

4-BROMOBENZAMIDOXIMA: ESTUDO SÍNÉTICO, CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E BIOENSAIO TOXICOLÓGICO FRENTE ÀS LARVAS DE ARTEMIA SALINA

Romário Jonas de Oliveira (1); Cosme Silva Santos (1); Josefa Aqueline da Cunha Lima (2);
Jadson de Farias Silva (3); Juliano Carlo Rufino de Freitas (4).

1 Universidade Federal Rural de Pernambuco, romario.jonas@live.com

1 Universidade Federal Rural de Pernambuco, cosme.quimica_21@hotmail.com

2 Universidade Federal Rural de Pernambuco, akelinecunha@gmail.com

3 Universidade Federal Rural de Pernambuco, jadson_nf@hotmail.com

4 Universidade Federal de Campina Grande, julianocrf@gmail.com

Resumo: As amidoximas pertencem a uma classe de compostos de inegável relevância tanto na indústria quanto no campo farmacológico devido alguns compostos terem atividade biológica comprovada, tais como antitumoral, antimicrobiano, anti-hipertensivo, entre outros. Em concordância com a importância desses compostos o presente trabalho objetivou sintetizar a 4-Bromobenzamidoxima e verificar sua toxicologia frente às larvas de *Artemia salina* Leach. A síntese da respectiva amidoxima foi realizada por um método descrito na literatura e caracterizada com as técnicas espectroscópicas usuais (RMN ¹H e ¹³C). O bioensaio toxicológico com *A. salina* apresentou uma CL₅₀ igual a 38,549 µg/mL o que caracteriza um valor altamente tóxico podendo a 4-Bromobenzamidoxima ser considerada propícia a possuir potencial atividade biológica.

Palavras-chave: amidoximas; química sintética; bioensaio toxicológico; *Artemia salina*.

Introdução

O primeiro relato do uso do nome Amidoxima foi descrito no ano de 1884 por Tiemann e Kruger pela síntese da mandelamidoxima e benzomidoxima. Ainda no ano de 1884 os autores também realizaram a caracterização desses materiais, no entanto, a primeira síntese de amidoximas foi desenvolvida em 1873 por Lossen e Schifferdecker, onde, a partir da reação entre o ácido cianídrico com a hidroxilamina, obtiveram um composto pertencente a classe das amidoximas, até então desconhecida, e o denominaram de *Isuretin* (TIEMANN & KRUGHER, 1884; TIEMANN & KRUGHER, 1884; LOSSEN & SCHIFFERDECKE, 1873).

De maneira geral, as amidoximas são compostos que apresentam em sua estrutura a porção RC(=NOH)NH₂ podendo R ser um hidrogênio, um grupo alquila ou um grupo arila. É inegável a relevância dessa classe de compostos em diversas áreas do conhecimento que permeiam desde a síntese de muitas substâncias, cabendo destacar diversos heterocíclicos como oxadiazóis (CAI et al., 2015), triazóis (XU et al., 2015), benzimidazóis (ZHU et al., 2012) entre outros (KUMAR et al., 2005; TANG et al., 2014; ZIENKIEWICZ et al., 2007), e também sua aplicação tanto no ramo industrial quanto biológico.

O potencial das amidoximas em relação a indústria e tecnologia é deveras interessante de modo

(83) 3322.3222

contato@conapesc.com.br

www.conapesc.com.br

que, há relatos na literatura da utilização das mesmas como agentes quelantes, podendo formar complexos com íons metálicos em solução aquosa objetivando a recuperação dos mesmos, como adsorvente de gases e ainda serem aplicadas no processo catalítico de reações de acoplamento para formação de novas ligações C-C, onde podemos citar a reação de Suzuki (ZHAO et al., 2014; METWALLY; AYOUB & ALY, 2013; WU et al., 2012). Também foi observado a utilidade de amidoximas na produção de embalagens e para revestimento de suporte para vernizes e tintas, além de filtro para cigarros e material de partida para novas fibras sintéticas (LEONARD, 1962).

No ramo biológico e farmacêutico as amidoximas podem ser empregadas como pró-fármacos na síntese de amidinas, objetivando uma melhora na biodisponibilidade, devido tornarem-se menos básicas e em condições fisiológicas não serem protonadas (ОВДІЙЧУК & ГОРДІЄНКО, 2016). Cabe destacar também, a gama de atividades biológicas que algumas amidoximas possuem, tais como, atividade antitumoral (FLORA; RIET & WAMPLER, 1978), antimicrobiana (SAEED, 2008), anti-histamínico BENN; CHARLTON & HARNER, 1962), anti-hipertensivo (MULL et al., 1958), e ainda anti-inflamatório/antioxidante (NICOLAIDES, 1998). Deste modo, o estudo das amidoximas e suas particularidades é muito promissor, cabendo aos pesquisadores realizar ensaios e testes, visando propriedades e aplicações ainda não exploradas com esse tipo de composto.

Um dos ensaios biológicos que vem tomando destaque por utilizar apenas morte ou sobrevivência de organismos como único parâmetro de análise, servindo como teste para o descobrimento de substâncias que venham a ter uma possível atividade biológica com base na toxicidade geral, além de ser de fácil manuseio e baixo custo, uma vez que não utiliza de aparelhagem especial e facilmente aloja um alto número de larvas, possibilitando validação estatística, garantindo um método confiável, é o bioensaio de toxicidade frente às larvas de *Artemia salina* Leach (RAJABI et al., 2015).

A *A. salina* é um pequeno organismo zooplânctônico pertencente ao filo artrópodes e mais especificamente ao subfilo crustáceo e pode ser encontrado em ambientes marinhos (salinas). Devido possuir elevada adaptabilidade e uma imensa distribuição geográfica é comumente utilizada na alimentação de diversos seres aquáticos (ATES et al., 2016). O ensaio com *A. salina* também permite a não utilização de ratos e camundongos em testes *in vivo* e pode ser utilizado como parâmetro para analisar diversas atividades biológicas, a citar antioxidante (SARAIVA et al., 2011), fototóxica (OJALA et al., 1999), larvicida (LUNA et al., 2005), citotóxica (CHOHAN et al., 2010), entre

outras (BAGHERI et al., 2010; NINO; CORREA & MOSQUERA, 2006).

Com os pressupostos citados é evidente tanto a importância das amidoximas e sua gama de aplicações quanto a facilidade e vantagens da realização dos ensaios biológicos utilizando *A. salina*, de modo que, há possibilidade de obtenção de uma nova resposta biológica partindo de um teste simples e de baixo custo. Por conseguinte, o objetivo deste estudo é sintetizar a 4-bromobenzamidoxima, caracteriza-la pelos métodos espectroscópicos usuais e avaliar sua toxicologia frente às larvas de *Artemia salina* Leach visando obtenção de uma potencial resposta biológica.

Metodologia

Local de Desenvolvimento do Estudo

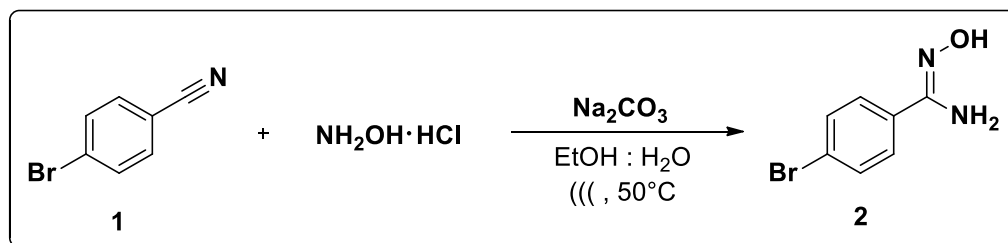
A síntese da 4-bromobenzamidoxima foi desenvolvida no Laboratório de Síntese Orgânica (LASO) do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité – PB, onde o mesmo é provido de toda aparelhagem necessária para o procedimento sintético. A caracterização do composto foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE e o ensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* foi realizado no laboratório de Toxicologia da Universidade Federal de Campina Grande, Campus Cuité – PB.

Procedimento Sintético

Os reagentes e solventes necessários à síntese foram obtidos comercialmente da Sigma Aldrich, Merck, Cinética e Vetec. Os solventes foram purificados de acordo com Armarego e Chai (2003) e o procedimento sintético para a síntese da 4-bromobenzamidoxima foi baseado na metodologia descrita por Srivastava e colaboradores (1997), onde em um balão de fundo redondo de 125 mL contendo 2,5 mmol (0,4551g) de 4-bromobenzonitrila (**1**) dissolvida em etanol (5 mL), adicionou-se solução composta por 7,5 mmol de cloridrato de hidroxilamina (0,518 g) e 3,7 mmol de carbonato de sódio (0,392 g) em 5 mL de água.

A mistura reacional foi submetida a irradiação por ultrassom em temperatura de 50°C durante período de 45 min. O monitoramento da reação foi verificado através de cromatografia de camada delgada (CCD) utilizando placas de sílica-gel e sistema de solvente hexano/acetato de etila (60:40). Para visualização das placas, foi utilizada luz ultravioleta. A mistura reacional foi concentrada por evaporação rotativa sob pressão reduzida. Adicionou-se 50 mL de acetato de etila e lavou-se com 50 mL de

solução saturada de cloreto de amônio. A fase orgânica foi separada, seca sob sulfato de sódio anidro e filtrada. O solvente foi removido por evaporação rotativa à pressão reduzida e o produto foi purificado por cristalização utilizando clorofórmio/hexano (90:10) como solventes levando a formação da 4-bromobenzamidoxima (**2**). O Esquema 01 mostra as condições reacionais descritas.



Esquema 01. Condições reacionais para síntese da 4-bromobenzamidoxima.

Caracterização

Após sintetizado, o composto **2** foi caracterizado pelos métodos espectroscópicos usuais: Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H) e de Carbono (RMN ^{13}C) em um espectrômetro VARIAN® modelo Unity Plus-300 utilizando como solvente o dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$). Para calibração do espectrômetro usou-se tetrametilsilano (0,00 ppm) como referência interna para os núcleos de ^1H e ^{13}C , e todas as constantes de acoplamento (J) foram descritas em hertz (Hz).

Ensaio Toxicológico

Uma vez sintetizado e caracterizado, o produto foi submetido ao ensaio toxicológico frente às larvas de *Artemia salina* Leach, com base no protocolo relatado por Meyer e colaboradores (1982). Onde utilizou-se uma amostra de 10 mg da 4-Bromobenzamidoxima e adicionou-se 50 μL de dimetilsulfóxido. Homogeneizou-se a solução e seu volume foi completado até 5 mL com água salina filtrada com $\text{pH} = 8,0$ (preparada a partir de 38 g de sal marinho Marinex® em 1 L de água destilada). Foram coletadas desta solução alíquotas de 375, 250, 187,5, 125, 87,5, 62,5 e 25 μL , estas, foram transferidas para balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com a solução salina obtendo concentrações de 150, 100, 75, 50, 35, 25 e 10 $\mu\text{g/mL}$.

O acompanhamento do teste foi realizado por meio de controle positivo utilizando água salina e $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ e controle negativo com apenas água salina artificial e o dimetilsulfóxido. Com relação as *Artemias salina*,

foram submetidos 20 mg de cistos à incubação sob iluminação artificial durante período de 48 horas para que as larvas eclodissem. Após a eclosão as larvas foram separadas em nove grupos com dez *A. salina* cada. Os dois primeiros grupos receberam a solução de controle positivo e controle negativo e os outros sete seguintes receberam a solução aquosa da 4-bromobenzamidoxima nas diferentes concentrações. Os nove grupos adicionados das soluções respectivas ficaram submetidos à iluminação artificial por um período de 24 horas, logo após, foram contabilizadas as quantidades de larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata.

Análise Estatística

Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL_{50}), foi utilizada a análise através do software POLO-PC (Copyright LeOra Software 1987).

Resultados e Discussão

O composto 4-Bromobenzamidoxima (**2**) foi obtido na forma de cristais de coloração branca com rendimento de 83%. Os dados de caracterização de RMN de 1H e RMN de ^{13}C estão de acordo com a literatura conforme o trabalho de Andrade, Freitas Filho e Freitas (2016), com RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 9,73 (s, 1H, OH); 7,62 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $H_{Aromáticos}$); 7,56 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $H_{Aromáticos}$); 5,85 (s, 2H, NH_2) e RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz): 149,9 (C-1); 132,6 (C-5); 131,0 (C-4 e 4'); 127,4 (C-3 e 3'); 122,1 (C-2). Os respectivos espectros são apresentados nas Figuras 01 e 02 respectivamente.

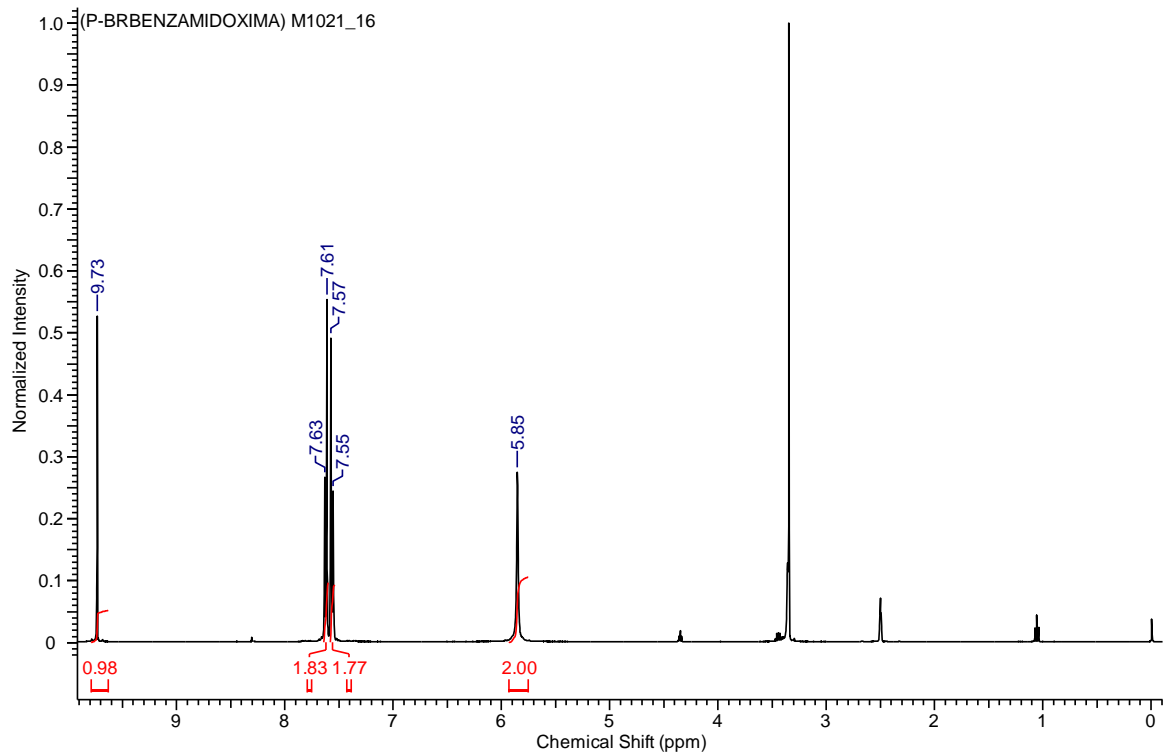


Figura 01. RMN ¹H do Composto 4-Bromobenzamidoxima.

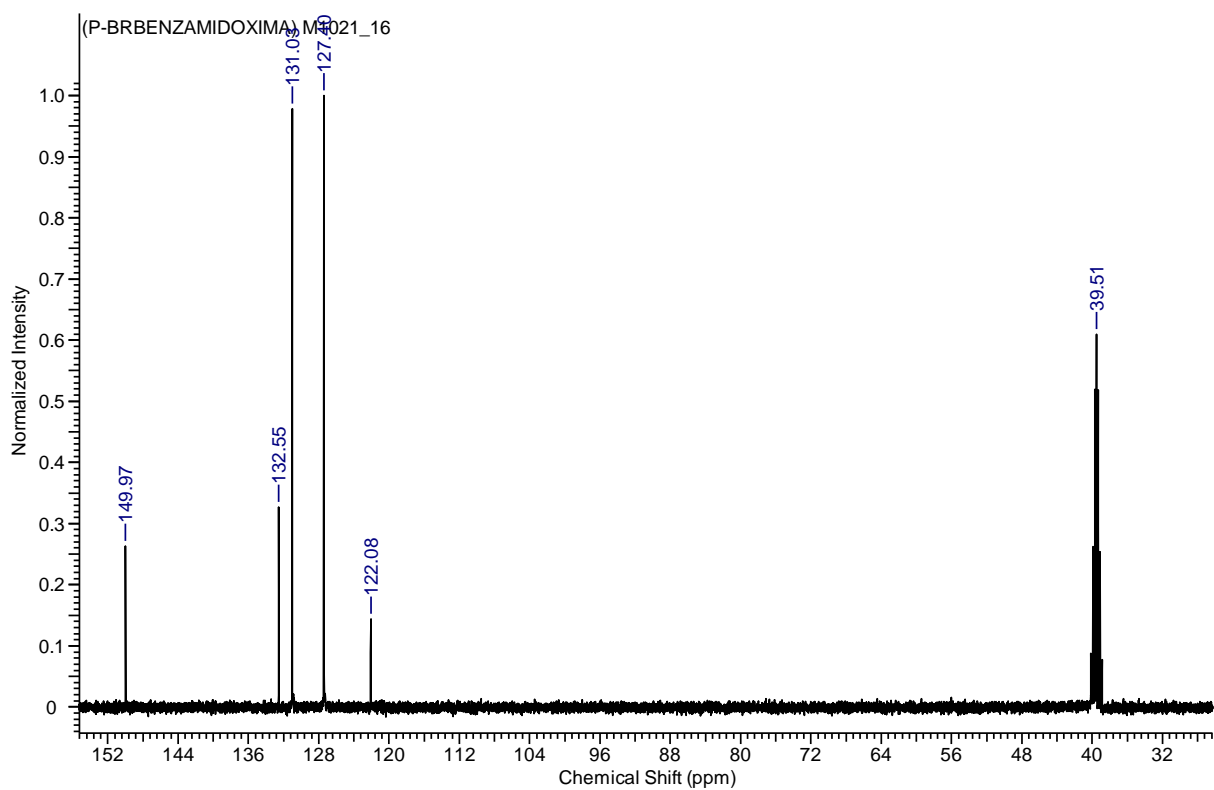


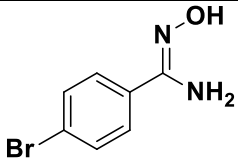
Figura 02. RMN ¹³C do Composto 4-Bromobenzamidoxima.

Uma vez sintetizado e caracterizado, o composto **2** foi submetido a avaliação de toxicidade frente às larvas do microcrustáceo *Artemia*

salina Leach, com taxa de mortalidade variando de 0 a 100%, que teve por objetivo determinar a concentração letal para matar 50% dos organismos (CL_{50}). Com a utilização do software *POLO-PC* foi encontrada a CL_{50} , com nível de confiança de 95%, igual a 38,549 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 1) com intervalo de confiança variando entre 38,085 a 39,013 $\mu\text{g/mL}$. O valor correspondente da CL_{50} do composto 4-Bromobenzamidoxima enquadra-se, segundo Merino e colaboradores (2015), em um valor de elevada toxicidade, uma vez que valores menores que 100 $\mu\text{g/mL}$ são considerados altamente tóxicos. De acordo com o estudo de Amarante e colaboradores (2011), índices de elevada toxicidade implicam que compostos que os apresentem podem vir a serem biologicamente ativos, de modo que, estudos de toxicidade com *A. salina* são muito importantes na busca de novos *hits* (compostos com atividade biológica comprovada).

Concordante com os resultados obtidos é de suma importância a utilização de bioensaios como o descrito neste estudo, que de maneira simples e com pouco custo, proporcionam dados relevantes que motivam novas pesquisas para a busca de candidatos a fármacos e que devido a CL_{50} encontrada para a amidoxima estudada, a mesma mostrou-se propícia a realização de outros testes pois pode ser potencialmente ativa em meio biológico.

Tabela 1 – Dados de toxicologia obtidos para a 4-Bromobenzamidoxima frente às larvas de *Artemia salina* Leach.

Composto	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Intervalo de Confiança ($\mu\text{g/mL}$)
 2	38,549	38,085 – 39,013

Conclusões

A 4-Bromobenzamidoxima foi obtida na forma de cristais brancos com um rendimento alto igual a 83%, seguindo a metodologia de Srivastava e Colaboradores (1997). A caracterização do composto foi realizada por meio de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C , onde a confirmação da estrutura do composto foi efetiva uma vez que os dados espectroscópicos corroboram com os relatados na

literatura e o bioensaio frente às larvas de *Artemia salina* Leach apresentou uma CL_{50} igual a 38,549 $\mu\text{g/mL}$, que demonstra que a 4-Bromobenzamidoxima é altamente tóxica de forma que a mesma pode apresentar uma potencial atividade biológica, motivando a utilização de outros testes biológicos a fim de obter dados ótimos.

Referências

AMARANTE, C. B.; MÜLLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 3, p. 431-434, 2011.

ANDRADE, D.; FREITAS FILHO, J. R.; FREITAS, J. C. R. Aplicação de Amidoximas como Catalisadores da Reação de Alilação por Aliltrifluoroborato de Potássio em Meio Bifásico. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1225-1235, 2016.

ARMAREGO, WILFRED L. E.; CHAI, CHRISTINA LI LIN. (2003). **Purification of Laboratory Chemicals**. Butterworth–Heinemann, 5th edition, United States.

ATES, M.; DEMIR, V.; ARSLAN, Z.; CAMAS, M.; CELIK, F. Toxicity of engineered nickel oxide and cobalt oxide nanoparticles to *Artemia salina* in seawater. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 227, n. 3, p. 70, 2016.

BAGHERI, S.; SAHEBKAR, A.; GOHARI, A.; SAEIDNIA, S.; MALMIR, M.; IRANSHAHI, M. Evaluation of cytotoxicity and anticonvulsant activity of some Iranian medicinal *Ferula* species. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 3, p. 242-246, 2010.

BENN, F.R.; CHARLTON, P. T.; HARNER, G. L. M. **British Patent**. 895, 495, 1962.

CAI, J.; WEI, H. T.; HONG, K. H.; WU, X. Q.; CAO, M.; ZONG, X.; LI, L. S.; SUN, C. L.; CHEN, J. Q.; JI, M. Discovery and preliminary evaluation of 2-aminobenzamide and hydroxamate derivatives containing 1,2,4-oxadiazole moiety as potent histone deacetylase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 96, n. 1, 2015.

CHOHAN, Z.; SUMRRA, S.; YOUSOUFI, M.; HADDA, T. Metal based biologically active compounds: Design, synthesis, and antibacterial/antifungal/cytotoxic properties of triazole-derived Schiff bases and their oxovanadium(IV) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 7, p. 2739-2747, 2010.

FLORA, K. P.; RIET, B. V.; WAMPLER, G. L. Antitumor Activity of Amidoximes (Hydroxyurea Analogs) in Murine Tumor Systems. **Cancer research**, v. 38, p. 1291-1295, 1978.

KUMAR, V.; MOHAN, C.; GUPTA, M.; MAHAJAN, M. P. A catalyst- and solvent-free selective approach to biologically important quinazolines and benzo[g]quinazoline. **Tetrahedron**, 61, 3533, 2005.

LEONARD, S. F. **Gevaert Photo Producten**, US3063951 A, 1962.

LOSSEN, W.; SCHIFFERDECKE, P. Ueber Isuretin, eine dem Harnstoff Isomere Base. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, 166,295, 1873.

LUNA, J.; DOS SANTOS, A.; DE LIMA, M.; DE OMENA, M.; DE MENDONCA, F.; BIEBER, L.; et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE A.; KULIK J.; MIGUEL M.; MIGUEL O. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4, p. 1031-1040, 2015.

METWALLY, S. S.; AYOUB, R. R.; ALY, H. F. Amidoximation of Cyano Group for Chelating Ion Exchange of Some Heavy Metal Ions from Wastewater. **Sep. Sci. Technol**, v. 48, p. 1830-1840, 2013.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MULL, R. P.; SCHMIDT, P.; DAPERO, M. R.; HIGGINS, J.; WEISBACH, M. J. Antihypertensively Active Amidoximes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, p. 3769, 1958.

NICOLAIES, D. N.; FYLAKTAKIDOU, K. C.; LITINAS, K. E.; HADJIPAVLOU- LITINA, D. Synthesis and biological evaluation of several coumarin-4-carboxamidoxime and 3-(coumarin-4-yl)-1,2,4-oxadiazole derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 33, p. 715-724, 1998.

NINO, J.; CORREA, Y.; MOSQUERA, O. Antibacterial, antifungal, and cytotoxic activities of 11 Solanaceae plants from Colombian biodiversity. **Pharmaceutical Biology**, v. 44, n. 1, p. 14-18, 2006.

О.В.ОВДІЙЧУК, О.В.ГОРДІЄНКО. АМІДОКСИМИ ТА ЇХ ЗАМАСКОВАНІ ПОХІДНІ ЯК ПРОЛІКИ АМІДИНІВ, МІМЕТИКІВ АРГІНІНУ. **Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry**, v. 14, n. 53, 2016.

OJALA, T.; VUORELA, P.; KIVIRANTA, J.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R. A bioassay using *Artemia salina* for detecting phototoxicity of plant coumarins. **Planta Medica**, v. 65, n. 8, p. 715-718, 1999.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJI T. *Artemia salina* as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

SAEED, K.; HAIDER, S.; OH, T. J.; PARK, S. Y. Preparation of amidoxime-modified polyacrylonitrile (PAN-oxime) nanofibers and their applications to metal ions adsorption. **Journal of Membrane Science**, v. 322, p. 400, 2008.

SARAIVA, A.; CASTRO, R.; CORDEIRO, R.; SOBRINHO, T.; CASTRO, V.; AMORIM, E.; et al. In vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and toxicity properties of extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (*Anacardiaceae*). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 14, p. 1724-1731, 2011.

SRIVASTAVA, R. M.; BRINN, I. M.; MACHUCA-HERRERA, J. O.; FARIA, H. B.; CARPENTER, G. B.; ANDRADE, D.; VENKATESH, C. G.; MORAIS, L. P. F. Benzamidoximes: structural, conformational and spectroscopic studies. I. **J. Mol. Struct**, 406, 159-167, 1997.

TANG, D.; LI, X. L.; GUO, X.; WU, P.; LI, J.-H.; WANG, K.; JING, H. W. Copper and zinc co-catalyzed synthesis of imidazoles via the activation of sp^3 C-H and N-H bonds. **Tetrahedron**, 70, 4038, 2014.

TIEMANN, F.; KRUGER, P. UEBER. Amidoxime und Azoxime. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 17, p. 1685, 1884.

TIEMANN, F.; KRUGER, P. Ueber Amidoxime und Azoxime. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 17, p. 1696, 1884.

WU, Z.-C.; HUANG, Y.; LU, Y.-N.; TAO, T.-X.; ZHANG, Z. Suzuki reactions of aryl bromides catalyzed by amidoxime fibers-palladiumII complex. **Catalysis Communications**, 29, 158, 2012.

XU, H.; MA, S.; XU, Y.; BIAN, L.; DING, T.; FANG, X.; ZHANG, W.; REN, Y. Copper-Catalyzed One-Pot Synthesis of 1,2,4-Triazoles from Nitriles and Hydroxylamine. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 80, p. 1789, 2015.

ZHU, J.; CHEN, Z.; XIE, H.; LI, S.; WU, Y. An efficient method to access 2-fluoroalkylbenzimidazoles by PIDA oxidation of amidines. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 133, p. 134, 2012.

ZHAO, Y.; LI, J.; ZHAO, L.; ZHANG, S.; HUANG, Y.; WU, X.; WANG, X. Synthesis of amidoxime-functionalized Fe₃O₄@SiO₂ core-shell magnetic microspheres for highly efficient sorption of U(VI). **Chem. Eng. J.**, v. 235, p. 275, 2014.

ZIENKIEWICZ, J.; FRYSZKOWSKA, A.; ZIENKIEWICZ, K.; GUO, F.; KASZYNSKI, P.; JANUSZKO, A.; JONES, D. Synthesis of Liquid Crystalline 4H-Benzo[1,2,4]thiadiazines and Generation of Persistent Radicals. **The Journal of Organic Chemistry**. 2007, 72, 3510.