

SINTESIS DE MACAMIDAS Y SU IDENTIFICACIÓN POR MEDIO DE UN EQUIPO DE MESA DE RMN

Edward Joel Chocano Coralla^a, Joshelyn Mariangela Paredes-Zavala^a,
Jaime Dante Cárdenas García^{*a}

RESUMEN

La maca (*Lepidium meyenii*), un tubérculo originario del Perú, ha ganado creciente interés en las últimas décadas debido a sus propiedades y aplicaciones en medicina tradicional, atribuidas a la presencia de metabolitos secundarios como macamidas, macaridas, alcaloides, glucosinolatos, aceites esenciales, esteroides, polifenoles y macaenos. Las macamidas, un grupo destacado de amidas formadas por un anillo de 3-metoxibencilamina y ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico), se han asociado con importantes propiedades farmacológicas.

En este estudio, se sintetizaron tres macamidas usando los tres ácidos grasos insaturados mencionados y la 3-metoxibencilamina utilizando el reactivo acoplante 1,1'-dicarbodiimidazol y diclorometano como solvente. Los productos fueron purificados mediante cromatografía en columna y analizados utilizando un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN) de mesa, una tecnología más accesible que los equipos convencionales de alta frecuencia (400 MHz).

Los resultados espectroscópicos de RMN de ¹H y ¹³C fueron analizados por medio del software Mnova NMR incluido en el equipo RMN de mesa y además también se utilizaron tablas de desplazamientos protónicos, que usan procedimientos matemáticos y datos experimentales, lo que permitió confirmar la obtención de los productos deseados que nos lleva a concluir que se obtuvieron las tres macamidas propuestas con un elevado grado de pureza.

Este enfoque no solo facilita la síntesis y caracterización de macamidas bioactivas, sino que también representa un avance en la accesibilidad económica y técnica para la investigación en productos naturales, abriendo nuevas posibilidades para el estudio de sus aplicaciones farmacológicas y terapéuticas.

Palabras clave: *Lepidium meyenii*, maca, macamidas, RMN de mesa,

^a Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas. Universidad Católica de Santa María. Urbanización San José s/n, Umacollo, 04013, Arequipa, Perú. jcardenas@ucsm.edu.pe

MACAMIDES SYNTHESIS AND THEIR IDENTIFICATION USING A BENCHTOP NMR

ABSTRACT

Maca (*Lepidium meyenii*), a tuber indigenous to Peru, has garnered considerable scientific attention over the past two decades due to its proven properties and traditional medicinal uses, attributed to the presence of secondary metabolites such as macamides, macarides, alkaloids, glucosinolates, essential oils, sterols, polyphenols, and macaenes. Macamides, a prominent group of amides formed by a 3-methoxybenzylamine ring and unsaturated fatty acids (oleic, linoleic, and linolenic), have been linked to important pharmacological properties.

In this study, three macamides were synthesized using the unsaturated fatty acids mentioned above and 3-methoxybenzylamine and, the coupling reagent 1,1'-dicyclohexylcarbodiimide and dichloromethane as a solvent. The products were purified via column chromatography and analyzed using a benchtop nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometer, a more accessible alternative to conventional high-frequency (400 MHz) equipment.

The ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic results were analyzed by using the Mnova NMR software included in the benchtop NMR equipment; in addition, proton shift tables based both on math-model and experiments were also used and confirmed the successful synthesis of the desired products concluding that the three proposed macamides were obtained with a high degree of purity.

This approach not only facilitates the synthesis and characterization of bioactive macamides but also represents progress in the economic and technical accessibility of natural product research, opening new possibilities for studying their pharmacological and therapeutic applications.

Key words: *Lepidium meyenii*, maca, macamidas, Benchtop NMR

INTRODUCCIÓN

La maca (*Lepidium meyenii* Walp), un vegetal originario del Perú, ha despertado un interés significativo en las últimas dos décadas debido a sus reconocidas propiedades y su uso en la medicina tradicional¹. Este interés se ha fundamentado en numerosos estudios científicos que han explorado su rica composición de metabolitos secundarios, entre los que destacan macamidas, macaridas, alcaloides, glucosinolatos, aceites esenciales, esteroides, polifenoles y macaenos^{2,3}. Dentro de este grupo, las macamidas⁴ se han identificado como compuestos bioactivos clave, relacionados con actividad farmacológica que incluye efectos neuroprotectores⁵⁻⁷, capacidades antioxidantes⁸ y propiedades antitumorales⁹.

Las macamidas se clasifican en dos subgrupos según su estructura: aquellas que contienen un anillo de bencilamina y las que poseen un anillo de 3-metoxibencilamina. Ambos subgrupos generan derivados amídicos al combinarse con ácidos grasos saturados e insaturados como los ácidos oleico, linoleico y linolénico¹⁰. Particularmente, las macamidas con ácidos grasos insaturados y el anillo de 3-metoxibencilamina se

consideran las más activas desde el punto de vista farmacológico. Estudios previos¹¹⁻¹² han demostrado que estas macamidas inhiben la hidrolasa de la amida de ácidos grasos (FAAH, *Fatty Acid Amide Hydrolase*), lo que sugiere su potencial aplicación como agentes analgésicos, antiinflamatorios y neuroprotectores.

La extracción de macamidas directamente desde la maca es un proceso complejo y laborioso, especialmente para obtener aquellas con cadenas de ácidos grasos altamente insaturadas. Además, se ha demostrado que su formación está influenciada por los tratamientos postcosecha, como el secado, almacenamiento y limpieza¹³⁻¹⁴, lo que añade más variabilidad al proceso. Por lo expuesto, resulta fundamental llevar a cabo la síntesis de las diversas macamidas, especialmente aquellas con estructuras más relevantes desde el punto de vista farmacológico, ya que ello permitirá profundizar en el estudio científico no solo de las propiedades farmacológicas sino también nutritivas de la maca. Además, la obtención de estas macamidas, considerando la alta popularidad y el amplio uso de la maca en distintas presentaciones, contribuirá a establecer un control de calidad más riguroso, un aspecto que, según el conocimiento actual no se ha implementado de manera adecuada.

En este estudio, se sintetizaron tres macamidas mediante la reacción de acoplamiento entre 3-metoxibencilamina y ácidos grasos insaturados (ácidos oleico, linoleico y linolénico), utilizando carbonildiimidazol (CDI) como reactivo acoplante en diclorometano (DCM). Posteriormente, se completó la reacción con la adición de 3-metoxibencilamina en presencia de dimetilaminopiridina (DMAP). El esquema general^{15,16} es presentado en la Figura 1. Este enfoque representa un método eficiente y replicable para la obtención de macamidas bioactivas, permitiendo avanzar en el conocimiento de sus propiedades farmacológicas y aplicaciones potenciales.

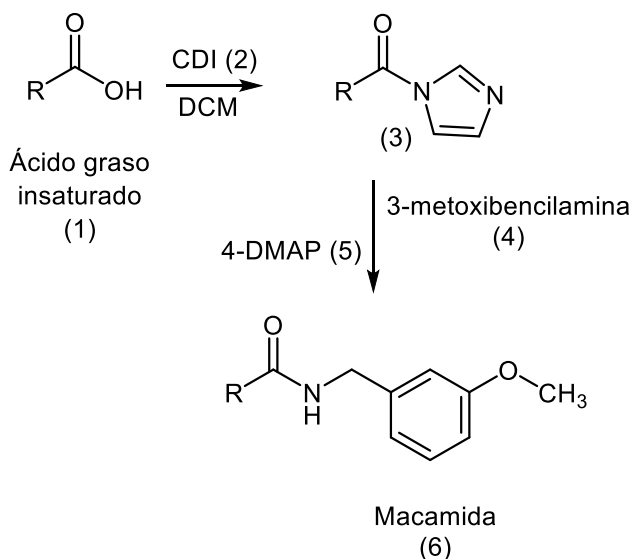


Figura 1. Esquema general para la preparación de macamidas

Tras el aislamiento del producto final, es fundamental someterlo a un análisis mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), una técnica ampliamente utilizada para confirmar la estructura molecular y verificar la obtención del compuesto deseado. Tradicionalmente, este análisis se realiza utilizando equipos de alta frecuencia, como los espectrómetros de RMN de 400 MHz o superiores, debido a su capacidad para

proporcionar datos espectroscópicos detallados. Sin embargo, el elevado costo de adquisición y mantenimiento de estos equipos, junto con los requerimientos técnicos asociados, limita su accesibilidad, especialmente en laboratorios con recursos restringidos, dificultando la investigación en síntesis orgánica.

En los últimos años, se han desarrollado espectrómetros de RMN¹⁷ con magnetos permanentes, también conocidos como equipos de RMN de mesa (*benchtop NMR*). Estos dispositivos, que no dependen de costosos magnetos superconductores criogénicos, presentan ventajas significativas, como menores presupuestos, menor requerimiento de espacio en el laboratorio y facilidad de uso. Su fabricación está basada en un diseño que utiliza un arreglo de magnetos Halbach, contruidos con materiales de tierras raras, los cuales generan un campo magnético potente en la región central del magneto. Además, los avances tecnológicos en hardware, procesamiento de señales y software han incrementado su precisión, permitiendo su aplicación en estudios detallados de diversas moléculas.

En el presente estudio, las tres macamidas sintetizadas, derivadas de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico y linolénico) y acopladas al anillo 3-metoxibencilamina, fueron analizadas mediante un espectrómetro de RMN de mesa. Los resultados de espectroscopía de RMN fueron analizados usando el software Mnova NMR incluido en el equipo y también se usaron las tablas¹⁹ teóricas de desplazamiento protónico. Los resultados obtenidos mostraron correlación con las estructuras propuestas lo que valida la eficacia de los espectrómetros de mesa como una alternativa económica y accesible para la caracterización de compuestos en el ámbito de la síntesis orgánica.

PARTE EXPERIMENTAL

Síntesis química

Todos los reactivos utilizados en esta investigación son de grado comercial, adquiridos de la marca Sigma-Aldrich, y fueron empleados tal como fueron recibidos y no se llevaron a cabo purificaciones adicionales. La síntesis de las macamidas se ilustra en la Figura 1. Las macamidas sintetizadas en este estudio fueron obtenidas a partir de ácidos grasos insaturados (oleico, linoleico o linolénico) (1), los cuales fueron disueltos en diclorometano (DCM). A esta solución se añadió 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) (2), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, permitiendo la formación de los intermedios imidazolamida (3). Posteriormente, se incorporó una solución de 3-metoxibencilamina (4) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (5), también disueltos en diclorometano, y la mezcla se agitó en condiciones protegidas de la luz por un periodo de 18 horas.

Aislamiento del producto

Tras completar la reacción, la solución en diclorometano (DCM) fue lavada sucesivamente con una solución de HCl 2N y luego con salmuera. La fase orgánica fue separada y secada sobre Na₂SO₄ anhidro, tras lo cual se filtró para eliminar los sólidos. El solvente orgánico fue evaporado a vacío utilizando un evaporador rotatorio. La purificación del producto se llevó a cabo mediante cromatografía en columna en modo flash, utilizando una mezcla de hexano y acetato de etilo (4:1) como eluyente. La elución de las fracciones fue monitoreada mediante cromatografía en capa fina (TLC), utilizando

luz UV de 254 nm como agente revelador. Las tres macamidas obtenidas se aislaron como aceites viscosos.

Espectroscopía de RMN

Los análisis de RMN ^1H y ^{13}C se realizaron utilizando un espectrómetro de RMN de mesa (*benchtop NMR*) Magritek Spinsolve 80, operando a 80 MHz para ^1H y 20 MHz para ^{13}C . Para los ensayos, se disolvieron 50 μL de cada macamida en 450 μL de cloroformo deuterado (CDCl_3). Posteriormente, se realizaron las mediciones correspondientes para obtener los espectros de RMN ^1H y ^{13}C y la interpretación de los espectros y elucidación estructural se hizo con el software Mnova NMR¹⁸ y el uso de tablas de desplazamiento protónico encontradas en la bibliografía¹⁹.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se utilizaron tres ácidos grasos insaturados: oleico, linoleico y linolénico, los cuales, al reaccionar con la 3-metoxibencilamina, generaron las tres macamidas correspondientes: N-(3-metoxibencil)oleamida (oleamida), (9Z, 12Z)-N-(3-metoxibencil)octadeca-9,12-dienamida (linoleamida) y (9Z, 12Z, 15Z)-N-(3-metoxibencil)octadeca-9,12,15-trienamida (linolenamida).

De acuerdo con el procedimiento descrito en la Figura 1, la reacción de acoplamiento se llevó a cabo mediante la adición de 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) al ácido graso insaturado, lo que permitió la activación del grupo carboxílico. Posteriormente, la mezcla reaccionó con la 3-metoxibencilamina en presencia de dimetilaminopiridina (DMAP) para completar la formación de la macamida. El producto resultante fue purificado mediante cromatografía en columna utilizando una mezcla de hexano y acetato de etilo (4:1) como eluyente. La separación de las fracciones se monitoreó mediante cromatografía en capa fina (TLC), utilizando luz UV a 254 nm como revelador. Los compuestos aislados fueron sometidos a análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) y los resultados se procesaron usando el software Mnova NMR¹⁸ y las tablas de desplazamiento protónicas mencionadas anteriormente.

A continuación, se presentarán los resultados espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C . Con los datos protónicos se procederá a validar las estructuras propuestas para cada macamida sintetizada; mientras que los datos de ^{13}C son complementarios y serán analizados de manera conjunta para las tres macamidas después del análisis de los datos ^1H RMN.

Los espectros mostraron las siguientes características:

N-(3-Methoxybenzyl) Oleamide (Oleamida)

$\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{NO}_2$. Peso molecular: 401.33. Aceite incoloro. Dado de que deriva del ácido cis-oleico la presente macamida muestra un doble enlace en la cadena de ácido graso.

^1H NMR Spectrum (80 MHz, CDCl_3) de N-(3-metoxibencil) oleamida: δ 7.44 – 7.14 (m, 1H), 6.87 (d, 2H), 6.82 – 6.63 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.36 (td, 2H), 4.40 (d, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.27 (d, 1H), 2.01 (dt, 3H), 1.69 (d, 2H), 1.55 – 1.04 (m, 22H), 0.93 (d, 3H). (Figura 2)

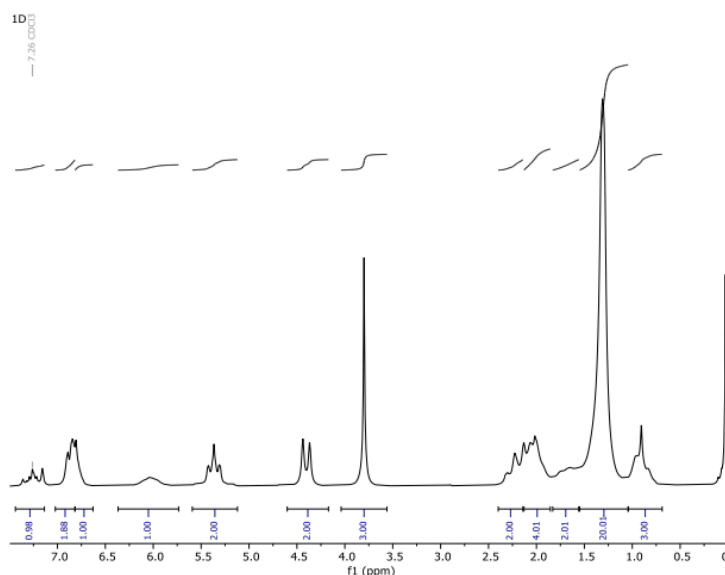


Figura 2. Espectro de RMN ^1H de oleamida

Con los datos obtenidos del espectro de RMN ^1H se propone la siguiente estructura (figura 3) y se hizo el siguiente análisis en donde a los diferentes núcleos de hidrógeno se les ha asignado una letra para una mejor diferenciación.

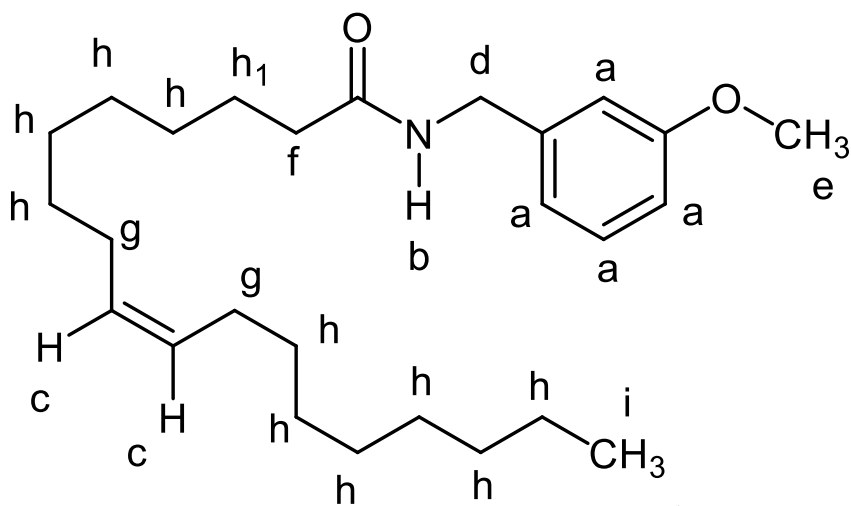


Figura 3. Estructura propuesta para la oleamida.

(La denominación h_1 será explicada más adelante)

Los datos espectroscópicos obtenidos de la figura 2 y procesados por el software del equipo se tiene la tabla 1 que es como sigue:

Tabla 1: Desplazamientos químicos de los núcleos protónicos en la oleamida

Desplazamiento (δ) químico en el espectro, ppm	Tipo de señal (a)	Cantidad de núcleos de hidrógeno (Integración)	Marcador literal de los núcleos de hidrógeno en la molécula (Fig. 3)
7.44-7.14	m	1	a
6.87	d	2	a
6.82-6.63	m	1	a
6.03	s, ancho	1	b
5.36	td	2	c
4.4	d	2	d
3.8	s	3	e
2.27	d	1	f
2.01	dt	3	f y g
1.69	d	2	g
1.55-1.04	m	22	h ₁ y h
0.93	t	3	i

(a): m, multiplete; s, singlete; td, triplete doble; d, doblete; t, triplete

Con los datos de la tabla 1, el anillo bencilamina con el grupo $-\text{OCH}_3$ en posición meta generan un conjunto de multipletes típicos de la sustitución meta los mismos que se encuentran entre 7.44-7.14 ppm (1H) mientras que el doblete a 6.87 ppm es responsable de dos núcleos de hidrógeno y el multiplete entre 6.87-6.63 ppm es responsable del último hidrógeno aromático remanente. El desplazamiento (b) a 6.03 ppm se caracteriza por ser una señal amplia y aplanada con una integración de un hidrógeno por lo que es indicativo del hidrógeno en el grupo $-\text{NHCO}-$. El desplazamiento (c) a 5.36 ppm con una integración de 2 hidrógenos es característico de los hidrógenos olefinicos. Luego, se observa un desplazamiento (d) a 4.4 ppm (doblete) con una integración de 2 hidrógenos y corresponde al grupo $-\text{CH}_2-$ lo que se ajusta adecuadamente a los cálculos teóricos sugeridos en la bibliografía¹⁹ y a las propuestas del software. Los cálculos teóricos¹⁹ señalan un desplazamiento de: $1.85 + 2.27 + 0.23 = 4.35$ ppm mostrando concordancia con el valor experimental (4.4 ppm). Asimismo, este desplazamiento muestra la presencia de un doblete que es el resultado de la interacción con el hidrógeno del grupo $-\text{NHCO}-$. El grupo metoxi, $-\text{OCH}_3$ presente en el anillo aromático es típicamente un singlete con un desplazamiento (e) a 3.8 ppm lo que se ajusta a los valores teóricos (3.85 ppm) estimados en la bibliografía¹⁹. Los desplazamientos entre 2.27 y 1.69 ppm muestran una variedad de señales pero corresponden a una integración de 6 hidrógenos (2.27 (d, 1H), 2.01 (dt, 3H), 1.69 (d, 2H)) lo que sugiere un solapamiento de varios desplazamientos y con estos datos se deduce lo siguiente: i) En la figura 2 se observa que el desplazamiento entre 2.27 y 2.15 ppm tiene un área de integración de 2 lo que corresponde a los hidrógenos metilen de la sección $\text{R}-\text{CH}_2\text{CONH}-\text{R}$ señalados como (f) y hay buena correlación con los cálculos basados en la bibliografía¹⁹ ($1.59+0.47+0.23 = 2.29$); ii) En misma la figura 2 el área de integración entre 2.01 y 1.69 es de 4 por lo que corresponde a los hidrógenos alílicos en $-\text{H}_2\text{C}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ señalados literalmente con (g) lo que se presenta en la figura 4 para una mejor apreciación. Tomando en cuenta los cálculos presentados en la bibliografía¹⁹, se estima que los hidrógenos alílicos tienen un

desplazamiento entre 1.90 y 2.02 ppm lo que guardan correlación con los valores obtenidos.

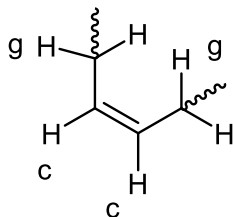


Figura 4. Sección parcial de la oleamida mostrando la presencia de los 4 hidrógenos alílicos (g)

El desplazamiento (h_1 y h) entre 1.55 y 1.04 ppm es un multiplete que muestra un área de integración de 22 hidrógenos; la presencia del multiplete es consecuencia de los hidrógenos presentes en una cadena larga de carbonos saturados lo que corresponde a los once grupos metilen $-\text{CH}_2-$. Sin embargo, se observa en la figura 2 que al momento de procesar las señales con el software el desplazamiento entre 1.60 y 1.55 ppm provee una integración de 2 núcleos de hidrógenos lo que corresponde a (h_1) que son los dos núcleos de hidrógeno en $\text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{CONH}-$. En la figura 2 se aprecia que entre 1.50-1.04 la integración es de 20 núcleos de hidrógeno. Finalmente, el desplazamiento (i) a 0.93 ppm se muestra como un triplete con un área de integración de 3 hidrógenos y esto corresponde al grupo metil $-\text{CH}_3$ lo que guarda correlación con los valores teóricos estimados en la bibliografía¹⁹ (0.88 ppm).

Cuando se comparan los desplazamientos químicos reportados por Wu y colaboradores¹² (realizados con un equipo de 400 MHz) con los de la presente investigación hay diferencias en algunos desplazamientos, por ejemplo: En la zona de desplazamientos aromáticos se reporta¹² señales a 7.23-7.27 (m, 2H), 6.86 (d, 1H) y 6.81-6.83 (m, 3H) indicando la presencia de 6 núcleos de Hidrógeno, lo que no es correcto. Debió indicarse que sólo hay 4 núcleos de hidrógeno. Sin embargo, sus resultados en la misma publicación¹² para las otras moléculas similares que contiene el mismo anillo aromático meta disustituido (*dienamide* o linoleamida y *trienamide* o linolenamida) indican de manera correcta la presencia indubitable de 4 núcleos de hidrógeno y los desplazamientos protónicos son similares a nuestros resultados (Tabla 1). A 5.67 ppm reportan una señal ancha (*broad*) que es el núcleo de hidrógeno en $-\text{NHCO}-$. Nuestros resultados muestran un desplazamiento a 6.03 ppm y se puede apreciar en la figura 2 una señal ancha lo que es típico de los protones unidos al nitrógeno. Los hidrógenos unidos al nitrógeno casi siempre generan una señal aplanada y ancha y esto se debe al ensanchamiento cuadrupolar²⁰. Para estos casos, los desplazamientos protónicos no tienen valores fijos y estos pueden ser variables²⁰ lo que se debe, entre otras razones, a la concentración de la muestra al hacer el examen de RMN. Los valores reportados¹² a 5.32-5.36 y 4.42 ppm concuerdan con los de la presente investigación. Wu¹² reporta que los núcleos de hidrógeno en $-\text{OCH}_3$ unido al anillo aromático tienen un desplazamiento a 3.80 (s, 1H) pero indica solamente un núcleo de hidrógeno lo cual tampoco es correcto, pues la integración debió ser 3H para que guarde coherencia con lo reportado para el caso de la *dienamide* y *trienamide*. Nuestros resultados dan el singulete a 3.80 ppm con una integración de 3 núcleos de hidrógeno guardando correlación con lo reportado. Wu¹² reporta en la zona alifática la presencia de dos grupos de desplazamientos: i) Entre 1.61-

1.68 (m, 2H) y ii) 1.26-1.30 (m, 20H); lo que hace un total de 22 núcleos de hidrógeno, que equivalen a once grupos metilen, $-\text{CH}_2$ los que teóricamente deberían aparecer como 1 sexteto y 10 quintetos; sin embargo, todos ellos darán desplazamientos químicos similares y se espera un gran solapamiento de señales y como resultado se presentan como multipletes aún en equipos de alta resolución, como es el caso de los valores reportados¹². Nuestros resultados obtenidos a 80 MHz los desplazamientos son muy similares dando señales entre 1.55-1.04 ppm pero con un área de integración de 22 núcleos de hidrógeno. No obstante, si se observa la figura 2, el área de integración está dividida en dos áreas similares a las reportadas por Wu: i) Aproximadamente entre 1.60-1.55 hay un área de integración para 2 hidrógenos; ii) entre 1.55-1.04 el área de integración es de 20 hidrógenos. Ambos desplazamientos protónicos guardan cierta similitud con lo reportado por Wu¹². Es de esperarse que el primer desplazamiento para los dos núcleos de hidrógeno (1.61-1.68 ppm)¹² y los resultados de la presente investigación (1.60-1.55 ppm) correspondan al desplazamiento (h_1), específicamente a los hidrógenos en $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH-R}$ y esto se comprueba con los valores teóricos¹⁹ calculados ($1.20+0.31=1.51$ ppm) lo que guarda correlación con los valores reportados por Wu¹² y los de la presente investigación. Finalmente, el desplazamiento (i) es un triplete con una integración de tres núcleos de hidrógeno y corresponde un desplazamiento de 0.88 y 0.93 ppm reportado por Wu¹² y los resultados de la presente investigación, respectivamente.

Este análisis detallado de los resultados obtenidos con el software y haciendo una comparación con los resultados reportados nos hacen suponer que se obtuvo el producto requerido y además con un elevado grado de pureza.

(9Z,12Z)-N-(3-Metoxibencil) Octadeca-9,12-dienamida (Linoleamida)

$\text{C}_{26}\text{H}_{41}\text{NO}_2$. Peso molecular: 399.31. Aceite incoloro. Dado de que deriva del ácido linoleico la presente macamida muestra dos dobles enlaces en la cadena de ácido graso.

^1H NMR Spectrum (80 MHz, CDCl_3) de (9Z, 12Z)-N-(3-metoxibencil) octadeca-9,12-dienamide – Linoleamide: δ 7.37 – 7.12 (m, 1H), 6.90 (d, 1H), 6.86 – 6.62 (m, 2H), 6.07 (d, 1H), 5.77 – 4.77 (m, 4H), 4.40 (d, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.79 (t, 2H), 2.27 (t, 2H), 2.15 – 1.82 (m, 4H), 1.79 – 1.54 (m, 2H), 1.49 – 1.09 (m, 14H), 0.95 (t, 3H). (Fig 5)

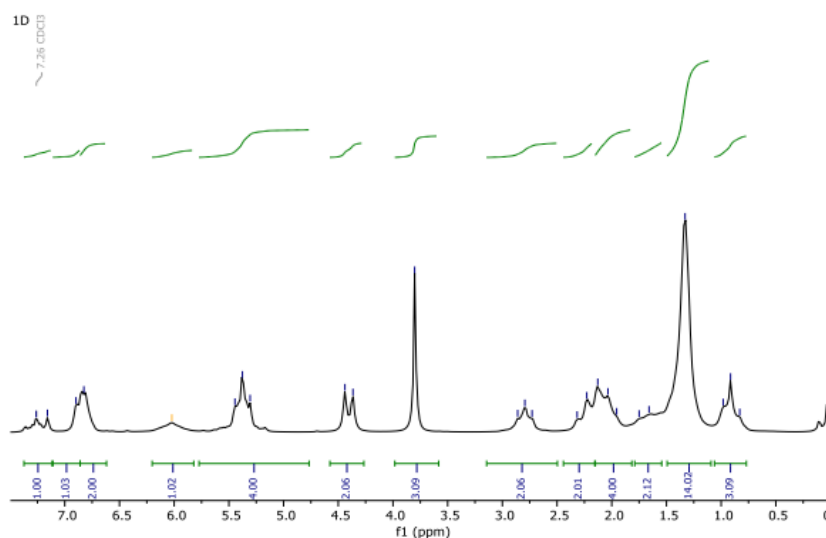


Figura 5. Espectro de RMN ^1H de linoleamida

Con los datos experimentales se propone la siguiente estructura (figura 6) por lo que haciendo el mismo análisis de los núcleos protónicos se tiene:

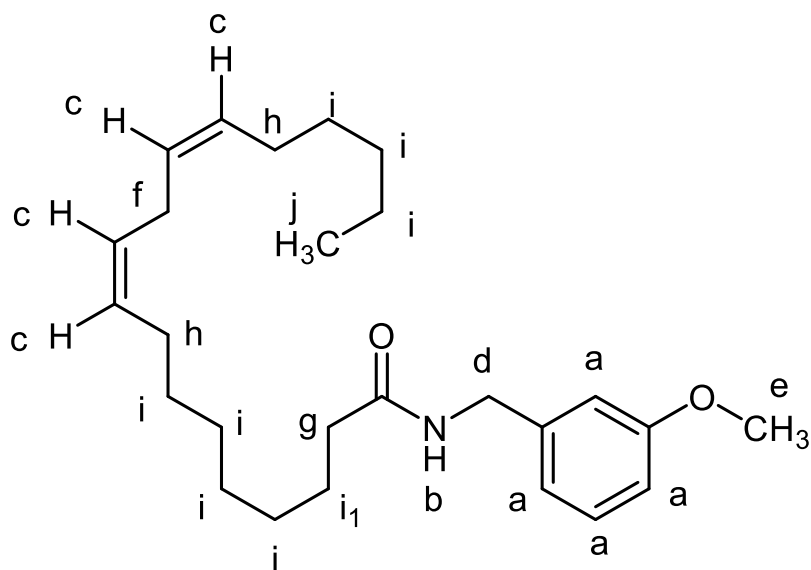


Figura 6. Estructura propuesta para la linoleamida

Los datos de la figura 6 procesados por el software del equipo se obtienen los datos de la tabla 2 que son como siguen:

Tabla 2: Desplazamientos químicos de los núcleos protónicos en la linoleamida

Desplazamiento (δ) químico en el espectro, ppm	Tipo de señal (a)	Cantidad de núcleos de hidrógeno (Integración)	Marcador literal de los núcleos de hidrógeno en la molécula (Fig.6)
7.37-7.12	m	1	a
6.9	d	1	a
6.86-6.62	m	2	a
6.07	d	1	b
5.77-4.77	m	4	c
4.4	d	2	d
3.8	s	3	e
2.79	t	2	f
2.27	t	2	g
2.15-1.82	m	4	h
1.79-1.54	m	2	i ₁
1.49-1.09	m	14	i
0.95	t	3	j

(a): m, multiplete; s, singulete; td, triplete doble; d, doblete; t, triplete

De manera similar al análisis previamente realizado, se observa al anillo bencilamina meta sustituido que muestra el siguiente patrón de desdoblamiento: los desplazamientos indicados literalmente con la letra (a) muestran correlación con la integración de las áreas de estas señales que es de 4. El desplazamiento (b) a 6.07 ppm es una señal amplia lo que es típico del núcleo protónico en el grupo -NHCO- y muestra un área de integración de 1. El desplazamiento (c) entre 5.77-4.77 ppm con un área de integración de 4 corresponde a los protones olefinicos. El desplazamiento (d) a 4.4 ppm con un área de integración de 2 corresponde al grupo $\text{-CH}_2\text{-}$ en $\text{-CONH-CH}_2\text{-Ar}$. Este valor corresponde con el valor teórico¹⁹ de 4.35 ppm como se mencionó para el caso de la oleamida explicado anteriormente. El desplazamiento (e) a 3.8 ppm con un área de integración de 3 núcleos de hidrógeno corresponde al grupo metil en -OCH_3 y guarda correlación como en el caso de la oleamida. La señal (f) con un desplazamiento a 2.79 ppm corresponde a los hidrógenos en el grupo $\text{-CH}_2\text{-}$ que está localizado de manera central entre los carbonos olefinicos: $\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-}$. El desplazamiento (g) a 2.27 ppm con un área de integración de 2 corresponde al grupo metilen $\text{-CH}_2\text{-}$ que está en $\text{-CH}_2\text{-CONH-}$ y es similar a lo explicado en la oleamida. El desplazamiento (h) entre 2.15-2.82 ppm con un área de integración de 4 corresponde a los protones alílicos en $\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-}$. Los desplazamientos de (i) entre 1.79-1.54 y 1.49-1.09 muestran un área de integración de 16 lo que corresponde a ocho grupos metilen $\text{-CH}_2\text{-}$ presentes en la cadena alifática de átomos de carbono. Finalmente, el desplazamiento (j) a 0.95 ppm corresponde al grupo metil en $\text{RCH}_2\text{-CH}_3$ y se muestra como un triplete de manera similar al caso de la oleamida.

Al comparar los resultados reportados por Wu¹² con nuestros resultados se observa una significativa similitud. Wu reporta que los desplazamientos (400 MHz) de los núcleos de hidrógeno en el anillo 3-metoxibencilamina proveen los siguientes desplazamientos: i) 7.23-7.27 (m, 1H), 6.86 (d, 1H) y 6.81-6.83 (m, 2H); nuestros resultados son similares: i) 7.37-7.12 (m, 1H), 6.9 (d, 1H) y 6.86-6.62 (m, 2H). El desplazamiento (b) corresponde al hidrógeno del grupo amida -NHCO- y es reportado a 5.67 (br, 1H) mientras que el nuestro se ha obtenido un desplazamiento a 6.07 y de acuerdo a la figura 5, se observa una señal bastante aplanada lo que es típico de las amidas y la explicación a este desplazamiento y esta diferencia ya se presentó en el caso de la oleamida. Luego se presenta un desplazamiento entre 5.29-5.40 ppm (m, 4H) similar a nuestro resultado 5.77-4.77 ppm (m, 4H) que corresponde al desplazamiento (c) que son los hidrógenos olefinicos. El desplazamiento reportado¹² a 4.42 ppm (d, 2H) corresponde a los protones (d) mostrando similitud con los resultados de nuestra investigación: 4.4 ppm (d, 2H). El desplazamiento (e) de los hidrógenos del grupo -OCH_3 es reportado¹² a 3.80 ppm (s, 3H) y nuestra investigación muestra el mismo resultado. Luego, se reportan¹² desplazamientos a 2.77 ppm (m, 2H), 2.21 ppm (t, 3H) y los resultados de la presente investigación son de 2.79 ppm (t, 2H) y 2.27 ppm (t, 2H) lo que corresponde a los desplazamientos (f) y (g), respectivamente mostrando una similitud bastante significativa. Los hidrógenos alílicos (h) son reportados¹² entre 2.02-2.07 ppm (m, 4H) mostrando similitud con los de la presente investigación, 2.15-2.82 ppm (m, 4H). Finalmente los protones de las cadenas de carbono saturado se comportan de manera similar a lo explicado en la oleamida. Se reporta¹² un desplazamiento entre 1.61-1.68 ppm (m, 2H) mientras que en nuestra investigación eso se puede observar entre 1.79-1.54 ppm (m, 2H) que corresponden al desplazamiento (i₁). Los siete grupos metilenos remanentes dan una señal entre 1.27-1.39 ppm (m, 14H) y esta investigación 1.49-1.09 ppm (m, 14H). Finalmente, el desplazamiento para los hidrógenos en el grupo -CH_3 se reporta¹² a 0.89 ppm (t, 3H).

mientras que nuestra investigación a 0.94 ppm (t, 3H), mostrando una aceptable correlación.

(9Z,12Z,15Z)-N-(3-Metoxibencil) Octadeca-9,12,15-trienamida (Linolenamida)

$C_{26}H_{39}NO_2$. Peso molecular: 397.30. Aceite incoloro. Dado de que deriva del ácido linolénico la presente macamida posee tres dobles enlaces en la cadena de ácido graso.

^1H NMR Spectrum (80 MHz, $CDCl_3$) de (9Z, 12Z, 15Z)-N-(3-metoxibencil) octadeca-9,12,15-trienamide – Linolenamide: δ 7.39 – 7.18 (m, 1H), 6.88 (d, 1H), 6.84 – 6.57 (m, 2H), 5.78 (s, 1H), 5.63 – 5.08 (m, 6H), 4.41 (d, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.81 (t, 4H), 2.26 (d, 2H), 2.15 – 1.86 (m, 4H), 1.77 – 1.53 (m, 2H), 1.50 – 1.14 (m, 8H), 0.97 (t, 3H). (Fig. 8)

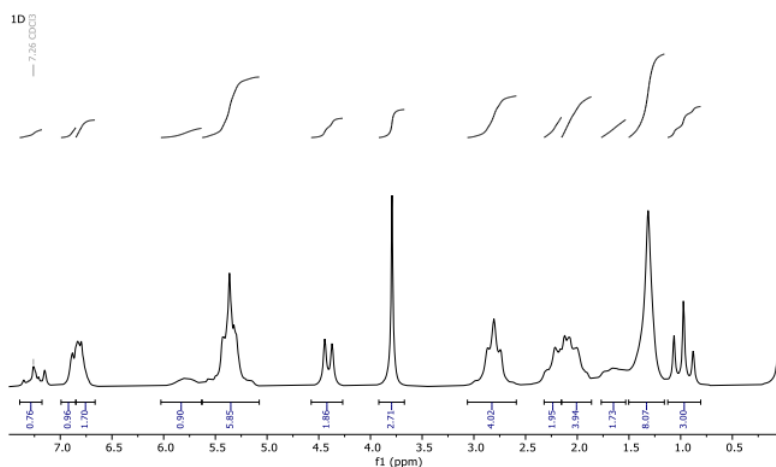


Figura 7. Espectro de RMN ^1H de linolenamida

Con los datos obtenidos del espectro de RMN ^1H se propone la siguiente estructura (figura 8) y haciendo el siguiente análisis en donde a los diferentes núcleos de hidrógeno se tiene que:

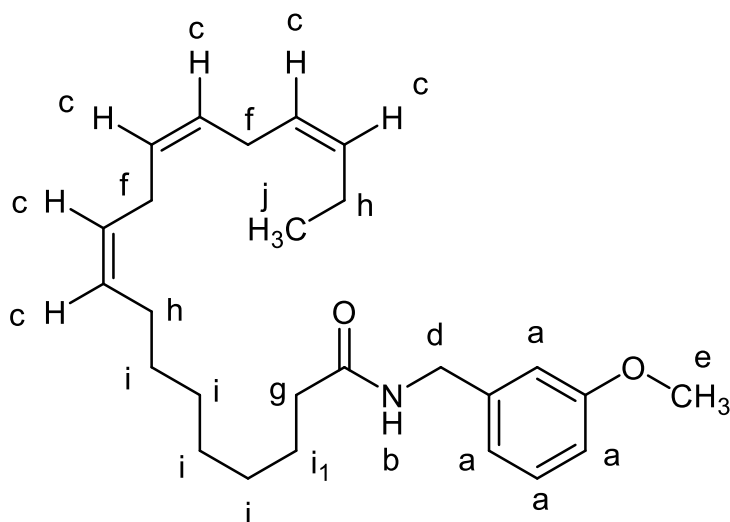


Figura 8. Estructura propuesta para la linolenamida

Los datos de la figura procesados por el software del equipo se obtienen los datos de la tabla 3 que son como siguen:

Tabla 3: Desplazamientos químicos de los núcleos protónicos en la linolenamida

Desplazamiento (δ) químico en el espectro, ppm	Tipo de señal (a)	Cantidad de núcleos de hidrógeno	Marcador literal de los núcleos de hidrógeno en la molécula (Fig. 8)
7.39-7.18	m	1	a
6.88	d	1	a
6.84-6.57	m	2	a
5.78	s	1	b
5.63-5.08	m	6	c
4.41	d	2	d
3.79	s	3	e
2.81	t	4	f
2.26	m	2	g
2.15-1.86	m	4	h
1.77-1.53	m	2	i ₁
1.50-1.14	m	8	i
0.97	t	3	j

De acuerdo con los datos de la tabla 3 estos se correlacionan con los protones planteados en la figura 8 de la siguiente manera: los desplazamientos de 7.39-7.18 ppm (m, 1H), 6.88 (d, 1H) y 6.84-6.57 ppm (m, 2H) corresponden a los protones (a). A 5.78 ppm (s, 1H) es una señal aplanada lo que es concordante con el protón (b) del grupo amido -NHCO-. El desplazamiento (c) se relaciona con los hidrógenos olefínicos 5.63-5.08 ppm (m, 6H). El desplazamiento (d) 4.41 ppm (d, 2H) está relacionado con los protones del grupo metilén -CH₂- lo cual también tiene similitud con el valor teórico¹⁹ estimado en 4.35 ppm. El desplazamiento (e) a 3.79 ppm (s, 3H) corresponde a los hidrógenos del grupo -OCH₃ lo que se ajusta al valor teórico¹⁹ (3.85 ppm). El desplazamiento (f) a 2.81 ppm muestra un área de integración de 4 hidrógenos lo que corresponde a los protones metilénicos -CH₂- lo que se muestra en la Figura 9. El desplazamiento de (g) a 2.26 ppm (m, 2H) corresponde a los protones en -CH₂CONHR lo cual se relaciona con el valor teórico¹⁹ (2.29 ppm). El desplazamiento (h) 2.15-2.86 ppm muestra un área de integración de 4 que corresponde a los hidrógenos alílicos (Figura 9) lo que guarda correlación con los datos de la oleamida y linoleamida anteriormente analizados. El desplazamiento 1.77-1.53 ppm (m, 2H) corresponde a (i₁) lo cual se aproxima a los valores teóricos¹⁹ (1.51 ppm). Los protones alifáticos (i) remanentes que son un total de 8 son caracterizados con el desplazamiento entre 1.50-1.14 (m, 8H). Finalmente, los protones (j) se caracterizan por el triplete a 0.97 (t, 3H).

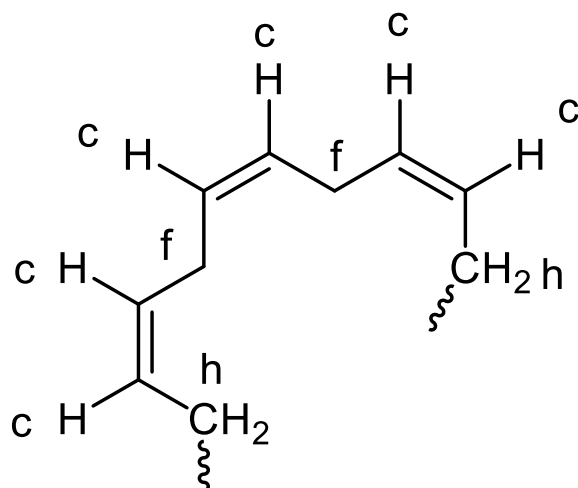


Figura 9. Sección de la linolenamida mostrando indicando los protones en (c), (f) y (h)

Comparando los valores reportados por Wu¹² con los de la presente investigación se tiene el siguiente análisis: para los desplazamientos protónicos de (a) y (b) se muestra gran similitud. En el caso de (b) la similitud es bastante aproximada, 5.67 y 5.78 ppm, respectivamente. Los desplazamientos de (c) también muestran similitud, 5.29-5.41 y 5.63-5.08 ppm, respectivamente. El desplazamiento (d) concuerda bastante bien, 4.42 y 4.41 ppm, respectivamente; al igual que el desplazamiento (e), 3.80 y 3.79 ppm (valor teórico¹⁹ 3.85 ppm). De manera similar existe correlación para el desplazamiento (f) 2.80 y 2.81 ppm, respectivamente (valor teórico, 2.70 ppm). El desplazamiento (g) -CH₂CONHR se puede apreciar similitud, 2.21 y 2.26 ppm, respectivamente (valor teórico, 2.29 ppm). Los desplazamientos de los protones alifáticos tienen cierta semejanza por lo que han sido clasificados en 3 grupos para una adecuada explicación. El primer grupo o desplazamiento (i₁) corresponde a los protones resaltados en -CH₂-CH₂CONHR mostrando desplazamientos a 1.61-1.68 y 1.77-1.53 ppm, respectivamente; los cuales se aproximan al valor teórico¹⁹ de 1.51 ppm. El segundo grupo o desplazamiento (i) corresponde a los protones remanentes que son 8 y sus desplazamientos están entre 1.30-1.38 y 1.50-1.14 ppm, respectivamente. En este caso se aprecia cierta diferencia. Sin embargo, la integración calculada por el software del equipo es la adecuada y el desplazamiento corresponde al lugar de los hidrógenos alifáticos. El tercer grupo o desplazamiento (j) corresponde al grupo -CH₃ terminal y la correlación es perfecta, 0.97 ppm para ambos experimentos.

El análisis realizado para las tres macamidas sintetizadas usando los datos espectroscópicos de RMN ¹H muestran excelente correlación con las estructuras propuestas confirmando la preparación de los compuestos propuestos.

A continuación se presentan los datos espectroscópicos para ¹³C para las tres macamidas y son como siguen:

Oleamida

¹³C NMR Spectrum (20 MHz, CDCl₃): δ 173.13, 159.95, 140.20, 130.09, 129.85, 129.75, 120.04, 113.43, 112.93, 55.27, 55.19, 43.54, 36.82, 32.00, 30.01, 29.87, 29.63, 29.41, 29.22, 27.27, 26.95, 25.88, 22.75, 14.19. (Fig. 10)

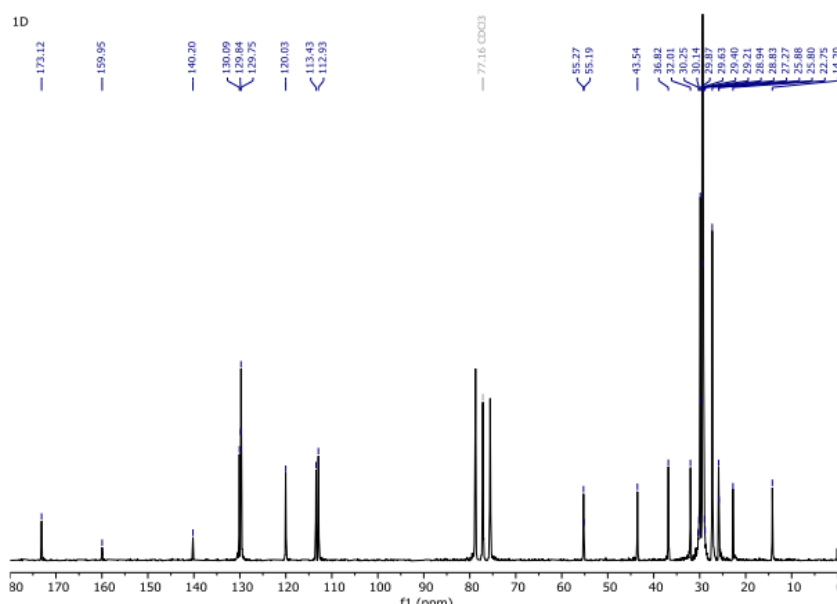


Figura 10. Espectro de RMN ^{13}C de oleamida

Linoleamida

^{13}C NMR Spectrum (20 MHz, CDCl_3): δ 173.15, 159.96, 140.14, 130.29, 130.09, 129.73, 128.12, 127.95, 120.03, 113.43, 112.89, 55.25, 43.53, 36.82, 31.60, 29.97, 29.72, 29.37, 29.19, 28.98, 27.27, 25.86, 25.68, 22.64, 14.16 (Fig. 11)

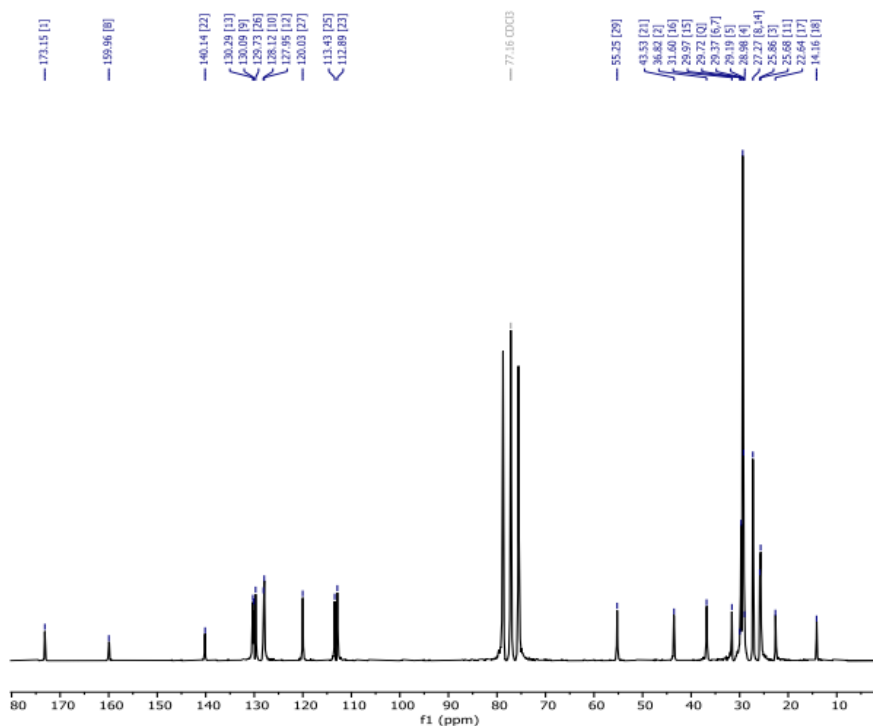


Figura 11. Espectro de RMN ^{13}C de linoleamida

Linolenamida

^{13}C NMR Spectrum (20 MHz, CDCl_3): δ 173.10, 160.00, 140.13, 132.11, 130.38, 129.84, 128.38, 128.36, 127.85, 127.24, 120.12, 113.51, 113.04, 55.32, 43.66, 36.91, 29.71, 29.40, 29.29, 29, 23, 27.31, 25.88, 25.74, 25.63, 20.65, 14.39. (Fig. 12)

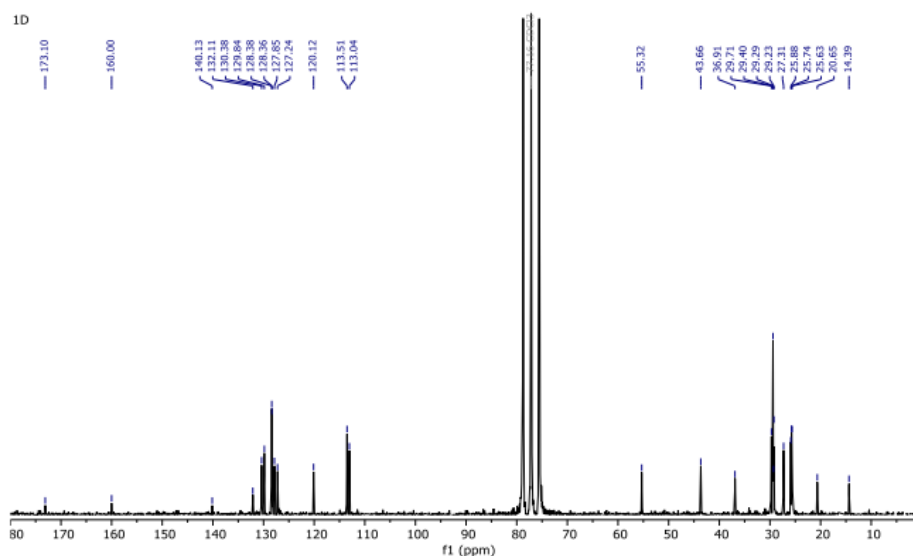


Figura 12. Espectro de RMN ^{13}C de linolenamida

Los espectros ^{13}C de las macamidas presentan señales que corresponden a diferentes grupos de carbonos lo cual muestran detalles concluyentes para determinar y validar las estructuras moleculares. Los resultados de la presente investigación son muy similares a aquellos reportados por Wu¹². Las estructuras de estas tres macamidas en estudio son similares y la única diferencia es en la cantidad de dobles enlaces carbono-carbono; de allí que se empezará un análisis de los grupos similares comparando los valores reportados¹² para oleamida, linoleamida y linolenamida y los de la presente investigación, respectivamente. El desplazamiento del carbono en el carbonilo en la sección $\text{R-NCONH-CH}_2\text{-R}$ ha sido reportado¹² a 173.12, 173.10 y 173.10 ppm, respectivamente. En la presente investigación, se ha encontrado los valores a 173.13, 173.15 y 173.10 ppm. El carbono meta del anillo aromático que tiene unido el grupo $-\text{OCH}_3$ es reportado¹² a 160.11, 160.13 y 160.13 ppm, respectivamente. Los resultados de la presente investigación son 159.95, 159.96 y 160.00, respectivamente. El carbono aromático 1 muestra los desplazamientos a 140.21, 140.23 y 140.22 ppm, respectivamente. Los resultados de esta investigación son 140.20, 140.14 y 140.13 ppm, respectivamente. El carbono del grupo metil en $-\text{OCH}_3$ ha sido reportado¹² a 55.46 ppm para las tres macamidas. En la presente investigación los valores son 55.27, 55.25 y 55.32, respectivamente. El carbono metilénico en $\text{RCONH-CH}_2\text{-Ar}$ tiene valores de 43.78 ppm para las tres macamidas; y en la presente investigación se ha encontrado que los desplazamientos son de 43.54, 43.53 y 43.66 ppm, respectivamente. El desplazamiento del carbono metilénico adyacente al grupo amido $-\text{CH}_2\text{NHCO-R}$ se ha encontrado los valores de 37.06, 37.05 y 37.05 ppm, respectivamente. En la presente investigación los valores son 36.82, 36.82 y 36.91 ppm, respectivamente. Finalmente, en el grupo metil terminal $-\text{CH}_3$ los desplazamientos reportados¹² son 14.36, 14.31 y 14.51 ppm,

respectivamente. En la presente investigación son de 14.19, 14.16 y 14.39 ppm, respectivamente.

Para la oleamida, los dos carbonos olefinicos se resuelven claramente apareciendo como picos distintivos entre 129.73-130.29 ppm (reportados¹² entre δ 129.99-130.23). De manera similar la linoleamida los cuatro carbonos olefinicos, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2$, muestran señales entre 127.95-130.29 ppm (reportados¹² entre δ 129.98-130.23). Los desplazamientos en la linolenamida en sus seis carbonos olefinicos muestran señales entre 127-132 ppm (reportados¹² entre 127 y 132).

Los valores de los desplazamientos en los carbonos alifáticos son muy similares para el caso de la oleamida y linoleamida; sin embargo, para el caso de la linolenamida la similitud es excelente. Esto puede explicarse de la siguiente manera: el carbono del grupo metilen adyacente al grupo metil terminal es considerado un carbono alílico por su proximidad al carbono 16 que posee un doble enlace carbono-carbono siendo el desplazamiento reportado¹² de 20.78 y en la presente investigación es de 20.65 ppm. Tomado en cuenta esto, la cantidad de carbonos metilen ($-\text{CH}_2-$) de carácter alifático, es decir aquellos que no tengan influencia de grupos funcionales vecinos, en la linolenamida es de 5 (fig.8, ver letra i e i_1), mientras que en la linoleamida es de 7 (Fig. 6, ver letra i e i_1 ; no se cuenta el metilen unido al grupo metil terminal) y en la oleamida de 10 (Fig. 3, letra h y h_1 ; no se cuenta el metilen unido al grupo metil terminal). Por lo que una mayor presencia de carbonos metilen hace que los desplazamientos químicos en algunos carbonos puedan ser muy similares e incluso podrían superponerse, aún en equipos de alta resolución. Por lo tanto, una menor cantidad de carbonos metilénicos indicará menos señales o desplazamientos y habrá menores posibilidades que estos se superpongan o se solapen.

Por lo tanto, con un análisis detallado de nuestros resultados en relación a los desplazamientos químicos de los espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C se puede afirmar la obtención de las macamidas propuestas.

CONCLUSIONES

El presente trabajo de investigación documenta el éxito en la síntesis y caracterización de macamidas bioactivas derivadas de *Lepidium meyenii* (maca), con un enfoque particular en tres compuestos clave: N-(3-metoxibencil)oleamida (oleamida), (9Z,12Z)-N-(3-metoxibencil)octadeca-9,12-dienamida (linoleamida) y (9Z,12Z,15Z)-N-(3-metoxibencil)octadeca-9,12,15-trienamida (linolenamida). El procedimiento desarrollado en este estudio abre nuevas posibilidades para la preparación de estos compuestos y su posterior identificación detallada.

Una de las principales innovaciones de esta investigación es el uso de un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN) de mesa (*benchtop NMR*), lo que permitió la caracterización de las macamidas sintetizadas. Esta tecnología representa una alternativa económica y accesible frente a los equipos tradicionales de RMN con frecuencias superiores a 400 MHz, ofreciendo análisis espectroscópicos detallados para aplicaciones prácticas en química orgánica, como por ejemplo en el estudio de productos naturales. Los equipos de RMN de mesa, a pesar de operar a frecuencias más bajas, proporcionan una opción más asequible en la elucidación de estructuras orgánicas siendo fáciles de usar, lo que facilita su aplicación en investigaciones sobre compuestos orgánicos. No obstante, haciendo uso de los datos de los espectros de RMN ^1H en la zona alifática hay cierta

limitación, pero esto se debe, principalmente, a la presencia de numerosos grupos metilen, cuyos desplazamientos son muy similares y no aparezcan la partición de señales previstas y estas se solapen o superpongan entre ellas; sin embargo, para la presente investigación esto se ha resuelto con el proceso de integración de las diferentes señales cuyos resultados han correspondido con los valores esperados. Los resultados obtenidos de los desplazamientos en los espectros de RMN de ^{13}C y haciendo un estudio detallado de estos han sido de mucha utilidad lo que ha permitido comprobar la veracidad de los resultados esperados.

Sin embargo, es importante mencionar que para poder confirmar las estructuras propuestas con los datos espectroscópicos ha sido indispensable el uso del software¹⁸ Mnova NMR. Asimismo, se hace necesario la combinación de los datos espectroscópicos con las tablas de desplazamiento¹⁹ protónico y de carbono ^{13}C ; usando ambos procesos se logra validar los resultados de las estructuras propuestas.

Además, la exitosa síntesis y caracterización de estas macamidas, conocidas por sus propiedades farmacológicas, como efectos neuroprotectores, antioxidantes y antitumorales, abre el camino para futuras investigaciones sobre sus aplicaciones medicinales y terapéuticas. La incorporación de la RMN de mesa en el proceso de síntesis y caracterización no solo impulsa el avance de la investigación en productos naturales, sino que también ofrece una valiosa herramienta educativa para estudiantes universitarios en etapas finales de sus estudios. Les proporciona una experiencia práctica en síntesis y análisis espectroscópico, cerrando la brecha entre el conocimiento teórico y las habilidades prácticas en laboratorio.

Finalmente, con los resultados de esta investigación se presenta un método eficiente y escalable para la síntesis y caracterización de macamidas bioactivas, utilizando equipos de RMN de mesa accesibles. Los hallazgos de esta investigación subrayan la importancia de las tecnologías innovadoras en el avance de la investigación de productos naturales y en la educación en química, allanando el camino para futuros avances en estos campos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Vice-Rectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María (UCSM) por su valioso apoyo, así como por el respaldo económico proporcionado mediante la Resolución No. 26571-R-2019, sin el cual la realización de este trabajo no habría sido posible.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Da Silva Leitao Peres N, Cabrera Parra Bortoluzzi L, Medeiros Marques L L, Formigoni M, Fuchs RHB, Droval AA, Reitz Cardoso FA. Medicinal effects of Peruvian maca (*Lepidium meyenii*): a review. *Food Funct.* 2020; 11: 83-92. <https://doi.org/10.1039/C9FO02732G>.
2. Wang S, Zhu F. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* 2019; 288: 422-443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.071>.

3. Dini A, Migliuolo G, Rastrelli L, Saturnino P, Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food Chem. 1994; 49: 347-349. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90003-5).
4. Chain FE, Grau A, Martins JC, Catalán, CAN. Macamides from wild ‘Maca’, *Lepidium meyenii* Walpers (Brassicaceae). Phytochemistry Letters. 2014; 8: 145-148. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.03.005>.
5. Zhou Y, Wang H, Guo F, Si N, Brantner A, Yang J, Han L, Wei X, Zhao H, Bian B. Integrated Proteomics and Lipidomics Investigation of the Mechanism Underlying the Neuroprotective Effect of N-benzylhexadecanamide. Molecules. 2018; 23(11): 2929. <https://doi.org/10.3390/molecules23112929>.
6. Yu Z, Li D, Zhai S, Xu H, Liu H, Ao M, Zhao C, Jin W, Yu L. Neuroprotective effects of macamide from maca (*Lepidium meyenii* Walp.) on corticosterone-induced hippocampal impairments through its anti-inflammatory, neurotrophic, and synaptic protection properties. Food Funct. 2021; 12: 9211–9228. <https://doi.org/10.1039/D1FO01720A>.
7. Guo SS, Gao XF, Gu YR, Wan ZX, Lu AM, Qin ZH, Luo L. Preservation of Cognitive Function by *Lepidium meyenii* (Maca) Is Associated with Improvement of Mitochondrial Activity and Upregulation of Autophagy-Related Proteins in Middle-Aged Mouse Cortex. Evid Based Complement Alternat Med. 2016; 2016: 4394261. <https://doi.org/10.1155/2016/4394261>.
8. Zhu H, Wang R, Hua H, Cheng Y, Guo Y, Qian H, Du P. Network Pharmacology Exploration Reveals Gut Microbiota Modulation as a Common Therapeutic Mechanism for Anti-Fatigue Effect Treated with Maca Compounds Prescription. Nutrients. 2022; 14(8): 1533. <https://doi.org/10.3390/nu14081533>.
9. Tao H, Shi H, Wang M, Xu Y. Macamide B suppresses lung cancer progression potentially via the ATM signaling pathway. Oncology Letters. 2023; 25: 115. <https://doi.org/10.3892/ol.2023.13701>.
10. Liu T, Peng Z, Lai W, Shao Y, Gao Q, He M, Zhou W, Guo L, Kang J, Jin X, Yin H. The Efficient Synthesis and Anti-Fatigue Activity Evaluation of Macamides: The Unique Bioactive Compounds in Maca. Molecules. 2023; 28(9): 3943. <https://doi.org/10.3390/molecules28093943>.
11. Almukadi H, Wu H, Böhlke M, Kelley CJ, Maher TJ, Pino-Figueroa A. The Macamide N-3-Methoxybenzyl-Linoleamide Is a Time-Dependent Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) Inhibitor. Mol Neurobiol 2013; 48: 333–339. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8499-2>.
12. Wu H, Kelley CJ, Pino-Figueroa A, Vu HD, Maher TJ. Macamides and their synthetic analogs: Evaluation of in vitro FAAH inhibition. Bioorgan Med Chem. 2013; 21: 5188–5197. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.06.034>.
13. Yábar E, Pedreschi R, Chirinos R, Campos D. Glucosinolate content and myrosinase activity evolution in three maca (*Lepidium meyenii* Walp.) ecotypes during preharvest, harvest and postharvest drying. Food Chem. 2011; 127: 1576-1583. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.021>.
14. Chen J, Zhao Q, Liu Y, Gong P, Cao L, Wang X, Zhao B. Macamides present in the commercial maca (*Lepidium meyenii*) products and the macamide biosynthesis affected by postharvest conditions. Int J Food Prop 2017; 20: 3112-3123. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1274905>.

15. Paul, R, Anderson, G.W. N, N'-Carbonyldiimidazole, a New Peptide Forming Reagent. J. Am. Chem. Soc. 1960, 82, 17, 4596–4600. <https://doi.org/10.1021/ja01502a038>
16. El-Faham, A, Albericio, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. Chem. Rev. 2011, 111, 11, 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>
17. Giberson J, Scicluna J, Legge N, Longstaffe J. Chapter Three: Developments in benchtop NMR spectroscopy 2015–2020. Annual Reports on NMR Spectroscopy. 2021; 102: 153-246. <https://doi.org/10.1016/bs.arnmr.2020.10.006>.
18. Mnova NMR Software for 1D and 2D NMR Data. <https://mestrelab.com/main-product/nmr>.
19. Silverstein RM, Webster FX, Kiemle DJ. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 7th Edition. Hoboken, NJ, USA. John Wiley & Sons. 2005.
20. Pavia DL, Lampman GM, Kriz GS, Vyvyan JR. Introduction to Spectroscopy. 5th Edition. Stamford, CT, USA. Cengage Learning. 2015.