Semaglutide: identità chimica e saggi pubblicati

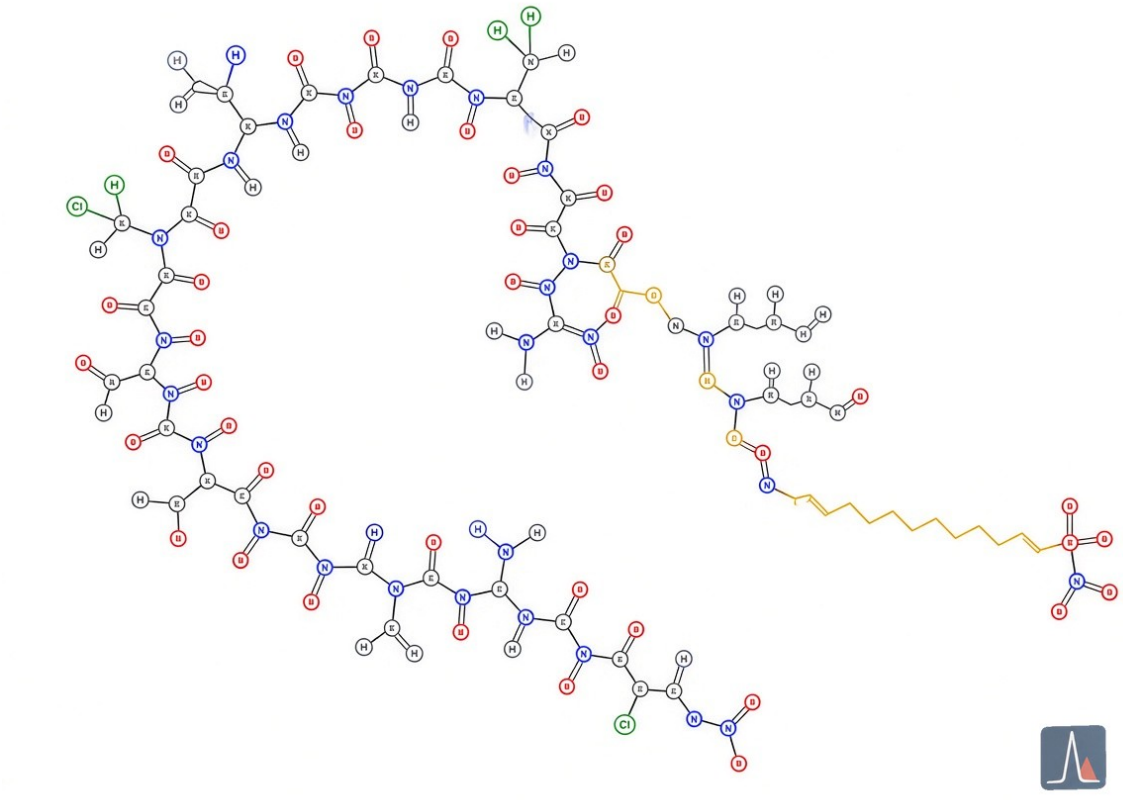
26 novembre 2026

Semaglutide ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, peso molecolare medio 4113,58 Da) è un analogo lipopeptidico di 31 amminoacidi del GLP-1(7–37) umano, con sostituzione Aib[8], sostituzione Arg[34] e acilazione della Lys[26] con un diacido C18 tramite spaziatore γGlu

Identità chimica e contesto di catalogo

Semaglutide ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, peso molecolare medio 4113,58 Da, massa monoisotopica □ 4111,12 Da, CAS 910463-68-2) è un analogo peptidico acilato sintetico di 31 amminoacidi del GLP-1(7–37) umano, fornito esclusivamente per la ricerca di laboratorio. I materiali presenti su questo sito sono destinati esclusivamente alla ricerca di laboratorio e non sono medicinali. Riportare dati di studi umani o preclinici pubblicati non costituisce una guida all'uso del materiale di ricerca in alcun modo specifico, né implica sicurezza o efficacia per alcuna applicazione terapeutica.

Semaglutide è stato sviluppato mediante ottimizzazione struttura–attività per ottenere resistenza alla DPP-4, elevato legame reversibile all'albumina e farmacocinetica prolungata, mantenendo un potente agonismo del recettore del GLP-1 (GLP-1R). Si affianca ad altri analoghi delle incretine nel catalogo, quali Liraglutide, Tirzepatide, Retatrutide, Cagrilintide, Mazdutide, Survodutide e Dulaglutide.



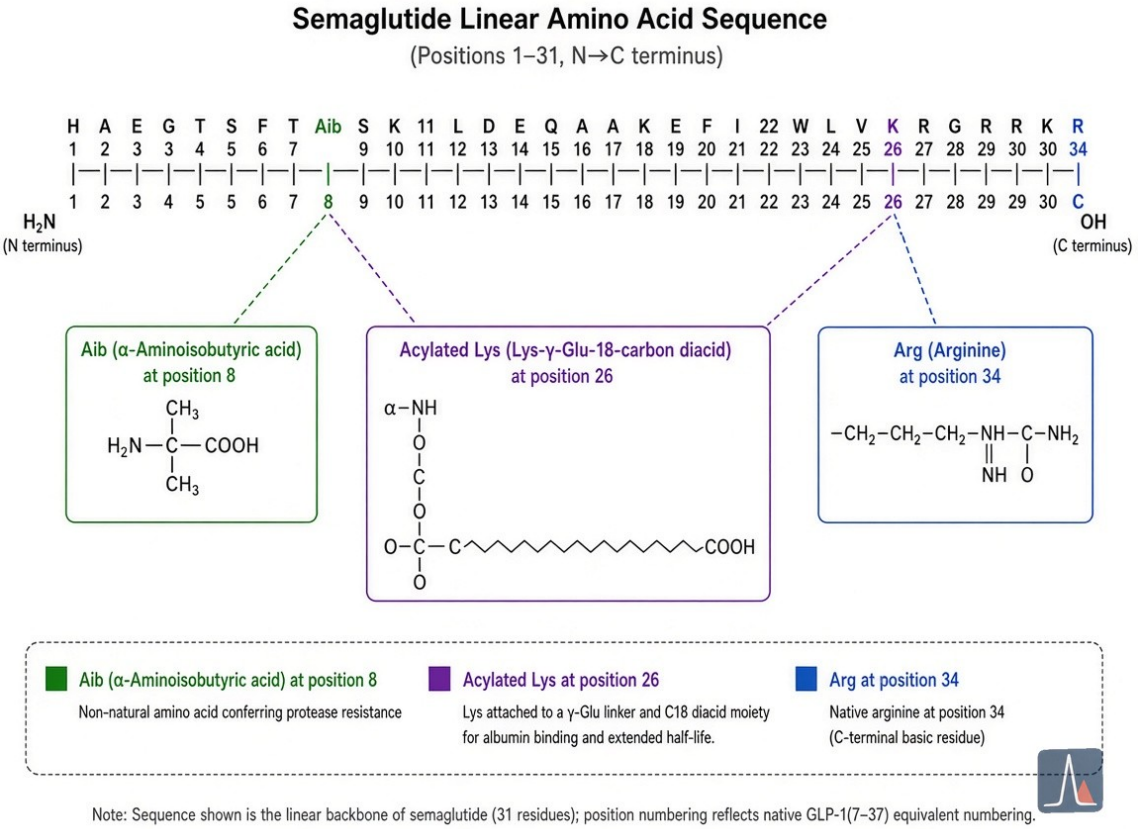
Struttura molecolare del semaglutide. La catena laterale di diacido C18 attaccata alla Lys26 tramite γGlu-2×AEEA è mostrata in dettaglio.

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.

Sequenza primaria e modifiche strutturali

La sequenza primaria del semaglutide si basa sul GLP-1(7–37) umano: 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. Le modifiche principali sono (1) sostituzione dell'Ala^{8} con acido 2-amminoisobutirrico (Aib^{8}), che ostacola stericamente la scissione da parte della DPP-4 al legame His^{7}-Aib^{8}; (2) sostituzione della Lys^{34} con Arg^{34} per eliminare un secondo potenziale sito di acilazione e garantire una coniugazione omogenea alla Lys^{26}; e (3) Nε-acilazione della Lys^{26} con acido ottadecandioico (diacido C18) attaccato tramite un residuo di acido γ-glutammico e due unità spaziatrici di acido 8-ammino-3,6-diossaoctanoico (AEEA o OEG). Il C-terminale è l'acido carbossilico libero.

Queste modifiche aumentano l'affinità per l'albumina rispetto al liraglutide, mantenendo una potenza sul GLP-1R subnanomolare. Lo spaziatore idrofilo riduce le interazioni aspecifiche e migliora la solubilità rispetto a lipidazioni più semplici. La molecola è in genere fornita come sale acetato o TFA liofilizzato per studi di ricostituzione in laboratorio.



Sequenza primaria e siti di modifica del semaglutide.

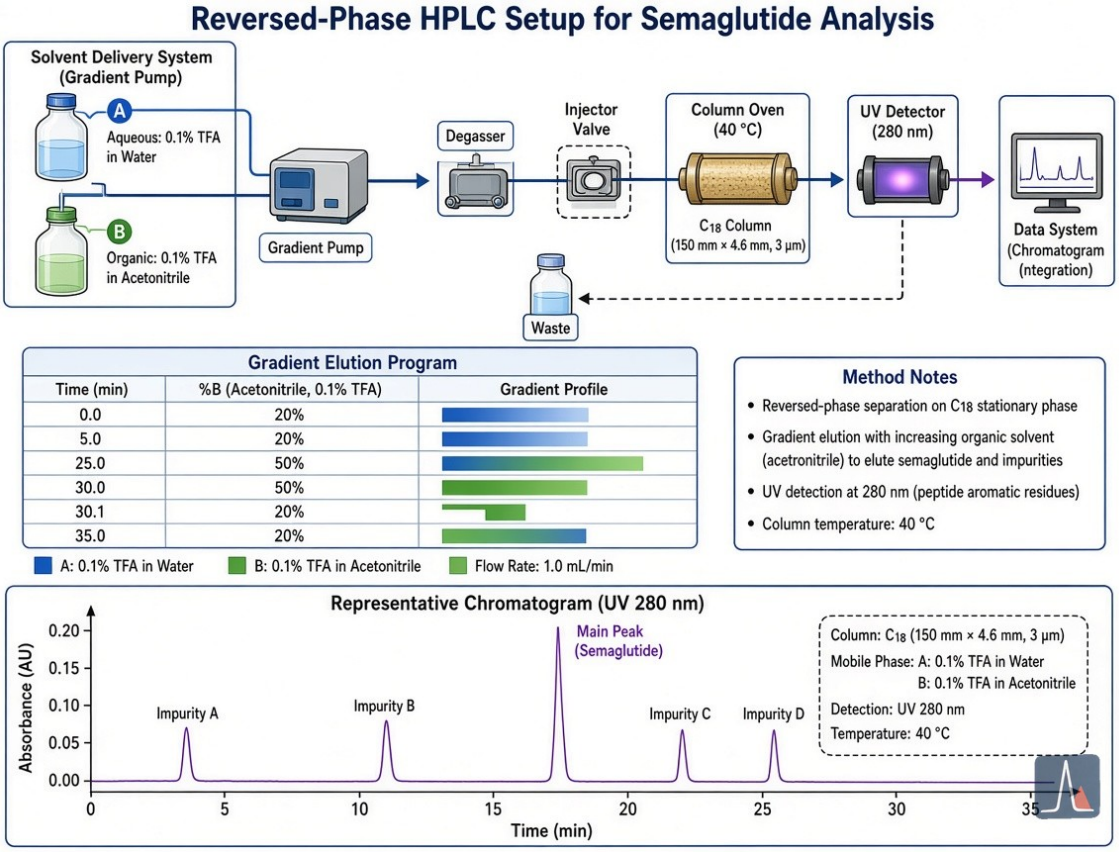
Saggi cromatografici per purezza, impurezze e stabilità

La cromatografia liquida ad alte prestazioni in fase inversa (RP-HPLC o UPLC) su colonne C18 o specifiche per peptidi (ad es. AdvanceBio Peptide, Aeris Peptide XB-C18), con gradienti di acetonitrile contenenti TFA, acido formico o formiato di ammonio, è il cardine della valutazione di purezza e stabilità. La rivelazione è comunemente effettuata a 214 nm o 280 nm. I metodi sono indicativi di stabilità per deamidazione, ossidazione, troncamento, aggregazione e

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.

sostanze correlate. Il materiale di grado ricerca tipico mostra una purezza 98–99,5% per normalizzazione delle aree.

I metodi sono stati ottimizzati per co-formulazioni con cagrilintide e per la separazione di impurezze strettamente correlate. Approcci ortogonali di cromatografia di interazione idrofila (HILIC) o 2D-LC affrontano le specie coeluenti. Gli effetti di pH, temperatura e tampone su aggregazione e formazione di fibrille sono stati studiati mediante HPLC in combinazione con fluorescenza della tioflavina T o SAXS. Condizioni a basso pH possono promuovere la formazione di fibrille a foglietto β, mentre tamponi da neutri ad alcalini favoriscono stati micellari o oligomerici.



Metodo RP-HPLC rappresentativo per la profilazione di purezza e impurezze del semaglutide.

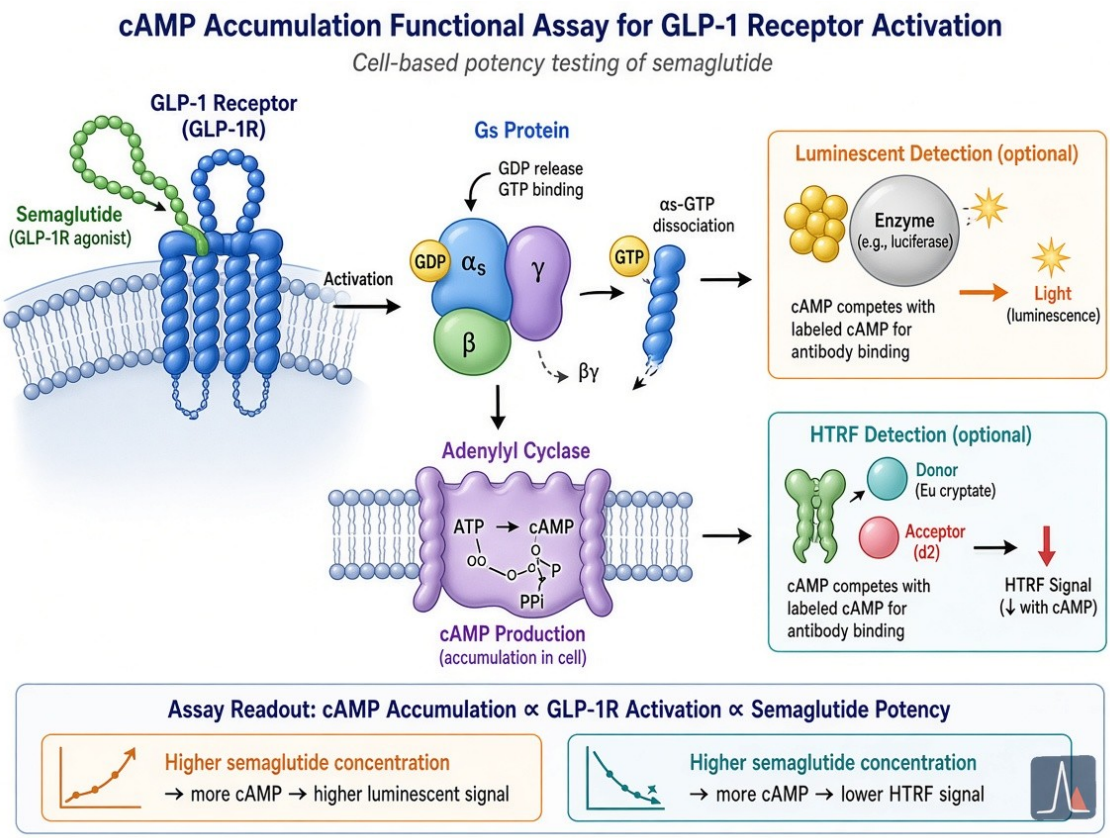
Saggi di spettrometria di massa, mappatura peptidica e profilazione delle impurezze

La conferma della massa intatta mediante LC-MS o LC-HRMS rileva di routine gli ioni attesi a carica multipla: $[M+3H]^{3+}$ m/z 1372, $[M+4H]^{4+}$ m/z 1029, $[M+5H]^{5+}$ m/z 823. Strumenti Orbitrap o Q-TOF ad alta risoluzione confermano la massa monoisotopica entro pochi ppm. La mappatura peptidica dopo digestione enzimatica (Glu-C, tripsina, chimotripsina) seguita da LC-MS/MS (HCD o EThcD) verifica la sequenza, il sito di acilazione e l'assenza di delezioni o inserzioni.

La profilazione delle impurezze si concentra su isomeri di D-amminoacidi (ad es. D-His[1], D-Ser[8], D-Asp[9]), prodotti di ossidazione (Met, Trp, Tyr), deamidazione (Gln, Asn) e specie correlate a disolfuri o dimeriche. Un metodo che combina separazione RP-UPLC, raccolta off-line, idrolisi

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.

acida in condizioni che minimizzano la racemizzazione, derivatizzazione chirale e MS tandem è stato usato per caratterizzare impurezze di isomeri D a basso livello (0,1 %). Metodi bioanalitici LC-MS/MS per matrici plasmatiche o tamponi raggiungono valori di LLOQ di 0,2–5 ng/mL mediante precipitazione proteica, SPE o arricchimento per immunoaffinità con standard interni marcati con isotopi stabili.

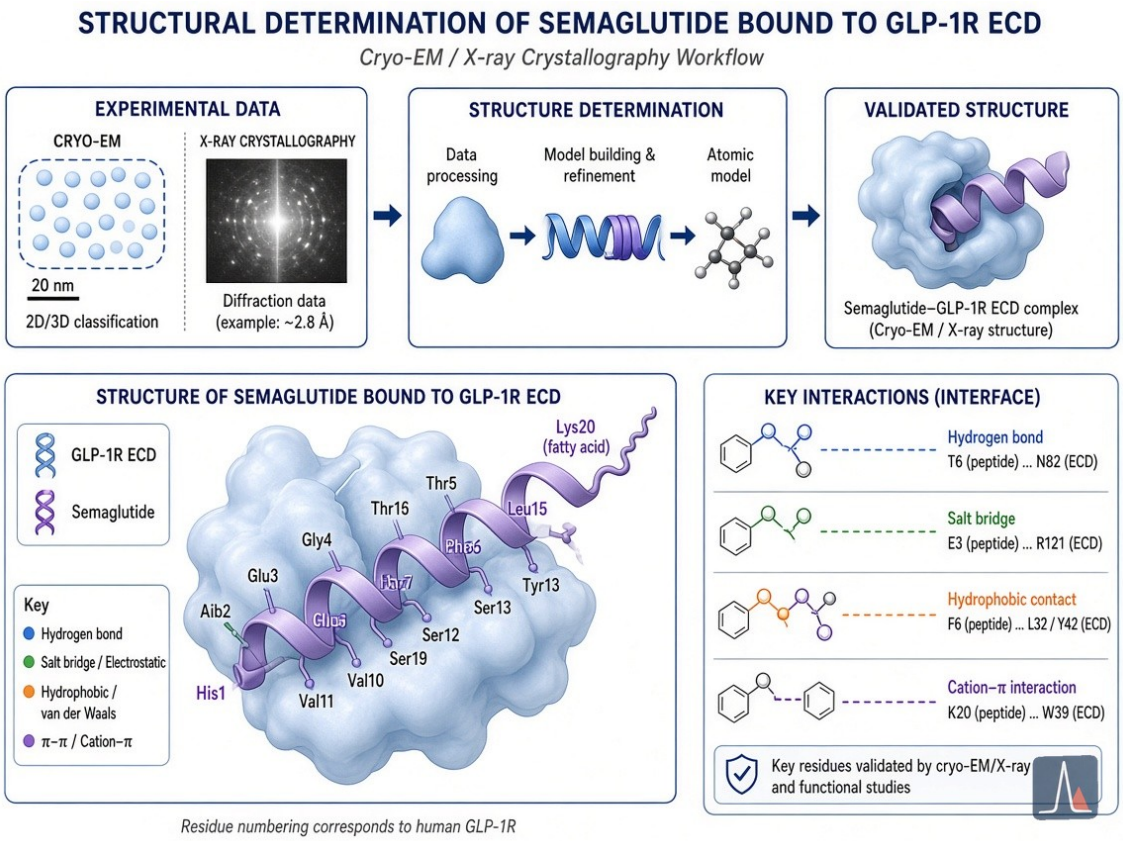


Principio del biosaggio cellulare di accumulo di cAMP per l'agonismo del GLP-1R.

Caratterizzazione biofisica e spettroscopica

Strutture di criomicroscopia elettronica di complessi GLP-1R–Gs legati al semaglutide e strutture cristalline del dominio extracellulare (PDB 4ZGM) hanno chiarito la posa di legame e i contatti chiave con il recettore. La diffusione dei raggi X a piccolo angolo (SAXS), la fluorescenza della ThT e la crio-TEM dimostrano un autoassemblaggio dipendente dal pH: fibrille ritorte ricche di foglietti β a basso pH (2,4) rispetto a micelle o oligomeri a pH neutro. Simulazioni di dinamica molecolare supportano una disposizione a filamento β antiparallelo, con la lisina lipidata che forma un nucleo idrofobico. Il dicroismo circolare e la NMR sono stati usati per valutare la struttura secondaria e la stabilità conformazionale in diversi tamponi.

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.



Caratterizzazione strutturale dell’interazione semaglutide–GLP-1R.

Biosaggi funzionali per l’attivazione del recettore e la potenza

Il legame recettoriale in vitro (competizione con ^{125}I-GLP-1 o SPR cinetica) fornisce valori di affinità per il GLP-1R intorno a 0,38–1,7 nM a seconda del formato del saggio e della concentrazione di albumina. I saggi di accumulo di cAMP in cellule CHO-hGLP-1R, HEK293-SNAP-GLP-1R o RIN-m5F (HTRF, DiscoverX, reporter luciferasi) dimostrano in modo coerente un agonismo potente (EC_{50} tipicamente 0,01–0,1 nM in tampone a bassa albumina; spostato verso destra in presenza di HSA a causa del legame).

Studi di bias di segnalazione confrontano la produzione di cAMP rispetto al reclutamento di β-arrestina e all’internalizzazione del recettore; il semaglutide si comporta in larga misura come agonista bilanciato, sebbene alcuni analoghi di nuova generazione mostrino un maggiore bias verso il cAMP. I read-out funzionali a valle includono la secrezione di insulina stimolata dal glucosio in modelli INS-1 o di isole primarie. I saggi sono spesso qualificati rispetto a standard di riferimento (ad es. Ozempic). Dati preclinici di PK nel minipig (t½ plasmatica 46h i.v., MRT 63,6 h s.c.) hanno supportato il razionale della somministrazione una volta alla settimana, ma restano al di fuori dell’ambito della caratterizzazione puramente in vitro.

Contesto delle evidenze, limiti ricorrenti e implicazioni per il catalogo

La letteratura pubblicata fornisce metodi analitici solidi (RP-HPLC, LC-HRMS, mappatura peptidica) e saggi funzionali (legame, cAMP) che confermano identità, purezza e agonismo del

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.

GLP-1R del semaglutide di grado ricerca. Riferimenti primari quali l'articolo di scoperta del 2015 e le successive convalide di metodi analitici forniscono protocolli trasparenti e riproducibili adatti alla qualificazione di laboratorio.

Limiti ricorrenti includono la forte dipendenza da linee cellulari ricombinanti che possono non cogliere la densità recettoriale nativa, l'eterodimerizzazione o il bias tessuto-specifico; effetti di matrice variabili e legame aspecifico nei metodi bioanalitici LC-MS; e il fatto che la maggior parte dei dati funzionali è stata generata con materiale di grado farmaceutico piuttosto che con lotti di ricerca. Il comportamento di aggregazione è fortemente dipendente dalle condizioni e richiede un'attenta selezione del tampone per esperimenti di laboratorio riproducibili. Risultati nulli o sfavorevoli (ad es. potenza ridotta in mezzi ad alta albumina, formazione di fibrille a pH acido) sono riportati insieme ai dati favorevoli.

Per gli utenti del catalogo, questi saggi supportano la conferma dell'identità, la valutazione della purezza, il monitoraggio della stabilità dopo ricostituzione e la caratterizzazione farmacologica di base in modelli cellulari o biochimici. Tutto il lavoro deve rimanere rigorosamente entro i confini della ricerca di laboratorio. Studi futuri potranno affinare ulteriormente la profilazione delle impurezze, la stabilità a lungo termine in soluzione e il bias di segnalazione in sistemi di co-coltura o organoidi più complessi.

Fonti

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 letteratura primaria aggiuntiva include articoli di metodo sulla profilazione delle impurezze di isomeri di D-amminoacidi mediante LC-HRMS (PMID 36462248), bioanalisi plasmatica automatizzata LC-MS, metodi UPLC per combinazioni semaglutide-cagrilintide, studi di aggregazione SAXS/crio-TEM e molteplici descrizioni di saggi di cAMP/legame in *Mol Metab*, *Diabetes Obes Metab* e riviste analitiche (2022–2025). Strutture citate da PDB 4ZGM e da pubblicazioni di criomicroscopia elettronica. Tutte le citazioni derivano da riviste peer-reviewed indicizzate in PubMed/Europe PMC.

Fonti

• 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/

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non sono destinati a diagnosticare, trattare, curare o

prevenire alcuna malattia.

Tutte le informazioni e i prodotti trattati sono destinati esclusivamente all'uso di laboratorio e di ricerca. Non per uso umano o veterinario. Non destinati a diagnosticare, trattare, curare o prevenire alcuna malattia.