190609 A AU 2192095 A US 5506209 A US 5538952 A EP 0760674 A1 JP 10500100 T NZ 283578 A MX 9605830 A1 AU 697616 B NZ 329311 A BR 1101102 A3	----- 07.12.1995 21.12.1995 09.04.1996 23.07.1996 12.03.1997 06.01.1998 27.05.1998 28.06.1998 15.10.1998 28.07.2000 09.07.2002
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2011/070318

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K38/01 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

C07K14/47 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2011/070318

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, C07K, A61P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, COMPDX, NPL, XPESP, Uniprot, Euro Patents, Japan Patents, Korea Patents, US Patents

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	RECIO, I., VISSER, S. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine α_{s2} -casein. Biochimica et Biophysica Acta. Agosto 1999, Vol. 1428, Nº 2-3, páginas 314 - 326. ISSN 0304-4165.	1-4, 14-17
A	US 2004/0167073 A1 (SIDELMAN, Z.) 26.08.2004, párrafos [0288 - 0302]; párrafos [0346 - 0374]; párrafos [0454 - 0470].	1-4, 14-17
A	WO 2006/118459 A1 (CAMPINA NEDERLAND HOLDING B. V. & ADVITECH INC.) 09.11.2006, todo el documento.	1, 14-17
A	WO 1995/032727 A1 (ABBOTT LABORATORIES) 07.12.1995, todo el documento.	1, 14-17

En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
30/09/2011

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
10 de octubre de 2011 (10/10/2011)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
E. Relaño Reyes
Nº de teléfono 91 3498504

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2011/070318

Recuadro II Observaciones cuando se estime que algunas reivindicaciones no pueden ser objeto de búsqueda (continuación del punto 2 de la primera hoja)

Este informe de búsqueda internacional no se ha realizado en relación a ciertas reivindicaciones según el artículo 17.2.a) por los siguientes motivos:

1. Las reivindicaciones n°s:
se refieren a un objeto con respecto al cual esta Administración no está obligada a proceder a la búsqueda, a saber:

2. Las reivindicaciones n°s: **1, 2, 11, 12, 14, 24, 25 (parcialmente); 8-10, 21-23 (en su totalidad)**
se refieren a elementos de la solicitud internacional que no cumplen con los requisitos establecidos, de tal modo que no pueda efectuarse una búsqueda provechosa, concretamente:

(Ver hoja adicional)

3. Las reivindicaciones n°s:
son reivindicaciones dependientes y no están redactadas de conformidad con los párrafos segundo y tercero de la regla 6.4(a).

Recuadro III Observaciones cuando falta unidad de invención (continuación del punto 3 de la primera hoja)

La Administración encargada de la Búsqueda Internacional ha detectado varias invenciones en la presente solicitud internacional, a saber:

1. Dado que todas las tasas adicionales requeridas han sido satisfechas por el solicitante dentro del plazo, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda.
2. Dado que todas las reivindicaciones que pueden ser objeto de búsqueda podrían serlo sin realizar un esfuerzo que justifique tasas adicionales, esta Administración no requirió el pago de tasas adicionales.
3. Dado que tan sólo una parte de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha dentro del plazo por el solicitante, el presente informe de búsqueda de tipo internacional comprende solamente aquellas reivindicaciones respecto de las cuales han sido satisfechas las tasas, concretamente las reivindicaciones n°s:
4. Ninguna de las tasas adicionales requeridas ha sido satisfecha por el solicitante dentro de plazo. En consecuencia, el presente informe de búsqueda de tipo internacional se limita a la invención mencionada en primer término en las reivindicaciones, cubierta por las reivindicaciones n°s:

Indicación en cuanto a la protesta

- Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante y, en su caso, el pago de una tasa de protesta.
- Se acompañó a las tasas adicionales la protesta del solicitante, pero la tasa de protesta aplicable no se pagó en el plazo establecido para ello.
- El pago de las tasas adicionales no ha sido acompañado de ninguna protesta.

HOJA ADICIONAL- RECUADRO II

Las reivindicaciones 1, 2, de la 8 a la 12, 14, y de la 21 a la 25, no están fundadas adecuadamente en la descripción (Art. 6 PCT).

- Reivindicaciones 1 y 14. De la descripción no se deduce que tenga actividad antiviral cualquier hidrolizado de caseína, ni que éste sea efectivo frente a cualquier virus. En consecuencia, se ha buscado el uso de un hidrolizado de caseína bovina con pepsina, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad producida por el VNHI.
- Reivindicación 2. En la solicitud se afirma que las fracciones A y B no tienen actividad frente al virus VNHI (pagina 34, líneas 17 y 18). Por lo tanto, no se han buscado las secuencias SEQ. ID. NO. 1, 2 y 3.
- Reivindicaciones de la 8 a la 10 y de la 21 a la 23. En la descripción no se muestra que el hidrolizado de la invención presente actividad frente al virus de la necrosis pancreática infecciosa (ver tabla 1). En consecuencia, no se realizó la búsqueda de estas reivindicaciones.
- Reivindicaciones 11, 12, 24 y 25. De la descripción no se deduce que el hidrolizado sea efectivo frente a otro virus que no sea el VNHI, por lo tanto, en la búsqueda sólo se ha tenido en cuenta este virus.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/ES2011/070318

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US 20040167073 A1	26.08.2004	WO2003/018606 A2	06.03.2003
		AU 2002324323 A1	10.03.2003
		NO 20040880 A	20.04.2004
		MXPA04001890 A	18.06.2004
		EP 1556074 A2	27.07.2005
		CN 1694719 A	09.11.2005
		ZA 200401574	28.02.2007
		HU 0500995 A2	02.05.2007
		BR 0212625 A	19.06.2007
		US 7666996 B2	23.02.2010
		US 2010317601 A1	16.12.2010
-----	-----	-----	-----
WO 2006/118459 A1	09.11.2006	EP 1874327 A1	09.01.2008
		JP 2008539229 A	13.11.2008
		US 2009074893 A1	19.03.2009
-----	-----	-----	-----
WO1995/032727 A1	07.12.1995	CA 2190609 A	07.12.1995
		AU 2192095 A	21.12.1995
		US 5506209 A	09.04.1996
		US 5538952 A	23.07.1996
		EP 0760674 A1	12.03.1997
		JP 10500100 T	06.01.1998
		NZ 283578 A	27.05.1998
		MX 9605830 A1	28.06.1998
		AU 697616 B	15.10.1998
		NZ 329311 A	28.07.2000
		BR 1101102 A3	09.07.2002
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

A61K38/01 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

C07K14/47 (2006.01)

A61P31/14 (2006.01)