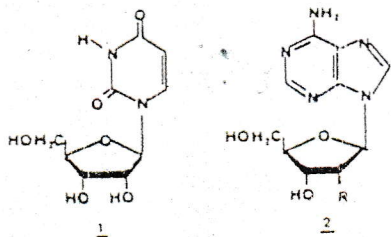


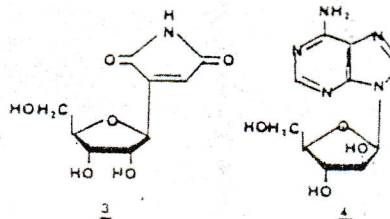
LES NUCLEOSIDES

A - DEFINITION - GENERALITES

Le terme de « nucléoside », introduit par Levene et Jacob en 1909 (1) était, à l'origine, intimement lié à celui d'acides nucléiques, puisque c'est par hydrolyse de ces derniers que furent initialement obtenus les dérivés ribosylés des purines et pyrimidines, comme par exemple l'uridine 1 et la désoxy-2 adénosine 2 (R = H)



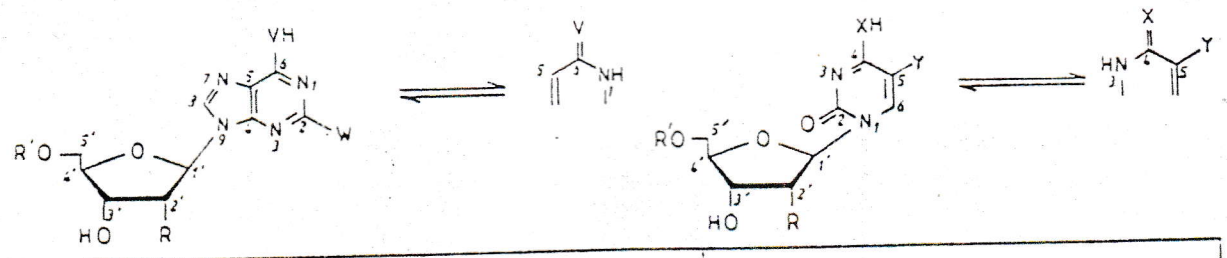
Cependant, devant l'intérêt présenté par ces molécules, la notion de nucléoside a ensuite été étendue à l'ensemble des composés formés par l'union d'une base hétérocyclique et d'un résidu sucre, à l'aide d'une liaison N - C ou C - C ; ainsi, l'antibiotique showdomycine 3 est un C-nucléoside (2) et la spongoadénosine (vidarabine ou Ara-A) 4 un arabinonucléoside (3).



- (1) P.A. Levene et W.A. Jacobs. *Chem. Ber.*, 1909, 42, 2474.
 (2) a. H. Nishimura, M. Mayama, Y. Komatsu, H. Kato, N. Shimaoka et Y. Tanaka. *J. Antibiot. Ser. A*, 1964, 17, 148.
 b. K.R. Darnall, L.B. Townsend et R.K. Robins. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 1967, 57, 548.
 c. G. Trummlitz et J.G. Moffatt. *J. Org. Chem.*, 1973, 33, 1841.
 (3) a. E.J. Reist, A. Begitez, L. Goodman, B.R. Baker et W.W. Lee. *J. Org. Chem.*, 1962, 27, 3274.
 b. C.P.J. Glaudemans et H.G. Fletcher. *J. Org. Chem.*, 1963, 28, 3004.

Les nucléosides naturels sont constitués par l'association d'une base hétérocyclique purique (adénine : A et guanine : G) ou pyrimidique (cytosine : C, uracile : U et thymine : T) à un résidu osidique (β -D-ribofurannose ou β -D-désoxyribofurannose). A quelques rares exceptions près, ils possèdent la configuration β (aglycone situé au-dessus du plan moyen du sucre dans la représentation de Haworth).

L'estérification de l'hydroxyle en position 5' des nucléosides par une molécule d'acide phosphorique conduit aux nucléotides.

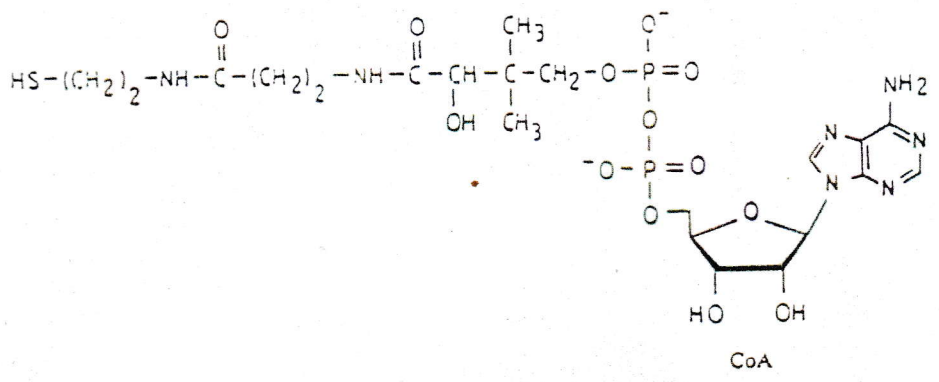
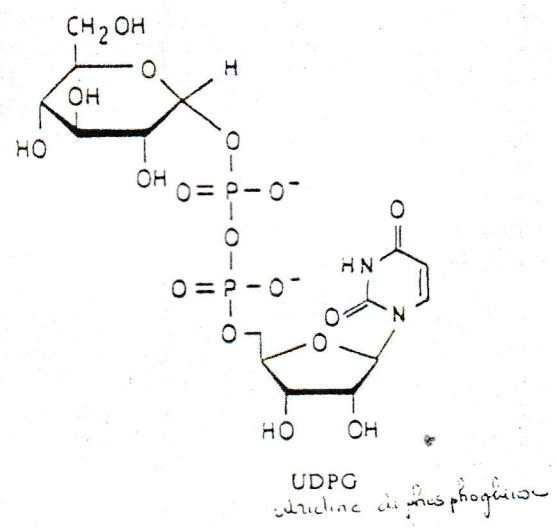
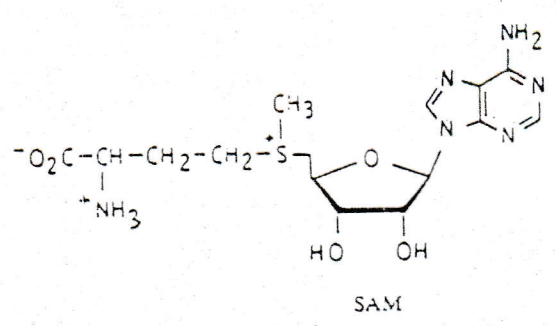
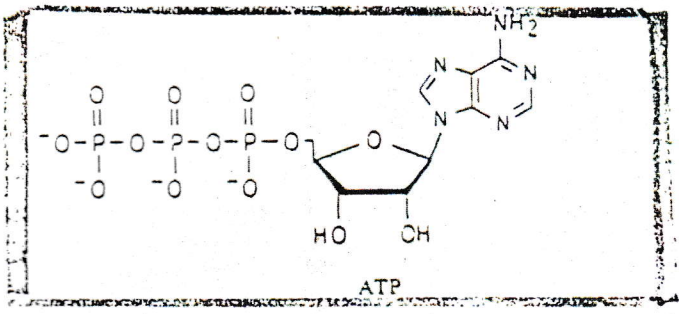
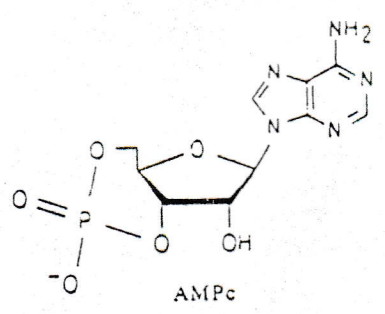


BASES	R = OH		R = H	
	R' = H β-D-ribonucleosides	R' = PO ₃ H ₂ β-D-ribonucleotides	R' = H β-D-2'-desoxyribonucleosides	R' = PO ₃ H ₂ β-D-2'-desoxyribonucleotides
P U R I N E S	Adenine V = NH W = H	Adenosine	Acide adénylique ou Adenosine 5'-(mono)phosphate	Desoxyadenosine Acide desoxyadénylique ou Desoxyadénosine 5'-(mono)-phosphate
	Guanine V = O W = NH ₂	Guanosine	Acide guanylique ou Guanosine 5'-(mono)phosphate	Desoxyguanosine Acide desoxyguanylique ou Desoxyguanosine 5'-(mono)- phosphate
P Y R I M I D I N E S	Cytosine X = NH Y = H	Cytidine	Acide cytidylique ou Cytidine 5'-(mono)phosphate	Desoxycytidine Acide desoxycydylique ou Desoxycytidine 5'-(mono)-phosphate
	Uracile X = O Y = H	Uridine	Acide uridylique ou Uridine 5'-(mono)phosphate	Desoxyuridine Acide desoxyuridylique ou Desoxyuridine 5'-(mono)-phosphate
	Thymine X = O Y = CH ₃	Thymidine (ou thymine ribonucleoside, ancienne denomination)	Acide thymidylique ou Thymidine 5'-(mono)phosphate	Desoxythymidine (ou thymidine, ancienne denomination) Acide desoxythymidylique ou Desoxythymidine 5'-(mono)-phosphate

Structure et nomenclature des nucléosides et nucléotides naturels.

Un certain nombre de dérivés des nucléosides et nucléotides naturels exercent des fonctions biologiques essentielles. Citons à titre d'exemple :

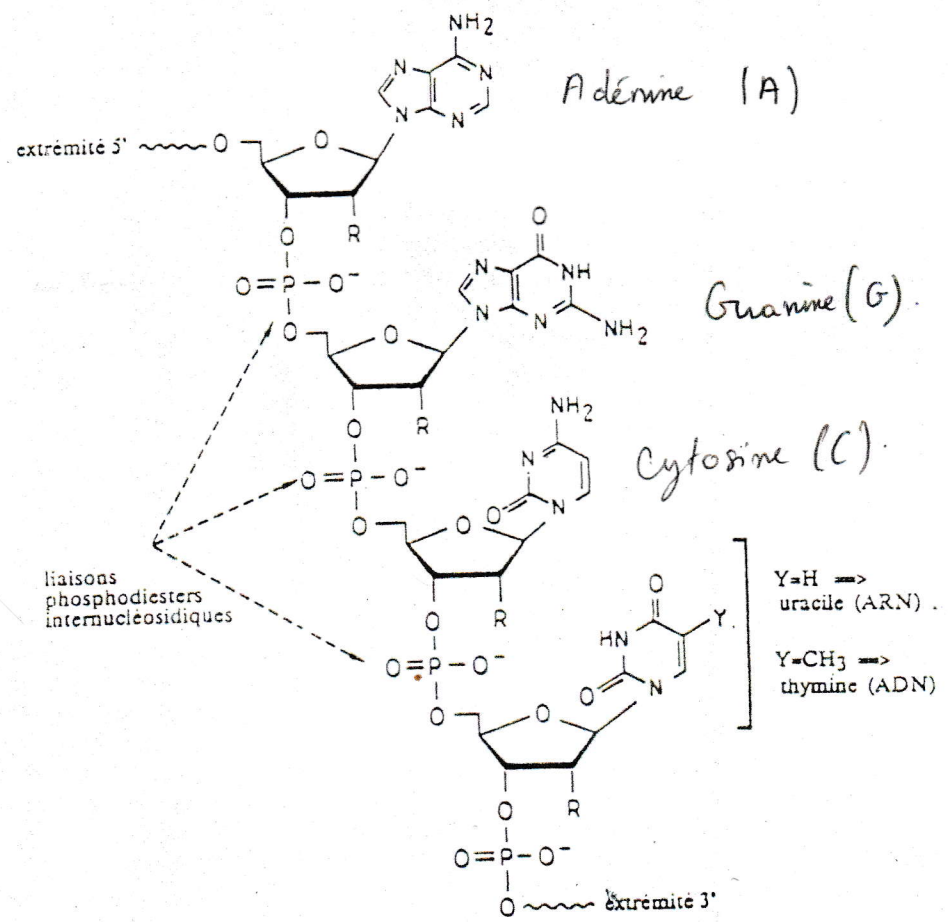
- l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), qui agit comme effecteur allostérique dans l'amplification de signaux extracellulaires,
- l'adenosine 5'-triphosphate (ATP), qui joue un rôle de réservoir énergétique à l'intérieur des cellules et est impliquée dans la plupart des réactions de phosphorylation,
- la S-adénosylméthionine (SAM), qui joue un rôle de donneur de groupements méthyles,
- l'uridine diphosphoglucose (UDPG), qui intervient comme transporteur de résidus glucoses lors de la biosynthèse du glycogène,
- et enfin l'adénosine 5'-diphosphate, qui entre dans la constitution de divers coenzymes, dont le coenzyme A (CoA).



Exemples de dérivés nucléosidiques naturels impliqués dans le métabolisme cellulaire.

Quelle que puisse être l'importance des nucléosides dans le métabolisme cellulaire, il n'en reste pas moins vrai que leur fonction principale s'exerce au niveau de la structure des acides ribo- et désoxyribonucléiques (ARN et ADN). En effet, la continuité des chaînes de ces macromolécules est assurée par des liaisons

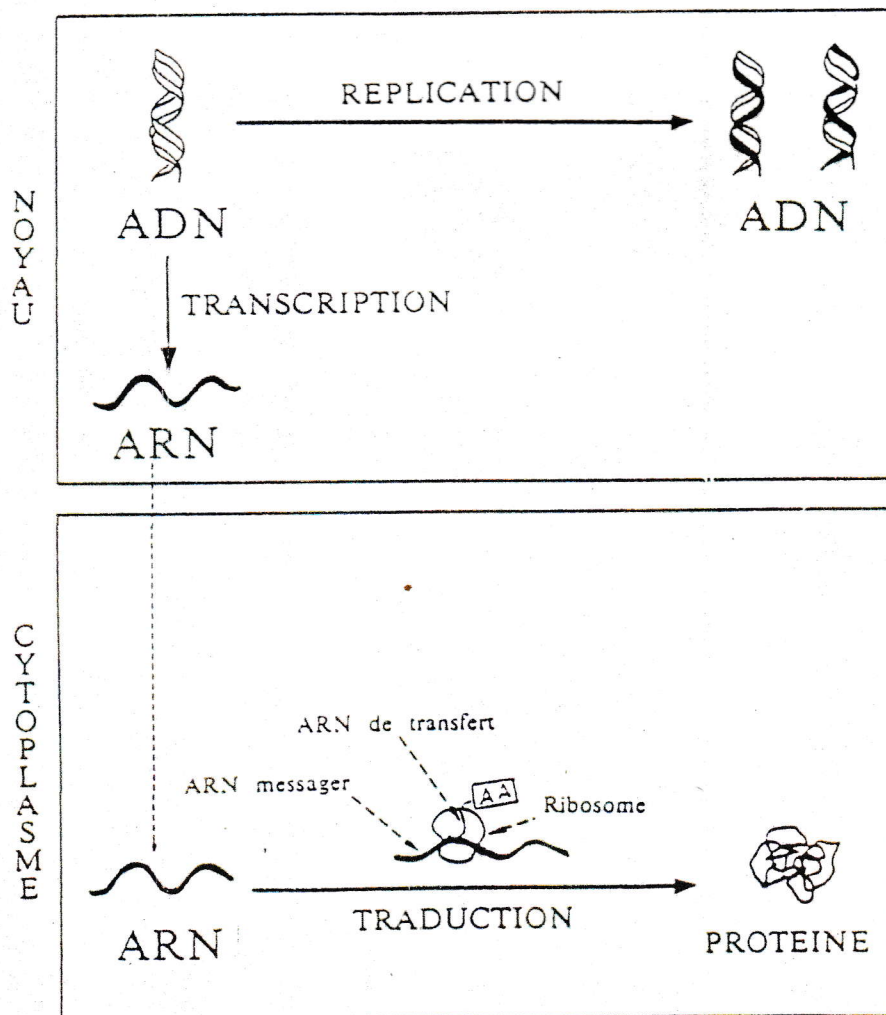
phosphodiesters qui s'établissent entre les hydroxyles en position 3' et 5' de deux unités nucléosidiques consécutives. Les acides nucléiques se différencient au niveau de leur structure primaire par la nature de leurs résidus osidiques dont l'atome en position 2' porte soit une fonction hydroxyle (série ARN), soit un hydrogène (série ADN). D'autre part l'adénine, la guanine, la cytosine et l'uracile sont les quatres bases majeures de l'ARN, tandis que la thymine remplace l'uracile dans l'ADN.



Structure primaire d'un fragment d'acide nucléique
(R=OH ==> série ARN ; R=H ==> série ADN).

Unités structurales des acides nucléiques, les nucléosides participent donc à ce titre aux mécanismes moléculaires de la conservation, de la réplication et de la transcription de l'information génétique. Dans toutes les cellules, l'ADN constitue le

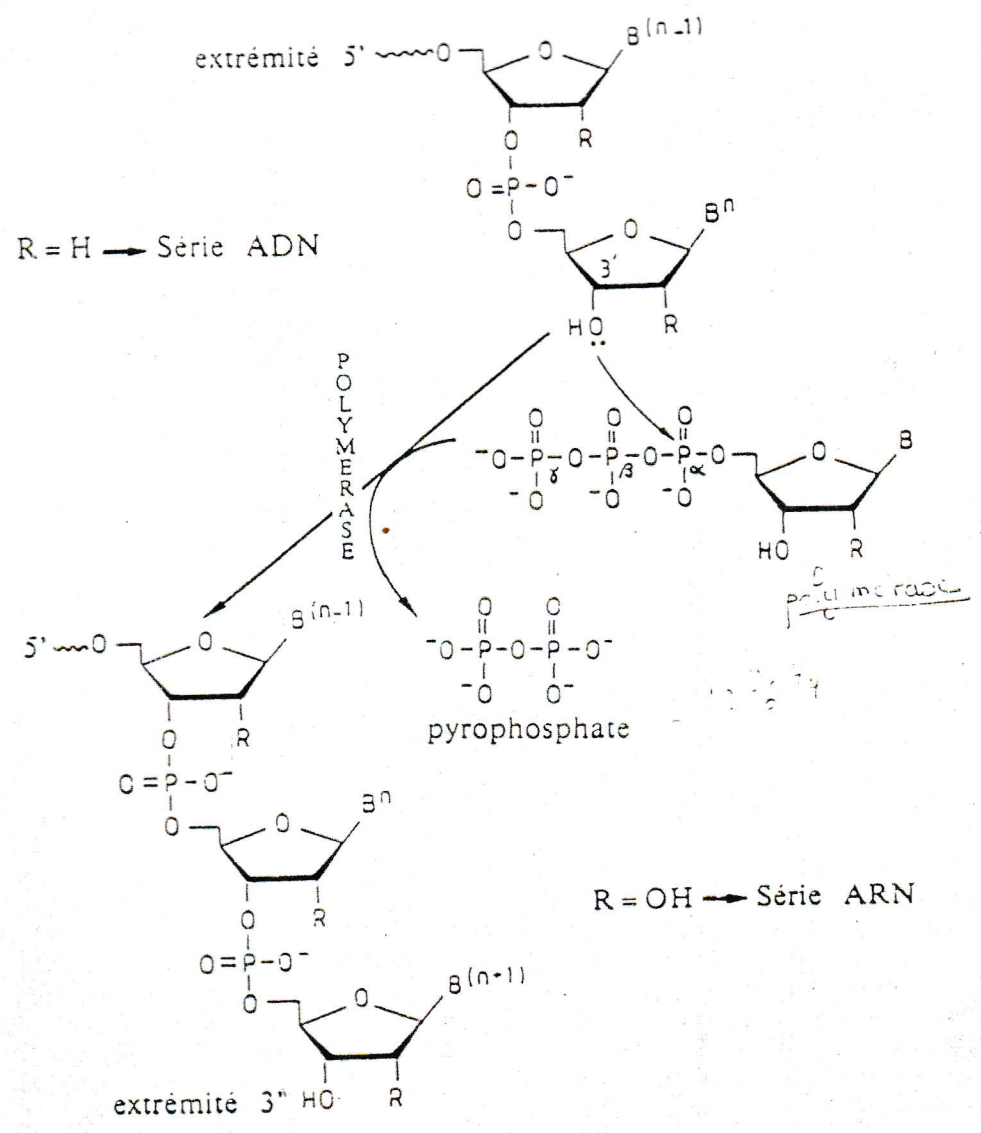
support de cette information, qui dépend de l'ordre dans lequel sont enchainés les nucléosides. Le transfert de cette information [basée sur la complémentarité des bases $G \equiv C$ et $A = T$ (ou $A = U$)] s'effectue grâce aux acides ribonucléiques. Ainsi, dans chaque cellule, le message génétique sous forme d'ADN localisé dans le noyau est transcrit en ARN messenger, qui migre dans le cytoplasme vers des organites appelés ribosomes où il est traduit en protéines par l'intermédiaire des ARN de transfert, ces derniers attachant l'acide aminé qu'ils véhiculent aux chaînes protéiques en cours de formation. Les ribosomes eux-mêmes contiennent un troisième type d'ARN, appelé ARN ribosomal et qui constitue en partie leur ossature.

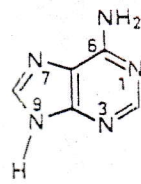


DOGME FONDAMENTAL DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

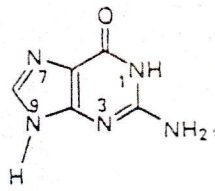
Les mécanismes de répliation (ADN → ADN) et de transcription (ADN → ARN) des acides nucléiques impliquent la polymérisation de leurs nucléosides, sous forme de précurseurs triphosphates, sur une matrice d'ADN monocaténaire. Cette réaction est effectuée par des polymérase, qui catalysent la fixation covalente de nouvelles unités nucléotidiques par leur phosphate-α à l'extrémité libre 3'-hydroxylée de la chaîne en cours d'élongation dans le sens 5'-3', avec élimination d'une molécule de pyrophosphate.

MECANISME D'ELONGATION
D'UNE CHAÎNE
D'ACIDE NUCLEIQUE
EN COURS DE BIOSYNTHESE

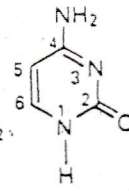




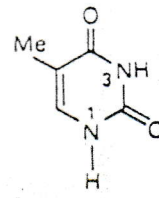
Adenine



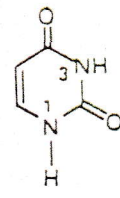
Guanine



Cytosine



Thymine



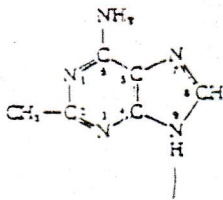
Uracile

Remarque :

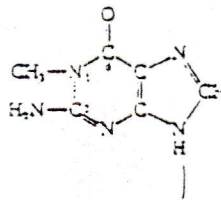
Outre les 5 principales bases précédemment étudiées, il existe également d'autres bases que l'on ne retrouve qu'en très faible quantité et préférentiellement dans certains acides nucléiques particuliers (ARN de transfert).

Deux purines mineures

2-Méthyladenine

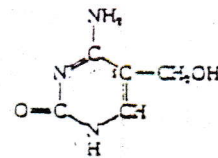


1-Méthylguanine

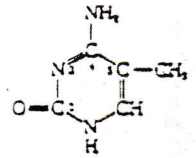


Deux pyrimidines mineures

5-Hydroxyméthylcytosine

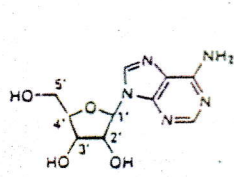


5-Méthylcytosine

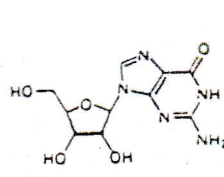


3) Les Nucléosides

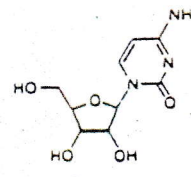
La liaison se fait toujours par élimination d'une molécule d'eau entre l'hydroxyle hémiacétalique en position B du carbone C1 (anomère) du sucre et l'hydrogène de l'atome d'azote N-9 pour les bases puriques ou N-1 pour les bases pyrimidiques.



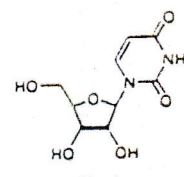
Adenosine



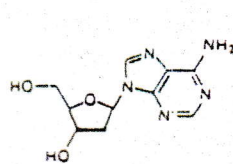
Guanosine



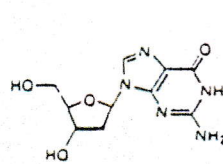
Cytidine



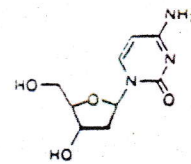
Uridine



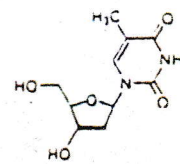
Deoxyadenosine



Deoxyguanosine



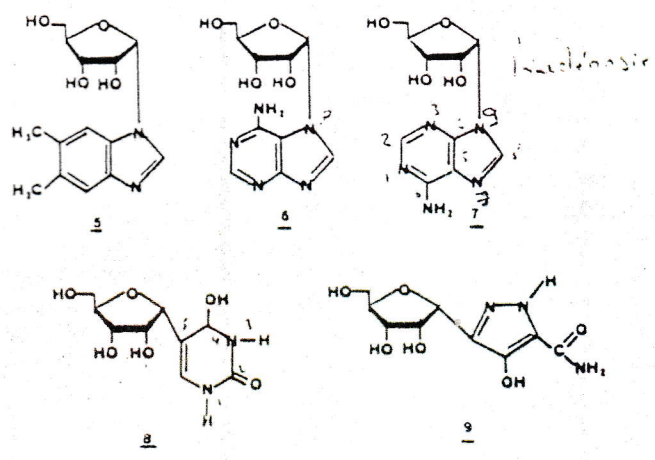
Deoxycytidine



Deoxythymidine

Remarque :

Il existe *a priori* deux types de configuration possibles pour les nucléosides, notées α et β . Ces configurations correspondent à la position de la liaison sucre-base par rapport au plan moyen du sucre, ce dernier étant représenté selon Haworth. La plupart des nucléosides « naturels » possèdent la configuration β (aglycone situé au-dessus du plan moyen du sucre, tel que représenté sur les formules 1 à 4). Cependant quelques rares exceptions sont connues ; il s'agit par exemple du diméthyl-5,6- α -D-ribofuranosyl benzimidazole 5 et de l' α -D-ribofuranosyl-7 adénine 6 constituants respectifs de la vitamine B₁₂ (4) et de la pseudovitamine B₁₂ (5), ainsi que de l' α -adénosine 7 isolée par hydrolyse du facteur cornioïde Cx de *Propionibacterium shermanii* (6) ; des α -C-nucléosides naturels ont également été isolés, citons pour mémoire l' α -pseudouridine 8 obtenue à partir d'un hydrolysat de RNA de transfert d'*E. coli* (7) et l' α -pyrazomicine 9 obtenue à partir d'un filtrat de bouillon de *Streptomyces candidus* (8).



(4) a. N.G. Brink, F.W. Holly, C.H. Shunk, E.W. Peel, J.J. Cahill et K. Folkers, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1950, 72, 1866.
 b. N.G. Brink et K. Folkers, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1952, 74, 2856.
 c. F.W. Holly, C.H. Shunk, E.W. Peel, J.J. Cahill, J.B. Lavigne et K. Folkers, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1952, 74, 4521.
 d. A.W. Johnson, G.W. Miller, J.A. Mills et A.R. Todd, *J. Chem. Soc.*, 1953, p. 3061.
 e. D. Heyl, E.C. Chase, C.H. Shunk, M.U. Moore, G.A. Emerson et K. Folkers, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1954, 76, 1355.
 (5) a. J.A. Montgomery et H.J. Thomas, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1963, 85, 2672.
 b. J.A. Montgomery et H.J. Thomas, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1965, 87, 5442.
 (6) I. Dinglinger et P. Renz, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 1971, 352, 1157.
 (7) R.L. Hancock, *Journal of Chromatographic Science*, 1969, 7, 366.
 (8) G.E. Gutowski, M.O. Chancy, N.D. Jones, R.L. Hamill, F.A. Davis et R.D. Miller, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1973, 51, 312.

Remarque : La nomenclature des nucléosides combine le nom du sucre (ose) avec celui de la base purique ou pyrimidique intéressée. La numérotation des atomes commence par ceux de la base. On affecte ensuite de l'indice "prime" les numéros des atomes de carbone du sucre.

On notera que les nucléosides naturels puriques ont un suffixe "osine", ceux pyrimidiques un suffixe "idine".

II) PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES DES NUCLEOSIDES

1) Solubilité-Stabilité Chimique

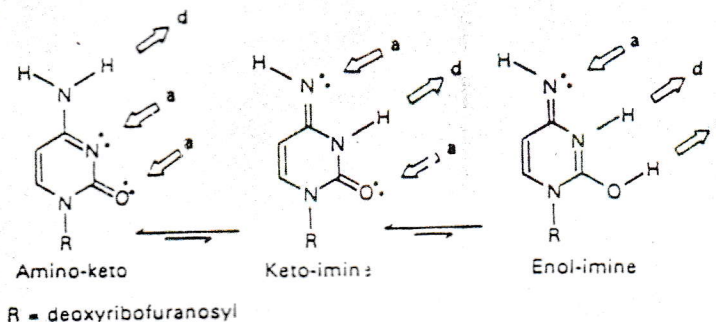
- En raison de la présence de groupes hydrophiles (hydroxyles des sucres), ces composés sont beaucoup plus solubles dans l'eau que les bases dont ils dérivent.
- Les nucléosides sont hydrolysés en milieu acide pour donner la base libre. Cette même rupture peut être réalisée à pH neutre par des enzymes appelées phosphorylases : (voir plus loin Biosynthèse par récupération).
- En milieu basique, les nucléosides sont stables.

2) Formes Tautomères

En raison de la présence de substituants hydroxyles ou amines, les bases peuvent exister sous plusieurs formes tautomères (migration d'un atome d'hydrogène) :

- formes lactame et lactime pour les bases hydroxylées,
- formes amine primaire et imine pour les bases aminées.

Exemple de la désoxycytidine :



Tautomeric equilibria for deoxycytidine showing hydrogen-bond acceptor a and donor d sites as used in nucleic acid base-pairing.

Les unes et les autres de ces formes tautomères prédominent en fonction du milieu où elles se trouvent. En fait dans les conditions physiologiques (pH = 7) seules les formes lactame (ceto) et amine primaire existent préférentiellement.

3) Etat d'Ionisation

Le comportement acido-basique (état d'ionisation) des nucléosides est également une caractéristique physicochimique importante. Il détermine leur charge, leur structure tautomérique et donc leur aptitude à jouer un rôle accepteur ou donneur lors de l'établissement de liaisons hydrogènes.

pK_a values for bases in nucleosides

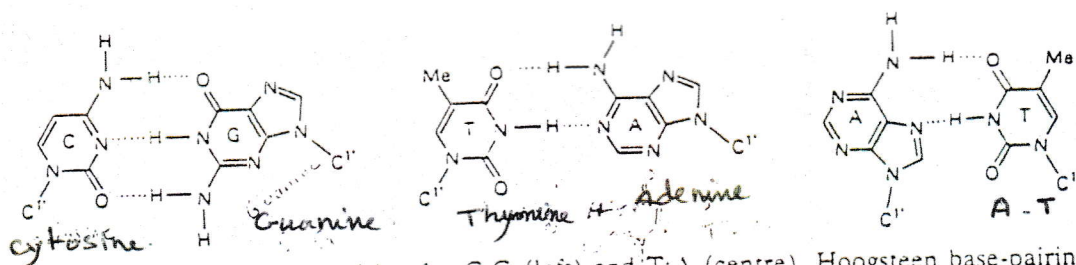
Base (site of protonation)	Nucleoside
Adenine (N-1)	3.52
Cytosine (N-3)	4.17
Guanine (N-7)	3.3
Guanine (N-1)	9.42
Thymine (N-3)	9.93
Uracil (N-3)	9.38

These data approximate to 20°C and zero salt concentration. They correspond to loss of a proton for $pK_a > 9$ and capture of a proton for $pK_a < 5$

A partir des données présentées dans le précédent, il est clair que les bases ne sont pas ionisées (chargées) pour un pH compris entre 5 et 9. C'est également vrai pour les sucres, pour lesquels les fonctions diols 2',3' du ribofuranose perdent un seul proton à $\text{pH} > 12$.

4) Formation de liaisons hydrogènes

La reconnaissance mutuelle de l'adénine par la thymine (ou l'uracile) et de la cytosine par la guanine par l'intermédiaire de liaisons hydrogène constitue le principe de base de la structure bicaténaire de l'ADN (telle que proposée par Watson-Crick) et assure la fidélité de la réplication, de la transcription et de la traduction.



Watson-Crick base-pairing for C:G (left) and T:A (centre). Hoogsteen base-pairing for A:T (right).

5) Propriétés Optiques

■ Les bases puriques et pyrimidiques absorbent fortement la lumière ultraviolette entre 240 et 280 nm.

Cette capacité d'absorption de la lumière UV des bases se retrouve également dans les nucléosides, nucléotides et acides nucléiques. C'est sur elle que sont fondées bon nombre de méthodes d'analyse des acides nucléiques et de ses constituants.

Remarque: Le spectre d'absorption des nucléosides est superposable à celui des nucléotides correspondants, mais diffère sensiblement de celui de leur base libre.