

# WŁAŚCIWOŚCI POWIERZCHNIOWE MATRYC OTRZYMANÝCH Z POLI(L-LAKTYDO-KO-GLIKOLIDU) Z RYSPERYDONEM I ICH ZMIANY PO DWÓCH TYGODNIACH DEGRADACJI

ARTUR TUREK<sup>1\*</sup>, KATARZYNA JELONEK<sup>2</sup>, ANNA WÓJCIK<sup>1</sup>, ZOFIA DZIERŻEWICZ<sup>1</sup>, JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, PIOTR DOBRZYŃSKI<sup>2</sup>, ANDRZEJ MARCINKOWSKI<sup>2</sup>, BARBARA TRZEBICKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ŚLĄSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY, KATEDRA BIOFARMACJI, UL. NARCYZÓW 1, 41-200 SOSNOWIEC, POLSKA

<sup>2</sup> POLSKA AKADEMIA NAUK,

CENTRUM MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH I WĘGLOWYCH, UL. M.CURIE-SKŁODOWSKIEJ 34, 41-819 ZABRZE, POLSKA

\* E-MAIL: ATUREK@VIP.INTERIA.PL

## Streszczenie

*W celu optymalizacji leczenia schizofrenii proponowanych jest wiele rozwiązań. Do jednego z nich należy zastosowanie biodegradowalnych, implantowanych systemów uwalniających leki. W niniejszej pracy badano za pomocą mikroskopii sił atomowych zmiany powierzchni matryc otrzymanych z poli(L-laktydo-ko-glikolidu) (PLAGA) i rysperydonu przed i po dwóch tygodniach degradacji. Analizowano także wpływ degradacji na zmiany ubytku masy matryc polimerowych. Wyniki wskazują na duże możliwości matryc PLAGA do inkorporowania i pułapkowania rysperydonu. Po dwóch tygodniach stwierdzono stabilność matryc (nie uległy one gwałtownej i niekontrolowanej degradacji). Matryce otrzymane z PLAGA posiadają właściwości powierzchniowe odpowiednie dla zastosowania jako biodegradowalne systemy o kontrolowanym uwalnianiu rysperydonu.*

**Słowa kluczowe:** rysperydon, nośniki leków, matryce polimerowe, degradacja, poli(L-laktyd-ko-glikolid), mikroskopija sił atomowych

[Inżynieria Biomateriałów, 96-98, (2010), 117-120]

## Wprowadzenie

Obecnie, w celu optymalizacji leczenia schizofrenii proponowanych jest wiele rozwiązań. Do jednego z nich należy zastosowanie implantowanych systemów kontrolowanego uwalniania i innych postaci leku o przedłużonym działaniu [1-3]. W większości przypadków rolę nośników leków pełnią biogodne i biodegradowalne polimery [4,5]. Kopolimery laktydu i glikolidu to jedne z najczęściej proponowanych materiałów do produkcji nowych postaci leków, w systemach uwalniających różnorodne substancje [6-8].

Obecnie dostępna jest tylko jedna komercyjna postać leku zawierająca rysperydon, uzyskana w oparciu o biodegradowalne polimery. Substancja lecznicza enkapsulowana w mikrosferach otrzymanych z poli(L-laktydo-ko-glikolidu) (PLAGA) podawana jest w formie iniekcji. Jednakże, implantowane matryce także mogą stanowić interesujące rozwiązanie ze względu na zapewnienie dłuższego uwalniania leku niż mikrosfery.

W niniejszej pracy podjęto próbę określenia przydatności matryc otrzymanych z PLAGA 85:15 w uwalnianiu rysperydonu poprzez analizę różnic morfologicznych i morfometrycznych ich powierzchni, także ubytku masy podczas

# SURFACE PROPERTIES OF POLY(L-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) MATRICES WITH RISPERIDONE AND THEIR CHANGES AFTER TWO WEEKS OF DEGRADATION

ARTUR TUREK<sup>1\*</sup>, KATARZYNA JELONEK<sup>2</sup>, ANNA WÓJCIK<sup>1</sup>, ZOFIA DZIERŻEWICZ<sup>1</sup>, JANUSZ KASPERCZYK<sup>1,2</sup>, PIOTR DOBRZYŃSKI<sup>2</sup>, ANDRZEJ MARCINKOWSKI<sup>2</sup>, BARBARA TRZEBICKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MEDICAL UNIVERSITY OF SILESIA, DEPARTMENT OF BIOPHARMACY, 1 NARCYZÓW STREET, 41-200 SOSNOWIEC, POLAND

<sup>2</sup> POLISH ACADEMY OF SCIENCES,

CENTRE OF POLYMER AND CARBON MATERIALS, 34 M.CURIE-SKŁODOWSKIEJ STREET, 41-819 ZABRZE, POLAND

\* E-MAIL: ATUREK@VIP.INTERIA.PL

## Abstract

*Various solutions are proposed to optimize the therapy of schizophrenia. One of them is the application of biodegradable implantable drug delivery systems. In this work, surface changes of matrices composed of poly(L-lactide-co-glycolide) (PLAGA) and risperidone before and after two weeks of degradation were determined by atomic force microscopy. The influence of degradation on weight loss of matrices was also observed. The results suggest that PLAGA matrices present great potential for incorporation and trapping of risperidone. After two weeks of the studies, the matrices were stable and were not subjected to rapid and uncontrolled degradation. PLAGA matrices have surface properties useful for designing of biodegradable system of controlled risperidone release.*

**Keywords:** risperidone, drug carries, polymeric matrices, degradation, poly(L-lactide-co-glycolide), atomic force microscopy

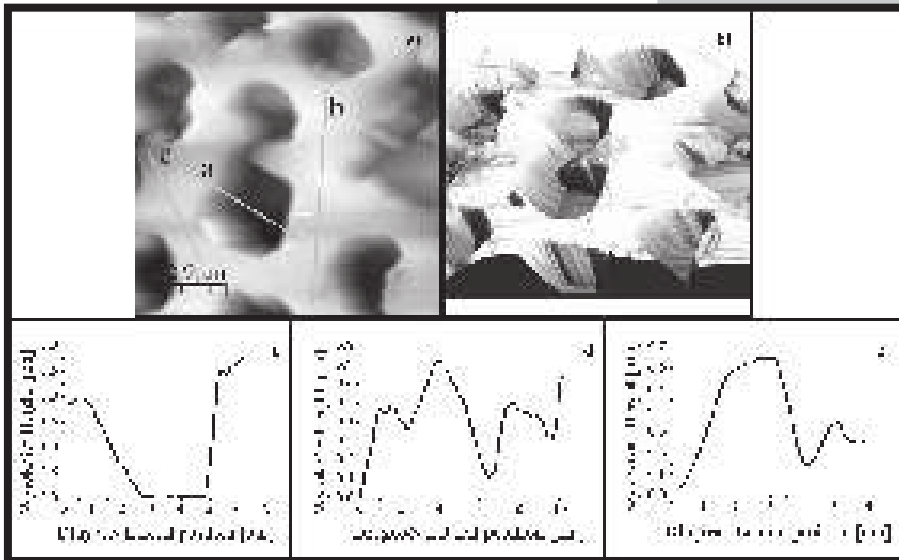
[Engineering of Biomaterials, 96-98, (2010), 117-120]

## Introduction

Nowadays, various solutions are proposed to optimize the therapy of schizophrenia. One of them is the application of the implantable controlled drug delivery systems and other long-term acting formulations [1-3]. In most cases, these drug formulations are based on biocompatible and biodegradable polymeric drug carriers [4,5]. Copolymers of lactide and glycolide are some of the most frequently used materials in drug delivery systems to manufacture the novel drug formulations containing various substances [6-8].

Nowadays, only one commercial drug formulation containing risperidone based on biodegradable polymers is available. The drug is encapsulated in poly(L-lactide-co-glycolide) (PLAGA) microspheres, applied as an injection. However, implantable matrices could also be an interesting solution due to providing longer drug delivery than microspheres.

In this work, morphological and morphometric differences and also weight loss due to degradation of matrices obtained from PLAGA 85:15 in respect to their usefulness for risperidone releasing were determined. Surface analysis of matrices before degradation and after two weeks of degradation process can help to predict the initial stage of drug release and the risk of burst effect. Surface properties of polymeric matrices were determined by atomic force microscopy (AFM).



**RYS. 1.** Obrazy AFM matrycy otrzymanej z PLAGA (14,5 μm x 14,5 μm) przed degradacją: „Height 2D” (a), „Height 3D” (b), wykresy zależności wysokości od długości wykonane wzdłuż profili: a, b, c na obrazie „Height 2D” (c-e).  
**FIG. 1.** AFM image of PLAGA matrix (14.5 μm x 14.5 μm) before degradation: height 2D (a), height 3D (b); the axial profiles taken along the marked lines a, b, c in the height 2D image (c-e).

degradacji. Analiza powierzchni matryc przed degradacją i po dwóch tygodniach degradacji może pomóc przewidzieć przebieg procesu uwalniania leku na początkowym etapie i ryzyko niekontrolowanego wyrzutu. Właściwości powierzchniowe matryc polimerowych określano za pomocą mikroskopii sił atomowych (ang. atomic force microscopy – AFM).

## Materiały i metody

Matryce otrzymano z wysokocząsteczkowego (100000 Da) poli(L-laktydo-ko-glikolidu) 85:15 metodą odlewania z roztworu. Kopolimer został zsyntetyzowany w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk w Zabrze. Polimeryzację prowadzono w masie, z użyciem  $Zr(Acac)_4$ , jako inicjatora o niskiej toksyczności [9;10].

Badano matryce z 10% zawartością risperidonu a także matryce bez leku, przed i po dwóch tygodniach degradacji.

Degradację matryc polimerowych o średnicy 10 mm prowadzono przez dwa tygodnie w zbuforowanej, za pomocą fosforanów, soli fizjologicznej (pH 7,4) o temperaturze 37°C w warunkach ciągłego wytrząsania. Chłonność wody i ubytek masy matryc po dwóch tygodniach degradacji określano za pomocą następujących wzorów: chłonność wody (%) =  $[(M_1 - M_2)/M_2] \cdot 100$ ; ubytek masy (%) =  $[(M_0 - M_2)/M_0] \cdot 100$ , gdzie  $M_1$  oznacza masę matrycy po wyjęciu z medium, w którym prowadzono degradację i osuszeniu bibułą;  $M_2$  – masę matrycy po wysuszeniu w suszarce próżniowej, natomiast  $M_0$  – masę matrycy przed degradacją (masę początkową).

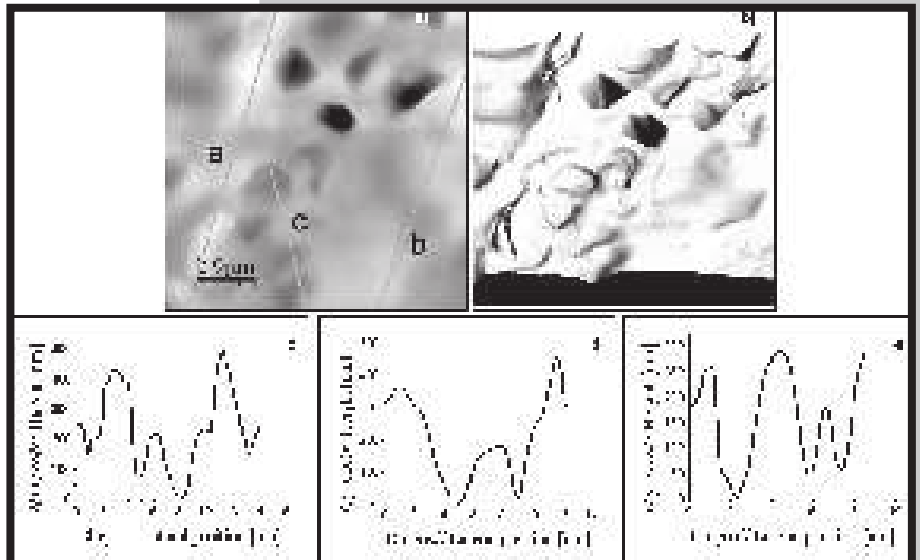
## Materials and methods

The matrices were obtained from high molecular (100000 Da) poly(L-lactide-co-glycolide) 85:15 by solution casting method. The copolymer was synthesized at the Centre of Polymer and Carbon Materials of Polish Academy of Sciences in Zabrze in bulk with the use of  $Zr(Acac)_4$  as low toxic initiator [9;10].

Matrices containing 10 wt% of risperidone and also drug free matrices before and after two weeks of degradation were studied.

Degradation of polymeric matrices with diameter of 10 mm was carried out in phosphate buffered saline (pH 7.4) at the temperature of 37°C under the constant agitation conditions during two weeks. The water uptake and mass loss of matrices were determined from the following equations: water uptake (%) =  $[(W_{wet} - W_{dry})/W_{dry}] \cdot 100$ ; weight loss (%) =  $[(W_0 - W_{dry})/W_0] \cdot 100$ , where  $W_{wet}$  represents the wet weight after wiping,  $W_{dry}$  – the dry weight after vacuum drying and  $W_0$  – the initial weight of the matrices.

The surface properties of polymeric matrices were evaluated by AFM. AFM imaging was performed using MultiMode 3 (di-Veeco, CA) working in the tapping mode under atmospheric conditions. Before measurements, the matrices were dried on air at room temperature and then under reduced pressure. All AFM images were processed using the software package WSxM (Nanotec Electronica, Spain) [11].



**RYS. 2.** Obrazy AFM matrycy otrzymanej z PLAGA z risperidonem przed degradacją (14,5 μm x 14,5 μm): „Height 2D” (a), „Height 3D” (b); wykresy zależności wysokości od długości wykonane wzdłuż profili: a, b, c na obrazie „Height 2D” (c-e).

**FIG. 2.** AFM image of PLAGA matrix with risperidone (14.5 μm x 14.5 μm) before degradation: height 2D (a), height 3D (b); the axial profiles taken along the marked lines a, b, c in the height 2D image (c-e).

Właściwości powierzchniowe matrycy polimerowych badano za pomocą AFM. Obrazowanie AFM prowadzono z zastosowaniem MultiMode 3 (di-Veeco, CA) pracującym w trybie przerywanego kontaktu w powietrzu atmosferycznym. Przed pomiarami, matryce suszono na powietrzu w temperaturze pokojowej a następnie pod zmniejszonym ciśnieniem. Wszystkie obrazy AFM przetwarzano za pomocą pakietu oprogramowania WSxM (Nanotec Electronica, Spain) [11].

## Wyniki i dyskusja

Tempo biodegradacji implantowanych nośników leków jest istotną cechą w aspekcie bezpieczeństwa i efektywności terapii, która może polepszyć komfort życia [12-13]. Jej szybkość powinna być proporcjonalna do procesu uwalniania leku. Z drugiej strony, uniknięcie zbyt szybkiej degradacji i zapewnienie odpowiedniej stabilności polimerowych matryc ma duże znaczenie dla skuteczności i bezpieczeństwa terapii.

Zmiany właściwości morfologicznych powierzchni polimeru obserwowane podczas biodegradacji mogą odzwierciedlać procesy zachodzące w obrębie matrycy i stanowić użyteczne narzędzie pomocne w interpretacji przebiegu degradacji i mechanizmu uwalniania leku.

W niniejszej pracy, badano z zastosowaniem AFM właściwości powierzchniowe matryc otrzymanych z PLAGA zawierających risperidon i matryc bez leku. Proces degradacji monitorowano poprzez zmianę chłonności wody i ubytek masy matrycy.

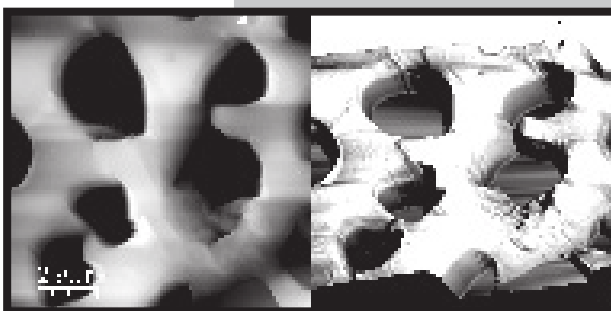
Zaobserwowano zmiany morfologiczne i morfometryczne pomiędzy matrycami przed degradacją i po dwóch tygodniach degradacji, zarówno w przypadku matryc bez leku, jak i zawierających risperidon.

Powierzchnia matrycy bez risperidonu przed degradacją charakteryzowała się porowatością. Poszczególne pory były owalne a kilka z nich łączyło się ze sobą. Struktura 3D ujawniła małe zróżnicowanie topografii matrycy polimerowej. Wyniki analizy morfometrycznej tego materiału wskazują na obecność rozmieszczonych równomiernie porów o średnicy 4,17  $\mu\text{m}$ , 4,11  $\mu\text{m}$  i 4,08  $\mu\text{m}$  (RYS. 1).

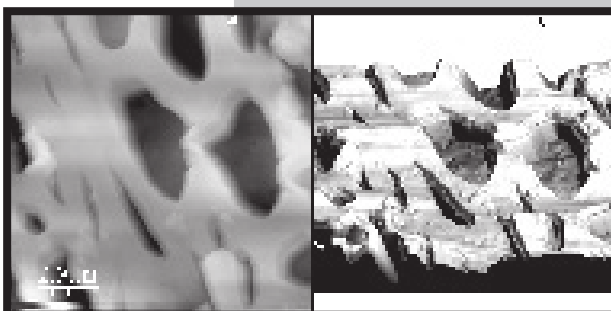
Porowatość matryc stosowanych jako nośniki leków stwarza możliwość pułapkowania substancji. Ponadto, regularne ułożenie porów umożliwia także równomierne rozmieszczenie leku wewnątrz matrycy.

Analiza obrazów uzyskanych dla matrycy zawierającej risperidon wykazała, iż obecność leku wpłynęła na jej cechy morfologiczne i morfometryczne. Matryca charakteryzowała się litą strukturą z pojedynczymi porami. Ponadto, obraz 3D ujawnił obecność licznych wzniesień i zagłębień. Obserwowano pory o średnicy 2,21  $\mu\text{m}$ , 2,57  $\mu\text{m}$ , 2,61  $\mu\text{m}$ , 3,31  $\mu\text{m}$ , widoczne w górnej części obrazu (RYS. 2).

Po dwóch tygodniach degradacji odnotowano zmiany morfologiczne i morfometryczne. Na podstawie obserwacji matryc bez risperidonu, po dwóch tygodniach degradacji również stwierdzono porowatość powierzchni. Jednakże pory posiadały nieregularne krawędzie i kształty o różnych rozmiarach (3,67  $\mu\text{m}$ , 3,97  $\mu\text{m}$ , 4,16  $\mu\text{m}$ , 5,18  $\mu\text{m}$ , 6,27  $\mu\text{m}$ ) (RYS. 3).



**RYS. 3.** Obrazy AFM matrycy otrzymanej z PLAGA (14,5  $\mu\text{m}$  x 14,5  $\mu\text{m}$ ) po dwóch tygodniach degradacji: „Height 2D” (a), „Height 3D” (b).  
**FIG. 3.** AFM images of PLAGA matrix (14.5  $\mu\text{m}$  x 14.5  $\mu\text{m}$ ) after two weeks of degradation: height 2D (a), height 3D (b).



**RYS. 4.** Obrazy AFM matrycy otrzymanej z PLAGA zawierającej risperidon (14,5  $\mu\text{m}$  x 14,5  $\mu\text{m}$ ) po dwóch tygodniach degradacji: „Height 2D” (a), „Height 3D” (b).  
**FIG. 4.** AFM images of risperidone loaded PLAGA matrix (14.5  $\mu\text{m}$  x 14.5  $\mu\text{m}$ ) after two weeks of degradation: height 2D (a), height 3D (b).

## Results and discussion

Biodegradation rate of implantable drug carriers is an important property in terms of safety and effectiveness of the therapy that can improve the life comfort [12-13]. Biodegradation rate should be proportional to drug release process. On the other hand, avoiding of rapid degradation and appropriate stability of polymeric matrices is important for the efficacy and safety of therapy.

The morphological features of the polymer surface observed during degradation may reflect the processes taking place within the matrices and may be a useful tool used in the interpretation of degradation processes and mechanism of drug release.

In this work, surface properties of biodegradable PLAGA matrices containing risperidone and matrices without drug were studied by AFM. Additionally, degradation process was monitored

by weight loss and water uptake of the matrices.

Morphological and morphometric changes were observed between initial matrices and matrices after two weeks of degradation in case of both, the drug free and containing risperidone matrices.

Before degradation the matrix without risperidone showed surface porosity. Individual pores were oval and some of them connected. 3D structure revealed that topography of polymeric matrix was not greatly diverse. Morphometric analyses of this material showed the pores with diameter of 4.17  $\mu\text{m}$ , 4.11  $\mu\text{m}$  and 4.08  $\mu\text{m}$ . They were arranged evenly (FIG. 1).

Thus, the porosity of matrices used as drug carriers creates the possibility of substance trapping. Moreover, the regular pores distribution enables also even drug disposition within the matrix.

Other images were shown for the risperidone loaded matrix. The presence of risperidone influenced the morphological and morphometric features. This matrix showed solid structure with single pores. Moreover, 3D image revealed the presence of numerous hills and hollows. In the upper part of the image some neighbouring pores were observed. Their diameters were 2.21  $\mu\text{m}$ , 2.57  $\mu\text{m}$ , 2.61  $\mu\text{m}$ , 3.31  $\mu\text{m}$  (FIG. 2).

After two weeks of degradation, morphological and morphometric changes were noted. Observation of matrices without risperidone after two weeks of degradation also revealed porosity on the surface. However, these pores had irregular edges and shapes with different sizes (i.e. 3.67  $\mu\text{m}$ , 3.97  $\mu\text{m}$ , 4.16  $\mu\text{m}$ , 5.18  $\mu\text{m}$ , 6.27  $\mu\text{m}$ ) (FIG. 3).

Analiza obrazu AFM matrycy zawierającej rysperydon po dwóch tygodniach degradacji ujawniła pory i szczeliny w strukturze, posiadające różne rozmiary oraz owalny lub wydłużony kształt. Największe posiadają średnicę 6,19  $\mu\text{m}$  i 6,58  $\mu\text{m}$  (RYS. 4).

Nieregularność powierzchni i/lub poszerzenie porów są cechami mogącymi wskazywać na procesy degradacji. W przypadku matryc bez rysperydonu, pojawiła się nieregularność krawędzi i kształtów porów. Jakkolwiek, nie odnotowano istotnych różnic w rozmiarach porów.

Bardziej nasilone zmiany powstałe na skutek degradacji obserwowano w przypadku matryc zawierających rysperydon. Stwierdzono poszerzenie średnicy porów i ich deformację. Warto podkreślić większe zmiany chłonności wody i ubytku masy w przypadku matryc PLAGA z rysperydonem (odpowiednio: 18% i 7,6%), niż w przypadku matryc bez leku (odpowiednio: 11,8% i 4,6%).

Obserwowane zmiany morfologiczne i morfometryczne matryc PLAGA wskazują na możliwość inkorporowania i równomiernego rozmieszczenia rysperydonu. Podczas degradacji obserwowano poszerzenie i deformację porów. Zjawisko to może być interpretowane jako wynik postępu procesu degradacji nośnika leku. Ponadto, badania wykazały, że obecność rysperydonu może wpływać na przyspieszenie procesów degradacji PLAGA.

## Wnioski

Otrzymane wyniki morfologiczne i morfometryczne sugerują, iż matryce otrzymane z PLAGA wykazują duży potencjał inkorporowania i pułapkowania rysperydonu. Stwierdzono stabilność matryc otrzymanych z PLAGA, które nie ulegały gwałtownej degradacji. Przeciwnie, degradacja podczas pierwszych dwóch tygodni zachodziła w sposób stopniowy, co eliminuje ryzyko niekontrolowanego wyrzutu leku z matrycy.

Analiza powierzchni matryc PLAGA wskazuje na ich przydatność, jako biodegradowalnych systemów kontrolowanego uwalniania rysperydonu.

## Podziękowania

Praca była finansowana przez Śląski Uniwersytet Medyczny, grant nr KNW-2-120/10.

## Piśmiennictwo

- [1] Siegel S.J., Winey K.I., Gur R.E., Lenox R.H., Bilker W.B., Ikeda D., Gandhi N., Zhang W.X.: Surgically implantable long-term antipsychotic delivery systems for the treatment of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 26 (2002) 817–823.
- [2] Rabin C., Liang Y., Ehrlichman R.S., Budhian A., Metzger K.L., Majewski-Tiedeken C., Winey K.I., Siegel S.J.: In vitro and in vivo demonstration of risperidone implants in mice. *Schizophrenia Research* 98 (2008) 66–78.
- [3] Kumar M., Misra A., Babbar A.K., Mishra A.K., Mishra P., Pathak K.: Intranasal nanoemulsion based brain targeting drug delivery system of risperidone. *International Journal of Pharmaceutics* 358 (2008) 285–291.
- [4] Shive M.S., Anderson J.M.: Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. *Advanced Drug Delivery Reviews* 28 (1997): 5–24.
- [5] Garric X., Molčs J.P., Garreau H., Braud C., Guilhou J.J., Vert M.: Growth of various cell types in the presence of lactic and glycolic acids: the adverse effect of glycolic acid released from PLAGA copolymer on keratinocyte proliferation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 13 (2002) 1189–201.
- [6] Maciejowska J., Kasperczyk J., Dobrzyński P., Bero M.: The influence of chain microstructure on hydrolytic degradation of glycolide/lactide copolymers used in drug delivery systems. *Journal of Controlled Release* 116 (2006) e6–8.

Analysis of AFM images of matrix containing risperidone after two weeks of degradation revealed pores and slits in the structure. They had various size, oval or elongated shape. The biggest ones had 6.19  $\mu\text{m}$  and 6.58  $\mu\text{m}$  diameter (FIG. 4).

Surface irregularity and/or the wideness of pores are the features that may point to degradation processes. In case of matrices without risperidone, the irregularity of pores' edges and shapes appeared. However, the significant changes in the pores' size were not noted.

More increased degradation changes were observed for matrices containing risperidone. The wideness of pores' diameter and their deformation were revealed. As a matter of fact, the mass loss and water uptake after two weeks of degradation were more significant in case of PLAGA matrices with risperidone (7,6% and 18%, respectively) than in case of drug free matrices (4,6% and 11,8%, respectively).

The observed morphological and morphometric features of PLAGA matrices indicate the possibility of incorporating and even distribution of risperidone. During degradation the wideness and deformation of pores were observed. This phenomenon may be interpreted as a result of progress of drug carrier degradation. Moreover, the studies showed that the presence of risperidone may influence the acceleration of PLAGA degradation processes.

## Conclusions

The obtained morphological and morphometric results suggest that PLAGA matrices show great potential for incorporation and trapping of risperidone. Moreover, PLAGA matrices were stable and were not subjected to rapid degradation. On the contrary, the degradation during first two weeks was proceeding in gradual way, which eliminates the risk of burst effect.

PLAGA matrices have surface properties useful for designing of biodegradable controlled risperidone release systems.

## Acknowledgments

This work was financially supported by Silesian Medical University, grant no KNW-2-120/10.

## References

- [7] Kasperczyk J., Stoklosa K., Dobrzyński P., Stepień K., Kaczmarczyk B., Dzierżega-Lecznar A.: Designing bioresorbable polyester matrices for controlled doxorubicin release in glioma therapy. *International Journal of Pharmaceutics* 382 (2009) 124–9.
- [8] Kasperczyk J., Jelonek K., Dobrzyński P., Jarz B.: The influence of copolymer chain microstructure on cyclosporine a (CyA) and Sirolimus prolonged and sustained release from PLA/TMC and PLA/PCL matrices. *Journal of Controlled Release* 116 (2006) e5–6.
- [9] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Janeczek H., Bero M.: Synthesis of biodegradable copolymers with the use of low toxic zirconium compounds. 1: Copolymerization of glycolide with L-lactide initiated by Zr(Acac)<sub>4</sub>. *Macromolecules* 34 (2001) 5090–5098.
- [10] Dobrzyński P., Bero M., Kasperczyk J.: Sposób wytwarzania biodegradowalnych polimerów. Opis patentowy PL 191846 B1 (2000).
- [11] Horcas I., Fernández R., Gómez-Rodríguez J.M., Colchero J., Gómez-Herrero J., Baro A.M. WSXM: a software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology. *Review of Scientific Instruments* 78 (2007) 013705.
- [12] Eerdeken M., Van Hove I., Remmerie B., Mannaert E.: Pharmacokinetics and tolerability of long-acting risperidone in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 70 (2004) 91–100.
- [13] Chue P.: Long-acting injection: efficacy, safety, and cost-effectiveness of the first long-acting atypical antipsychotic. *Neuropsychiatric Disease and Treatment* 3 (2007) 13–39.