Semaglutida: identidad química y ensayos publicados

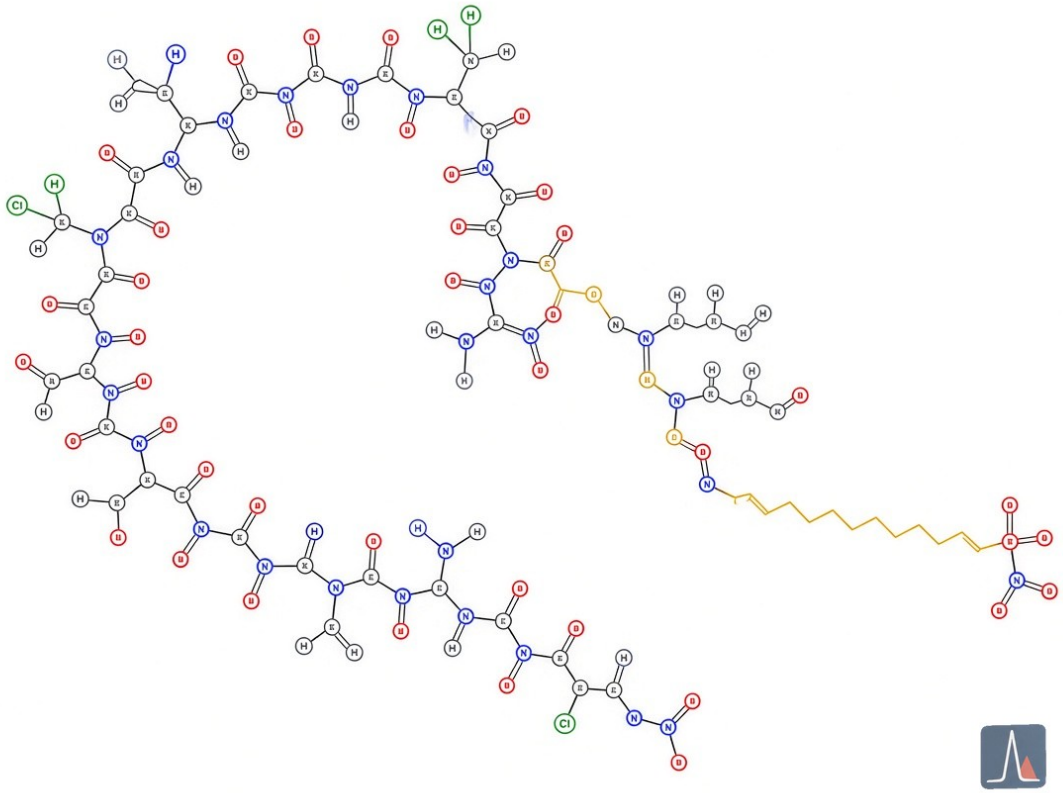
26 de noviembre de 2026

La semaglutida ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, masa molecular media 4113,58 Da) es un análogo lipopeptídico de 31 aminoácidos del GLP-1(7–37) humano que presenta la sustitución por Aib^{8}, la sustitución por Arg^{34} y la acilación de Lys^{26} con un diácido C18

Identidad química y contexto de catálogo

Semaglutide ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, masa molecular media 4113,58 Da, masa monoisotópica ≈ 4111,12 Da, CAS 910463-68-2) es un análogo peptídico acilado sintético de 31 aminoácidos del GLP-1(7–37) humano, suministrado exclusivamente para investigación de laboratorio. Los materiales de este sitio son únicamente para investigación de laboratorio y no son medicamentos. Comunicar datos de estudios humanos o preclínicos publicados no constituye una orientación para utilizar el material de investigación de ninguna forma concreta, ni implica seguridad o eficacia para ninguna aplicación terapéutica.

La semaglutida se desarrolló mediante optimización de la relación estructura-actividad para lograr resistencia a la DPP-4, una unión reversible elevada a la albúmina y una farmacocinética prolongada, manteniendo un agonismo potente del receptor de GLP-1 (GLP-1R). Se une en el catálogo a otros análogos de incretinas, como Liraglutide, Tirzepatide, Retatrutide, Cagrilintide, Mazdutide, Survodutide y Dulaglutide.



Estructura molecular de la semaglutida. Se muestra en detalle la cadena lateral de diácido C18 unida en Lys26 a

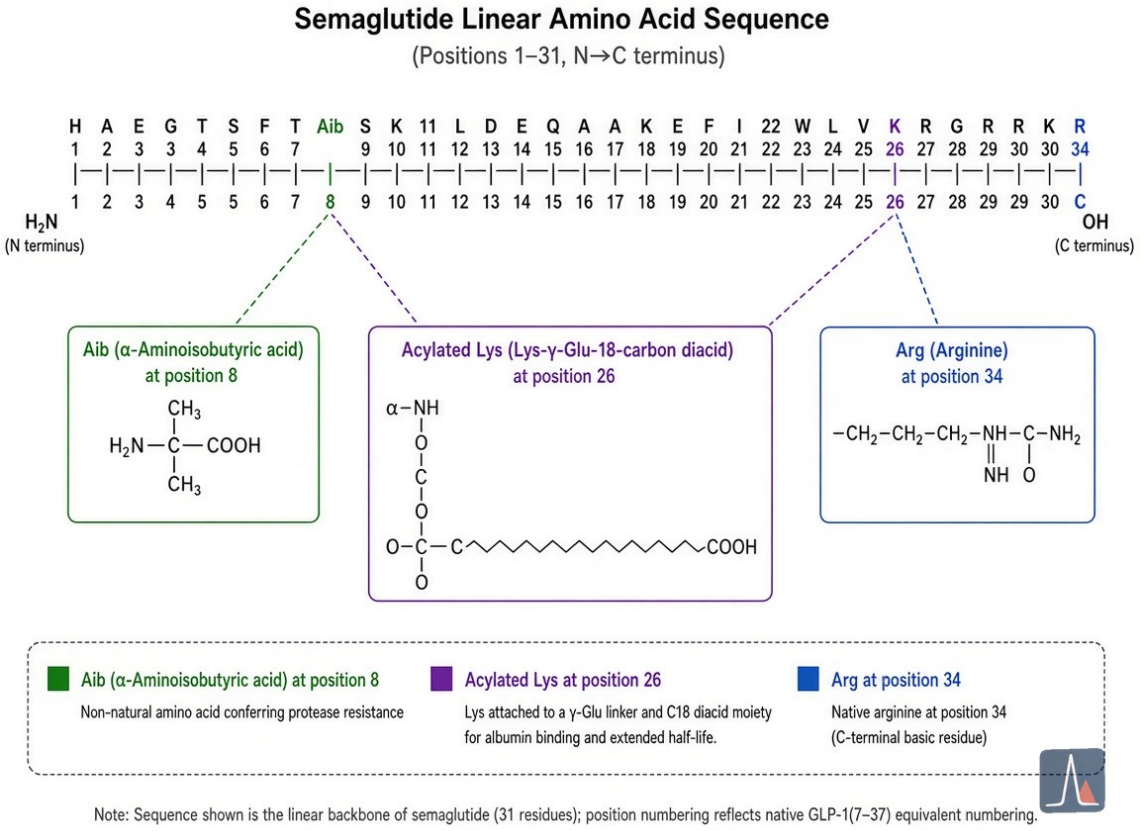
Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

través de γGlu-2×AEEA.

Secuencia primaria y modificaciones estructurales

La secuencia primaria de la semaglutida se basa en el GLP-1(7–37) humano: H-His-Aib-Glu-Gly-Thr-Phe-Thr-Ser-Asp-Val-Ser-Ser-Tyr-Leu-Glu-Gly-Gln-Ala-Ala-Lys(γGlu-2×AEEA-C18 diacid)-Glu-Phe-Ile-Ala-Trp-Leu-Val-Arg-Gly-Arg-Gly-OH. Las modificaciones clave son (1) la sustitución de Ala^{8} por ácido 2-aminoisobutírico (Aib^{8}), que dificulta estéricamente la escisión por DPP-4 en el enlace His^{7}-Aib^{8}; (2) la sustitución de Lys^{34} por Arg^{34} para eliminar un segundo posible sitio de acilación y asegurar una conjugación homogénea en Lys^{26}; y (3) la Nε-acilación de Lys^{26} con ácido octadecanodioico (diácido C18) unido a través de un residuo de ácido γ-glutámico y dos unidades espaciadoras de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (AEEA u OEG). El extremo C-terminal es el ácido carboxílico libre.

Estos cambios aumentan la afinidad por la albúmina respecto a la liraglutida y mantienen una potencia subnanomolar sobre el GLP-1R. El espaciador hidrófilo reduce las interacciones inespecíficas y mejora la solubilidad en comparación con lipidaciones más sencillas. La molécula se suministra habitualmente como sal de acetato o de TFA liofilizada para estudios de reconstitución en el laboratorio.



Secuencia primaria y sitios de modificación de la semaglutida.

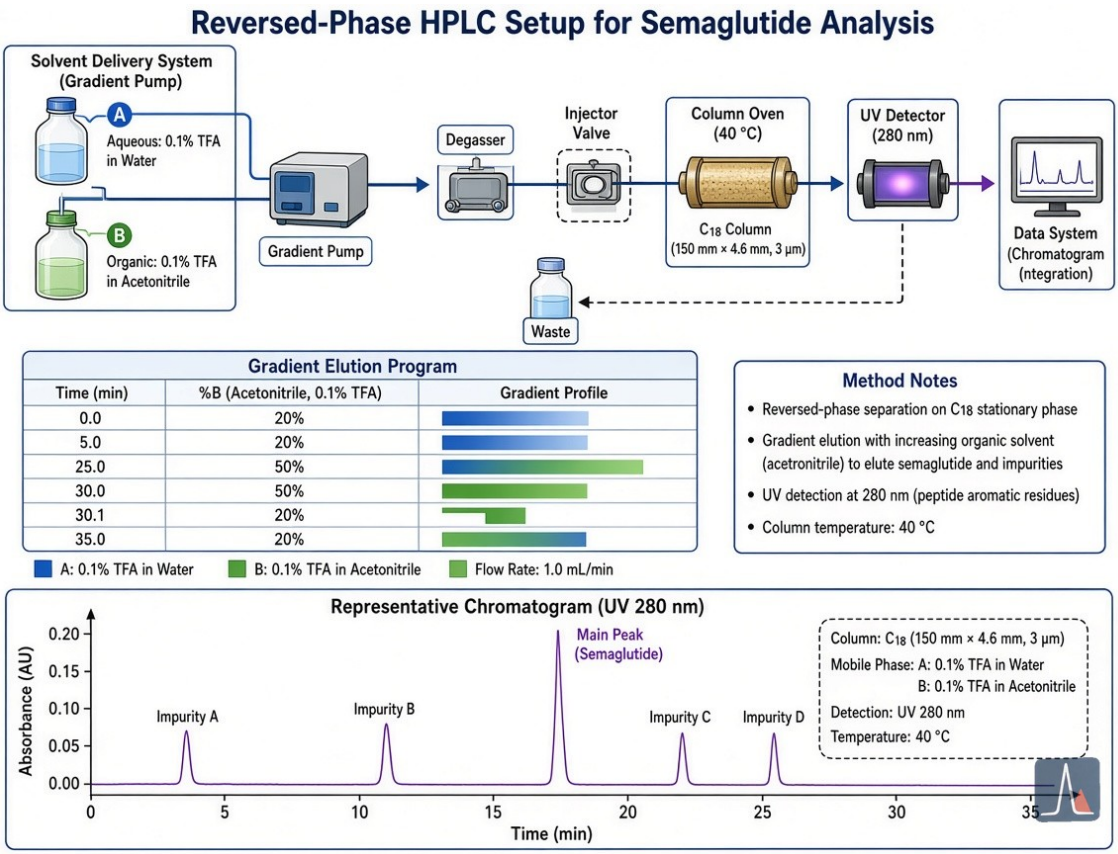
Ensayos cromatográficos de pureza, impurezas y estabilidad

La cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC o UPLC) en columnas C18 o específicas para péptidos (p. ej., AdvanceBio Peptide, Aeris Peptide XB-C18), con gradientes de

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

acetonitrilo que contienen TFA, ácido fórmico o formiato de amonio, es la base de la evaluación de pureza y estabilidad. La detección se realiza habitualmente a 214 nm o 280 nm. Los métodos son indicativos de estabilidad para la desamidación, la oxidación, el truncamiento, la agregación y las sustancias relacionadas. El material de calidad para investigación suele mostrar una pureza 98–99,5% por normalización de áreas.

Se han optimizado métodos para coformulaciones con cagrilintida y para la separación de impurezas estrechamente relacionadas. Los enfoques ortogonales de cromatografía de interacción hidrófila (HILIC) o de LC bidimensional abordan las especies que coeluyen. Los efectos del pH, la temperatura y el tampón sobre la agregación y la formación de fibrillas se han estudiado mediante HPLC en combinación con fluorescencia de tioflavina T o SAXS. Las condiciones de pH bajo pueden favorecer la formación de fibrillas de lámina β, mientras que los tampones de pH neutro a alcalino favorecen estados micelares u oligoméricos.



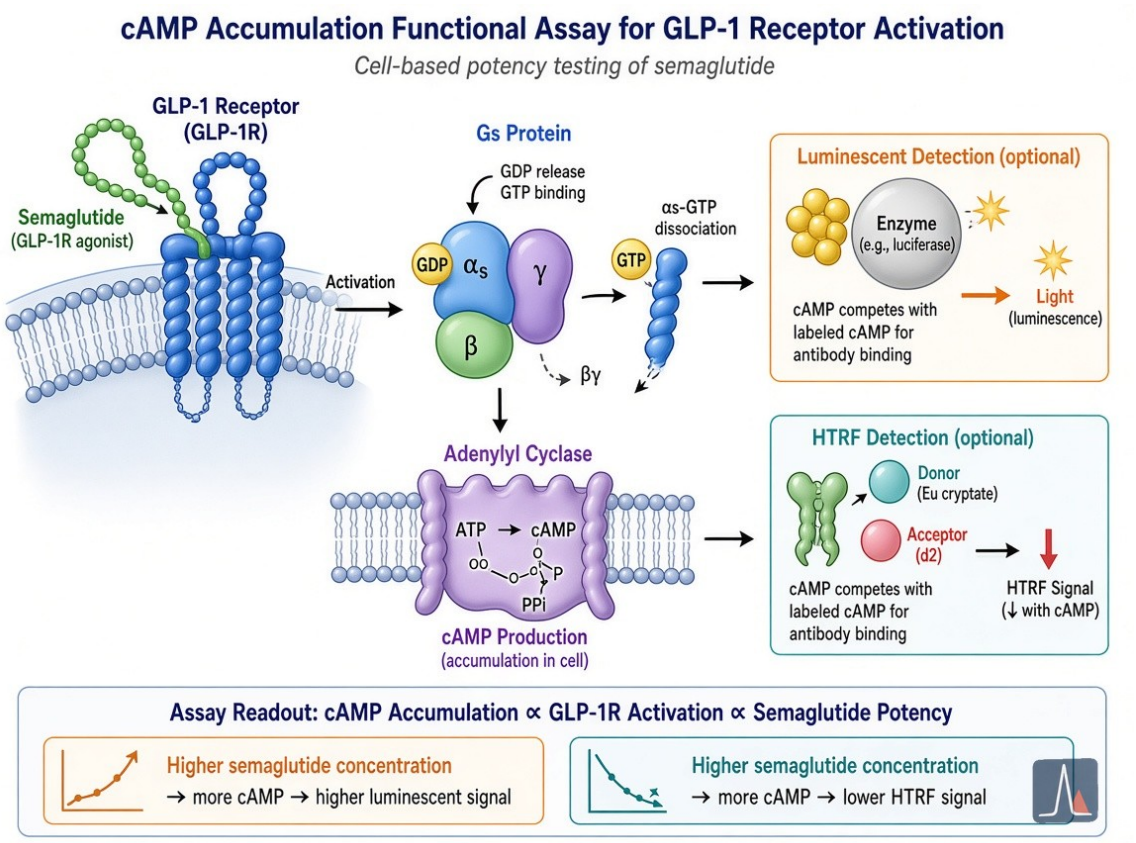
Método representativo de RP-HPLC para el perfil de pureza e impurezas de la semaglutida.

Ensayos de espectrometría de masas, cartografía peptídica y perfil de impurezas

La confirmación de la masa intacta por LC-MS o LC-HRMS detecta de forma habitual los iones multicaros esperados: $[M+3H]^{3+}$ m/z 1372, $[M+4H]^{4+}$ m/z 1029, $[M+5H]^{5+}$ m/z 823. Los instrumentos Orbitrap o Q-TOF de alta resolución confirman la masa monoisotópica con un margen de unos pocos ppm. La cartografía peptídica tras digestión enzimática (Glu-C, tripsina, quimotripsina), seguida de LC-MS/MS (HCD o EThcD), verifica la secuencia, el sitio de acilación y la ausencia de deleciones o inserciones.

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

El perfil de impurezas se centra en isómeros de D-aminoácidos (p. ej., D-His[1], D-Ser[8], D-Asp[9]), productos de oxidación (Met, Trp, Tyr), desamidación (Gln, Asn) y especies relacionadas con disulfuros o diméricas. Se ha utilizado un método que combina separación por RP-UPLC, recogida fuera de línea, hidrólisis ácida en condiciones que minimizan la racemización, derivatización quiral y MS en tándem para caracterizar impurezas de isómeros D a nivel bajo (0,1 %). Los métodos bioanalíticos de LC-MS/MS para matrices de plasma o tampón alcanzan valores de LLOQ de 0,2–5 ng/mL mediante precipitación de proteínas, SPE o enriquecimiento por inmunoafinidad con patrones internos marcados con isótopos estables.

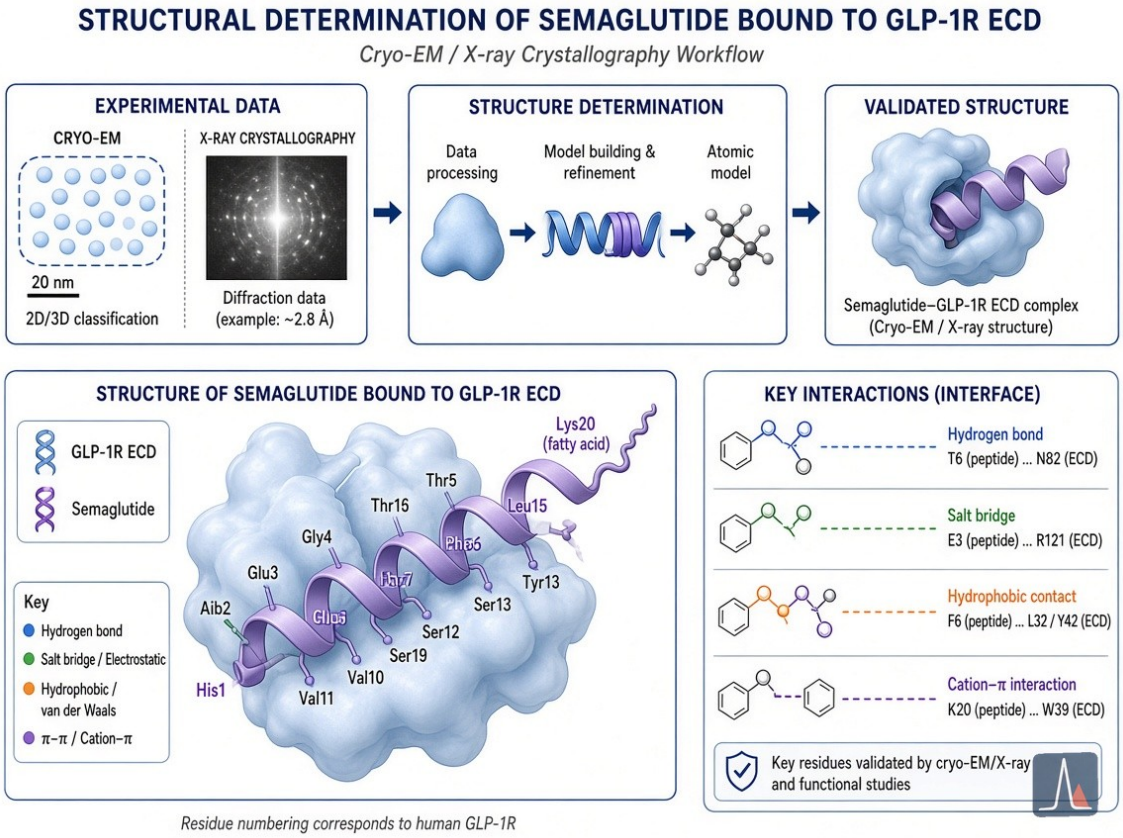


Principio del bioensayo celular de acumulación de AMPc para el agonismo del GLP-1R.

Caracterización biofísica y espectroscópica

Las estructuras de crio-ME de complejos GLP-1R–Gs unidos a semaglutida y las estructuras cristalinas del dominio extracelular (PDB 4ZGM) han esclarecido la pose de unión y los contactos clave con el receptor. La dispersión de rayos X a bajo ángulo (SAXS), la fluorescencia de ThT y la crio-MET demuestran un autoensamblaje dependiente del pH: fibrillas retorcidas ricas en lámina β a pH bajo (2,4) frente a micelas u oligómeros a pH neutro. Las simulaciones de dinámica molecular respaldan una disposición de hebras β antiparalelas, con la lisina lipidada formando un núcleo hidrófobo. Se han utilizado el dicroísmo circular y la RMN para evaluar la estructura secundaria y la estabilidad conformacional en distintos tampones.

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



Caracterización estructural de la interacción semaglutida–GLP-1R.

Bioensayos funcionales de activación del receptor y potencia

La unión al receptor in vitro (competición con ^{125}I-GLP-1 o SPR cinética) da valores de afinidad por el GLP-1R en torno a 0,38–1,7 nM, según el formato del ensayo y la concentración de albúmina. Los ensayos de acumulación de AMPc en células CHO-hGLP-1R, HEK293-SNAP-GLP-1R o RIN-m5F (HTRF, DiscoverX, gen indicador de luciferasa) demuestran de forma constante un agonismo potente (EC_{50} habitualmente de 0,01–0,1 nM en tampón con poca albúmina; desplazado hacia la derecha en presencia de HSA debido a la unión).

Los estudios de sesgo de señalización comparan la producción de AMPc con el reclutamiento de β-arrestina y la internalización del receptor; la semaglutida se comporta en gran medida como un agonista equilibrado, aunque algunos análogos de nueva generación muestran un mayor sesgo hacia el AMPc. Las lecturas funcionales posteriores incluyen la secreción de insulina estimulada por glucosa en modelos INS-1 o de islotes primarios. Los ensayos se cualifican con frecuencia frente a patrones de referencia (p. ej., Ozempic). Los datos preclínicos de FC en minicerdos (t½ plasmática 46h i.v., MRT 63,6 h s.c.) respaldaron la justificación de una administración semanal, pero quedan fuera del ámbito de la caracterización puramente in vitro.

Contexto de la evidencia, limitaciones recurrentes e implicaciones para el catálogo

La bibliografía publicada aporta métodos analíticos sólidos (RP-HPLC, LC-HRMS, cartografía peptídica) y ensayos funcionales (unión, AMPc) que confirman la identidad, la pureza y el

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

agonismo del GLP-1R de la semaglutida de calidad para investigación. Las referencias primarias, como el artículo de descubrimiento de 2015 y las validaciones posteriores de métodos analíticos, proporcionan protocolos transparentes y reproducibles adecuados para la cualificación en el laboratorio.

Las limitaciones recurrentes incluyen una fuerte dependencia de líneas celulares recombinantes que pueden no reflejar la densidad nativa del receptor, la heterodimerización o el sesgo específico de tejido; efectos de matriz variables y unión inespecífica en los métodos bioanalíticos de LC-MS; y el hecho de que la mayoría de los datos funcionales se generaron con material de calidad farmacéutica y no con lotes de investigación. El comportamiento de agregación depende en gran medida de las condiciones y exige una selección cuidadosa del tampón para obtener experimentos de laboratorio reproducibles. Los resultados nulos o desfavorables (p. ej., menor potencia en medios con alta concentración de albúmina, formación de fibrillas a pH ácido) se comunican junto con los datos favorables.

Para quienes utilizan el catálogo, estos ensayos respaldan la confirmación de la identidad, la evaluación de la pureza, el seguimiento de la estabilidad tras la reconstitución y la caracterización farmacológica básica en modelos celulares o bioquímicos. Todo el trabajo debe permanecer estrictamente dentro de los límites de la investigación de laboratorio. Estudios futuros podrían afinar el perfil de impurezas, la estabilidad a largo plazo en disolución y el sesgo de señalización en sistemas más complejos de cocultivo u organoides.

Fuentes

Lau J, Bloch P, Schäffer L, et al. Discovery of the Once-Weekly Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Analogue Semaglutide. *J Med Chem*. 2015;58(18):7370-7380. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00726. PMID: 26308095.

La bibliografía primaria adicional incluye artículos metodológicos sobre el perfil de impurezas de isómeros de D-aminoácidos por LC-HRMS (PMID 36462248), bioanálisis automatizado de plasma por LC-MS, métodos de UPLC para combinaciones de semaglutida y cagrilintida, estudios de agregación por SAXS/crio-MET y varias descripciones de ensayos de AMPc y de unión en *Mol Metab*, *Diabetes Obes Metab* y revistas analíticas (2022–2025). Estructuras citadas a partir de PDB 4ZGM y de publicaciones de crio-ME. Todas las citas proceden de revistas con revisión por pares indexadas en PubMed/Europe PMC.

Fuentes

• Discovery of the Once-Weekly Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Analogue Semaglutide, 2015. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00726
• Characterization of low-level D-amino acid isomeric impurities of Semaglutide using liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry, 2023. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115XXX
• Discovery of ecnoglutide – A novel, long-acting, cAMP-biased glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analog, 2023. https://doi.org/10.1016/j.molmet.2023.101762
• An automated LC-MS workflow for the quantification of the GLP-1 analog semaglutide in human plasma, 2025. https://www.agilent.com/
• Fibrillar and Micellar Aggregation of Semaglutide and Formation of a Chiral-Imprinted Glass, 2026. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41917693/

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

Toda la información y los productos tratados se destinan únicamente a uso de laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar o prevenir ninguna enfermedad.

Toda la información y los productos tratados son exclusivamente para uso en laboratorio e investigación. No para uso humano ni veterinario. No están destinados a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.