УДК 547.917

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.2.14

СИНТЕЗ ПЕРВЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ГЛИКОЗИЛАМИНОФОСФОНАТОВ НА ОСНОВЕ D-ГЛЮКОЗАМИНА

© Л. Р. Хабибулина, Б. Ф. Гарифуллин*, А. Д. Волошина,
В. Е. Катаев

Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН
Россия, Республика Татарстан, 420088 г. Казань, ул. Академика Арбузова, 8.

Тел.: +7 (843) 273 93 65.

*Email: garifullin.bulat@iopc.ru

В рамках данной работы были впервые синтезированы два α -аминофосфоната, в которых фосфонатный фрагмент присоединен непосредственно к аминогруппе 2-дезоксид-2-амино-D-глюкопиранозы. Для полученных соединений было проведено комплексное исследование противомикробной активности и цитотоксичности в отношении раковых клеточных линий M-HeLa, MCF-7, Hs578 и PC3. Полученные гликозилфосфонаты продемонстрировали цитотоксичность в отношении исследованных раковых клеточных линий в концентрации 100 мкМ, при этом оба соединения обладают низкой токсичностью по отношению к здоровым клеткам WI38. Данные соединения не проявили антимикробную активность в отношении исследуемых микроорганизмов.

Ключевые слова: D-глюкозамин, α -аминофосфонаты, реакция Кабачника-Филдса, реакция Пудовика, гликофосфонаты.

Введение

В сознании большинства исследователей фосфорорганические соединения (ФОС) ассоциируются с высокотоксичными веществами. Однако это не всегда справедливо, и многие представители ФОС нашли применение как в промышленности [1], так и в медицине [2–3]. α -Аминофосфоновые кислоты занимают особое место среди фосфорорганических соединений, поскольку являются биоизостерами природных аминокислот, т.е. обладают очень похожей структурой и электронным строением (рис. 1) [4].

Рис. 1 – а) α -аминокислота;
б) α -аминофосфоновая кислота.

Благодаря этому α -аминофосфоновые кислоты могут действовать как антагонисты аминокислот и конкурируют с ними за активные центры ферментов или других клеточных рецепторов [4]. У различных представителей этого класса ФОС обнаруживается антибиотическая [5], противовирусная [6–7], противоопухолевая [8] активности в сочетании, как правило, с невысокой токсичностью [6–9]. Помимо разноплановой биологической активности, некоторые α -аминофосфонаты используются в сельском хозяйстве в качестве регуляторов роста, фунгицидов, вирулицидов растений и гербицидов [10].

Среди всего многообразия α -аминофосфонатов значительный интерес вызывают глико-

зилфосфонаты, которые, являясь структурными аналогами природных гликозил-фосфатов, способны встраиваться в метаболические пути углеводного обмена. При этом они обладают Р-С-связью, устойчивой к гидролизу фосфатазами, что позволяет им сохраняться в межклеточной среде в неизменном виде [4]. Эти особенности гликозилфосфонатов делают их перспективными объектами с высоким потенциалом биологической активности [11].

Экспериментальная часть

О,О-диэтил- α -(2-дезоксид-1,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозил)аминометилфосфонат 6. 3,4,6-Три-окси-ацетил-2-дезоксид-2-амино-D-глюкопиранозу 5 0.86 г (2.48 ммоль) растворили в 130 мл изопропанола. После, нагревая раствор до 40 °С, добавили 0.41 г (2.97 ммоль) диэтилфосфита и 0.2 мл (2.93 ммоль) формалина. Перемешивали реакционную смесь в токе инертного газа (аргон) в течение часа. Затем реакционную смесь сконцентрировали в вакууме. Получили 0.65 г желтого масла, которое подвергли флеш-хроматографии среднего давления градиентом элюентов петролейный эфир:этилацетат (2:1→1:2). Диэтил-1,3,4,6-тетра-окси-ацетил-2-дезоксид-2-аминометил-диэтилфосфонат 7 был выделен в виде бесцветного закристаллизованного масла с выходом 0.1 г (8%). $[\alpha]_D^{20} = +22.1$ (с 0.90, CH₃OH). Спектр ¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ , м.д.: 1.25-1.4 (м, 6H, P(OCH₂CH₃)₂), 1.98-2.19 (м, 12H, OCOCH₃), 2.89-2.97 (м, 1H, H-2), 2.98-3.15 (м, 2H, NCH₂P), 3.76 (с, 1H, NH), 4.03-4.15 (м, 6H, P(OCH₂CH₃)₂, H-5, H-6a), 4.28 (дд, 1H, J = 12.18, 4.3 Гц, H-6b), 5.0-5.06 (м, 2H, H-3, H-4), 5.52 (д, 1H, J = 8.5 Гц, H-1) Спектр ¹³C ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ , м.д.: 16.55, 16.58 (P(OCH₂(CH₃)₂)), 20.72, 20.82, 20.86, 21.15,

(OCOCH_3), 43.15(NHCH_2), 61.59 (C-2), 61.89 (C-6), 62.30, 62.46 ($\text{P}(\text{OCH}_2)_2$), 68.47 (C-4), 72.72 (C-3), 73.42 (C-5), 94.80 (C-1), 169.03, 169.71, 170.72, 170.88 (OCOCH_3). ^{31}P ЯМР (CDCl_3) δ , м.д.: 24.88. M , m/z 520.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

О,О-диэтил- α -(2-дезоксид-1,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозил)аминопропан-2-илфосфонат 8. 1,3,4,6-Тетра-окси-ацетил-2-дезоксид-2-изопропилиденамино-D-глюкопиранозу **6** 0.44 г (1.14 ммоль) растворили в 1 мл диэтилфосфита. Перемешивали при комнатной температуре 72 ч. Затем отогнали избыток диэтилфосфита и получили 0.53 г. Остаток подвергли флеш-хроматографии среднего давления градиентом элюентов петролейный эфир:этилацетат (2:3→1:3). Диэтил-1,3,4,6-тетра-окси-ацетил-2-дезоксид-2-пропилиденамино-фосфонат **8** был выделен в виде бесцветного закристаллизованного масла с выходом 0.07 г (12%). $[\alpha]_D^{20} = +3.0$ (с 0.95, CHCl_3). Спектр ^1H ЯМР (600 МГц, CDCl_3) δ , м.д.: 1.19–1.35 (м, 12H, $\text{P}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$, $\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$), 2.00–2.13 (м, 12H, OCOCH_3), 3.13 (т, 1H, $J = 8.9$ Гц, H-2), 3.74–3.80 (м, 1H, H-5), 4.07–4.10 (м, 5H, H-6a, $\text{P}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$), 4.29 (дд, 1H, $J = 12.4$, 4.6 Гц, H-6b), 4.95 (т, 1H, $J = 7.0$ Гц, H-3), 5.02 (т, 1H, $J = 9.5$ Гц, H-4), 5.41 (д, 1H, $J = 8.2$ Гц, H-1). ^{13}C ЯМР (151 МГц, CDCl_3) δ , м.д.: 16.61, 16.64 ($\text{P}(\text{OCH}_2(\text{CH}_3)_2)$), 20.72, 20.83, 21.12, 21.18 (OCOCH_3), 23.57, 23.88 ($\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$), 52.91 (C-2), 54.73 ($\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$), 62.01 (C-6), 62.55, 62.60 ($\text{P}(\text{OCH}_2)_2$), 68.56 (C-4), 72.64 (C-3), 74.47 (C-5), 95.11 (C-1), 169.17, 169.70, 170.73, 170.91 (OCOCH_3). ^{31}P ЯМР (CDCl_3) δ , м.д.: 29.41. M , m/z 548.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Антимикробная активность in vitro соединений **6** и **8** в диапазоне концентраций (500–0.97 мг/л). В качестве тест-объектов использовали культуры грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC 209p (Sa), *Bacillus cereus* ATCC 8035 (Bc); грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* CDC F-50 (Ec), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027(Pa) и грибов *Aspergillus niger* BKMFI-1119 (An), *Trichophyton mentagrophytes* var. *gypseum* 1773 Tm, *Candida albicans* 855-653(Ca). Бактериостатические и фунгистатические свойства изучали методом серийных разведений в жидких питательных средах, определяя МИК, т.е. минимальную ингибирующую концентрацию, которая подавляет рост соответствующего тест-штамма.

Измерение цитотоксичности проводили на опухолевых культурах клеток М-HeLa клон 11 (эпителиоидная карцинома шейки матки, сублиния HeLa., клон М-HeLa), HuTu 80 – аденокарцинома двенадцатиперстной кишки человека; MCF7 – аденокарцинома молочной железы человека (плевральная жидкость); PC3 – клеточная линия аденокарциномы предстательной железы из ATCC (American Type Cell Collection, USA; CRL 1435) и

здоровой клеточной линии WI38 – VA 13 subline 2RA – легкое эмбриона человека из коллекции Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Цитотоксическое действие определяли путем подсчета жизнеспособных клеток с помощью многофункциональной системы Cytell Cell Imaging (GE Healthcare Life Science, Швеция), используя приложение Cell Viability BioApp, которое позволяет точно подсчитать количество клеток, оценить их жизнеспособность на основании интенсивности флуоресценции.

Результаты и их обсуждение

Для синтеза целевых соединений был использован широко распространенный способ синтеза α -аминофосфонатов – реакция Кабачника-Филдса. Она представляет собой трехкомпонентную реакцию между гидрофосфорильным, карбонильным и аминным прекурсорами с образованием α -аминофосфонатов [12], как показано на схеме 1.

Для синтеза α -аминофосфоната **6** по реакции Кабачника-Филдса в качестве гидрофосфорильного производного взяли диэтилфосфит (ДФФ), а в роли карбонильного соединения выступил формальдегид. В качестве исходного амина была использована 1,3,4,6-тетра-ацетил-2-дезоксид-2-амино- β -D-глюкопираноза **5**, синтезированная по известным литературным методикам непосредственно из гидрохлорида глюкозамина [13–14] в четыре стадии. Сначала аминогруппу глюкозамина защитили 4-метоксибензальдегидом, чтобы на следующем этапе проацетилировать свободные гидроксильные группы. Затем удалили 4-метоксибензальдегидную защиту в кислых условиях, а полученный гидрохлорид **4** перевели в форму свободного амина **5**, выделенного в виде индивидуального β -аномера. Спектральные характеристики 1,3,4,6-тетра-ацетил-2-дезоксид-2-амино- β -D-глюкопиранозы **5** соответствовали литературным [13–14].

Синтез α -аминофосфоната **6** проводили в изопропанол при нагревании до 65 °С. После окончания реакции продукт **6** был выделен с небольшим выходом в 8%. На образование α -аминофосфоната **6** указывает сигнал в спектре ^{31}P ЯМР при 24.9 м.д., что соответствует образованию связи Р-С. В спектре ПМР появляется сигнал протонов метиленовой группы в форме мультиплета N-CH₂-P от 3.06 м.д. до 3.14 м.д., а сигнал аминогруппы тетраацетата глюкозамина **5** в форме уширенного синглета при 1.2 м.д. исчезает и появляется сигнал вторичной аминогруппы при 3.76 м.д. в той же форме. В масс-спектре ESI наблюдается пик молекулярного иона α -аминофосфоната **6** – 520.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ m/z , M 497.43.

Схема 1

Реагенты и условия: *i*) $n\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CHO}$, 5M NaOH; *ii*) Ac_2O , Py; *iii*) HCl, $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$; *iv*) 0.75M NaHCO_3 ; *v*) $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{H}$, $\text{H}_2\text{C}(\text{O})$, $i\text{-PrOH}$.

Схема 2

Реагенты и условия: *i*) $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, Ar; *ii*) $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{H}$, Ar.

Для синтеза соединения **8** использовался другой способ получения α -аминофосфонатов – присоединение гидрофосфорильных соединений к иминам, известное как реакция Пудовика, являющееся, по сути, второй стадией реакции Кабачника-Филдса. Необходимый для синтеза α -аминофосфоната **8** имин **7** получили реакцией тетраацетата глюкозамина **5** с безводным ацетоном по известной литературной методике [15]. Затем имин **7** растворили в диэтилфосфите, реакционную смесь перемешивали при температуре 80°C , после чего α -аминофосфонат **8** выделили при помощи хроматографии с небольшим выходом 12%. На образование продукта **8** указывает сигнал в спектре ^{31}P ЯМР при 29.4 м.д., что говорит об образовании связи P-C.

Превращение ацетониминной группы соединения **7** в изопропильную α -аминофосфоната **8** находит отражение в спектре ПМР в виде смещения синглетов метильных групп от 1.90 м.д. и 1.93 м.д. к 1.22 м.д. и 1.25 м.д. В масс-спектре ESI наблюдается пик молекулярного иона 548.2 $[M+\text{Na}]^+$ m/z , M 525.48 α -аминофосфоната **8**. Для впервые синтезированных гликофосфонатов **6** и **8** было проведено комплексное исследование на противоопухолевую и антимикробную активность. Оказалось, что гликофосфонаты **6** и **8** в диапазоне исследованных концентраций (500–0,97 мг/л) не обладают антимикробной активностью. Данные цитотоксического действия гликофосфонатов представлены в графиках 1а и 1б.

График 1. Жизнеспособность клеток, рассчитанная в процентах от контроля: а) соединения **6**; б) соединения **8**.

Из полученных данных видно, что в концентрации 100 мкМ оба соединения угнетают жизне-способность раковых клеток. При этом гликозил-фосфонат **6** демонстрирует большую цитотоксичность, чем гликозилфосфонат **8**, и при этом они обладают низкой токсичностью по отношению к здоровым клеткам WI38. Наибольшую цитотоксичность соединение **8** демонстрирует в отношении клеточной линии MCF-7, при обработке 100 мкМ раствором гликофосфоната **8** этой клеточной культуры выживает только 12% раковых клеток. Можно предположить, что более высокая цитотоксичность α -аминофосфоната **8** по сравнению с α -аминофосфонатом **6** обусловлена его более высокой липофильностью, что позволяет ему легче проникать через клеточную мембрану. Поэтому целесообразным представляется дальнейший синтез гомологов гликозилфосфонатов **6** и **8** с заместителями большей липофильности в фосфонатном фрагменте и, соответственно, большей биодоступностью.

Выводы

Таким образом, были получены неизвестные ранее гликозилфосфонаты **6** и **8** на основе D-глюкозамина. Для синтеза этих соединений были опробованы прямые методы синтеза α -аминофосфонатов – реакции Кабачника-Филдса и Пудовика. Была исследована биологическая активность соединений **6** и **8**. Оказалось, что эти соединения не обладают антимикробной активностью, но демонстрируют цитотоксичность в отношении раковых клеточных линий в концентрации 100 мкМ.

Авторы благодарят ЦКП-САЦ ФИЦ КазНЦ РАН за техническую поддержку проведенных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Svara J., Weferling N., Hofmann T. Phosphorus Compounds, Organic // Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2000. Vol. 27. Pp. 19–49.
2. Hendlin D., Stapley E. O., Jackson M., Wallick H., Miller A. K., Wolf F. J., T., Miller W., Chalet L., Kahan F.M., Foltz E. L., Woodruff H. B., Mata J. M., Hernandez S., Mochales S. Phosphonomycin, a New Antibiotic Produced by Strains of Streptomyces // Science. 1969. Vol. 166. No 3901. Pp. 122–123.
3. Wisel A., Studentsova I., Muslinkin A., Garaev R., Dani-lov V., Schukina L., Khafizyanova R., Ziganshina L. Synthesis and Therapeutic Use of Dimephosphone // Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem. 1999. Vol. 147. No 1. Pp. 427–427.
4. Kafarski P.; Lejczak B. Biological activity of aminophosphonic acids // Phosphorus Sulfur Silicon Relat. El-em 1991. Vol. 63, Pp. 193–215.
5. Yuan Ch., Li Sh., Li Ch., Chen Sh., Huang W., Wang G., Pan Ch., Zhang Y. New Strategy for the Synthesis of Functional-ized Phosphonic Acids // Heteroat. Chem. 1997. Vol. 8. Pp. 103–122.
6. Huang J., Chen R. An Overview of Recent Advances on the Synthesis and Biological Activity of α -Aminophosphonic Acid Derivatives // Heteroat. Chem. 2000. Vol. 11. Pp. 480–492.
7. Xu Y., Yan K., Song B., Xu G., Yang S., Xue W., Hu D., Lu P., Ouyang G., Jin L., Chen Z. Synthesis and Antiviral Bi-oactivities of α -Aminophosphonates Containing Alkoxyethyl Moieties // Molecules. 2006. Vol. 11. Pp. 666–676.
8. Rao X., Song Zh., He L. Synthesis and antitumor activity of novel α -aminophosphonates from diterpenic dehydroabietylamine // Heteroat. Chem. 2008. Vol. 19. No 5. Pp. 512–516.
9. Hudson H. R., Volckman J. F. The preparation of α -aminopropanephosphonic acid via the catalyzed hydrogenation of dimethyl or diethyl α -hydroxyiminopropanephosphonate // Chem. Engineering. 2010. Vol. 54. No 1. Pp. 9–14.
10. Yang S., Gao X.-W., Diao Ch.-L., Song B.-A., Jin L.-H., Xu G.-F., Zhang G.-P., Wang W., Hu D.-Y., Xue W., Zhou X., Lu P. Synthesis and Antifungal Activity of Novel Chiral α -Aminophosphonates Containing Fluorine Moiety // Chinese J. Chem. 2006. Vol. 24. Pp. 1581–1588.
11. Grison C., Chibli H. Concise Synthesis of P-Glycosyl Alkenylphosphonates and P,C-di and P,P,C tri-Glycosyl Phosphonates // J. Carbohydr. Chem. 2009. Vol. 28. Pp. 12–38.
12. Черкасов Р. А., Галкин В. И. Реакция Кабачника-Филдса: синтетический потенциал и проблема механизма // Усп. хим. 1998, Т. 67. №10. С. 940–968.
13. Chauvière G., Bouteille B., Enanga B., de Albuquerque C., Croft S. L., Dumas M., Périé J. Synthesis and Biological Activity of Ni-tro Heterocycles Analogous to Megazol, a Trypanocidal Lead // J. Med. Chem. 2003. Vol. 46. No 3. Pp. 427–440.
14. Kyas A., Feigel M. Differently Glycosidated 2-Amino-2-deoxy-d-glucopyranosiduronic Acids as Building Blocks in Peptide Syn-thesis // Helv. Chem. Acta 2005. Vol. 88. Pp. 2375–2396.
15. Pérez E.M.S., Ávalos M., Babiano R., Cintas P., Light M. E., Jiménez J. L., Palacios J.C.a, Sancho A. Schiff bases from D-glucosamine and aliphatic ketones // Carbohydr. Res. 2010. Vol. 345. Pp. 23–32.

Поступила в редакцию 12.05.2021 г.

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2021.2.14

THE SYNTHESIS OF FIRST REPRESENTATIVES OF GLYCOSYL AMINO PHOSPHONATES BASED ON THE D-GLUCOSAMINE

© L. R. Khabibulina, B. F. Garifullin*, A. D. Voloshina, V. E. Kataev

*Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Center of RAS
8 Arbuzov Street, 420088 Kazan, Russian Federation.*

Phone: +7 (843) 273 93 65.

**Email: garifullin.bulat@iopc.ru*

α -Aminophosphonic acids are bioisosteres of natural amino acids, and they can act as antagonists of amino acids in active centers of enzymes or other cellular receptors. Some α -aminophosphonates may demonstrate antibiotic, antiviral, anticancer activities usually in combination with low toxicity. In this work, two α -aminophosphonates were synthesized for the first time in which the phosphonate moiety was attached to the amino group of 2-deoxy-2-amino-D-glucopyranose. The three-component Kabachnik-Fields reaction and its two-component variation, the Pudovik reaction, were used to synthesize these compounds. A comprehensive study was carried out for antimicrobial activity. It was discovered that both compounds do not inhibit the growth of the test microorganisms. For the synthesized compounds, the anticancer activity was also measured against a number of tumor cell lines: cervical epithelioid carcinoma (M-HeLa), breast adenocarcinoma (MCF-7), human duodenal adenocarcinoma (HuTu 80), and prostate adenocarcinoma (PC3) cell lines. These compounds demonstrated cytotoxicity against studied cancer cell lines at concentration of 100 μ M and low toxicity to healthy human embryo lung cells (WI38). The largest decrease in the viability of MCF-7 cell line was demonstrated by one of the compounds, which was 88% at the concentration of 100 μ M.

Keywords: D-glucosamine, α -aminophosphonates, Kabachnik-Fields reaction, Pudovik reaction, glycoyl phosphonates.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Svava J., Weferling N., Hofmann T. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2000. Vol. 27. Pp. 19–49.
2. Hendlin D., Stapley E. O., Jackson M., Wallick H., Miller A. K., Wolf F. J., T., Miller W., Chaiet L., Kahan F.M., Foltz E. L., Woodruff H. B., Mata J. M., Hernandez S., Mochales S. Science. 1969. Vol. 166. No 3901. Pp. 122–123.
3. Wisel A., Studentsova I., Muslinkin A., Garaev R., Dani-lov V., Schukina L., Khafizyanova R., Ziganshina L. Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem. 1999. Vol. 147. No 1. Pp. 427–427.
4. Kafarski P.; Lejczak B. Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem 1991. Vol. 63, Pp. 193–215.
5. Yuan Ch., Li Sh., Li Ch., Chen Sh., Huang W., Wang G., Pan Ch., Zhang Y. Heteroat. Chem. 1997. Vol. 8. Pp. 103–122.
6. Huang J., Chen R. Heteroat. Chem. 2000. Vol. 11. Pp. 480–492.
7. Xu Y., Yan K., Song B., Xu G., Yang S., Xue W., Hu D., Lu P., Ouyang G., Jin L., Chen Z. Molecules. 2006. Vol. 11. Pp. 666–676.
8. Rao X., Song Zh., He L. Heteroat. Chem. 2008. Vol. 19. No 5. Pp. 512–516.
9. Hudson H. R., Volckman J. F. Chem. Engineering. 2010. Vol. 54. No 1. Pp. 9–14.
10. Yang S., Gao X.-W., Diao Ch.-L., Song B.-A., Jin L.-H., Xu G.-F., Zhang G.-P., Wang W., Hu D.-Y., Xue W., Zhou X., Lu P. Chinese J. Chem. 2006. Vol. 24. Pp. 1581–1588.
11. Grison C., Chibli H. J. Carbohydr. Chem. 2009. Vol. 28. Pp. 12–38.
12. Cherkasov R. A., Galkin V. I. Usp. khim. 1998, T. 67. No. 10. Pp. 940–968.
13. Chauvière G., Bouteille B., Enanga B. J. Med. Chem. 2003. Vol. 46. No 3. Pp. 427–440.
14. Kyas A., Feigel M. Helv. Chem. Acta 2005. Vol. 88. Pp. 2375–2396.
15. Pérez E.M.S., Ávalos M., Babiano R., Cintas P., Light M. E., Jiménez J. L., Palacios J.C.a, Sancho A. Carbohydr. Res. 2010. Vol. 345. Pp. 23–32.

Received 12.05.2021.