

## 흰쥐를 이용한 Granisetron 함유 경비 투여제제의 평가 및 그 적용

우 종 수<sup>†</sup>

한미약품 제제연구센터

(2006년 9월 18일 접수 · 2006년 10월 13일 승인)

### Nasal Administration of Granisetron to Rats

Jong Soo Woo<sup>†</sup>

Pharm. R&D Institute, Hanmi Pharm. Co., Ltd., Hwasung 445-913, Republic of Korea

(Received September 18, 2006 · Accepted October 13, 2006)

**ABSTRACT** – Granisetron is a selective 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist that is used therapeutically for the prevention of vomiting and nausea associated with emetogenic cancer chemotherapy. Although this drug is commercially available for intravenous and oral dosage, there is a need for intranasal delivery formulations in specific patient populations in which the use of these dosage forms may be unfeasible and/or inconvenient. A rapid and specific high-performance liquid chromatography method with mass spectrometric detection (LC-MS) was developed and validated for the analysis of granisetron in plasma after nasal administration in rats. This method has been validated for concentrations ranging from 5 to 1000 ng/ml with simple treatment. This technique has high level reproducibility, accuracy, and sensitivity. The method described was found to be suitable for the analysis of all samples collected during preclinical pharmacokinetic investigations of granisetron in rats after nasal administration. This study was aimed to investigate the feasibility of nasal delivery of granisetron for the elimination of vomiting. The effects of osmolarity, dosage volume at the same dose and applied dose on the nasal absorption of granisetron in rats were observed. No significant difference in the effect of osmolarity and dosage volume at the same dose was observed. As the applied dose of granisetron in nasal formulation increased, the absorption increased linearly. Based on these results it appears that only the applied dose (drug mass) determines the nasal absorption of granisetron. The bioavailability of granisetron on nasal administration of 4 mg/kg appeared to be comparable to that of intravenous administration of the same dose. These results suggest that granisetron can be efficiently delivered nasally and the development of nasal formulation will be feasible.

**Key words** – Nasal administration, Granisetron, LC-MS, Osmolarity

염산 Granisetron (Figure 1)은 1-Methyl-N-[(3-endo)-9-methyl-9-azabicyclo[3.3.1]non-3-yl]-1H-indazole-3-carboxamide hydrochloride 화합물로서 선택적 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist로 작용하여 반복적인 항암 화학요법제 치료시 유발되는 구토를 억제하는 데 사용되는 유용한 약물이다.<sup>1-4)</sup>

Granisetron은 투여 제형으로 정맥주사와 경구용 제제가 상품화되어 상용되고 있다. 경구 섭취시 생체이용율은 약 60% 정도이며 분포용적은 3.0±1.5 L/kg이다. Granisetron으로서 1 mg 경구 투여시 혈장중 최고 혈중농도는 6.0(0.6~31) ng/ml, 반감기는 약 5.3±3.5시간으로 보고되어 있다.<sup>5)</sup> Granisetron은 1일 보통 1~2 mg 복용하는 것이 최적용량으로 알려져 있으나 최대 1일 9 mg까지는 복용 가능하다. 그러나, 이 제제들은 경구 투여시 충분한 흡수율을 나타내지 못할 뿐

아니라 구토 환자들에게 복약순응도가 좋지 못하므로 새로운 투여경로의 개발이 절실하다. 염산 Granisetron은 수용성 약물이므로 비강흡수에 적합하지 않을 것으로 생각되나, 비강흡수에 있어서 수용성 약물도 어느 정도 투과시킨다는 보고들이 많으며 실제 4급 암모늄 화합물도 경구 투여하면 거의 흡수되지 않으나 비강으로 투여하면 정맥주사에 필적할

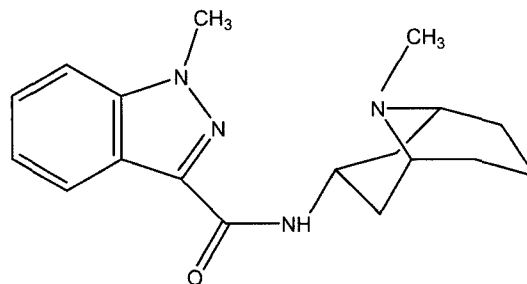


Figure 1–Structure of granisetron.

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
Tel : 031)356-3311, E-mail : jswoo@hanmi.co.kr

만한 혈중농도를 얻어 비강점막이 다른 투여 부위에 비해 이온형 약물도 현저히 투과시킬 수 있는 장점이 있어<sup>6,7)</sup> 이에 비강 적용 가능성을 평가하였다. 더욱이 비강 경로는 약물이 olfactory bulb를 통하여 직접 뇌척수액과 뇌로 송달된다는 특징도 있으며,<sup>8,9)</sup> 비강 투여시 펩타이드류, 알츠하이머 질환 치료제 등의 약물에 있어서 중추작용을 발휘하는데 충분한 농도에 도달하며 비교적 빠른 흡수속도를 보이고 또한 무엇보다도 환자들이 주사제와 달리 간편하고 통증없이 약물을 투여할 수 있다는 점에서 약제학적으로 효율성이 높다 할 수 있다.<sup>10,11)</sup> Hussain 등<sup>12)</sup>은 같은 계열 약물인 ondansetron을 흰 쥐에 비강 또는 정맥투여시 비강 점막을 통해 빠르게 흡수되며 경구투여보다 우월하며 정맥투여와 필적한다고 보고하였다. 이에 본 연구에서는 granisetron을 비강투여 제제로 개발하기 위해 검토한 결과 주성분이 물에 대한 적절한 용해성이 확보되어 50~150  $\mu$ l의 용량에서 투여량이 충분히 녹아 제제화가 용이하며 적절한 안정성을 지니고 있음을 확인하고 비강 투여시스템을 개발하는데 필요한 제제 삼투압의 영향, 투여용량 의존성, 투여농도의 영향 등을 비교 검토하였다.

## 실험 방법

### 시액 및 기기

재료로 사용한 염산 granisetron, 염산 ondansetron 등은 한미약품(주)(경기도 화성)에서 구입한 것을 사용하였다. HPLC 용 메탄올, 물 및 아세트니트릴 등은 Merck(Damstadt, Germany)에서 구입한 후 0.22  $\mu$ m membrane으로 여과하고 sonication하여 기포를 충분히 제거한 후 사용하였다. 그외 다른 시약들은 특급 이상을 구입하여 더 이상 정제하지 않고 사용하였다.

### 실험동물

수컷의 Sprague-Dawley rat(무게 230~270 g)을 Samtako(경기도 오산)로부터 구입하여 사용하였으며 시험전 1주 이상의 순응기간을 가지며 23 $\pm$ 2°C의 청결한 cage에서 매일 12시간의 조명을 주는 조건에서 사육하였다. 사육기간 동안 물과 사료는 자유롭게 먹게 하였다.

### 동물실험

비강 투여 실험을 위한 수술방법<sup>12)</sup>은 Figure 2에 나타내었다. 약물의 투여는 수술 30분후 투여하였으며 microsyringe를 사용하여 투여하였다. 정맥투여의 경우는 삼관된 경정맥을 통해 투여하였으며 혈액 500  $\mu$ l를 대퇴동맥을 통해 투여후 0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 및 300분에 채혈하였

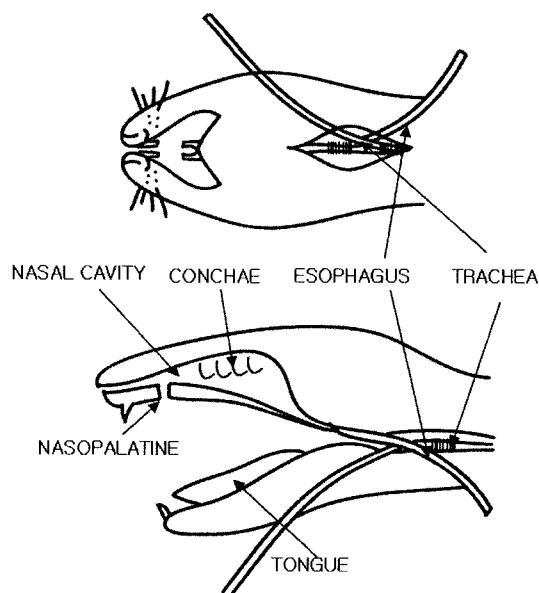


Figure 2—Diagram of the surgical procedure used for intranasal administration of drugs to rats.

으며, 채혈후 생리식염수로 보충하였다. 원심분리후 혈장은 분석전까지 -70°C에 보관하였다. 각 시험에는 군당 5마리를 사용하였다.

### 검체 제조

등장 검체의 경우는 생리식염수에 염산 granisetron을 녹여 제조하였으며 기타 고장액과 저장액은 염화나트륨의 농도를 조절하여 삼투압을 측정(Osmomat 030-D, Gonotec, Germany)한 후 시험에 사용하였다. 투여시 PE tube내에 남은 부피는 무시할 수 있는 양으로 간주하였다.

### HPLC 분석조건

Waters Alliance HT 2795 Chromatography System (Waters Corp., Milford, MA, USA)을 사용하였으며 데이터 처리장치는 MassLynx 3.5를 사용하고, 칼럼으로는 Waters XTerra MS column (150 $\times$ 2.1 mm, 3  $\mu$ m, Waters, USA)을, 이동상으로는 물:아세트니트릴:10 mM 초산암모늄(pH 3.5)=27:23:50(V/V %)를 혼합하여 유속 0.2 ml/min로 칼럼온도 40°C에서 분석하였다. 주입량은 10  $\mu$ l이었다. MS parameter는 다음과 같다. Waters ZQ 4000 mass spectrometer를 검출기로 사용하였으며 electrospray ionization(ESI) mode에서 데이터를 얻었으며, cone voltage 36 V, capillary voltage 3.00 kV를 사용하고 desolvation 온도 150°C를 유지하였다. Granisetron과 내부표준물질인 ondansetron은 m/z값 313.2 [M+H]<sup>+</sup>, 294.2[M+H]<sup>+</sup>에서 각각 검출하였다.

**혈장중의 Granisetron 분석**

취 혈장 0.2 ml에 60% acetonitrile(내부표준물질인 ondansetron 500 ng/ml 함유) 0.1 ml를 가하고 추가로 0.2 ml 아세토니트릴을 가하여 단백질을 제거하고 2분 동안 vortexing 후 원심분리(2000 g, 5 min)하고 상등액 0.2 ml를 취한 후 10 mM 초산암모늄(pH 3.5) 0.2 ml를 가하고 vortexing 후 원심분리(2000 g, 5 min)한 후 상등액을 10 µl 용량으로 LC-MS에 주입한다.

**검량선 작성 및 QC 검체**

표준용액(Granisetron 0.1 mg/ml, Ondansetron 0.1 mg/ml)을 메탄올에 녹여 제조하여 냉장보관 하였다. 이 표준액을 냉동보관 하였던 공혈장에 넣어 최종농도가 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 및 1000 ng/ml 농도가 되도록 표준혈장 시료를 만들었다.

정확성과 정밀성을 평가하기 위한 QC 검체로는 5, 10, 250 및 1000 ng/ml 농도로 제조하여 분석시까지 냉장보관 하였다. 여기에서 얻은 내부표준 물질의 피크면적에 대한 granisetron의 피크면적을 가지고 검량선을 작성하였으며 검량선은 unweighted least-square linear regression analysis 방법으로 구하였다. 하루에 시험을 6회 시행하여 일내 재현성을 구하였고 연속하여 6일간 실험을 행하여 일간 재현성을 구하였다. 그리고 ICH guideline<sup>13)</sup>에 따라 검량선에서 검출한계(LOD)는  $3.3 \times \sigma/S$ , 정량한계(LOQ)는  $10 \times \sigma/S$ 식에 의해 구하였다( $\sigma$  : regression line에서 y절편의 표준편차, S : 검량선의 기울기).

**결과 및 고찰**

**혈장중 Granisetron의 정량**

전처리된 혈장시료는 실험방법에서 언급한 LC-MS 조건에서 분석한 결과 각각의 수소화된 분자이온은 m/z 313.2 (ondansetron)와 294.2 (granisetron)로 모니터링 하였으며 (Figure 3), granisetron의 유지시간은 약 4.6분, 내부표준물질 ondansetron의 유지시간은 약 5.5분 이었으며 분석조건에서 두 성분은 기타 혈장성분들과 잘 분리되었다. 공혈장시료 및 5~1000 ng/ml 범위의 농도에서 직선성을 구하였을 때, granisetron의 검량선식은  $y=0.00251x+0.00041$ ( $r^2=0.9996$ )로 양호한 직선성을 나타내었다. 또한 검출한계는 약 1.57 ng/ml이고 정량한계는 4.77 ng/ml이었다(Table I). 그리고 Table II에 나타낸 바와 같이 직선성 농도 범위에서 granisetron의 정밀성을 C.V.(%)로 나타내었을 때 일내 정밀성이 12% 이하이었고, 일간 정밀성은 15% 이하를 나타내었다. 또

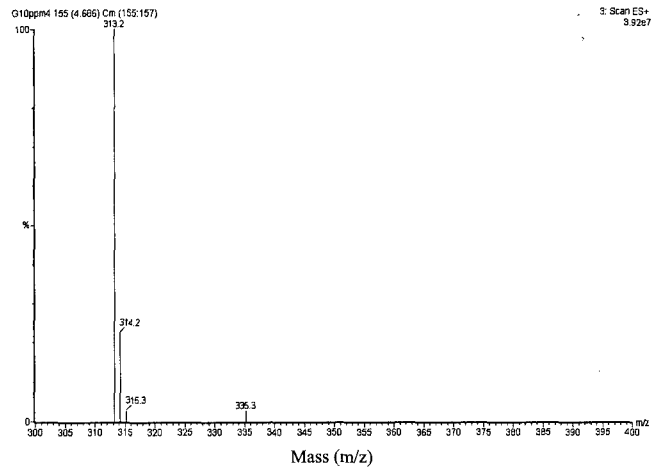


Figure 3—Mass spectrum of granisetron.

Table I—Regression Data for the Calibration Curves

LC-MS	
Range (ng/ml)	5-1000
Line	$y=0.00251x+0.00041$
Coefficient of determination	0.9996
LOD (ng/ml)	1.57
LOQ (ng/ml)	4.77

Table II—Assessment of Accuracy and Precision

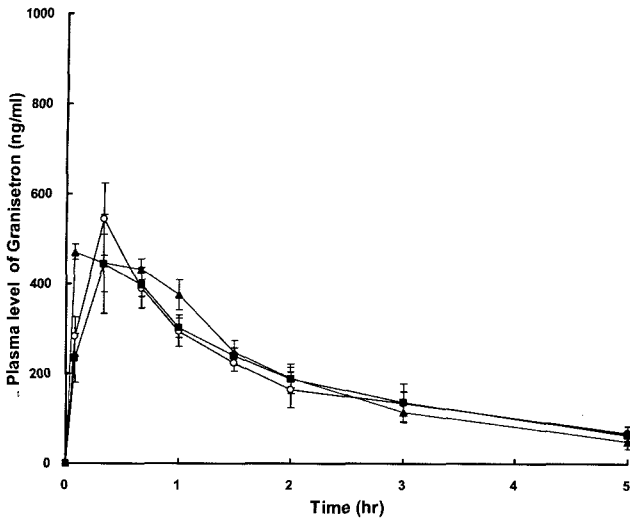
Nominal concentration (ng/ml)	Concentration found (ng/ml)	Precision (%)	Accuracy (%)
<i>Intra-day (n=6)</i>			
5	5.11	11.5	102.2
10	10.75	5.5	107.5
250	243.7	2.4	97.5
1000	1004.5	0.9	100.5
<i>Inter-day (n=6)</i>			
5	5.38	14.1	107.6
10	11.42	9.3	114.2
250	248.3	4.1	99.3
1000	1009.5	1.2	101.0

n=number of replicates.

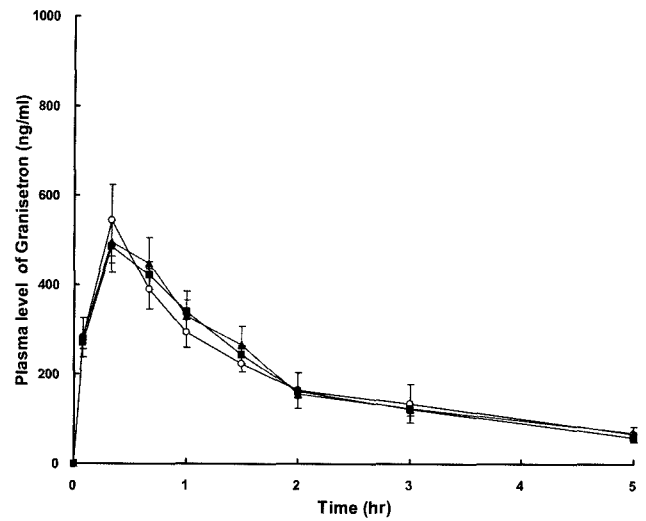
한 정확성은 97.5~114.2%를 나타내었다. 이로부터 혈장중 granisetron에 대한 본 LC-MS 분석법은 동물실험시 비강투여 제제의 생체이용율시험에 이용될 수 있는 충분한 감도, 직선성, 특이성, 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

**제제 삼투압의 영향**

비강투여 제제에 대한 삼투압의 영향은 고장액이나 저장액으로 제제화시 일반적으로 등장액제제보다 비강점막 세포



**Figure 4**—Mean plasma concentration of granisetron after nasal administration (6 mg/kg) in rats with isotonic formulation (■), hypertonic formulation (○) and hypotonic formulation (▲). The points represent mean±S.D. (n=5).



**Figure 5**—Mean plasma concentration of granisetron after nasal administration (6 mg/kg) in rats with control formulation (48 mg/ml concentration, ○), low concentration formulation (24 mg/ml, ▲) and high concentration formulation (96 mg/ml, ■). The points represent mean±S.D. (n=5).

에 변형을 유발하여 흡수가 증가된다고 보고되고 있다.<sup>14)</sup> 고장액이나 저장액중에서는 투여되는 약물의 종류에 따라 흡수가 높고 낮음이 다르게 나타나는 경우도 있다. 따라서 granisetron에 있어서 제제의 삼투압이 비강 흡수에 미치는 영향을 평가하기 위해 granisetron 48 mg/ml 수용액에 염화나트륨으로 등장액(0.4% NaCl, 283 mOsm/kg), 고장액(1.8% NaCl, 721 mOsm/kg) 및 저장액(0% NaCl, 159 mOsm/kg)을 담체로 각각 제조한 후 흰쥐의 비강에 granisetron으로서 6 mg/kg의 용량으로 투여한 후 일정시간마다 채혈하여 얻은 각 제제의 흰쥐 혈장중 평균농도를 Figure 4에 나타내었고 약물 속도론적 파라미터를 Table III에 나타내었다. 혈장중 약물농도-시간 곡선으로부터 산출한 약물 속도론적 파라미터인 AUC(ng·hr/ml)는 고장액 제제 996.9±61.4, 등장액 제제 964.4±40.8, 저장액 제제 954.3±25.7로 그 평균치의 차가 5% 미만이었고, C<sub>max</sub>(ng/ml)는 각각 481.8±27.8, 544.2±79.6, 499.8±63.9로 12% 이내의 차이를 나타내어 granisetron의 비강흡수에 미치는 제제의 삼투압은 큰 차이를 나타내지 않았다.

**Granisetron 투여농도에 따른 비강흡수의 영향**

비강투여 제제에서 투여농도를 달리하여 비강에 투여할 때 투여량(applied amount, drug mass)과 투여 표면적에만 영향을 받는 것으로 알려져 있다.<sup>14)</sup> 이에 제제중 granisetron의 농도가 비강흡수에 미치는 영향을 평가하기 위해 염산 granisetron 48 mg/ml의 기준농도의 등장액, 24 mg/ml의 저농도의 등장액 및 96 mg/ml의 고농도의 등장액을 각각 제조한 후 흰쥐의 비강에 granisetron으로서 6 mg/kg의 동일 용량으로 투여한 후 혈장중 평균농도를 Figure 5에 나타내었고 약물 속도론적 파라미터를 Table IV에 나타내었다. 약물 속도론적 파라미터인 AUC(ng·hr/ml)는 기준농도 제제 964.4±40.8, 저농도 제제 985.6±20.8, 고농도 제제 956.1±10.8로 그 평균치의 차가 5% 미만이었고, C<sub>max</sub>(ng/ml)는 각각 544.2±79.6, 525.4±18.8, 497.7±46.5로 10% 이내의 차이를 나타내어 granisetron의 비강흡수시 투여용액의 부피 보다는 투여된 약물의 절대량에 영향을 받아 약물농도의 영향이 적음을 알 수 있었다.

**Table III**—Osmolarity, Dose, Maximum Plasma Concentration (C<sub>max</sub>), Time to C<sub>max</sub> (t<sub>max</sub>) and Area Under the Concentration-time Curve (AUC<sub>last</sub>) after Intranasal Administration of Granisetron

Osmolarity (mOsm/kg)	Dose (mg/kg)	C <sub>max</sub> (ng/ml)	t <sub>max</sub> (hr)	AUC <sub>last</sub> (ng·hr/ml)
721	6	481.8±27.8	0.21±0.13	996.9±61.4
283	6	544.2±79.6	0.33±0.00	964.4±40.8
159	6	499.8±63.9	0.44±0.11	954.3±25.7

Data are expressed as mean±S.D. (n=5).

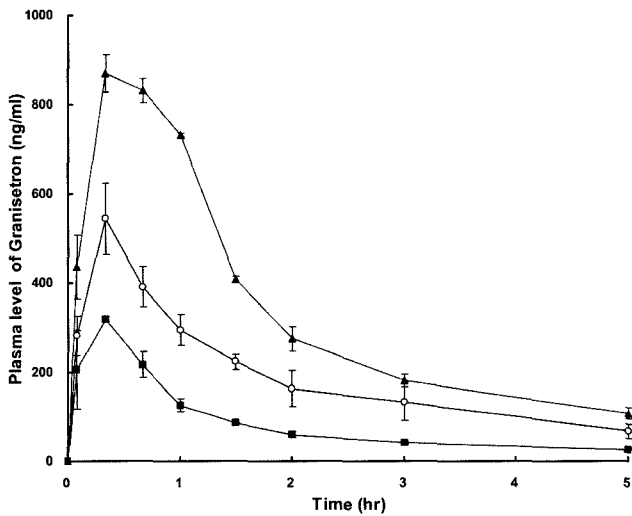
**Table IV**—Concentration of Granisetron, Dose, Maximum Plasma Concentration ( $C_{max}$ ), Time to  $C_{max}$  ( $t_{max}$ ), and Area Under the Concentration-time Curve ( $AUC_{last}$ ) after Intranasal Administration of Granisetron

Concentration of granisetron (mg/ml)	Dose (mg/kg)	$C_{max}$ (ng/ml)	$t_{max}$ (hr)	$AUC_{last}$ (ng·hr/ml)
48	6	544.2±79.6	0.33±0.00	964.4±40.8
24	6	525.4±18.8	0.50±0.17	985.6±20.8
96	6	497.7±46.5	0.50±0.17	956.1±10.8

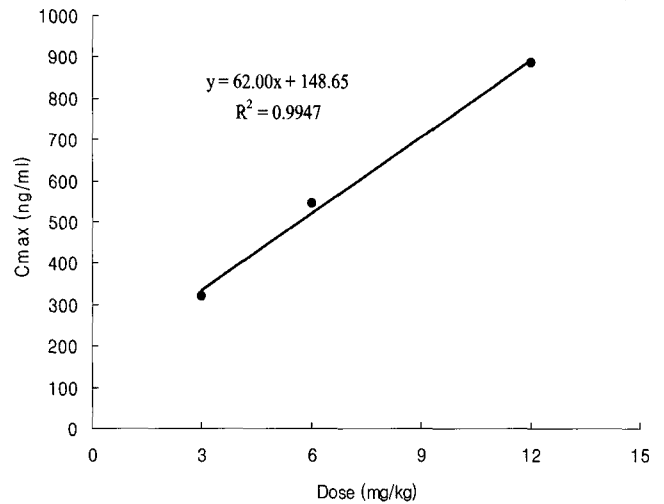
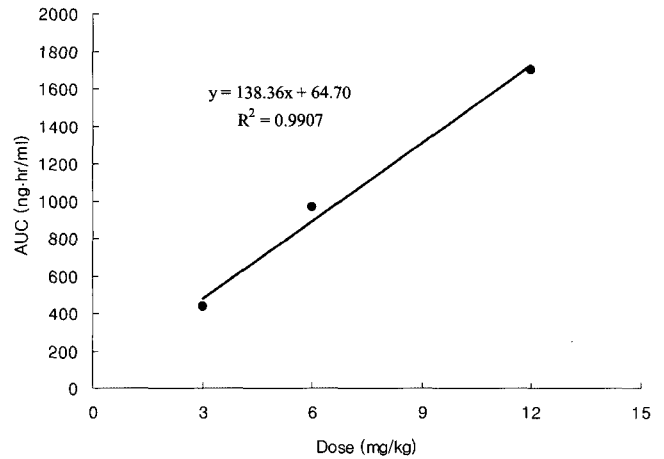
Data are expressed as mean±S.D. (n=5).

**Granisetron의 투여량에 따른 비강흡수의 영향**

Smith<sup>15)</sup> 등은 loperamide를 흰쥐 비강에 투여시 투여제제의 적용부피에 관계없이 투여된 절대 약물양에 직선적으로 비례해서 흡수된다고 보고하였다. 이에 제제중 granisetron의 투여양의 의존성을 평가하기 위해서 염산 granisetron 48 mg/ml 기준농도의 등장액을 동일하게 제조한 후 흰쥐의 비강에 각각 granisetron으로서 3 mg/kg, 6 mg/kg 및 12 mg/kg의 용량으로 투여한 후 혈장중 평균농도를 Figure 6에 나타내었고 약물 속도론적 파라미터를 Table V에 나타내었다. 그리고 AUC와  $C_{max}$ 의 용량과의 상관성을 Figure 7



**Figure 6**—Mean plasma concentration of granisetron after nasal administration in rats with different dose of 3 mg/kg (■), 6 mg/kg (○) and 12 mg/kg (▲). The points represent mean±S.D. (n=5).



**Figure 7**—Correlations between granisetron dose and pharmacokinetic parameters ( $AUC$  and  $C_{max}$ ).

**Table V**—Osmolarity, Dose, Maximum Plasma Concentration ( $C_{max}$ ), Time to  $C_{max}$  ( $t_{max}$ ) and Area Under the Concentration-time Curve ( $AUC_{last}$ ) after Intranasal Administration of Granisetron

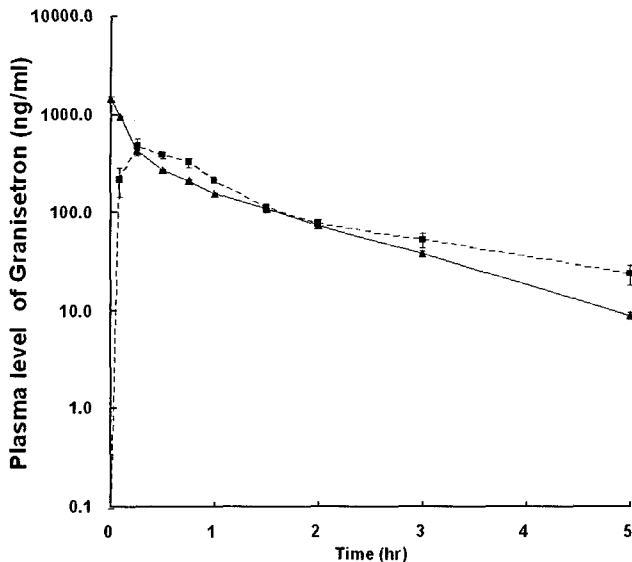
Concentration of granisetron (mg/ml)	Dose (mg/kg)	$C_{max}$ (ng/ml)	$t_{max}$ (hr)	$AUC_{last}$ (ng·hr/ml)
48	3	319.0±5.6	0.33±0.00	433.4±2.6
48	6	544.2±79.6	0.33±0.00	964.4±40.8
48	12	884.9±26.5	0.50±0.17	1701.8±40.0

Data are expressed as mean±S.D. (n=5).

**Table VI**—Route of Administration, Dose, Maximum Plasma Concentration ( $C_{max}$ ), Time to  $C_{max}$  ( $t_{max}$ ), Area Under the Concentration-time Curve ( $AUC_{last}$ ), and Absolute Bioavailability ( $F_{abs}$ ) after Intranasal (i.n.) Administration of Granisetron using Intravenous (i.v.) Administration as a Reference

Adm. Route	Dose (mg/kg)	$C_{max}$ (ng/ml)	$t_{max}$ (hr)	$AUC_{last}$ (ng·hr/ml)	$F_{abs}$ (%)
i.n.	4	467.5±91.3	0.25±0.00	599.5±22.2	95.1±3.7
i.v.	4	1434.6±80.6	-	622.1±15.3	100

Data are expressed as mean±S.D. (n=5).



**Figure 8**—Mean Plasma concentration of granisetron after nasal (■) and intravenous (▲) administration of 4 mg/kg to rats (n=5). The points represent mean±S.D..

에 나타내었다. 그림에서 보듯이 granisetron은 투여부피보다 투여양의 절대량에 따라 용량 의존성을 직선적으로 나타내어 투여된 약물량에 크게 영향을 받음을 알 수 있었다.

#### 정맥투여후 농도 추이

Granisetron의 비강 투여시 생체이용율을 비교측정하기 위해 염산 granisetron 48 mg/ml 기준농도의 등장액을 동일하게 제조한 후 0.22  $\mu$ m membrane filter를 여과한 후 흰쥐의 삽관된 경정맥을 통해 4 mg/kg의 용량으로 투여한 후 대퇴정맥을 통해 0, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 300분에 채혈하여 얻은 혈장중 평균농도를 Figure 8에 나타내었고 약물 속도론적 파라미터를 Table VI에 나타내었다. 그 결과에서 보듯이 granisetron의 비강투여시 생체이용율은 정맥투여와 비교시 거의 95% 이상으로 대부분 흡수되어 정맥주사에 비금가는 생체이용율을 나타내는 효과적인 투여경로임을 알 수 있었다.<sup>11)</sup>

## 결론

염산 granisetron의 비강투여 제제 개발에 필요한 제제의 삼투압 영향, 투여용량 의존성, 투여 농도의 영향 등을 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흰쥐에서 비강투여 제제 개발에 필요한 생체이용율 시험에 이용될 수 있는 본 분석법은 충분한 감도를 가지며 분석범위에서 양호한 직선성을 나타내었고, 혈장성분 등 내인성 물질의 방해없이 granisetron 및 내부표준물질이 양호하게 분리되어 재현성 있는 평가를 위해 충분한 정확성 및 정밀성을 갖고 있음을 확인하고 실험에 임하였다.

2. Granisetron 비강투여 제제의 흰쥐에 있어서의 제제 삼투압의 영향( $AUC$  측면)은 그 차이가 5% 이내로 크게 영향을 받지 않았다. 또한 투여량은 동일하게 하면서 투여농도를 달리하여 비강흡수를 본 경우도 그 차이가 5% 이내로 큰 영향이 없었다. 이는 granisetron이 흰쥐의 비강에서 매우 투과도가 높아서 생긴 결과로 투여부피보다 절대투여량에 더 큰 영향을 받음을 알 수 있었다.

3. Granisetron의 투여량에 따른 비강 흡수의 영향을 평가하기 위해 3~12 mg/kg의 용량으로 흰쥐의 비강에 투여한 후 흡수를 본 결과 투여량에 따라 의존적으로 직선을 나타내어 투여 약물량에 크게 영향을 받음을 알 수 있었다.

4. Granisetron 비강 투여 제제의 흰쥐에서의 생체이용율을 비교 측정하기 위해 정맥주사 제제와 생체이용율을 비교했을 때 약 95% 이상 흡수되어 정맥주사제제에 비금가는 동일한 약효를 얻을 수 있을 것으로 예상되었다.

## 참고문헌

- 1) C.-T. Huang, K.-C. Chen and T.-H. Tsai, Simultaneous measurement of blood and brain microdialysates of granisetron in rat by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr. B*, **716**, 251-255 (1998).
- 2) G.J. Sanger and D.R. Nelson, Selective and functional 5-hydroxytryptamine<sub>3</sub> receptor antagonism by BRL 43694 (granisetron), *Eur. J. Pharmacol.*, **159**, 113-124 (1989).
- 3) J.W. Upward, B.D. Arnold, C. Link, D.M. Pierce, A. Allen

- and T.C. Tasker, The clinical pharmacology of granisetron (BRL 43694), a novel specific 5-HT<sub>3</sub> antagonist, *Eur. J. Cancer*, **26**, S12-S15 (1990).
- 4) J. Carmichael, B.M. Cantwell, C.M. Edwards, B.D. Zussman, S. Thompson, W.G. Rapeport and A.L. Harris, A pharmacokinetic study of granisetron (BRL 43694A), a selective 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist: correlation with anti-emetic response, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **24**, 45-49 (1989).
  - 5) L.L. Brunton, J.S. Lazo and K.L. Parker, A Goodman & Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics, 11<sup>th</sup> ed., McGRAW-HILL Medical Publishing division. 1830-1831 (2006).
  - 6) C. Huang, R. Kimura, R. Nasser and A.A. Hussain, Mechanism of nasal absorption of drugs I : physicochemical parameters influencing the rate of in-situ nasal absorption of drugs in rats, *J. Pharm. Sci.*, **74**, 608-611 (1985).
  - 7) K.S.E. Su, K.M. Campanale and C.L. Gries, Nasal drug delivery system of a quaternary ammonium compound : clofilium tosylate, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 1251-1254 (1984).
  - 8) T. Sakane, M. Akizuki and M. Yoshida, Transport of cephalexin to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity, *J. Pharm. Pharmacol.*, **43**, 449-451 (1990).
  - 9) T. Sakane, M. Akizuki, S. Yamashida, T. Nadia, M. Hashida and H. Sezaki, The transport of a drug to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity : the relation to the lipiphilicity of the drug, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 2456-2458 (1991).
  - 10) L. Illum, Nasal drug delivery: possibilities, problems and solutions, *J. Control. Rel.*, **87**, 187-198 (2003).
  - 11) A.A. Hussain, A. Dakkuri and S. Itoh, Nasal absorption of ondansetron in rats : an alternative route of drug delivery, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **45**, 432-434 (2000).
  - 12) A.A. Hussain, S. Hirai and R. Bawarshi, Nasal absorption of propranolol from different dosage forms by rats and dogs, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 1411-1412 (1980).
  - 13) International Conference on Harmonization, Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures : Methodology, Committee for Proprietary Medical Products, CPMP/ICH/281/95, Approval 18 December 1996.
  - 14) P. Dondeti, H. Zia and T.E. Needham, Bioadhesive and formulation parameters affecting nasal absorption, *Int. J. Pharm.*, **127**, 115-133 (1996).
  - 15) R.L. Smith, R.E. Smyth, B.D. Keck, G.O. Kinnett and C.A. Cruze, Effect of formulation and dosing variables on the intranasal absorption of loperamide in the rat, *Pharm. Res.*, **9**, S-207 (1992).