

Erich Wünsch und Gerhard Wendlberger

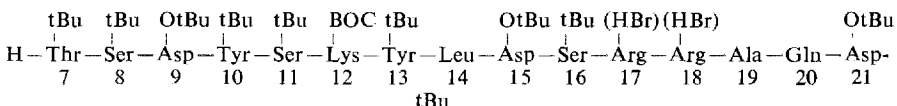
Zur Synthese des Glucagons, XVII<sup>1)</sup>

## Darstellung der Sequenz 7–29

Aus dem Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, Abteilung für Peptidchemie, München

(Eingegangen am 26. Juli 1967)

Die Synthese der am Aminocnde freien, sonst allseits geschützten Tricosapeptid-Sequenz 7–29 des Glucagons,



Phe–Val–Gln–Trp–Leu–Met–Asn–Thr–OtBu, nach Schema S. 342 wird beschrieben.  
 22 23 24 25 26 27 28 29

In einer früheren Mitteilung hatten wir bereits die Synthese von PHT-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu [16-29a] beschrieben<sup>2)</sup>. Die Dephthaloylierung von [16-29a] ließ sich zwar mittels Hydrazinacetat<sup>3)</sup> einwandfrei durchführen; die Abtrennung des gebildeten Phthalhydrazids vom Tetradecapeptidester bereitete jedoch zunächst erhebliche Schwierigkeiten. Erst als wir durch Behandeln mit entsprechend-äquimolekularen Mengen Bromwasserstoffsäure den Peptidester in das Trihydrobromid überführten, gelang die Reindarstellung von H-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu·HBr [16-29c·HBr] durch einfache Verteilung des „Spaltansatzes“ in dem Zweiphasensystem Methanol/Wasser/Chloroform (1 : 1 : 1); [16-29c·HBr] konnte aus der wäßr. Phase als Tetrahydrat chromatographisch und analytisch rein isoliert werden.

Günstiger gestaltete sich die Synthese von [16-29c·HBr] auf folgendem Wege: NPS-Ser(tBu)-ONP [16f]<sup>4)</sup> wurde mit H-Arg(HBr)-Arg(AcOH)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-OH [17-21c]<sup>2)</sup> in 93proz. Ausbeute zum N<sup>α</sup>-[2-Nitro-phenylsulfenyl]-hexapeptid [16-21c], dieses dann mit H-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu·HBr [22-29c·HBr] nach dem Carbodiimid-Hydroxysuccinimid-Verfahren<sup>5)</sup> in 70proz. Ausbeute zum N<sup>α</sup>-[2-Nitro-phenylsulfenyl]-tetradecapeptidester [16-29b] kondensiert.

<sup>1)</sup> XVI. Mittel.: E. Wünsch, A. Zwick und E. Jaeger, Chem. Ber. 101, 336 (1968), vorstehend.

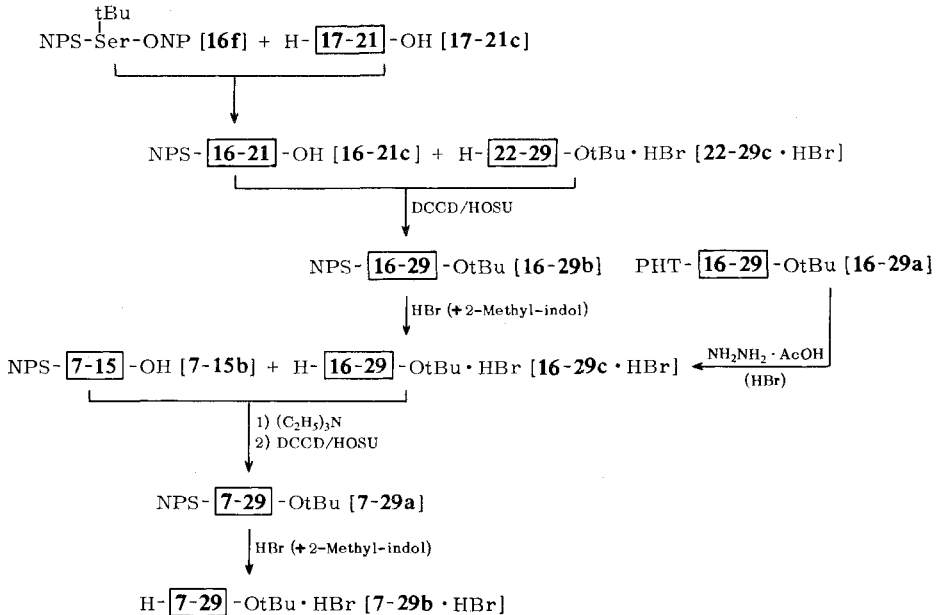
<sup>2)</sup> E. Wünsch und G. Wendlberger, Chem. Ber. 100, 820 (1967).

<sup>3)</sup> R. Schwyzer, A. Costopanagiotis und P. Sieber, Helv. chim. Acta 46, 870 (1963).

<sup>4)</sup> E. Wünsch und A. Fontana, Chem. Ber. 101, 323 (1968).

<sup>5)</sup> E. Wünsch und F. Drees, Chem. Ber. 99, 110 (1966); F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, Z. Naturforsch. 21b, 426 (1966).

Die Desulfenylierung von [16-29b] konnte ohne Schwierigkeiten durch Einwirkung von ca. 2 Äquiv. 0.1 *n* methanol. Bromwasserstoffsäure in Gegenwart von 20 Äquiv. 2-Methyl-indol eindeutig vollzogen, H-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu·HBr [16-29c·HBr] als Trihydrat chromatographisch und analytisch rein in 90proz. Ausbeute isoliert werden.



Schließlich war es möglich, die sowohl aus dem Phthaloyl- [16-29a] als auch aus dem 2-Nitro-phenylsulfenyl-Derivat [16-29b] hergestellten und bis auf ihren Wassergehalt identischen Tetradecapeptidester [16-29c] mit NPS-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Lys(BOC)-Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-OH [7-15b]<sup>6)</sup> zum *N*<sup>α</sup>-[2-Nitro-phenylsulfenyl]-tricosapeptid [7-29a] zu vereinigen, und dieses anschließend mittels *n* methanol. Bromwasserstoffsäure (2.2 Äquiv.) unter Zusatz großer Mengen 2-Methyl-indol (100 Äquiv.) zum H-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Lys(BOC)-Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu·HBr [7-29b·HBr] zu entacylieren. Dieser Zusatz von 2-Methyl-indol verhindert nicht nur die bekannte Nebenreaktion am Tryptophan-Rest der Peptid-Sequenz (Thio-indol-Bildung)<sup>7)</sup>, er „puffert“ darüber hinaus den pH-Wert der Reaktionslösung so weitgehend ab, daß nur noch die nucleophile Sprengung der Sulfenamid-Bindung durch die Bromanionen erfolgt, nicht aber ein protonensolvolytischer Angriff auf die tert.-Butyloxy-carbonyl-Maskierung der ε-Amino-Funktion des Lysin-Restes ablaufen kann<sup>8)</sup>

<sup>6)</sup> E. Wünsch, A. Zwick und A. Fontana, Chem. Ber. **101**, 326 (1968).

<sup>7)</sup> E. Wünsch, A. Fontana und F. Drees, Z. Naturforsch. **22b**, 607 (1967).

<sup>8)</sup> Vgl. hierzu: W. Kessler und B. Iselin, Helv. chim. Acta **49**, 1330 (1966).

Unsere technischen Assistenten Fräulein *B. Scherer* (präparative Arbeiten) sowie Fräulein *R. Scharf* (analytische Arbeiten) danken wir für ihre ausgezeichnete Mitarbeit. Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Abteilung (Leitung *W. Beck*) ausgeführt.

### Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillaren im Apparat nach Dr. Tottoli bestimmt, die spezif. Drehwerte im lichtelektrischen Polarimeter der Firma Carl Zeiss ermittelt; die Werte der D-Linie wurden berechnet. Der chromatographische Reinheitstest der Zwischen- und Endprodukte erfolgte nach üblichen Verfahren der Papier- und Dünnschichtchromatographie jeweils mindestens mit zwei Lösungsmittelsystemen\*).

1. *2-Nitro-phenylsulfenyl-O-tert.-butyl-L-seryl-L-arginyl(hydrobromid)-L-arginyl-L-alanyl-L-glutaminyll-L-asparaginsäure-β-tert.-butylester [16-21 c]\*\**

15.8 g *H-Arg(HBr)-Arg(AcOH)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-OH [17-21 c]*<sup>2)</sup> in 200 ccm Dimethylformamid werden bei  $-10^{\circ}$  mit 10 g *NPS-Ser(tBu)-ONP [16f]*<sup>4)</sup> versetzt. Die Reaktionslösung wird 24 Stdn. bei  $0^{\circ}$  und 40 Stdn. bei Raumtemp. gerührt, anschließend in viel Diäthyläther eingerührt, das ausgefallene Material abfiltriert, in wenig Dimethylformamid gelöst und erneut in Diäthyläther eingerührt; die Prozedur wird nochmals wiederholt, das abgeschiedene Material auf das Filter gebracht und mit Essigester und Diäthyläther sorgfältig gewaschen. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol/Äthanol Zers.-P. ab  $170^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{578}^{20}$ :  $-31.1 \pm 1^{\circ}$  ( $c = 1$ ; in Dimethylformamid). Chromatographisch rein in n-Butanol/Essigsäure/Wasser (6 : 2 : 2), Ausb. 18.4 g (93 %).

$C_{41}H_{69}N_{14}O_{13}S_2Br \cdot H_2O$  (1096.1) Ber. C 44.93 H 6.53 Br 7.29 N 17.90 O 20.44 S 2.93  
Gef. C 44.97 H 6.78 Br 7.05 N 17.54 O 20.39 S 2.88

2. *2-Nitro-phenylsulfenyl-O-tert.-butyl-L-seryl-L-arginyl(hydrobromid)-L-arginyl(hydrobromid)-L-alanyl-L-glutaminyll-L-asparagyl(β-tert.-butylester)-L-phenylalanyl-L-valyl-L-glutaminyll-L-tryptophyll-L-leucyl-L-methionyl-L-asparaginyll-O-tert.-butyl-L-threonin-tert.-butylester [16-29 b]*

16.5 g *NPS-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg-Ala-Gln-Asp(OtBu)-OH [16-21 c]*, 18.5 g *H-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu-HBr [22-29 c-HBr]* hergestellt aus dem freien Octapeptid *[22-29 c]*<sup>9)</sup> in Dimethylformamid durch Umsetzen mit der ber. Menge 0.1 n HBr — und 1.73 g *N-Hydroxy-succinimid* in 300 ccm Dimethylformamid werden bei  $-15^{\circ}$  mit 3.42 g *Dicyclohexylcarbodiimid* versetzt. Die Reaktionslösung wird 60 Stdn. bei  $0^{\circ}$  und 24 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Das Filtrat vom abgeschiedenen Dicyclohexylharnstoff rührt man in 2000 ccm Essigester ein; der erhaltene Niederschlag wird abfiltriert und anschließend 2mal aus wenig Methanol/Wasser umgefällt. (Die gebildete Fällung wird zweckmäßig durch Zentrifugieren abgetrennt.) Das so erhaltene Produkt wird letztlich durch dreimaliges Umfällen aus Dimethylformamid/Essigester/Wasser (200 : 2500 : 20 ccm) weiter gereinigt: Schmp.  $230-232^{\circ}$  (Zers.);  $[\alpha]_{578}^{20}$ :  $-18.83 \pm 1^{\circ}$  bzw.  $[\alpha]_{436}^{20}$ :  $-20.80^{\circ}$  ( $c = 1$ ; in Dimethylformamid). Chromatographisch rein in Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35 : 35 : 30) bzw. tert.-Butylalkohol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20). Ausb. 24.4 g (70 %).

$C_{98}H_{155}N_{25}O_{24}S_2Br_2 \cdot H_2O$  (2309.5) Ber. C 50.57 H 6.85 Br 6.92 N 15.16 O 17.32 S 2.78  
Gef. C 50.94 H 6.94 Br 6.36 N 14.96 O 17.69 S 2.79

\*) Die Angabe von Lösungsmittelsystemen erfolgt nur dann, wenn damit auch eine einwandfreie Trennung von den Ausgangsmaterialien möglich ist.

\*\*) Die formulierte Ausbildung des bromwasserstoff-sauren Salzes für den Arginin-Rest in Pos. 17 ist willkürlich gewählt.

9) *E. Wünsch* und *F. Drees*, Chem. Ber. **100**, 816 (1967).

## Aminosäureanalyse:

	Ser	Arg	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Leu	Met	Thr	NH <sub>3</sub>
Ber.	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	3
Gef.	0.84	1.98	0.97	2.0	2.01	1.02	1.03	1.04	1.01	0.96	3.26

3. *O*-tert.-Butyl-L-seryl-L-arginyl(hydrobromid)-L-arginyl(hydrobromid)-L-alanyl-L-glutamyl-L-asparagyl( $\beta$ -tert.-butylester)-L-phenylalanyl-L-valyl-L-glutamyl-L-tryptophyl-L-leucyl-L-methionyl-L-asparagyl-O-tert.-butyl-L-threonin-tert.-butylester-hydrobromid [16-29c·HBr]

a) 4.1 g PHT-Ser(*t*Bu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(O*t*Bu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(*t*Bu)-O*t*Bu [16-29a]<sup>2)</sup> in 1100 ccm Methanol/Dimethylformamid (10 : 1) werden unter Rühren mit 0.428 ccm Eisessig und anschließend 0.356 ccm Hydrazinhydrat (100-proz.) versetzt. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren 15 Stdn. auf 60° erwärmt, anschließend auf 0° abgekühlt und danach mit 71.5 ccm 0.1 *n* HBr versetzt. Nach Abdampfen des Methanols i. Vak. wird die verbleibende Lösung in viel heißen Essigester gegossen, die gebildete Fällung abfiltriert, das erhaltene Rohprodukt einer einfachen Verteilung in dem Zweiphasengemisch Methanol/Chloroform/Wasser (1 : 1 : 1) unterworfen; die abgetrennte wäbr. Phase dampft man i. Vak. zur Trockene. Der erhaltene Rückstand wird schließlich aus Methanol/Essigester umgefällt: Schmp. 212–213°;  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-32.95 \pm 1^\circ$  bzw.  $[\alpha]_{546}^{20}$ :  $-39.3^\circ$  (*c* = 1; in 80proz. Essigsäure). Chromatographisch rein in tert.-Butylalkohol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20) (Whatman Nr. 1, aufsteigend). Ausb. 3.4 g (83.5%).

C<sub>92</sub>H<sub>153</sub>N<sub>24</sub>O<sub>22</sub>S]Br<sub>3</sub>·4 H<sub>2</sub>O (2291.3) Ber. C 48.20 H 7.05 Br 10.48 N 14.67 O 18.15 S 1.40  
Gef. C 48.15 H 7.03 Br 10.70 N 14.54 O 18.19 S 1.35

b) 11.5 g NPS-Ser(*t*Bu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(O*t*Bu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(*t*Bu)-O*t*Bu [16-29b] und 13.1 g 2-Methyl-indol in 850 ccm Dimethylformamid/Methanol (16 : 1) werden unter Eiskühlung tropfenweise mit 110 ccm 0.1 *n* methanol. Bromwasserstoffsäure versetzt. Unter weiterer Eiskühlung wird 2 Stdn. und anschließend 5 Stdn. bei Raumtemp. nachgerührt, anschließend in viel absol. Diäthyläther eingegossen, der ausgefallene Niederschlag abfiltriert und 2 mal aus Dimethylformamid/Methanol/Diäthyläther unter Zusatz von 2-Methyl-indol umgefällt. Das nunmehr farblose Produkt wird auf das Filter gebracht, mit absol. Diäthyläther gewaschen und bei 10<sup>-3</sup> Torr getrocknet: Schmp. 216–218° (Zers.);  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-34.1 \pm 1^\circ$  bzw.  $[\alpha]_{546}^{20}$ :  $-41.1^\circ$  (*c* = 1; in 80proz. Essigsäure). Chromatographisch rein in tert.-Butylalkohol/Essigsäure/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20) (Whatman Nr. 1, aufsteigend). Ausb. 10 g (90%).

C<sub>92</sub>H<sub>153</sub>N<sub>24</sub>O<sub>22</sub>S]Br<sub>3</sub>·3 H<sub>2</sub>O (2273.3) Ber. C 48.61 H 7.05 Br 10.55 N 14.79 O 17.60 S 1.47  
Gef. C 48.93 H 7.04 Br 10.51 N 14.76 O 17.57 S 1.46

## Aminosäureanalyse:

	Ser	Arg	Ala	Glu	Asp	Phe	Val	Leu	Met	Thr	NH <sub>3</sub>
Ber.	1	2	1	2	2	1	1	1	1	1	3
Gef.	0.89	1.95	1.0	2.02	2.05	1.0	1.01	1.02	0.94	0.96	3.15

4. 2-Nitro-phenylsulfenyl-O-tert.-butyl-L-threonyl-O-tert.-butyl-L-seryl-L-asparagyl( $\beta$ -tert.-butylester)-O-tert.-butyl-L-tyrosyl-O-tert.-butyl-L-seryl-N<sup>6</sup>-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-O-tert.-butyl-L-tyrosyl-L-leucyl-L-asparagyl( $\beta$ -tert.-butylester)-O-tert.-butyl-L-seryl-L-arginyl(hydrobromid)-L-arginyl(hydrobromid)-L-alanyl-L-glutamyl-L-asparagyl( $\beta$ -tert.-butylester)-L-phenylalanyl-L-valyl-L-glutamyl-L-tryptophyl-L-leucyl-L-methionyl-L-asparagyl-O-tert.-butyl-L-threonin-tert.-butylester [7-29a]

7.32 g H-Ser(*t*Bu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(O*t*Bu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(*t*Bu)-O*t*Bu·HBr [16-29c·HBr] und 5.25 g NPS-Thr(*t*Bu)-Ser(*t*Bu)-Asp(O*t*Bu)-Tyr(*t*Bu)-Ser(*t*Bu)-Lys(BOC)-Tyr(*t*Bu)-Leu-Asp(O*t*Bu)-OH [7-15b]<sup>6)</sup> werden in 150 ccm Dime-

thylacetamid unter Erwärmen und Rühren gelöst. Die auf Raumtemp. abgekühlte Mischung wird nunmehr tropfenweise mit 0.42 ccm *Triäthylamin* und anschließend mit 0.52 g *N-Hydroxy-succinimid*, nach Abkühlen auf  $-10^{\circ}$  schließlich mit 0.93 g *Dicyclohexylcarbodiimid* unter Rühren versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 60 Stdn. bei  $0^{\circ}$  und weitere 40 Stdn. bei Raumtemp. unter Magnetrührung gehalten, anschließend bei  $10^{-2}$  Torr zu einem zähen Brei eingedampft, das nach Verrühren mit bidest. Wasser erhaltene feste Material wird abfiltriert, in wenig Dimethylacetamid suspendiert und erneut mit bidest. Wasser ausgefällt. Das nach sorgfältigem Waschen mit Wasser trockengesaugte Produkt digeriert man anschließend mehrfach mit heißem Essigester, bringt es auf das Filter und wäscht mit Essigester und Diäthyläther nach. Das so erhaltene Rohprodukt wird zur Entfernung von nicht umgesetzter Kopfkomponente [7-15b] 18 Stdn. mit absol. Tetrahydrofuran und anschließend ca. 9 Stdn. mit absol. Methanol im Soxhlet extrahiert, dann mit Diäthyläther auf das Filter gebracht und anschließend bei  $80^{\circ}/10^{-3}$  Torr 24 Stdn. über  $P_2O_5$  getrocknet; ab  $250^{\circ}$  allmähliche Zers., chromatographisch rein in tert.-Butylalkohol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20) bzw. in Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35 : 35 : 30). Ausb. 7.85 g (68%).

$C_{179}H_{287}N_{35}O_{44}S]Br_2$  (3857.5) Ber. C 55.73 H 7.50 Br 4.14 N 12.70 O 18.25 S 1.66  
Gef. C 55.64 H 7.44 Br 3.78 N 12.69 O 18.67 S 1.67

Aminosäureanalyse:

	Thr	Ser	Asp	Tyr	Lys	Leu	Arg	Ala	Glu	Phe	Val	Met	NH <sub>3</sub>
Ber.	2	3	4	2	1	2	2	1	2	1	1	1	3
Gef.	1.92	2.73	4.15	1.95	0.94	2.03	1.97	1.0	2.01	1.04	1.03	1.02	3.09

5. *O-tert.-Butyl-L-threonyl-O-tert.-butyl-L-seryl-L-asparagyl(β-tert.-butylester)-O-tert.-butyl-L-tyrosyl-O-tert.-butyl-L-seryl-N<sup>ε</sup>-tert.-butyloxycarbonyl-L-lysyl-O-tert.-butyl-L-tyrosyl-L-leucyl-L-asparagyl(β-tert.-butylester)-O-tert.-butyl-L-seryl-L-arginyl(hydrobromid)-L-arginyl(hydrobromid)-L-alanyl-L-glutaminy-L-asparagyl(β-tert.-butylester)-L-phenylalanyl-L-valyl-L-glutaminy-L-tryptophyl-L-leucyl-L-methionyl-L-asparaginy-O-tert.-butyl-L-threonin-tert.-butylester-hydrobromid* [7-29b·HBr]

3.85 g *NPS-Thr(tBu)-Ser(tBu)-Asp(OtBu)-Tyr(tBu)-Ser(tBu)-Lys(BOC)-Tyr(tBu)-Leu-Asp(OtBu)-Ser(tBu)-Arg(HBr)-Arg(HBr)-Ala-Gln-Asp(OtBu)-Phe-Val-Gln-Trp-Leu-Met-Asn-Thr(tBu)-OtBu* [7-29a] und 13 g 2-Methyl-indol werden in ca. 500 ccm Dimethylacetamid unter Rühren gelöst, die Mischung nach Abkühlen auf  $0^{\circ}$  mit 100 ccm eiskaltem Methanol und unter Rühren und Eiskühlung anschließend mit 2.2 ccm 1 n methanol. Bromwasserstoffsäure, verdünnt mit 100 ccm Methanol, tropfenweise versetzt. Nach 3stdg. Rühren bei  $0^{\circ}$  und 22 Stdn. bei Raumtemp. destilliert man das Methanol i. Vak. bei  $15^{\circ}$  Badtemp. ab, rührt anschließend die verbleibende Lösung in 2800 ccm absol. Diäthyläther/Petroläther (25 : 10) ein; die gebildete Fällung wird nach mehrstdg. Stehenlassen im Kühlschrank abfiltriert und anschließend zweimal aus Dimethylacetamid/Diäthyläther umgefällt. Nach Trocknen bei  $80^{\circ}/10^{-3}$  Torr über  $P_2O_5$  ab  $220^{\circ}$  allmähliche Zers.;  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+15.27 \pm 2^{\circ}$  bzw.  $[\alpha]_{246}^{20}$ :  $+17.36^{\circ}$  ( $c = 0.6$ ; in Dimethylacetamid/Phosphorsäure-tris-dimethylamid, 9 : 1). Chromatographisch rein in tert.-Butylalkohol/Eisessig/Wasser/Pyridin (60 : 6 : 24 : 20) bzw. Amylalkohol/Pyridin/Wasser (35 : 35 : 30). Ausb. 3.4 g (88%).

$C_{173}H_{285}N_{34}O_{42}S]Br_3 \cdot 2H_2O$  (3821.2) Ber. C 54.37 H 7.62 Br 6.33 N 12.58 O 18.43 S 0.85  
Gef. C 54.52 H 7.69 Br 6.28 N 12.39 O 18.65 S 0.99

Aminosäureanalyse:

	Thr	Ser	Asp	Tyr	Lys	Leu	Arg	Ala	Glu	Phe	Val	Met	NH <sub>3</sub>
Ber.	2	3	4	2	1	2	2	1	2	1	1	1	3
Gef.	1.86	2.72	3.94	1.87	0.98	2.03	1.95	1.0	1.94	1.03	1.03	0.97	3.63