



DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2026.3.16491>

УДК 615.065:54.061/062:547.712.22:002.7

## ВИБІР УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ ЗРАЗКІВ КЛОЗАПІНУ З БІОЛІЧНИХ РІДИН МЕТОДОМ РІДИННО-РІДИННОЇ ЕКСТРАКЦІЇ

Н. В. Горлачук

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського  
Міністерства охорони здоров'я України  
[Horlachuk@tdmu.edu.ua](mailto:Horlachuk@tdmu.edu.ua)

### ІНФОРМАЦІЯ

Дата першого надходження рукопису до видання / Received: 04.06.2026

Дата прийняття статті до друку після рецензування / Accepted: 04.09.2026

Дата публікації статті / Published: 16.10.2026



Стаття поширюється на умовах ліцензії відкритого доступу (CC BY 4.0)

### Ключові слова:

клозапін,  
біологічні рідини,  
кров,  
сеча,  
УФ-спектрофотометрія,  
ізолювання.

### АНОТАЦІЯ

**Мета роботи** – розробити методи виділення та визначення клозапіну із сечі та плазми крові за допомогою методу рідинно-рідинної екстракції, зокрема для цілей хіміко-токсикологічного аналізу (ХТА), та порівняти дані.

**Матеріали та методи.** У статті представлено методи екстракції клозапіну з модельних сумішей сечі та плазми крові за допомогою рідинно-рідинної екстракції. У роботі використовували зразки біологічних рідин, до яких вводили клозапін. Виділення препарату з крові та сечі здійснювали шляхом рідинно-рідинної екстракції із застосуванням хлороформу в лужному середовищі (рН 10). Для усунення ендогенних домішок попередньо проводили екстракцію сумішшю гексану та ізопропілового спирту (95:5) у кислому середовищі (рН 1). Під час підготовки зразків крові формені елементи осаджували за допомогою 10% розчину трихлороцтової кислоти. Кількісний аналіз клозапіну здійснювали методом УФ-спектрофотометрії після додаткового очищення методом тонкошарової хроматографії.

**Результати та їх обговорення.** Ідентифікацію клозапіну в отриманих екстрактах проводили за УФ-спектрами, які відповідали спектру стандартного розчину препарату в етилацетаті. Максимум поглинання спостерігався за довжини хвилі  $261 \pm 2$  нм. Для кількісного визначення використовували калібрувальну залежність ( $y = 0,0047x + 0,0348$ ), що демонструвала лінійність у концентраційному діапазоні 50,0–200,0 мкг/мл, а коефіцієнт кореляції ( $R^2 = 0,9985$ ). Ефективність вилучення клозапіну становила у середньому  $33,02\% \pm 0,68$  для крові та  $71,48\% \pm 0,54$  для сечі.

**Висновки.** Запропонований підхід до ізолювання клозапіну з біологічних рідин із використанням рідинно-рідинної екстракції. Показано, що УФ-спектрофотометричний метод може успішно застосовуватися для виявлення та кількісного визначення цієї речовини, що підтверджується отриманими валідаційними характеристиками. Результати дослідження можуть бути використані у судово-токсикологічній практиці, зокрема під час розслідування випадків отруєнь психотропними речовинами.

**Вступ.** Психіатричні розлади, такі як шизофренія, характеризуються глибокими порушеннями мислення, уваги, пам'яті та виконавчих функцій через тяжкі когнітивні порушення або дисфункції. У 2024 році було оцінено, що 24 мільйони людей у світі страждають на шизофренію, або 1 з 300 осіб (0,32%), та 1 з 222 дорослих (0,45%). Цей психічний розлад характеризується позитивними симптомами, такими як галюцинації та марення, та негативними, такими як соціальна ізоляція, стриманість емоційного вираження та когнітивна дисфункція. Значного прогресу в терапії шизофренії було досягнуто після впровадження клозапіну, який був вихідним препаратом для так званих «типових» антипсихотичних дибензодіазепінів [1–2].

Хімічно клозапін належить до похідних дибензодіазепіну й має складну фармакодинаміку, діючи на рецептори декількох нейромедіаторних систем. За АТС-класифікацією він входить до групи N05AH02 [3]. У хімічному відношенні це 8-хлор-11-(4-метил-1-піперазиніл)-5H-дибензо-[b,e] [1,4]-діазепін [4].

Цей препарат відомий під такими торговими назвами, як Клозаріл, Лепонекс, Фазакло, Запонекс, Клозапол, Клозапін, Азапін, Азалептол та інші. Лікарський засіб належить до групи атипичних антипсихотиків, випускається переважно у вигляді таблеток для перорального застосування. На фармацевтичному ринку України Клозапін випускається кількома виробниками, серед яких Азапін – виробник Київський вітамінний завод, Азалептол – виробник ПрАТ «Технолог» [5].

Клозапін після перорального прийому добре всмоктується, хоча його біодоступність є помірною через ефект першого проходження і становить приблизно 50–60%. Максимальна концентрація препарату в плазмі крові досягається орієнтовно через 2–3 години після прийому. Близько 90–95% клозапіну зв'язується з білками плазми. Стабільні концентрації встановлюються протягом кількох днів регулярного застосування (зазвичай 3–5 днів), після чого суттєвого подальшого накопичення не спостерігається. Фармакокінетика клозапіну може бути частково нелінійною, особливо у разі зміни дози або взаємодії з іншими речовинами [6].

Лікування клозапіном починають з низьких доз (зазвичай 12,5–25 мг на добу) з поступовим підвищенням для досягнення клінічного ефекту та мінімізації побічних реакцій. Терапевтичні дози найчастіше передають у межах 200–450 мг на добу, хоча в окремих випадках можуть відрізнятися залежно від індивідуальної відповіді пацієнта.

Порівняно з типовими антипсихотиками клозапін має інший профіль побічних ефектів. До найбільш серйозних належить ризик розвитку агранулоцитозу, що потребує регулярного контролю показників крові. Серед інших небажаних реакцій відзначаються седативний ефект, підвищення маси тіла, гіперсалівація, ортостатична гіпотензія та тахікардія. Також можливі антихолінергічні прояви, такі як сухість у роті або закреп. Часто спостерігаються сонливість, запаморочення та підвищений апетит. У разі передозування

або комбінованого вживання з іншими психоактивними речовинами описані тяжкі інтоксикації, включаючи летальні наслідки [7].

За даними токсикологічних оглядів, клозапін посідає помітне місце серед випадків медикаментозної інтоксикації. У 16-річному австралійському дослідженні проаналізовано 278 летальних випадків, у зразках яких був виявлений клозапін. Навмисні отруєння становили 15,8%, ненавмисні – 57,5%, а 24,5% випадків мали невизначений намір. У 55% летальних епізодів відзначено поліпрагмізм, переважно із залученням антидепресантів, бензодіазепінів або опіоїдів [8].

За даними Європейської системи фармаконагляду (2020–2025), із 11 847 підозрюваних побічних реакцій на клозапін 5,05% стосувалися неналежного застосування або зловживання препаратом. Серед них 40,2% становили повідомлення про зловживання, а 13,3% – про навмисне неправильне застосування. Середній показник летальності у випадках гострої інтоксикації клозапіном оцінюється приблизно у 12%. Середньо смертельна доза препарату становить 3000 мг, у крові становить 1,3 мг, у печінці – 2 мг, у нирках – 2,5 мг, у сечі – 0,43 мг [9].

Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених хіміко-токсикологічному аналізу клозапіну, питання оптимізації пробопідготовки біологічних рідин залишається актуальним. Раніше були запропоновані методики виділення клозапіну із біологічних об'єктів, однак більшість із них орієнтовані на використання високовартісного аналітичного обладнання або багатостадійної пробопідготовки [10–14]. У цій роботі запропоновано удосконалені умови рідинно-рідинної екстракції клозапіну із модельних зразків плазми крові та сечі із використанням доступних органічних розчинників та подальшим визначенням методом УФ-спектрофотометрії після очищення методом тонкошарової хроматографії. Запропонований підхід характеризується простотою виконання та може бути використаний у практиці судово-токсикологічних лабораторій.

**Мета дослідження** – розробити та оптимізувати умови виділення клозапіну із модельних зразків плазми крові та сечі методом рідинно-рідинної екстракції з подальшим ідентифікуванням і кількісним визначенням для використання у хіміко-токсикологічному аналізі.

**Матеріали і методи.** Для проведення дослідження використовували таблетки «Азапін» 100,0 мг, виробник АТ «Київський вітамінний завод», серія № 0040826. Таблетки попередньо подрібнювали у фарфоровій ступці до однорідного порошку, після чого до отриманої маси додавали 20,0 мл хлороформу. Суміш ретельно перемішували та фільтрували через паперовий фільтр у посудину. Осад на фільтрі додатково промивали невеликою кількістю хлороформу, об'єднуючи промивні води з основним фільтратом. Отриманий органічний екстракт піддавали випаровуванню на водяній бані за температури близько 40°C до сухого залишку, який надалі висувували та зважували.

Ідентифікацію та підтвердження чистоти виділеного клозапіну проводили з використанням методів тонкошарової хроматографії та УФ-спектрофотометрії.

Методика ізолювання клозапіну із крові. Для проведення дослідження використовували модельні зразки донорської крові, що попередньо не містили клозапін. До 10,0 мл крові додавали 1 мл водного розчину досліджуваної речовини, який відповідав кількості 1000,0 мкг клозапіну. Після внесення стандартного розчину отриману суміш витримували протягом 24 годин для імітації умов перебування речовини у біологічному середовищі. Одночасно проводили контрольні («холості») експерименти, у яких використовували аналогічні біологічні рідини без додавання клозапіну.

Для виділення досліджуваної сполуки до підготовленого зразка крові додавали 10,0 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти з метою осадження білкових компонентів. Суміш ретельно перемішували та центрифугували протягом 15 хвилин за швидкості 3000 об/хв. Після центрифугування надосадову рідину відокремлювали від осаду. Очищення отриманого розчину від супутніх органічних домішок проводили методом екстракції сумішшю гексану та ізопропілового спирту (95:5). Екстракцію здійснювали двічі, використовуючи по 10,0 мл розчинника. Органічну фазу після кожної екстракції відділяли та видаляли.

Водну фазу далі підлучнювали 20% розчином гідроксиду натрію до значення pH 10. Вибір лужного середовища зумовлений тим, що при цьому значенні pH клозапін переважно перебуває у неіонізованій формі, що забезпечує його ефективний перехід в органічну фазу [15]. Попереднє очищення гексан-ізопропанольною сумішшю використовували для видалення ліпофільних ендогенних домішок біологічних рідин. Після цього до розчину додавали 10 мл 20% розчину сульфату амонію та проводили дворазову екстракцію клозапіну хлороформом, використовуючи по 5,0 мл розчинника. Отримані хлороформні екстракти об'єднували, після чого їх пропускали через паперовий фільтр із додаванням 0,5 г безводного сульфату натрію для видалення залишків вологи.

Методика ізолювання клозапіну із сечі. Дослідження проводили на модельних зразках сечі, що попередньо не містили клозапіну. До 10,0 мл зразка сечі додавали 1,0 мл розчину клозапіну, який відповідав кількості 1000,0 мкг речовини. Після внесення стандартного розчину отриману суміш витримували протягом 24 годин. Паралельно виконували контрольні дослідження з використанням біологічної рідини без додавання досліджуваної сполуки.

Підготовлені модельні зразки підкислювали 0,1 М розчином хлоридної кислоти до значення pH 1-2. Після цього проводили дворазову екстракцію супутніх органічних домішок сумішшю гексану та ізопропілового спирту (95:5), використовуючи по 10,0 мл розчинника. Отриманий органічний шар відокремлювали та видаляли, тоді як водну фазу піддавали подальшому дослідженню.

Наступним етапом водну фазу підлучнювали 20% розчином гідроксиду натрію до pH 10. Після досягнення необхідного значення pH додавали 10 мл 20% розчину сульфату амонію та проводили дворазову екстракцію клозапіну хлороформом (по 10 мл щоразу).

Отримані екстракти використовували для подальшої ідентифікації та кількісного визначення клозапіну, що здійснювали методом УФ-спектрофотометрії.

Метод додаткового очищення екстрактів за допомогою тонкошарової хроматографії проводили таким чином. На лінію старту хроматографічної пластини за допомогою мікрошприца наносили 10 мкл стандартного розчину клозапіну в хлороформі з концентрацією 1,0 мг/мл. Поряд розміщували проби хлороформних екстрактів, отриманих із крові та сечі, які попередньо концентрували випарюванням до приблизно 0,05 мл. Окремо наносили екстракт «холостої» проби, також попередньо упарений до мінімального об'єму.

Решту отриманих біологічних екстрактів, включаючи контрольні («холості») проби, після концентрування наносили на стартову лінію хроматографічної пластини у вигляді смуг довжиною близько 2 см. Після підготовки пластину поміщали у рухомій фазі: етилацетат – етанол – 25% розчин амонію гідроксиду (45:7:3). Для хроматографування використовували скляну камеру об'ємом 2000 см<sup>3</sup>.

Візуалізацію зон проводили із застосуванням реактиву Драгендорфа. При цьому ділянки пластини, на які наносили зразки у вигляді смуг, не обробляли проявником. Після завершення хроматографічного розділення клозапін елюювали з відповідної зони пластини (визначеної за положенням стандартної плями) 4 мл етилацетату. Ефективність елюювання становила близько 98,6%. Отриманий елюат фільтрували через паперовий фільтр. Аналогічні процедури виконували і для контрольних («холостих») проб.

Кількісне визначення клозапіну в екстрактах із крові та сечі проводили методом УФ-спектрофотометрії. Оптичну густину етилацетатних елюатів, отриманих після ТШХ-очищення, вимірювали за довжини хвилі 261 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували елюати, одержані з «холостих» проб.

Для побудови калібрувальної залежності готували стандартний розчин клозапіну. З цієї метою 0,00625 г речовини розчиняли в етилацетаті у мірній колбі місткістю 100,00 мл, отримуючи розчин із концентрацією 100,0 мкг/мл.

Робочі стандартні розчини готували шляхом відбору різних аліквот вихідного стандартного розчину (0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5; 1,75; 2,0 мл) у мірні колби місткістю 10,00 мл із подальшим доведенням об'єму до мітки етилацетатом. Значення оптичної густини для стандартного та робочих розчинів визначали із застосуванням методу лінійної регресії на основі рівняння калібрувальної прямої [16].

**Результати й обговорення.** У біологічних екстрактах клозапін ідентифікували методом тонкошарової хроматографії за значенням коефіцієнта (Rf).

У разі використання рухомої фази етилацетат–етанол–25% розчин амонію гідроксиду (45:7:3) величина  $R_f$  для клозапіну становила близько  $0,62 \pm 0,03$ .

УФ-спектрофотометричне визначення клозапіну проводили після його елювання з хроматографічної пластини етилацетатом. Як розчин порівняння використовували чистий етилацетат, що дозволяло компенсувати власне поглинання розчинника. Попереднє очищення проб методом тонкошарової хроматографії мінімізувало вплив супутніх компонентів біологічних матриць на реєстрацію спектра поглинання. Ідентифікацію клозапіну здійснювали за положенням максимуму поглинання стандартного зразка та досліджуваних екстрактів. Спектри поглинання етилацетатних елюатів відповідали спектру стандартного розчину клозапіну, при цьому максимуми поглинання за довжин хвиль  $261 \pm 2$  нм (рис. 1).

Кількісне визначення клозапіну в елюатах з хроматограм проводили за рівнянням калібрувального графіка  $y = 0,0047x + 0,0348$ , коефіцієнт кореляції ( $R^2$ ) = 0,9985. Калібрувальний графік

був лінійним у діапазоні концентрацій клозапіну 50,0–200,0 мкг/мл. Метрологічні характеристики рівняння регресійної залежності для визначення клозапіну наведено в таблиці 1.

Результати кількісного визначення клозапіну, виділеного з модельних проб сечі та крові, наведено відповідно в табл. 2 та 3.

Отримані результати свідчать про суттєву різницю ефективності екстракції клозапіну із різних біологічних рідин. Із модельних зразків сечі середній ступінь вилучення становив  $71,48 \pm 0,54\%$ , тоді як із плазми крові – лише  $33,02 \pm 0,68\%$ . Нижчий ступінь вилучення із крові пояснюється високим вмістом білків плазми, з якими клозапін характеризується значним зв'язуванням, що ускладнює його перехід в органічну фазу. Водночас сеча містить значно меншу кількість високомолекулярних компонентів, тому процес екстракції відбувається ефективніше.

Отримані результати доцільно розглядати порівняно з дослідженням автора, у яких було проведено комплексне хіміко-токсикологічне дослідження

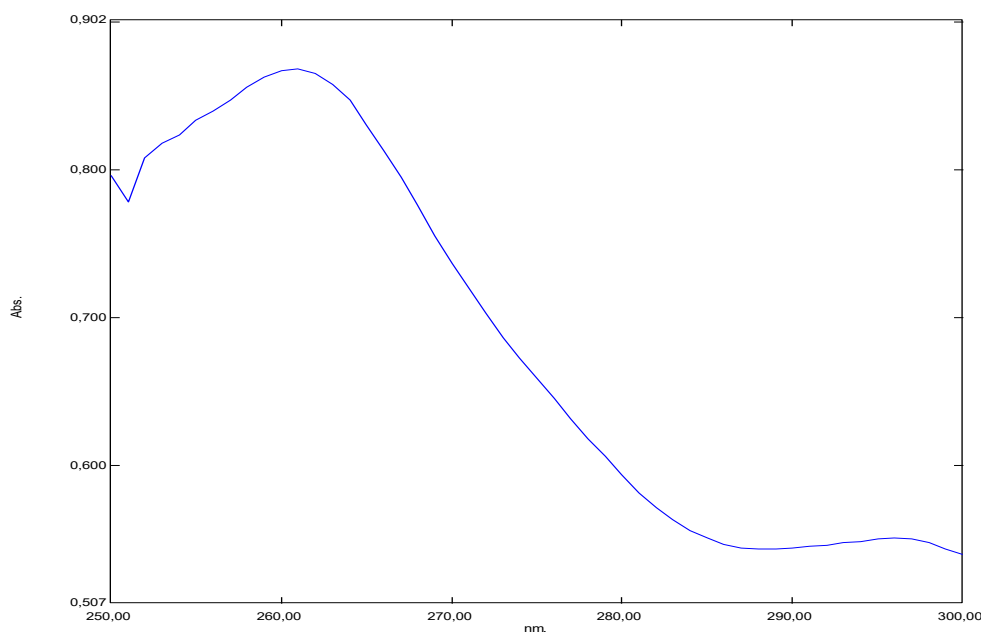


Рис. 1. Спектри поглинання: досліджуваний розчин клозапіну в етилацетаті

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності клозапіну

| Величина                                                      | Значення             | Критерій       | Висновок (відповідає або не відповідає) |
|---------------------------------------------------------------|----------------------|----------------|-----------------------------------------|
| $b \pm (S_b)$                                                 | $0,0047 + (0,00020)$ | –              |                                         |
| $a \pm (S_a)$                                                 | $0,0348 + (0,02704)$ | $ a  \leq 2,6$ | Відповідає                              |
| $R^2$                                                         | 0,9985               | 0,999          | Відповідає                              |
| МВ (мкг/мл)                                                   | 7,79                 | –              |                                         |
| МКВ (мкг/мл)                                                  | 23,62                | –              |                                         |
| Підпорядкування закону Бера в діапазоні концентрацій (мкг/мл) | 50,0-200,00          | –              |                                         |

Таблиця 2

Результати УФ-спектрофотометричного визначення клозапіну, виділеного із сечі

| Додано клозапіну до 10,0 мл сечі, мкг | А     | Виділено клозапіну |      | Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0.95)                                                                     |
|---------------------------------------|-------|--------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       |       | мкг                | %    |                                                                                                                   |
| 1000,0                                | 0,681 | 715,1              | 71,5 | X = 71,48%<br>S = 0,52<br>RSD = 1,09%<br>S <sub>x</sub> = 0,23<br>$\Delta\bar{X}$ = 0,54<br>$\varepsilon$ = 1,7 % |

Таблиця 3

Результати УФ-спектрофотометричного визначення клозапіну, виділеного з плазми крові

| Додано клозапіну до 10,0 мл плазми крові, мкг | А     | Виділено клозапіну |      | Метрологічні характеристики (n = 5; P = 0.95)                                                                      |
|-----------------------------------------------|-------|--------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                               |       | мкг                | %    |                                                                                                                    |
| 1000,0                                        | 0,316 | 321,2              | 32,1 | X = 33,02%<br>S = 0,66<br>RSD = 2,01%<br>S <sub>x</sub> = 0,29<br>$\Delta\bar{X}$ = 0,68<br>$\varepsilon$ = 2,06 % |
|                                               | 0,325 | 337,1              | 33,7 |                                                                                                                    |
|                                               | 0,322 | 332,4              | 33,2 |                                                                                                                    |
|                                               | 0,318 | 326,3              | 32,6 |                                                                                                                    |
|                                               | 0,323 | 334,6              | 33,5 |                                                                                                                    |

лепонексу та запропоновано методику ізолювання препарату з біологічного матеріалу за допомогою хлороформу. За даними автора, розроблена методика забезпечувала виділення 35–40% лепонексу з біологічного матеріалу. У проведеному нами дослідженні після оптимізації умов рідинно-рідинної екстракції середній ступінь вилучення клозапіну із модельних зразків сечі становив  $71,48 \pm 0,54\%$ , що майже вдвічі перевищує показники, наведені у дослідженні автора. Для модельних зразків плазми крові ступінь вилучення становив  $33,02 \pm 0,68\%$ , що є близьким до результатів, отриманих для загального біологічного матеріалу в цій роботі [17]. Нижча ефективність екстракції з плазми крові, ймовірно, пов'язана з високим ступенем зв'язування клозапіну з білками плазми, тоді як у сечі вплив білкових компонентів є значно меншим. Таким чином, запропоновані умови прободіготовки є найбільш ефективними саме для аналізу сечі та можуть бути рекомендовані для використання під час хіміко-токсикологічних досліджень.

**Висновки.** Розроблено умови прободіготовки модельних зразків плазми крові та сечі для визначення клозапіну методом рідинно-рідинної екстракції. Встановлено, що найвищий ступінь вилучення препарату досягається із сечі ( $71,48 \pm 0,54\%$ ), тоді як із плазми крові він становить  $33,02 \pm 0,68\%$ . Запропонований підхід забезпечує достатню ефективність прободіготовки та може бути використаний під час проведення хіміко-токсикологічних досліджень біологічних рідин після відповідної аналітичної валідації.

**Обмеження дослідження.** Дослідження проводили з використанням модельних зразків біологічних рідин, тому отримані результати можуть неповною мірою відображати склад і матричний вплив реальних біологічних зразків. Вибір оптимальних умов рідинно-рідинної екстракції клозапіну здійснювали з урахуванням таких параметрів, як природа

органічного розчинника, рН середовища, співвідношення об'ємів водної та органічної фаз, тривалість екстракції та кратність екстрагування. Можлива аналітична похибка могла бути пов'язана з точністю дозування модельних розчинів, відбором аліквот, перенесенням екстракту та втратами аналіту на окремих етапах прободіготовки.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективою подальших досліджень є поглиблена оптимізація та валідація методики прободіготовки клозапіну методом рідинно-рідинної екстракції з біологічних рідин. Доцільним є визначення таких основних валідаційних характеристик, як селективність, лінійність, правильність, прецизійність, межа виявлення, межа кількісного визначення та ефективність вилучення клозапіну. Перспективним є також дослідження впливу різних типів біологічних матриць, рН та складу екстрагуючої системи на ефективність вилучення аналіту. Отримані оптимальні умови прободіготовки можуть бути використані для подальшої розробки та валідації хроматографічної методики кількісного визначення клозапіну в біологічних рідинах, а також для її застосування у фармацевтичному та токсикологічному аналізі.

**Дотримання етичних норм.** Дотримано етичні норми.

**Інформація про фінансування.** Без фінансування.

**Інформація щодо конфлікту інтересів.** Немає конфлікту інтересів.

**Внесок кожного з авторів згідно з таксономією Credit:** Горлачук Н.В. – огляд літератури і експериментальної роботи, написання і оформлення статті.

**Використання штучного інтелекту.** Штучний інтелект не використовувався.

**Подяка** Збройним силам України за змогу виконувати експеримент і писати статтю.

## SELECTION OF SAMPLE PREPARATION CONDITIONS FOR CLOZAPINE FROM BIOLOGICAL FLUIDS BY LIQUID-LIQUID EXTRACTION

N. V. Horlachuk

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine  
Horlachuk@tdmu.edu.ua

**The aim of the work.** This study aimed to develop methods for isolating and determining clozapine using liquid-liquid extraction, with a particular focus on chemical toxicological analysis (CTA).

**Materials and methods.** This paper presents methods for extracting clozapine from model mixtures of urine and blood plasma using liquid-liquid extraction. The study used biological fluid samples spiked with clozapine. The analyte was isolated from the blood and urine samples using liquid-liquid extraction with chloroform in an alkaline medium (pH 10). To remove endogenous impurities, a preliminary extraction step was performed using a 95:5 mixture of hexane and isopropyl alcohol under acidic conditions (pH 1). During preparation of the blood sample, cellular components were precipitated using a 1% solution of trichloroacetic acid. Clozapine was quantitatively determined by UV spectrophotometry following additional purification by thin-layer chromatography.

**Results and discussion.** Identification of clozapine in the obtained extracts was carried out using UV spectra, which matched those of a standard solution of the drug in ethyl acetate. The absorption maximum was observed at  $261 \pm 2$  nm. Quantitative analysis was based on a linear calibration curve ( $y = 0.0047x + 0.0348$ ) in the concentration range of 50.0–200.0  $\mu\text{g/mL}$ , with a correlation coefficient ( $R^2$ ) of 0.9985. The average recovery of clozapine was found to be 33.02% for blood and 71.48% for urine.

**Conclusions.** The proposed approach for isolating clozapine from biological fluids using liquid-liquid extraction has been developed. UV spectrophotometry has been successfully demonstrated as a method for identifying and quantifying this compound, as confirmed by the obtained validation characteristics. These results can be used in forensic toxicology, particularly when investigating cases of poisoning involving psychotropic substances.

**Keywords:** Clozapine, biological fluids, blood, urine, UV spectrophotometry, isolation.

## References

1. Haddad PM, Sharma SG. Treatment-resistant schizophrenia: What role for clozapine. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 2017;20(433):5–15. DOI: 10.1185/0300799709113338.
2. Sernyak MJ, Rosenheck RA. Management of side effects in patients treated with clozapine. *J Clin Psychiatry.* 2013;64(10):25–30. DOI: 10.1185/0300799709345688.
3. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5486971, Pregabalin. PubChem. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5486971>.
4. Sernyak MJ, Rosenheck RA. Management of side effects in patients treated with clozapine. *J Clin Psychiatry.* 2013;64(10):25–30. DOI: 10.1177/2045125314566808.
5. State Pharmacopoeia of Ukraine. 2nd ed. Supplement 4. Kharkiv: State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products". 2020. 600 p.
6. Hasan A, Falkai P, Wobrock T, Lieberman J, Glenthøj B, Gattaz W. et al. Clozapine: An updated overview of pharmacogenetic biomarkers, risks, and safety. *Brain Sci.* 2020;10(11):840. DOI: 10.1038/s41397-022-00281-9.
7. Myles N, Myles H, Xia S, Large M, Kisely S, Galletly C. et al. Meta-analysis examining the epidemiology of clozapine-associated neutropenia. *Acta Psychiatr Scand* 2018;138.101–9. DOI: 10.1111/acps.12898.
8. Dawson JL, Sluggett JK, Schumann JL, Procter NG, Bell J S. Fatal poisonings involving clozapine: A 16-year review of Australian coronial investigations. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry.* 2022;56(10): 1121–30. DOI: 10.1177/0004867421998788.
9. Chiappini S, Schifano F, Corkery JM, Guirguis A. Focus on clozapine withdrawal- and misuse-related cases as reported to the European Medicines Agency (EMA) Pharmacovigilance Database. *Brain Sciences.* 2020;10(2):105–10. DOI: 10.3390/brainsci10020105.
10. Toshihiro S, Masato S, Yuji S. Development of a method for simultaneous analysis of clozapine and its metabolites in human plasma using tandem mass spectrometry with liquid chromatography/electrospray ionization with a linear range controlled by collision-induced dissociation at the source. 2021;35(7):e5094. DOI: 10.1002/bmc.5094.
11. Hrichi H, Kouki N, Elkanzi N. Chromatographic Methods for the Analysis of the Antipsychotic Drug Clozapine and Its Major Metabolites: A Review. *Journal of Chromatographic Science.* 2025;63(3):132–40. DOI: 10.1093/chromsci/bmae016.
12. Mircea-Alexandru Comanescu, Dalia-Simona Miron, Flavian-Stefan Radulescu. A simple HPLC-DAD method for therapeutic monitoring of clozapine and related metabolites in human plasma and urine samples. *Molecules.* 2024;29(21):5039; <https://doi.org/10.3390/molecules29215039>.
13. Xiong J, Tian L, Shen X, Huang C. Comparison of the applicability of electromembrane extraction and liquid-phase microextraction for extraction of non-polar basic drugs from different biological samples: Using clozapine as the model analyte. *Journal of Separation Science.* 2024;47(3):e2300745. DOI: 10.1002/jssc.202300745.
14. Kabarkos-Fernandez I, Alvarez-Freire M, Tabernero-Duque A. Quantitative determination of clozapine in plasma using an environmentally safe method. *Microchemical Journal.* 2022;180(4):145–53. DOI: 10.1016/j.microc.2022.107612.
15. Xiong J, Tian L, Shen X, Huang C. Comparison of the applicability of electromembrane extraction and liquid-phase microextraction for extraction of non-polar basic drugs from different biological samples: Using clozapine as the model analyte. *Journal of Separation Science.* 2024;47:134–8. DOI: 10.1002/jssc.202300745.

16. Smityukh M. Toxicological characterization and methods for isolating clozapine from biological fluids suitable for chemical-toxicological analysis. Master's thesis. Ternopil: I. Horbachevsky Ternopil National Medical University; 2026. 55 p. [in Ukrainian].
17. Terninko II. Khimiko-toksykologichne doslidzhennia leponeksu [Chemical-toxicological investigation of Leponeksu]. Extended abstract of Candidate of Pharmaceutical Sciences dissertation. Kharkiv; 2003. 20 p. [in Ukrainian].

**Відомості про автора**

**Горlachuk Н. В.** – канд. фармац. наук, доцентка кафедри фармацевтичної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна. E-mail Horlachuk@tdmu.edu.ua, ORCID: 0000-0003-3575-6652

**Information about author**

**Horlachuk N. V.** – PhD in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Chemistry, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine. E-mail Horlachuk@tdmu.edu.ua, ORCID: 0000-0003-3575-6652