

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 678 773**

21 Número de solicitud: 201730039

51 Int. Cl.:

**C08F 226/06** (2006.01)

12

## PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**16.01.2017**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**17.08.2018**

Fecha de concesión:

**05.06.2019**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**12.06.2019**

56 Se remite a la solicitud internacional:

**PCT/ES2018/070029**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (72.7%)  
C/ Serrano, nº 117  
28006 Madrid (Madrid) ES y  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
(27.3%)**

72 Inventor/es:

**GALLARDO RUIZ, Alberto;  
RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, Juan;  
REINECKE, Helmut;  
ELVIRA PUJALTE, Carlos;  
GARCÍA SÁNCHEZ, Carolina;  
PÉREZ-OJEDA RODRÍGUEZ, Maria Eugenia;  
MARTÍNEZ CAMPOS, Enrique;  
SANTOS COQUILLAT, Ana María y  
CIVANTOS FERNÁNDEZ, Ana**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **RECUBRIMIENTOS TIPO HIDROGEL EN BASE VINIL-LACTAMAS**

57 Resumen:

Recubrimientos tipo hidrogel en base vinil-lactamas. La invención se refiere a un material formado por un sustrato polimérico y un hidrogel basado en vinil-lactamas y metacrilatos iónicos. La invención se refiere también al procedimiento para obtener el material mencionado y a su aplicación para el cultivo de células/ingeniería de monocapas celulares, así como a la preparación de andamiajes 3D y a la fabricación de actuadores mecánicos termosensibles.

**ES 2 678 773 B1**

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP 11/1986.

**Recubrimientos tipo hidrogel en base vinil-lactamas**

**DESCRIPCIÓN**

5 La invención se refiere a un material que comprende un sustrato polimérico y un recubrimiento tipo hidrogel basado en vinil-lactamas y metacrilatos iónicos, donde el recubrimiento ha sido anclado al sustrato polimérico. Entre el sustrato y el hidrogel se ha formado una interfaz como resultado de la difusión de moléculas precursoras del hidrogel en las capas externas del sustrato polimérico. Mediante el control de los  
10 parámetros experimentales, el hidrogel formado sobre el sustrato puede bien permanecer íntegro ó bien despegarse parcialmente dejando la interfaz híbrida, es decir, dando lugar a un sustrato funcionalizado que puede estar estructurado en dicha superficie mediante la formación de arrugas. Esta invención se refiere así mismo a la aplicación de estos materiales como soportes para cultivo celular e ingeniería de  
15 láminas celulares, preparación de andamiajes 3D y la fabricación de actuadores mecánicos termosensibles.

**ESTADO DEL ARTE**

20 El uso de materiales polímeros tales como los sustratos termosensibles en base a poli-*N*-isopropilacrilamida (*pNIPAm*), capaces de en primer lugar albergar células hasta confluencia y en segundo permitir el despegado de las células o las monocapas celulares mediante un estímulo térmico (bajada de temperatura) ha surgido como una aproximación potencialmente viable en manipulación celular. Este tipo de sustratos  
25 termosensibles son a día de hoy comerciales (UpCell™). Una vez que el crecimiento celular ha alcanzado el nivel deseado de confluencia, una monocapa ó lámina celular puede ser despegada simplemente mediante una disminución de la temperatura a temperatura ambiente (es decir, por debajo de la temperatura crítica inferior de disolución ó *lower critical solution temperature*, LSCT). Esta aproximación de  
30 despegado celular es una forma de recolección celular no destructiva y más moderada que los métodos tradicionales, los cuales requieren de forma casi imprescindible del uso de enzimas proteolíticas agresivas (generalmente tripsina) o de raspado celular. Estas técnicas pueden dañar las células recolectadas ya que pueden causar disrupción de la membrana celular y destruir la matriz extracelular. Esta disrupción  
35 constituye una deficiencia significativa en estas aproximaciones de desagregación celular, y por ello, métodos de despegados alternativos y más moderados son deseables.

Por ello, sigue siendo atractivo el desarrollo de otras alternativas para dicho despegado suave de células y láminas celulares. Un polímero termosensible alternativo al *pNIPAm* es la poli-vinilcaprolactama (*pVCL*), que tiene una LCST similar a la del *pNIPAm* (también en un rango de temperaturas fisiológicamente relevante) y citocompatibilidad. Sin embargo, se han dedicado pocos esfuerzos a la preparación de soportes útiles en recolección celular en base *pVCL*. Lee y col. (*Acta biomaterialia*; 2013; **9**(8): 7691-7698) describieron la preparación de filmes finos de *pVCL* (de unos 50 nm) sobre sustratos tejidos de Nylon, usando técnicas de deposición química en fase vapor, y obtuvieron despegado celular parcial. Yang y col. describieron otro ejemplo (*Polymer Chemistry*; 2015; **6**(18): 3431-3442) en el que prepararon hidrogeles independientes de *VCL* con un metacrilato zwitteriónico, los cuales fueron capaces de despegar células mediante descenso de temperatura.

Se han sido descrito recientemente soportes tipo hidrogel para manipulación celular en base *VP*, un componente análogo a *VCL* pero no termosensible. En concreto, se ha descrito la preparación de una familia de hidrogeles no termosensibles derivados de *VP* y con estructura de pseudo-redes dobles (pseudo-DN) capaz de albergar células hasta confluencia y permitir posteriormente un rápido despegado o trasplante de la lámina celular mediante una simple agitación mecánica, sin necesidad de superestrato (*Journal of Materials Chemistry B*; 2014; **2**(24): 3839-3848). El término pseudo-red doble hace referencia a la tendencia estructural de estas redes a formar redes dobles (DNs), que se definen como redes interpenetradas (IPNs) constituidas por dos redes con alta asimetría en densidad de entrecruzamiento. Los mencionados hidrogeles están constituidos por *VP* y por diferentes metacrilatos iónicos *M*: aniónico ( $M-SO_3^-$ ), catiónico ( $M-N^+$ ), zwitterión tipo sulfobetaina ( $M-N^+-SO_3^-$ ), zwitterión tipo fosforilcolina ( $M-PO_3^-N^+$ ), o formulaciones pseudo-zwitteriónicas (cantidades estequiométricas de  $M-SO_3^-$  y  $M-N^+$ ). Todos estos hidrogeles fueron robustos a pesar de su alto contenido en agua (alrededor de 90 % de agua en el estado en equilibrio). Se encontró que todos los hidrogeles iónicos fueron superiores al control sin componente iónico (sin *M*), lo cual está de acuerdo con la conocida naturaleza antiadhesiva y antiinrustante de *PVP* y de otros polímeros neutros y solubles en agua (PEO, etc.).

Las modificaciones superficiales químicas y topográficas de polímeros robustos mecánicamente pueden modular su interacción con el ambiente a la vez que se mantienen las propiedades mecánicas del bloque. Este hecho parece ser especialmente relevante en campos como la tribología o la medicina, en los que se desean materiales resistentes con propiedades superficiales (tanto químicas como

topográficas) a medida. Por una parte, la funcionalización de soportes hidrofóbicos para dotarles de características superficiales hidrofílicas es actualmente un requerimiento para ciertas aplicaciones biomédicas. Por otra, superficies arrugadas han encontrado aplicación en múltiples áreas como su uso como plantillas para crear formaciones superficiales ordenadas, en la fabricación de componentes electrónicos flexibles, o en el diseño de superficies con mojabilidad y propiedades de adhesión/fricción controladas.

Además, es importante señalar que soportar los mencionados hidrogeles en forma de recubrimiento sobre materiales mecánicamente robustos, como Nylon o policarbonato, puede mejorar significativamente la manipulación de la capa activa de hidrogel, ya que el soporte del hidrogel puede ser grapado, cosido, fundido, etc., y por lo tanto puede permitir formar constructos complejos. El hidrogel puede incluso ser secado y rehidratado, lo cual es ventajoso en términos de almacenamiento en condiciones limpias y de entrega. Finalmente, estas plataformas pueden ser de interés en campos que requieran de ingeniería de láminas celulares, como el trasplante de tejidos en áreas quemadas o de córnea, ejemplos en los que se puede mejorar el proceso de regeneración tisular.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un producto que incluye:

- a) Un sustrato polimérico y
- b) Un hidrogel basado en monómeros tipo vinil-lactama, metacrilatos iónicos y al menos un agente de entrecruzamiento,

caracterizado por que hay una interfaz entre el sustrato y el hidrogel, formada por un gradiente de ambos semi-interpenetrados, red y sustrato, que en caso de despegado funcionaliza las capas superiores del sustrato.

En una realización preferida la invención se refiere a un producto tal y como se ha definido arriba que contiene al menos dos agentes de entrecruzamiento.

En una realización preferida, el sustrato polimérico se selecciona de poliestireno, polimetacrilato de metilo, nylon, policarbonato, poliácido láctico o policaprolactona. En una realización más preferida, el sustrato polimérico es nylon o policarbonato. En una realización aún más preferida, el sustrato polimérico es nylon.

En otra realización preferida, la vinil-lactama es seleccionada de vinil-caprolactama o vinil-pirrolidona. En una realización más preferida, la vinil-lactama es vinil-caprolactama.

5

En otra realización preferida, la vinil-lactama puede ser combinada con diferentes monómeros funcionales (iónicos, no iónicos, zwitteriónicos).

10

En una realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacrililoixi)alquill]trimetilamonio, metacrilatos de dimetil y dietilaminoetilo.

15

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato zwitteriónico seleccionado de 2-metacrililoixietil fosforilcolina, hidróxido de [3-(metacriloilamino)propil]dimetil(3-sulfopropil) amonio.

20

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo.

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es una mezcla de metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo y de metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacrililoixi)alquill]trimetilamonio.

25

En un realización preferida, los agentes de entrecruzamiento son seleccionados de etilenglicol di(met)acrilato, trietilenglicol di(met)acrilato, tetraetilenglicol glicol di(met)acrilato, trimetilolpropano tri(met)acrilato, bisfenol A di(met)acrilato, etoxilato bisfenol A di(met)acrilato, pentaeritritol tri-, and tetra(met)acrilato, tetrametileno di(met)acrilato, metilenbisacrilamida, metacriloxietil vinil carbonato, trialilcianurato, metacriloxietil vinil urea, divinil benceno, dialil itaconato, alil metacrilato, dialil phthalato, polisiloxanilbisalquil (met)acrilato, polietilen glicol di(met)acrilato, vinil-metacrilato, divinil-adipato, derivados de divinil-pirrolidona o combinaciones de los anteriores. En una realización más preferida, se usan dos agentes de entrecruzamiento, por ejemplo etilenglicol di(met)acrilato y 3,3'-(propil)-di-1-vinil-2-pirrolidona.

35

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para obtener el producto descrito anteriormente, donde el proceso comprende al menos las siguientes etapas:

- a) mezcla de los monómeros precursores del hidrogel, el derivado de vinil-lactama, el metacrilato iónico, y al menos dos agentes de entrecruzamiento con un fotoiniciador y disolvente,
- b) deposición de la mezcla de (a) en la superficie del sustrato polimérico e inducción de la fotopolimerización bajo radiación UV e
- c) hinchamiento del producto obtenido en (b) mediante su inmersión en agua o en etanol.

5

10

En una realización preferida, el sustrato polimérico se selecciona de poliestireno, polimetacrilato de metilo, nylon, policarbonato, poliácido láctico o policaprolactona. En un ejemplo más preferido, el sustrato polimérico es nylon o policarbonato.

15

En otra realización preferida, la vinil-lactama es seleccionada de vinil-caprolactama o vinil-pirrolidona. En un ejemplo más preferido, la vinil-lactama es vinil-caprolactama.

20

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacrililoiloxi)alquil]trimetilamonio.

25

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato zwitteriónico seleccionado de metacrililoioxietil fosforilcolina, hidróxido de [3-(metacriloilamino)propil]dimetil(3-sulfopropil) amonio.

30

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es un metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo.

35

En otra realización preferida, el metacrilato iónico es una mezcla de metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo y de metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacrililoiloxi)alquil]trimetilamonio.

En una realización preferida, los agentes de entrecruzamiento son seleccionados de etilenglicol di(met)acrilato, trietilenglicol di(met)acrilato, tetraetilenglicol glicol di(met)acrilato, trimetilolpropano tri(met)acrilato, bisfenol A di(met)acrilato, etoxilato bisfenol A di(met)acrilato, pentaeritritol tri-, and tetra(met)acrilato, tetrametileno di(met)acrilato, metilenbisacrilamida, metacrilioxietil vinil carbonato, trialilcianurato, metacrilioxietil vinil urea, divinil benceno, dialil itaconato, alil metacrilato, dialil phthalato, polisiloxanilbisalquil (met)acrilato, polietilen glicol di(met)acrilato, vinil-metacrilato, divinil-adipato, derivados de divinil-pirrolidona o combinaciones de los anteriores.

En una realización más preferida, se usan dos agentes de entrecruzamiento, por ejemplo etilenglicol di(met)acrilato y 3,3'-(propil)-di-1-vinil-2-pirrolidona.

- 5 En otra realización preferida, la radiación UV se mantiene entre 10 y 60 minutos. En un ejemplo más preferido, la radiación UV se mantiene 40 minutos.

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del material descrito arriba para obtener materiales para cultivo celular.

10

Otro aspecto de la invención se refiere al uso del material descrito arriba para el recubrimiento de objetos 3D. Preferiblemente se refiere al uso del material descrito arriba para el recubrimiento de objetos 3D para la fabricación de andamiajes.

- 15 Otro aspecto de la invención se refiere al uso del material descrito arriba para la fabricación de actuadores mecánicos termosensibles.

A no ser que se diga lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende el experto en la técnica al que pertenece esta invención. Métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos aquí, pueden usarse en la práctica en la presente invención. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprender" y sus variaciones no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o etapas. Objetos, ventajas y características adicionales de la invención se harán evidentes para los expertos en la técnica tras el examen de la descripción o pueden aprenderse mediante la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos e ilustraciones se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

20

25

30

### **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS ILUSTRACIONES**

**FIG. 1.** Las fotografías indican los cambios ópticos asociados a la VPTT (temperatura de transición de fase de volumen). A temperaturas por encima de la VPTT (imagen izquierda), la red polimérica está colapsada y presenta un aspecto blanco. Al enfriarse primero a la VPTT (imagen central) y más tarde a temperaturas por debajo de la VPTT (imagen derecha) desapareció el color blanco y se observa un recubrimiento transparente que indica una solvatación de la red polimérica.

35

**FIG. 2.** Evaluación de la formación de monocapa en el nylon revestido con hidrogel. Al enfriar de 37 a 20 °C (por debajo de VPTT) la monocapa se separa (a) y las células se trasplantan sobre una placa de cultivo. Como se evidencia a las 44h (b) y 144h (c), se puede formar una monocapa completa a partir de las células trasplantadas.

**FIG. 3.** Montaje para la fabricación de superficies de PC modificadas con hidrogeles basados en VP, junto con imágenes de perfilometría óptica ilustrativas de películas de PC originales y de una superficie de PC arrugada obtenida tras la fotopolimerización de una solución precursora (HYD\_1) colocada sobre la superficie del PC.

**FIG. 4.** Evolución de la topografía superficial de PC que conduce a la formación de arrugas en función del tiempo transcurrido entre el contacto de la solución HYD\_1 con el sustrato PC y el inicio de la etapa de fotopolimerización: (a) 0 min, (b) 5 min, (c) 10 min, (D) 20 min y (e) 30 min.  $W_{AMP}$ : amplitud de las arrugas,  $W_P$ : periodo de las arrugas.

**FIG. 5.** (a) Evolución morfológica de las arrugas en función de la mezcla de disolventes empleada (Tamaño de la imagen: 350  $\mu\text{m}$  x 250  $\mu\text{m}$ ). Variación del periodo de las arrugas (b) y su amplitud (c) en función del tiempo de exposición de la solución de monómero al sustrato de PC. En la Tabla 1 se proporcionan las referencias de HYD.

**FIG. 6.** (a) Medidas de ángulo de contacto estático y (b) ángulo de contacto de avance-retroceso durante 7 ciclos en un PC tratado y no tratado. (C) Imagen de perfilometría óptica de una gotita de agua que avanza en la interfase húmeda-seca. La superficie de la PC arrugada se obtuvo tras la fotopolimerización de una solución precursora HYD\_1 colocada sobre la superficie del PC con un tiempo transcurrido de 10 minutos entre el contacto y la irradiación UV

**FIG. 7.** Arriba: Representación de la relación de intensidades entre las señales a 1676  $\text{cm}^{-1}$  observadas en el hidrogel y la banda a 1615  $\text{cm}^{-1}$  asignadas al PC en función de la profundidad de HYD\_2 (a-e) y HYD\_1 (f-j). Abajo: Evolución del espectro de Raman en función de la profundidad de HYD\_2 (k) y HYD\_1 (l).

**FIG. 8.** Formación de hidrogeles basados en VP y situaciones observadas tras el hinchamiento del hidrogel. Principalmente se observaron dos posibilidades diferentes:

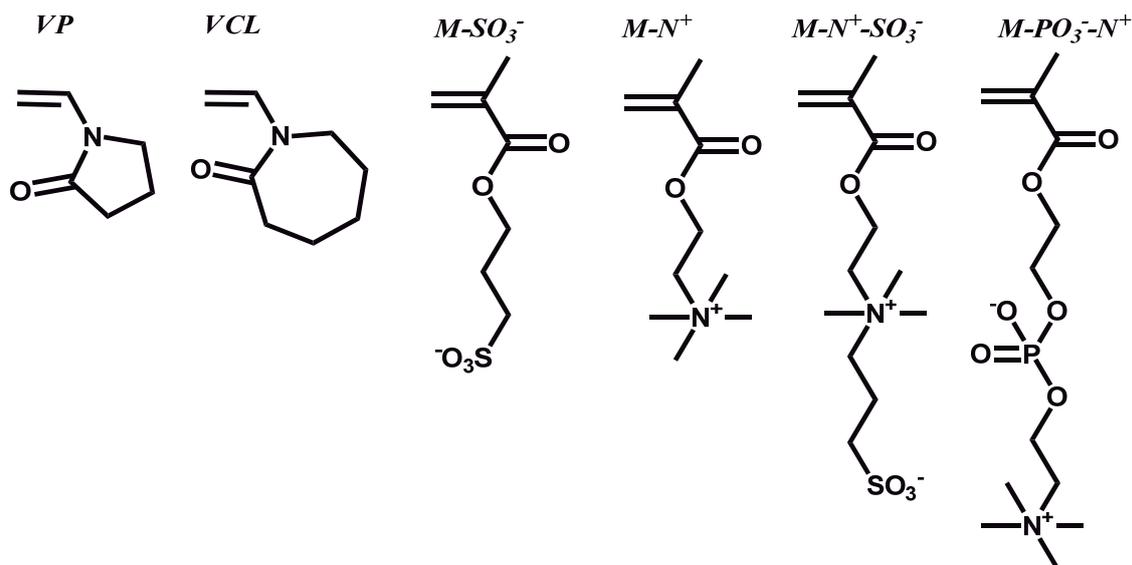
(a) separación de las regiones no integradas de los hidrogeles dejando una capa delgada de hidrogel encima de la superficie y (b) los hidrogeles permanecen anclados parcial o totalmente a la superficie. (c) Imágenes ópticas e imágenes ópticas 3D ilustrativas de una superficie de PC después del tratamiento (izquierda) y la superficie de hidrogel complementaria obtenida al secarse (derecha).

**FIG. 9.** Imágenes ópticas de la superficie de un cilindro de 3 mm de diámetro tras tratamiento con la solución que incluye vinilpirrolidona y metacrilato de sulfopropilo potásico (relación molar 6:1), así como agentes de entrecruzamiento de tipo metacrílico y vinílico. El cilindro se sumergió en la solución descrita anteriormente y después de un cierto período de tiempo (0,15 ó 30 min), todo el sistema se expuso a radiación UV durante 30 minutos. A continuación, el cilindro se sumergió en etanol y el hidrogel se separó de la superficie del cilindro dejando una superficie arrugada con una fina capa superficial de hidrogel.

## EJEMPLOS

### 1. Obtención del recubrimiento de hidrogel

Los hidrogeles se sintetizaron mediante polimerización radical convencional en una sola etapa usando agua Milli-Q, alcoholes (etanol o metanol) o mezclas agua / alcohol como disolventes. Brevemente, una disolución de vinilpirrolidona (VP) o vinilcaprolactama (VCL) (6 mol / L) y el metacrilato iónico (1 ó 0,5 mol / l de sulfopropilmetacrilato de potasio ( $M-SO_3^-$ ), cloruro de [2- (metacrililoiloxi) etil] trimetilamonio ( $(M-N^+)$ ), hidróxido de [3-(metacrililoilamino)propil]dimetil(3-sulfopropil) amonio ( $M-N^+-SO_3^-$ ), 2 - metacrililoioxietil fosforilcolina ( $M-PO_3^-N^+$ ), o una mezcla de  $M-SO_3^-$  y  $M-N^+$  y se añadieron los agentes de entrecruzamiento dimetacrilato de etilenglicol (C1) y 3,3' - (propil) -di-1-vinil-2-pirrolidona (C2) al 2 y 0,1 mol % (frente al contenido total de monómero). Hidroxi-ciclohexil fenil cetona (HCPK) se usó como fotoiniciador (0,5% en peso).



Las mezclas de reacción se burbujearon con N<sub>2</sub> y se transfirieron a moldes por medio de una jeringa. Para la preparación de los materiales recubiertos, se utilizaron moldes de policarbonato / polipropileno ó Nylon / polipropileno, entre otras combinaciones. Los moldes se separaron mediante espaciadores de silicona (de 0,05 a 1,5 mm de espesor). La fotopolimerización se llevó a cabo durante 40 minutos bajo una radiación UV ( $\lambda = 365$  nm) en una lámpara ultravioleta UVP (modelo CL-1000L, 230V). Un resumen de los tipos de hidrogeles preparados se da en la Tabla 1. Los soportes recubiertos con el hidrogel se recuperaron de los moldes retirando la cubierta de polipropileno y se dejaron hinchar en etanol o agua Milli-Q hasta alcanzar el equilibrio. Posteriormente, se lavaron exhaustivamente con agua para eliminar cualquier material soluble. Las muestras se almacenaron en etanol a 4 °C hasta que fue necesario para la experimentación. 24 horas antes de los diferentes experimentos, las muestras se transfirieron de nuevo a agua Milli-Q y se lavaron varias veces para eliminar completamente el etanol.

## **2. Recubrimiento de sustratos de Nylon con hidrogeles basados en VCL. Uso como soporte para cultivo celular.**

El hidrogel preparado utilizando sólo VCL y dimetacrilato de etilenglicol (C1) y 3,3'-(propil)-di-1-vinil-2-pirrolidona (C2) como agentes de entrecruzamiento (es decir, sin M), se ha elegido para llevar a cabo estudios preliminares sobre el recubrimiento de superficies hidrófobas con hidrogeles termosensibles.

La fotopolimerización de la formulación basada en VCL sobre este material (Nylon) produjo un hidrogel con una interfaz integrada en la superficie del soporte como se muestra en la Figura 1. Este hidrogel era estable y no se separaba o se rompía por manipulación o cambios de temperatura cuando se sumergía en medio acuoso. Aún más, la capa de hidrogel puede ser secada y rehidratada perfectamente.

Este Nylon recubierto se evaluó como soporte de cultivo celular utilizando células endoteliales C166-GFP (Figura 2). Una monocapa celular se formó después de unos pocos días y esta monocapa se pudo separarse completamente por disminución de la temperatura (Figura 2 (a)). Tras el trasplante de la monocapa recuperada sobre una placa de cultivo de tejido, las células fueron capaces de crecer y formar de nuevo una monocapa al cabo de pocos días.

Todos los hidrogeles se esterilizaron con una disolución de etanol al 70% enjuagando seis veces durante 10 minutos cada uno. A continuación, se lavaron con PBS seis veces, se expusieron a radiación UV durante 30 minutos para cada lado del hidrogel y se lavaron dos veces con medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) con alto contenido de glucosa. Para simular la temperatura de las condiciones de cultivo (37°C), por encima del VPTT, se utilizó una placa caliente con una temperatura constante para el proceso de corte del material obteniendo muestras de 2 cm<sup>2</sup> que encajaban en las placas de 24 pocillos. Después de cortarlas, las muestras se dejaron durante una noche incubadas con DMEM 10% de suero bovino fetal (FBS) y 1% de antibióticos (100 U / ml de penicilina y 100 µg / ml de sulfato de estreptomicina, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

C166-GFP (ATCC® CRL-2583™) es una línea celular endotelial de ratón transfectada con proteína fluorescente verde (GFP). Las condiciones de cultivo son el MEM de Dulbecco (D6429) suplementado con FBS al 10% más penicilina 100 U / mL y sulfato de estreptomicina 100 µg / ml añadiendo 0,2 mg / ml de antibiótico G-418 al medio de cultivo para la selección de las células GFP retenidas. Las células se sembraron en las redes con una densidad de  $3 \times 10^4$  células / ml y se incubaron a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>. Las células fueron monitorizadas utilizando un microscopio de fluorescencia invertida con un filtro FITC ( $\lambda_{ex} / \lambda_{em}$  488/568 nm).

Los hidrogeles soportando los cultivos celulares fueron dados la vuelta y situados en nuevos pozos TCP. Posteriormente, se añadió medio frío a cada pocillo para alcanzar  $T \leq 27$  °C. Se utilizó una sonda de temperatura para monitorizar este proceso.

Después de 45 minutos, los hidrogeles se retiraron y las muestras se reincubaron a 37°C con CO<sub>2</sub>. Las células trasplantadas se observaron diariamente usando un microscopio de fluorescencia invertido y se tomaron micrografías. El ensayo Trypan Blue se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

5

La actividad metabólica de los trasplantes celulares se midió mediante ensayo Alamar Blue siguiendo las instrucciones del fabricante. Este método es no tóxico, escalable y utiliza el poder natural reductor de las células vivas, generando una medida cuantitativa de la viabilidad celular y la citotoxicidad. En resumen, se añadió colorante Alamar Blue (10% del volumen de cultivo) a cada pocillo, que contenía células vivas sembradas sobre películas, y se incubó durante 90 minutos. Los ensayos se realizaron, en cada tipo de muestra, por triplicado. La fluorescencia ( $\lambda_{\text{ex}} / \lambda_{\text{em}}$  535/590 nm) de cada pocillo se midió usando un lector de placas.

10

15

### **3. Recubrimiento de sustratos de policarbonato con hidrogeles a base de VP.**

Como punto de partida en todos los casos se utilizó una formulación basada en VP optimizada previamente: agua como disolvente, VP y M-SO<sub>3</sub><sup>-</sup> en concentraciones de 6 y 1 mol/L respectivamente, dos agentes de entrecruzamiento (denominados C2 y C1) con porcentajes molares (frente a los monómeros) de 2,0 y 0,1 %, respectivamente.

20

Los hidrogeles se sintetizaron como se ha descrito anteriormente. Un resumen de los tipos de hidrogeles preparados se da en la Tabla 1.

25

**Tabla 1.** Se emplearon disoluciones precursoras fotosensibles que comprendían: 6 moles de VP (1,265 ml), 2 moles de M-SO<sub>3</sub><sup>-</sup> (492 mg), 0,1 mol% de C2 (3,1 mg) y diferentes cantidades de C1 y de disolventes (mezcla de agua y etanol). Los tiempos de contacto utilizados antes de la fotopolimerización fueron 0, 5, 10, 20 y 30 minutos.

Nombre		HYD_1	HYD_2	HYD_3	HYD_4	HYD_5	HYD_6	HYD_7
C1 (mol %)		2,0	2,0	2,0	2,0	0,5	1,0	4,0
Disolvente	EtOH	-	-	0,245	0,490	-	-	-

(ml)	Agua	0,735	1,000	0,490	0,245	0,735	0,735	0,735
------	------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Las tapas de polipropileno se retiraron después del fotocurado y se permitió que las redes formadas sobre los sustratos PC se hincharan en etanol hasta que se alcanzó el equilibrio. Posteriormente, los sustratos de PC recubiertos se lavaron exhaustivamente con etanol y agua para eliminar cualquier material soluble y finalmente se secaron para su análisis.

Los perfiles transversales y las imágenes 3D de las superficies arrugadas se caracterizaron mediante un perfilómetro Zeta-20 True Color 3D de Zeta Instruments. Se realizaron medidas de ángulos de contacto estático utilizando un goniómetro de ángulo de contacto (instrumentos Tetha, KSV) con el método de gota sésil. Además de los valores del ángulo de contacto estático, se llevaron a cabo valores de ángulo de contacto de avance y retroceso. Se ajustó una jeringa motorizada a una velocidad específica para controlar el caudal volumétrico del líquido hacia o desde la gota sésil. El mecanismo empujó el émbolo de la jeringa durante el procedimiento de avance y lo tiró durante el procedimiento de retirada, dando lugar a un aumento y disminución del tamaño de la gota, respectivamente. Las imágenes de la gota en crecimiento y encogimiento fueron registradas por el ordenador, típicamente a una velocidad de una imagen cada 1 s. En este estudio, los procesos de avance y retroceso se repitieron al menos 7 veces, llevando el sistema a 7 ciclos.

La composición química y los perfiles de profundidad de las películas poliméricas se determinaron utilizando Microscopía Confocal Raman integrada con microscopía de fuerza atómica (AFM) en un microscopio CRM-Alpha 300 RA equipado con láser Nd:YAG (potencia máxima de 50 mW de potencia a 532 nm). Los espectros Raman se adquirieron punto por punto cada 100 nm.

La formulación de precursores que ha sido etiquetada como HYD\_1, ha mostrado ser capaz de inducir una microestructuración superficial en sustratos de PC, la cual se obtuvo en una sola etapa mediante polimerización iniciada por UV de la solución monomérica HYD\_1 depositada sobre un sustrato de PC (usando el montaje representado en la Figura 3), seguido por separación del hidrogel por hinchamiento en etanol.

La solución HYD\_1 se confinó entre una cubierta transparente y el sustrato de policarbonato usando un espaciador. El hidrogel, resultante después de un tiempo de espera de 10 minutos seguido de la etapa de fotopolimerización UV-vis, se sumergió en una solución de EtOH. Al hincharse, el hidrogel se separa del soporte de PC dejando un sustrato en el que la topografía se ha modificado significativamente. En la Figura 3 se representan imágenes ilustrativas de perfilometría óptica 3D de una superficie de PC no tratada y de otra tras de la etapa de fotopolimerización de UV. En contraste con la superficie de PC plana no tratada, la superficie de las películas obtenidas después de la eliminación de hidrogel muestra arrugas distribuidas aleatoriamente. En particular, en las condiciones descritas anteriormente, se observaron arrugas con dimensiones homogéneas (alrededor de  $\sim 30 \mu\text{m}$  en longitud de onda y amplitudes de alrededor de  $\sim 9 \mu\text{m}$ ) sobre toda la superficie. Esta particular topografía de superficie en la superficie del PC debe estar relacionada con la formación de hidrogel y el desprendimiento post-polimerización tras la inmersión en etanol. Nótese que los experimentos de control llevados a cabo sin el pequeño porcentaje de 0,1% en moles del compuesto divinílico C2 no produjeron un hinchamiento / desprendimiento homogéneo de hidrogel, ni arrugas. C2 juega un papel clave no sólo para las propiedades de la red, sino también debido a su posible participación en los enlaces entre cadenas ricas en SPM y cadenas ricas en VP. Se han descrito que hetero-uniones análogas mejoran las propiedades mecánicas de redes dobles. Además, un aumento de C1 al 4% molar conduce a un desprendimiento parcial o a un anclaje completo del hidrogel sobre el PC. Esta influencia de C1 en el desprendimiento del hidrogel se abordará más adelante.

Se plantea aquí la hipótesis de que la formación de las arrugas de la figura 3 está relacionada de algún modo con un hinchamiento de PC y, por tanto, con una penetración de la mezcla de monómeros en las capas externas de PC. El desprendimiento del hidrogel tras el hinchamiento en etanol revelaría las arrugas. Para abordar esta hipótesis, se ha estudiado la influencia sobre el arrugamiento superficial de diferentes parámetros que pueden influir en la propuesta difusión de monómeros en PC, tales como el tipo de disolvente o el tiempo de exposición entre el sustrato y la solución fotopolimerizable antes de la irradiación UV. Además, se ha analizado la composición química de la superficie; Primero, los posibles cambios en la humectabilidad de la superficie se analizaron mediante medidas de ángulo de contacto de avance y retroceso. En segundo lugar, los posibles cambios en la composición química de la superficie se investigaron mediante microspectroscopía Raman confocal.

Para analizar la influencia del tiempo de contacto, se puso en contacto la mezcla de monómeros HYD\_1 con la superficie del PC y se varió el tiempo de retardo entre el contacto establecido y el inicio del tiempo de irradiación con luz UV entre 0 y 30 min (téngase en cuenta que la muestra representada en la Figura 3 se obtuvo después de un tiempo de retardo de 10 minutos). Como se observa en la Figura 4, la topografía superficial varía gradualmente de un sustrato bastante plano a una superficie arrugada aumentando el tiempo de contacto. Los tiempos de contacto cortos produjeron sólo un ligero aumento de la rugosidad superficial (Figura 4 (a)). Sin embargo, la topografía superficial cambia significativamente manteniendo la solución precursora en contacto con el sustrato durante 5 minutos o más. En esta situación (5 min), la superficie resultante del desprendimiento completo de hidrogel reveló la formación de arrugas con períodos alrededor de  $\sim 20 \mu\text{m}$  y amplitudes por debajo de  $3 \mu\text{m}$  (Figura 4 (b)). En el periodo de tiempo observado, es decir, desde 0 hasta 30 minutos, se observó un aumento gradual de las dimensiones de las arrugas. Como resultado, las arrugas con periodos comprendidos entre  $19 \mu\text{m}$  y  $40 \mu\text{m}$  y amplitudes comprendidas entre  $2,6 \mu\text{m}$  y  $17 \mu\text{m}$  se pueden preparar fácilmente aumentando el tiempo transcurrido entre el contacto de la solución precursora y el fotocurado con UV.

Además del tiempo de contacto, la naturaleza y la relación de los disolventes empleados para la mezcla fotosensible pueden tener una fuerte influencia en el proceso de hinchamiento superficial del PC. Para HYD\_1 se utilizó una cantidad pequeña y optimizada de agua como disolvente. Para abordar esta cuestión, se han estudiado las muestras HYD\_2 a HYD\_4 en la Tabla 1, en las que se han variado la cantidad y la naturaleza del disolvente.

Las dimensiones de las arrugas (amplitud y periodo) variaron claramente dependiendo del disolvente empleado. En la Figura 5 se representan imágenes de perfilometría óptica 3D y dos gráficos adicionales que representan la variación de las características de las arrugas en función del tiempo de contacto para diferentes soluciones precursoras. Usando la solución HYD\_2, con una cantidad de agua más grande que en el caso de HYD\_1, las arrugas observadas son claramente más pequeñas (que las observados usando HYD\_1). Por otra parte, la sustitución parcial de agua por EtOH da lugar a arrugas con dimensiones mayores. Además, un aumento en la cantidad de EtOH en la mezcla de disolventes dio lugar a arrugas con períodos y amplitudes mayores. Por lo tanto, más allá de la adición de agua, la incorporación de un disolvente adicional con mayor afinidad al sustrato nos permitió ajustar con precisión

las dimensiones de arrugas resultantes. En particular, como se representa en la Figura 5, se obtuvieron directamente superficies rugosas estructuradas con periodos entre 10 y 100  $\mu\text{m}$  y amplitudes que oscilan entre 1-20  $\mu\text{m}$ .

5 En cuanto a la naturaleza química de la superficie, las mediciones de ángulo de contacto estático llevadas a cabo tanto en PC planar no modificado como en PC modificado, indicaron un aumento de la humectabilidad superficial, es decir, la superficie tratada se vuelve más hidrófila (Figura 6 (a)). Para este estudio se ha seleccionado una muestra de tipo HYD\_1 con 10 minutos de tiempo de contacto. Las mediciones de ángulos de avance y retroceso evidenciaron cambios de superficie significativos. En la Figura 6 (b) se representan los ángulos de contacto de avance y retroceso de 7 ciclos para sustratos tratados y no tratados. El sustrato precursor, es decir PC puro, presenta ángulos de avance de aproximadamente 90-93° y valores de ángulo de contacto de retroceso de 15-18°. Estos valores permanecen constantes durante todos los ciclos explorados. Sin embargo, para las superficies tratadas con la mezcla fotosensible y tras el desprendimiento de hidrogel, el ángulo de contacto de avance presenta diferencias significativas entre el primer y los siguientes ciclos. Mientras que en el primer ciclo el ángulo de avance presenta valores alrededor de 82°, los valores medidos para los siguientes ciclos son alrededor de 10-12°. Esta observación indica que en el primer ciclo la interfaz tratada requiere una primera humectación para llegar a ser altamente hidrofílica. Muy probablemente, parte del hidrogel formado permanece anclado a la interfase hidratada durante los siguientes ciclos. El avance del frente de agua durante las mediciones de ángulo de avance ha sido representado usando un perfilómetro óptico (Figura 6 (c)). La gotita de agua moja los valles formados por las arrugas y avanza formando una fina capa de agua. Igualmente, como se esperaba, el ángulo de contacto de retroceso en las películas tratadas es muy bajo con valores por debajo de 10°.

Los experimentos de ángulos de contacto evidencian la formación de una capa superficial hidrófila, pero no proporcionan ninguna información sobre la composición química de la superficie y el perfil de profundidad del tratamiento. La información sobre estos dos aspectos fue obtenida por Raman Confocal. Antes de la investigación de los sustratos modificados, se evaluaron las diferencias entre los espectros Raman del hidrogel basado en PVP y el sustrato PC. Por comparación de estos dos espectros hemos observado varias señales características. En primer lugar, la señal encontrada a 1675  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a los grupos C=O del hidrogel en base PVP. Sin embargo, los grupos funcionales carbonilo presentes en el PC proporcionan una señal Raman a

1613  $\text{cm}^{-1}$ . Además, las bandas encontradas a 1495, 1457, 1425  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a la deformación de metileno de la cadena principal del material de PVP. Por último, la banda a 944  $\text{cm}^{-1}$  se corresponde al modo de respiración (*breathing mode*) del anillo de pirrolidona y las observadas a 860 y 768  $\text{cm}^{-1}$  a los modos de anillo.

5

En el espectro Raman observado para el sustrato de PC tratado se puede observar claramente la formación de una capa superior en la que la composición química es una mezcla de PC e hidrogel en base VP. Otra característica interesante de la microspectroscopia de Raman Confocal está relacionada con la posibilidad de obtener

10 perfiles de profundidad que muestren la variación de la composición química desde la superficie hasta el interior del PC. Para este análisis se empleó la parte superior de una colina de arrugas como referencia y los espectros Raman se registraron a diferentes profundidades de hasta 30  $\mu\text{m}$ . Los espectros de Raman de HYD\_1

15 obtenidos a diferentes profundidades a diferentes tiempos de contacto, muestran una variación gradual de los espectros de un hidrogel puro compuesto principalmente por PVP, a PC puro a una profundidad de 30  $\mu\text{m}$ . Al normalizar la señal a 1615  $\text{cm}^{-1}$  asignada a la C=O del PC, se puede observar fácilmente una disminución gradual por ejemplo de las bandas a 1495, 1457, 1425  $\text{cm}^{-1}$  debido a la deformación del metileno de la cadena principal o la banda a 1678  $\text{cm}^{-1}$  debidas al C=O del hidrogel formado.

20 Como resultado, una comparación de la bandas a 1676  $\text{cm}^{-1}$  del hidrogel y la banda a 1615  $\text{cm}^{-1}$  característica de PC permite estimar la variación de la composición química y la profundidad de la capa modificada. Como se muestra en la Figura 7, la representación de la relación entre ambas señales permite construir perfiles transversales que indican la extensión de la modificación superficial. Un aumento del

25 tiempo de contacto de la solución fotopolimerizable sobre el sustrato antes de la etapa de irradiación UV-vis, conduce a un aumento de las características dimensionales de las arrugas.

A medida que aumenta el tiempo de contacto, la mezcla de monómeros penetra más

30 profundamente en el PC, se produce un mayor hinchamiento y aparecen inestabilidades superficiales. La fotopolimerización forma la red basada en VP (en realidad, las capas externas integradas de hidrogel / PC forman una estructura semi-interpenetrada) y "congela" la deformación superficial. El desprendimiento del hidrogel, finalmente, revela las arrugas en la interfase. De acuerdo con las observaciones

35 descritas anteriormente usando el perfilómetro óptico 3D, el tamaño de las arrugas aumenta a medida que la capa modificada aumenta también. Por lo tanto, el proceso de formación de arrugas está directamente relacionado con el grado de hinchamiento.

La Figura 7 también muestra la relevancia de la concentración de monómeros al comparar HYD\_1 con HYD\_2. Mientras que HYD\_1 se prepara usando 0,735 ml de agua, HYD\_2 contiene 1 ml de agua (es menos concentrado). En primer lugar, como se representa en los perfiles transversales y se resumen en las gráficas (Figura 7 (k) y (l)), los perfiles indican una mayor difusión de los componentes precursores de hidrogel al aumentar la concentración de monómero. Considerando que HYD\_2 exhibe perfiles de penetración de monómeros con espesores por debajo de 15  $\mu\text{m}$ , HYD\_1 evidenció que la región superficial afectada es superior a 25  $\mu\text{m}$  de espesor.

En el escenario anterior de hinchamiento en gradiente y deformación superficial, las arrugas se hacen visibles si el hidrogel es capaz de separarse en la interfase deformada. En base a literatura relacionada, el desprendimiento del hidrogel puede estar relacionado con las tensiones originadas en la superficie tras el hinchamiento del hidrogel y está influenciada por el número de puntos de anclaje establecidos entre el hidrogel y el sustrato PC. Este número de puntos de anclaje está fuertemente relacionado con el grado de entrecruzamiento. Como se mencionó anteriormente, un aumento de C1 conduce a un desprendimiento parcial o a un anclaje completo del hidrogel al sustrato PC (dependiendo del tiempo de contacto). Un valor de C1 entre 0,5 y 1% molar resultó, sin embargo, en un desprendimiento completo del hidrogel del PC, que conduce al arrugamiento aquí descrito. De manera interesante, la superficie de este hidrogel (Figura 8 (c)) también exhibe la formación de arrugas, que son complementarias a las arrugas observadas en la superficie del PC. Un modelo hipotético se ha desarrollado de acuerdo con estos resultados (ver Figura 8). Las redes de mayor densidad de entrecruzamiento son capaces de absorber una cantidad limitada de disolvente y por lo tanto presentan un hinchamiento reducido y tensiones menores relacionadas con el fenómeno de hinchamiento. El número de puntos de anclaje entre la interfaz y el hidrogel aumenta también. Por lo tanto, se propone un grado de entrecruzamiento crítico, por debajo del cual existe una ruptura del enlace en la interfase y un desprendimiento de hidrogel. Esto se debe al reducido número de puntos de anclaje y a la mayor extensión de las tensiones durante el hinchamiento, en comparación con los grados de entrecruzamiento por encima del punto crítico, que son capaces de mantener anclado el hidrogel completo.

Como conclusión, puede establecerse que la mezcla seleccionada de monómeros / agentes de entrecruzamiento, al entrar en contacto con el PC, difunde e hincha la superficie del polímero. Como resultado, tras el hinchamiento del hidrogel formado en

EtOH o agua, se produce un desprendimiento controlado del hidrogel, dejando una fina capa de hidrogel en la superficie del PC. Esta fina capa de hidrogel es consecuencia del proceso inicial de difusión y de hinchamiento de la superficie del PC por los precursores del hidrogel. La difusión observada tiene dos consecuencias simultáneas. En primer lugar, se altera la composición química superficial del PC y se obtiene una superficie con mayor hidrofiliidad. En segundo lugar, la difusión e hinchamiento de la superficie del PC induce inestabilidades superficiales que finalmente dan lugar a la formación de superficies arrugadas. Curiosamente, mediante la modificación de la composición de la solución precursora, así como del tiempo de contacto, se obtiene un control razonable sobre las características de arrugas (periodo y amplitud).

#### **4. Recubrimiento de sustratos no planos.**

La pieza, en este caso un cilindro de 3 mm de diámetro, se sumergió en una disolución de mezcla de vinilpirrolidona, metacrilato de sulfopropilo (en proporción molar de 6/1) y agentes de entrecruzamiento tipo dimetacrilato y divinilo, y se irradió con luz UV durante 30 min. La iniciación del proceso de fotopolimerización se realiza instantáneamente (tiempo de contacto previo 0 min), así como después de 15 y después de 30 min. Como se ve en la Figura 9, la rugosidad aumenta con el tiempo de contacto, y la formación de arrugas se produce ya para tiempos de contacto cortos (previos a la fotopolimerización).

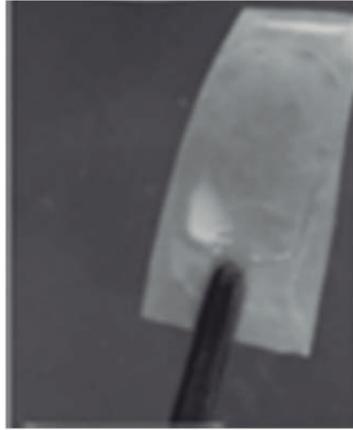
**REIVINDICACIONES**

1. Un producto que comprende :
- 5 a) un substrato polimérico y  
b) un hidrogel basado en monómeros de vinil-lactama, metacrilatos iónicos y al menos un agente de entrecruzamiento, caracterizado por que hay una interfaz entre el substrato y el hidrogel, formada por un gradiente de ambos semi-interpenetrados, red y substrato, que en caso de despegado funcionaliza las capas superiores del substrato.
- 10 2. Producto según la reivindicación 1, en el que el substrato polimérico se selecciona de poliestireno, polimetacrilato de metilo, nylon, policarbonato, poliácido láctico o policaprolactona.
- 15 3. Producto según la reivindicación 2, en el que el substrato polimérico es nylon.
4. Producto según las reivindicaciones 1 y 2, en el que la vinil-lactama se selecciona vinil-caprolactama o vinil-pirrolidona.
- 20 5. Producto según la reivindicación 4, en el que la vinil-lactama es vinil-caprolactama.
6. Producto según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacriloiloxi)alquill]trimetilamonio, metacrilatos de dimetil y dietilaminoetilo.
- 25 7. Producto según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato zwitteriónico seleccionado de metacriloiloxietil fosforilcolina, hidróxido de [3-(metacriloilamino)propil]dimetil(3-sulfopropil) amonio metacrilato zwitterionic methacrylate.
- 30 8. Producto según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo.
- 35 9. Producto según las reivindicaciones 1 a 3, en el que el metacrilato iónico es una mezcla de metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo y de metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacriloiloxi)alquill]trimetilamonio.

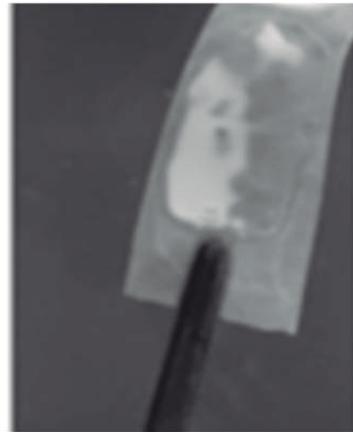
10. Producto según las reivindicaciones 1 a 6, en el que los agentes de entrecruzamiento son seleccionados de etilenglicol di(met)acrilato, trietilenglicol di(met)acrilato, tetraetilenglicol glicol di(met)acrilato, trimetilolpropano tri(met)acrilato, bisfenol A di(met)acrilato, etoxilato bisfenol A di(met)acrilato, pentaeritritol tri-, and tetra(met)acrilato, tetrametileno di(met)acrilato, metilenbisacrilamida, metacriloxietil vinil carbonato, trialilcianurato, metacriloxietil vinil urea, divinil benceno, dialil itaconato, alil metacrilato, dialil phthalato, polisiloxanilbisalquil (met)acrilato, polietilen glicol di(met)acrilato, vinil-metacrilato, divinil-adipato, derivados de divinil-pirrolidona o combinaciones de los anteriores.
11. Producto según la reivindicación 10, en el que los agentes de entrecruzamiento son etilenglicol di(met)acrilato y 3,3'-(propil)-di-1-vinil-2-pirrolidona.
12. Un proceso para obtener el producto según las reivindicaciones 1 a 11, en el que el proceso comprenda al menos las siguientes etapas:
- mezcla de los monómeros precursores del hidrogel, el derivado de vinil-lactama, el metacrilato iónico, y al menos dos agentes de entrecruzamiento con un fotoiniciador y disolvente,
  - deposición de la mezcla de (a) en la superficie del sustrato polimérico e inducción de la fotopolimerización bajo radiación UV e
  - hinchamiento del producto obtenido in (b) mediante su inmersión en agua o en etanol.
13. Un proceso según la reivindicación 12, en el que el sustrato polimérico se selecciona de poliestireno, polimetacrilato de metilo, nylon, policarbonato, poliácido láctico o policaprolactona.
14. Un proceso según la reivindicación 13, en el que en el que el sustrato polimérico es nylon o policarbonato.
15. Un proceso según las reivindicaciones 12 a 14, en el que la vinil-lactama se selecciona vinil-caprolactama o vinil-pirrolidona.
16. Un proceso según la reivindicación 15, en el que la vinil-lactama es vinil-caprolactama.

17. Un proceso según las reivindicaciones 12 a 16, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato catiónico seleccionado de sales de [2-(Metacriloiloxi)alquill]trimetilamonio.
- 5
18. Un proceso según las reivindicaciones 12 a 16, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato zwitteriónico seleccionado de metacriloiloxietil fosforilcolina, hidróxido de [3-(metacriloilamino)propil]dimetil(3-sulfopropil) amonio metacrilato.
- 10
19. Un proceso según las reivindicaciones 12 a 16, en el que el metacrilato iónico es un metacrilato aniónico seleccionado de sales de metacrilatos de sulfoalquilo.
20. Un proceso según las reivindicaciones 12 a 19, en el que los agentes de entrecruzamiento son seleccionados de etilenglicol di(met)acrilato, trietilenglicol di(met)acrilato, tetraetilenglicol glicol di(met)acrilato, trimetilolpropano tri(met)acrilato, bisfenol A di(met)acrilato, etoxilato bisfenol A di(met)acrilato, pentaeritritol tri-, and tetra(met)acrilato, tetrametileno di(met)acrilato, metilenbisacrilamida, metacriloxietil vinil carbonato, trialilcianurato, metacriloxietil vinil urea, divinil benceno, dialil itaconato, alil metacrilato, dialil phthalato, polisiloxanilbisalquil (met)acrilato, polietilen glicol di(met)acrilato, vinil-metacrilato, divinil-adipato, derivados de divinil-pirrolidona o combinaciones de los anteriores.
- 15
- 20
21. Un proceso según la reivindicación 20, en el que los agentes de entrecruzamiento son etilenglicol di(met)acrilato y 3,3'-(propil)-di-1-vinil-2-pirrolidona.
- 25
22. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 21, en el que la radiación UV se mantiene entre 10 y 60 minutos.
23. Uso del material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para obtener materiales para cultivos celulares.
- 30
24. Uso del material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para el recubrimiento de partes 3D.
- 35
25. Uso del material según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para la fabricación de actuadores mecánicos termosensibles.

$T < V_{PTT}$



$T \sim V_{PTT}$



$T > V_{PTT}$



FIG. 1

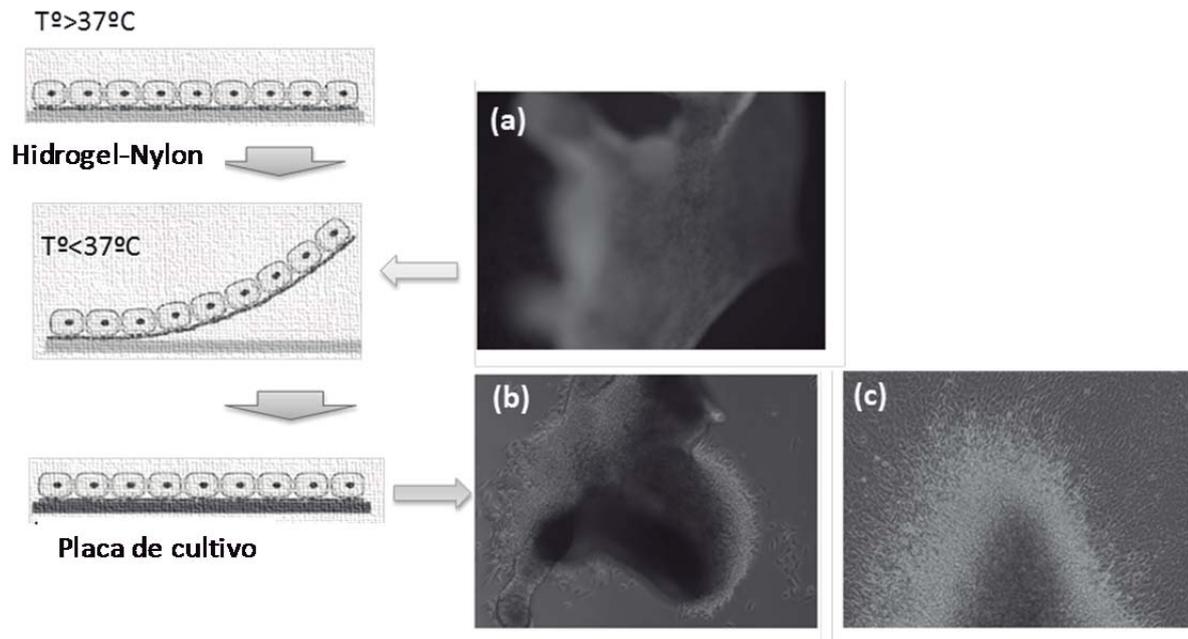


FIG. 2

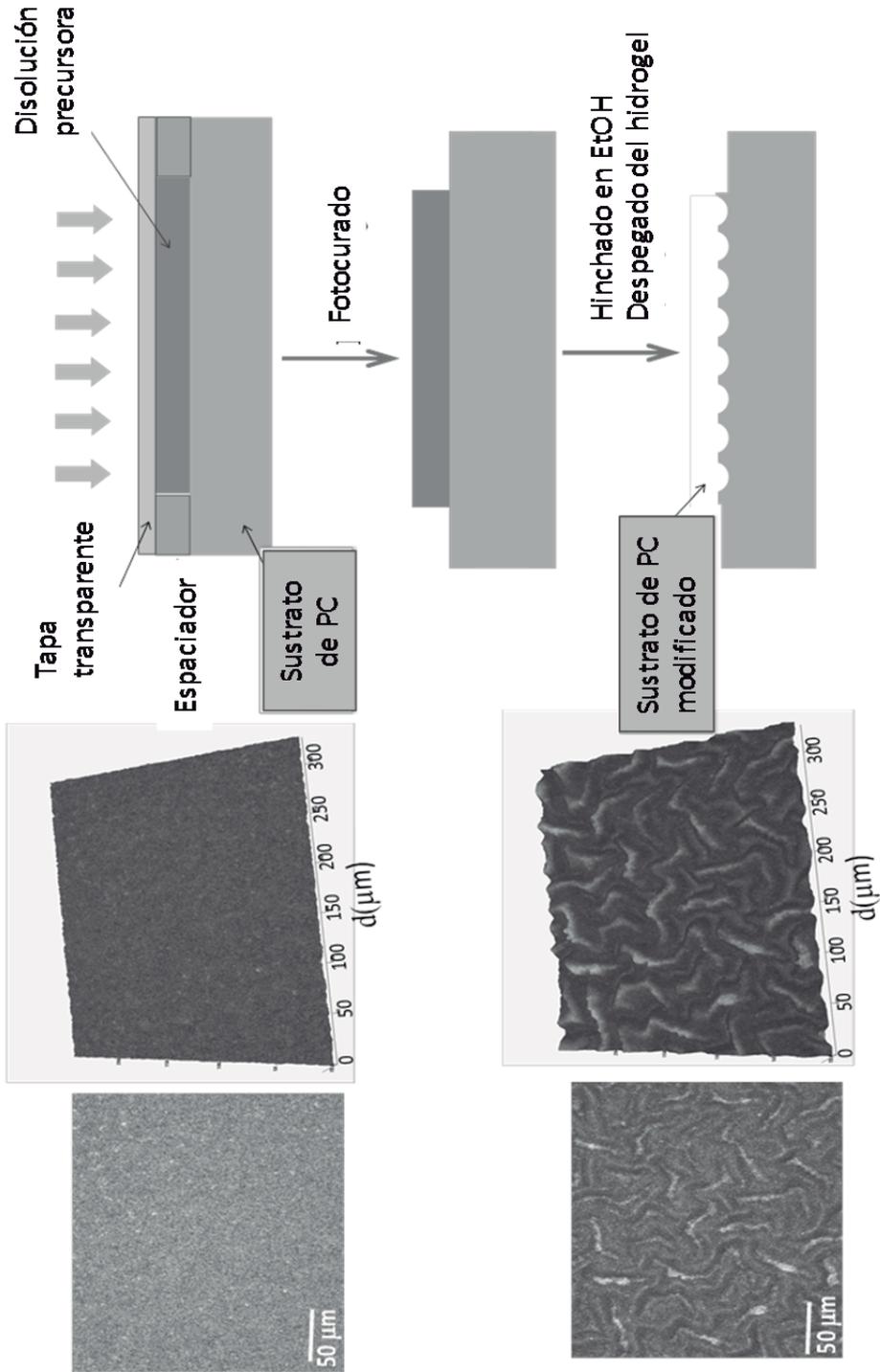


FIG. 3

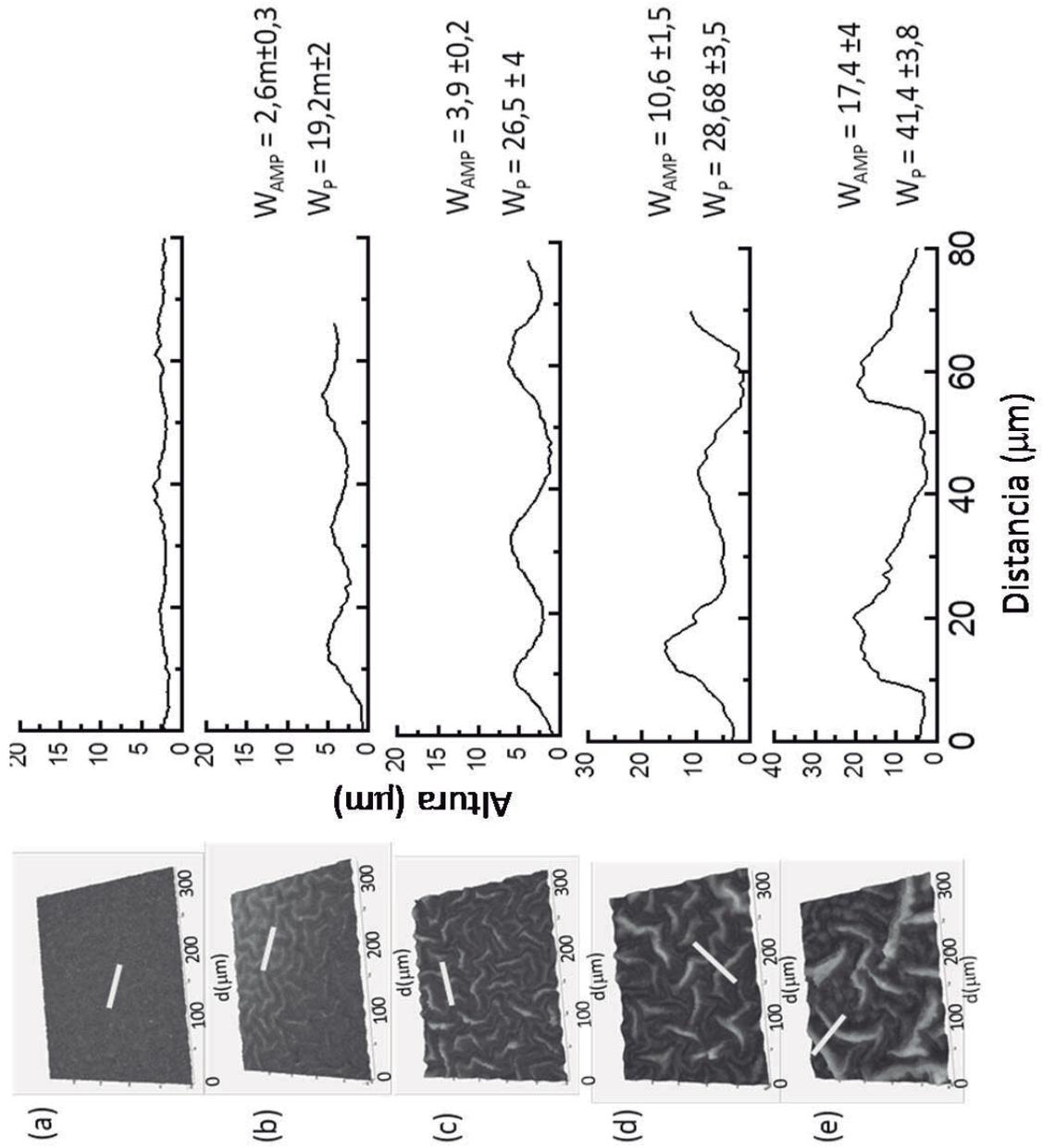


FIG. 4

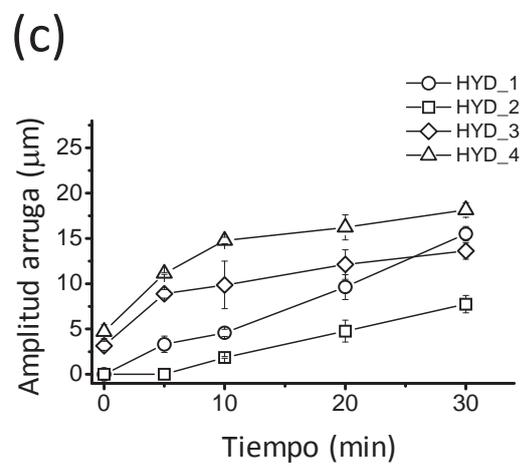
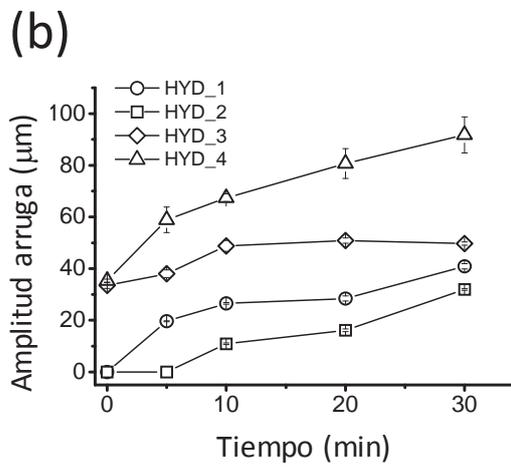
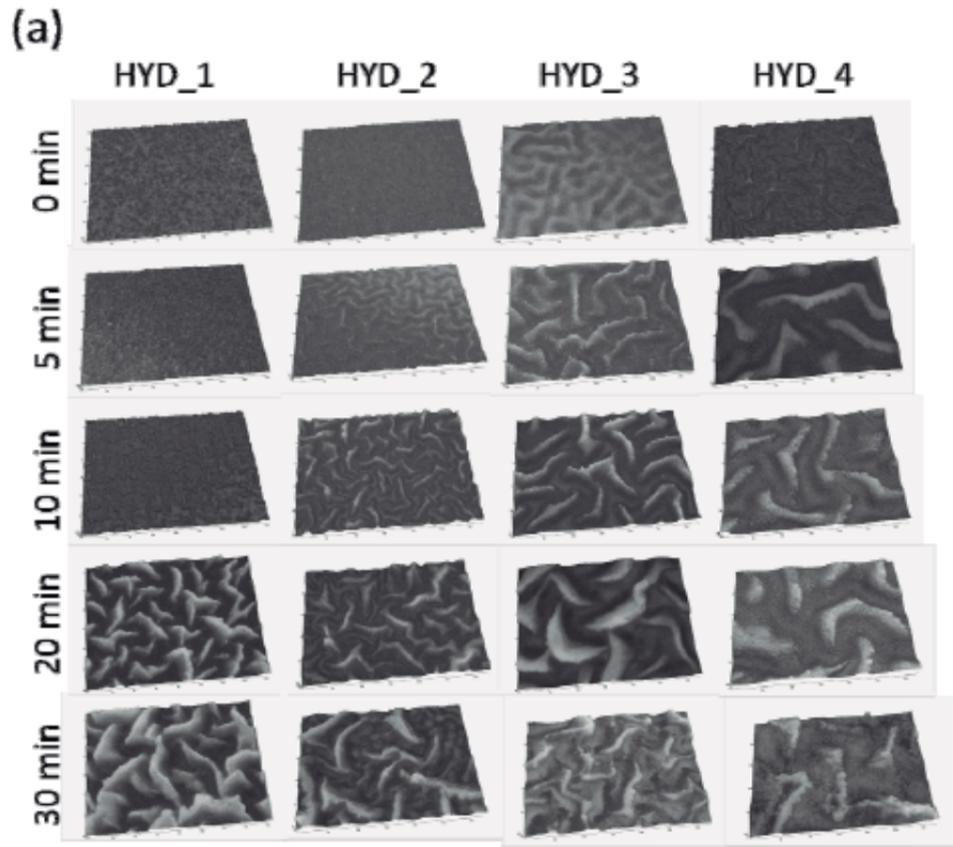


FIG. 5

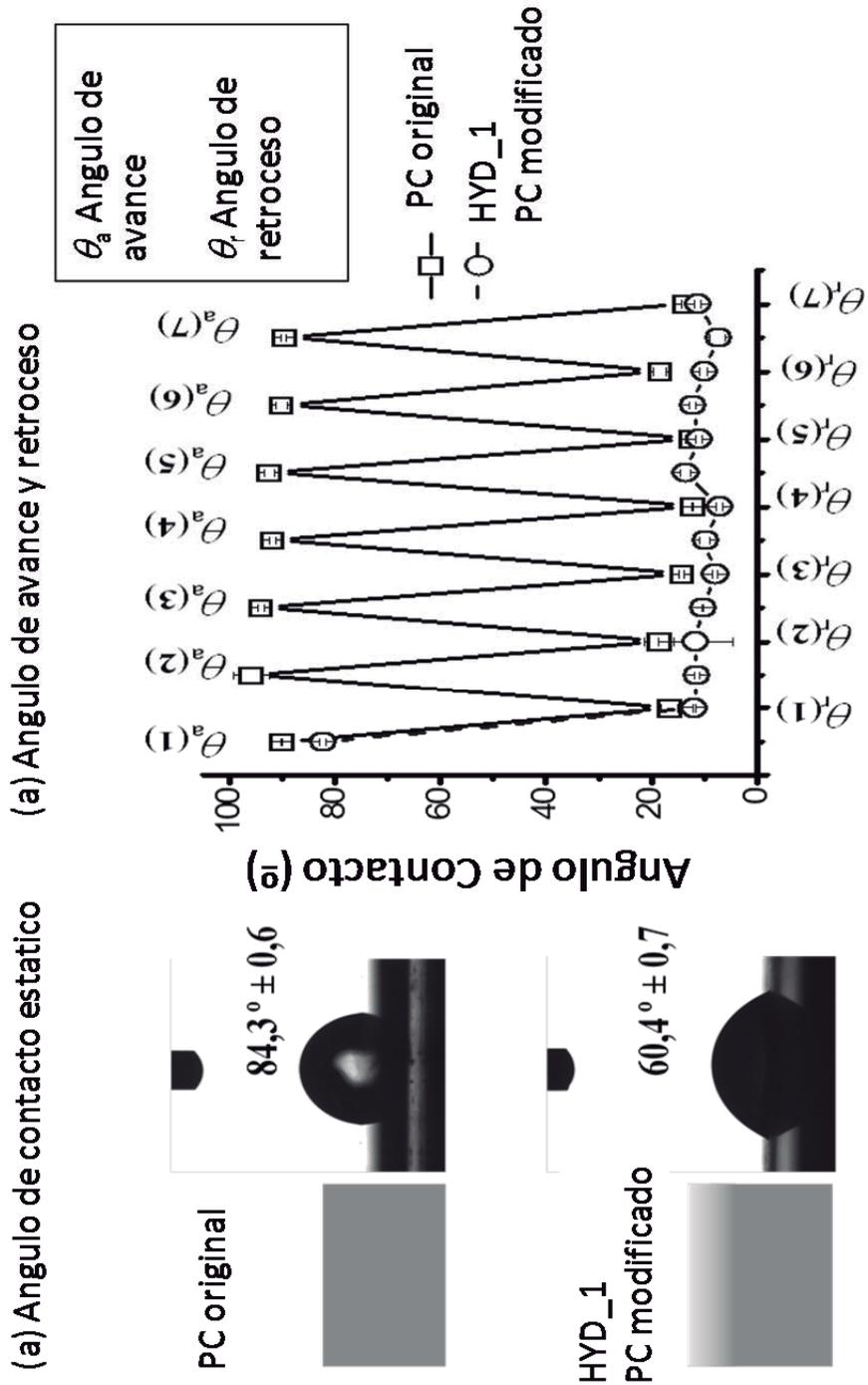


FIG. 6

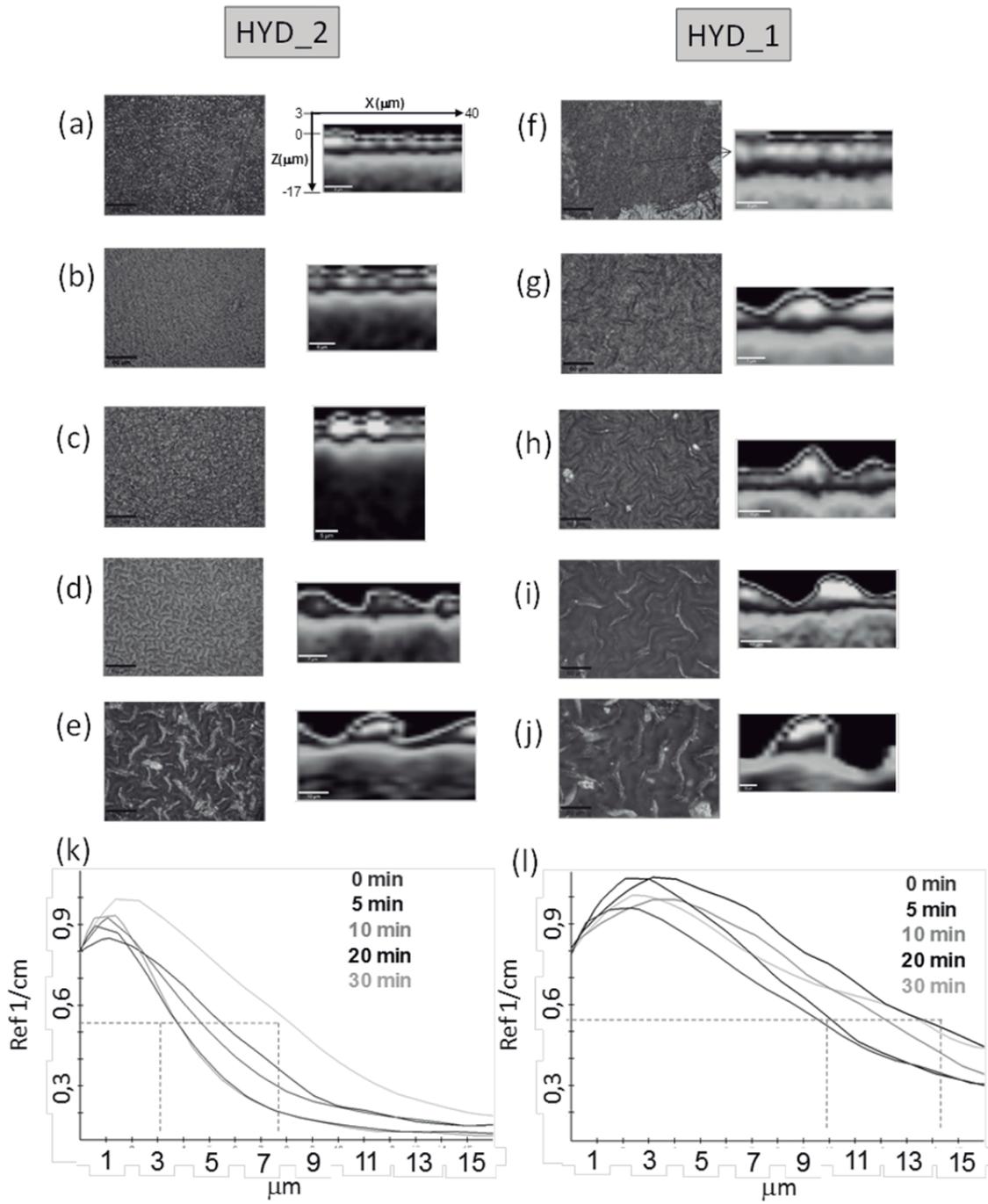


FIG. 7

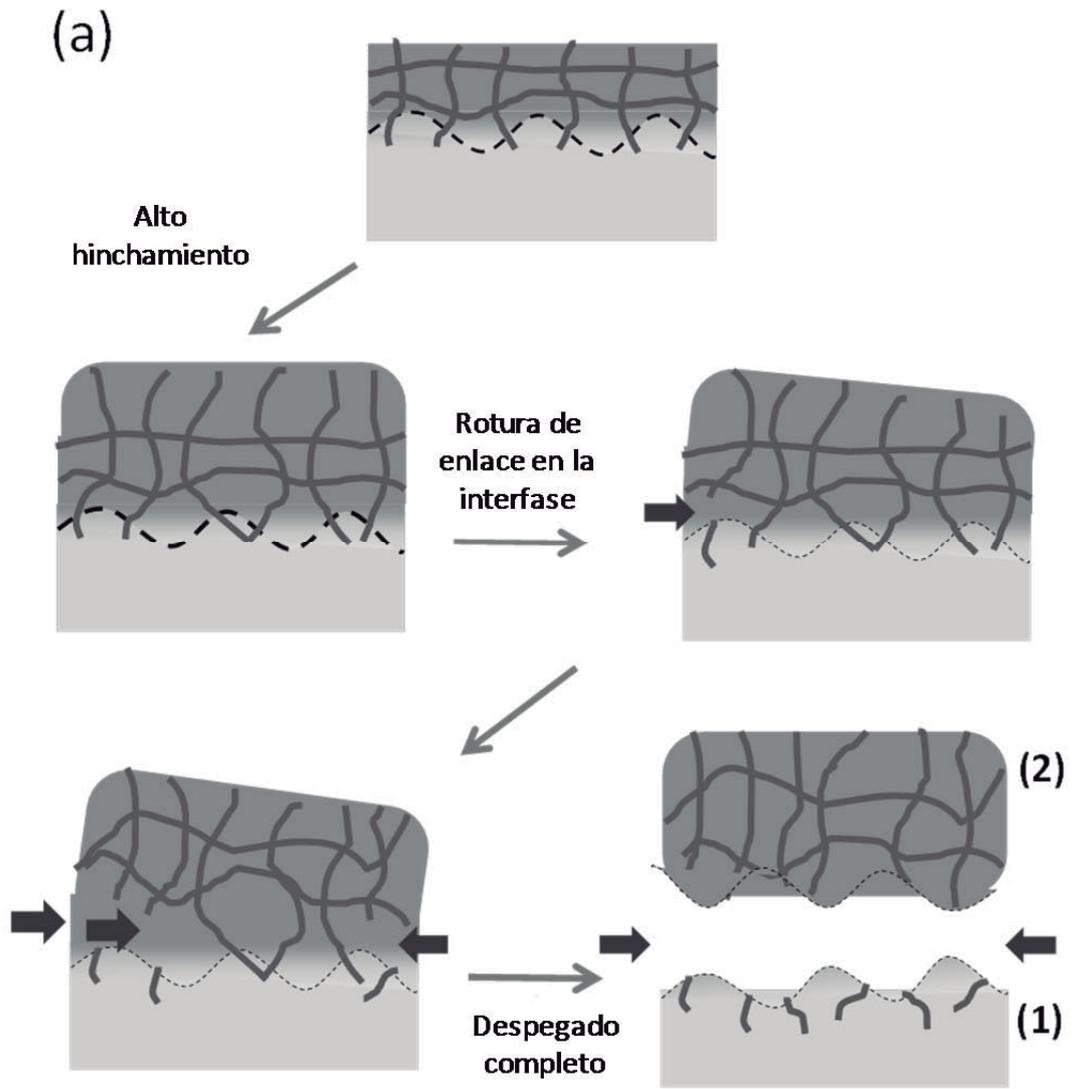


FIG. 8

(b)

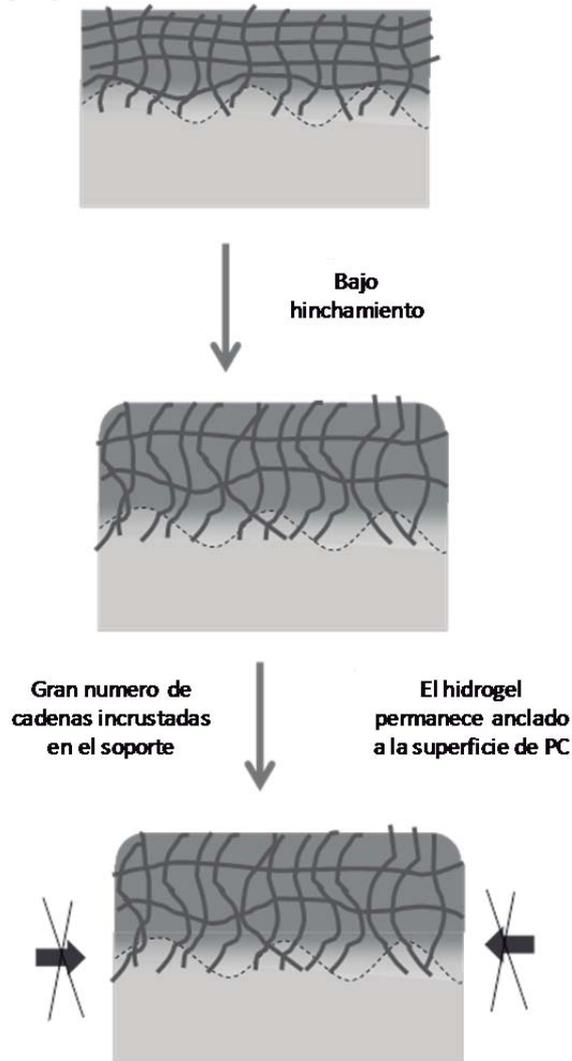


FIG. 8 cont.

**(c) (1) Superficie de PC**



**(2) Superficie de hidrogel seca**

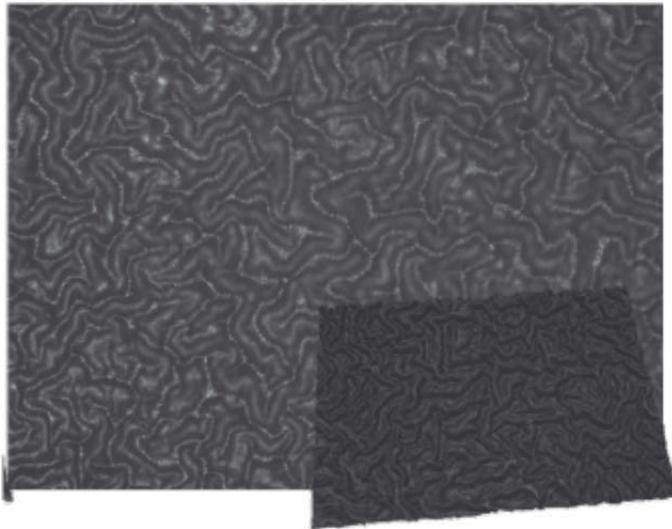


FIG. 8 cont.

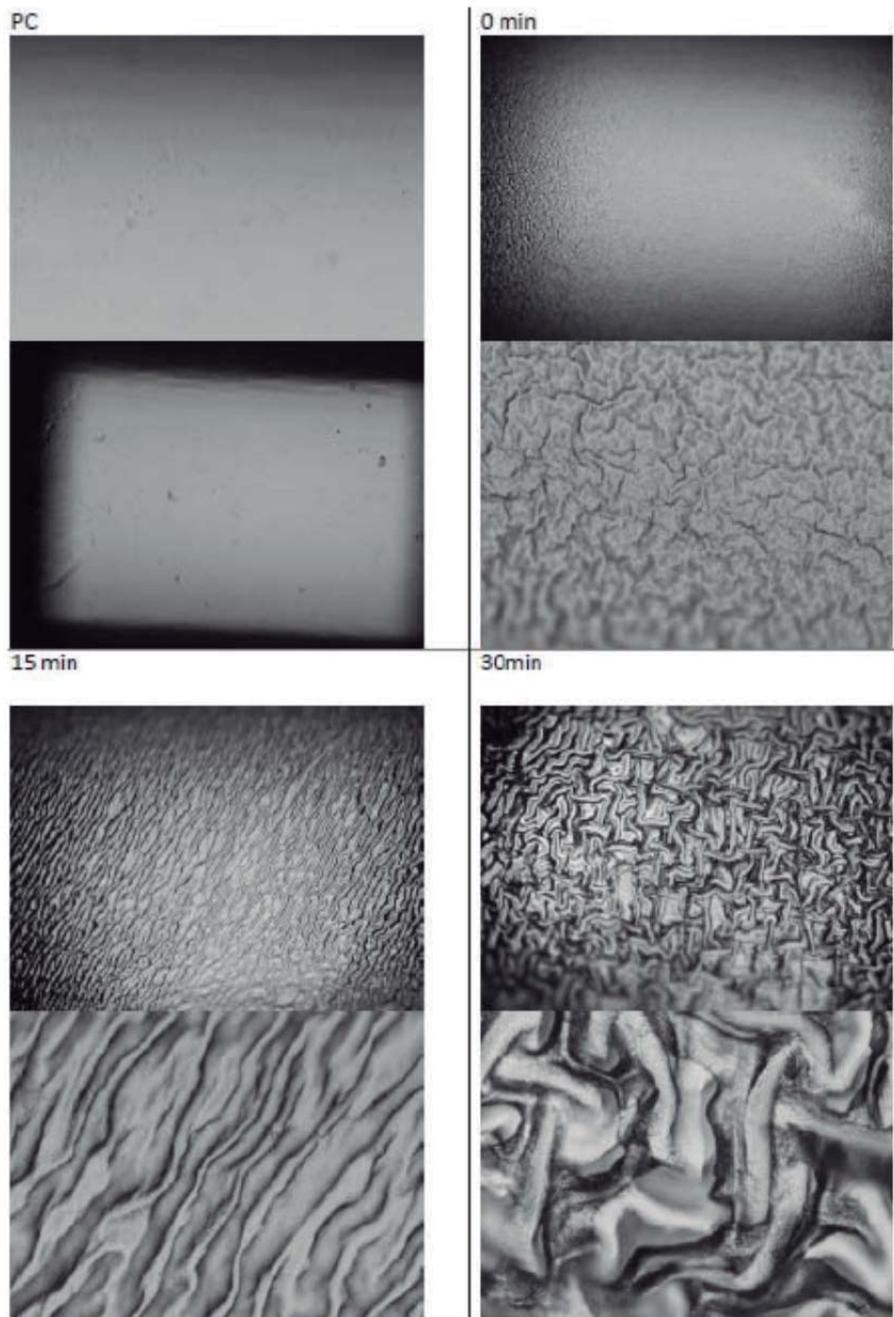


FIG. 9