

## ВЛИЯНИЕ МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ НА ТОЧНОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА АПРЕПИТАНТА В ВОДНОЙ СРЕДЕ

С. В. Убушаев <sup>✉</sup>, В. В. Сепп, К. С. Бакулин, О. Ю. Сен

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Валидация аналитических методик для малорастворимых веществ (БКС II/IV), таких как апрепитант, в водных средах осложнена нестабильностью проб на этапе подготовки. Цель исследования — выявить механизм потери аналитического сигнала апрепитанта при фильтрации и определить условия для точного анализа. В работе изучено влияние материалов мембран (PES, PVDF, Nylon, PP) на концентрацию вещества методом УФ-спектрофотометрии. Установлено, что фильтрация водных растворов приводит к критическим потерям аналита, варьирующим от 15,1% (PP) до 83,9% (PES) в зависимости от исходной концентрации. Доказано, что основным фактором потерь является не пассивная адсорбция, а механически индуцированная гетерогенная нуклеация на поверхности мембраны, подтвержденная ростом оптического рассеяния в области 300–500 нм. Фракционная фильтрация выявила аномальные эффекты десорбции на фильтрах PES. Показано, что использование кислой среды (0,1 М HCl) предотвращает нуклеацию за счет протонирования молекулы: потери при фильтрации снижаются до статистически незначимых величин (<1,6%). Для обеспечения точности анализа апрепитанта рекомендуется исключить фильтрацию нейтральных водных растворов, заменив ее центрифугированием, либо использовать кислые среды растворения.

**Ключевые слова:** апрепитант, мембранная фильтрация, индуцированная нуклеация, валидация методики, адсорбция, пробоподготовка, спектрофотометрия, тест растворения

**Вклад авторов:** С. В. Убушаев — разработка дизайна исследования, проведение экспериментов по оценке влияния фильтрации и состава среды, сбор и интерпретация спектральных данных, написание основного текста рукописи; В. В. Сепп — научное руководство работой, формулировка рабочей гипотезы, критический анализ полученных закономерностей, редактирование и утверждение окончательной версии статьи; К. С. Бакулин — участие в валидации аналитической методики, обработка полученных результатов, работа с оборудованием и материалами, техническая проверка данных; О. Ю. Сен — разработка концепции, предоставление ресурсов, написание рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Санджи Викторович Убушаев  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия; sandjik.ubushaev@gmail.com

**Статья поступила:** 21.01.2026 **Статья принята к печати:** 11.02.2026 **Опубликована онлайн:** 25.02.2026

**DOI:** 10.24075/dc.2026.002

**Авторские права:** © 2026 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## THE EFFECT OF MEMBRANE FILTRATION ON THE ACCURACY OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF APREPITANT IN AN AQUEOUS MEDIUM

Ubushaev SV <sup>✉</sup>, Sepp VV, Bakulin KS, Sen OYu

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Validation of analytical methods for poorly soluble BCS Class II/IV drugs like Aprepitant in aqueous media is complicated due to instability of samples at the stage of preparation. The goal of the research is to detect the mechanism of loss of Aprepitant analytical signal during filtration and determine the conditions for an exact diagnosis. In this paper, the effect of membrane materials (PES, PVDF, Nylon, PP) on analyte concentration measurements via UV spectrophotometry was examined. Filtration of aqueous solutions is established to cause significant analyte losses ranging from 15.1% (PP) to 83.9% (PES), depending on the initial concentration. It is proved that the main loss factor is not passive adsorption, but mechanically induced heterogeneous nucleation on the membrane surface, which is confirmed by an increase in optical scattering within the 300–500 nm range. Fraction filtration revealed abnormal desorption effects on PES filters. It has been shown that the use of an acidic medium (0.1 M HCl) prevents nucleation due to protonation of the molecule: filtration losses are reduced to statistically insignificant values (<1.6%). To ensure the accuracy of aprepitant analysis, it is recommended to exclude filtration of neutral aqueous solutions, replacing it with centrifugation, or to use acidic dissolution media.

**Keywords:** aprepitant, membrane filtration, induced nucleation, method validation, adsorption, sample preparation, spectrophotometry, dissolution test

**Author contribution:** Ubushaev SV — development of research design, conducting experiments to assess the effects of filtration and composition of the medium, collection and interpretation of spectral data, writing the main text of the manuscript; Sepp VV — scientific guidance of the work, formulation of a working hypothesis, critical analysis of the obtained patterns, editing and approval of the final version of the article; Bakulin KS — participation in the validation of the analytical method, processing of the obtained results, work with equipment and materials, technical verification of data; Sen OYu — concept development, provision of resources, manuscript writing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sandji V Ubushaev  
Ostrovityanova str., 1, Moscow, 117997, Russia; sandjik.ubushaev@gmail.com

**Received:** 21.01.2026 **Accepted:** 11.02.2025 **Published online:** 25.02.2026

**DOI:** 10.24075/dc.2026.002

**Copyright:** © 2026 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

При разработке аналитических методик и тестов растворения для малорастворимых фармацевтических субстанций задача подбора приемлемой среды растворения без добавления ПАВ встречается часто. Для чистых, зарегистрированных субстанций нередко доступны рекомендованные неводные растворители и методики количественного определения; однако в пилотных исследованиях и на этапах разработки требуется работать с водными средами из-за биофармацевтических соображений или технологических ограничений.

Апрепитант выбран в качестве модельного вещества ввиду его низкой растворимости в воде: в литературе отмечается растворимость порядка 3–7 мкг/мл в диапазоне pH 2–10 и резкий рост растворимости при pH 1 (порядка 130 мкг/мл при pH 1,0). В *in vitro*-исследованиях отмечены значения растворимости 15,6 мкг/мл (pH 1,2), 0,79 мкг/мл (pH 4,5) и < 0,3 мкг/мл (pH 6,8–7,4). Даже в присутствии ПАВ (PBS pH 6,6 + 0,1% SDS) растворение остается ограниченным [1–3]. Эти особенности делают апрепитант удобной моделью для изучения эффектов, возникающих при переводе веществ в водные среды и при их последующей подготовке к анализу.

**Цель исследования** — сформулировать практические критерии и рекомендации при выборе водной среды и методов подготовки проб (включая фильтрацию), минимизирующие систематическую потерю аналитического сигнала.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Материалы.** Апрепитант (чистота 99,6%, Fuxin Long Rui Pharmaceutical Co., Ltd., Китай). Вода очищенная, полученная на лабораторном аквадистилляторе. Этанол 95%. Одноразовые шприцы 10 мл. Шприцевые мембранные фильтры различных материалов и пор: PES 13 мм 0,45 мкм, PVDF 25 мм 0,45 мкм, Nylon (NY) 13 мм 0,22 мкм, Polypropylene (PP) 13 мм 0,45 мкм. Все фильтры гидрофильные.

**Приготовление растворов.** Растворы апрепитанта готовили разбавлением аликвот спиртового концентрата (апрепитант в этаноле 95%) очищенной водой до целевых концентраций. Итоговое содержание органической фазы в растворах составляло менее 1%. Анализировались свежеприготовленные растворы без фильтрации, а также после фильтрации через различные шприцевые фильтры. Для контроля стабильности части пробы измеряли спектрофотометром в динамике времени. Первые 2 мл после фильтрации отбрасывались, если это не фракционный сбор.

Таблица 1. Калибровочные растворы апрепитанта (ОП при 210 нм)

C, мкг/мл	OD (среднее)	SD	RSD, %
0,885	0,0387	0,0015	3,95
1,815	0,0660	0,0010	1,52
4,268	0,1437	0,0015	1,06
7,304	0,2383	0,0035	1,47
9,45	0,2795	0,0167	5,96
11,332	0,3587	0,0031	0,85

**Инструментальные методы.** Спектры поглощения регистрировали с помощью двухлучевого УФ-видимого спектрофотометра UV-2600 (Shimadzu Corp., Япония) с кварцевыми кюветами толщиной 1 см. Измерения проводили в диапазоне 185–500 нм с шагом 0,2 нм (в кювете сравнения — соответствующая среда растворения). Сбор и первичную обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения UVProbe (версия 2.42, Shimadzu). Линейность и остальные ключевые параметры проверялись в области, близкой к фактическим рабочим концентрациям.

Звешивание образцов проводилось на аналитических весах Pioneer PA214 (Ohaus Corporation, США) с дискретностью 0,1 мг и среднеквадратическим отклонением (воспроизводимостью) 0,1 мг.

**Калибровка и расчет потерь.** Калибровочная зависимость получена методом прямой линии  $y = a \cdot x + b$ , где  $y$  — оптическая плотность (OD) при 210 нм,  $x$  — концентрация (мкг/мл). Потеря вещества при фильтрации рассчитывалась как:

$$\text{Потеря, \%} = \frac{(C_{\text{до фильтрации}} - C_{\text{после фильтрации}})}{C_{\text{до фильтрации}}} \times 100\%.$$

**Экспериментальные наблюдения.** Проводились серии измерений с различными исходными концентрациями и с последовательной фильтрацией (фракционный отбор через одну и ту же мембрану), а также эксперименты в кислой среде (0,1 М HCl) для сравнения поведения растворимости и устойчивости растворов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Калибровочная кривая

Калибровочная зависимость из данных (табл. 1):  $y = 0,02983 \cdot x + 0,01318$ ,  $R^2 = 0,99541$ . (В отдельной серии измерений получена альтернативная аппроксимация  $y = 0,0273 \cdot x + 0,0097$ ,  $R^2 = 0,9999$  — данные использовались для расчета концентраций некоторых контрольных растворов.)

### Влияние фильтрации и материала мембраны

Исследование показало, что фильтрация водных растворов апрепитанта через мембраны различных материалов (PES, PP, Nylon, PVDF) приводит к значительным и трудно прогнозируемым потерям аналитического сигнала. Величина потерь варьировала в широком диапазоне от 15 до 84% в зависимости от начальной концентрации и типа полимера. Сводные данные экспериментальных серий представлены в (табл. 2).

Таблица 2. Потери апрепитанта при фильтрации разными фильтрами водных растворов различных концентраций

Материал мембраны	Исходная конц., мкг/мл	Потеря вещества, %
PP (Полипропилен)	4,27	15,1
	7,3	26,6
	1,93	51
Nylon (Нейлон)	5,61	23,3
	7,3	59,3
PES (Полиэфирсульфон)	0,89	32,8
	9,45	83,9
PVDF	1,87	34,8

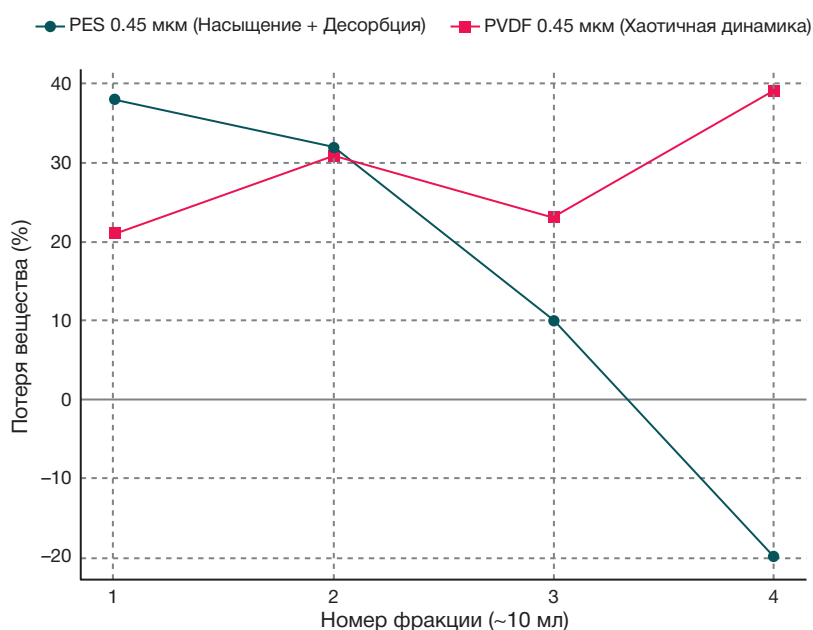


Рис. Динамика потерь при фракционной фильтрации

Ни один из исследованных материалов не обеспечил полной инертности по отношению к апрепитанту в водной среде. Наиболее критичные потери наблюдались на мембранах PES при высоких концентрациях (до 84%) и Nylon (до 59%). Высокая вариабельность результатов (RSD контрольных растворов до 7,5%) указывает на то, что процесс не ограничивается простой адсорбцией.

#### Динамика при последовательной фильтрации (фракционная фильтрация)

При последовательной фильтрации одной пробы (фракциями по 10 мл) были выявлены принципиальные различия в поведении материалов (рисунок).

Для мембран PES характерен классический профиль насыщения адсорбционных центров: потери снижались от 38% в первой фракции до 10% в третьей. Однако в четвертой фракции зафиксирован аномальный рост концентрации (+20% к исходному уровню), что свидетельствует о десорбции накопленного вещества или срыве адсорбционного слоя при изменении гидродинамики потока.

В отличие от этого, фильтрация через PVDF продемонстрировала хаотичную вариабельность потерь (23–39%) без выраженного тренда на насыщение, что сопровождалось общим снижением стабильности раствора во времени.

#### Роль механически индуцированной нуклеации

Ряд экспериментов подтвердил гипотезу о том, что потери обусловлены не только адсорбцией, но и переходом растворенного вещества в твердую фазу под действием механического стресса.

1. Эффект механического воздействия: пропускание раствора через шприц без фильтра приводило к появлению фонового сигнала в области 500 нм. Это доказывает, что само давление и турбулентность провоцируют нуклеацию (образование зародышей кристаллов) из пересыщенного раствора.
2. Сдвиг спектра: в пересыщенных растворах (36,8 мкг/мл) зафиксировано одновременное падение пика поглощения (210 нм) и рост рассеяния света

в длинноволновой области (300–500 нм), что подтверждает образование взвешенных частиц.

3. Фильтр как центр кристаллизации: при попытке фильтрации пересыщенных растворов мембрана выступала инициатором гетерогенной нуклеации, что приводило к полному удалению вещества из фильтрата, в отличие от прозрачных растворов.

Эксперименты в кислой среде (0,1 М HCl) показали, что апрепитант в протонированной форме образовал стабильный истинный раствор, без выраженных эффектов кристаллизации и адсорбции (потери при фильтрации для растворов 17,9 мкг/мл и 91,12 мкг/мл составили 1,6% и 0,7% соответственно).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами данные коррелируют с исследованиями, указывающими на то, что мембранная фильтрация является критическим этапом пробоподготовки, способным существенно искажать результаты количественного анализа. В частности, при исследовании равновесной растворимости фармацевтических субстанций ввели понятие «эффекта искажения фильтром» (distortion effect of filter, DEF), показав, что адсорбция на мембране может приводить к непрогнозируемым ошибкам [4]. Наши результаты подтверждают этот тезис для апрепитанта.

Анализ полученных данных, по-видимому, выявил два процесса, снижающих аналитический сигнал.

1. Адсорбция на полимерной матрице. Как и в похожих работах [5], мы наблюдали зависимость потерь от гидрофобности материала. Высокие потери на PES и Nylon согласуются с данными [6], которые признали эти материалы проблематичными для гидрофобных аналитов, рекомендуя PTFE как более инертную альтернативу. Эффект насыщения мембраны, зафиксированный нами при фракционной фильтрации, также описан в литературе для других классов соединений.
2. Индуцированная гетерогенная нуклеация. Это, по-видимому, является доминирующим фактором для пересыщенных растворов апрепитанта. В отличие от чистой адсорбции, описанной для истинных растворов, мы наблюдали рост оптической

плотности в неаналитической области (300–500 нм) и резкое падение концентрации после механического воздействия. Мы предполагаем, что микропористая структура фильтра и сдвиговое напряжение при прохождении через поры служат триггерами фазового перехода. Это объясняет, почему потери могут превышать 80% — фильтр не просто сорбирует молекулы, а инициирует лавинообразную кристаллизацию всей пробы.

Использование кислой среды (0,1 М HCl) устранило проблему, переводя апрепитант в ионизированную и более растворимую форму. Это согласуется с принципами, описанными в работе [7], где pH среды и ионная сила называются ключевыми факторами управления сорбцией. Можно также отметить, что во многих исследованиях и в нормативной документации на апрепитант используют подкисленную подвижную фазу при использовании ВЭЖХ.

## ВЫВОДЫ

Цель исследования была достигнута: определены критические факторы пробоподготовки, влияющие на валидность анализа апрепитанта.

Основным механизмом потерь апрепитанта в нейтральных водных средах является не только адсорбция, но и механически и поверхностно индуцированная нуклеация на мембране.

Гипотеза для будущих исследований: мы предполагаем, что введение этапа «стресс-тестирования фильтрации» (сравнение центрифугирования и фильтрации при разных условиях) может стать частью валидации методик для препаратов с низкой растворимостью.

Практическое применение: в практике следует отдавать приоритет центрифугированию. Если фильтрация неизбежна, необходимо валидировать не только материал фильтра, но и объем преднасыщения, рассматривая фильтр как расходный материал с определенной «емкостью» искажения (DEF). Наиболее эффективным методом стабилизации пробы является перевод вещества в истинный раствор путем протонирования (использование кислой среды), что нивелирует влияние материала фильтра.

## Литература

1. Liu J, Zou M, Piao H, Liu Y, Tang B, Gao Y, Ma N, Cheng G. Characterization and Pharmacokinetic Study of Aprepitant Solid Dispersions with Soluplus®. *Molecules*. 2015 Jun 19; 20(6): 11345–56. DOI: 10.3390/molecules200611345. PMID: 26102068; PMCID: PMC6272549.
2. Wu Y, Loper A, Landis E, Hettrick L, Novak L, Lynn K, et al. The role of biopharmaceutics in the development of a clinical nanoparticle formulation of MK-0869: a Beagle dog model predicts improved bioavailability and diminished food effect on absorption in human. *Int J Pharm*. 2004 Nov 5; 285(1–2): 135–46. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.08.001. PMID: 15488686.
3. Nazlı H, Mesut B, Özsoy Y. In Vitro Evaluation of a Solid Supersaturated Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Super-SNEDDS) of Aprepitant for Enhanced Solubility. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Oct 27; 14(11): 1089. DOI: 10.3390/ph14111089. PMID: 34832871; PMCID: PMC8621193.
4. Völgyi G, Csicsák D, Takács-Novák K. Right filter-selection for phase separation in equilibrium solubility measurement. *Eur J Pharm Sci*. 2018 Oct 15; 123: 98–105. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.06.031. Epub 2018 Jun 30. PMID: 29969669.
5. Michlig N, Lehotay SJ, Lightfield AR. Comparison of filter membranes in the analysis of 183 veterinary and other drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2024 Feb; 47(3): e2300696. DOI: 10.1002/jssc.202300696. PMID: 38356232.
6. Tomas MK, Mijatović A, Nevistić MB, Šarkanj B, Babić J, Kovač T. How different microfilters affect the recovery of eleven EU-regulated mycotoxins. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2023 Apr 4; 74(1): 8–15. DOI: 10.2478/aiht-2023-74-3693. PMID: 37014685; PMCID: PMC10231880.
7. Zheng YH, Carter E, Zou S, Williams CF, Chow AT, Chen H. Using syringe filtration after lab-scale adsorption processes potentially overestimates PFAS adsorption removal efficiency from non-conventional irrigation water. *J Environ Qual*. 2025 Jan-Feb; 54(1): 20–30. DOI: 10.1002/jeq2.20640. Epub 2024 Oct 16. PMID: 39414564; PMCID: PMC11718135.

## References

1. Liu J, Zou M, Piao H, Liu Y, Tang B, Gao Y, Ma N, Cheng G. Characterization and Pharmacokinetic Study of Aprepitant Solid Dispersions with Soluplus®. *Molecules*. 2015 Jun 19; 20(6): 11345–56. DOI: 10.3390/molecules200611345. PMID: 26102068; PMCID: PMC6272549.
2. Wu Y, Loper A, Landis E, Hettrick L, Novak L, Lynn K, et al. The role of biopharmaceutics in the development of a clinical nanoparticle formulation of MK-0869: a Beagle dog model predicts improved bioavailability and diminished food effect on absorption in human. *Int J Pharm*. 2004 Nov 5; 285(1–2): 135–46. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.08.001. PMID: 15488686.
3. Nazlı H, Mesut B, Özsoy Y. In Vitro Evaluation of a Solid Supersaturated Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Super-SNEDDS) of Aprepitant for Enhanced Solubility. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2021 Oct 27; 14(11): 1089. DOI: 10.3390/ph14111089. PMID: 34832871; PMCID: PMC8621193.
4. Völgyi G, Csicsák D, Takács-Novák K. Right filter-selection for phase separation in equilibrium solubility measurement. *Eur J Pharm Sci*. 2018 Oct 15; 123: 98–105. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.06.031. Epub 2018 Jun 30. PMID: 29969669.
5. Michlig N, Lehotay SJ, Lightfield AR. Comparison of filter membranes in the analysis of 183 veterinary and other drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*. 2024 Feb; 47(3): e2300696. DOI: 10.1002/jssc.202300696. PMID: 38356232.
6. Tomas MK, Mijatović A, Nevistić MB, Šarkanj B, Babić J, Kovač T. How different microfilters affect the recovery of eleven EU-regulated mycotoxins. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2023 Apr 4; 74(1): 8–15. DOI: 10.2478/aiht-2023-74-3693. PMID: 37014685; PMCID: PMC10231880.
7. Zheng YH, Carter E, Zou S, Williams CF, Chow AT, Chen H. Using syringe filtration after lab-scale adsorption processes potentially overestimates PFAS adsorption removal efficiency from non-conventional irrigation water. *J Environ Qual*. 2025 Jan-Feb; 54(1): 20–30. DOI: 10.1002/jeq2.20640. Epub 2024 Oct 16. PMID: 39414564; PMCID: PMC11718135.