

Megemlékezés Lipták András nemzetközileg elismert szénhidrátkémikusról

ANTUS Sándor*

Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf.20

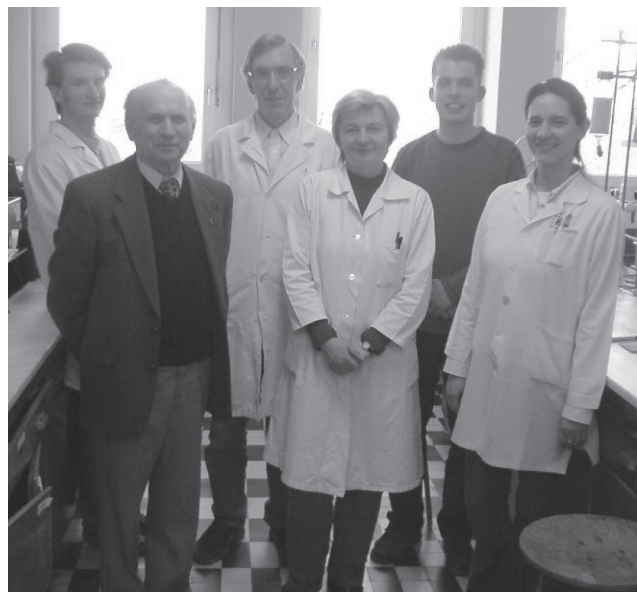
A szénhidrátkémia nemzetközileg elismert művelőjének Lipták András Széchenyi-díjas akadémikus, egyetemi tanárnak, Debrecen város díszpolgárának 2012. június 11.-én bekövetkezett halálával pótolhatatlan veszteség érte a magyar tudományos életet. Széles körű nemzetközi elismertséget kiváltó tudományos és magas színvonalú lelkiismeretes oktatói munkájával, valamint sikeres tudományszervezői tevékenységével fél évszázadon keresztül hazánk szellemi felemelkedésén fáradozhatatlanul munkálkodott.



Lipták András szénhidrátkémiával Bognár Rezső (1913-1990) akadémikus munkatársaként a Kossuth Lajos Tudományegyetem (KLTE) Szerves Kémiai Tanszékén 1961-1966 között ismerkedett meg. Az 1961-ben a kitüntetéses vegyész diplomájának megszerzése után ugyanis Bognár professzor úr mellett lett gyakornok, majd egy év elteltével már tanársegédként a szénhidrát kémia egyik alapvető kérdésének, a glikozidos kötés térállásának meghatározásával foglalkozott. Ebben az időben a glikozidos kötés térállásának meghatározására a glikozidáz enzimekkel végzett kémiai vizsgálatok mellett a nátrium D-vonalán ($\lambda = 589.3$ nm) mért fajlagos forgatóképesség mérését használták. Ez a fizikai adat a vizsgált molekula kiralitására jellemző *optikai rotációs diszperziós* (ORD) görbe egy pontja, melynek az oldószerrel függő előjeléből és abszolút értékéből a glikozidos kötés térállására lehetett esetenként helyesen következtetni. Ezen összefüggés alaposabb tanulmányozása kapcsán a 19. század utolsó évtizedeiben már számos empirikus szabályt ismertek fel. Ilyen például a szénhidrátok körében megfogalmazott ún. Hudson szabály¹ is, melynek O- és N-glikozidokra történő kiterjesztésével foglalkozott. Eredményeit 1966-ban sikerrel megvédett egyetemi doktori értekezésében foglalta össze² és ezzel jelentősen hozzájárult a magyar kiroptikai spektroszkópia alapjainak lerakásához.

1967-ben az egyetem Természettudományi Karán folyó molekuláris szemléletű biológiaoktatást bevezetve Nánási Pál professzorral (1923-2013) a Biokémiai Tanszékét alapította meg és tudományos érdeklődése a szénhidrátok kémiájának széles területét felölelve egyre inkább a biológiailag aktív poli- és oligoszacharidok kémiai szintézise és hatásuk és szerkezetük közötti összefüggések feltárása felé fordult.

1974-ben a kémiai tudományok kandidátusa,³ 1983-ban pedig a kémiai tudományok doktora lett⁴. 1984-ben egyetemi tanári kinevezést kapott a KLTE Biokémiai Tanszékére, melyet 1988 és 2000 között tanszékvezetőként irányított. Az irányításával folyó eredményes szénhidrát-kémiai kutatások támogatására a Magyar Tudományos Akadémia (MTA) 1996-ban tanszéki kutatócsoportot létesített, melynek munkáját 2005-ig irányította.



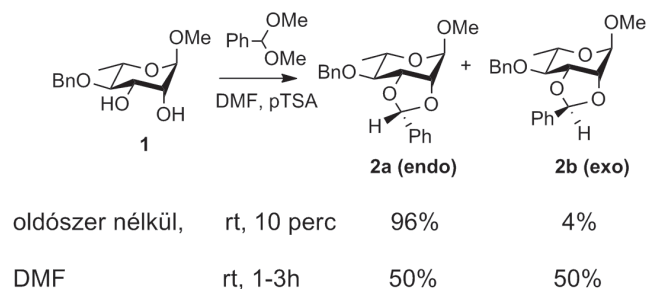
Ezt követően a Szénhidrátkémiai Kutatócsoport a vezetésemmel a Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékére került, ahol Lipták András akadémikus tudásának legjavát adva professzor emeritusként haláláig segítette a munkánkat.

Szénhidrátok és származékaik szintézisének a legnehezebb feladat a megfelelő védőcsoport-stratégia és kapcsolási módszer megválasztása, illetve az adott célvegyülethez legjobban használható eljárás kidolgozása. Az elmúlt négy évtizedben ezen a területen Lipták akadémikus kutatócsoportjában hatalmas ismeretanyag gyűlt össze. A továbbiakban a teljesség igénye nélkül néhány olyan eredményt ismertetek röviden, melyek megítélésem szerint

* e-mail: antuss@tigris.unideb.hu

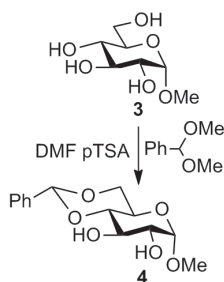
megalapozták Lipták András akadémikus a szénhidrátkémia területen szerzett nemzetközi elismertségét, valamint nagy ívű kémiai elképzeléseinek megvalósításában munkatársaként én is részt vettem.

Az összetett szerkezetű poli- és oligoszacharidok előállításának lehetőségét elsősorban a szénhidrátokkal képzett acetálok és ketálok előállításának és átalakításuknak beható tanulmányozása teremtette meg.



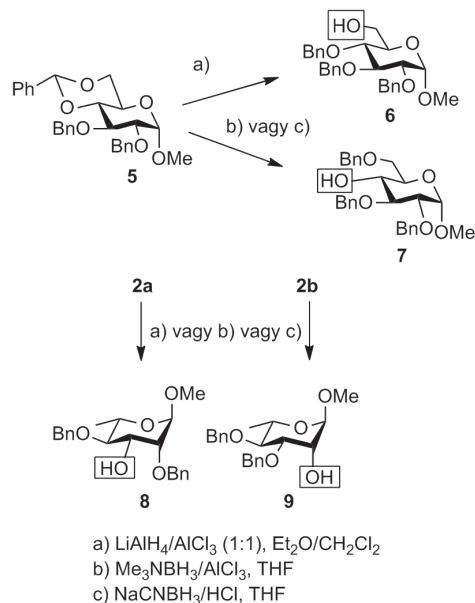
1. Ábra. 1,3 Dioxolán típusú benzilidén-acetálok előállítása.

A monoszacharidok körében megfigyelték ugyanis, hogy benzilidén-acetálok,⁵ valamint izopropilidén⁶- és fenilmetil-ketálok⁷ előállítása legkedvezőbbben a megfelelő oxovegyületekből képzett dimetil-acetáljaikkal, illetve -ketáljaikkal savkatalizált cserereakcióval valósítható meg. A dioxolán gyűrűs benzilidén-acetálok előállításakor azt tapasztalták, hogy az oldószer nélkül 10 percig végzett cserereakció során a kinetikus kontroll érvényesült és 96%-os termeléssel az *endo*-fenil izomer (**2a**) keletkezett, míg dimetilformaidban (DMF) az *endo* és *exo* izomerek 1:1 arányú keverékét (**2a:2b=1:1**) kapták meg⁸ (1. ábra). A dioxán-típusú acetálok esetében pedig a fenti körülmények között csak termodinamikailag stabilabb izomér (**3**→**4**) keletkezett, melyben a fenilcsoport *eqvatoriális* állásban kapcsolódik a szék konformációjú 1,3-dioxán gyűrűhöz (2. ábra).



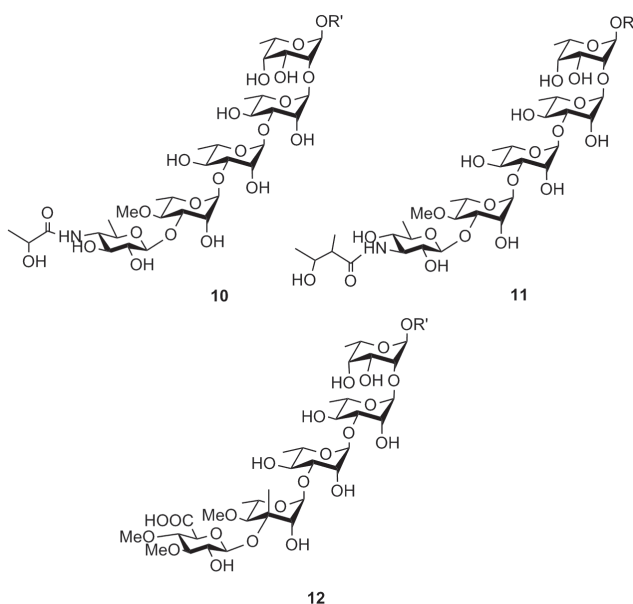
2. Ábra. Dioxán típusú benzilidén-acetálok előállítása.

E származékok szintetikus jelentőségét az adta meg, hogy mind a dioxán, mind pedig a dioxolán gyűrűt Lewis-, vagy protikus-savak jelenlétében fémhidridekkel 3. ábrán bemutatott *regio*-, *sztereo*- és *kemoszelektív* módon tudták felnyitni⁹ és az így nyert vegyületek megfelelő akceptoroknak bizonyultak biológiai aktív oligoszacharidok, így például a *Micobacterium avium* 12-, 17- és 19-szekovariáns sejtfelszíni pentaszacharid antigénjeinek (**10-12**) a szintézisének¹⁰ (4. ábra). Minthogy e baktériumok súlyos fertőzéseket okoznak a legyengült immunrendszerű szervátültetett, valamint a HIV-fertőzött betegeknél, így ezen antigénekből előállítható glikokonjugátumoknak nagy gyógyászati jelentősége van.



3. Ábra. 1,3-Dioxán és 1,3-dioxolán típusú benzilidén-acetálok regio- és kemoszelektív gyűrűnyitási reakciói.

Szintetikus szempontból jelentős előrelépést jelentett, hogy az imént említett sztereoselektív védőcsoport stratégiát a szénhidrátok dioxán- és dioxolán-típusú 2-naftilidén-acetáljaira is sikerült kiterjeszteni.

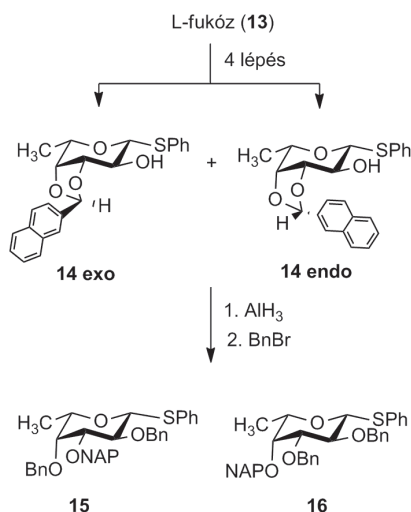


4. Ábra. *Mycobacterium avium* komplex 12-es (**10**), 17-es (**11**) és 19-es (**12**) szerovariánsának sejtfelszíni antigénjei.

Az L-fukózból (**13**) például 4 lépésben könnyen nyerhető **14a-exo**- és **14b-endo**-acetálok alánál (AlH_3) történő regioszelektív gyűrűfelnyílása benzilezést követően a megfelelő konfigurációjú (2-naftil)metil-éterekhez (NAP) (**14a**→**15**, **14b**→**16**) vezetett^{11,12} (5. ábra).

A NAP védőcsoportot az teszi különlegessé, hogy a *p*-metoxibenzilnél (PMB) kevésbé savérzékeny és hidrogenolízissal benzil-éterek vagy -észterek mellett is lehasítható. DDQ-val (2,3-diklór-5,6-dicianó-1,4-

benzokinon) pedig könnyen eltávolíthatók acetil-, pivaloil-, ftálamido-, benzil- és benzilidén-csoportok jelenlétében is.



5. Ábra. Szénhidrátok (2-naftil)metilén acetáljainak regioszelektív felnyitása.

A NAP védőcsoport előnyös tulajdonságai tették lehetővé a *Dictyostelium discoideum* talajlakó nyálka glikoprotein szénhidrátreszének egyértelmű szerkezetigazolását is. A 6. ábrán vázolt 2+1 blokszintézist követő 2+3 blokszintézis a 17-19 regioizomer pentaszacharidokhoz vezetett,¹³ melyek összehasonlítása West és munkatársai által közöltekkel¹⁴ a C és D cukoregységek összekapcsolódásának egyértelmű meghatározását tette lehetővé.

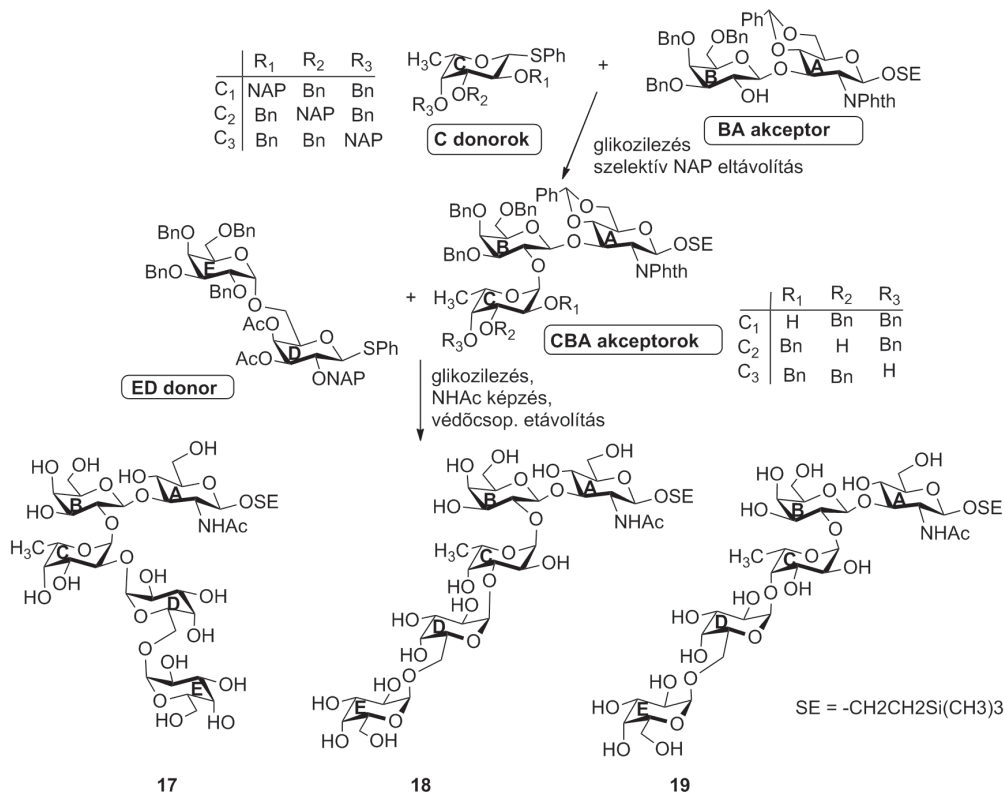
A szintézis kulcslépése a NAP csoportot tartalmazó $\text{C}_1\text{-C}_3$ donorok BA akceptorral történő kapcsolása volt. Az így

nyert triszacharidok (CBA) NAP csoportjának szelektív eltávolításával szabaddá vált hidroxilcsoport helyzete és térállása már egyértelműen meghatározta ugyanis az ED glikozil donorral végzett kapcsolás helyét és a kialakuló glikozidkötés térállását.

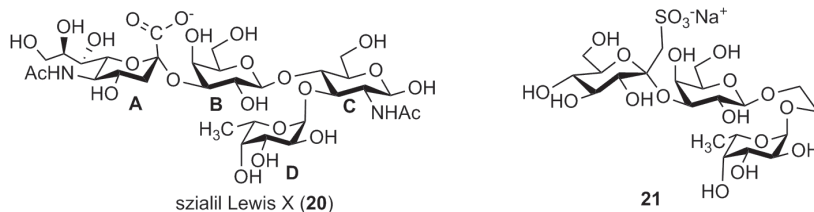
Az 1990-es évek végén vált ismertté, hogy a szénhidrát-fehérje adhézión alapuló fontos biológiai folyamatokban a szénhidrátok karboxil-vagy szulfátésztercsoportjai és a fehérjék bázikus csoportjai között kialakuló ionos kötéseknek meghatározó szerepük van. Ilyen szénhidrátszármazék a szialil Lewis X (20), amely például a *Helicobacter pylori* által okozott gyomor- és nyombélfekély kialakulásában játszik meghatározó szerepet.¹⁵ Hatásának eddig feltárt molekuláris háttere alapján Lipták akadémikus joggal feltételezte, hogy e vegyület megfelelően kiválasztott mimetikuma potenciális gyógyszer lehet e betegség kezelésénél (7. ábra). Ebben a reményben a szialil Lewis X(20) 21 szerkezetű pseudo-tetraszacharid mimetikumát állították elő, melyben a molekula A részét szulfonsavmetilcsoportot viselő heptulózzal, a glükózamin-egységet (C) pedig etilénlglikol kötőelemmel helyettesítették.^{16,17}

E származék szintézise során szerzett tapasztalatok alapozták meg a heparin antitrombinkötő-pentaszacharid részének szulfonsavmetil mimetikumaival kapcsolatos kutatásait is.

A heparint (22) az 1930-as évektől széles körben használják véralvadástgátlóként a gyógyászatban.¹⁸ E vegyület glükózamin és hexuronsav (D-glükuronsav, L-iduronsav) egységekből felépülő polianionos lineáris poliszacharid, amely a sejtek felületén és az extracelluláris mátrixban proteoglikánok formájában fordul elő, és a fehérjékhez kötődve szabályozza azok biológiai működését. A kötődésért az oligoszacharid szulfátészter-és karboxilcsoportjai,



6. Ábra. A *Dictyostelium discoideum* glikoprotein-pentaszacharid regioizomereinek szintézise.



7. Ábra. A sialil Lewis X pszeudotetraszacharid-mimetikuma.

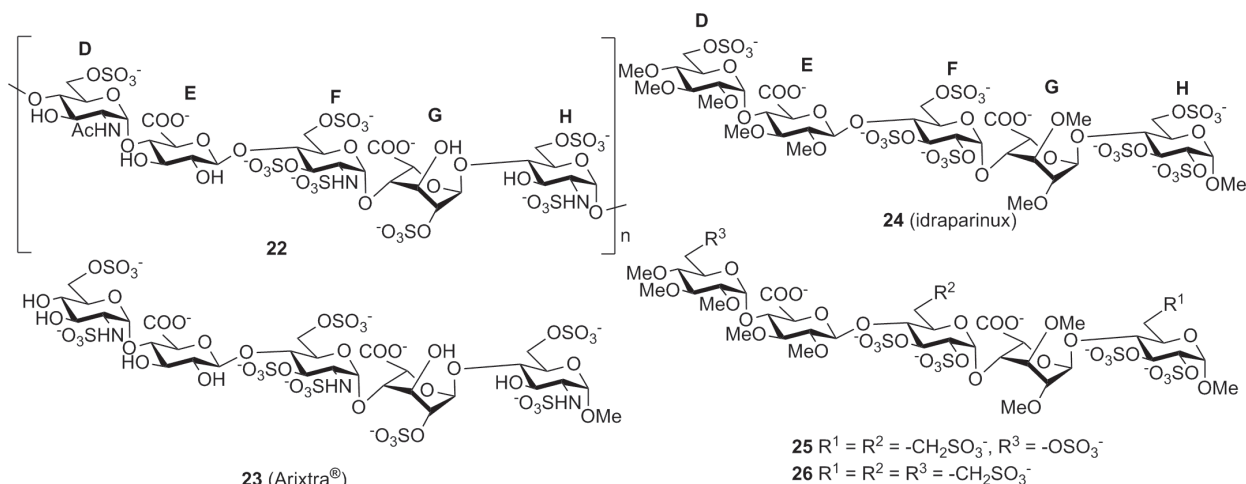
valamint a fehérje bázikus csoportjai között kialakuló erős ionos kölcsönhatások a felelősek.

Az 1980-as években azonosították a heparin azon minimális pentaszacharid részét (DEFGH), amely az antitrombin III fehérje (AT-III) aktiválása révén véralvadásgátló hatását kifejti¹⁹ (8. ábra). Francia és holland kutatók 55 lépéses kémiai szintézissel előállították a hatásért felelős pentaszacharid rész α -metilglukozidját, a fondaparinuxot (23),²⁰ amely 2001 óta Arixtra[®] néven a gyógyászatban van. A közelmúltban közölték, hogy egy újabb szintetikus analógon, az idraparinux (24)²¹ antikoaguláns hatása meghaladja mind a heparinét, mind pedig az Arixtra[®] hatóanyagáét (23).

Ezen eredmények alapján Lipták akadémikus javaslatára olyan pentaszacharidok (25,26) szintézisét kíséreltük meg,

melyekben az idraparinux (24) D- és F-, illetve D-, F és H-glükózegységeiben lévő szulfátésztercsoportok (-O-SO₃⁻) helyett a bioizoszter szulfonatometil (-CH₂-SO₃⁻) található. Feltételezte ugyanis, hogy a szulfonsav sók is biztosítják a biológiai hatáshoz szükséges ionos kötések kialakulását és mivel jobban ellenállnak az észterázok hidrolitikus hatásának, ezért feltehetőleg a 25, 26 pentaszacharidok az idraparinuxnál (24) hatékonyabb antitrombolitikumok lesznek.

A szulfonatometilcsoportok kialakítását monoszacharid szinten valósítottuk meg: a H egység esetében 27 monoszacharidból NaHSO₃-al *terc*-butilperbenzoát jelenlétében végzett gyökös addíciót követő metilezéssel jutottunk a kívánt vegyülethez (27→28→29), az F és a D egységek esetében pedig 30, illetve 33 monoszacharidokból



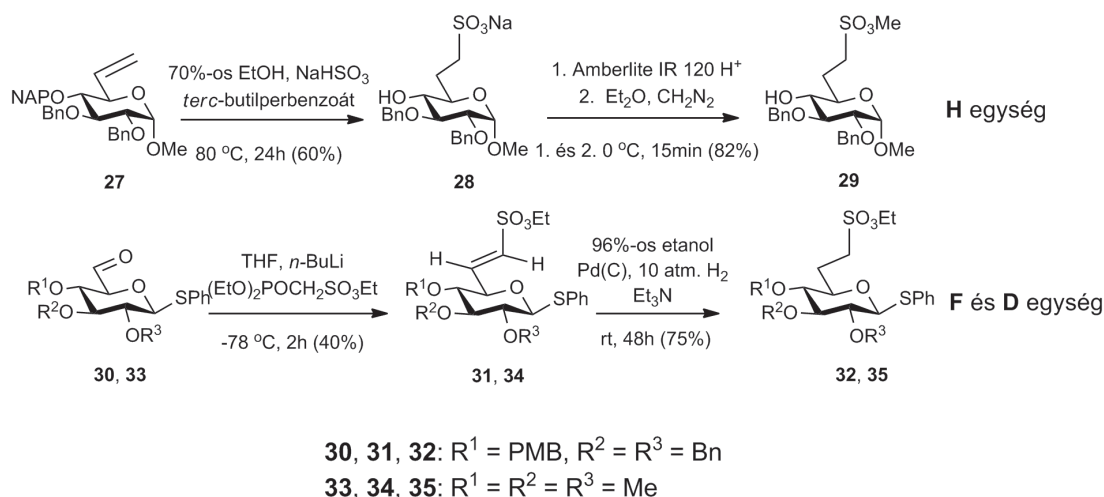
8. Ábra. A véralvadásgátló hatású pentaszacharidok (22-24) és a tervezett szulfonsav analógok (25, 26) szerkezete.

kiindulva Wadsworth-Horner-Emmons (WHE) reakciót követő katalitikus hidrogénezéssel építettük ki a kívánt funkciócsoportot (30→31→32; 33→34→35)^{22,23} (9. ábra).



A diszulfonsav-tartalmú mimetikumot (25) [2+3]-as blockszintézissel állítottuk elő (10. ábra). A 32 monoszachariddonorral a 36 iduronsav akceptort glikozileztük, majd az így nyert α -interglikozidos kötést tartalmazó diszacharidot a 37 donorrá alakítottuk át és kapcsoltuk a 29 H-egységgel. Minthogy a kapcsolási reakció körülményei között a 4-metoxibenzilcsoport (PMB) is lehasadt, így a kapott terméket (38) a 39 glükuronsav tartalmú donorról közvetlenül glikozilezhetjük. Ezt követően a védőcsoportok eltávolítása után a kívánt pentaszacharid-diszulfonsavat (25) kaptuk meg.²⁴

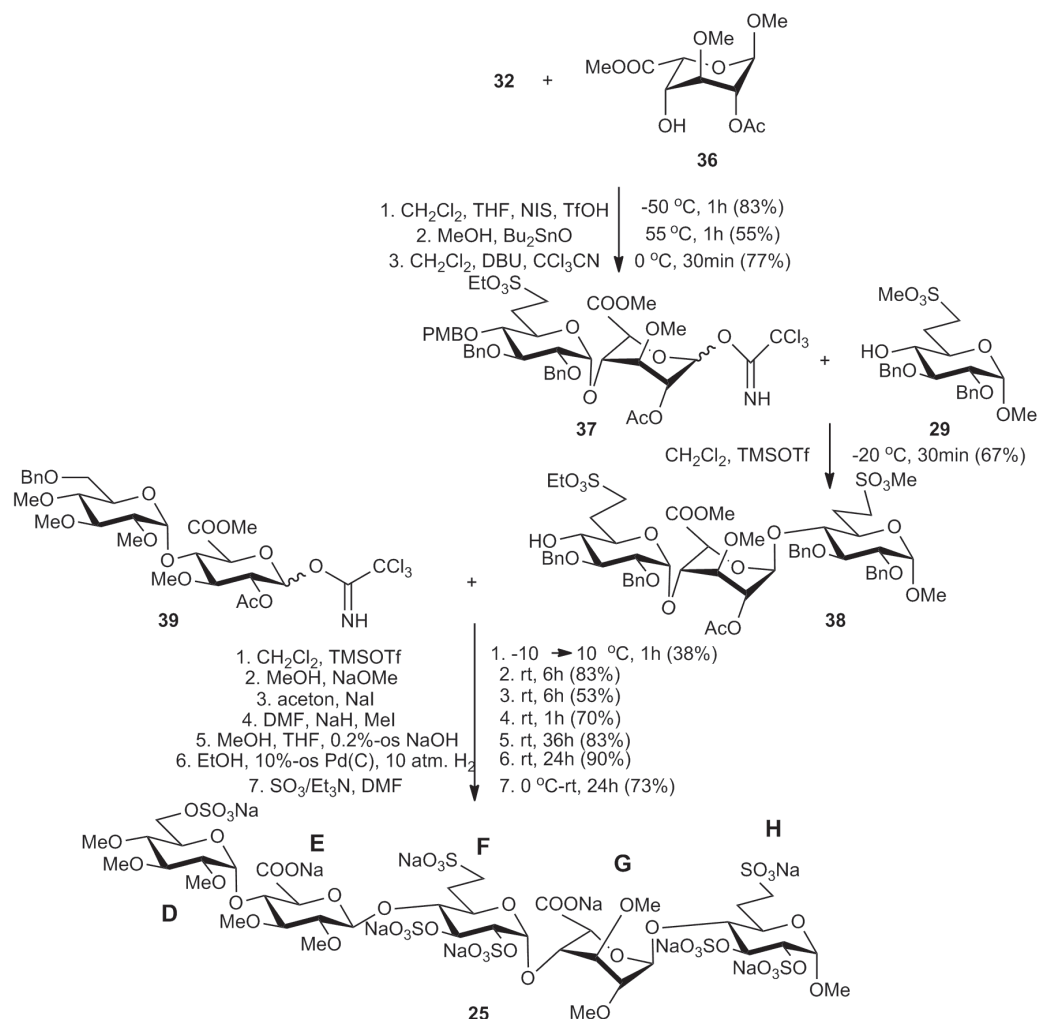
A triszulfonsav-tartalmú mimetikumot (26) a 38 triszacharidból kiindulva [1+1+3]-as blockszintézissel állítottuk elő. Első lépésben e vegyületet 40 monoszacharid donorról kapcsoltuk és a kapott tetraszacharidról 80%-os ecetsavban végzett hidrolízissel eltávolítottuk a 4-metoxibenzilidencsoportot. Az így kapott pentaszacharid nem redukáló végén szabaddá vált hidroximetilcsoportot



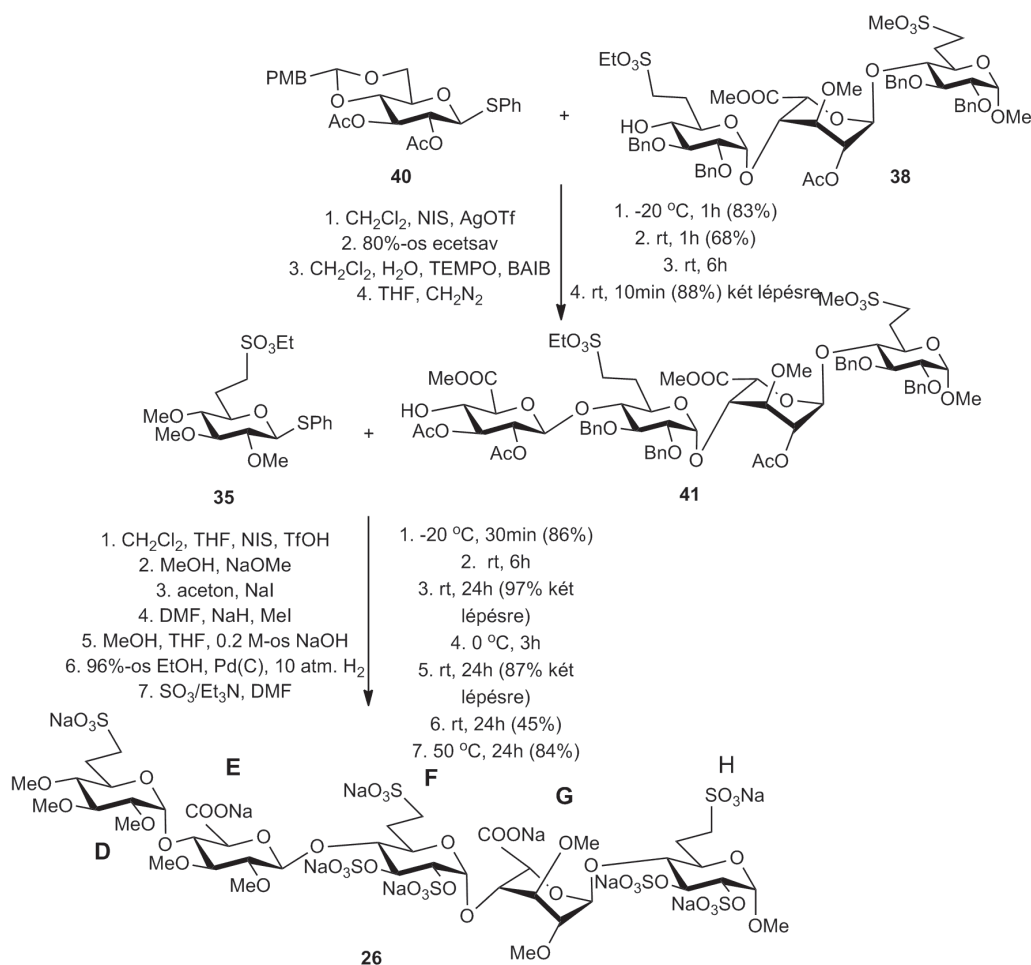
9. Ábra. Szulfonátometil-csoportot viselő **H**, **F** és **D** monoszacharidok szintézise.

szelektív oxidációt követő diazometános metilezéssel metoxikarbonillá átalakítva a **41** tetraszacharid akceptort kaptuk meg. Ezt a **35** monoszacharid egységgel (**D**) glikozileztük, majd a védőcsoportok eltávolítását követően jó hozammal a kívánt pentaszacharid-triszulfonsav mimetikumhoz (**26**) jutottunk²⁵ (11. ábra).

A vegyületek véralvadásgátló hatását a DEOEC Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézetében határozták meg^{25,26} (1. sz. táblázat). Az eredmények igazolták Lipták professzor feltételezését. Az **E** és **H** egységekben a szulfátésztercsoportok helyettesítése szulfonáto-metilcsoporttal szignifikánsan növelte a véralvadásgátló hatást, míg a **D** egységen



10. Ábra. A pentaszacharid-diszulfonsav (**25**) szintézise.



11. Ábra. A pentaszacharid-triszulfonsav (26) szintézise.

kialakított harmadik szulfonatometilcsoport az L-iduronsav egység konformációját jelentősen megváltoztatta és ez a hatáscsökkenéshez vezetett.

1. Táblázat. A pentaszacharidok anti-Xa aktivitása

	Anti Xa aktivitás (U/mg)
Arixtra® (23)	1195±189
idraparinux (24)	1911±193
pentaszacharid-diszulfonsav (25)	2153±153
pentaszacharid-triszulfonsav (26)	384±139

Lipták András tudományos munkásságát kétszázal is több rangos hazai és nemzetközi folyóiratcikkben, valamint a Handbook of Oligosaccharides (CRC Press, 1990) sorozatban megjelent Synthetic Oligosaccharides I–III. kötetekben közölte. Munkásságára kétezret is meghaladó elismerő hivatkozást kapott.

Kimagasló tudományos teljesítményének elismeréseként Lipták Andrást az MTA 1990-ben levelező tagjává, 1998-ban pedig rendes tagjává választotta. 1997-ben pedig az Európai Akadémia tagja lett.

Nemzetközileg is elismert iskolateremtő tudományos munkája és oktatói tevékenysége mellett széles körű tudományos szervezői tevékenységet is végzett. 1987-1988

között a KLTE TTK dékán-helyettese volt. 1989-1990 között az egyetem tudományos rektor-helyetteseként végzett lelkiismeretes munkát. 1990-1993 között, a rendszerváltás után, első szabadon választott rektoraként emelte egyetemünket az európai egyetemek sorába. Az 1993-1997 között az OTKA alelnökeként, 1996-1999 között az MTA Kémiai Osztályának elnökeként, végül 1997-2003 között az OTKA elnökeként végzett áldozatos tudományos szervezői munkájának is köszönhető, hogy az elmúlt 25 évben hazánkban jól átlátható, demokratikusan és etikusan gazdálkodó kutatásfinanszírozási rendszer (OTKA) alakult ki.

Pályafutása során számos rangos hazai és nemzetközi elismerésben részesült. A teljesség igénye nélkül e helyütt csak a Zemplén Géza-díjat (1989), a Szent-Györgyi Albert-díjat (1993), a Széchenyi-díjat (1995), a Szilárd Leó professzori ösztöndíjat (2000), a Doctor Honoris Causa Universitatis Oradea (2000) és Debrecen Város Díszpolgára (2001) kitüntetéseit említem meg.

A fentebb röviden felsorolt eredmények, úgy gondolom, minden kétséget kizáróan igazolják, hogy Debrecenben Lipták András akadémikus irányításával a Bognár akadémikus által örökölt hagyott „Zemplén-iskola” a szénhidrátkémia területén nemcsak tovább élt, hanem felvirágozott és számos újabb eredménnyel gazdagította a tudásunkat és tette nemzetközileg is elismertebbé a magyar



szerves és gyógyszerkémiai kutatásokat. Meggyőződésem, hogy ezek jó lehetőséget adtak a hallgatóknak a szintetikus szerves kémia elmélyültebb művelésére. E kutatások alaptudományi jellegük mellett többnyire biológiai aktív vegyületek előállítására és hatás-szerkezet összefüggések felderítésére irányultak, ezáltal Lipták András áldozatos munkájának köszönhetően munkatársai megélhették a felfedező gyógyszerkutatás örömeit is.

Kedves Professzor úr! Köszönjük példamutató, gazdag életed minden tanácsát, mélységes emberséged és szereteted felénk irányuló gondoskodását. A Tőled örökölt kapott „stafétabotot” igyekszünk a legjobb tudásunk szerint továbbvinni és a szénhidrátkémia iránt érdeklődő hallgatóknak évről-évre átadni, hogy emlékedet méltó módon megőrizzük.

Köszönetnyilvánítás

Összinté köszönetemet szeretném kifejezni néhai Lipták András akadémikus úrnak, hogy a barátjává fogadott és „szárnysegédként” a szénhidrátkémiai kutatások szépségeivel megismerhettem, valamint a segítségével átélhettem e terület alkotó örömeit. Hálával tartozom munkatársainak is, hogy szeretettel befogadtak és hiányos „hangszertudásom” ellenére az „együttzenélés” örömeit megosztották velem. Dr. Herczeg Mihály tudományos munkatársnak pedig megköszönöm az ábrák gondos elkészítését is.

Hivatkozások

- Hudson, C.S. *J. Am. Chem. Soc.* **1909**, 31, 66-86.
- Lipták, A. Optikai forgatóképességi vizsgálatok analóg szerkezetű O- és N-glikozidok körében. *Egyetemi doktori értekezés*. Debrecen (1966).
- Lipták, A. Új eljárások kidolgozása poliszacharidok szerkezetigazolására és alkalmazása dextránok esetében. *Kandidátusi értekezés*. MTA Budapest (1974).
- Lipták, A. Regio-, sztereo-, kemoszelektív reakciók a benzilidén-acetátok körében és felhasználásuk oligoszacharidok szintézisére. *Doktori értekezés*. MTA Budapest (1983).
- Harangi J.; Lipták A.; Oláh V.A.; Nánási P. *Carbohydr. Res.* **1981**, 98, 15-171.
- Lipták A.; Imre, J.; Nánási P. *Carbohydr. Res.* **1981**, 92, 154-156.
- Lipták, A.; Fügedi P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, 22, 225-256, *Angew. Chem.* **1983**, 95, 245, *Angew. Chem. Suppl.* **1983**, 254.
- Kerékgyártó, J.; Lipták A. *Carbohydr. Res.* **1993**, 248, 361-364.
- Szurmai, Z.; Kerékgyártó, J.; Harangi, J.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **1974**, 164, 313-325.
- Lipták, A.; Borbás, A.; Bajza, I. *Med. Res. Reviews.* **1994**, 14, 307-351.
- Borbás, A.; Szabó, Z. B.; Szilágyi, L.; Bényei, A.; Lipták, A. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1941-1951, *Tetrahedron* **2002**, 58, 5723-5732.
- Szabó, Z.B.; Borbás, A.; Bajza, I.; Lipták, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2005**, 16, 83-95.
- Szabó, Z.B.; Herczeg, M.; Fekete, A.; Batta, Gy.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. *Tetrahedron: Asymm.* **2009**, 20, 808-820.
- Teng-umnuay, P.; Morris, H.R.; Dell, A.; Panico, M.; Paxton, T.; West, C.M. *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 18242-18249.
- Unemu, M.; Apsholm-Hurtig, M.; Ilver, D.; Bergström, J.; Boren, T.; Danielsson, D.; Teneberg, S. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 15390-15397.
- Borbás, A.; Szabovik, G.; Antal, Zs.; Herczegh, P.; Agócs, A.; Lipták, A. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 3639-3642.
- Borbás A.; Szabovik, G.; Antal, Zs.; Fehér, K.; Csávás, M.; Szilágyi, L.; Herczegh, P.; Lipták, A. *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, 11, 549-566.
- Casu, B. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1985**, 43, 51-134.
- Petitrou, M.; van Boeckel, C.A.A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 3118-3133.

20. Cheng, J.M.W. *Clin. Therapeutics*, **2002**, *24*, 1757-1769.
21. Westerduin, P.; van Boeckel, C.A.A.; Basten, J.E.M.; Breekhoven, M.A.; Lucas, H.; Rood, A.; van der Heiden, H.; van Amsterdam, R.G.M.; van Dinther, T.G.; Meuleman, D.A.G.; Visser, A.; Vogel, G.M.T.; Damm, J.B.L.; Overklist, G.T. *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, *2*, 1267-1280.
22. Herczeg, M.; Lázár, L.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2619-2622.
23. Lázár, L.; Herczeg, M.; Fekete, A.; Borbás, A.; Lipták, A.; Antus, S. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6711-6714.
24. Herczeg, M.; Lázár, L.; Mándi, A.; Borbás, A.; Komáromi, I.; Lipták, A.; Antus, S. *Carbohydr. Res.* **2011**, *346*, 1827-1836.
25. Herczeg, M.; Lázár, L.; Bereczky, Zs.; E. Kövér, K.; Timári, I.; Klappelmayer, J.; Lipták, A.; Antus, S.; Borbás, A.: *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 10643-10652.