Semaglutide: chemische identiteit en gepubliceerde assays

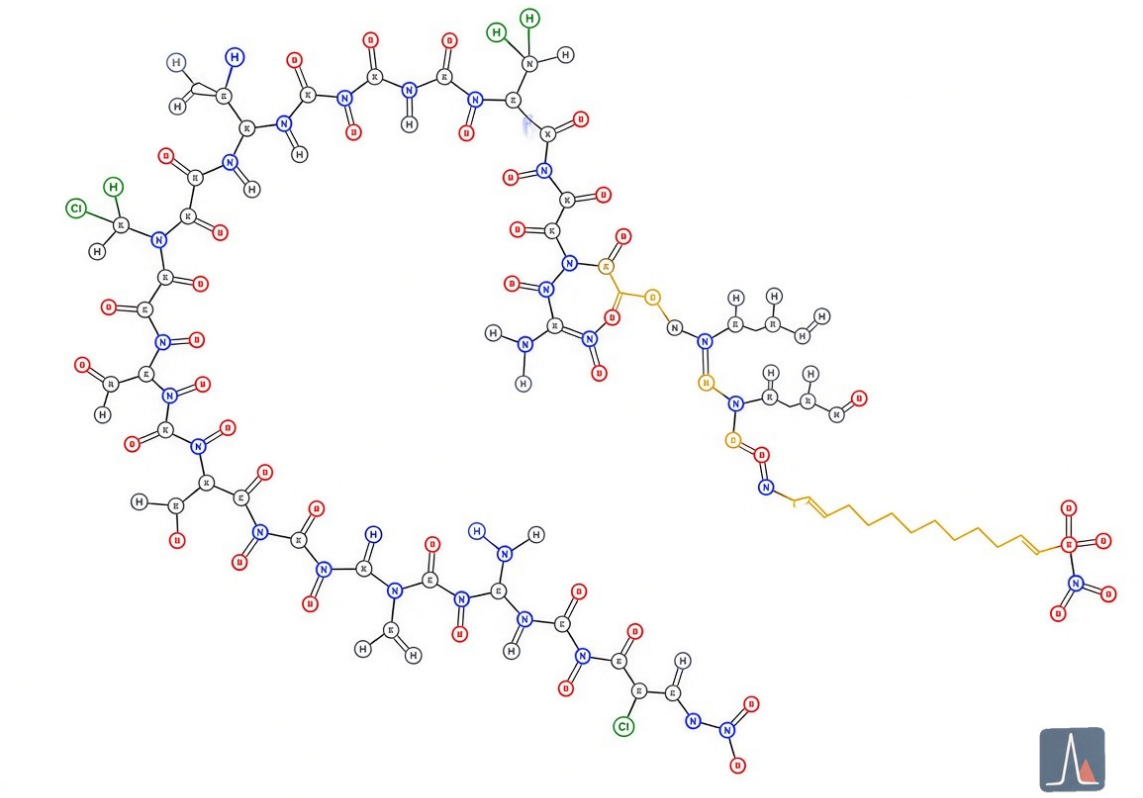
26 november 2026

Semaglutide ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, gemiddelde MW 4113,58 Da) is een lipopeptide-analoog van 31 aminozuren van humaan GLP-1(7–37) met Aib[8]-substitutie, Arg[34]-substitutie en Lys[26]-acylering met een C18-dizuur via een γGlu-2×AEEA-spacer. Deze briefi

Chemische identiteit en cataloguscontext

Semaglutide ($C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$, gemiddelde molecuulmassa 4113,58 Da, monoisotopische massa 4111,12 Da, CAS 910463-68-2) is een synthetisch geacyleerd peptide-analoog van 31 aminozuren van humaan GLP-1(7–37), uitsluitend geleverd voor laboratoriumonderzoek. Materialen op deze site zijn uitsluitend bestemd voor laboratoriumonderzoek en zijn geen geneesmiddelen. Het rapporteren van gegevens uit gepubliceerde humane of preklinische studies vormt geen aanwijzing om het onderzoeksmateriaal op een bepaalde manier te gebruiken, en impliceert evenmin veiligheid of werkzaamheid voor enige therapeutische toepassing.

Semaglutide is ontwikkeld via structuur-activiteitsoptimalisatie om DPP-4-resistentie, hoge reversibele albuminebinding en verlengde farmacokinetiek te bereiken, met behoud van potent GLP-1-receptoragonisme (GLP-1R). Het sluit aan bij andere incretine-analogen in de catalogus, zoals Liraglutide, Tirzepatide, Retatrutide, Cagrilintide, Mazdutide, Survodutide en Dulaglutide.



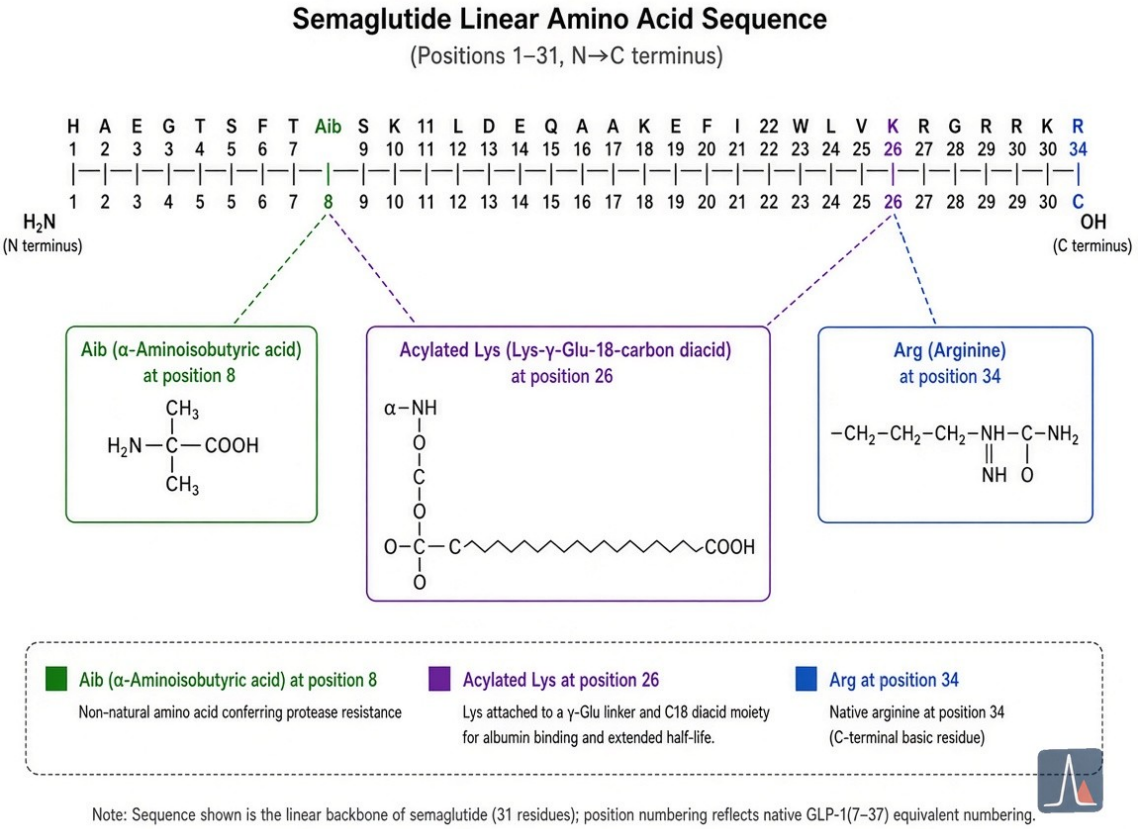
Molecuulstructuur van semaglutide. De C18-dizuurzijketen, gehecht aan Lys26 via γGlu-2×AEEA, is in detail weergegeven.

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.

Primaire sequentie en structurele modificaties

De primaire sequentie van semaglutide is gebaseerd op humaan GLP-1(7–37): 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. Belangrijke modificaties zijn (1) vervanging van Ala^{8} door 2-aminoisoboterzuur (Aib^{8}), dat sterisch de DPP-4-splitsing van de His^{7}-Aib^{8}-binding belemmert; (2) substitutie van Lys^{34} door Arg^{34} om een tweede potentiële acyleringsplaats te elimineren en homogene conjugatie aan Lys^{26} te waarborgen; en (3) Nε-acylering van Lys^{26} met octadecaandizuur (C18-dizuur), gehecht via een γ-glutaminezuurresidu en twee eenheden 8-amino-3,6-dioxaoctaanzuur (AEEA of OEG) als spacer. De C-terminus is het vrije carbonzuur.

Deze veranderingen verhogen de albumineaffiniteit ten opzichte van liraglutide, met behoud van subnanomolaire GLP-1R-potentie. De hydrofiele spacer vermindert aspecifieke interacties en verbetert de oplosbaarheid ten opzichte van eenvoudigere lipideringen. Het molecuul wordt doorgaans geleverd als gevriesdroogd acetaat- of TFA-zout voor reconstitutiestudies in het laboratorium.



Primaire sequentie en modificatieplaatsen van semaglutide.

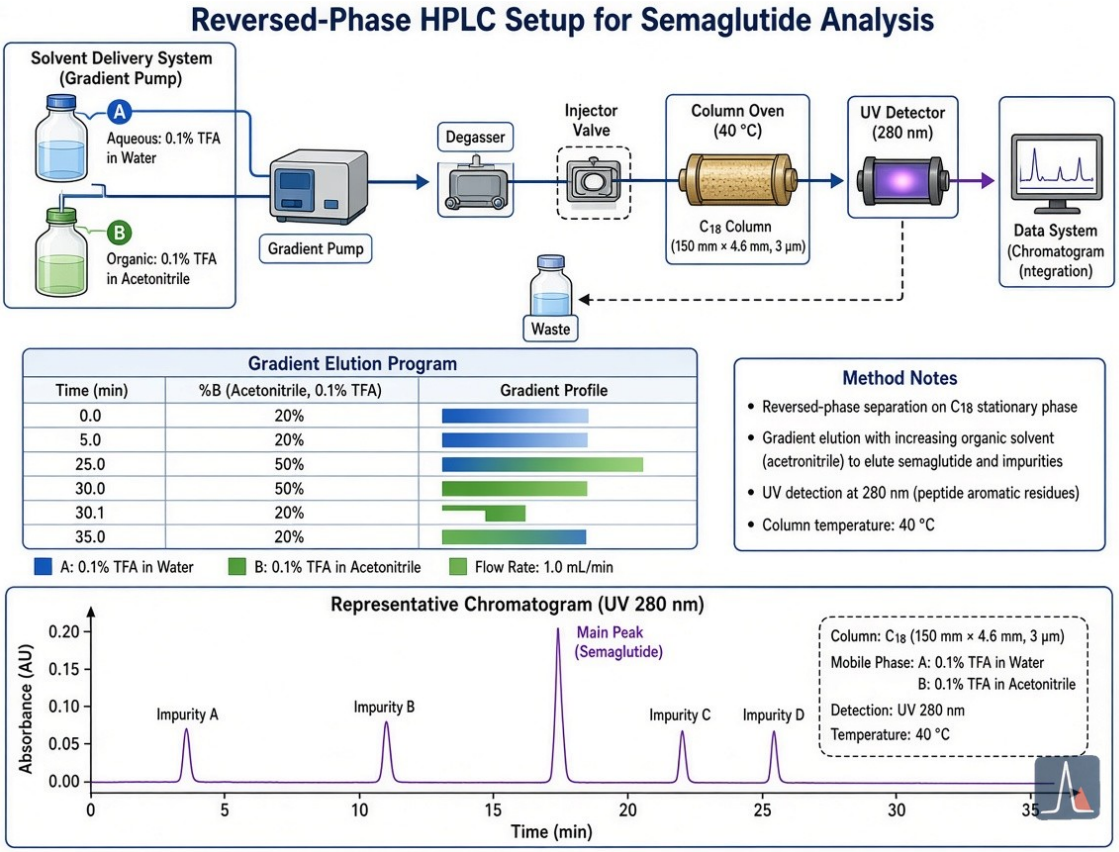
Chromatografische assays voor zuiverheid, onzuiverheden en stabiliteit

Omgekeerde-fase-hogedrukvloeistofchromatografie (RP-HPLC of UPLC) op C18- of peptidespecifieke kolommen (bijv. AdvanceBio Peptide, Aeris Peptide XB-C18) met acetonitrilgradiënten die TFA, mierenzuur of ammoniumformiaat bevatten, vormt de hoeksteen

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.

van de beoordeling van zuiverheid en stabiliteit. Detectie vindt doorgaans plaats bij 214 nm of 280 nm. Methoden zijn stabiliteitsindicerend voor deamidatie, oxidatie, truncatie, aggregatie en verwante stoffen. Typisch onderzoekskwaliteitsmateriaal toont een zuiverheid van ≥ 98–99,5% volgens oppervlaktenormalisatie.

Methoden zijn geoptimaliseerd voor coformuleringen met cagrilintide en voor scheiding van nauw verwante onzuiverheden. Orthogonale hydrofiele-interactiechromatografie (HILIC) of 2D-LC-benaderingen richten zich op co-eluerende species. Effecten van pH, temperatuur en buffer op aggregatie en fibrilvorming zijn met HPLC bestudeerd in combinatie met thioflavine-T-fluorescentie of SAXS. Lage-pH-omstandigheden kunnen β-sheet-fibrilvorming bevorderen, terwijl neutrale tot alkalische buffers micellaire of oligomere toestanden begunstigen.



Representatieve RP-HPLC-methode voor zuiverheids- en onzuiverheidsprofilering van semaglutide.

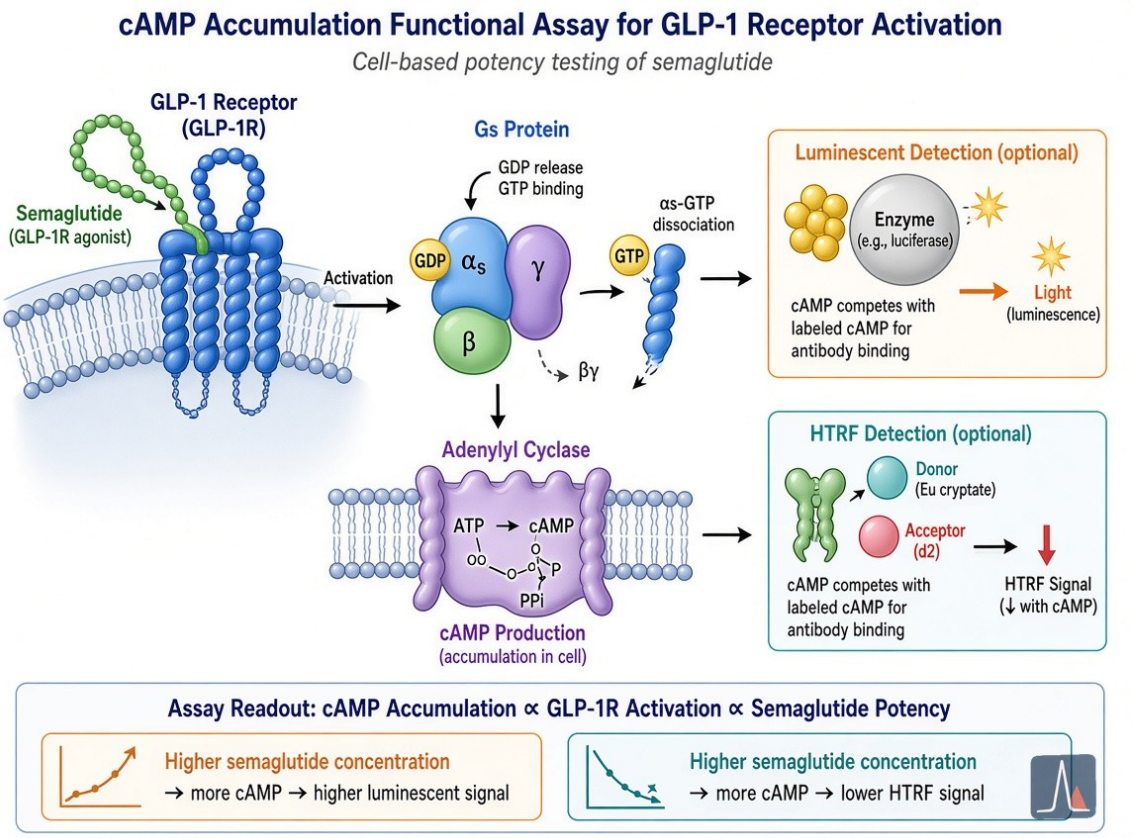
Massaspectrometrische assays, peptide mapping en onzuiverheidsprofilering

Bevestiging van de intacte massa met LC-MS of LC-HRMS detecteert routinematig de verwachte meervoudig geladen ionen: $[M+3H]^{3+}$ ≈ m/z 1372, $[M+4H]^{4+}$ ≈ m/z 1029, $[M+5H]^{5+}$ ≈ m/z 823. Hoge-resolutie-Orbitrap- of Q-TOF-instrumenten bevestigen de monoisotopische massa binnen enkele ppm. Peptide mapping na enzymatische digestie (Glu-C, trypsine, chymotrypsine), gevolgd door LC-MS/MS (HCD of EThcD), verifieert de sequentie, de acyleringsplaats en de afwezigheid van deleties of inserties.

Onzuiverheidsprofilering richt zich op D-aminozuurisomeren (bijv. D-His[1], D-Ser[8], D-Asp[9]),

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.

oxidatieproducten (Met, Trp, Tyr), deamidatie (Gln, Asn) en disulfidegerelateerde of dimere species. Een methode die RP-UPLC-scheiding, offline verzameling, zure hydrolyse onder omstandigheden die racemisatie minimaliseren, chirale derivatisering en tandem-MS combineert, is gebruikt om D-isomeeronzuiverheden op laag niveau (0,1 %) te karakteriseren. Bioanalytische LC-MS/MS-methoden voor plasma- of buffermatrices bereiken LLOQ-waarden van 0,2–5 ng/mL met eiwitprecipitatie, SPE of immunoaffiniteitsverrijking en stabiel-isotoopgelabelde interne standaarden.

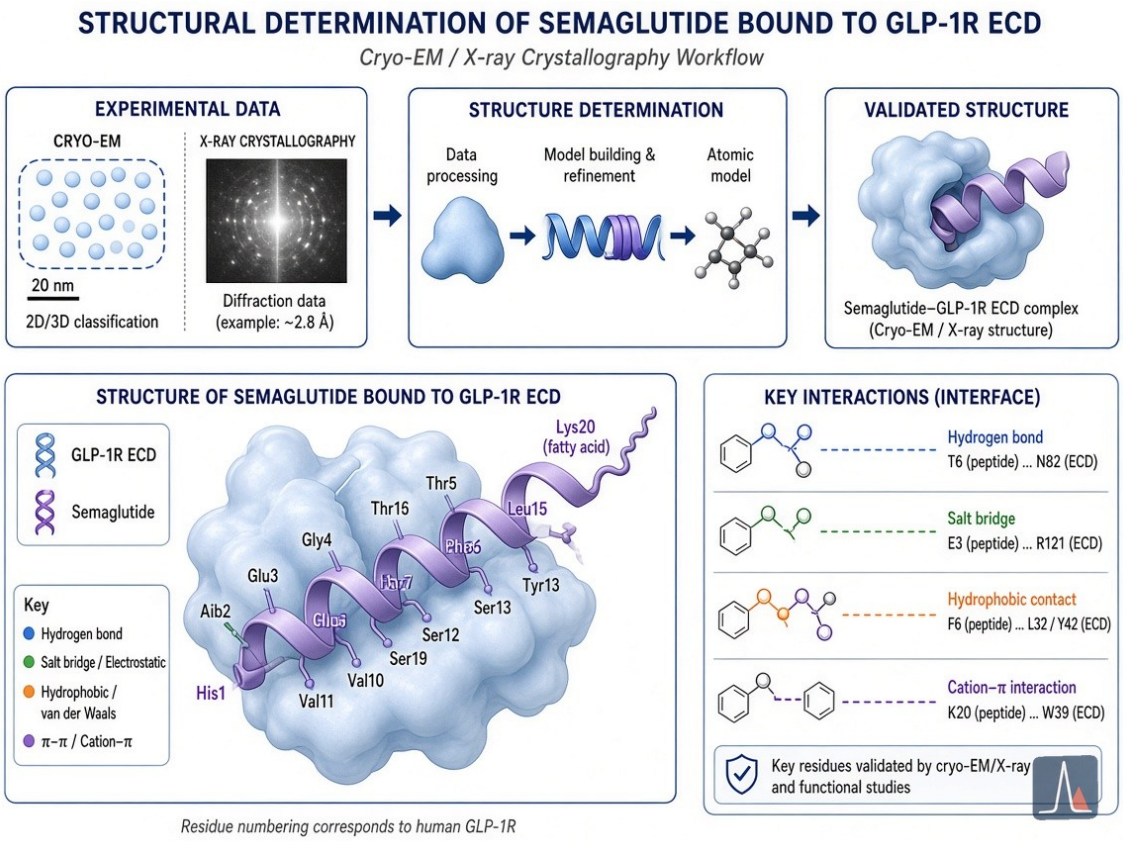


Principe van een celgebaseerde cAMP-accumulatiebioassay voor GLP-1R-agonisme.

Biofysische en spectroscopische karakterisering

Cryo-EM-structuren van semaglutide-gebonden GLP-1R–Gs-complexen en kristalstructuren van het extracellulaire domein (PDB 4ZGM) hebben de bindingspose en belangrijke receptorcontacten verhelderd. Small-angle X-ray scattering (SAXS), ThT-fluorescentie en cryo-TEM tonen pH-afhankelijke zelfassemblage: β-sheet-rijke getwiste fibrillen bij lage pH (2,4) versus micellen of oligomeren bij neutrale pH. Moleculaire-dynamicasimulaties ondersteunen een antiparallelle β-strengordening waarbij het gelipideerde lysine een hydrofobe kern vormt. Circulair dichroïsme en NMR zijn gebruikt om secundaire structuur en conformationele stabiliteit in verschillende buffers te beoordelen.

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.



Structurele karakterisering van de semaglutide–GLP-1R-interactie.

Functionele bioassays voor receptoractivatie en potentie

In-vitro-receptorbinding (competitie met ^{125}I-GLP-1 of kinetische SPR) levert GLP-1R-affiniteitswaarden rond 0,38–1,7 nM, afhankelijk van het assayformaat en de albumineconcentratie. cAMP-accumulatieassays in CHO-hGLP-1R-, HEK293-SNAP-GLP-1R- of RIN-m5F-cellen (HTRF, DiscoverX, luciferasereporter) tonen consistent potent agonisme (EC_{50} doorgaans 0,01–0,1 nM in buffer met weinig albumine; naar rechts verschoven in aanwezigheid van HSA door binding).

Studies naar signaleringsbias vergelijken cAMP-productie met β-arrestinerekrutering en receptorinternalisatie; semaglutide gedraagt zich grotendeels als een gebalanceerde agonist, hoewel sommige analogen van de volgende generatie een grotere cAMP-bias vertonen. Downstream functionele uitlezingen omvatten glucose-gestimuleerde insulinesecretie in INS-1- of primaire eilandjesmodellen. Assays worden vaak gekwalificeerd tegen referentiestandaarden (bijv. Ozempic). Preklinische minivarken-PK-gegevens (plasma-t½ ≈ 46h i.v., MRT 63,6 h s.c.) ondersteunden de rationale voor eenmaal-wekelijkse dosering, maar vallen buiten het bestek van zuivere in-vitrokarakterisering.

Bewijscontext, terugkerende beperkingen en catalogusimplicaties

De gepubliceerde literatuur biedt robuuste analytische methoden (RP-HPLC, LC-HRMS, peptide mapping) en functionele assays (binding, cAMP) die identiteit, zuiverheid en GLP-1R-agonisme van semaglutide van onderzoekskwaliteit bevestigen. Primaire referenties zoals het ontdekkingsartikel uit 2015 en latere validaties van analytische methoden leveren transparante,

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.

reproduceerbare protocollen die geschikt zijn voor laboratoriumkwalificatie.

Terugkerende beperkingen zijn een sterke afhankelijkheid van recombinante cellijnen die de natieve receptordichtheid, heterodimerisatie of weefselspecifieke bias mogelijk niet weergeven; variabele matrixeffecten en aspecifieke binding in bioanalytische LC-MS-methoden; en het feit dat de meeste functionele gegevens zijn gegenereerd met materiaal van farmaceutische kwaliteit en niet met onderzoekslotes. Aggregatiegedrag is sterk afhankelijk van de omstandigheden en vereist een zorgvuldige bufferkeuze voor reproduceerbare laboratoriumexperimenten. Nul- of ongunstige resultaten (bijv. verminderde potentie in media met veel albumine, fibrilvorming bij zure pH) worden naast gunstige gegevens gerapporteerd.

Voor catalogusgebruikers ondersteunen deze assays identiteitsbevestiging, zuiverheidsbeoordeling, stabiliteitsmonitoring na reconstitutie en basale farmacologische karakterisering in cellulaire of biochemische modellen. Al het werk moet strikt binnen de grenzen van laboratoriumonderzoek blijven. Toekomstige studies kunnen onzuiverheidsprofilering, langetermijnstabiliteit in oplossing en signaleringsbias in complexere co-cultuur- of organoïdesystemen verder verfijnen.

Bronnen

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.

Aanvullende primaire literatuur omvat methodeartikelen over LC-HRMS-onzuiverheidsprofilering van D-aminozuurisomeren (PMID 36462248), geautomatiseerde LC-MS-plasmabioanalyse, UPLC-methoden voor semaglutide-cagrilintidecombinaties, SAXS/cryo-TEM-aggregatiestudies en meerdere beschrijvingen van cAMP-/bindingsassays in *Mol Metab*, *Diabetes Obes Metab* en analytische tijdschriften (2022–2025). Structuren zijn ontleend aan PDB 4ZGM en cryo-EM-publicaties. Alle citaties zijn afkomstig uit peer-reviewed tijdschriften die zijn geïndexeerd in PubMed/Europe PMC.

Bronnen

• 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/

Alle informatie en producten die worden besproken, zijn uitsluitend bedoeld voor laboratorium- en onderzoeksgebruik. Niet voor menselijk of diergeneeskundig gebruik. Niet bedoeld om een ziekte te diagnosticeren, te behandelen, te genezen of te voorkomen.