

**Doppelbindungsisomere Hot Paper**

Unterscheidung von isomeren Sphingolipiden mittels kryogener Infrarotspektroskopie

Carla Kirschbaum, Essa M. Saied, Kim Greis, Eike Mucha, Sandy Gewinner, Wieland Schöllkopf, Gerard Meijer, Gert von Helden, Berwyck L. J. Poad, Stephen J. Blanksby, Christoph Arenz* und Kevin Pagel*

Abstract: 1-Deoxysphingolipide sind eine erst kürzlich beschriebene Klasse von Sphingolipiden, die in Zusammenhang mit verschiedenen Krankheiten wie diabetischer und erblicher Neuropathie gebracht werden. Die Identifizierung und Charakterisierung von 1-Deoxysphingolipiden und deren Metaboliten ist in diesem Kontext sehr wichtig. Eine exakte Strukturbestimmung erfordert jedoch die Kombination von verschiedenen anspruchsvollen analytischen Techniken, da unterschiedliche Isomerentypen vorliegen können: Keton/Alkenol-Isomere, Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungs(C=C)-Isomere und Hydroxyl-Regioisomere. Wir zeigen, dass kryogene Gasphasen-Infrarot(IR)-Spektroskopie von ionisierten 1-Deoxysphingolipiden die Identifizierung und Unterscheidung von Isomeren anhand ihres einzigartigen spektroskopischen Profils ermöglicht. Insbesondere die Position und Konfiguration von C=C-Bindungen können aufgrund von spezifischen Interaktionen zwischen dem geladenen Amin und der Doppelbindung bestimmt werden. Die Ergebnisse verdeutlichen das Potential der Gasphasen-IR-Spektroskopie, die Herausforderungen der Isomerenunterscheidung in der kon-

ventionellen Massenspektrometrie zu überwinden und den Weg für eine umfangreiche Analyse des Lipidoms zu ebnet.

Sphingolipide kommen in allen Lebewesen von Bakterien bis zu Menschen vor.^[1] Sie sind wesentliche Bestandteile von Zellmembranen und an essentiellen biologischen Prozessen wie intra- und intermolekularem Informationsaustausch beteiligt.^[2] Das Grundgerüst komplexer Sphingolipide wie zum Beispiel unpolarer Ceramide und polarer Phospho- oder Glykosphingolipide basiert meistens auf einem der drei am häufigsten vorkommenden Aminoalkohole – Sphingosin (SO), Sphinganine (SA) oder Phytosphingosin (PS).^[3] Die de novo Biosynthese dieser Aminoalkohole wird durch die Kondensationsreaktion von Palmitoyl-CoA und L-Serin eingeleitet, die durch Serin-Palmitoyltransferase (SPT) katalysiert wird.^[4] SPT kann auch L-Alanin als Substrat nutzen, wobei 3-Keto-1-deoxySA anstelle des kanonischen 3-KetoSA gebildet wird.^[5] 3-Keto-1-deoxySA und dessen Folgeprodukte (siehe Abbildung 1) weisen keine primäre Hydroxylgruppe auf und werden dementsprechend als 1-Deoxysphingolipide bezeichnet. Infolge der fehlenden Hydroxylgruppe können 1-Deoxysphingolipide nicht in Phospho- oder Glykosphingolipide umgewandelt werden und außerdem nicht über den kanonischen Degradierungsprozess abgebaut werden, der die Phosphorylierung der 1-Hydroxylgruppe erfordert.^[6] Seit ihrer Entdeckung in Meeresmuscheln^[7] und dem Nachweis in Säugetieren vor etwa zehn Jahren,^[5,8] rücken 1-Deoxysphingolipide zunehmend in den Fokus der aktuellen Forschung, da ihre Akkumulation mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht wird. Erhöhte 1-Deoxysphingolipid Werte wurden infolge von Sauerstoffmangel^[9] sowie in hereditärer sensorisch-autonomer Neuropathie Typ 1 (HSAN1)^[5] und der klinisch ähnlichen diabetischen sensorischen Neuropathie^[10] nachgewiesen. Darüber hinaus sind sie potenzielle Plasmaparker zur Vorhersage von Krankheiten wie Diabetes Typ 2.^[11]

Trotz der scheinbar simplen Struktur von 1-Deoxysphingolipiden bringt ihre Analyse aufgrund des Vorhandenseins von Isomeren einige Herausforderungen mit sich. Die verschiedenen Isomerentypen umfassen Keton/Alkenol-Isomere und Hydroxyl(OH)-Regioisomere. Die meisten der genannten Isomere sind mit herkömmlichen Techniken nicht unterscheidbar. Insbesondere C=C-Isomere können nur mit speziellen, Massenspektrometrie (MS) basierten Techniken wie Ozonolyse,^[12] Paternò-Büchi-Reaktionen^[13] oder Ladungsumpolung^[14] unterschieden werden. Wir zeigen im Folgenden, dass alle vier genannten Isomerentypen in 1-Deoxy-

[*] C. Kirschbaum, K. Greis, Prof. K. Pagel
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Animallee 22, 14195 Berlin (Deutschland)
E-Mail: kevin.pagel@fu-berlin.de

C. Kirschbaum, K. Greis, Dr. E. Mucha, S. Gewinner,
Dr. W. Schöllkopf, Prof. G. Meijer, Prof. G. von Helden, Prof. K. Pagel
Abteilung Molekülphysik
Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft
Faradayweg 4–6, 14195 Berlin (Deutschland)

Dr. E. M. Saied, Prof. C. Arenz
Institut für Chemie, Humboldt-Universität zu Berlin
Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin (Deutschland)
E-Mail: christoph.arenz@chemie.hu-berlin.de

Dr. E. M. Saied
Chemistry Department, Faculty of Science, Suez Canal University
Ismailia (Ägypten)

Dr. B. L. J. Poad, Prof. S. J. Blanksby
Central Analytical Research Facility, Institute for Future Environ-
ments, Queensland University of Technology
Brisbane, QLD 4000 (Australien)

Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummern

(ORCID) einiger Autoren sind unter <https://doi.org/10.1002/ange.202002459> zu finden.

© 2020 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

Name	Struktur	
1-DeoxySA <i>m/z</i> = 286.3		
3-Keto-1-deoxySA <i>m/z</i> = 284.3		Keton/Alkenol
4E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
5E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
8E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
12E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
13E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
14E-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		
14Z-1-DeoxySO <i>m/z</i> = 284.3		Doppelbindungs Regioisomere
1-DeoxyPS <i>m/z</i> = 302.3		Stereoisomere
ω-OH-1-deoxySA <i>m/z</i> = 302.3		
		OH-Regioisomere

Abbildung 1. Liste der untersuchten 1-Deoxysphingolipide mit chemischen Strukturen der Moleküle und *m/z* der protonierten Spezies. Verschiedene Isomerentypen wie Keton/Alkenol-Isomere, C=C-Regio- und Stereoisomere sowie OH-Regioisomere sind hervorgehoben.

sphingolipiden mit kryogener IR-Spektroskopie in der Gasphase aufgelöst werden können.

Die Basis für unsere Studie bildet ein konsistentes Set synthetischer 1-Deoxysphingolipide (Abbildung 1). 3-Keto-1-deoxySA ist das Produkt der Kondensation von L-Alanin und Palmitoyl-CoA, das nachfolgend zu 1-DeoxySA reduziert wird. Die Desaturierung von 1-DeoxySA führt zur Bildung von 1-DeoxySO, welches wiederum ein Alkenol-Isomer von 3-Keto-1-deoxySA ist. Vor kurzem wurde gezeigt, dass die natürliche C=C-Position und -Konfiguration in 1-DeoxySO, im Gegensatz zu der 4E Doppelbindung in SO, 14Z ist.^[15] Außer 4E und 14Z wurden die C=C-Isomere 5E, 8E, 12E, 13E und 14E untersucht. OH-Regioisomere werden durch ω-OH-1-DeoxySA und 1-DeoxyPS – dem Deoxy-Analog des meistverbreiteten Aminoalkohols in Pflanzen – repräsentiert.^[3]

Gasphasen-IR-Spektren von protonierten 1-Deoxysphingolipiden wurden gemessen, indem die Ionen in kryogene

Heliumtröpfchen eingebettet und diese Tröpfchen mit intensivem IR-Laserlicht bestrahlt wurden.^[16] Durch die sequentielle Absorption von resonanten IR-Photonen werden Schwingungen in dem Ion angeregt und Heliumatome verdampfen nach jedem Absorptionsprozess, bis schließlich das Ion aus dem Tröpfchen freigesetzt und mittels MS detektiert wird. IR-Spektren werden erzeugt, indem das Ionensignal als Funktion der durchstimmbaren Wellenzahl gemessen wird.

Die Zuordnung der charakteristischen IR-Banden ist exemplarisch in Abbildung 2a anhand der Spektren von **3-Keto** und **4E** gezeigt. Die Keton/Alkenol-Isomere sind anhand der charakteristischen Carbonylstreckschwingung sowie anderer diagnostischer Banden leicht durch IR-Spektroskopie unterscheidbar. Unterhalb von 1150 cm⁻¹ sind schwache bis mittelintensive C-O- und C-C-Streckschwingungen der Lipidkette lokalisiert. Eine schwache Bande der O-H-Streckschwingung befindet sich im Spektrum von **4E** unterhalb von 1400 cm⁻¹, wohingegen die Spektren eindeutig von der symmetrischen NH₃⁺-*umbrella*-Biegeschwingung zwischen 1400 und 1500 cm⁻¹ dominiert werden. Die antisymmetrischen NH₃⁺-Biegeschwingungen erscheinen bei höheren Wellenzahlen (1550–1650 cm⁻¹) mit geringerer Intensität. Die C=C-Streckschwingung der Doppelbindung im Spektrum von **4E** bei etwa 1700 cm⁻¹ weist eine intrinsisch niedrige Intensität auf, wohingegen die C=O-Streckschwingung des Ketons oberhalb von 1700 cm⁻¹ eindeutig erkennbar ist. Es ist sehr wichtig zu beachten, dass die relativen Intensitäten der Banden aufgrund des nichtlinearen Absorptionsprozesses nicht absolut verlässlich sind: die Freisetzung der Ionen aus den Heliumtröpfchen ist nicht proportional zum Photonenfluss. Außerdem wurden die Regionen von 900 bis 1150 cm⁻¹ und 1550–1800 cm⁻¹ mit einem engeren Laserfokus (erhöhte Fluenz) gemessen, um die Sichtbarkeit wenig intensiver Banden zu erhöhen.

Im Gegensatz zu Keton/Alkenol-Isomeren, die auch mit konventioneller Chromatographie und MS unterschieden werden können, sind C=C-Isomere von Lipiden in der Regel nur schwer unterscheidbar. Die hier gezeigten C=C-Isomere wurden zuvor mit differentieller Ionenmobilitätsspektrometrie (DMS) getrennt, aber erwiesen sich als ununterscheidbar mit klassischer Driftzellen-Ionenmobilitätsspektrometrie (DT-IMS) in Stickstoff.^[17] Dieser Befund wurde durch unsere DT-IMS-Messungen in Helium bestätigt. Für alle C=C-Regioisomere wurden identische Kollisionsquerschnitte (*collision cross section*, CCS) ermittelt und für C=C-Stereoisomere wurde ein geringer Unterschied innerhalb der Fehlergrenzen gefunden (Hintergrundinformationen, Tabelle S2). Intuitiv wäre zu erwarten, dass C=C-Isomere auch durch IR-Spektroskopie schwer unterscheidbar sind, denn C=C-Streckschwingungen sind im Allgemeinen wenig intensiv. Jedoch wurden signifikante Verschiebungen der Absorptionsfrequenzen der NH₃⁺-*umbrella*-Schwingungen in Abhängigkeit von der Position und Konfiguration der C=C-Bindung gefunden (Abbildung 2b). Diese Frequenzverschiebungen sind zunächst unerwartet, aber können mit einer Ladungs-Olefin-Interaktion zwischen dem protonierten Amin und der C=C-Bindung erklärt werden. Diese wurde bereits von Poad et al.^[17] postuliert und durch unsere Dichtefunktionaltheorie (DFT)-Rechnungen bestätigt. Der Konformationsraum der

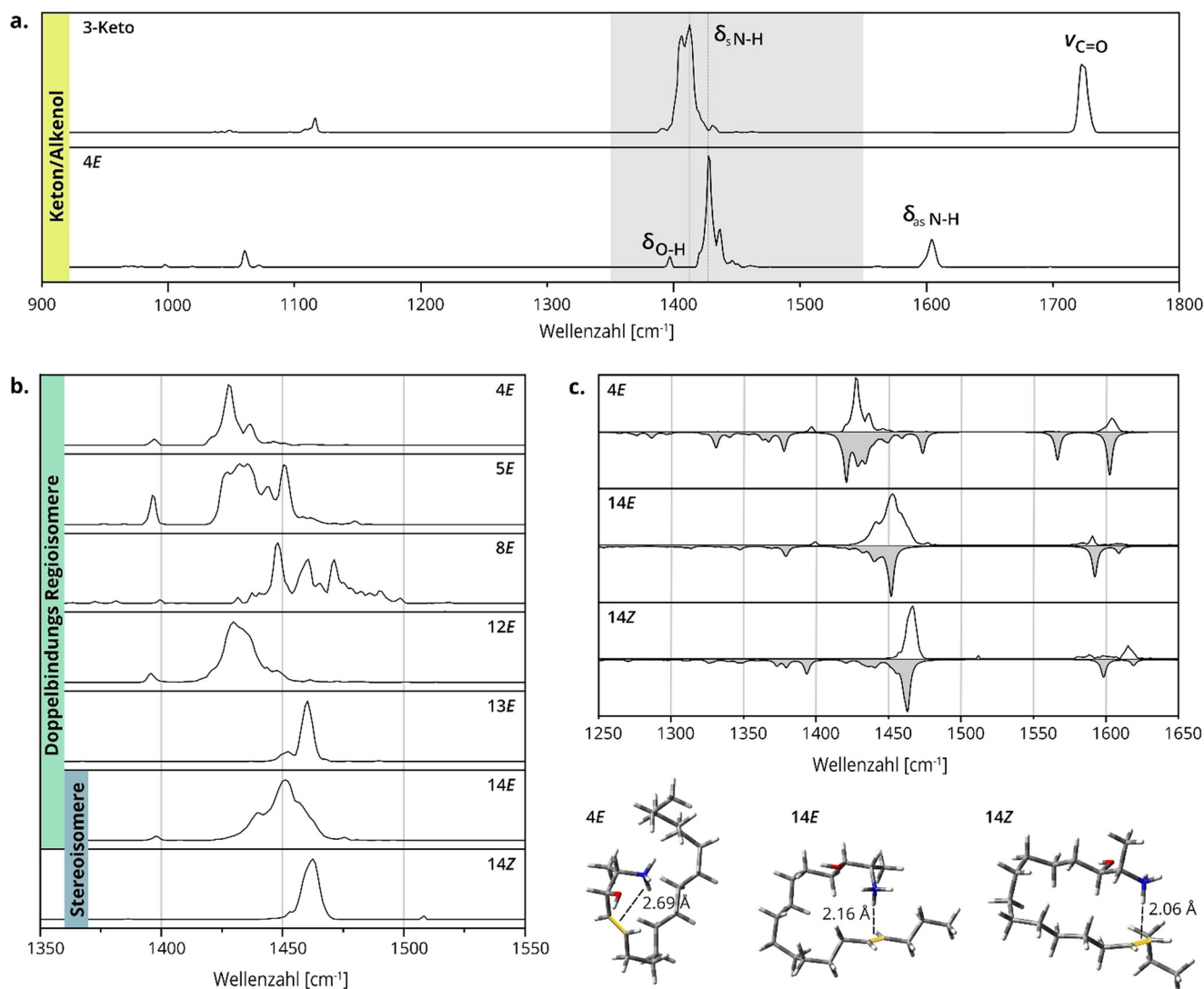


Abbildung 2. Gasphasen-IR-Spektren und Niedrigenergie-Strukturen von 1-Deoxyphingolipiden. a) IR-Spektren der Isomere 3-Keto und 4E. Das Keton und Alkenol sind anhand diagnostischer Streckschwingungen (ν) und Biegeschwingungen (δ) unterscheidbar. Die intensivste Bande in dem grau unterlegten Bereich wird durch die NH_3^+ -umbrella-Mode verursacht. b) Gestapelte IR-Spektren von 1-DeoxySO-C=C-Regio- und Stereoisomeren in der Region der NH_3^+ -umbrella-Schwingung ($1350\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$). Die Absorptionsmuster und Schwingungsfrequenzen hängen von der C=C-Position und -Konfiguration ab. c) Spektrale Übereinstimmung mit berechneten IR-Spektren (grau) von DFT-optimierten Strukturen von 4E, 14E und 14Z im Bereich der NH_3^+ -Biegeschwingungen. Die zugehörigen theoretischen Strukturen verdeutlichen die unterschiedlichen Geometrien der Ladungs-Olefin-Interaktionen.

Lipidketten wurde mithilfe eines genetischen Algorithmus untersucht, gefolgt von einer Optimierung der Geometrie und Frequenzanalyse ausgewählter Strukturen. Übereinstimmungen zwischen den experimentellen und theoretischen Spektren im Bereich der NH_3^+ -Biegeschwingungen sind in Abbildung 2c für die repräsentativen C=C-Regio- und Stereoisomere **4E**, **14E** und **14Z** gezeigt. Ladungs-Olefin-Interaktionen sind in allen drei Strukturen energetisch begünstigt. Allerdings bestehen wesentliche Unterschiede in der Geometrie dieser Interaktionen, die vor allem von der Distanz zwischen dem Amin und der C=C-Bindung abhängig ist. Zum Beispiel kann in der Struktur von **4E** das protonierte Amin nicht direkt über der C=C-Bindung lokalisiert sein und der Abstand zwischen Proton und C=C-Bindung ist länger als in den gezeigten Strukturen von **14E** und **14Z**. Dieser Unter-

schied wurde bereits von Poad et al. festgestellt, ebenso wie das abweichende Verhalten von **8E**, das keine Präferenz für eine Ladungs-Olefin-Interaktion zeigt. DFT-Rechnungen ergaben, dass mehrere energetisch günstige Konformere von **8E** eine Interaktion zwischen der C=C-Bindung und dem Hydroxylproton anstelle des protoniertenamins oder keine spezifische Interaktion bevorzugen (Tabelle S7). Dementsprechend enthält das Spektrum von **8E** mehr als ein Konformer, sodass die Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie unzureichend ist (Abbildung S1). Eine weitere interessante Beobachtung ist die Ähnlichkeit der Spektren von **13E** und **14Z** trotz der unterschiedlichen Position und Konfiguration der C=C-Bindung. Mit theoretisch berechneten Strukturen wurden gute qualitative Übereinstimmungen für beide Spektren gefunden (Abbildung S1). Nichtsdesto-

trotz ist die Korrelation zwischen Experiment und Theorie nicht immer perfekt. Dies betrifft vor allem die relativen Intensitäten der Banden aufgrund des nichtlinearen Absorptionsprozesses in diesem Experiment. Zum Beispiel sind die berechneten Intensitäten der antisymmetrischen NH_3^+ -Biegeschwingungen höher als in allen experimentellen Spektren. Darüber hinaus sollte erwähnt werden, dass auf Grundlage der berechneten IR-Spektren deutliche Unterschiede im Bereich der N-H-Streckschwingungen um 3000 cm^{-1} zu erwarten sind (Abbildung S7). Dieser Wellenlängenbereich ist allerdings mit dem derzeitigen experimentellen Aufbau nicht zugänglich.

Die Untersuchung von Ladungs-Olefin Interaktionen wurde von einfach ungesättigten Sphingolipiden auf das zweifach ungesättigte *5E,14Z*-1-Deoxysphingadien (Struktur siehe Hintergrundinformationen) ausgeweitet. Die berechneten niedrigerenergetischen Konformere weisen ein Sandwich-Motiv auf, in dem die NH_3^+ -Gruppe zwischen den beiden C=C-Bindungen eingekeilt ist und zusätzlich mit dem Hydroxylsauerstoff interagiert (Abbildung S2). Die Interaktion zwischen der NH_3^+ -Gruppe und der C=C-Bindung ist hingegen unterbrochen, sobald ein Keton vorhanden ist. Dies wurde anhand des Isomers *6E-3-Keto-1-deoxySO* gezeigt, in dem die C=C-Bindung und der Carbonylsauerstoff um die NH_3^+ -Gruppe konkurrieren (Abbildung S2). In der vollständig gesättigten Referenzprobe **1-DeoxySA** koordiniert das Ammoniumproton vorzugsweise an den benachbarten Hydroxylsauerstoff, was eine charakteristische NH_3^+ -*umbrella*-Frequenz bedingt (Abbildung S1). Zuletzt wurden die Spektren der 1-Deoxysphingolipide mit den Spektren entsprechender 1-Deoxymethylsphingolipide verglichen, die natürliche Kondensationsprodukte von Palmitoyl-CoA und Glycin sind (Abbildung S5). Die Spektren von 1-DeoxymethylSA und **1-DeoxySA** sind ähnlich, wohingegen die Absorptionsfrequenz von *13Z*-1-DeoxymethylSO im Vergleich zu dem 1-Deoxy-Analog **14Z** leicht verschoben ist. Ohne die primäre Methylgruppe hat die NH_3^+ -Gruppe einen größeren Bewegungsfreiraum, sodass die Geometrie der Ladungs-Olefin-Interaktion optimiert werden kann (Abbildung S3). Zusammengefasst verdeutlichen die verschiedenen Beispiele dieser Studie die Bedeutung der intramolekularen Koordination von NH_3^+ an elektronenreiche funktionelle Gruppen in der Gasphase (Tabelle S19). Diese subtilen Interaktionen ermöglichen die indirekte Unterscheidung von C=C-Isomeren, indem Schwingungen des wechselwirkendenamins beobachtet werden. Obwohl diese Interaktionen zunächst auf Sphingolipide mit einem primären Amin beschränkt sind, könnte die Anwendung auch auf andere Lipide ausgeweitet werden, indem diese mit koordinierenden Kationen modifiziert und anschließend spektroskopisch untersucht werden. Tatsächlich sind die Adduktbildung neutraler Lipide mit Ammoniumkationen sowie die nasschemische Derivatisierung von Fettsäuren mit Amin-funktionalisierten Konjugaten weitverbreitete Strategien, um die Ionisierung mittels Elektrospayonisation zu verbessern.^[18]

Eine weitere Ursache für das Auftreten von Isomeren sind Hydroxylierungen, die besonders im Kontext des Katabolismus von 1-Deoxysphingolipiden relevant sind. Die nicht-kanonischen Sphingolipide werden schrittweise durch Hydro-

xylierung und Desaturierung abgebaut.^[6] Für verschiedene Intermediate wurden bereits mögliche Strukturen vorgeschlagen, aber die exakten Positionen der Hydroxylierungen wurden bisher nicht identifiziert. **1-DeoxyPS** und ω -**OH** wurden deshalb als repräsentatives Isomerenpaar mit einer unveränderten und einer variablen OH-Position untersucht. Die zugehörigen IR-Spektren unterscheiden sich deutlich (Abbildung 3a). Auch mittels DT-IMS wurden unterschiedliche CCS-Werte für die OH-Regioisomere ermittelt, die auf verschiedene Konformationen in der Gasphase hinweisen könnten (Tabelle S2). Quantenchemische Rechnungen suggerieren, dass in beiden Strukturen die NH_3^+ -Gruppe an beide Sauerstoffatome koordiniert (Abbildung 3b). Die terminale OH-Gruppe in ω -**OH** besitzt einen großen Bewegungsfreiraum und kann mit dem protonierten Amin über eine kurze Distanz mit unterschiedlichen Geometrien interagieren, wohingegen die möglichen Interaktionsgeometrien in der rigiden Struktur von **1-DeoxyPS** beschränkt sind. Dementsprechend ist die Übereinstimmung mit dem theoretischen Spektrum eines berechneten **1-DeoxyPS** Konformers relativ groß, wohingegen das experimentelle Spektrum von ω -**OH** nicht mit einem einzigen Konformer nachgebildet werden kann (Abbildung S4). Ein zweites Paar von OH-Regioisomeren mit einer variablen Hydroxylgruppe sind **4E** und *4E-3-DeoxySO* (Abbildung S6). Interessanterweise ist die Region der NH_3^+ -*umbrella*-Schwingungen für beide Strukturen nahezu identisch, während sich Gerüstschwingungen und antisymmetrische N-H-Biegeschwingungen zwischen den Isomeren unterscheiden. Beide Beispiele demonstrieren, dass OH-Positionen mithilfe von IR-Spektroskopie unterscheidbar sind, was eine Untersuchung von katabolen Intermediaten ermöglichen könnte.

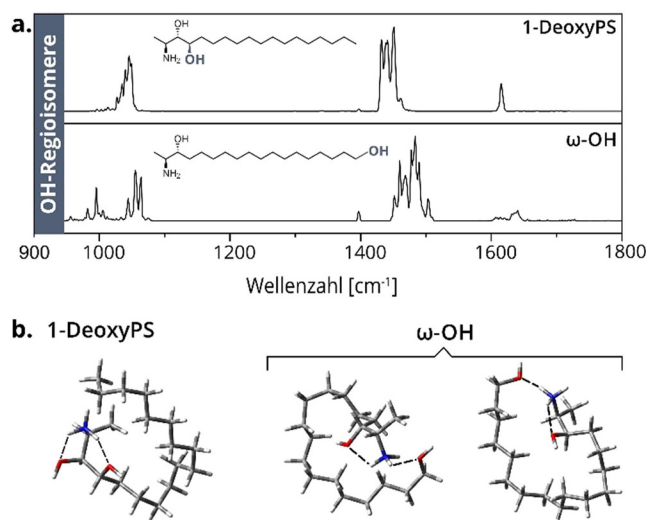


Abbildung 3. IR-Spektren und berechnete Strukturen von OH-Regioisomeren. a) IR-Spektren der OH-Regioisomere **1-DeoxyPS** und ω -**OH**. Sowohl die Gerüstschwingungen als auch die NH_3^+ -Biegeschwingungen unterscheiden sich deutlich. b) Energetisch günstige Konformere von **1-DeoxyPS** und ω -**OH**. Die gleichzeitige Koordination der NH_3^+ -Gruppe an beide Hydroxylgruppen wird für beide Isomere beobachtet. Im Fall von ω -**OH** koexistieren mehrere Konformere.

Zusammenfassend wurde gezeigt, dass alle Typen von 1-Deoxysphingolipid Isomeren – insbesondere C=C-Isomere – als Ionen in der Gasphase mittels kryogener Gasphasen-IR-Spektroskopie zweifellos unterschieden werden können. Aufgrund der Sensitivität gegenüber subtilen intramolekularen Interaktionen ist diese Methode vielseitig einsetzbar, wobei lediglich pikomolare Probenmengen benötigt werden. Derzeit ist dieser elegante Ansatz dadurch beschränkt, dass spezielle, durchstimmbare Lichtquellen benötigt werden. Jedoch könnte kryogene IR-Spektroskopie für die Lipidanalytik in Zukunft in Form von Tagging-IR-Spektroskopie in Kombination mit kommerziellen, kompakten optisch parametrischen Oszillatoren oder Quantenkaskadenlasern eine breitere Anwendung finden. Dies würde das Experiment technisch weniger anspruchsvoll und zugänglicher machen sowie die Messung von N-H- und O-H-Streckschwingungen in höheren Wellenzahlbereichen ($\geq 3000\text{ cm}^{-1}$) ermöglichen. Kryogene Gasphasen-IR-Spektroskopie könnte somit eine bereichernde Ergänzung für die zuverlässige Analyse von isomeren Lipiden darstellen, die mit etablierten Techniken nicht unterscheidbar sind.

Danksagung

C.K. dankt der Studienstiftung des deutschen Volkes für finanzielle Unterstützung. K.G. dankt dem Fonds National de la Recherche (FNR), Luxembourg, für die Finanzierung des Projekts GlycoCat (13549747). B.L.J.P. und S.J.B. bedanken sich für die finanzielle Förderung durch den Australian Research Council (LP180100238 and DP190101486).

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: Deoxysphingolipide · Doppelbindungen · IR-Spektroskopie · Isomere · Massenspektrometrie

- [1] M. A. Lone, T. Santos, I. Alecu, L. C. Silva, T. Hornemann, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2019**, 1864, 512–521.
- [2] A. H. Merrill, Jr., *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6387–6422.
- [3] K. Hanada, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **2003**, 1632, 16–30.
- [4] A. H. Merrill, Jr., M. D. Wang, M. Park, M. C. Sullards, *Trends Biochem. Sci.* **2007**, 32, 457–468.
- [5] A. Penno, et al., *J. Biol. Chem.* **2010**, 285, 11178–11187.
- [6] I. Alecu, A. Othman, A. Penno, E. M. Saied, C. Arenz, A. von Eckardstein, T. Hornemann, *J. Lipid Res.* **2017**, 58, 60–71.
- [7] R. Cuadros, E. Montejo de Garcini, F. Wandosell, G. Faircloth, J. M. Fernández-Sousa, J. Avila, *Cancer Lett.* **2000**, 152, 23–29.
- [8] N. C. Zitomer, et al., *J. Biol. Chem.* **2009**, 284, 4786–4795.
- [9] J. T. Hannich, et al., *Nature Metabolism* **2019**, 1, 996–1008.
- [10] M. Berteau, M. F. Rutti, A. Othman, J. Marti-Jaun, M. Hersberger, A. von Eckardstein, T. Hornemann, *Lipids Health Dis.* **2010**, 9, 84.
- [11] J. Mwinyi, et al., *PLoS One* **2017**, 12, e0175776.
- [12] M. C. Thomas, T. W. Mitchell, D. G. Harman, J. M. Deeley, J. R. Nealon, S. J. Blanksby, *Anal. Chem.* **2008**, 80, 303–311.
- [13] a) X. Ma, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 2592–2596; *Angew. Chem.* **2014**, 126, 2630–2634; b) F. Wäldchen, B. Spengler, S. Heiles, *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, 141, 11816–11820; c) V. Jeck, A. Korf, C. Vosse, H. Hayen, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2019**, 33, 86–94.
- [14] C. E. Randolph, S. J. Blanksby, S. A. McLuckey, *Anal. Chem.* **2020**, 92, 1219–1227.
- [15] R. Steiner, E. M. Saied, A. Othman, C. Arenz, A. T. Maccarone, B. L. Poad, S. J. Blanksby, A. von Eckardstein, T. Hornemann, *J. Lipid Res.* **2016**, 57, 1194–1203.
- [16] E. Mucha, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 11248–11251; *Angew. Chem.* **2017**, 129, 11400–11404.
- [17] B. L. J. Poad, et al., *Anal. Chem.* **2018**, 90, 5343–5351.
- [18] a) X. Han, K. Yang, R. W. Gross, *Mass Spectrom. Rev.* **2012**, 31, 134–178; b) X. Li, A. A. Franke, *Anal. Chem.* **2011**, 83, 3192–3198.

Manuskript erhalten: 17. Februar 2020
Veränderte Fassung erhalten: 23. März 2020
Endgültige Fassung online: 18. Mai 2020