



УДК 547.963.32.04

## ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ И НУКЛЕОТИДОПЕПТИДЫ

XXXVI. О МЕХАНИЗМЕ ГИДРОЛИЗА УРИДИЛИЛ(5'→N)АМИНОКИСЛОТ.  
ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КАТАЛИЗ С УЧАСТИЕМ  $\alpha$ -КАРБОКСИЛЬНОЙ  
ГРУППЫ АМИНОКИСЛОТ*Юодка Б. А., Саснаускене С. И., Казлаускайте С. А.,  
Кирвялене В. А.**Вильнюсский государственный университет**Шабарова Э. А.**Московский государственный университет*

Гидролиз сложных эфиров уридил(5'→N)аминокислот в кислой среде приводит к образованию уридин-5'-фосфата и сложных эфиров аминокислот. Среди продуктов гидролиза аналогов со свободной  $\alpha$ -карбоксильной группой кроме нуклеотида и аминокислоты обнаружен нуклеозид и неорганический фосфат. Исследование термодинамики реакции расщепления, изотопного эффекта, проведение гидролиза в смеси этилового спирта и воды, а также в  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  позволило установить, что при гидролизе уридил(5'→N)аминокислот в кислой среде имеет место внутримолекулярный нуклеофильный катализ с участием  $\alpha$ -карбоксильной группы аминокислоты. Обнаружено, что на эффективность внутримолекулярного нуклеофильного катализа карбоксильной группы в уридил(5'→N)аминокислотах влияют радикалы аминокислот.

В настоящее время выделен ряд нуклеопротеидов, в которых РНК или ДНК присоединены к белкам с помощью ковалентных связей. Нуклеотид-белковые ковалентные комплексы образуются также при функционировании ряда ферментов. Однако природа химической связи, с помощью которой белок присоединен к нуклеиновой кислоте или нуклеотиду, установлена лишь в некоторых случаях [1]. Для решения этой проблемы плодотворным подходом является изучение модельных соединений [2]. Синтез и химические свойства ряда нуклеотидопептидов [2–4], а также влияние свободной карбоксильной группы аминокислот на гидролитическую устойчивость нуклеотидил(P→N)аминокислот описаны нами ранее [5, 6]. В данной работе подробно исследован механизм расщепления фосфоамидного центра в уридил(5'→N)аминокислотах.

Синтез сложных эфиров уридил(5'→N)аминокислот (пептидов) осуществляли дициклогексилкарбодимидным методом [7]. Этиловый эфир уридил(5'→N)-DL-аланил-DL-лейцил-DL-аланил-DL-валина синтезировали сшиванием уридил(5'→N)-DL-аланил-DL-лейцина с этиловым эфиром DL-аланил-DL-валина [3]. Омылением щелочью получали аналоги со свободной карбоксильной группой. Таким методом синтезированы N-уридил(5'→N)-производные глицина (I), L-аланина (II),  $\beta$ -аланина (III), L-валина (IV), L-лейцина (V), L-фенилаланина (VI), L-тирозина (VII),

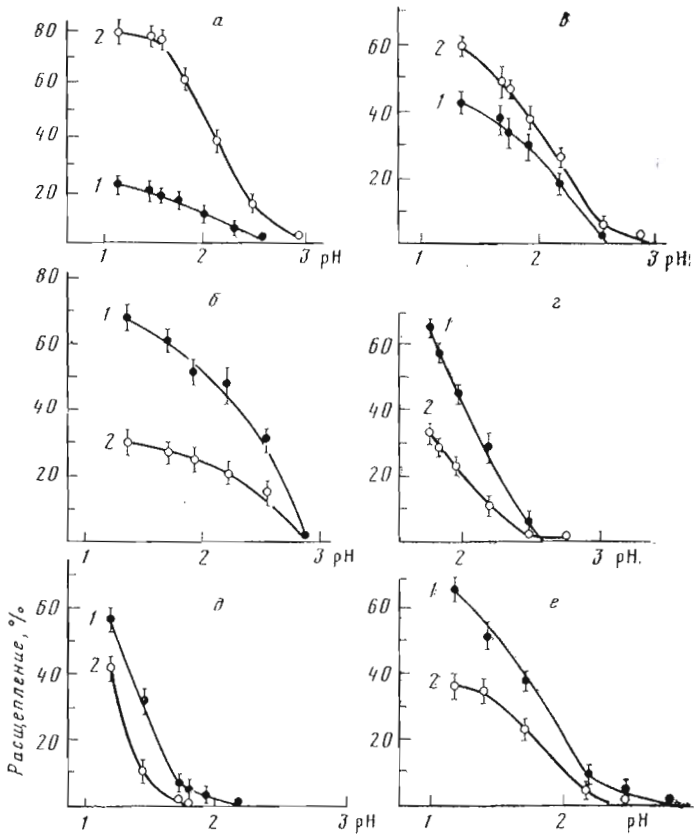
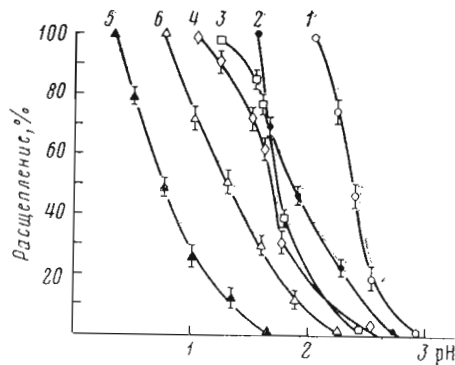


Рис. 1. Гидролитическая устойчивость в кислой среде (37° С, 1 ч): а — Urd-5'-P-Ala (II), б — Urd-5'-P-Val (IV), в — Urd-5'-P-Leu (V), г — Urd-5'-P-Phe (VI), д — Urd-5'-P-Tyr (VII), е — Urd-5'-P-His (VIII). Контроль по образованию Urd (1) и Urd-5'-P (2)

Рис. 2. Гидролитическая устойчивость в кислой среде (37° С, 1 ч): 1 — Urd-5'-P-Gly (I), 2 — Urd-5'-P-βAla (III), 3 — Urd-5'-P-DL-Ala-DL-Leu (X), 4 — Urd-5'-P-DL-Ala-DL-Ala (IX), 5 — Urd-5'-P-DL-Pro (XII), 6 — Urd-5'-P-DL-Hyp (XIII). Контроль по образованию Urd-5'-P



L-гистидина (VIII); DL-аланил-DL-аланина (IX), DL-аланил-DL-лейцина (X), DL-аланил-DL-лейцил-DL-аланил-DL-валина (XI), DL-пролина (XII) и DL-оксипролина (XIII).

Ранее была исследована гидролитическая устойчивость сложных эфиров уридила (5'→N) аминокислот (пептидов) и показано, что в кислой среде имеет место гидролиз фосфоамидной связи и образуется UMP и соответствующие сложные эфиры аминокислот (пептидов) [2-4]. Изучение гидролитической устойчивости соединений (I) — (XIII) в зависимости от pH показало, что они также гидролизуются в кислой среде (рис. 1, 2). Но в отличие от сложноэфирных аналогов механизм гидролиза соединений со свободной карбоксильной группой не одинаков. Фосфоамиды (I), (III),

## Периоды полураспада уридил(5'→N)аминокислотных производных Urd-5'-P-Аас

-Аас	pH	τ/2, мин	-Аас	pH	τ/2, мин
-Gly-OMe	2,19	20	-DL-Ala-DL-Ala-OEt	1,76	33
-Gly (I)	2,19	27	-DL-Ala-DL-Ala (IX)	1,76	81
-βAla-OEt	2,19	21	-DL-Ala-DL-Leu-OEt	1,76	41
-βAla (II)	2,19	74	-DL-Ala-DL-Leu (X)	1,76	76
-DL-Pro-OEt	1,0	133	-DL-Ala-DL-Leu-DL-Ala-	1,76	92
-DL-Pro (XII)	1,0	77	DL-Val-OEt		
-Hyp-OEt	1,0	78	-DL-Ala-DL-Leu-DL-Ala-	1,76	Не расщепляется
-DL-Hyp (XIII)	1,0	33	DL-Val (XI)		

Таблица 2

## Периоды полураспада (pH 1,76; 37° C) и термодинамические данные (pH 2,19) образования UMP при кислотном гидролизе уридил(5'→N)аминокислот (Urd-5'-P-Аас)

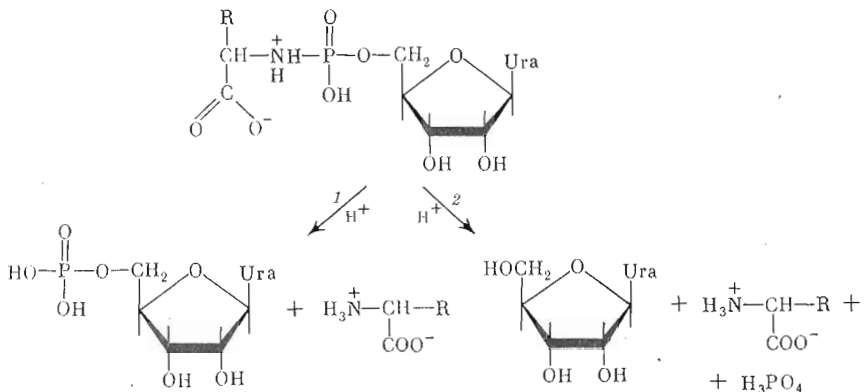
-Аас	τ/2, мин	$E_a$	$\Delta H^\ddagger$	$\Delta S^\ddagger$ , э.е.	-Аас	τ/2, мин	$E_a$	$\Delta H^\ddagger$	$\Delta S^\ddagger$ , э.е.
		ккал/моль					ккал/моль		
-Ala (II) *	42	12,8	12,2	-21,6	-Phe (VI)	41	11,5	10,9	-28,4
-Val (IV)	56	8,1	7,4	-40,1	-Tyr (VII)	104	14,1	13,4	-24,9
-Leu (V)	40	10,4	9,8	-32,5	-Hys (VIII)	105	11,2	10,5	-32,1

\* Термодинамические параметры определены при pH 1,76.

(IX) — (XIII) ведут себя в кислой среде так же, как и их сложноэфирные аналоги. Однако появление свободной карбоксильной группы несколько влияет на устойчивость фосфоамидной связи (табл. 1).

В случае соединений (II), (IV) — (VIII) свободная карбоксильная группа аминокислот меняет механизм гидролиза уридил(5'→N)аминокислот. В их кислотных гидролизатах кроме UMP и аминокислот обнаружен уридин и неорганический фосфат [5, 6] (см. рис. 1). По-видимому, гидролиз этих уридил(5'→N)аминокислот происходит по двум путям (схема 1).

Схема 1



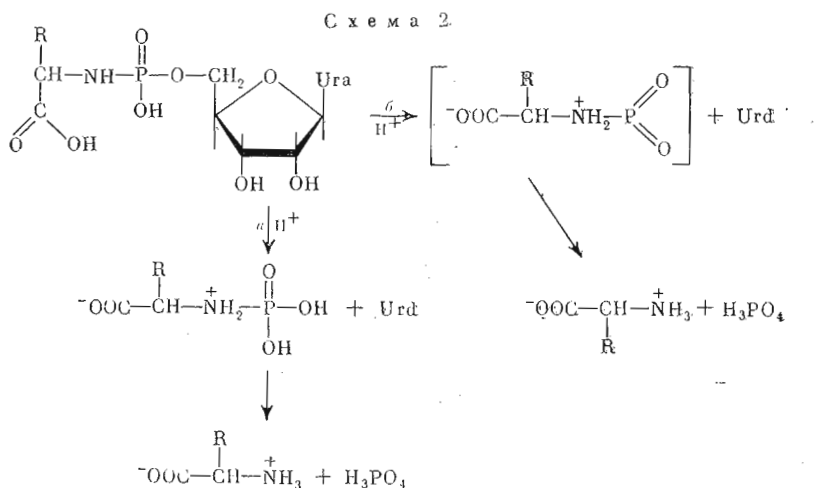
Первый путь такой же, как и в случае соединений с блокированной карбоксильной группой [2—4]. В кислой среде имеет место протонизация фосфоамидного азота, вследствие чего нарушается  $p_\pi - d_\pi$ -сопряжение между атомами азота и фосфора. В результате этого создается благоприят-

ные условия для нуклеофильной атаки атома фосфора молекулой воды. При этом уходящая (аминокислота) и вступающая (вода) группы находятся в аксиальных положениях, так требуют основные правила нуклеофильного замещения у тетраэдрического атома фосфора [8].

Изотопный эффект ( $k_{D_2O}/k_{H_2O}$  2,54) в случае тирозинового производного (VII) (37° С, 1 ч, pH 1,35) и большие отрицательные значения энтропий активации расщепления уридил (5'→N) аминокислот до UMP (табл. 2) позволяют предположить, что гидролиз этих соединений до UMP проходит по  $S_N2(P)$ -механизму.

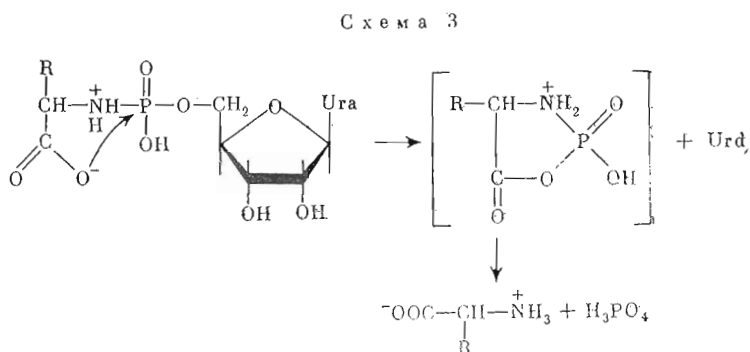
Второй путь (схема 1) обусловлен свободной  $\alpha$ -карбоксильной группой аминокислот, которая оказывает влияние преимущественно в протонированной форме (рК 1,5–2,5). Для объяснения участия  $\alpha$ -карбоксильной группы аминокислот в расщеплении уридил (5'→N) аминокислот в кислой среде можно предположить следующие механизмы.

#### 1. Внутримолекулярный общий кислотный катализ:



Путь *a* — бимолекулярная реакция с участием воды на стадии, определяющей скорость реакции. Путь *b* — мономолекулярная реакция с образованием неустойчивого метафосфата на первой стадии.

#### 2. Внутримолекулярный нуклеофильный катализ



Свободная карбоксильная группа аминокислот атакует фосфор с образованием промежуточного пятичленного цикла, который далее расщепляется до аминокислоты и неорганического фосфора.

Некоторую информацию о механизме гидролиза производных фосфорной кислоты можно получить из термодинамических и кинетических данных гидролиза, а также из изотопного эффекта. Из данных табл. 3 видно, что энтропия активации  $\Delta S^\ddagger$  расщепления уридил (5'→N) аминокислот

Периоды полураспада (рН 1,76; 37° С) и термодинамические данные (рН 2,19) образования уридина при кислотном гидролизе уридил (5'→N) аминокислот (Urd-5'-P -Aac)

-Aac	τ/2, МИН	E <sub>a</sub>		ΔS <sup>‡</sup> , э.е.	-Aac	τ/2, МИН	E <sub>a</sub>		ΔS <sup>‡</sup> , э.е.
		ккал/моль					ккал/моль		
-Ala (II) *	27	15,5	14,9	-15,5	-Phe (VI)	20	16,4	15,8	-11,9
-Val (IV)	27	9,1	8,5	-35,9	-Tyr (VII)	102	16,7	16,1	-16,9
-Leu (V)	52	9,7	9,1	-35,1	-Hys (VIII)	67	15,9	15,3	-16,7

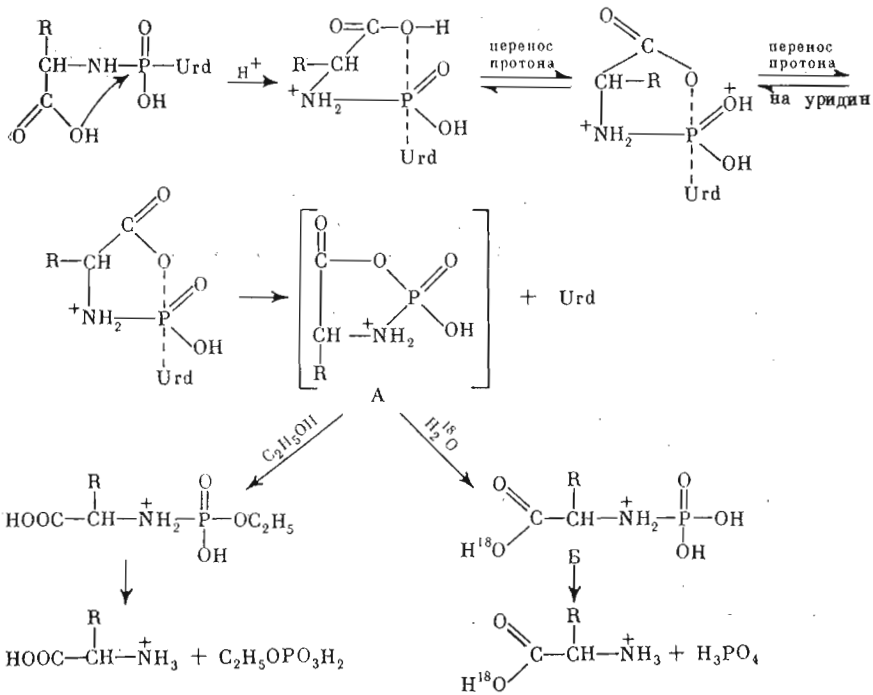
\* Термодинамические параметры определены при рН 1,76.

до уридина имеет большие отрицательные значения (12–36 э.е.). Изотопный эффект ( $k_{D_2O}/k_{H_2O}$ ) в случае гидролиза уридил (5'→N)-L-фенилаланина до уридина (37° С, 1 ч, рН 1,35) составляет 1,18. Это значит, что если при кислотном гидролизе уридил (5'→N) аминокислот имеет место внутримолекулярный кислотный катализ с участием свободной карбоксильной группы аминокислоты, то реакция протекает по бимолекулярному механизму (путь а, схема 2). Однако гидролиз уридиллейцина (V), проведенный в смеси этилового спирта и воды (1 : 1), показал, что в реакционной смеси кроме неорганического фосфора (75%) образуется 25% этилфосфата. Следовательно, во время гидролиза уридил (5'→N) аминокислот образуется активное промежуточное соединение, которое реагирует как с водой, так и с этиловым спиртом. Учитывая, что  $\Delta S^{\ddagger}$  и изотопный эффект противоречат образованию промежуточного метафосфата, мы отдаем предпочтение внутримолекулярному нуклеофильному катализу, т. е. образованию промежуточного пятичленного цикла с фосфоангидридной и фосфоамидной связью. Обычно для обнаружения фосфоангидридной связи в промежуточных соединениях используют реакцию с гидроксиламином [9, 10]. В нашем случае этот метод использовать не удалось, так как оказалось, что комплекс UMP и гидроксилamina тоже дает цветную реакцию с FeCl<sub>3</sub>.

Мы пытались уловить промежуточное соединение с помощью импульсной <sup>31</sup>P-ЯМР-спектроскопии. Однако промежуточное соединение чрезвычайно лабильно и в условиях гидролиза не накапливается. Поэтому для доказательства такого промежуточного цикла мы провели гидролиз уридилфенилаланина (VI) в H<sub>2</sub><sup>18</sup>O (0,1 н. HCl, 37° С, 1 ч). В выделенном фенилаланине карбоксильная группа имеет 22% меченого кислорода. Наличие метки в неорганическом фосфате не исследовали. Вода в случае циклических фосфоангидридов атакует атом фосфора [9, 11]. Кроме того, известно [12], что некоторые циклические фосфаты претерпевают не только гидролиз, но и обмен фосфорильного кислорода. Также имеет место обмен кислорода между водой и неорганическим фосфатом [13] или его эфирами [11]. Все эти данные могут указывать на то, что <sup>18</sup>O имеется и в неорганическом фосфате, который образуется при кислотном гидролизе уридил (5'→N) аминокислот. Так как обмен кислорода карбоксильной группы фенилаланина не происходит (контрольный опыт) и отсутствует обмен карбоксильного кислорода в случае других органических кислот [11], мы считаем, что влияние карбоксильной группы на механизм гидролиза уридил (5'→N) аминокислот проявляется через внутримолекулярный нуклеофильный катализ (схема 4).

Вступающая (COOH) и уходящая (уридин) группы занимают аксиальные положения, и образуется переходное состояние с пятичленным циклом. Из немногих литературных [14–16] и наших данных можно сделать вывод, что реакции, протекающие через пятичленное циклическое состоя-

Схема 4



ние, приводят в основном к отщеплению от атома фосфора экзоциклической группы (в нашем случае уридина) при условии, что во время образования переходного состояния и промежуточного пятичленного циклического фосфоангирида «А» протон карбоксильной группы переносится на уходящий уридин. Пятичленные циклы в  $10^6-10^8$  раз лабильнее нециклических аналогов [12], поэтому образовавшийся промежуточный пятичленный циклофосфоангирид «А» не накапливается. Вода, во всяком случае частично, атакует карбонильный углерод, а этиловый спирт — атом фосфора промежуточного соединения «А», так как региоспецифичность реакций циклических фосфоангиридов с нуклеофильными реагентами зависит от природы последних [17]. Далее циклический фосфоангирид «А» в кислой среде расщепляется до N-фосфоаминокислоты «Б», которая гидролизуется до  $H_3PO_4$  и аминокислоты.

Ранес нами было показано [4], что в случае сложных эфиров нуклеотидил ( $5' \rightarrow N$ ) аминокислот влияние радикалов аминокислот на гидролитическую устойчивость фосфоамидной связи проявляется через индукционные и стерические эффекты. В случае внутримолекулярных реакций особое значение имеет ориентация и расположение карбоксильной группы в уридилил ( $5' \rightarrow N$ ) аминокислотах (рис. 1, табл. 3). Но это не является единственным фактором, влияющим на внутримолекулярный катализ.

Значительное влияние карбоксильной группы аминокислот на внутримолекулярный катализ может оказать и ее способность к гидратации (или сольватации) [18, 19], зависящая, по-видимому, от стерических и индукционных эффектов радикалов аминокислот. Таким образом можно объяснить инертность карбоксильной группы глицина в уридилилглицине. С другой стороны, индукционные эффекты радикалов аминокислот могут непосредственно влиять на нуклеофильность карбоксильной группы аминокислот.

Очевидно, что гидролитическая устойчивость уридилил ( $5' \rightarrow N$ ) аминокислот зависит от действия всех вышеизложенных факторов.

## Экспериментальная часть

В работе использовали динатриевую соль уридин-5'-монофосфата, аминокислоты и дипептиды (Reanal, Венгрия), дициклогексилкарбодимид (Ferak, ФРГ), 99,8% D<sub>2</sub>O, 35% DCl и другие реактивы отечественного производства. Синтез сложных эфиров аминокислот и дипептидов [20], сложных эфиров уридиллил(5'→N)аминокислот и дипептидов [7], этилового эфира уридиллил(5'→N)-DL-аланил-DL-лейцил-DL-аланил-DL-валина [3] осуществляли по описанным методикам. Омыление сложных эфиров уридиллил(5'→N)аминокислот и пептидов проводили по работе [3]. Гидролитическую устойчивость соединений исследовали по методикам [3, 4], константы скорости гидролиза параллельных реакций вычисляли по [21]. Термодинамические характеристики гидролиза уридиллил(5'→N)аминокислот рассчитали по формулам работы [4].

Выделение синтезированных соединений проводили с помощью препаративной хроматографии на бумаге марки FN-1 (быстрая, ГДР). Для аналитических целей применяли ТСХ на пластинках «Silufol» (ЧССР). Использовали следующие системы растворителей: этиловый спирт — 1 М уксуснокислый аммоний, 7:3 (А); изопропиловый спирт — конц. аммиак — вода, 7:1:2 (Б). Электрофорез на бумаге проводили в 0,05 М триэтиламмониумбикарбонатном буфере, pH 7,5. Использовали прибор фирмы «Labor» (Венгрия). Структуру уридиллил(5'→N)аминокислот (пептидов) и их сложных эфиров доказывали определением отношения основание — фосфор — аминокислота после полного кислотного гидролиза (6 н. HCl, 100°С, 24 ч) [2—4]. УФ-спектры регистрировали с помощью спектрофотометра СФ-16. Спектры <sup>31</sup>P-ЯМР записывали на спектрометре НХ-90 с фурье-преобразованием на ЭВМ В-НС 12 (Bruker-Physik AG, ФРГ) на частоте 36,43 МГц.

Масс-спектры записывали на приборе АЕJMS (Англия) при энергии ионизирующих электронов 70 эВ (температура источника 200°С, система прямого ввода, температура ввода 160°С). В работе использовали воду, на 83% обогащенную кислородом <sup>18</sup>O.

*Гидролиз уридиллил(5'→N)-L-фенилаланина (VI) в D<sub>2</sub>O.* Раствор 3 мкмоль соединения (VI) в 0,5 мл D<sub>2</sub>O разливали в пробирки по 0,05 мл и прибавляли по 0,05 мл 0,03 н. DCl \* (pD 1,35). Параллельно исследовали гидролитическую устойчивость соединения (VI) в 0,03 н. HCl (pH 1,35). Гидролиз проводили по методике [4]. Из полученных данных вычисляли константы скорости образования UMP и уридина в D<sub>2</sub>O и H<sub>2</sub>O:  $k_{D_2O}(UMP)$   $4,3 \cdot 10^{-4}$ ,  $k_{D_2O}$  (уридин)  $2,65 \cdot 10^{-4}$ ;  $k_{H_2O}(UMP)$   $1,69 \cdot 10^{-4}$ ;  $k_{H_2O}$  (уридин)  $2,25 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ .

*Гидролиз уридиллил(5'→N)-L-фенилаланина (VI) в H<sub>2</sub><sup>18</sup>O.* К раствору 0,15 ммоль соединения (VI) в 2 мл H<sub>2</sub><sup>18</sup>O прибавляли 0,2 мл конц. HCl (концентрация HCl в реакционной смеси 0,1 н.) и инкубировали 1 ч при 37°С. Реакцию гидролиза останавливали охлаждением до 0°С и реакционную смесь препаративно хроматографировали на бумаге в системе растворителей Б. Из хроматограммы вырезали полосы фенилаланина (R<sub>f</sub> 0,73) и элюировали водой. Водный раствор упаривали до небольшого объема (~10 мл) и пропускали через колонку дауэкс-50 (H<sup>+</sup>), элюат упаривали, тщательно высушивали азеотропной отгонкой с абс. диоксаном и анализировали методом масс-спектрометрии.

Параллельно проводили контрольный опыт: 7 мг (40 ммоль) фенилаланина растворяли в 0,5 мл H<sub>2</sub><sup>18</sup>O, раствор выдерживали 1 ч при 37°С, препаративно хроматографировали на бумаге в системе растворителей Б. Далее все операции проводили как описано выше.

По данным масс-спектров вычисляли процентное количество меченого фенилаланина. В фенилаланине, образующемся при гидролизе уридиллил-

\* Концентрацию [D<sup>+</sup>] определяли с помощью pH-метра. pD раствора рассчитывали по формуле  $pD = pH + 0,4$ .

фенилаланина в  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , содержится 20%  $^{18}\text{O}$ . Контрольный эксперимент показал, что обмен кислорода между фенилаланином и  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  не происходит.

*Исследование продуктов гидролиза уридилла (5'→N)-L-фенилаланина (VI) с помощью  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии.* Раствор 0,15 ммоль соединения (VI) в 2 мл воды помещали в ампулу спектрометра и записывали спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР. Потом в ампулу прибавляли 0,4 мл 2 н. HCl и инкубировали при 40° С. Через 15 и 30 мин записывали спектры реакционной смеси.

Выражаем благодарность В. Ф. Зарытовой (Институт органической химии СО АН СССР) за снятие спектров  $^{31}\text{P}$ -ЯМР и И. Б. Мажейка (Институт органического синтеза АН ЛатвССР) за снятие масс-спектров.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Юодка Б. А. (1980) Биорганич. химия, 6, 1445-1465.
2. Shabarova Z. A. (1970) in: Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology (Davidson J. N., Cohn W. E., eds), vol. 10, pp. 145-182, Acad. Press, N. Y.
3. Juodka B., Kirveliēne V., Liprancaite L. (1979) J. Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides, 6, 333-357.
4. Juodka B., Sasnauskiene S. (1980) J. Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides, in press.
5. Савельев Е. П., Преображенская Н. Н., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1967) Химия природн. соедин., 2, 121-126.
6. Юодка Б. А., Саснаускене С. И. (1975) Научн. тр. вузов ЛлтССР, «Химия и хим. технология», 17, 169-173.
7. Moffatt J. G., Khorana H. G. (1961) J. Amer. Chem. Soc., 83, 649-658.
8. Emsley J., Hall D. (1976) The Chemistry of Phosphorus, pp. 308-336, Harper Row, Publishers.
9. Schray K. J., Benkovic S. J. (1974) J. Amer. Chem. Soc., 93, 2522-2529.
10. Bender M. L., Lawbor J. M. (1963) J. Amer. Chem. Soc., 85, 3040-3047.
11. Blackburn G. M., Brown M. J. (1969) J. Amer. Chem. Soc., 91, 525-526.
12. Westheimer F. H. (1968) Accounts Chem. Rev., 1, 70-78.
13. Bunten C. A. (1970) Accounts Chem. Rev., 3, 257-265.
14. Кирби А., Уоррен С. (1971) Органическая химия фосфора, с. 350-380, «Мир», М.
15. Шабарова З. А., Богданов А. А. (1978) в кн.: Химия нуклеиновых кислот и их компонентов, с. 142-149, изд-во «Химия», М.
16. Липкинд Г. М., Карнейский М. Я. (1978) Молекулярн. биология, 12, 282-289.
17. Jackson A. G., Kenner G. W., Moore G. A., Ramage R., Thayer W. D. (1976) Tetrahedron Lett., 3627-3630.
18. Дженкс В. (1972) Катализа в химии и энзимологии, с. 15-42, «Мир», М.
19. Simons S. S. (1974) J. Amer. Chem. Soc., 96, 6492-6498.
20. Гринштейн Дж., Виниц М. (1965) Химия аминокислот и пептидов, с. 425-427, «Мир», М.
21. Эмануэль Н. М., Кворре Д. Г. (1969) Курс химической кинетики, с. 200-214, «Высшая школа», М.

Поступила в редакцию  
26.V.1980

#### OLIGONUCLEOTIDES AND NUCLEOTIDE-PEPTIDES. XXXVI. ON THE MECHANISM OF HYDROLYSIS OF URIDYL (5'→N) AMINO ACIDS. INTRAMOLECULAR CATALYSIS INVOLVING $\alpha$ -CARBOXYL GROUP OF AMINO ACIDS

JUODKA B. A., SASNAUSKIENE S. I., KAZLAUSKAITE S. A.,  
KIRVELIENE V. A., SHABAROVA Z. A.

Vilnius State University, Vilnius; M. V. Lomonosov State  
University, Moscow

The hydrolysis of uridylyl (5'→N) amino acid esters in acidic medium leads to the formation of uridine 5'-phosphate and amino acid esters. Among the hydrolysis products for analogs with a free  $\alpha$ -carboxyl group, in addition to a nucleotide and an amino acid, a nucleoside and an inorganic phosphate were found. A study of the thermodynamics of the cleavage reaction, the isotope effect, carrying out hydrolysis in an alcohol-water mixture as well as in  $\text{H}_2^{18}\text{O}$ , allowed to ascertain that intramolecular nucleophilic catalysis involving the amino acid  $\alpha$ -carboxyl group takes place in the hydrolysis of uridylyl (5'→N) amino acids in acidic medium. The nature of the amino acid side chains was shown to influence the efficacy of this catalysis.