RESUMEN DE TESIS DOCTORAL DE SANDRA SALIDO FORTUNA

"Enantiomeric analysis of drugs and/or amino acids by nano-separative techniques. Improving the selectivity in chiral capillary electrophoresis using ionic liquids and deep eutectic solvents in combination with cyclodextrins"

La separación enantioselectiva representa uno de los desafíos más relevantes en la Química Analítica moderna, debido a la necesidad de diferenciar y cuantificar los enantiómeros de compuestos quirales de forma individual. La importancia de la separación de enantiómeros en sectores como el farmacéutico, biomédico, alimentario y medioambiental radica en que la actividad biológica, farmacológica o toxicológica de cada uno de los enantiómeros puede diferir de forma significativa en entornos quirales, como es el caso de organismos vivos.

En este contexto, la presente Tesis Doctoral se centró en el **desarrollo de nuevas metodologías de separación quiral utilizando técnicas nano-separativas**, tales como la electroforesis capilar (**CE**) y la nano-cromatografía líquida (**nano-LC**). Todo ello con el objetivo de resolver problemas analíticos reales mediante procedimientos limpios, sostenibles, eficientes y de bajo coste, en línea con los principios de la química verde.

La CE constituye una técnica especialmente adecuada para la separación de enantiómeros por su alta eficacia, bajo consumo de muestra y reactivos, y una gran versatilidad. En esta tesis, se desarrollaron y optimizaron, por primera vez empleando CE, múltiples métodos enantioselectivos para una amplia variedad de compuestos de interés, incluyendo fármacos como licarbazepina, indacaterol, o ketorolaco, entre otros, aplicando diseños experimentales (basados en superficies de respuesta Box-Behnken) para maximizar la resolución enantiomérica y minimizar el tiempo de análisis. Los métodos analíticos desarrollados fueron validados y aplicados a muestras reales como formulaciones farmacéuticas, suplementos dietéticos y muestras biológicas (orina), evidenciando su aplicabilidad práctica.

Un aspecto novedoso de la tesis fue la investigación del mecanismo de reconocimiento quiral mediante la combinación de técnicas experimentales, como RMN y estudios de modelización molecular. Estos estudios permitieron una comprensión más profunda de las interacciones específicas entre los enantiómeros y los selectores quirales empleados (en este caso ciclodextrinas (CDs)), aportando datos clave para el entendimiento de sistemas de selectores quirales.

Otro de los retos científicos que se abordó en esta Tesis Doctoral fue la búsqueda de nuevos selectores quirales o aditivos que permitieran desarrollar sistemas enantioselectivos novedosos por CE. Se estudiaron líquidos iónicos quirales (CILs) basados en aminoácidos (AAILs) y disolventes eutécticos profundos (DESs), ambos considerados como una buena opción, respetuosa con el medio ambiente, para investigar su empleo como selectores quirales o aditivos. Para la síntesis de AAILs se emplearon aminoácidos aniónicos como L-lisina, L-ácido glutámico, L-citrulina, L-arginina y L-homoarginina, y tetrametilamonio o tetrabutilamonio como cationes; también se

sintetizaron AAILs derivados de aminoácidos no proteicos como L-carnitina (parte catiónica) y distintos aniones (bis(trifluorometano)sulfonimida, L-lactato o cloruro). Estos compuestos permitieron mejorar la selectividad, modulando el flujo electroosmótico según el pH empleado y favoreciendo interacciones selector quiral-analito. Estos nuevos aditivos/selectores quirales, al emplearse en combinación con CDs, mejoraron significativamente la selectividad, resolución y eficacia del sistema de separación estudiado, además, abrieron nuevas posibilidades para la química verde aplicada a las separaciones enantioméricas. Gracias a estos estudios se validaron y aplicaron distintas metodologías por CE a la determinación enantiomérica de lacosamida, sulconazol y econazol en distintas formulaciones farmacéuticas.

Por otro lado, se abordó el desarrollo de métodos de separación empleando nano-LC. Se llevo a cabo una evaluación del potencial de una fase estacionaria quiral de amilosa tris(3-cloro-5-metilfenilcarbamato) para separaciones quirales de fármacos considerados contaminantes emergentes, variando la composición de la fase móvil. La optimización de la fase móvil permitió realizar separaciones rápidas (menores a 20 min) con alta resolución y buena selectividad. Se logró una separación simultánea de cuatro pares de enantiómeros (alprenolol, mianserina, tolperisona y temazepam) considerados contaminantes emergentes. Finalmente, se realizó una estrategia de microextracción líquido-líquido basada el uso de acetato de isoamilo, un compuesto natural, permitiendo la preconcentración de los analitos en muestras de agua (río Tíber).

Esta tesis presenta una contribución integral e innovadora al campo de las separaciones quirales, abordando tanto el desarrollo de nuevos sistemas de separación como su aplicación directa a muestras reales, en contextos farmacéuticos, biomédicos, medioambientales y alimentario. Las metodologías propuestas destacan por su sostenibilidad, eficiencia, versatilidad y aplicabilidad práctica, con una fuerte base experimental. En conjunto, los resultados obtenidos refuerzan el valor de las técnicas nano-separativas como herramientas clave en la Química Analítica moderna, y abren nuevas vías para el diseño de metodologías limpias y selectivas en el ámbito de la separación y cuantificación de enantiómeros en una amplia variedad de matrices.

Sandra Salido Fortuna

29/04/2025