



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The synthesis of chemical tools for studying sphingolipid metabolism

Wisse, P.

Citation

Wisse, P. (2018, January 18). *The synthesis of chemical tools for studying sphingolipid metabolism*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/61134>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/61134>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:
<http://hdl.handle.net/1887/61134>

Author: Wisse, P.

Title: The synthesis of chemical tools for studying sphingolipid metabolism

Issue Date: 2018-01-18

List of Publications

Gaucher disease and Fabry disease: new markers and insight in pathophysiology for two distinct glycosphingolipidoses

M. J. Ferraz, W. W. Kallemeijn, M. Mirzaian, D. H. Moro, A. R. A. Marques, P. Wisse, R. G. Boot, L. I. Willems, H. S. Overkleeft, J. M. Aerts, *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cells Biology of Lipids* **2014**, 1841 (5), 811-825.

Near-infrared labeled, ovalbumin loaded polymeric nanoparticles based on a hydrophilic polyester as model vaccine: In vivo tracking and evaluation of antigen-specific CD8⁺ T cell immune response

S. Rahimian, J. W. Kleinovink, M. F. Fransen, L. Mezzanotte, H. Gold, P. Wisse, H. S. Overkleeft, M. Amidi, W. Jiskoot, C. W. Lowik, F. Ossendorp, W. E. Hennink *Biomaterials* **2015**, 37, 469-477.

Mass spectrometric quantification of glucosylsphingosine in plasma and urine of type 1 Gaucher patients using an isotope standard

M. Mirzaian, P. Wisse, M. J. Ferraz, H. Gold, W. E. Donker-Koopman, M. Verhoek, H. S. Overkleeft, R. G. Boot, G. Kramer, N. Dekker, J. M. F. G. Aerts, *Blood Cells Molecules and Diseases* **2015**, 54 (4), 307-314.

Synthesis of a panel of carbon-13-labelled (glyco)sphingolipids

P. Wisse, H. Gold, M. Mirzaian, M. J. Ferraz, G. Lutteke, R. J. B. H. N. van den Berg, H. van den Elst, J. Lugtenburg, G. A. van der Marel, J. M. F. G. Aerts, J. D. C. Codée, H. S. Overkleeft, *European Journal of Organic Chemistry* **2015**, 2661-2677.

Synthesis of 6-hydroxysphingosine and alpha-Hydroxy ceramide using a cross-metathesis strategy

P. Wisse, M. A. R. de Geus, G. Cross, A. M. C. H. van den Nieuwendijk, E. J. van Rooden, R. J. B. H. N. van den Berg, J. M. F. G. Aerts, G. A. van der Marel, J. D. C. Codée, H. S. Overkleeft, *Journal of Organic Chemistry* **2015**, 80 (14), 7258-7265.

Lyso-glycosphingolipid abnormalities in different murine models of lysosomal storage disorders

M. J. Ferraz, A. R. A. Marques, P. Gaspar, M. Mirzaian, C. P. A. A. van Roomen, R. Ottenhoff, P. Alfonso, P. Irun, P. Giraldo, P. Wisse, C. S. Miranda, H. S. Overkleeft, J. M. Aerts, *Molecular Genetics and Metabolism* **2016**, *117* (2), 186-193.

Glycosylated cholesterol in mammalian cells and tissues: formation and degradation by multiple cellular beta-glucosidases

A. R. A. Marques, M. Mirzaian, H. Akiyama, P. Wisse, M. J. Ferraz, P. Gaspar, K. Ghauaurali-van der Vlugt, R. Meijer, P. Giraldo, P. Alfonso, P. Irun, M. Dahl, S. Karlsson, E. V. Pavlova, T. M. Cox, S. Scheij, M. Verhoek, R. Ottenhoff, C. P. A. A. van Roomen, N. S. Pannu, M. van Eijk, N. Dekker, R. G. Boot, H. S. Overkleeft, E. Blommaart, Y. Hirabayashi, J. M. Aerts, *Journal of Lipid Research* **2016**, *57* (3), 451-463.

Lysosomal glycosphingolipid catabolism by acid ceramidase: formation of glycosphingoid bases during deficiency of glycosidases

M. J. Ferraz, A. R. A. Marques, M. D. Appelman, M. Verhoek, A. Strijland, M. Mirzaian, S. Scheij, C. M. Quairy, D. Lahav, P. Wisse, H. S. Overkleeft, R. G. Boot, J. M. Aerts, *FEBS Letters* **2016**, *6*, 716-725.

Biochemical response to substrate reduction therapy versus enzyme replacement therapy in Gaucher disease type 1 patients

B. E. Smid, M. J. Ferraz, M. Verhoek, M. Mirzaian, P. Wisse, H. S. Overkleeft, C. E. Hollak, J. M. Aerts, *Orphanet Journal of Rare Diseases* **2016**, *11*, 28

Accurate quantification of sphingosine-1-phosphate in normal and Fabry disease plasma, cells and tissue by LC-MS/MS with C-13-encoded natural S1P as internal standard

M. Mirzaian, P. Wisse, M. J. Ferraz, A. R. A. Marques, T. L. Gabriel, C. P. A. A. van Roomen, R. Ottenhoff, M. van Eijk, J. D. C. Codée, G. A. van der Marel, H. S. Overkleeft, J. M. Aerts, *Clinica Chimica Acta* **2016**, *459*, 36-44.

Simultaneous quantation of sphingoid bases by UPLC-ESI-MS/MS with identical 13C-encoded internal standards

M. Mirzaian, P. Wisse, M. J. Ferraz, A. R. A. Marques, P. Gaspar, S. V. Oussoren, K. Kytidou, J. D. C. Codée, G. A. van der Marel, H. S. Overkleeft, J. M. F. G. Aerts, *Clinical Chimica Acta* **2017**, *466*, 178-184.

Nederlandse Samenvatting.

Sphingolipiden zijn samen met sterolen en glycerophospholipiden hoofdbestanddelen van celmembranen. Deze lipiden zijn ondersteunende structurelementen, die niet alleen belangrijk zijn voor het functioneren van het membraan als barrière voor het transport van moleculen, maar bijvoorbeeld ook voor cel-cel herkenning en intercellulaire communicatie. Sphingolipiden bestaan uit een apolair deel, ceramide genaamd en een polair deel, dat zich buiten de cel bevindt. Het apolaire ceramide is weer opgebouwd uit sphingosine en een daaraan gekoppeld vetzuur. Het polaire gedeelte van sphingolipiden bestaat uit verschillende koolhydraten en fosfaten esters, die belangrijk zijn voor de verschillende functies van sphingolipiden.

In menselijke cellen zijn verschillende enzymen betrokken bij de opbouw en afbraak (het metabolisme) van sphingolipiden. Verstoring van het sphingolipide metabolisme door een defect enzym of zelfs het ontbreken van een betrokken enzym kan verschillende medische aandoeningen tot gevolg hebben. Om het inzicht in het sphingolipide metabolisme en de daaraan gekoppelde medische aandoeningen te vergroten is het beschikbaar hebben van gedefinieerde sphingolipiden alsmede analoga of derivaten daarvan van groot belang. Dergelijke verbindingen kunnen toegankelijk worden gemaakt door organische synthese. In dit kader beschrijft dit proefschrift het ontwerp en de synthese van verschillende gemodificeerde sphingolipiden.

Hoofdstuk 1 geeft een overzicht van verschillende synthetische gemodificeerde sphingolipiden, die gebruikt worden om het metabolisme van sphingolipiden te bestuderen. Het soort modificatie in sphingolipiden en de bijbehorende synthetische strategieën zijn daarbij als leidraad gebruikt.

Hoofdstuk 2 beschrijft de synthese van een kleine bibliotheek van verschillende koolstof-13-verrijkte (glyco)sphingolipiden. Deze koolstof-13 verrijkte sphingolipiden worden gebruikt als interne standaard voor bepalen en vergelijken van de concentratie van sphingolipiden in het plasma en urine van verschillende individuen. Uitgezonderd het molecuulgewicht, zijn de fysische-chemische eigenschappen van koolstof-13-verrijkte sphingolipiden identiek aan de overeenkomstige natuurlijk voorkomende sphingolipiden. Hierdoor zijn deze verbindingen ideaal om de concentratie van sphingolipiden in plasma en urine te bepalen en kunnen de verkregen waarden van gezonde individuen vergeleken worden met die van patiënten met een lysosomale sphingolipide stapelingsziekte. Tevens kan met deze bepalingen het ziekteverloop van patiënten gevolgd worden, waardoor de behandelingsmethode per patiënt geoptimaliseerd kan worden. Tenslotte kunnen de gesynthetiseerde koolstof-13-gelabelde sphingolipiden worden gebruikt voor het vinden van alternatieve metabole routes. De in dit hoofdstuk beschreven synthese van koolstof-

13-gelabeled sphingolipiden maakt gebruik een nieuwe synthetische strategie met $^{13}\text{C}_2$ -azijnzuur als uitgangsstof.

Hoofdstuk 3 is een vervolg op hoofdstuk 2 en is gericht op het optimaliseren van de koppeling van suikermoleculen aan beschermde sphingosine bouwstenen. Voor deze zogenoemde glycosyleringsreactie werd in hoofdstuk 2 een methode beschreven met de Boc-groep voor de bescherming van de amino functie in de sphingosine bouwsteen. Echter de Boc-groep bleek onvoldoende stabiel onder de zure condities van verschillende glycosyleringsreacties. Hierdoor waren de opbrengsten van sommige suikerkoppelingen laag terwijl glycosyleringen met andere suikermoleculen en *N*-Boc beschermde sphingolipiden zelfs onmogelijk waren. In hoofdstuk 3 wordt aangetoond dat het vervangen van de *N*-Boc door de baselabiele *N*-Fmoc beschermende groep in sphingolipiden bouwstenen een uitstekende manier is om glycosyleringen met goede opbrengsten te bewerkstelligen.

Hoofdstuk 4 behandelt de synthese van fosfaat monoesters van koolstof-13-gelabelde sphingolipiden. Evenals de koolstof-13-gelabelde (glyco)sphingolipiden van hoofdstuk 2 kunnen deze verbindingen worden gebruikt als interne standaard bij de analyse van patiënten met een lysosomale stapelingsziekte. Ook hier werd gebruik gemaakt van het met koolstof-13-gelabeled *N*-Boc beschermde sphingosine. Voor de synthese van de doel fosfaat monoesters werden twee fosfor amidaat reagentia, geschikt voor de introductie van fosfaat monoesters ontwikkeld. Ook wordt aandacht besteed aan een eenvoudige zuiveringsmethode voor het moeilijk op te lossen sphingosine-1-fosfaat. Daarnaast wordt een nieuwe methode voor de *N*-acylering van gefosforyleerd sphingosine besproken.

Het onderwerp van **Hoofdstuk 5** is de ontwikkeling van nieuwe syntheseroutes voor zowel 6-hydroxyl-sphingosine als voor een alpha-hydroxy-vetzuur met behulp van een cross-metathese strategie. Het hoofdzakelijk in de huid voorkomende 6-hydroxy-sphingosine is het meest recente ontdekte sphingosine in de mens. De enige gepubliceerde synthetische strategie voor 6-hydroxyl-sphingosines maakt gebruik van een nucleophilic aanval van een beschermd alkyn op Garner aldehyde. Deze sterk basische condities beperken de modificatie mogelijkheden van 6-hydroxylsphingosine, die met een strategie, zoals die is beschreven in hoofdstuk 5 wordt omzeild. Door gebruik te maken van kruis-metathese werd een robuuste, milde en eenvoudige syntheseroute naar 6-hydroxy-sphingosine alsmede een bekende modificatie (zie hoofdstuk 1) mogelijk. Alpha-hydroxy ceramides zijn voorzien van een *N*-acyl alpha-hydroxy vetzuur. Ook dit vetzuur kon gesynthetiseerd worden met een vergelijkbare kruis-metathese strategie waarbij, een chiraal cyanohydrin als startmateriaal werd gebruikt.

Hoofdstuk 6 beschrijft het ontwerp en de synthese van gemodificeerde ceramides, die voorzien zijn van een aziridine functie. Twee aziridine-ceramide verbindingen werden

gesynthetiseerd vanuit azido-sphingosine. Deze aziridines kunnen worden getest als “activity-based probes” (ABPs) voor de glycosidase enzymen van het sphingolipide metabolisme en kunnen worden geëvalueerd naast de bekende ABPs als de van cyclophellitol afgeleide aziridines met eenzelfde configuratie als natuurlijk voorkomende suikers.

Curriculum Vitae

Nederlands

Patrick Wisse werd geboren op 20 april 1989 te Kapelle. In 2007 behaalde hij het VWO diploma met de profielen Natuur en Techniek en Natuur en Gezondheid aan het Goese Lyceum te Goes. Na de middelbare school volgde hij eerst de bacheloropleiding Molecular Science & Technology aan de Universiteit Leiden en de Technische Universiteit Delft, en vervolgens aan de Universiteit Leiden de masteropleiding Chemistry met als studierichting Design & Synthesis.

In 2010 voltooide hij zijn bachelor scriptie in de vakgroep Medicinal Chemistry van Prof. dr A. P. IJzerman, onder dagelijkse begeleiding van dr J. Brussee. In 2011-2012 werd de masterstage uitgevoerd in de groep Bio-Organic Synthesis van Prof. dr H. S. Overkleeft en Prof. dr G. A. van der Marel, onder dagelijkse begeleiding van dr H. Gold en dr G. Lutteke. De titel van zijn master thesis was 'The Synthesis of Tools to Study Sphinganine Metabolism'. In Oktober 2012 werd de masteropleiding succesvol afgesloten.

Onmiddellijk na het behalen van masterdiploma werd in Oktober 2012 begonnen met het hier beschreven promotieonderzoek onder begeleiding van Prof. dr H. S. Overkleeft en dr J. D. C. Codée. Delen van dit onderzoek zijn gepresenteerd in de vorm van posters op de NWO-CW sectie bijeenkomst Design and Synthesis in Lunteren (2013) en de Nederlandse chemie 'Chains' congressen in Veldhoven (2014, 2015). Daarnaast heeft hij een mondelinge presentatie gegeven op het KNCV Organische Chemie symposium in Wageningen (2015). Tijdens zijn promotietraject heeft hij deelgenomen aan het HRMS Summer school in Maastricht (2013).

Curriculum Vitae

English

Patrick Wisse was born in Kapelle on April 20 1989. In 2007, he finished his VWO education with the majors Life Science & Technology and Life Science & Health at the Goese Lyceum in Goes. After his secondary education he completed the bachelor study Molecular Science & Technology at Leiden University and Delft University of Technology and subsequently he completed the master study Chemistry with the research track Design & Synthesis at Leiden University.

In 2010, he did his bachelor internship in the group of Medicinal Chemistry of Prof. dr A. P. IJzerman, under supervision of dr J. Brussee. Between 2011-2012 he did his master internship in the Bio-Organic Synthesis group of Prof. dr H. S. Overkleeft and Prof. dr G. A. van der Marel, under the daily supervision of dr H. Gold and dr G. Lutteke. His master thesis was entitled 'The Synthesis of Tools to Study Sphinganine Metabolism'. In October 2012, he completed his master study.

In October 2012 he commenced the Ph.D. studies, that are described in this thesis, under supervision of Prof. dr H. S. Overkleeft and dr J. D. C. Codée. During his Ph.D. studies, parts of the research described in this thesis were presented on posters at the NWO-CW Synthetic and Design section meeting in Lunteren (2013) and the Chains conferences in Veldhoven (2014 and 2015). An oral presentation was given at the KNCV Organic Chemistry Symposium in Wageningen (2015). During his PhD. he participated in HRMS Summer school in Maastricht (2013).

