

Accepted Manuscript / Manuscrito Aceptado

Title Paper/Título del artículo:

Purificación de fomacta-1(15),4,8-trieno: precursor de formactinas, antagonistas del activador de plaquetas**Purification of phomacta-1(15),4,8-triene: precursor of phomactines, platelet activating factor antagonists**

Authors/Autores: Del Río Chávez, A.A., Rubio Ochoa, E., Guevara-Martínez, S.J., Villanueva-Mejía, F., Hernández-Hernández, J.D., García-Saucedo, P.A.

ID: e1868

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1868>Received/Fecha de recepción: January 10th 2025Accepted /Fecha de aceptación: September 03th 2025Available online/Fecha de publicación: September 17th 2025

Please cite this article as/Como citar este artículo: Del Río Chávez, A.A., Rubio Ochoa, E., Guevara-Martínez, S.J., Villanueva-Mejía, F., Hernández-Hernández, J.D., García-Saucedo, P.A. (2025). Purification of phomacta-1(15),4,8-triene: precursor of phomactines, platelet activating factor antagonists. *Revista Bio Ciencias*, 12, e1868. <https://doi.org/10.15741/revbio.12.e1868>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de Revista Bio Ciencias para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Artículo original

Purificación de fomacta-1(15),4,8-trieno: precursor de formactinas, antagonistas del activador de plaquetas

Purification of phomacta-1(15),4,8-triene: precursor of phomactines, platelet activating factor antagonists

Purificación de fomacta-1(15),4,8-trieno: precursor de antagonistas del PAF/

Purification of phomacta-1(15),4,8-triene: precursor of PAF antagonists

Del Río Chávez, A.A.^{1*} (<https://orcid.org/0000-0001-7840-2091>)^{ib}, Rubio Ochoa, E.¹ (<https://orcid.org/0000-0002-3311-3525>)^{ib}, Guevara-Martínez, S.J.² (<https://orcid.org/0000-0001-5629-2864>)^{ib}, Villanueva-Mejía, F.³ (<https://orcid.org/0000-0003-0110-8649>)^{ib}, Hernández-Hernández, J.D.^{4†}, García-Saucedo, P.A.¹ (<https://orcid.org/0000-0002-3418-5010>)^{ib}

¹Laboratorio de Bromatología, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdenas, 2290, Uruapan, C.P. 60170, Uruapan, Michoacán, México.

²Department of Pharmacology, School of Extract Sciences and Engineering, University of Guadalajara, Boulevard Gral. Marcelino García Barragán 1421, Olímpica, C.P. 44840, Jalisco, México.

³ TecNM / Instituto Tecnológico de Pabellón de Arteaga, 20670, Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México.

⁴Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Múgica, s/n, C.P. 58030 Michoacán, México.

***Corresponding Author:**

Ángel Abad Del Río Chávez. Laboratorio de Bromatología, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Paseo Lázaro Cárdenas, 2290, C.P. 60170, Uruapan, Michoacán, México. Teléfono: +52 4434117688 E-mail: abad.del.rio@umich.mx

RESUMEN

El fomacta-1(15),4,8-trieno es un diterpeno precursor de las fomactinas, compuestos bioactivos con actividad antagonista del factor activador de plaquetas (PAF), relevantes en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y cardiovasculares. Debido a la complejidad estructural y propiedades fisicoquímicas del fomactatrieno, su purificación representa un desafío técnico. En este estudio se evaluó la eficiencia del gel de sílice impregnado con nitrato de plata (AgNO₃, 10 % p/p) para mejorar la separación cromatográfica del compuesto, obtenido mediante reacción catalizada con trifluoruro de boro (BF₃) en diclorometano. El gel modificado mostró una mejora del 35% en la resolución cromatográfica y una reducción en el tiempo de elución comparado con el gel convencional, usando hexano como eluyente. Además, las fracciones purificadas presentaron espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) más definidos, facilitando su caracterización estructural. Estas mejoras

se atribuyen a la interacción reversible entre los iones plata y los enlaces π de los compuestos insaturados. Aunque la técnica ha sido reportada anteriormente, su aplicación específica en diterpenoides como el fomacta-1(15),4,8-trieno es novedosa y aporta una estrategia eficaz y reproducible para la purificación de metabolitos naturales con potencial farmacológico.

PALABRAS CLAVE:

Fomacta-1(15),4,8-trieno, compuestos bioactivos, Purificación, Nitrato de plata.

ABSTRACT

Phomacta-1(15),4,8-triene is a diterpene precursor of phomactins, bioactive compounds with antagonist activity against platelet-activating factor (PAF), which are relevant in the treatment of inflammatory and cardiovascular diseases. Due to the structural complexity and physicochemical properties of phomactatriene, its purification poses a significant technical challenge. In this study, the efficiency of silver nitrate-impregnated silica gel (AgNO_3 , 10 % w/w) was evaluated for enhancing the chromatographic separation of a compound obtained through a reaction catalyzed by boron trifluoride (BF_3) in dichloromethane. The modified gel showed a 35% improvement in chromatographic resolution and a reduced elution time compared to conventional silica gel, using hexane as the mobile phase. Furthermore, the purified fractions exhibited better-defined nuclear magnetic resonance (NMR) spectra, facilitating structural characterization. These improvements are attributed to the reversible interaction between silver ions and the π -bonds of unsaturated compounds. Although the technique has been previously reported, its specific application to diterpenoids such as phomacta-1(15),4,8-triene is novel and offers an effective and reproducible strategy for the purification of natural metabolites with pharmacological potential.

KEY WORDS

Phomacta-1(15),4,8-triene; bioactive compounds; Purification; Silver Nitrate.

Introducción

La producción de diterpenos, especialmente aquellos relacionados con la serie fomacta-1(15),4,8-trieno, como los verticilenos (Palframan & Pattenden, 2018) aislados de *Bursera kerberi* y *Bursera suntui* (Hernández-Hernández *et al.*, 2005), ha despertado un creciente interés en la comunidad científica debido a su papel fundamental como precursores en la biosíntesis de moléculas bioactivas de gran relevancia farmacológica, como las fomactinas, conocidas principalmente por su actividad antagonista del factor activador de plaquetas (PAF). Este mecanismo biológico les otorga un potencial terapéutico importante en el tratamiento de trastornos inflamatorios y enfermedades cardiovasculares, condiciones en las que la inhibición de la agregación plaquetaria juega un papel crucial (Goldring & Pattenden, 2006; Kuroda *et al.*, 2018; Del Río-Chávez *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2023). La relevancia de estos compuestos se ha incrementado en los últimos años, dado el aumento en la prevalencia de enfermedades inflamatorias crónicas y cardiovasculares a nivel global (Roth, Mensah, & Fuster, 2020).

Sin embargo, la obtención de fomacta-1(15),4,8-trieno y su posterior purificación representan un desafío técnico considerable debido a su complejidad estructural y propiedades fisicoquímicas, como su alta volatilidad, que dificultan tanto su aislamiento como su caracterización. Estudios recientes han indicado que este compuesto puede ser producido a través de la transformación de verticiloles epiméricos utilizando reactivos específicos, como el complejo dietil éter:BF₃, una estrategia que subraya la importancia del catión verticillen-12-il como intermediario clave, no solo en la síntesis de los fomactanos, sino también en la ruta biosintética de los taxanos (Del Río-Chávez *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2023; Tokiwano *et al.*, 2004; Chow *et al.*, 2007).

Además, el empleo de técnicas avanzadas de purificación, como la cromatografía en gel de sílice impregnado con nitrato de plata, ha demostrado ser eficaz para mejorar tanto la pureza como el rendimiento de los extractos, lo cual es esencial para obtener compuestos de alta calidad necesarios en aplicaciones farmacológicas (Zhang *et al.*, 2018; Li *et al.*, 1995; Williams & Mander, 2001; Niu *et al.*, 2024; Hammerschick & Vetter, 2023; Tsujikawa *et al.*, 2022; Tryon-Tasson *et al.*, 2023). Este tipo de purificación se fundamenta en la capacidad del ion plata (Ag⁺) para formar complejos reversibles con enlaces π , lo que permite una mejor resolución cromatográfica de compuestos insaturados, como es el caso del fomactatrieno. La afinidad selectiva del Ag⁺ con sistemas olefínicos ha sido aprovechada previamente para purificar esteroides, triterpenos y otros compuestos de origen natural con estructuras similares (Li *et al.*, 1995; Williams & Mander, 2001). Aunque esta estrategia ha sido reportada desde la década de los noventa, su aplicación específica en la purificación de diterpenoides como el fomacta-1(15),4,8-trieno no ha sido previamente documentada, representando una contribución novedosa en este contexto químico específico.

En paralelo, investigaciones recientes en biología sintética han destacado el potencial de los microorganismos modificados genéticamente, como *Aspergillus nidulans* y otros organismos biotecnológicos, para la producción sostenible de diterpenoides complejos, incluidos los precursores de fomacta-1(15),4,8-trieno. Estos enfoques incluyen la optimización de rutas metabólicas a través de herramientas de diseño genético y el uso de catalizadores enzimáticos, lo que permite una mayor eficiencia y control en la producción de estos compuestos bioactivos (Drugkar *et al.*, 2021). La biología sintética ha abierto nuevas perspectivas (Yin & Dickschat, 2022; Drugkar *et al.*, 2021) para la producción escalable de diterpenos, lo que podría facilitar la transición hacia métodos más sostenibles y económicos para la obtención de estas moléculas.

A pesar de los avances en la producción y purificación de diterpenos, persisten limitaciones significativas en términos de escalabilidad y reproducibilidad de los métodos de purificación necesarios para obtener productos de alta pureza, que son esenciales para las pruebas de bioactividad detalladas. Estas dificultades resaltan la necesidad de desarrollar protocolos más eficientes y sostenibles que no solo mejoren los rendimientos, sino que también minimicen el impacto ambiental asociado con los procesos químicos tradicionales. El desarrollo de tecnologías más limpias y sostenibles es fundamental para garantizar que la producción a gran escala de diterpenoides bioactivos sea viable tanto económica como ecológicamente.

El objetivo principal de este estudio es optimizar los procesos de purificación de fomacta-1(15),4,8-trieno, mejorando su pureza mediante una estrategia poco explorada para este tipo de compuesto: el uso de gel de sílice impregnado con nitrato de plata. Este trabajo se enmarca en los esfuerzos por integrar enfoques sostenibles y económicamente viables para la producción a gran escala de diterpenoides bioactivos, lo cual es clave para su eventual aplicación terapéutica en el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias y cardiovasculares.

Material y Métodos

Se utilizó fomacta-1(15),4,8-trieno como compuesto objetivo, obtenido a partir de verticilol o 12-epi-verticilol mediante una reacción catalizada con trifluoruro de boro (BF_3) en diclorometano como disolvente. Esta reacción genera un carbocatión verticillen-12-il que experimenta una reordenación tipo Wagner–Meerwein, dando lugar a una mezcla de productos insaturados (Del Río-Chávez *et al.*, 2019; Chow *et al.*, 2007).

Para la purificación se emplearon dos métodos comparativos: uno utilizando gel de sílice convencional (Silica Gel 60, Merck, 230–400 malla), y otro utilizando el mismo tipo de gel de sílice, pero previamente impregnado con nitrato de plata al 10 % p/p (AgNO_3). La impregnación fue realizada de forma controlada, según un procedimiento detallado más adelante. La comparación entre ambas técnicas permitió evaluar la eficacia del sistema modificado en la separación selectiva de compuestos insaturados. La elección del 10 % de AgNO_3 se basó en reportes previos que han demostrado su efectividad (Morita *et al.*, 1983; Li *et al.*, 1995; Williams & Mander, 2001) para mejorar la resolución en la separación de compuestos estructuralmente complejos como esteroides, terpenos y triterpenos (Li *et al.*, 1995; Williams & Mander, 2001).

Los disolventes utilizados fueron de grado analítico: diclorometano para la reacción química, hexano como fase móvil para la cromatografía en columna, metanol para limpieza del material de vidrio, y acetonitrilo anhidro como disolvente para la impregnación del gel de sílice. Los reactivos y estándares químicos fueron adquiridos de proveedores certificados (Sigma-Aldrich), con purezas superiores al 98 %.

Preparación del material cromatográfico

La impregnación del gel de sílice se realizó disolviendo 10 g de nitrato de plata (AgNO_3) en 100 mL de acetonitrilo anhidro, seguido de la adición de 100 g de gel de sílice con agitación constante durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, el disolvente se eliminó mediante rotavaporación a 60 °C hasta obtener un sólido libre de humedad visible. El material se secó en estufa a 60 °C durante 12 horas y fue almacenado en frascos ámbar para prevenir la fotodegradación del ion Ag^+ (Williams & Mander, 2001).

Procedimiento experimental

El residuo crudo obtenido tras la reacción del verticilol con BF_3 en diclorometano fue concentrado al vacío y dividido en dos porciones. Cada porción se aplicó directamente sobre una columna cromatográfica: una empacada con gel de sílice convencional y la otra con gel de sílice impregnado con nitrato de plata. La elución se llevó a cabo utilizando únicamente hexano como fase móvil. Las fracciones se recolectaron de acuerdo con sus tiempos de elución y se monitorearon mediante cromatografía en capa fina (TLC) bajo luz ultravioleta a 254 y 365 nm.

Caracterización de los compuestos

Las fracciones recolectadas se concentraron bajo presión reducida y se analizaron mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR) en un espectrómetro Bruker Avance III de 300 MHz en CDCl_3 y visualizado en MestReNova. Se obtuvieron espectros de ^1H y ^{13}C - NMR para cada fracción, los cuales fueron comparados con datos de referencia reportados previamente para el fomacta-1(15),4,8-trieno. La pureza del compuesto fue evaluada con base en la claridad de las señales, así como la ausencia de interferencias en las regiones alifáticas e insaturadas del espectro.

Resultados y Discusión

La purificación del fomacta-1(15),4,8-trieno mediante gel de sílice impregnado con nitrato de plata (AgNO_3) resultó ser una estrategia eficiente para mejorar la calidad del compuesto obtenido, especialmente en términos de resolución cromatográfica y pureza estructural. En comparación con el método convencional, esta técnica permitió una separación más precisa de las fracciones, reduciendo significativamente las interferencias cromatográficas que comúnmente dificultan la caracterización de productos insaturados.

En los análisis comparativos, el uso de gel de sílice impregnado con AgNO_3 incrementó aproximadamente en un 35 % la resolución cromatográfica, evidenciando su capacidad para discriminar entre compuestos con estructuras similares. Este incremento en la resolución se atribuye a la formación de complejos reversibles entre los iones Ag^+ y los enlaces π presentes en los compuestos insaturados, lo que genera una retención diferencial más selectiva en la columna (Tong-Shuang *et al.*, 1995; Williams & Mander, 2001). Este fenómeno ha sido previamente documentado en la separación de metabolitos estructuralmente complejos, como esteroides, terpenos y triterpenos (Li *et al.*, 1995), y ha sido recientemente optimizado mediante fases funcionalizadas como Ag-DMT (silver-I-dimercaptotriazine), que han mostrado una mayor selectividad y capacidad de retención para compuestos insaturados (Liao *et al.*, 2021).

Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR), obtenidos mediante espectroscopía de ^1H y ^{13}C a 300 MHz, mostraron una reducción notable de señales interferentes en las fracciones purificadas con AgNO_3 , lo que permitió una interpretación estructural más clara del fomacta-1(15),4,8-trieno. En particular, la disminución de señales alifáticas no deseadas facilitó la identificación de los protones del sistema trienilo, clave para confirmar la estructura del compuesto. En el espectro del extracto crudo (Figura 1), se observó una gran densidad de señales superpuestas, tanto en la región alifática (δH 0.8–2.5 ppm) como en la olefínica (δH 5.0–6.5 ppm), lo que dificultó la asignación precisa de los protones vinylicos. El espectro obtenido tras la purificación con gel de sílice convencional (Figura 2) mostró una ligera mejora en la limpieza de las señales, pero aún persistían interferencias que obstaculizaban la identificación completa.

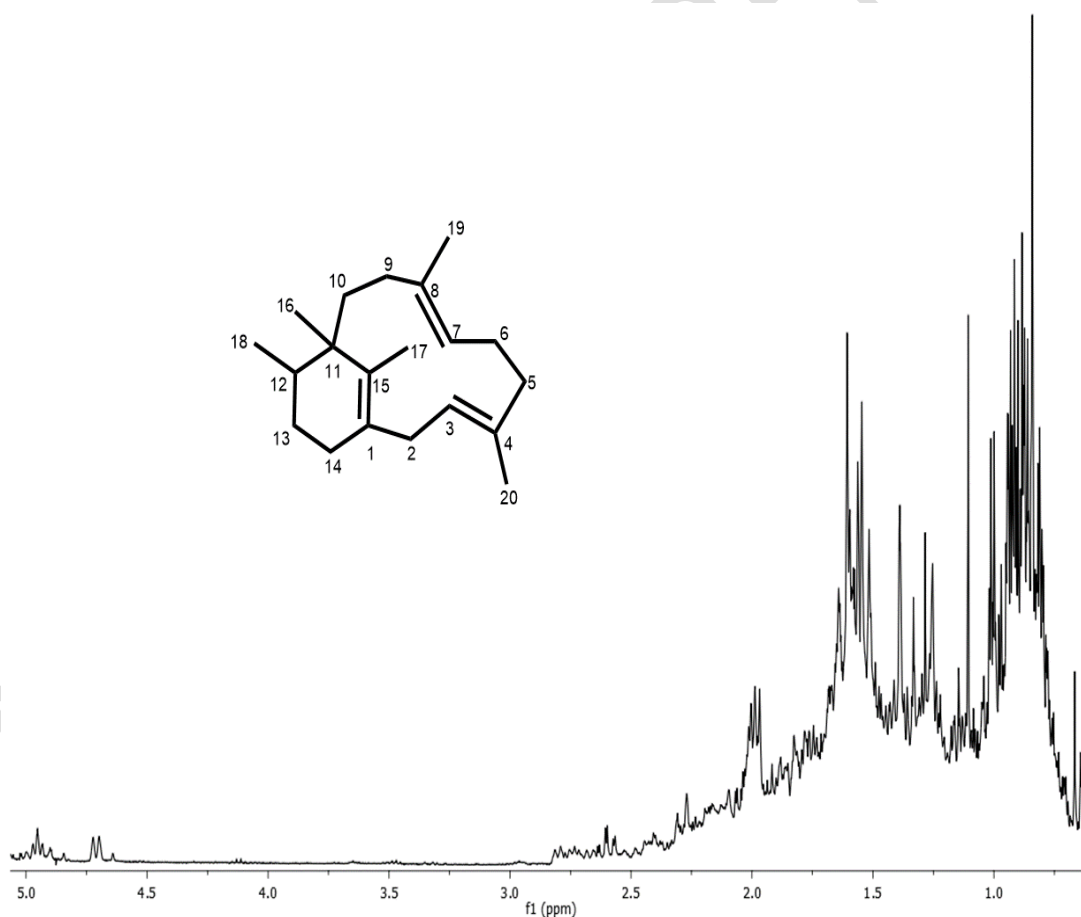


Figura 1. Espectro de NMR del crudo de reacción de verticilol con BF_3 . Elaboración propia, espectro registrado en CDCl_3 y visualizado en *MestReNova*.

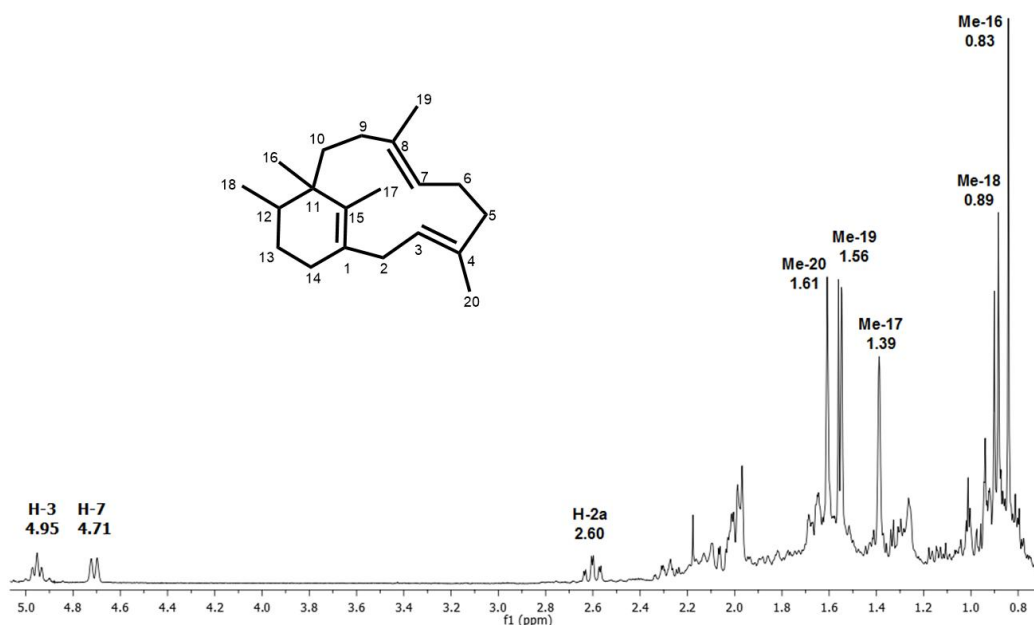


Figura 2. Espectro de NMR del fomacta-1(15),4,8-trieno tras purificación con sílica gel convencional. Elaboración propia, espectro registrado en CDCl_3 y visualizado en MestReNova.

En contraste con los métodos convencionales, el espectro obtenido después de la purificación con gel de sílice impregnado con AgNO_3 (Figura 3) mostró una mejora significativa. Las señales vinílicas (δH 5.4–6.2 ppm) presentaron mayor intensidad y resolución, mientras que las correspondientes a la región alifática disminuyeron notablemente. Adicionalmente, en el espectro de ^{13}C -NMR se observaron señales más nítidas en la región de carbonos olefínicos (δC 120–140 ppm), consistentes con la estructura del fomactatrieno y en concordancia con datos reportados previamente (Del Río-Chávez *et al.*, 2019). Este comportamiento concuerda con modelos teóricos validados para complejos de plata(I) con enlaces π , los cuales demuestran alta afinidad y orientación específica hacia dobles enlaces conjugados (Damyanova *et al.*, 2002).

Las Figuras 1 a 3 ilustran comparativamente los espectros de NMR del residuo crudo, el material purificado con gel de sílice convencional y el obtenido con gel de sílice/ AgNO_3 . Se evidencia una mejora clara en la definición y simplicidad espectral tras la purificación con el sistema modificado, lo que confirma la eficacia del método. Además de la mejora en la resolución, el uso de AgNO_3 redujo el tiempo de elución en aproximadamente un 20%, optimizando el proceso de separación. Esta reducción

puede atribuirse a la retención diferencial inducida por la interacción Ag^+ -doble enlace, que favorece una elución más rápida de compuestos saturados no complejados. Esta disminución en el tiempo de cromatografía puede atribuirse a la retención diferencial inducida por la interacción entre el ion Ag^+ y los dobles enlaces de los compuestos insaturados, permitiendo una salida más temprana de compuestos saturados y no complejados. Estudios recientes han demostrado que esta optimización también implica una disminución significativa en el consumo de solventes orgánicos, aumentando la sostenibilidad del proceso (Daramwar & Suryavanshi, 2012).

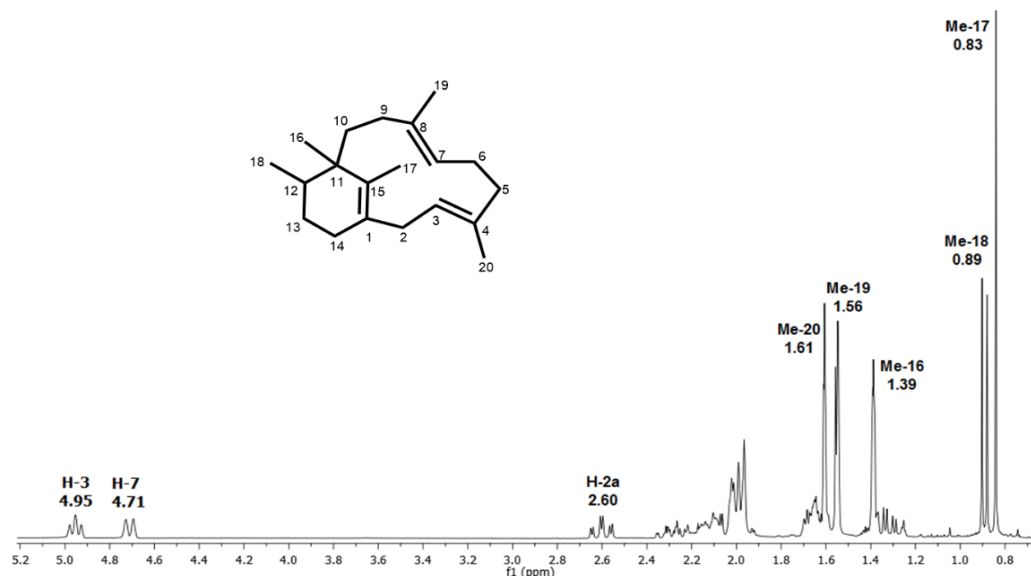


Figura 3. Espectro de NMR del fomacta-1(15),4,8-trieno tras purificación con sílica gel impregnada con AgNO_3 . Elaboración propia, espectro registrado en CDCl_3 y visualizado en MestReNova.

Cabe señalar que, si bien la impregnación con AgNO_3 no constituye una técnica novedosa en sí misma, su aplicación específica en la purificación de diterpenos tipo fomacta no ha sido ampliamente reportada. En este contexto, este trabajo demuestra la pertinencia de esta estrategia en sistemas naturales específicos donde se requiere alta resolución, como en mezclas complejas de productos biosintéticos que incluyen precursores de fomactinas. Dada su efectividad, esta técnica puede extenderse a la purificación de otros compuestos insaturados (Zhang *et al.*, 2015; Daramwar & Suryavanshi, 2012) de origen natural, ampliando su aplicabilidad dentro de la química de productos naturales y farmacéuticos.

Conclusiones

La purificación de fomacta-1(15),4,8-trieno mediante gel de sílice impregnado con nitrato de plata (AgNO_3) constituye una estrategia robusta en química orgánica y farmacéutica, superando limitaciones de métodos cromatográficos convencionales. Este método permitió obtener el compuesto con pureza significativamente mayor, acompañada de espectros de NMR de alta resolución que facilitaron su caracterización estructural precisa.

La efectividad del nitrato de plata se basa en su capacidad para formar complejos reversibles con enlaces π de compuestos insaturados, favoreciendo la separación selectiva de estos frente a sus análogos saturados o estructuralmente similares. Esta técnica ha demostrado utilidad en la separación de metabolitos naturales de interés farmacológico, incluyendo esteroides, triterpenos, alcaloides y diversos terpenoides, en los cuales las diferencias sutiles en el grado de insaturación o en la estereoquímica son críticas para su bioactividad.

El presente trabajo valida el uso de gel de sílice impregnado con AgNO_3 como una herramienta eficaz para la purificación de compuestos insaturados, destacando su aplicación en el fomacta-1(15),4,8-trieno como caso de estudio. Los resultados obtenidos respaldan su potencial extensión a otros diterpenoides bioactivos con sistemas conjugados análogos, ampliando así su utilidad en el campo de los productos naturales.

Esta metodología contribuye al diseño de estrategias de purificación más específicas, sostenibles y reproducibles, fundamentales para avanzar en el desarrollo de fármacos derivados de productos naturales.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo, A.A.R.C., S.J.G-M., P.A.G.S.; metodología: F. V-M.; escritura y preparación del manuscrito, F. V-M., E.R.O., A.A.R.C., S.J.G-M., P.A.G.S.; redacción, revisión y edición, F. V-M., E.R.O., A.A.R.C., S.J.G-M., P.A.G.S.; Visualización, A.A.R.C., P.A.G.S.; S.J.G-M.; Administración de proyecto, A.A.R.C.; P.A.G.S; Supervisión, E.R.O., A.A.R.C., S.J.G-M.; P.A.G.S. Todos los autores de este manuscrito han leído y aceptado la versión publicada del mismo.

Financiamiento

Este proyecto no cuenta con ningún tipo de financiamiento.

Agradecimientos

Ángel Abad Del Río Chávez, agradece al CONACHyT por su beca postdoctoral, así como al Laboratorio de Bromatología, Facultad de Agrobiología de la UMSNH.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias

- Chow, S. Y., Williams, H. J., Pennington, J. D., Nanda, S., Reibenspies, J. H., & Scott, A. I. (2007). Studies on taxadiene synthase: interception of the cyclization cascade at the verticillene stage and rearrangement to phomactatriene. *Tetrahedron*, 63(27), 6204-6209. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.03.029>
- Damyanova, B., Momtchilova, S., Bakalova, S., Zuilhof, H., Christie, W. W., & Kaneti, J. (2002). Computational probes into the conceptual basis of silver ion chromatography: I. Silver(I) ion complexes of unsaturated fatty acids and esters. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 589–590, 239–249. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(02\)00281-6](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(02)00281-6)
- Daramwar, P. P., Srivastava, P. L., Priyadarshini, B., & Thulasiram, H. V. (2012). Preparative separation of α - and β -santalenes and (Z)- α - and (Z)- β -santalols using silver nitrate-impregnated silica gel medium pressure liquid chromatography and analysis of sandalwood oil. *Analyst*, 137(19), 4564–4570. <https://doi.org/10.1039/C2AN35575B>
- Del Río-Chávez, Á. A., García-Gutiérrez, H. A., Román-Marín, L. U., Beiza-Granados, L., Cerda-García-Rojas, C. M., Joseph-Nathan, P., & Hernández-Hernández, J. D. (2019). Absolute configuration of phomactatriene diterpenoids obtained by Wagner–Meerwein rearrangement of epimeric verticillols. *Chirality*, 31(12), 1–13. <https://doi.org/10.1002/chir.23061>
- Drugkar, K., Rathod, W., Sharma, T., Sharma, A., Joshi, J., Pareek, V. K., Ledwani, L., & Diwekar, U. (2021). Advanced separation strategies for up-gradation of bio-oil into value-added chemicals: A comprehensive review. *Separation and Purification Technology*, 283, 120149. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.120149>
- Goldring, W. P. D., & Pattenden, G. (2006). The Phomactins. A Novel Group of Terpenoid Platelet Activating Factor Antagonists Related Biogenetically to the Taxanes. *Accounts Of Chemical Research*, 39(5), 354-361. <https://doi.org/10.1021/ar050186c>
- Hammerschick, T., & Vetter, W. (2023). Silver ion chromatography enables the separation of 2-methylalkylresorcinols from alkylresorcinols. *Journal of Separation Science*, 46(20), e2300243. <https://doi.org/10.1002/jssc.202300243>
- Hernández-Hernández, J. D., Román-Marín, L. U., Cerda-García-Rojas, C. M., & Joseph-Nathan, P. (2005). Verticillane Derivatives from *Bursera suntui* and *Bursera kerberi*. *Journal Of Natural Products*, 68(11), 1598-1602. <https://doi.org/10.1021/np050323e>
- Kuroda, Y., Nicacio, K. J., Da Silva-Jr, I. A., Leger, P. R., Chang, S., Gubiani, J. R., Deflon, V. M., Nagashima, N., Rode, A., Blackford, K., Ferreira, A. G., Sette, L. D., Williams, D. E., Andersen, R. J., Jancar, S., Berlinck, R. G. S., & Sarpong, R. (2018). Isolation, synthesis and bioactivity studies of phomactin terpenoids. *Nature Chemistry*, 10(9), 938-945. <https://doi.org/10.1038/s41557-018-0084-x>
- Li, T.-S., Li, J.-T., & Li, H.-Z. (1995). Modified and convenient preparation of silica impregnated with silver nitrate and its application to the separation of steroids and

triterpenes. *Journal of Chromatography A*, 715, 372–375.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00619-X](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00619-X)

- Liao, S., Dillon, J. T., Huang, C., Santos, E., & Huang, Y. (2021). Silver (I)-dimercaptotriazine functionalized silica: A highly selective liquid chromatography stationary phase targeting unsaturated molecules. *Journal of Chromatography A*, 1645, 462122. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462122>
- Morita, M., Mihashi, S., Itokawa, H., & Hara, S. (1983). Silver nitrate impregnation of preparative silica gel columns for liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 55(2), 412–414. <https://doi.org/10.1021/ac00253a065>
- Niu, T., Yu, J., Wang, Z., Wang, C., Guo, Y., Li, J., & Wang, X. (2024). Purification of triterpenoid saponins and 25R/25S-inokosterone from *Achyranthes bidentata* Bl. by high-speed countercurrent chromatography coupled silver nitrate coordination. *Journal Of Separation Science*, 47(7). <https://doi.org/10.1002/jssc.202300901>
- Palframan, M. J., & Pattenden, G. (2019). The verticillenes: Pivotal intermediates in the biosynthesis of the taxanes and the phomactins. *Natural Product Reports*, 36(1), 108–121. <https://doi.org/10.1039/c8np00034d>
- Roth, G. A., Mensah, G. A., & Fuster, V. (2020). The global burden of cardiovascular diseases and risks: A compass for global action. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(25), 2980–2981. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.010>
- Tokiwano, T., Fukushi, E., Endo, T., & Oikawa, H. (2004). Biosynthesis of phomactins: common intermediate phomactatriene and taxadiene Electronic supplementary information (ESI) available: ¹H and ¹³C NMR spectra for labelled and unlabelled 1. See <http://www.rsc.org/suppdata/cc/b4/b401377h/>. *Chemical Communications*, 11, 1324. <https://doi.org/10.1039/b401377h>
- Tryon-Tasson, N., Ryoo, D., Eor, P., & Anderson, J. L. (2023). Silver-mediated separations: A comprehensive review on advancements of argentation chromatography, facilitated transport membranes, and solid-phase extraction techniques and their applications. *Journal of Chromatography A*, 1705, 464133. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464133>
- Tsujikawa, K., Okada, Y., Segawa, H., Yamamuro, T., Kuwayama, K., Kanamori, T., & Iwata, Y. T. (2022). Thin-layer chromatography on silver nitrate-impregnated silica gel for analysis of homemade tetrahydrocannabinol mixtures. *Forensic Toxicology*, 40(1), 125–131. <https://doi.org/10.1007/s11419-021-00592-9>
- Williams, C. M., & Mander, L. N. (2001). Chromatography with silver nitrate. *Tetrahedron*, 57(3), 425–447. [https://doi.org/10.1016/s0040-4020\(00\)00927-3](https://doi.org/10.1016/s0040-4020(00)00927-3)
- Yin, Z., & Dickschat, J. S. (2023). Engineering fungal terpene biosynthesis. *Natural Product Reports*, 40(1), 28–45. <https://doi.org/10.1039/D2NP00020B>
- Zhang, L., Zhang, B., Zhu, A., Liu, S. H., Wu, R., Zhang, X., Xu, Z., Tan, R. X., & Ge, H. M. (2023). Biosynthesis of Phomactin platelet activating factor antagonist requires a two-enzyme cascade. *Angewandte Chemie International Edition*, 62(47), e202312996. <https://doi.org/10.1002/anie.202312996>

Zhang, Q., Lin, L., & Ye, W. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

Zhang, W.-M., Zhai, Y.-C., Yang, H.-J., Zhang, R.-G., Hao, J., Han, J.-Q., & Zhang, Y.-L. (2015). Silver nitrate-silica gel column chromatography purification linolenic acid in walnut oil. *Science and Technology of Food Industry*, 36(10), 229–232. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2015.10.039>

ARTÍCULO EN PRENSA