

Resumen

La presente tesis titulada: “Componentes de aceites esenciales encapsulados en soportes mesoporosos de sílice: una evaluación de sus propiedades bioactivas y un enfoque toxicológico” se centra en estudios de protección y liberación controlada de agentes naturales bioactivos, derivados de componentes de aceites esenciales, encapsulados en materiales mesoporosos de sílice. Los componentes de aceites esenciales encapsulados mejoran sus propiedades funcionales y reducen problemas sensoriales para aplicaciones futuras, garantizando al mismo tiempo la baja toxicidad de los soportes desarrollados.

La primera sección de la tesis muestra el efecto de la encapsulación de los compuestos de aceites esenciales (EOCs, por sus siglas en inglés) en soportes mesoporosos de sílice, mejorando sus propiedades bioactivas y enmascarando el olor de los mismos. Este estudio evalúa la eficiencia de los EOCs libres y encapsulados para reducir la viabilidad en líneas celulares de cáncer de colon. Además, la selectividad de los EOCs se probó frente a células de colon normales (líneas no tumorales). Los resultados han demostrado que el efecto de los EOCs encapsulados mejora su actividad frente a células si se comparan con los compuestos sin encapsular. Adicionalmente, la encapsulación hace que el efecto de los EOCs sea sostenido en el tiempo. Por otro lado, la encapsulación muestra índices de especificidad prometedores, llegando a duplicar la toxicidad en el efecto en las células de cáncer de colon en comparación con células normales. Los resultados también muestran que los soportes basados en partículas de sílice mesoporosa (MSPs, por sus siglas en inglés) no sólo protegen y liberan eficientemente los compuestos, sino que, además, la funcionalización en superficie de las MSPs permite enmascarar el olor de los compuestos de mayor volatilidad, y con mayores inconvenientes a nivel sensorial (p.e. compuestos derivados del ajo). Por lo tanto, el sistema de encapsulación se plantea como una excelente alternativa para (i) promover la liberación controlada de EOCs, (ii) aprovechar y mejorar el efecto de sus propiedades bioactivas en células de cáncer de colon y (iii) controlar las desventajas técnicas relacionadas con la volatilidad y la presencia de olores desagradables. Finalmente, las muestras utilizadas para la encapsulación de compuestos derivados del ajo, fueron inmovilizadas en nanofibras de nylon, desarrollando así un sistema híbrido homogéneo, fácil de manejar, que libera

controladamente los compuestos encapsulados y genera potenciales aplicaciones en el área de alimentación, farmacología, medicina o ingeniería en general.

La segunda sección de esta tesis, evalúa la toxicidad de los soportes de sílice mesoporosa mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. La viabilidad celular permite identificar el impacto citotóxico sobre líneas celulares de colón. En particular, se evalúa los soportes mesoporosos de sílice, tipo MCM41, en función de (i) las dosis empleadas, (ii) la diferencia de tamaño (micro y nanopartícula) y (iii) el efecto que la funcionalización de la superficie con un polisacárido genera en la viabilidad. Además, empleando el modelo *in vivo* *Caenorhabditis elegans*, se ha estudiado la influencia de las características de la sílice mesoporosa, administrando por vía oral micro y nanopartículas tipo MCM41, en función de la esperanza de vida y del comportamiento de los nematodos durante su envejecimiento. Este estudio ha demostrado que el tamaño y la estructura de la superficie de las partículas, son decisivos para reducir el riesgo de toxicidad de los MSPs, lo cual abre la posibilidad de utilizar estos materiales en aplicaciones de administración oral.

En resumen, la presente tesis ha evaluado las características de las partículas de sílice mesoporosa tipo MCM41, como soportes de encapsulación para mejorar la actividad y las aplicaciones de los compuestos de aceites esenciales, al mismo tiempo que se evalúa su riesgo toxicológico. Los resultados obtenidos abren una opción adecuada y segura para aplicaciones de liberación controlada mediante ingesta oral.

Resum

La present tesi titulada: "Components d'olis essencials encapsulats en suports mesoporosos de sílica: una avaluació de les seves propietats bioactives i un enfocament toxicològic" se centra en estudis de protecció i alliberament controlat d'agents naturals bioactius, derivats de components d'olis essencials, encapsulats en materials mesoporosos de sílica. Els components d'olis essencials encapsulats milloren les seves propietats funcionals i redueixen els problemes sensorials per aplicacions futures, garantint, al mateix temps, la baixa toxicitat dels suports desenvolupats.

La primera secció de la tesi mostra l'efecte d'encapsulació dels components d'olis essencials (EOCs, per les seves sigles en anglès) en suports mesoporosos de sílica sobre la millora de les seues propietats bioactives i el camuflament de problemes sensorials. Este estudi avalua l'eficiència dels EOCs lliures i encapsulats per a reduir la viabilitat en línies cel·lulars de càncer còlon. A més, la selectivitat dels EOCs es va provar enfront de cèl·lules de còlon normals (no canceroses). Els resultats han demostrat que l'efecte dels EOCs pot ser millorat i sostingut en el temps quan els EOCs estan encapsulats. Encara més, l'encapsulació dels EOCs mostra índexs d'especificitat prometedors, arribant a duplicar la toxicitat en l'efecte en les cèl·lules de càncer de còlon amb comparació en les cèl·lules normals. Els resultats també mostren que els suports basats en partícules de sílice mesoporoses (MSPs, per les seves sigles en anglès) no sols protegeixen i alliberen EOCs eficientment, sinó que, a més, la funcionlització en superfície de les MSPs permet emascarar l'olor dels EOCs d'alta volatilitat, que té una aplicació limitada a causa dels seus problemes sensorials (p.e. compostos derivats de l'all). Per tant, el sistema de subministrament proposat resulta una excel·lent alternativa per a (i) promoure l'alliberament controlat de EOCs, (ii) avançant en les seues propietats bioactives en cel·lulas de càncer còlon i (iii) controlant els desavantatges tècnics relacionats amb la volatilitat i la disseminació desagradable de les olors. Finalmet, les mostres utilitzades per encapsulació de compostos d'all es van immobilitzar en nanofibres per a proporcionar un sistema híbrid homogeni i fàcil de manejar amb administració controlada i característiques bioactives, per aplicacions potencials en l'àrea d'alimentació, farmacologia, medicina o enginyeria.

La segona secció avalua la toxicitat del suports de sílice mesoporosa per mitjà d'avaluacions *in vitro* e *in vivo*. La viabilitat cel·lular permet identificar l'impacte citotòxic basat en el tipus de suport base de sílice (MCM41) i les seues característiques (rang de dosi, grandària i canvis en l'estructura superficial). A més, utilitzant el model *in vivo* *Caenorhabditis elegans*, s'ha estudiat la influència de les característiques de la sílice mesoporosa, administrant micro i nanopartícules de tipus MCM41 de base sílice, no sols en l'esperança de vida, sinó també en el comportament

dels nematodes durant el seu envelliment. Aquest estudi ha demostrat que la grandària i l'estructura superficial, són decisius per a reduir el risc de toxicitat dels suports de sílice mesoporosa i obrir la possibilitat d'utilitzar estos materials en aplicacions d'ingesta oral.

En resum, la present tesi ha avaluat les característiques de les partícules de sílice mesoporosa, com a suports d'encapsulació per a millorar l'activitat i les aplicacions dels EOCs, alhora que es va avaluar el seu principal risc tòxicològic. En conseqüència, els resultats obrin una opció adequada i de seguretat per als dispositius d'administració oral.

Abstract

The present PhD thesis, entitled: "Essential oil components encapsulated in mesoporous silica supports: a bioactive properties evaluation and a toxicological approach" focuses on the study of protection and controlled release of natural bioactive agents, derived from essential oil components, encapsulated in mesoporous silica particles. Essential oil components encapsulated are taken advantage of their functional properties and reduce sensorial troubles for future applications, ensuring the low-risk of the developed supports.

The first section of the thesis shows the effect of encapsulation of essential oil components (EOCs) in mesoporous silica supports on the enhancing of their bioactive properties and masking sensorial troubles. This study evaluates the efficiency of free and encapsulated EOCs to reduce the viability of cancer colon cell lines. In addition, selectivity of EOCs was tested against normal (non-cancer) colon cells. Results have shown that EOCs effect can be enhanced and sustained in time when EOCs are encapsulated. Moreover, EOCs' encapsulation shows promising specificity indices, reaching to double toxicity on effect on colon cancer cells above normal cells. Results also show that encapsulation supports based on mesoporous silica particles (MSPs) not only protect and efficiently release EOCs, but also, the surface functionalization of MSPs allows the odour masking of high volatility EOCs, which has limited application due to their sensorial troubles. Therefore, the proposed delivery system results an excellent alternative to promote controlled EOCs release, taking advantage of their bioactive properties and controlling the technical disadvantages related to volatility and unpleasant odours spread. Finally, samples used for garlic components encapsulation were immobilised in nanofibers to provide homogeneous and easy-to-handle hybrid system, with controlled delivery and bioactive features, for potential applications on food, pharmacology, medical or engineering fields.

The second section evaluates the toxicity of the mesoporous silica supports through *in vitro* and *in vivo* assessments. Cell viability allows to identify the cytotoxic impact based on the kind of silica-based support (MCM41 type), and their features (doses range, size and surface structure changes). Furthermore, using the *in vivo* model *Caenorhabditis elegans*, the influence of the mesoporous silica MCM41 type features was studied, on life expectancy and also on the life behaviour of the nematodes

through their aging. This study has demonstrated that size and surface structure, are decisive for reducing the toxicity risk of mesoporous silica supports and open the possibility of use these materials on oral intake applications.

In summary, the present thesis has evaluated the features of mesoporous silica particles MCM-41, as encapsulated supports for improving the EOCs activity and EOCs applications, while their main toxicology risk was assessed. These results open up a suitable and safety option for orally delivery devices.