

인터루킨 -2의 제제설계를 위한 체내 동태학적 연구

서민석 · 심창구[†]

권중범* · 나도선* · 이선복* · 함경수* · 한문희*

서울대학교 약학대학, *한국과학기술연구원 유전공학센터

(Received May 21, 1990)

Pharmacokinetic Preformulation Study of rH IL-2

Min-Seok Seo, Chang-Koo Shim[†]

Jong Bum Kwon*, Do Sun Na*, Sun Bok Lee*, Kyong-Soo Hahm* and Moon Hi Han*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

*Genetic Engineering Center, Korean Institute of Science and Technology, P.O. Box 131, Seoul, Korea

Abstract—Pharmacokinetic characteristics of recombinant human interleukin-2 (rH IL-2) were studied in the rat. First, different doses of rH IL-2 ranging from 6,400 to 1,600,000 U/kg were injected intravenously and the effect of dose size on the pharmacokinetics was examined. There was no dose dependency in the pharmacokinetics of rHIL-2 in the dose range of 6,400-40,000 U/kg. But at the dose of 1,600,000 U/kg, there was a severe hemolysis throughout the experiment and the pharmacokinetic parameters such as V_{dss} and CL_t were significantly increased compared to those obtained from lower doses. It also showed that this drug is hardly distributed to the peripheral tissues and hardly eliminated from the body, since the volume of distribution (V_{dss}) and total body clearance (CL_t) were 45-75 ml/kg and 1-2 ml/min/kg, respectively. The V_{dss} is close to the actual plasma volume and the CL_t is less than glomerular filtration rate (GFR). Therefore it seemed that rH IL-2 is distributed only in the plasma pool and hardly filtered in the kidney due to its very large molecular weight. Second, rH IL-2 was administered to the rat via several routes such as hepatic portal vein (PV), intraperitoneal (IP), peroral (PO) and intranasal (IN) routes. The bioavailabilities (BA) of PV , IP , PO and IN routes were 96.8, 4.9, 0 and 0.1%, respectively. The addition of some nasal absorption enhancers such as taurocholate, taurodeoxycholate, glycocholate and glycodeoxycholate did not increase the BA of intranasally administered rH IL-2. The result is contrast to the effect of these bile salts on the nasal absorption of α -interferon. Considering it together with the pharmacokinetic parameters, very large molecular weight of rH IL-2 seemed again to be the cause to very poor membrane permeability.

Keywords □ Interleukin-2, pharmacokinetics, bioavailability, intravenous, hepatportal, oral, intraperitoneal, intranasal administration.

미량으로 강력한 생리조절 작용을 나타내는 여러 펩타이드 물질들은 최근 *E. coli*, yeast, mammalian cell을 이용한 유전자 조작기술과 분리, 정제, 기술의 진보에 힘입어 다량 생산이 가능해짐에 따라 임상응용이 가능해졌다. 그러나, 그 투여 방법의 대부분은 정맥주사이며 경구투여 등에 의해서는 순환혈액 중에 거의 흡수되지 않는 특성을 갖고 있

[†]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

다. 더구나 정맥주사시에도 생체내 반감기가 짧기 때문에 빈번히 반복 주사해야 되는 펩타이드 물질들이 대부분이다.

최근에는 이러한 문제점, 즉 정맥주사 이외의 경로로는 흡수가 잘 안된다는 점과 빈번히 투여해야 치료효과가 있다는 점을 극복하기 위하여 정맥주사 이외의 경로 즉 경구투여, 직장투여, 구강투여, 경피투여, 이식으로의 투여경로¹⁾ 등이 시도되고 있다.

본 연구에서는 *E. coli* 를 숙주로 사용하여 생산한 rH IL-2(분자량 19500D)를 여러 경로로 투여할 수 있는 제제를 개발하는데 필요한 preformulation 연구를 위해 IL-2의 체내동태 특성을 rat를 써서 연구하였다. 즉 기본이 되는 체내동태 특성치를 구하기 위해 여러 용량으로 IL-2를 정맥주사하여 체내동태의 용량의존성 여부를 조사한 다음, 경구, 경비, 복강, 간문맥투여시의 생체내 이용율을 조사하였다. 특히 경비흡수에 대해서는 몇 가지 경비흡수 촉진제를 첨가하였을 때 경비흡수가 증가되는지 여부도 관찰하였다. 또 IL-2가 담즙으로 배설되는가, 또 신장에서 얼마나 소실되는가 등도 조사하였다. 이 연구는 효율적인 혈중 IL-2 농도를 유지시켜줄 수 있는 투여경로와 제형을 개발하는 것을 목표로 삼고 있다.

실험방법

시약 및 기기—IL-2는 *E. coli* 를 숙주로 사용하여 제조한 분자량 19500D의 rH IL-2(KIST 유전공학센터)를 사용하였다. 기타 시약은 시판 특급품을 그대로 사용하였다. 실험동물은 KIST 유전공학센터 생물검정실로부터 Wistar 웅성 rat(215~280g)를 분양받아 1주일 이상 사육하여 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 기구로는 약물투여 및 채혈을 위해 폴리에틸렌 카테테관(PE-50 및 PE-10, Intramedic, Clay Adams Co.)과 각종 수술기구(Natume, Japan)를 사용하였으며 혈액의 원심분리는 Beckman Microfuge F4 원심분리기를 사용하였다.

혈장중 IL-2의 역가측정—조직배양용 배지(RPMI 1640, Sigma)와 10% fetal calf serum(Sigma)을 이용하여 IL-2 존재하에 cytotoxic T-lymphocyte cell line(CTLL)을 키운 후 1000 rpm으로 5분간 원심분리하여 lag phase의 세포를 분리하였다. 분리한 CTLL 세포를 Hankes' balanced salt solution(HBSS)으로 3회 씻은 후 배양액에 현탁시켰다. 96-well culture plate에 HBSS로 2배 희석시킨 혈장 일정량을 넣고 각 well에 배양액을 현탁시킨 CTLL cell을 100 μ l 씩 가하고 37°C에서 혼합공기(O₂: CO₂=95:5) 기류하에서 20~24시간 동안 배양시켰다. 표준품으로는

Boeringer Mannheim의 IL-2(human recombinant) 200 U/ml를 사용하였다. 배양 후 혈장시료에 의한 CTLL 세포의 배양억제 정도를 표준 IL-2와 비교하여 그 희석 배수로부터 시료 중의 IL-2 역가를 산정하였다.²⁾

IL-2의 안정성 실험—위장관내의 pH 및 혈장 중에서 안정성을 검토하기 위하여 3개의 바이알에 pH 1.2 및 6.8 완충액과 혈장 3ml씩을 각각 넣은 후 이에 일정 농도의 IL-2 용액 100 μ l씩을 가하여 가볍게 흔들어 섞었다. 이 바이알들을 37°C 항온조에 넣고 180분까지 일정시간마다 100 μ l씩 취하여 -20°C에서 보존하였다가 전술한 방법에 따라 IL-2의 역가를 측정하였다.

체내동태의 용량의존성 여부—IL-2의 투여용량에 따른 체내동태 특성의 변화여부를 조사하기 위하여 6,400~1,600,000 U/kg의 용량을 정맥주사 한 후 채혈하여 혈장 중 IL-2 농도의 시간추이를 조사하였다. 먼저 rat에 25% 우레탄(생리식염수 용액)을 4.5ml/kg의 용량으로 복강주사하여 마취시킨 후 좌측 대퇴 동정맥에 카테터(PE-50)를 삽입하였다. 대퇴정맥 카테터를 통하여 6,400, 18,000, 25,000, 1,600,000 U/kg의 용량을 주사용적 0.3ml 이하로 하여 주사한 후 5, 10, 20, 40, 60, 120, 180 및 240분에 대퇴동맥 가테터로 100 μ l씩 채혈하여 곧 10,000 rpm에서 30초간 원심분리하여 혈장을 취하였다. 이 혈장은 역가측정시까지 -20°C에서 보존하였다.

투여경로에 따른 혈장 중 농도추이—정맥주사(IV), 경구투여(PO), 간문맥주사(PV), 복강주사(IP) 및 경비투여(IN)로 투여한 IL-2의 혈장 중 농도추이를 비교하므로써 정맥주사 이외의 가능성 있는 투여경로를 모색하고자 하였다. 이 때 수술 정도에 따른 영향이 나타나는 것을 최소로 한 상태에서 비교하기 위하여 경비투여를 제외하고는 모두 동일한 수술(sham operation)을 행하였다. 즉 rat를 에텔로 마취시킨 상태에서 좌측 대퇴동정맥에 카테터(PE-50)를 삽입하고 복강 정중선 약 5cm를 절개하고 간 문맥에 미리 준비해둔 간문맥용 카테터를 꽂고 순간접착제로 고정시켰다. 카테터를 테이프 고정시키고 접착제가 건조된 후 수술용 실(Natume No.3)로 절개된 부분을 봉합하였다. 간 문맥용 카테터는 PE-50 카테터끝에 약 120°로 구부려 놓은

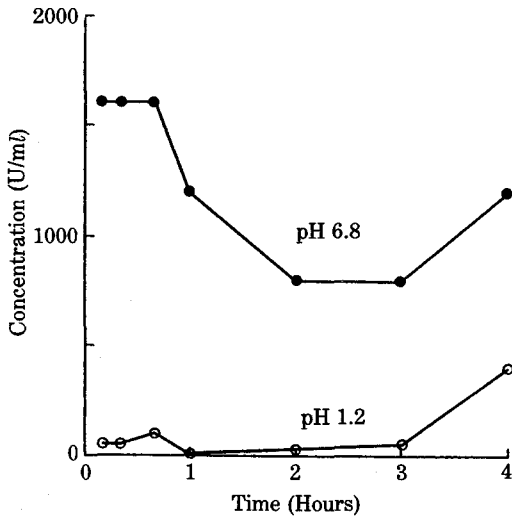


Fig. 1—Effect of pH on the stability of IL-2 at 37°C.

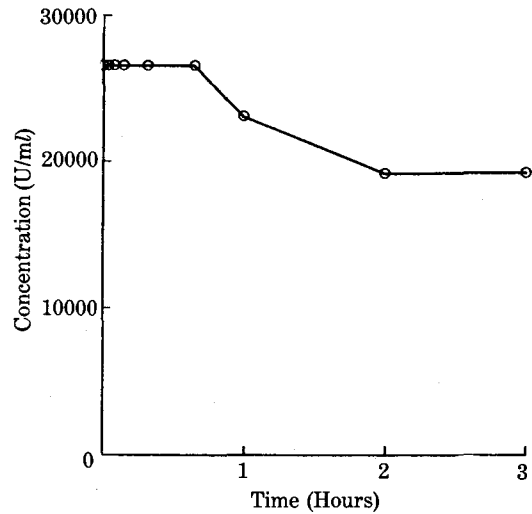


Fig. 2—Stability of IL-2 in the rat plasma at 37°C.

23-gauge 바늘을 꽂아 고정시키고 반대편에는 50 IU/ml의 헤파린이 채워진 1ml 주사기를 연결시켜 미리 만들어 놓은 것을 사용하였다.

IL-2의 정맥주사시에는 정맥 카테터를 통하여, 간 문맥 주사시에는 간문맥 카테터를 통하여, 복강 주사시엔 26-gauge 바늘을 삽입하여 주사하였으며 경구투여시에는 경구투여용 sonde를 통하여 투여하였다. 복부 등의 봉합부분은 꺼어즈로 덮어주고 백열 등을 조사하여 rat의 체온을 유지시켜주면서 정해진 시간간격으로 채혈하여 전술한 방법으로 혈장 중 IL-2의 역가를 측정하였다.

경비흡수 실험—rat에 25% 우레탄을 4.5ml/kg의 용량으로 복강주사하여 마취시킨 후 좌측 대퇴동맥에 PE-50 카테터를 삽입하였다. 목부분의 중심부위를 절개하여 기도내 비강이 식도와 만나는 부분을 탈지면과 접착제로 막았다. 10, 20, 40, 60, 90, 120, 180 및 240분에 채혈하여 혈장 중 IL-2의 역가를 측정하였다.

담즙배설 및 신장소실실험—담즙배설 실험을 위해서는 에텔로 마취한 rat에 복부 정중선을 따라 개복한 뒤 담관에 PE-10 카테터를 삽입하고 절개부위를 봉합한 뒤 대퇴정맥을 통하여 IL-2를 주사하고 카테터를 통하여 유출되는 담즙을 취하여 담즙 중 IL-2를 정량하였다.

신장소실 실험에서는 에텔로 마취한 rat를 개복하여 신장정맥을 찾아내어, 끝에 90°로 굽은 바늘이

끼워진 PE-50 카테터를 삽입한 후 절개부위를 봉합하고 대퇴동정맥에 PE-50 카테터를 삽입하였다. 대퇴정맥 카테터를 통하여 초회량(30,000 U/animal)을 bolus 주사한 후 등속주입하여(속도: 800,000 U/hr) 혈장 중 IL-2 농도가 정상상태가 되었을 때 대퇴동맥과 신정맥 카테터를 통해 채혈하여 혈장 중 IL-2 역가를 측정하였다.

약물 체내 속도론적 분석—정맥주사로 rat에 투여된 IL-2의 혈장 중 농도추이는 다음과 같은 2-컴파트먼트 모델로 해석하였다.

$$C = A \exp(-\alpha t) + B \exp(-\beta t) \quad (\text{Eq.1})$$

여기에서 C 는 시간 t 에서의 혈장 중 IL-2의 농도를 α 와 β 는 각각분포상과 분포후상에서의 소실속도 상수를, A 와 B 는 각 상에서 $t=0$ 일 때의 절편을 나타낸다. A, B, α, β 값은 MULTI 프로그램³⁾을 써서 개인컴퓨터로 계산하였다.

생체내 이용율의 계산—각 투여경로에 따른 생체내 이용율은 그 때의 혈중농도 곡선하면적(AUC)을 정맥주사시의 AUC와 비교한 백분율(%)로 표시하였다. AUC의 계산은 사다리꼴 공식⁴⁾을 이용하였다.

실험결과 및 고찰

IL-2의 안정성—동량(1700 U/ml)의 IL-2 용액의 pH를 1.2와 6.8로 조정후 37°C에서 배양하

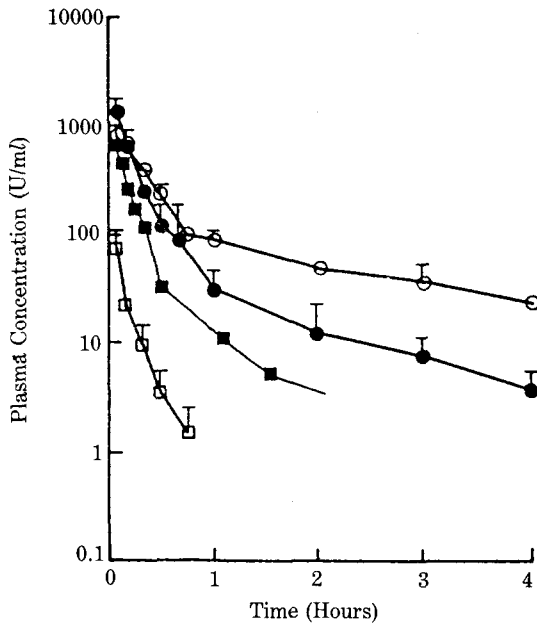


Fig. 3—Plasma concentration profile of IL-2 following iv administration of various doses to rats.
□: 6400, ■: 18000, ●: 25000, ○: 40000 (U/kg)

면서 IL-2의 역가변화를 조사한 결과 pH 1.2에서는 배양 직후부터 역가가 거의 0에 가깝게 낮아졌다. 이는 이 pH에서 펩타이드인 IL-2가 변성되는데 기인하는 것으로 추정된다. pH 6.8에서도 1시간 경과 후부터 역가가 떨어지기 시작하여 2시간 후에는 1700 U/ml의 원액이 역가가 700 U/ml까지 떨어졌다(Fig. 1). 한편 37°C 혈장 중에서도 시간이 경과함에 따라 그 역가가 감소하였다(Fig. 2).

투여용량에 따른 체내 동태의 변화여부—IL-2를 6,400, 18,000, 25,000, 40,000 U/kg의 용량으로 정맥주사하였을 때의 혈장 중 IL-2의 역가변화는 Fig. 3과 같았다. 18,000~40,000 U/kg의 용량주사 시에는 투여 후 45분 정도까지 용혈이 일어났으나

Table I—Pharmacokinetic parameters of IL-2 in rats.

Dose (U/kg)	$T_{1/2,\alpha}$ (min)	$T_{1/2,\beta}$ (min)	Vd_{ss} (ml/kg)	CLt (ml/min/kg)	Ke (l/min)
6400	7.62 (± 1.22)	ND	107.62 (± 16.43)	10.04 (± 3.10)	0.0922 ± 0.0148
18000	3.72 (± 0.90)	30.47 (± 12.51)	52.29 (± 30.62)	2.62 (± 0.82)	0.1342 ± 0.0326
25000	6.78 (± 0.99)	78.69 (± 19.86)	35.56 (± 16.05)	1.25 (± 0.48)	0.0861 ± 0.0178
40000	3.57 (± 0.51)	62.23 (± 16.04)	59.60 (± 14.71)	1.24 (± 0.36)	0.0924 ± 0.0095
1600000	9.56 (± 0.67)	114.78 (± 11.61)	4798.80 (± 522.70)	51.04 (± 3.49)	0.0373 ± 0.0016

ND; Not detectable

그 이후에는 용혈현상은 보이지 않았다. 1,600,000 U/kg 주시시에는 4시간 후까지도 용혈현상이 심하게 나타났다. Fig. 3에서와 같이 혈중농도 추이는 2개의 지수곡선으로 나타났으나 6,400 U/kg 이하의 저용량에서는 측정감도 문제로 분포후상 곡선이 잘 나타나지 않았다.

Fig. 3의 곡선을 해석한 속도론적 파라메타들을 Table I에 실었다. 투여용량 6,400~40,000 U/kg 사이에서는 각 파라메타 사이에 유의성있는 차이를 볼 수 없었다. 분포상의 반감기($T_{1/2, \alpha}$)는 약 6분, 소실상의 반감기($T_{1/2, \beta}$)는 약 70분, 소실속도상수(Ke)는 약 0.10 min^{-1} , 분포용적(Vd_{ss})은 35~60 ml/kg이었으며 전신 클리어런스(CLt)는 약 1.2~2.6 ml/min/kg이었다. 한편 1,600,000 U/kg 투여시의 Vd_{ss} 및 CLt 는 기타용량에 비해 현저한 증가를 보였다. 별도의 실험을 통해 IL-2의 역가가 용혈에 의해 영향받지 않는 것이 확인되었기 때문에 이와 같은 고용량 (1,600,000 U/kg 이상)에서의 체내동태 변화는 용혈에 의한 생체반응의 변화에 기인

Table II—Comparision of pharmacokinetic parameters of IL-2 among different origins

Origin	Dose (U/kg)	$T_{1/2,\alpha}$ (min)	$T_{1/2,\beta}$ (min)	Vd_{ss} (ml/kg)	CLt (ml/min/kg)
Roche ^{a)}	60000000	—	27	120,000	1250
Cetus Co ^{b)}	30000000	3	44	100	4.6
KIST ^{c)}	18000-40000	4-7	30-80	35-60	1-3

^{a)} Ref. 5, ^{b)} Ref. 6, ^{c)} This study. —; not appeared

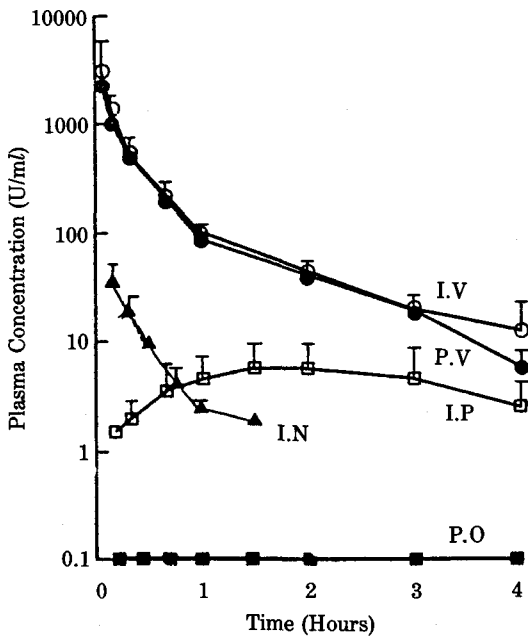


Fig. 4—Plasma concentration profile of IL-2 following administration of IL-2 (1.2×10^6 U/kg) to rats through various routes.

하던가 아니면 어떤 미지의 기전에 기인하는 것으로 매우 흥미있는 결과라 하겠다.

18,000~40,000/kg 용량에 대한 파라메타들을 다른 연구자들의 연구결과와 비교해 보면 Table II와 같다. Roche⁵⁾의 IL-2와 Cetus⁶⁾의 IL-2는 투여용량의 큰 차이가 없었음에도 불구하고 *V_{dss}*나 *CL_t*에 큰 차이가 있었다. Cetus의 IL-2에 대한 연구결과⁶⁾는 본 연구에서 얻은 결과와 매우 근사하다. 이로부터 IL-2의 체내동태는 생산방법에 따라 매우 변동폭이 클 수 있다는 중요한 사실을 알았다. 본 연구에서 얻은 분포용적(*V_{dss}*) 35~60 ml/kg 값은 체내의 혈장의 실제부피에 해당하는 값인 사실로부터 IL-2의 체내의 조직분포성은 매우 낮음을 알 수 있다. 또 전신 클리어런스(*CL_t*)도 1~3 ml/min/kg으로 매우 낮았는데 이는 사구체 여과속도(*GFR*)인 4~5 ml/min/kg보다도 낮은 값이다. IL-2의 체내동태가 연구자에 따라 이처럼 달라지는 것은 각 연구자가 사용한 IL-2의 실제 분자량이 자체회합 등에 의해 각각 달라서 세포막 투과성에 큰 차이가 있기 때문이 아닌가 추정되었다.

투여경로에 따른 혈장 중 농도추이—각종 투여 경로로 1.2×10^6 U/kg의 IL-2를 rat에 투여한 후

Table III—Bioavailability (%) of several peptides appeared in the literatures.

Peptides	PV	IP	PO	IN	MW
Progesteron ^{a)}	ND	ND	7.87	82.52	315
Insulin ^{b)}	ND	100	-	5	6000
Interferon ^{c)}	87.4	38.6	0.907		1500
Interleukin-2 ^{d)}	96.8	4.9	-	0.074	15000

^{a)} Ref. 7, ^{b)} Ref. 12, ^{c)} This study
ND; not determined, -; negligibly small.

의 혈장 중 농도 추이는 Fig. 4와 같았다. 간문맥 투여시 정맥주사시와 유사한 혈장 중 농도추이를 나타내는 것으로부터 IL-2는 간에서 거의 추출(대사)되지 않음을 알 수 있었다. 복강내 주사시에는 어느 정도 흡수됨을 볼 수 있었으나 그 정도는 매우 낮았으며 경구투여시와 경비투여시에는 거의 흡수되지 않았다. 특히 progesteron 등이 경비투여시 높은 생체내 이용율을 보인 것⁷⁾과 달리 본 연구에서 쓴 IL-2는 그 자체로는 물론이고 이에 각종 담즙산(taurocholate, taurodeoxycholate, glycocholate나 glycotauracholate)을 1% 첨가하였을 때에도 거의 흡수 증가가 나타나지 않았다. Fig. 4로부터 각 투여경로에 따른 IL-2의 생체내 이용율을 구하여 다른 펩타이드류와 비교한 것이 Table III이다. 간 문맥투여는 96.8%, 복강투여시가 4.9%이었으며 경구투여나 경비투여는 거의 0%이었다. 이와 같이 생체내 이용율이 낮은 것은 IL-2의 분자량이 progesteron보다 훨씬 큰데 기인하는 것으로 추정된다.

IL-2의 담즙배설 및 신장소실—IL-2는 담즙으로 배설되지 않는 것이 본 연구에서 확인되었다. 한편 대퇴정맥으로 IL-2를 등속주입하여 얻어진 혈중농도의 정상상태에서 신동맥 중 농도(=대퇴동맥 중 농도=100 U/ml)와 신정맥 중 농도(62.5 U/ml)에 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다. 즉 신장 추출율은 0.375 ± 0.125 (n=3)이었다. 신장 추출율과 신장 혈장유량(약 5 ml/min/kg rat)으로부터 신클리어런스(*CL_r*)를 계산하면 1.875 ± 0.625 이었다. 따라서 IL-2의 *CL_t*의 대부분은 *CL_r*이 차지함을 알 수 있었다. 그 추출의 정체가 뇨중으로의 배설일지 또는 신장내에서의 대사일지 현재로서는 분명하지 않다. 아무튼 신장에서 추출된다고 하는 사실은 마

우스의 신장동맥을 결찰하면 IL-2의 $T_{1/2}$ 이 2.5분에서 22.8분으로 증가한다는 보고²⁾와 연관성이 있으며, 또 신장이 분자량 50,000 이하의 단백질의 대사에 중요한 역할을 한다는 보고⁸⁾와도 상관성이 있다.

Gennuso 등⁹⁾은 IL-2가 신장에 분포되나 방광에 나타나지 않음을, Donohue 등²⁾은 활성형이 뇨중으로 배설되지 않음을 확인하였다. Interferon의 경우 신장에서의 대사가 보고되어 있는데¹⁰⁾, IL-2도 신장에 분포하여 대사를 받으며 뇨중으로는 거의 배설되지 않는 것으로 추정된다. 한편 T 세포가 고갈된 마우스에서도 IL-2의 반감기가 정상마우스와 같았다는 사실¹¹⁾로부터 IL-2의 주된 소실 부위는 T cell이 아니며 간장 이상으로 신장이 IL-2의 주된 대사 부위임을 알 수 있었다.

결 론

본 실험으로 얻어진 IL-2의 체내동태의 특징은 다음과 같다. 정맥주사된 IL-2는 Rat의 혈장 중에서 2개의 지수곡선으로 감소하며, 40,000 U/kg까지는 용량의존성을 나타내지 않았다. 분포용적 $Vdss$ 는 혈장부피에 가까운 50 ml/kg으로 매우 낮은 조직분포성을 나타냈으며 CLt 는 2.1 ml/min/kg으로 사구체 여과속도보다도 그 소실속도가 작았다. 분포상의 반감기는 6분, 분포후상의 반감기는 약 70분이었다.

투여경로별 생체내 이용율은 간문맥 투여시 98.8%, 복강투여시 4.9%이었으나 경구투여시와 경비투여시 거의 흡수되지 않았다. 간추출율은 3.2%로 낮고 담즙으로는 배설되지 않으며 신장에서도 소실되는 것으로 보이며 또 혈장 중에서 분해되는 것을 알았다.

이와 같은 체내동태상의 특성, 특히 투여경로에 따른 생체내 이용율의 차이를 고려하여 낮은 생체내 이용율 문제를 극복할 수 있는 투여방법이나 제제를 설계해야 될 것으로 생각된다.

문 헌

- 1) Meisenberg, G. and Simmons, W.H.: Peptides and the blood brain barrier, *Life Sci.*, **32**, 2611-2633 (1983).
- 2) Donohue, J.H. and Rosenberg, S.A.: The Fate of

Interleukin-2 after *in vivo* administration. *J. Immunol.*, **130**, 2203-2208 (1983).

- 3) Yamaoka, K., Tanigawara, Y., Nakagawa, T. and Uno, T.: A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.*, **4**, 879-885 (1981).
- 4) Gibaldi, M. and Perrier, D.: *Pharmacokinetics* (2nd edition), Marcel Dekker, Inc., New York, p. 169-180 (1982).
- 5) Colburn, W.A., Hakimi, J. and Bekersky, I.: Plasma concentration profile of human recombinant interleukin-2 (HrIL-2) in rat following administration by various systemic routes. *Drug. Met. Disp.*, **15**, 429-431 (1987).
- 6) Krauf, M.J., Bell, D.P., Hirtzer, P., Luo, Z-P., Young, J.D. and Katre, N.V.: Relationship of recombinant interleukin-2 chemically modified with water-soluble polymers. *J. Bioll Chem.*, **263**, 15064-15070 (1988).
- 7) Corbo, D.C., Huang, Y.C. and Chien, Y.W.: Nasal delivery of progestational steroids in ovariectomized rabbits I. Progesterone: comparison of pharmacokinetics with intravenous and oral administration. *Int. J. Pharmaceut.*, **46**, 133-140 (1988).
- 8) Strober, W. and Waldman, T.A.: The role of the kidney in the metabolism of plasma proteins. *Nephron*, **13**, 35-66 (1974).
- 9) Gennuso, R., Spigelman, M.K., Vallabhajosula, S., Moore, F., Zappala, R.A., Nieves, J., Strauchen, J.A., Paciucci, P.A., Malis, L.I., Goldsmith, S.J. and Holland, J.F.: Systemic biodistribution of radioiodinated interleukin-2 in the rats., *J. Biol. Resp. Modif.*, **8**, 375-384 (1989).
- 10) Bocci, V., Pacini, A. and Muscettola, M.: The kidney is the main site of interferon catabolism. *J. Interferon Res.*, **2**, 309-314 (1982).
- 11) Muhlratt, P.E. and Optiz, H.Z.: Clearance of interleukin-2 from the blood of normal and T-cell depleted mice. *Eur. J. Immunol.*, **12**, 983-985 (1982).
- 12) Touitou, E. and Rubinstein, A.: Targeted external delivery of insulin to rats, *Int. J. Pharmaceut.*, **30**, 95-99 (1986).
- 13) Kim, S.R. and Shim, C.K.: Effect of various absorption enhancers on the nasal absorption of interferon in rats, in preparation.