

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

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
14 de septiembre de 2017
(14.09.2017)



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2017/153619 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
B82Y 5/00 (2011.01) A61L 27/54 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2017/000029

(22) Fecha de presentación internacional:
2 de marzo de 2017 (02.03.2017)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P201600173 8 de marzo de 2016 (08.03.2016) ES

(71) Solicitante: UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE
GRAN CANARIAS [ES/ES]; c/ Juan de Quesada, 30, Las
Palmas de Gran Canarias, 35001 - Islas Canarias (ES).

(72) Inventores: MONZÓN MAYOR, Maximina; c/ Juan de
Quesada, 30, Las Palmas de Gran Canarias, 35001 - Islas
Canarias (ES). ROMERO ALEMÁN, María del Mar; c/
Juan de Quesada, 30, Las Palmas de Gran Canarias, 35001
- Islas Canarias (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, BN,
BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD,
GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP,
KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR,
LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH,
PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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.

(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, RW,
SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ,
BY, KG, KZ, 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,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones según la Regla 4.17:

— sobre el derecho del solicitante para solicitar y que le sea
concedida una patente (Regla 4.17(ii))

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: HYBRID ALOE VERA NANOFIBRES

(54) Título : NANOFIBRAS HÍBRIDAS DE ALOE VERA

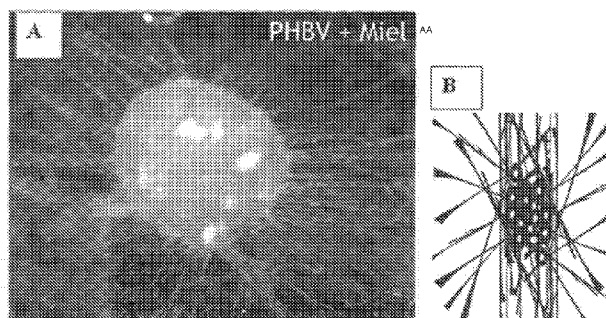


Figura 5

AA PHVB + honey

(57) Abstract: The present invention provides hybrid nanofibres that comprise a mixture of components of an Aloe vera gel and a synthetic polymer selected from poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (PHBV), poly-L-lactic acid (PLLA) and polydioxanone (PDS), the average diameter of the hybrid nanofibres being 0.3 to 1.5 microns. The invention also relates to hybrid nanofibres that comprise a mixture of components of a bee honey and a synthetic honey. The invention further provides a method for producing the hybrid nanofibres. The hybrid nanofibres of the invention can be used in tubular prostheses for nerve reconnection following peripheral nerve axotomy, in surgical meshes, dressings and sutures, to improve the reinnervation, and therefore the functional recovery from injuries in diverse organs such as the skin (e.g. burns, ulcers, surgical incisions, fistulas, etc.).

(57) Resumen:

[Continúa en la página siguiente]



WO 2017/153619 A1



— sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv))

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))

La presente invención proporciona nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PILA) y polidioxanona (PDS), y donde el diámetro promedio de las nanofibras híbridas está comprendido entre 0,3 y 1,5 micras. La solicitud también se refiere a nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de una miel de abejas y un polímero sintético. Asimismo, la presente invención proporciona un método de fabricación de las nanofibras híbridas. Las nanofibras híbridas de la invención pueden ser usadas en prótesis tubulares de reconexión nerviosa tras axotomía de nervios periféricos, en mallas quirúrgicas, a pósitos y suturas para mejorar la reinervación, y por tanto la recuperación funcional, de lesiones en diversos órganos como la piel (ej. quemaduras, úlceras, incisiones quirúrgicas, fistulas, etc.).

DESCRIPCIÓN

Nanofibras híbridas de Aloe Vera

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención pertenece al campo de ingeniería tisular. En particular se refiere a la aplicación de nanofibras híbridas de Aloe Vera para la regeneración nerviosa.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El tejido nervioso controla la homeostasis de todos los órganos y sistemas corporales. La adecuada regeneración del tejido nervioso contribuye a la regeneración funcional del resto de tejidos que constituyen los distintos órganos. Tras lesiones traumáticas, el éxito del recrecimiento axonal tanto en el Sistema Nervioso Central (SNC) como en amplios espacios entre cabos nerviosos periféricos, y la reinervación funcional en los tejidos diana consecuencia de lesiones del SNC, nervios periféricos o heridas locales (ej. heridas cutáneas) es actualmente un desafío en el campo de la biomedicina regenerativa. Los nervios periféricos presentan una capacidad de recrecimiento espontánea siempre que se restablezca el contacto entre los cabos nerviosos pues las células de Schwann del cabo nervioso distal ofrecen un microambiente favorable. Sin embargo, la estructura y función de los nervios regenerados difiere de las condiciones normales de salud. Además, la reinervación de los órganos diana suele ser clínicamente decepcionante con importantes y persistentes déficits funcionales.

25 Hasta ahora el procedimiento estrella para la regeneración de los nervios periféricos consiste en la sustitución de la zona dañada con trasplantes de tejidos autólogos y heterólogos. Sin embargo, éstos presentan importantes limitaciones como la reducida disponibilidad de los primeros y posibilidad de rechazo inmunológico de los últimos. Como alternativa, se ha propuesto el uso de materiales naturales y sintéticos que reproduzcan la organización micrométrica y nanométrica natural de la matriz extracelular de los tejidos sanos y que provean de un microambiente óptimo para la adhesión, crecimiento, proliferación y diferenciación celular.

En la literatura se reconoce la utilidad de polímeros sintéticos tales como poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV) y ácido poli-L-láctico (PLLA) en el

- recrecimiento axonal [PLLA (Corey et al., J. Biomed. Mater. Res. A 2007, 83(3)636-645; Wang et al., J. Neural Eng. 2009, 6(1), 016001), PHBV (Masaeli et al., 2013, PLoS One 8(2) e57157), Prabhakaran et al., 2013, Biotechnol. Bioeng. 110(10)2775-84]]. Además, I Uslu et al (Hacetitepe J. Biol. & Chem., 2010, 38(1)) divulga el uso de
- 5 nanofibras híbridas de Aloe Vera con polímeros sintéticos de alcohol polivinílico/polivinilpirrolidona/polietilenglicol para vendaje de heridas. Gupta et al. (J. Biomater. Tissue Eng., 2013, 3(5) 503-11) divulgan nanofibras híbridas de Aloe Vera, alcohol polivinílico, óxido de polietileno y carboximetil celulosa. Jithendra et al. (ACS Appl. Matter. Interfaces, 2013, 5, 7291-8) divulgan nanofibras de aloe vera, colágeno y
- 10 quitosano para ingeniería tisular. Shanmugavel et al. (J. Biomater. Appl., 2013, 29(1) 46-58) divulgan nanofibras de Aloe Vera, fibroína de seda y caprolactona para ingeniería de tejido de huesos. Sungaya et al, 2014 (Iran Polym J., 23, 237-248) divulgan nanofibras de Aloe Vera, fibroína de seda e hidroxiapatita para osteogénesis. Además, Wang y Ji-Huan divulgan la fabricación de nanofibras híbridas de miel y
- 15 polyvinyl alcohol (PVA) (Thermal Science 2013, 17:1549-1550). Maleki et al. propone el uso de nanofibras híbridas de miel y PVA como apósito para heridas (J. Appl. Polym. Sci. 2013, 127:4086-4092). Arslan et al. describe la fabricación de nanofibras híbridas de miel y polyethylene terephthalate (PET) y su uso potencial como apósito para heridas (J. Biomater. Sci. Polym. Ed. 2014, 25(10):999-1012). Sarhan et al
- 20 publica la fabricación de nanofibras híbridas de miel, PVA y quitosano para uso en ingeniería tisular y como apósito para heridas (Material Science and Engineering C 2016, 67:276-284; Applied Materials and Interfaces 2016 8:6379-6390). Ninguno de estos documentos menciona estructuras que sean eficientes en el crecimiento y regeneración del tejido nervioso.
- 25 Por tanto, existe la necesidad en el estado de la técnica de conseguir nuevas estructuras que sean más eficientes en la regeneración nerviosa, en particular en la reinervación funcional en los tejidos diana, nervios periféricos o heridas locales.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

30

El objeto de la presente invención es proporcionar estructuras que permitan la reconexión nerviosa tras axotomía de nervios periféricos y para mejorar la recuperación sensitiva de lesiones en órganos sensoriales como la piel (ej. quemaduras, úlceras, incisiones quirúrgicas, etc.) entre otros. Las nanofibras híbridas

proporcionadas en la presente invención promueven la regeneración nerviosa sirviendo adicionalmente como soporte estructural para el crecimiento del tejido nervioso. Además, la naturaleza biocompatible de las nanofibras híbridas de la invención evita el rechazo en el organismo.

5

En un primer aspecto la invención se refiere a nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera y un polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, y
10 donde el diámetro promedio de las nanofibras híbridas está comprendido entre 0,3 y 1,5 micras.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para la fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera que comprende:

- 15 a) preparar una solución de un gel de Aloe Vera o de derivados de un gel de Aloe Vera en un disolvente seleccionado de hexafluoruro-2-propanol, polivinilalcohol (PVA), solución de cloroformo:metanol o mezclas derivadas,
b) mezclar la solución de gel de Aloe Vera o de derivados de gel de Aloe Vera de la etapa a), con un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y
20 mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida, e
c) inyectar la mezcla de la etapa b) en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera por electrohilado.

25 Asimismo, la invención también se refiere a nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,3 y 1,5 micras, obtenidas por el
30 procedimiento más arriba mencionado.

En un aspecto, la invención se refiere a las nanofibras híbridas de Aloe Vera para su uso como medicamento. En otro aspecto adicional, la invención se refiere al uso de las nanofibras híbridas de Aloe Vera para la fabricación de un medicamento para la
35 regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado o para promover el

crecimiento, proliferación o diferenciación de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente. En particular, la regeneración o crecimiento del tejido nervioso en presencia de las nanofibras híbridas de la invención se produce sin requerir la presencia de otros
5 aditivos o factores de crecimiento que promuevan el crecimiento del tejido nervioso.

Además, la invención también se refiere al uso de las nanofibras híbridas para la fabricación de prótesis tubulares, apósitos, suturas o mallas quirúrgicas, así como a las prótesis tubulares, apósitos, suturas o mallas quirúrgicas que comprenden las
10 nanofibras híbridas de Aloe Vera.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las figuras incluidas en la descripción ilustran realizaciones particulares de la presente
15 invención. Además, en combinación con el texto de la descripción sirven para explicar los principios en los que se basa la invención.

Figura 1: Tabla recogiendo las condiciones particulares utilizadas para la formación por electrohilado de nanofibras de polímero sintético, y de nanofibras híbridas de Aloe
20 Vera de la invención.

Figura 2: Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido de polímeros electrohilados: A. PLLA, B. PLLA + Aloe Vera, C. PDS, D. PDS + Aloe Vera; E. PHBV; F. PHBV + Aloe Vera. Escalas (A-F): 60 µm. Escalas en el recuadro insertado (A-F): 6
25 µm.

Figura 3: Imágenes de inmunofluorescencia de neuronas de explantes del ganglio de raíz dorsal (GRD) de rata cultivadas en presencia de nanofibras alineadas de polímero sintético PHBV (A), y en presencia de las nanofibras alineadas híbridas de PHBV y
30 Aloe Vera (B) pertenecientes a la invención. La figura 3C es un esquema representativo de las figuras 3A y 3B, que muestra los cuerpos neuronales (estructuras esféricas) y sus prolongaciones nerviosas siguiendo el recorrido de las nanofibras alineadas. Las flechas en las figuras 3A, 3B y 3C indican la ubicación de los conos de crecimiento. Escala (3A y 3B): 200 µm.

Figura 4: Micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido de nanofibras no alineadas orientadas en distintas direcciones unas respecto a otras: A. Miel+PHBV; B. Aloe Vera + PHBV y C. PHBV. Escala (4A, AB y 4C): 20 μm .

Figura 5: La Figura 5A muestra una imagen de inmunofluorescencia (microscopio confocal) de neuronas de explantes del GRD de rata cultivadas en presencia de nanofibras no alineadas de la figura 4A. La Figura 5B es un esquema representativo de la figura 5A que muestra los cuerpos neuronales (estructura central esférica) y el crecimiento de sus neuritas siguiendo el recorrido de la nanofibras híbridas no alineadas.

10 EXPOSICIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Nanofibras híbridas de Aloe Vera y polímero sintético

La presente invención se refiere a nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de aloe vera y un polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, y donde el diámetro promedio de las nanofibras híbridas está comprendido entre 0,3 y 1,5 micras.

En el contexto de la presente invención, las nanofibras híbridas de Aloe Vera, se refieren a las nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes del gel de aloe vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas.

El gel de Aloe Vera se extrae de la planta del Aloe Vera de la familia de las liliáceas. La planta de Aloe Vera es una planta suculenta que contiene más de 75 componentes potencialmente bioactivos tales como vitaminas, enzimas, minerales, azúcares, saponinas, ácidos salicílicos y aminoácidos, entre estos los aminoácidos esenciales usina, treonina, valina, leucina, fenilalanina y metionina. Además, contiene antronas (aloe-emodin, aloína A, aloína B, 8-O-metil-7-hidroxi aloína A, 8-O-metil-7-hidroxi aloína B y 10-hidroxi aloína A), fenil piranas (aloina A y aloína B) y cromonas (aloesín, 8-C-glucosil-7-O-metil-(S)-aloesol, iscaloesín D y aloeresín E). La planta presenta hojas con forma de lanza que contienen el gel de Aloe Vera responsable de proporcionar

rigidez a las hojas. La planta de Aloe Vera es una planta de origen tropical o subtropical del género Aloe, que suele requerir para su cultivo temperaturas por encima de los 10 °C. En una realización preferida, el gel de Aloe Vera de las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención procede de las plantas de Aloe Vera de las islas Canarias. En otra realización particular, el gel de Aloe Vera de las nanofibras híbridas de la invención procede de la planta *Aloe Barbadensis Miller*.

El gel de Aloe Vera suele ser separado de la planta por procedimientos conocidos en el estado de la técnica. Así, por ejemplo US 2016/0015041 A1 divulga un procedimiento que se basa en rebanar las hojas de Aloe Vera y molerlas para la extracción del gel. Otros procedimientos para la extracción del gel se encuentran divulgados en US 3,878,197 o en US 4959214 A.

En el contexto de la invención, el término "los componentes de un gel de Aloe Vera" se refiere a los componentes presentes en cualquier gel de Aloe Vera extraído de la planta de Aloe Vera y, en su caso, esterilizado y estabilizado, entre los que se encuentran polisacáridos mucilaginosos ligados a azúcares como glucosa, acemanano, manosa, glucomanosa, ramnosa, xilosa, arabinosa, galactosa, aldopentosa y celulosa; carbohidratos, ácidos, sales orgánicas, enzimas, esteroides, triacilglicéridos, aminoácidos, ARN, trazas de alcaloides, vitaminas y diversos minerales. Algunos documentos del estado de la técnica que divulgan el análisis de la composición de geles de Aloe Vera son Reynolds et al. (Journal of Ethnopharmacology 68 (1999) 3–37) y J. H. Hamman (Molecules, 13 (2008)1599-1616).

El gel de Aloe Vera extraído de la planta se oxida rápidamente al aire, descomponiendo y en muchos casos perdiendo sus propiedades. El gel de Aloe Vera para poder ser utilizado lejos de su origen debe ser esterilizado y estabilizado una vez separado de la planta. Para la estabilización del gel Aloe Vera se han descrito diversas tecnologías nuevas como conservación mediante altas presiones hidrostáticas, calentamiento óhmico, pulsos eléctricos, microondas, radiación gamma y ultrasonido. R.N. Domínguez-Fernández (Revista mexicana de Ingeniería Química 11 (2012) 23-43) menciona algunos de los procedimientos conocidos en el estado de la técnica para la estabilización del gel de Aloe Vera.

Los autores han observado que las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención son asimismo biodegradables y biocompatibles. Se cree que estas propiedades se deben a la presencia de los componentes del gel de Aloe Vera en las nanofibras híbridas.

5

Las nanofibras híbridas de la invención que comprenden una mezcla de los componentes del gel de Aloe Vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,3 y 10 1,5 micras, preferiblemente entre 0,5 y 1,5 micras, más preferiblemente entre 0,8 y 1,5 micras. En una realización preferida, las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,8 y 1,3 micras, preferiblemente entre 0,9 y 1,2 micras, más preferiblemente entre 1 y 1,1 micras. Los diámetros de las nanofibras híbridas divulgados en la presente solicitud se midieron a partir de las imágenes SEM, 15 utilizando el programa informático Image J (NIH, USA). Los diámetros promedio fueron calculados considerando 100 fibras de cada muestra. Los inventores han observado que las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención presentando los rangos de diámetros indicados sirven como soporte para la adherencia y guía de las células nerviosas en el crecimiento axonal durante un proceso regenerativo, y de cicatrización 20 de cualquier tejido u órgano que presente estructuras nerviosas. En este sentido, las nanofibras híbridas de la presente invención son particularmente útiles como soporte para la regeneración axonal en el sistema nervioso periférico (SNP) y en el sistema nervioso central (SNC). Además, los inventores de la presente invención han observado que las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención consiguen el 25 crecimiento de neuritas regeneradas de mayor longitud que en presencia de las nanofibras sintéticas de polímeros sintéticos, a igualdad de tiempo de acción, y sin necesidad de suplementos de factores de crecimiento.

Por otra parte, los inventores han comprobado que la presencia de los componentes 30 de un gel de Aloe Vera en las nanofibras híbridas puede en ciertos casos reducir el diámetro de las nanofibras de polímero sintético preparadas en las mismas condiciones. Así, las nanofibras híbridas de Aloe Vera/PDS presentan menor diámetro que las nanofibras de PDS preparadas en las mismas condiciones, como se muestra en las figuras 2C y 2D. Este mismo efecto también ha sido observado en las 35 nanofibras híbridas de Aloe Vera/PLLA (figuras 2A y 2B). En contraste, el diámetro de

las nanofibras de Aloe Vera/PHBV apenas varía con respecto al de las nanofibras de PHBV. Wang et al. (Acta Biomater., 2010, 6(8) 2970-2978) divulga que el diámetro de las nanofibras sintéticas de PLLA influye en el crecimiento nervioso. Los inventores de la presente invención han observado que las nanofibras híbridas PHBV/Aloe Vera mejoran el crecimiento nervioso con respecto a las PHBV puras presentando el mismo diámetro. La figura 3 muestra el crecimiento de las terminaciones nerviosas en presencia de nanofibras híbridas alineadas de Aloe Vera/PHBV de la invención (Figura 3A) y en presencia de nanofibras alineadas de polímero sintético de PHBV (Figura 3B). Las imágenes muestran que el crecimiento de las terminaciones nerviosas es sorprendentemente superior en presencia de las nanofibras híbridas de la invención.

En una realización particular, las nanofibras híbridas de la invención contienen entre 3 y 5% en peso de los componentes de un gel de Aloe Vera y entre 10 y 12% en peso de polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, y presentan un diámetro promedio de las nanofibras híbridas comprendido entre 0,3 y 1,5 micras. Preferiblemente, las nanofibras híbridas contienen 4% en peso de componentes de un gel de Aloe Vera y 11% en peso de polímero sintético.

En una realización particular, las nanofibras híbridas de la invención contienen entre 3 y 5% en peso de los componentes de un gel de Aloe Vera y entre 10 y 12% en peso de un polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, y donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,8 y 1,5 micras. Preferiblemente, las nanofibras híbridas contienen 4% en peso de componentes de un gel de Aloe Vera y 11% en peso de polímero sintético.

En una realización particular, la relación en peso de los componentes de un gel de Aloe Vera y polímero sintético en las nanofibras híbridas de la invención está comprendida entre 17:83 y 33:67. Preferiblemente, la relación en peso de los componentes de un gel Aloe Vera/ polímero sintético está comprendida entre 20:80 y 30:70, más preferiblemente entre 23:77 y 27:73. En una realización preferida, la

relación en peso de los componentes de un gel de Aloe Vera/ polímero sintético está comprendida entre 24:76 y 26:74.

5 En otra realización, las nanofibras híbridas de la invención pueden estar alineadas, es decir orientadas en una misma dirección, o bien desordenadas, es decir orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. Preferiblemente, las nanofibras híbridas de la invención están alineadas. Los autores de la presente invención han observado que cuando las nanofibras híbridas de la invención están alineadas, se produce un mayor crecimiento nervioso.

10

En otra realización particular, las nanofibras híbridas de la invención están orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. La figura 4B muestra la imagen de microscopia electrónica de barrido de nanofibras híbridas de Aloe Vera/PHBV de la invención orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

15

Los experimentos *in vitro* realizados han demostrado que las nanofibras orientadas en distintas direcciones unas respecto a otras sirven de guía para la migración de células gliales (células de Schwann), fibroblastos y de guía para los axones neuronales en crecimiento. En particular, las nanofibras híbridas de la invención cuando están orientadas en distinta dirección unas respecto a otras, mimetizan la matriz extracelular no alineada de órganos como la piel (dermis) mientras que cuando están orientadas en la misma dirección mimetizan la matriz extracelular alineada de estructuras como los nervios. Las nanofibras híbridas de la invención son particularmente útiles como soporte de la regeneración de distintos tejidos/órganos.

25

En una realización particular, las nanofibras híbridas de la invención comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera obtenido de la planta *Aloe Barbadosensis Miller*, y poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), donde dichas nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras, y donde las nanofibras están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

En otra realización particular, las nanofibras híbridas comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera obtenido de la planta *Aloe Barbadosensis Miller*, y ácido poli-L-láctico (PLLA), donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro

35

promedio entre 0,8 y 1,5 micras y están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

En otra realización particular, las nanofibras híbridas comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera obtenido de la planta *Aloe Barbadensis Miller*, y polidioxanona (PDS), donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras y están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

10 Procedimiento de fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera y polímero sintético

En un aspecto, la invención se refiere al procedimiento para la fabricación de las nanofibras híbridas que comprende:

- 15 a) preparar una solución de un gel Aloe Vera o de derivados de un gel de Aloe Vera en un disolvente seleccionado de hexafluoruro-2-propanol, polivinilalcohol (PVA), solución de cloroformo:metanol o mezclas derivadas.
- b) mezclar la solución de gel de Aloe Vera o de derivados de gel de Aloe Vera de la etapa a), con un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxi-
20 hidrobutirato-co-3-hidroxi-ácido (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida, e
- c) inyectar la mezcla de la etapa b) en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera por electrohilado.

25 Según el procedimiento más arriba descrito, en la etapa a) se prepara una solución de un gel de Aloe Vera o derivados de un gel de Aloe Vera, en hexafluoruro-2-propanol (HFIP), polivinilalcohol (PVA), solución de cloroformo:metanol o mezclas derivadas. Dicha solución suele presentar una concentración de 25 a 50 mg/ml de gel de Aloe
30 Vera. En una realización particular el disolvente de la solución de Aloe Vera es una solución de cloroformo: metanol con una relación en volumen 3:1.

El gel de Aloe Vera utilizado en la presente invención puede tener diferentes orígenes. No obstante, se prefiere el uso del gel de Aloe Vera de las islas Canarias. En una

realización particular, el gel de Aloe Vera de las nanofibras híbridas de la invención procede de la planta *Aloe Barbadensis Miller*.

En el contexto de la presente invención, el término "derivados de gel de Aloe Vera" se refiere a las distintas formas en las que se puede presentar el gel Aloe Vera, tales como liofilizado del gel, jugo del gel, extracto de la planta, solución del gel, o en solución sin aloína y/o con alta concentración en acemanano. En una realización particular, los derivados de gel de Aloe Vera en la etapa a) se seleccionan de liofilizado del gel, jugo del gel, extracto de la planta, solución del gel, en solución sin aloína y/o con alta concentración en acemanano.

Los denominados "componentes de un gel de Aloe Vera" están presentes en todos los derivados de gel de Aloe Vera.

En la etapa b) del procedimiento descrito más arriba, la solución del gel de Aloe Vera o de derivados del gel de Aloe Vera de la etapa a) se mezcla con un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida.

En una realización particular, la solución polimérica híbrida contiene gel de Aloe Vera obtenido de la planta *Aloe Barbadensis Miller*, y el polímero sintético es poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV).

En una realización preferida, la relación en peso del gel de Aloe Vera y polímero sintético en la solución polimérica híbrida de la etapa b) está comprendida entre 17:83 y 33:67. La relación en peso de gel de Aloe Vera y polímero sintético influye en el diámetro promedio de las nanofibras híbridas. Generalmente, el diámetro de las nanofibras es mayor cuando aumenta la concentración del polímero sintético en la solución. Preferiblemente, la relación en peso de gel de Aloe Vera/ polímero sintético en la solución polimérica híbrida de la etapa b) está comprendida entre 20:80 y 30:70, más preferiblemente entre 23:77 y 27:73. En una realización preferida, la relación en peso de gel de Aloe Vera/ polímero sintético está comprendida entre 24:76 y 26:74.

En la etapa c) del procedimiento de la invención se inyecta la mezcla de la etapa b) en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera por electrohilado. En general, el proceso de electrohilado está afectado por parámetros del sistema tales como peso molecular del polímero, distribución de peso molecular y propiedades de la disolución tales como viscosidad, y tensión superficial. Además, el proceso de electrohilado puede estar afectado por parámetros del proceso tales como la velocidad de flujo, el potencial eléctrico, la distancia entre el capilar y el colector, etc. Estos parámetros son optimizados para controlar las características de las nanofibras obtenidas.

En el equipo de electrohilado la mezcla se carga en una bomba de jeringas conectada a un electrodo. La solución es propulsada a una velocidad de flujo de entre 0,7 y 1,2 ml/h, preferiblemente a una velocidad de flujo entre 0,8 y 1 ml/h, más preferiblemente entre 0,9 y 1 ml/h; y aplicando un potencial de 10 a 15 kV, preferiblemente de 11 a 14 kV, más preferiblemente de 12 a 13 kV, desde la jeringa hacia una rueda colectora en rotación. La solución puede ser también propulsada a otras velocidades de flujo. Por ejemplo, la solución puede ser propulsada a una velocidad de flujo entre 2 y 3 ml/h, preferiblemente entre 2,5 y 2,8 ml/h, más preferiblemente a 2,75 ml/h. Además también se pueden aplicar otros potenciales, como por ejemplo 9 KV. En una realización particular, la solución es propulsada a 2,75 ml/h y aplicando un potencial de 9KV.

La rueda colectora de rotación puede girar a una velocidad de entre 2000 y 4000 rpm. En una realización particular, la velocidad de rotación de la rueda colectora está comprendida entre 3000 y 3500 rpm. En particular, cuando la velocidad de rotación se encuentra comprendida entre 3000 y 3500 rpm, las nanofibras híbridas que se obtienen están alineadas. La rueda colectora puede asimismo girar a otras velocidades. En particular, cuando la velocidad de rotación está comprendida entre 100 y 300 rpm, preferentemente 200 rpm, las nanofibras que se obtienen no están alineadas y están orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

La rueda colectora de rotación se encuentra situada a una distancia de 8 a 12 cm de la bomba de jeringas, preferiblemente a una distancia de 9 a 11 cm de la bomba de jeringas, más preferiblemente a una distancia de 10 cm de la bomba de jeringas. Las condiciones utilizadas en el electrohilado son condiciones ambientales de 60-70% de

humedad y 20-30°C de temperatura. La figura 1 de la presente solicitud muestra a modo de ejemplo las condiciones utilizadas para la fabricación de nanofibras de polímero sintético y para la fabricación de las nanofibras híbridas de la invención por electrohilado según la etapa c) del procedimiento de la invención en condiciones
5 ambientales de $25\pm 1^\circ\text{C}$ y con una humedad constante relativa de $65\pm 5\%$.

En otro aspecto adicional, la invención se refiere a las nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes del gel de Aloe Vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-
10 L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,3 y 1,5 micras, obtenidas por el procedimiento de la invención más arriba descrito. Las figuras 2B, 2D y 2F muestran las micrografías SEM de nanofibras híbridas pertenecientes a la invención obtenidas por el procedimiento descrito.

15

En una realización particular las nanofibras híbridas obtenidas por el procedimiento descrito están alineadas en una determinada dirección o están orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.

20 Las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la presente invención pueden ser utilizadas para aplicaciones de ingeniería tisular, en particular para la regeneración del tejido nervioso. Así, un aspecto de la invención se refiere al uso de las nanofibras híbridas para la fabricación de un medicamento para la regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado o para promover el crecimiento, proliferación o diferenciación de
25 cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente.

En un aspecto, la invención se refiere a las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención para su uso como medicamento.

30 En otro aspecto, la invención se refiere al uso de las nanofibras híbridas de Aloe Vera para la fabricación de un medicamento para la regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado o para promover el crecimiento, proliferación o diferenciación de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente.

35

En otro aspecto, la invención se refiere a las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención para su uso en el tratamiento de regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado, o de crecimiento, proliferación o diferenciación de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido
5 nervioso esté presente.

En una realización particular las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención son usadas para la fabricación de un medicamento para la regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado o para promover el crecimiento, proliferación o diferenciación
10 de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente, en ausencia de cualquier otro aditivo o factor de crecimiento que promueva la regeneración del tejido nervioso.

En particular, las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención pueden ser
15 utilizadas para la regeneración de tejido nervioso en prótesis de conexión nerviosa, apósitos, suturas en heridas cutáneas y mallas quirúrgicas. En este sentido, un aspecto de la invención se refiere a una prótesis tubular que comprende las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención. Otro aspecto de la presente invención se refiere a apósitos que comprenden las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención. Otro
20 aspecto adicional, se refiere a las suturas que comprenden las nanofibras híbridas de la invención. Además, otro aspecto se refiere a las mallas quirúrgicas que comprende las nanofibras híbridas de la invención.

Asimismo, las nanofibras híbridas de Aloe Vera de la invención también pueden ser
25 utilizadas para la regeneración de otros tejidos, tales como tejidos de tendones, ligamentos y huesos.

Nanofibras híbridas de miel y polímero sintético

30 Otras nanofibras híbridas comprenden una mezcla de componentes de una miel de abejas y un polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxi-butarato-co-3-hidroxi-valerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS), poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico, policaprolactona (PCL), alcohol polivinilo (PVA), polilactida co-glicólido (PLGA), polihidroxiálcanoatos
35 (PHAs), carbonato de polipropileno (PPC) y mezclas derivadas. En una realización

particular, las nanofibras híbridas de miel pueden comprender una mezcla de componentes de miel y poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico tales como Z3A1 o Z9A1 (Biomer Technology LTD), DegraPol® (poliéster uretano formado por dos poliéster dioles unidos por un grupo isocianato) o Desmopan® 9370A (éter de 4 átomos de carbono) de Bayer.

En una realización preferida, las nanofibras híbridas de miel y polímero sintético comprenden una mezcla de los componentes de una miel de abejas y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas.

La miel es producida por las abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos chupadores de plantas. La miel de abejas se extrae directamente del panal de abejas y es conservada en un recipiente estéril a 8°C antes de la formación de las nanofibras híbridas.

Para la preparación de las nanofibras híbridas de miel, la miel utilizada puede ser cualquier tipo de miel. En particular, la miel utilizada puede ser miel de flores tal como miel monofloral, multifloral, de sierra, de montaña o del desierto. La miel de las nanofibras híbridas también puede ser miel de mielada, rocío de miel, miel de rocío o miel de bosque.

En general, la composición de la miel conocida en el estado de la técnica comprende los siguientes componentes:

- 14-22% en peso de agua,
- 28-44% en peso de fructosa,
- 22-40% en peso de glucosa,
- 0,2-7% en peso de sacarosa,
- 2-16% en peso de maltosa,
- 0,1-8% en peso de otros azúcares,
- 0,2-2% en peso de proteínas y aminoácidos,
- 0,5-1% en peso de vitaminas, enzimas, hormonas y ácidos orgánicos,
- 0,5-1% en peso de minerales, y
- 0,2-1% en peso de cenizas.

En una realización particular la composición de la miel comprende:

- 18% en peso de agua,
- 38% en peso de fructosa,
- 31% en peso de glucosa,
- 5 1% en peso de sacarosa,
- 7,5% en peso de maltosa, y
- 5% en peso de otros azúcares.

La miel utilizada por los inventores procede de un apicultor local de Gran Canaria
10 inscrito en el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos
(RGSEAA): Maria del Rosario Cazorla López, Nº RGSEAA: 23.03229/GC.

En una realización particular, las nanofibras híbridas de miel que comprenden una
mezcla de los componentes de una miel y un polímero sintético, contienen entre 5 y
15 10% en peso de los componentes de una miel y 10% en peso de un polímero sintético
seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico
(PLLA), polidioxanona (PDS), policaprolactona (PCL), alcohol polivinilo (PVA),
polilactida co-glicólido (PLGA), polihidroxiálcanoatos (PHAs), carbonato de
polipropileno (PPC) y poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico tales
20 como Z3A1 o Z9A1 (Biomer Technology LTD), DegraPol® (poliéster uretano formado
por dos poliéster dioles unidos por un grupo isocianato, Desmopan® 9370A (éter de 4
átomos de carbono) de Bayer o mezclas derivadas. Preferiblemente, las nanofibras
híbridas contienen entre 6 y 8% en peso de una miel y 10% en peso de un polímero
sintético.

25

En una realización particular la relación en peso de los componentes de miel y
polímero sintético en las nanofibras híbridas de la invención está comprendida entre
33:67 y 50:50. Preferiblemente, la relación en peso de los componentes de miel y
polímero sintético está comprendida entre 35:65 y 48:52, preferiblemente entre 37: 62
30 y 46:54, más preferiblemente entre 40:60 y 45:55. En una realización preferida, la
relación en peso miel/ polímero sintético está comprendida entre 42:58 y 44:56.

En una realización particular las nanofibras híbridas de miel y polímero sintético de la
invención presentan un diámetro aproximado de entre 0,3 y 1,5 micras,
35 preferiblemente entre 0,5 y 1,3, más preferiblemente entre 0,7 y 1,2. En otra

- realización, las nanofibras híbridas de miel y polímero sintético de la invención presentan un diámetro aproximado de entre 0,8 y 1,1 micras, preferiblemente entre 0,9 y 1 micra. Las nanofibras híbridas de miel, al igual que las nanofibras híbridas de Aloe Vera, sirven como soporte para la adherencia y guía de las células nerviosas en el crecimiento axonal en un proceso regenerativo y de cicatrización de cualquier tejido u órgano que presente estructuras nerviosas. En particular, las nanofibras híbridas de miel de la presente invención sirven como soporte para la regeneración axonal en el sistema nervioso periférico (SNP) y sistema nervioso central (SNC).
- 10 En otra realización, las nanofibras híbridas de miel de la invención pueden estar alineadas, es decir orientadas en una misma dirección, o bien desordenadas, es decir orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. Preferiblemente, las nanofibras híbridas de miel de la invención están alineadas.
- 15 En una realización particular, las nanofibras híbridas de miel que comprenden una mezcla de componentes de una miel, y poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras y están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.
- 20 En otra realización particular, las nanofibras híbridas de miel que comprenden una mezcla de componentes de una miel, y ácido poli-L-láctico (PLLA), presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras y están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.
- 25 En otra realización particular, las nanofibras híbridas de miel que comprenden una mezcla de componentes de una miel, y polidioxanona (PDS), presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras y están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.
- 30 **Procedimiento de fabricación de las nanofibras híbridas de miel y polímero sintético**

Las nanofibras híbridas de miel y polímero sintético de la invención pueden ser obtenidas por un procedimiento de fabricación similar al utilizado para la fabricación de

las fibras híbridas de Aloe Vera y polímero sintético. El procedimiento para la fabricación de las nanofibras híbridas de miel comprende:

- a) preparar una solución de una miel en un disolvente seleccionado de hexafluoruro-2-propanol, polivinilalcohol (PVA), ácido acético 1% y ácido trifluoroacético (TFA). 5
- b) mezclar la solución de miel de la etapa a), con un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS), poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico, policaprolactona (PCL), poliactida co-glicólido (PLGA), polihidroxiálcanoatos (PHAs), carbonato de polipropileno (PPC), poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico tales como Z3A1 o Z9A1, DegraPol® o Desmopan® 9370A y mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida, e 10
- c) inyectar la mezcla de la etapa b) en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de miel por electrohilado. 15

Según el procedimiento más arriba descrito, en la etapa a) se prepara una solución de miel, en hexafluoruro-2-propanol (HFIP), polivinilalcohol (PVA), ácido acético 1% y ácido trifluoroacético (TFA). Dicha solución suele presentar una concentración de 50 a 20 100 mg/ml de miel.

En la etapa b) del procedimiento descrito más arriba, la solución de miel de la etapa a) se mezcla con un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS), 25 policaprolactona (PCL), poliactida co-glicólido (PLGA), polihidroxiálcanoatos (PHAs), carbonato de polipropileno (PPC), poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico tales como Z3A1 o Z9A1, DegraPol® o Desmopan® 9370A y mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida.

En una realización particular, la relación en peso de la miel y el polímero sintético en la solución polimérica híbrida se encuentra comprendida entre 33:67 y 50:50 (miel: polímero sintético). Preferiblemente, la relación en peso miel/ polímero sintético en la solución polimérica híbrida está comprendida entre 35:65 y 48:52, preferiblemente entre 37: 62 y 46:54, más preferiblemente entre 40:60 y 45:55. En una realización 30

preferida, la relación en peso miel/ polímero sintético en la solución polimérica híbrida está comprendida entre 42:58 y 44:56.

En la etapa c) del procedimiento de la invención, la mezcla de la etapa b) se inyecta en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de miel por electrohilado. En particular, la mezcla se carga en una bomba de jeringas conectada a un electrodo. La solución es propulsada a una velocidad de flujo de entre 2 y 3 ml/h, preferiblemente a una velocidad de flujo entre 2,5 y 3 ml/h, más preferiblemente entre 2,5 y 2,8 ml/h; y aplicando un potencial de 7 a 11 kV, preferiblemente de 8 a 10 kV, más preferiblemente de 8 a 9 kV, desde la jeringa hacia una rueda colectora en rotación. La rueda colectora de rotación puede girar a una velocidad de entre 2000 y 4000 rpm, preferiblemente de 3000 rpm. La rueda colectora puede asimismo girar a otras velocidades. En particular, cuando la velocidad de rotación está comprendida entre 100 y 300 rpm, preferentemente 200 rpm, las nanofibras que se obtienen no están alineadas y están orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. La rueda colectora de rotación se encuentra situada a una distancia de 8 a 12 cm de la bomba de jeringas, preferiblemente a una distancia de 9 a 11 cm de la bomba de jeringas, más preferiblemente a una distancia de 10 cm de la bomba de jeringas. Las condiciones utilizadas en el electrohilado son condiciones ambientales de 60-70% de humedad y 20-25°C de temperatura.

Las nanofibras híbridas obtenidas por el procedimiento anteriormente descrito comprenden una mezcla de componentes de miel y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA) y polidioxanona (PDS), policaprolactona (PCL), poliactida co-glicólido (PLGA), polihidroxiálcanoatos (PHAs), carbonato de polipropileno (PPC), poliuretanos termoplásticos biodegradables de uso médico tales como Z3A1 o Z9A1, DegraPol® o Desmopan® 9370A y mezclas derivadas, donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,3 y 1,5 micras. En una realización preferida, las nanofibras híbridas obtenidas por el procedimiento anteriormente descrito comprenden una mezcla de miel y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas.

Las nanofibras híbridas de miel pueden ser utilizadas para aplicaciones de ingeniería tisular, en particular para la regeneración del tejido nervioso. En este sentido, las nanofibras híbridas de miel pueden ser utilizadas para la regeneración de tejido nervioso en prótesis de conexión nerviosa, apósitos, suturas en heridas cutáneas y
5 mallas quirúrgicas. Por tanto, la invención se refiere a prótesis de conexión nerviosa, apósitos, suturas en heridas cutáneas o mallas quirúrgicas que comprenden las nanofibras híbridas de miel descritas. Asimismo, las fibras híbridas de miel pueden ser utilizadas en vendajes y apósitos para cubrir heridas.

10 Las nanofibras híbridas de miel también pueden ser utilizadas para la regeneración de otros tejidos, tales como tejidos de tendones, ligamentos y huesos.

La invención se refiere a las nanofibras híbridas de miel de la invención para su uso como medicamento. Asimismo, la invención se refiere a las nanofibras híbridas de miel
15 para su uso en el tratamiento de regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado, o de crecimiento, proliferación o diferenciación de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente.

20 EJEMPLOS

1. Preparación de fibras híbridas alineadas de Aloe Vera y polímero sintético

Inicialmente, se preparó una solución de 25-50 mg/ml de Aloe Vera (Prod. nº 001, Laboratorios Luciano Reverón e hijos S.L., Tenerife) en Hexafluoro-2-propanol (HFIP).
25 Para obtener la solución híbridas (AV/PHBV) se añadió 10-12% (w/w) de PHBV (Sigma-Aldrich, Prod. nº 403121) a la solución anterior. Para obtener nanofibras alineadas mediante la técnica de electrospinning, la solución polimérica híbrida se cargó en una bomba de jeringas (Harvard Apparatus PhD Ultra) con una aguja (G20, 0,9 mm diámetro) cuya punta se conectó a un electrodo (spinnerette). Se aplicó 12-15 KV con una fuente de alto voltaje (Spellman 60N300) mientras la bomba de jeringas disparaba la solución (velocidad de flujo de 0,9 ml/h) en condiciones ambientales de
30 60-65% humedad y de 22-25°C de temperatura hacia una rueda diana (90 mm diámetro/12 mm grosor) situada a 12 cm del electrodo. En la rueda diana rotando a
35 3000 rpm se recolectaron los haces de nanofibras alineadas. En la figura 2F se muestra las micrografías SEM de las nanofibras obtenidas.

Adicionalmente, fibras híbridas alineadas de la invención de PLLA y Aloe Vera, PDS y Aloe Vera y PHBV, y fibras de polímeros sintéticos de PLLA, PDS y PHBV se prepararon siguiendo el mismo procedimiento. Las figuras 2 A-E muestran las micrografías SEM de las fibras alineadas obtenidas de los polímeros sintéticos PLLA (Fig. 2A), PDS (Fig. 2C) y PHBV (Figura 2E); así como de las fibras híbridas de Aloe Vera de la invención de PLLA+ Aloe Vera (Fig. 2B); PDS + Aloe Vera (Figura 2D) siguiendo el mismo procedimiento descrito.

2. Ensayos comparativos del crecimiento neurítico

Se realizaron ensayos comparativos a partir del cultivo de explantes del ganglio de la raíz dorsal (GRD) de rata neonatal (Sprague Dawley) en a) medio de cultivo standard [DMEM/F12 (1:1)] para establecer las condiciones control y b) DMEM/F12 (1:1) conteniendo la matriz nanométrica híbrida inventada (AV/PHBV) y otras puras de referencia (PHBV y PLLA) como sustrato experimental del crecimiento neurítico. Los explantes de GRD de rata se incubaron en estufa a 37°C y atmósfera con 5% CO₂ durante 6 días y renovación del medio de cultivo a los 3 días.

Pasado el periodo de incubación, los explantes de GRD de rata se fijaron con una solución de 4% paraformaldehído en tampón fosfato salino y se inmunomarcaron anticuerpos específicos para la identificación de neuronas. Posteriormente se tomaron imágenes digitales en un microscopio de fluorescencia dotado con sistema de captación de imágenes. Las imágenes fueron procesadas para su análisis estadístico.

Se realizó un análisis estadístico en cada uno de los polímeros resumiendo las relaciones de área positivas por medianas y rangos intercuantiles en cada uno de los grupos de tratamiento. Los análisis estadísticos demostraron que la mayor tasa de crecimiento neurítico se produjo con las nanofibras híbridas alineadas AV/PHBV en comparación con la ausencia de aloe en nanofibras alineadas PHBV puras ($p<0,001$) y PLLA puras ($p=0,049$).

3. Preparación de fibras híbridas orientadas en distintas direcciones unas respecto a otras

Inicialmente, se preparó una solución de 50 mg/ml de Aloe Vera (Prod. nº 001, Laboratorios Luciano Reverón e hijos S.L., Tenerife) en Hexafluoro-2-propanol (HFIP). El Aloe Vera de la disolución era Aloe Vera liofilizado y filtrado a tamaños de 22 µm.

5 Para obtener la solución híbrida (AV/PHBV) se añadió 10% en peso de PHBV (Sigma-Aldrich, Prod. nº 403121) a la solución anterior (400 mg de PHBV en 3.600 mg HFIP+ Aloe Vera).

Para obtener las nanofibras mediante la técnica de electrospinning, la solución

10 polimérica híbrida se cargó en una bomba de jeringas (Hardvard Apparatus PhD Ultra) con una aguja (16G) cuya punta se conectó a un electrodo (spinnerette). Se aplicó 9 KV con una fuente de alto voltaje (Spellman 60N300) mientras la bomba de jeringas disparaba la solución (velocidad de flujo de 2,75 ml/h) en condiciones ambientales de 60-65% humedad y de 25-26°C de temperatura hacia una rueda diana (90 mm

15 diámetro/8 mm grosor) situada a 10 cm del electrodo. En la rueda diana rotando a 200 rpm se recolectaron las nanofibras no alineadas orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. En la figura 4B se muestra las micrografías SEM de las nanofibras híbridas de Aloe Vera obtenidas. Los diámetros de las nanofibras obtenidas se midieron a partir de las imágenes SEM, utilizando el programa informático Image J

20 (NIH, USA). El diámetro promedio medido de las nanofibras híbridas de Aloe Vera obtenidas es de 1,0241 µm, variando el diámetro de las nanofibras híbridas no alineadas obtenidas entre 0,9854 µm y 1,0628 µm.

El mismo procedimiento se siguió para fabricar fibras híbridas de miel no alineadas y

25 orientadas en distintas direcciones unas respecto a otras, pero utilizando miel procedente de un apicultor local de Gran Canaria inscrito en el Registro General Sanitario de Empresas Alimentarias y Alimentos (RGSEAA): María del Rosario Cazorla López, Nº RGSEAA: 23.03229/GC en lugar de Aloe Vera. La figura 4 A muestra las micrografías SEM de las nanofibras híbridas de miel y PHBV obtenidas. Los diámetros

30 de las nanofibras obtenidas se midieron a partir de las imágenes SEM, utilizando el programa informático Image J (NIH, USA). El diámetro promedio medido de las nanofibras híbridas de miel obtenidas es de 1,2528 µm, variando el diámetro de las nanofibras híbridas no alineadas obtenidas entre 0,9801 µm y 1,5255 µm.

A modo comparativo se prepararon nanofibras de PHVB no alineadas. En este caso se añadió 12% en peso de PHBV (Sigma-Aldrich, Prod. nº 403121) en Hexafluoro-2-propanol (HFIP) para obtener una solución con una concentración del 10% en peso de PHBV. La solución polimérica híbrida se cargó en una bomba de jeringas (Hardvard Apparatus PhD Ultra) con una aguja (16G) cuya punta se conectó a un electrodo (spinnerette). Se aplicó 12 KV con una fuente de alto voltaje (Spellman 60N300) mientras la bomba de jeringas disparaba la solución (velocidad de flujo de 1 ml/h) en condiciones ambientales de 60-65% humedad y de 25-26°C de temperatura hacia una rueda diana (90 mm diámetro/8 mm grosor) situada a 12 cm del electrodo. En la rueda diana rotando a 200 rpm se recolectaron las nanofibras orientadas en distinta dirección unas respecto a otras. En la figura 4C se muestra las micrografías SEM de las nanofibras obtenidas. Los diámetros de las nanofibras obtenidas se midieron a partir de las imágenes SEM, utilizando el programa informático Image J (NIH, USA). El diámetro promedio medido de las nanofibras de PHVB no alineadas es de 0,9130 µm, variando el diámetro de las nanofibras de PHVB no alineadas obtenidas entre 0,7803 µm y 1,0457 µm.

4. Ensayos comparativos del crecimiento neurítico in vitro

Se realizaron ensayos comparativos a partir del cultivo de explantes del ganglio de la raíz dorsal (GRD) de rata neonatal (Sprague Dawley) en medio de cultivo standard [DMEM/F12 (1:1)] conteniendo la matriz nanométricas las fibras no alineadas del ejemplo 3 de Miel/PHBV, AV/PHBV y de PHBV como sustrato experimental del crecimiento neurítico. Los explantes de GRD de rata se incubaron en estufa a 37°C y atmósfera con 5% CO₂ durante 6 días y renovación del medio de cultivo a los 3 días.

Pasado el periodo de incubación, los explantes de GRD de rata se fijaron con una solución de 4% para-formaldehído en tampón fosfato salino y se inmunomarcaron anticuerpos específicos para la identificación de neuronas, células de Schwann y núcleos celulares. Posteriormente se tomaron imágenes digitales en un microscopio de fluorescencia dotado con sistema de captación de imágenes. Se observó mayor crecimiento neurítico en presencia de las nanofibras híbridas Miel/PHBV y AV/PHBV que en presencia de las nanofibras de PHBV. La figura 5A muestra la imagen de inmunofluorescencia del crecimiento de abundantes neuritas en todas las direcciones a partir del explante del GRD de rata (estructura central esférica en la imagen). Las

neuritas en crecimiento siguen el recorrido de las nanofibras híbridas no alineadas, como se representa en el esquema de la figura 5B.

5. Ensayos comparativos in vivo de cicatrización de heridas cutáneas

5

Con la preceptiva autorización del comité ético de experimentación animal, se utilizó el modelo murino de fijación (anillo subcutáneo) de heridas (8 mm de diámetro) para mimetizar la cicatrización humana por segunda intención (úlceras cutáneas crónicas). Se realizó un estudio comparativo del efecto de la matriz nanométrica conteniendo las nanofibras híbridas no alineadas del ejemplo 3 de Miel/PHBV, de AV/PHBV y de PHBV, con curas diarias con miel natural y apósito comercial (Mepilex border). Las matrices mencionadas se aplicaron en el lecho de la herida sin otro cuidado adicional que su protección con un adhesivo quirúrgico. A los 8 días se tomaron muestras para cultivos microbiológicos (estafilococos aureus y E. Coli). Nuestros datos preliminares indican que el cierre de la herida se produjo antes en los grupos tratados con las matrices híbridas: Miel/PHBV (12,5 días de media), AV/PHBV (13 días de media) y curas diarias de miel natural (13,3 días de media) que con la matriz pura PHBV (14,3 días de media) o el apósito comercial (15 días de media). Los análisis bacteriológicos fueron negativos.

20

25

30

35

REIVINDICACIONES

1. Nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera y un polímero sintético, donde el polímero sintético se selecciona de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, y donde el diámetro promedio de las nanofibras híbridas está comprendido entre 0,3 y 1,5 micras.
5
2. Las nanofibras híbridas según la reivindicación 1, donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,8 y 1,5 micras.
10
3. Las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde las nanofibras híbridas comprenden entre 3 y 5% en peso de los componentes del Aloe Vera, y entre 10 y 12% en peso de polímero sintético.
- 15 4. Las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el gel de Aloe Vera se obtiene de la planta Aloe Barbadensis Miller.
5. Las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde dichas nanofibras se encuentran alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.
20
6. Las nanofibras híbridas según la reivindicación 1, donde dichas nanofibras comprenden una mezcla los componentes de un gel de Aloe Vera obtenido de la planta Aloe Barbadensis Miller y poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), donde dichas nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio entre 0,8 y 1,5 micras y donde las nanofibras están alineadas en una determinada dirección u orientadas en distinta dirección unas respecto a otras.
25
7. Procedimiento para la fabricación de las nanofibras híbridas según las reivindicaciones 1 a 6 que comprende:
30
 - a) preparar una solución de un gel de Aloe Vera o de derivados de un gel de Aloe Vera en un disolvente seleccionado de hexafluoruro-2-propanol, polivinilalcohol (PVA), solución de cloroformo:metanol o mezclas derivadas,
 - b) mezclar la solución del gel de Aloe Vera o de derivados del gel de Aloe Vera de la etapa a), con un polímero sintético seleccionado de poli-3-
- 35

hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, para la formación de una solución polimérica híbrida, e

c) inyectar la mezcla de la etapa b) en un equipo de electrohilado para la fabricación de las nanofibras híbridas de Aloe Vera por electrohilado.

8. El procedimiento según la reivindicación 7, donde los derivados del gel de Aloe Vera en la etapa a) se seleccionan de liofilizado del gel, jugo del gel, extracto de la planta, solución del gel, o en solución sin aloeína y/o con alta concentración en acemanano.

9. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 o 8, donde en la etapa b) la relación en peso del gel de Aloe Vera y del polímero sintético está comprendida entre 17:83 y 33:67.

10. El procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9 donde el gel de Aloe Vera se obtiene de la planta Aloe Barbadensis Miller y el polímero sintético es poli-3- hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV).

11. Nanofibras híbridas que comprenden una mezcla de los componentes de un gel de Aloe Vera y un polímero sintético seleccionado de poli-3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato (PHBV), ácido poli-L-láctico (PLLA), polidioxanona (PDS) y mezclas derivadas, donde las nanofibras híbridas presentan un diámetro promedio comprendido entre 0,3 y 1,5 micras, obtenidas por el procedimiento según las reivindicaciones 7 a 10.

12. Nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 11 para su uso como medicamento.

13. Uso de las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 11, para la fabricación de un medicamento para la regeneración del tejido nervioso de cualquier vertebrado o para promover el crecimiento, proliferación o diferenciación de cualquier tipo celular localizado en cualquier tejido, órgano, o sistema de órganos donde el tejido nervioso esté presente.

14. Uso de las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 11 para la fabricación de prótesis tubulares, apósitos, suturas y mallas quirúrgicas.
- 5 15. Prótesis tubular que comprende las nanofibras híbridas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y 11.
16. Apósito que comprende las nanofibras híbridas según las reivindicaciones 1 a 6 y 11.
- 10 17. Suturas que comprende las nanofibras híbridas según las reivindicaciones 1 a 6 y 11.
18. Mallas quirúrgicas que comprende las nanofibras híbridas según las reivindicaciones 1 a 6 y 11.

15

20

25

Código	Polímero	Voltaje aplicado (KV)	Distancia a rueda colectora (cm)	Velocidad de flujo (ml/h)	Velocidad rotatoria de rueda colectora (rpm)
A	PLLA	11	11	1.2	3.500
B	PDS	15	11	1.9	3.500
C	PHBV	12	13	0.8	3.000
D	PLLA + Aloe Liofilizado (50mg/ml)	12	12	1.0	3.000
E	PDS + Aloe Liofilizado (50mg/ml)	14	12	0.7	3.000
F	PHBV + Aloe Liofilizado (50mg/ml)	12	12	0.8	3.000

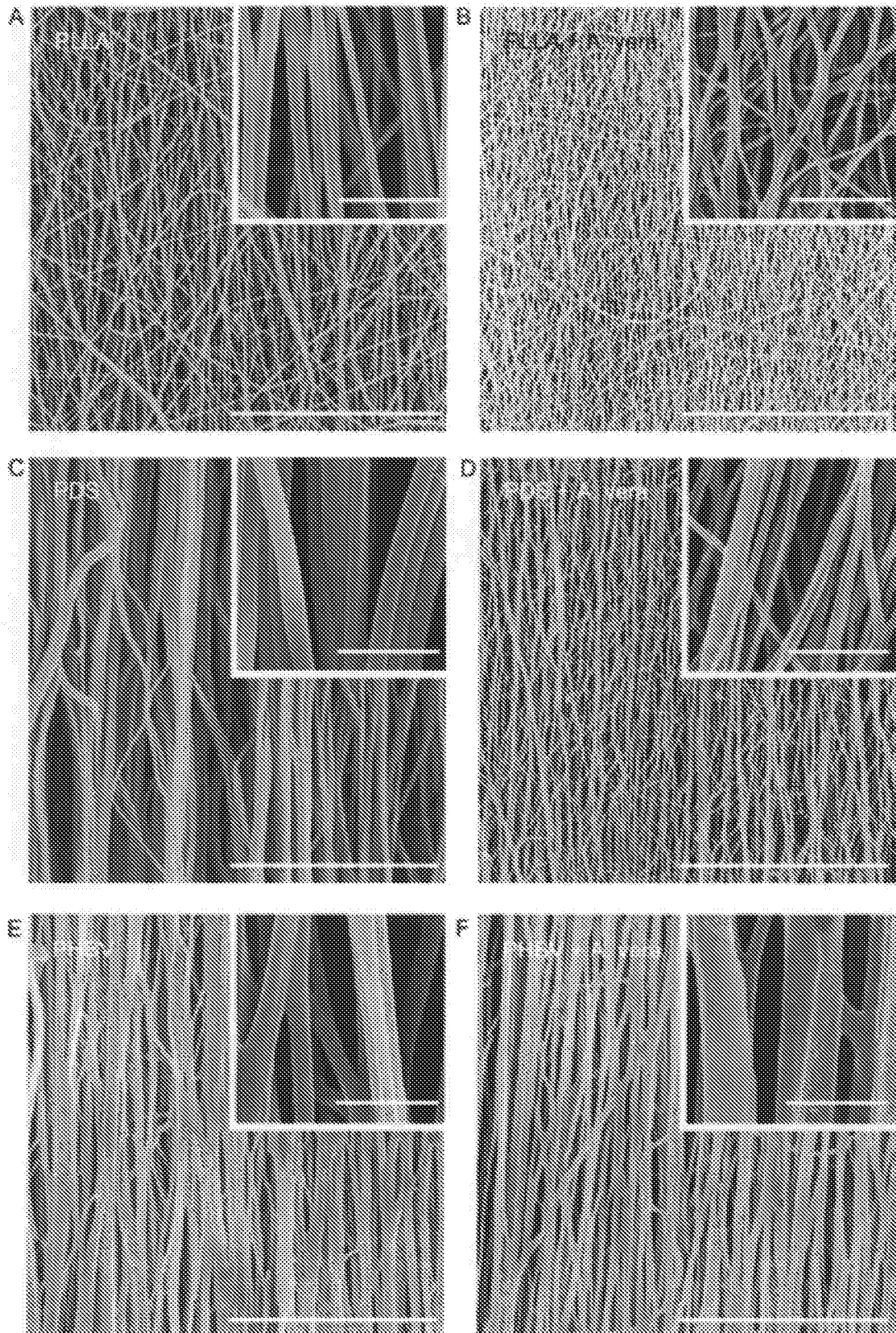


Figura 2

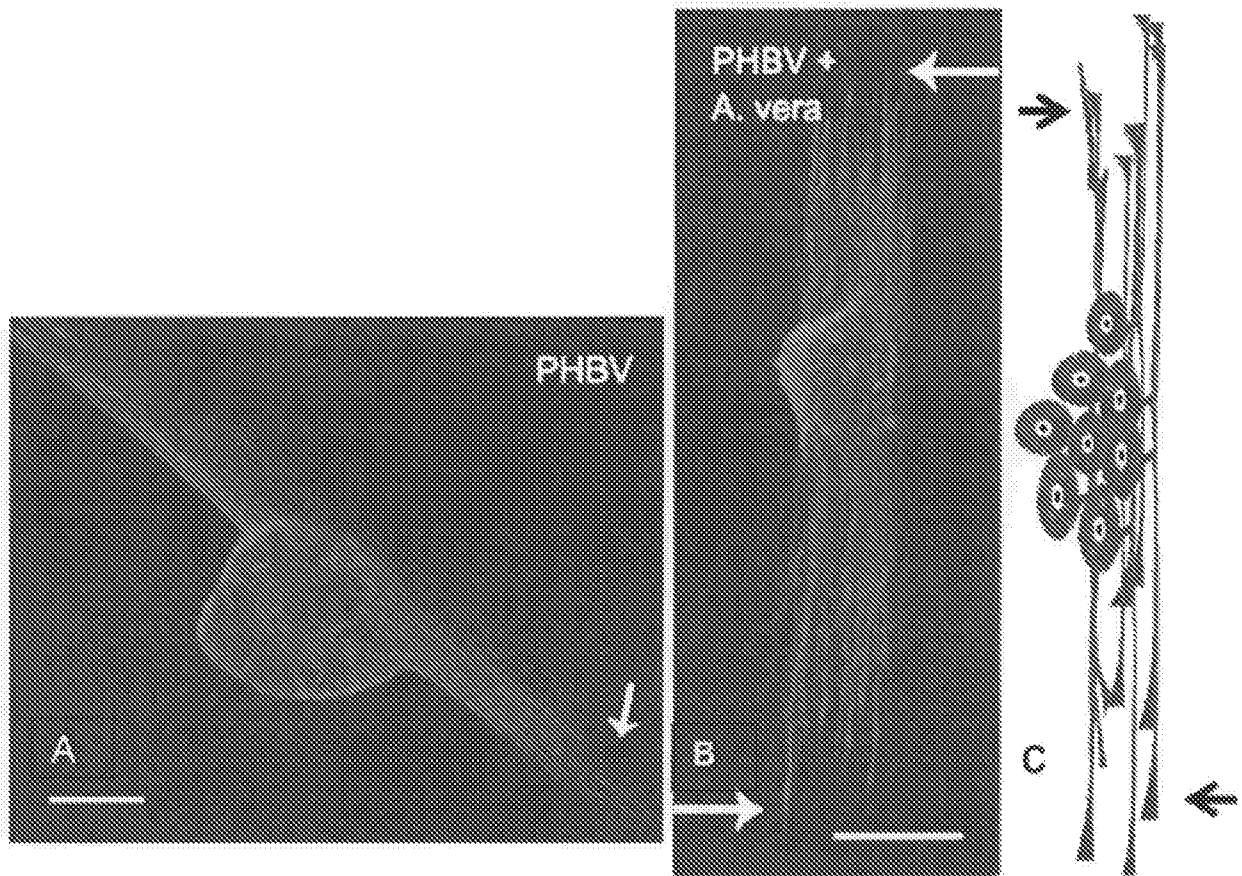


Figura 3

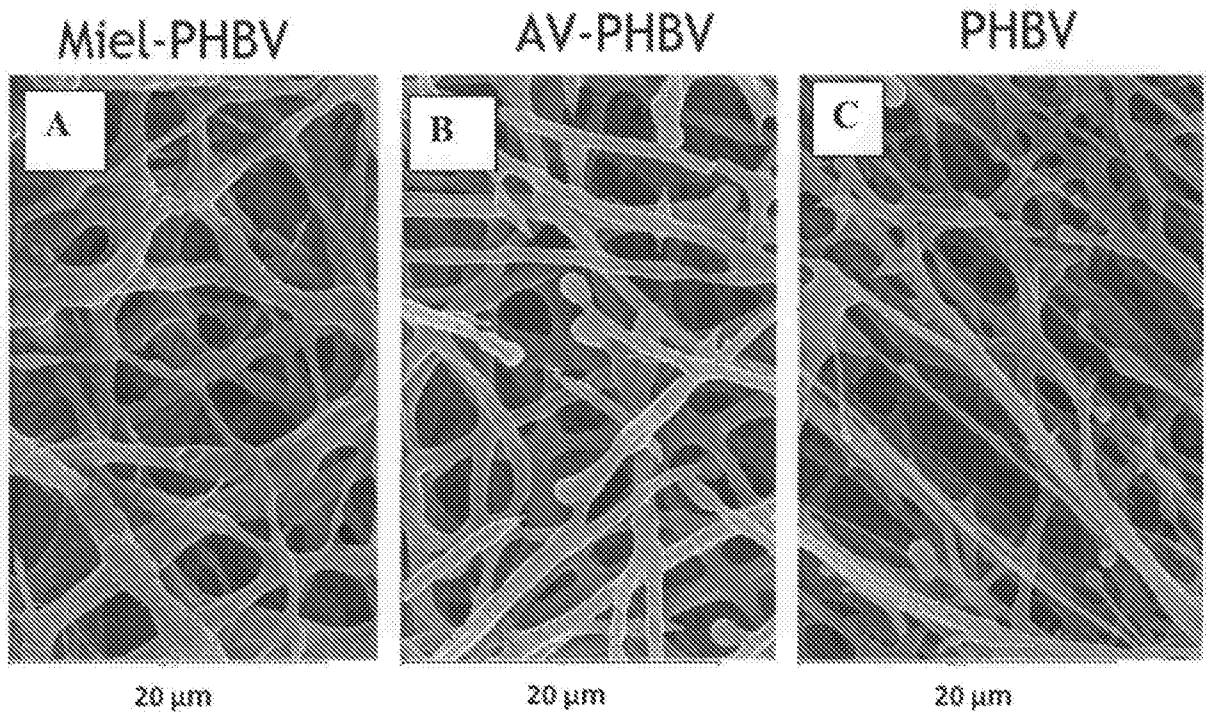


Figura 4

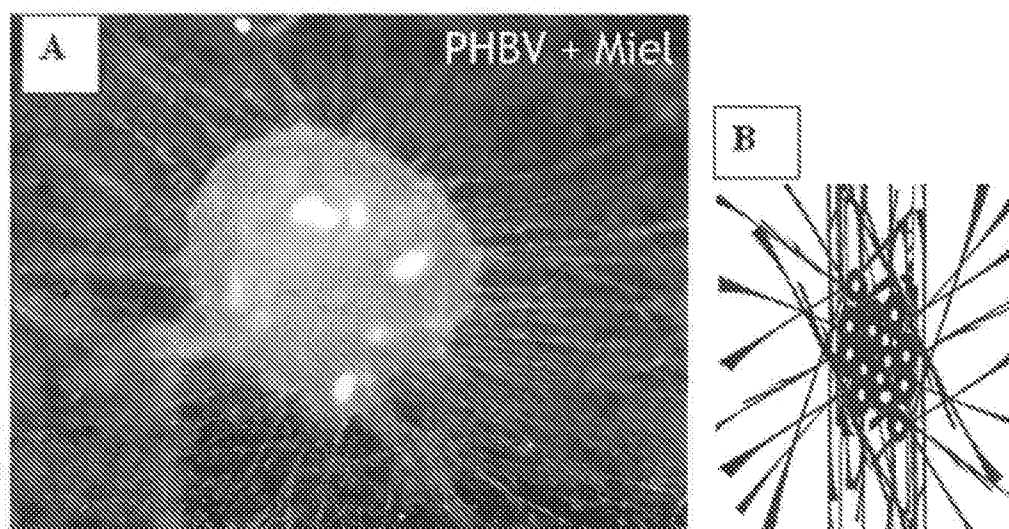


Figura 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2017/000029

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

B82Y5/00 (2011.01)

A61L27/54 (2006.01)

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)

B82Y, A61L

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, DWPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2009133059 A2 (EVONIK DEGUSSA GMBH et al.) 05/11/2009, page 4, page 7, claim 4, claim 7, claim 33	1-18
A	WO 2013035072 A1 (VILE GLENN et al.) 14/03/2013, paragraph [30]; paragraph [94]	1-18
A	WO 2014142675 A1 (ACTIVE FIBRES LTD) 18/09/2014, page 7, line 35; page 9, line 14; examples 1-5	1-18
A	WO 2014027965 A1 (UNIV SINGAPORE) 20/02/2014, claims 1-6	1-18

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"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)	"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
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"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" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17/04/2017

Date of mailing of the international search report
(21/04/2017)

Name and mailing address of the ISA/

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

Authorized officer
A. Santos Díaz

Telephone No. 91 3495569

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2017/000029

C (continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SUGANYA S <i>et al.</i> Naturally derived biofunctional nanofibrous scaffold for skin tissue regeneration. International Journal of Biological Macromolecules JUL 2014. 30/06/2014, Vol. 68, Pages 135-143, ISSN 0141-8130(print) ISSN 1879-0003 (electronic), <DOI: doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.04.031> abstract	1-18
A	PRABHAKARAN MOLAMMA P <i>et al.</i> Electrospun Aligned PHBV/Collagen Nanofibers as Substrates for Nerve Tissue Engineering. Biotechnology and Bioengineering OCT 2013. 30/09/2013, Vol. 110, N° 10, Pages 2775-2784, ISSN 0006-3592 (print) ISSN 1097-0290 (electronic), <DOI: doi:10.1002/bit.24937> abstract	1-18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2017/000029

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO2014142675 A1	18.09.2014	US2016038611 A1 CN105246469 A	11.02.2016 13.01.2016
-----	-----	-----	-----
WO2013035072 A1	14.03.2013	AU2012305986 A1	17.04.2014
-----	-----	-----	-----
WO2009133059 A2	05.11.2009	NONE	
-----	-----	-----	-----
WO2014027965 A1	20.02.2014	SG11201501024Q A US2015352157 A1 CN104661666 A	30.03.2015 10.12.2015 27.05.2015
-----	-----	-----	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2017/000029

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

B82Y5/00 (2011.01)

A61L27/54 (2006.01)

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)

B82Y, A61L

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, DWPI

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	WO 2009133059 A2 (EVONIK DEGUSSA GMBH et al.) 05/11/2009, página 4, página 7, reivindicación 4, reivindicación 7, reivindicación 33	1-18
A	WO 2013035072 A1 (VILE GLENN et al.) 14/03/2013, párrafo [30]; párrafo [94]	1-18
A	SUGANYA S <i>et al.</i> Naturally derived biofunctional nanofibrous scaffold for skin tissue regeneration. International Journal of Biological Macromolecules JUL 2014. 30/06/2014, Vol. 68, Páginas 135-143, ISSN 0141-8130(print) ISSN 1879-0003 (electronic), <DOI: doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.04.031> resumen	1-18

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos

☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"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.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"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.
"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).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
17/04/2017

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
21 de abril de 2017 (21/04/2017)

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
A. Santos Díaz
Nº de teléfono 91 3495569

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2017/000029

C (Continuación). DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	PRABHAKARAN MOLAMMA P <i>et al.</i> Electrospun Aligned PHBV/Collagen Nanofibers as Substrates for Nerve Tissue Engineering. Biotechnology and Bioengineering OCT 2013. 30/09/2013, Vol. 110, N° 10, Páginas 2775-2784, ISSN 0006-3592 (print) ISSN 1097-0290 (electronic), <DOI: doi:10.1002/bit.24937> resumen	1-18
	WO 2014142675 A1 (ACTIVE FIBRES LTD) 18/09/2014, página 7, línea 35; página 9, línea 14; ejemplos 1-5	1-18
	WO 2014027965 A1 (UNIV SINGAPORE) 20/02/2014, Reivindicaciones 1-6	1-18

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2017/000029

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO2014142675 A1	18.09.2014	US2016038611 A1 CN105246469 A	11.02.2016 13.01.2016
-----	-----	-----	-----
WO2013035072 A1	14.03.2013	AU2012305986 A1	17.04.2014
-----	-----	-----	-----
WO2009133059 A2	05.11.2009	NINGUNO	
-----	-----	-----	-----
WO2014027965 A1	20.02.2014	SG11201501024Q A US2015352157 A1 CN104661666 A	30.03.2015 10.12.2015 27.05.2015
-----	-----	-----	-----