

# 새로운 내부 방사선 치료용 $^{166}\text{Ho}$ -Chitosan 착물 및 그 응집입자의 제조에 관한 연구

한국원자력연구소 동위원소실

박경배 · 김영미 · 신병철 · 김재록

= Abstract =

## Study on the Preparations of New $^{166}\text{Ho}$ -Chitosan Complex and Its Macroaggregates for a Potential Use of Internal Radiotherapy

K.B. Park, Y.M. Kim, B.C. Shin, J.R. Kim

Department of Radioisotopes, HANARO Center, Korea Atomic Energy Research Institute, P.O. Box 105, Yuseong, Taejeon, Republic of Korea

Chitosan is a polysaccharide of natural origin obtained by full or partial deacetylation of chitin, a very abundant natural polymer, which has the properties of biocompatibilities, bioaffinities, and biodegradabilities. The free amino group of chitosan should be participated in forming chelate with holmium ( $\beta$ -emitter).  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  of high radionuclidic purity of upto 99.9% was made by neutron irradiation of naturally occurring  $^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , and then reacted with the prepared chitosan solution. The effect of pH, reaction time, the concentration and viscosity of chitosan and the amount of  $^{166}\text{Ho}$  on forming  $^{166}\text{Ho}$ -chitosan complex ( $^{166}\text{Ho}$ -CHICO) were investigated.  $^{166}\text{Ho}$ -chitosan macroaggregate ( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA) was made from  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO. Their physical properties such as radionuclidic purity, particle size distribution, stability in vitro and vivo were examined. Their high in vitro and vivo stability makes them attractive agents for internal radiotherapy by local administration.

### Key Words :

### 서 론

Chitin, (poly- $\beta$ (1-4)-N-acetyl-D-glucosamine)은 N-아세틸 글루코사민이  $\beta$ -1,4 결합으로 중합된 아미노 다당류로써, 게껍질, 새우껍질, 오징어뼈의 주성분이며 cellulose 다음으로 자연계에 다량으로 분포하고 있다<sup>1)</sup>. 키틴의 탈아세틸화물인 chitosan계 고분자는 L-1210 Leukemia, Sarcoma 37. Ehrlich 복수암 세포의 증식을 저해하므로, 항암제, 또는 결정성장의 매체, 고분자촉매, 의약품 고분자재료 등에 이용되고 있으며 금속과의 흡착 능력이 좋아 폐수 처리제로 선진국에서 이미 시판되고 있고, 그 밖에 단백질 응집제,

식수탁도저해제 및 가축의 사료로도 이용되고 있다. 최근 활발히 연구가 진행되고 있는 효소 고정화에 있어서도 이 chitosan계 유도체는 효소 고정화 담체로서 우수한 사실이 확인되고 있고 의약품으로서는 독성이 낮고 생분해성과 생체적합성 및 생체친화성을 가지기 때문에 이용 연구가 급진전되고 있다<sup>2)</sup>. Chitosan의 응용 연구는 금속과 킬레이트를 형성할 수 있는 자유 아민기에 주로 초점이 맞추어져 있으며<sup>3)</sup>, 최근에 다양한 금속 양이온과의 킬레이트를 형성함에 의해 chitin과 chitosan의 우수성이 입증되었다. 대개 chitosan의 흡착능이 chitin 보다 훨씬 높다고 보고되었다<sup>4)</sup>. 대부분의 연구는 중금속 특히, 전이금속에 국한되었으며, 란타늄 금속들은 지금까지 거의 연구되지

않았다. 란탄족들중에  $^{153}\text{Sm}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ ,  $^{169}\text{Er}$  과 같은 방사성 핵종은 내부 방사선 치료제로서 유용한  $\beta$ -방출 핵종들이다. 이러한 핵종들은 chitosan을 방사성 핵종의 운반체로 사용하여 인체에 투여해 병소에서 방사선을 방출시킴으로써 질병을 치료하는 내부치료제로서 이용가능한 핵종이다. 방사선 치료법에는 인체 밖에서 방사선 (주로  $\gamma$ 선)을 조사하여 병소를 치료하는 외부방사선 치료법과 방사성 물질을 병소에 주입하여 병소내에서 방사선을 발생시킴으로써 병소를 소거하는 내부방사선 치료법이 있다. 종래에는 외부방사선 치료법이 주로 이용되어 왔는데 이 경우 방사선을 외부에서 조사하므로 내부의 방사선이 도달하기 위해서는 투과력이 강한 방사선을 이용해야 하므로 주변 정상조직 또는 인체의 다른 장기가 피폭되어 손상되는 문제점이 있었다. 이에 방사성물질을 병소에 직접 투여하여 병소 가까이에서 병소만을 선택적으로 방사선 조사할 수 있는 내부 방사선 치료법이 개발되었다. 내부 방사선 치료법은 방사성 물질을 병소에 직접 투여하여 방사선을 조사하는 방법으로서, 투과력이 약한 방사선을 이용하여 병소만을 방사선 조사할 수 있기 때문에 주변조직의 방사선 피폭을 막을 수 있다. 예를 들면 방사성 활막 절제술은 비침습적으로 단순히  $\beta$ 선 방출 핵종이 함유된 콜로이드 또는 입자 형태의 제제를 관절의 활액막낭 안으로 주사하는 것이어서 외과적 활막 절제술에 비해 비교적 빠른 효과를 기대할 수 있고, 입원기간을 줄일 수 있으며, 수술로 인한 후유증이 없는 장점이 있다<sup>5-7)</sup>. 지난 수 십년간 슬관절염 치료용으로 흔하게 사용되어 왔던 방사성 핵종으로는  $^{198}\text{Au}$ <sup>8)</sup>,  $^{90}\text{Y}$ <sup>9)</sup>,  $^{186}\text{Re}$ <sup>10)</sup>,  $^{32}\text{P}$ <sup>11)</sup>,  $^{165}\text{Dy}$ <sup>12)</sup>,  $^{166}\text{Ho}$ <sup>13)</sup> 등이 있다. 이 중에서  $^{198}\text{Au}$ ,  $^{90}\text{Y}$ 는 각각 2.7일의 비교적 반감기가 길며, 교질(colloid)형태의 작은 입자 크기로 인해 관절외로의 방사능누출(25-60%)<sup>14)</sup>이 문제되어 사용이 제한되어 왔다. 이러한 방사능누출의 문제는  $^{186}\text{Re}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{166}\text{Ho}$ 의 교질(colloid)형태의 입자에 있어서도 마찬가지 결과였다. 이러한 문제점은 크기가 1-20  $\mu\text{m}$  정도인 입자 또는 응집입자를 사용함으로써 일부 해결되었다<sup>15)</sup>. 철의 수산화물 응집입자(Ferric hydroxide macroaggregates, FHMA)는  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{165}\text{Dy}$ ,  $^{166}\text{Ho}$  등의 운반체로서 작용할 수 있고 자신은 활막 조직에 집적되어 관절외로의 누출(1-13%) 문제는 조금 개선되었지만 비방사능이 낮은 장반감기의 핵

종인 경우에는 역시 관절외로의 누출 문제 때문에 비효과적이다<sup>16)</sup>. 관절외로의 방사능누출이 거의 없는 이상적인 입자(particulate agents)는 다음과 같은 특성을 가져야 한다. 첫째, 체외 및 체내에서 높은 친화력을 가지고 베타 방출핵종과 결합해야 하고, 둘째, 주사 후 관절내에 균일하게 분포해야하며, 셋째, 염증성 반응(inflammatory response)없이 활막으로 흡수되어야 하며, 넷째, 관절내에서 입자의 생물적 반감기가 결합된 방사성 핵종의 물리적 반감기 보다 길어야 하며, 다섯째, 입자는 활막내에서 생분해되어야 한다. 현재까지 슬관절염 치료용으로 널리 사용되고 있는 방사성 화합물들은  $^{166}\text{Ho}$ -poly-L-lactic acid microsphere<sup>7)</sup>,  $^{153}\text{Sm}$ -hydroxyapatite particle<sup>17)</sup>,  $^{165}\text{Dy}$ -FHMA<sup>18)</sup>,  $^{166}\text{Ho}$ -FHMA<sup>16)</sup>,  $^{186}\text{Re}$ -hydroxy-apatite particle<sup>17)</sup>,  $^{166}\text{Ho}$ -resin microsphere<sup>19)</sup> 등에 불과하다.

본 연구에서는 이상적인 새로운 형태의 방사성  $^{166}\text{Ho}$ -chitosan 착물 및 응집입자를 각각 제조하고 류마티스 관절염, 복강내 전이암, 간암 및 기타 고형암 등의 치료용 방사성 의약품으로서의 가능성을 타진하고자 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

- $\gamma$ -counter : Well type scintillation crystal, power supply, scaler 및 timer 장착 (Canberra)
- pH Meter : Microprocessor 장착, digital형, Orion Research
- Centrifuge
- Ultrasonic bath : 45 KHz, 35 W, RKI-20- 175 W-103 T, Ikemoto, Japan
- Autoclave : 1.1 kg/cm<sup>2</sup>(121℃), Passolina, IST-150, Iuchi, Japan
- Millipore cellulose filter : 0.45  $\mu\text{m}$ , Nuclepore
- Holmium nitrate pentahydrate, 99.9% Aldrich
- Acetic acid : 99.8% Merck
- Sodium hydroxide : 99.99% Merck
- Hydrochloric acid : 37 wt. %

- Chitosan : Samcheon Ri Pharm. Co.  
(MW ; 500,000 98 % deacetylated)
- Instant Thin Layer Chromatography plates:  
Gelman Science, Inc.

## 2. 실험방법

### 1) $^{166}\text{Ho}$ -Chitosan Complex ( $^{166}\text{Ho}$ -CHICO) 제조

$^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 를 ( $n, \gamma$ ) 반응시켜  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 를 얻고, 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  저장 용액 (pH 3.75)과 0.75%의 chitosan 저장 용액을 만들어 둔다. Chitosan 용액에 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml를 첨가하고 상온에서 교반하였다. 30분 경과 후 ITLC-SA (MeOH(49) : H<sub>2</sub>O(49) : Acetic acid (2))로 착물생성을 확인하였다.

#### (가) 저장 용액 제조

①  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 제조 : 표적 물질인  $^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  200 mg을 폴리에틸렌 튜브에 넣은 다음 기송관 장치를 이용해 TRIGA Mark III 원자로의 열중성자속이  $2 \times 10^{13}$  n/cm<sup>2</sup>·sec인 조사공에서 10분간 조사한 다음 2 ml의 증류수에 녹였다.  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성을 위한 최적 조건을 찾기 위한 tracer 실험을 위해 10분간 조사시켜 비방사능이 낮은  $^{166}\text{Ho}$  용액 (25  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ )을 얻었다.

② Chitosan 저장 용액 제조 : 1% acetic acid 용액 40 ml에 chitosan 300 mg을 넣고 교반하여 완전히 녹인 후, 10 ml 유리 바이알에 chitosan 용액을 4 ml씩 담아둔다.

#### (나) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 대한 pH 영향

1% acetic acid 용액 4 ml에 chitosan 30 mg을 넣어 만든 chitosan 용액에 0.5N HCl이나 2N NaOH를 가하여 다양한 pH의 chitosan 용액을 준비하였다(pH 범위 1-5). 각각의 chitosan 용액에 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml를 첨가하고 상온에서 교반하였다. 30분 경과 후 ITLC-SA (MeOH(49) : H<sub>2</sub>O(49) : Acetic acid (2))로 반응을 확인하였다.

#### (다) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 대한 반응 시간의 영향

pH 3.0으로 조정된 chitosan 용액 (30 mg/4 ml)에 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml를 첨가하고 상온에서 교반하였다. 5분, 10분, 20분, 30분, 60분간격으로 표지 수율을 확인하였다.

### (라) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 대한 chitosan 농도의 영향

pH 3.0으로 조정된 다양한 농도의 chitosan 용액을 준비한다 (4 mg/4 ml, 10 mg/4 ml, 20 mg/4 ml, 25 mg/4 ml, 30 mg/4 ml, 35 mg/4 ml). 각각의 chitosan 용액에 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml를 첨가하고 상온에서 교반하였다. 실험 방법은 위 (다)항과 동일하였다.

#### (마) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 대한 $^{166}\text{Ho}$ 양의 영향

pH 3.0인 chitosan (35 mg/4 ml)용액을 6개 준비하였다. 각각의 chitosan 용액이 다양한 농도의  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액(포함된  $^{166}\text{Ho}$ 양 : 3.74 mg, 7.48 mg, 11.22 mg, 14.96 mg, 22.44 mg, 29.92 mg)과 위와 동일한 실험 방법으로 반응토록하였다.

### (바) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 대한 chitosan 점성도의 영향

점성도가 다른 (4 cps, 50 cps, 100 cps, 150 cps, 170 cps) 5 종류의 35 mg/4 ml chitosan 용액을 준비하여 pH 3.0으로 모두 조정하고, 앞과 동일한 방법으로 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml와 반응시켰다.

### 2) $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA 제조

3.74 mg의  $^{166}\text{Ho}$ 과 35 mg의 chitosan을 위와 같은 절차에 따라 반응시켜 얻어진  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO를 5배의 증류수로 묽힌 다음, 격렬히 교반하면서 침전이 완전히 생성될 때까지 2N NaOH를 떨어뜨린다(pH 9-10). 이때 생성된 현탁액을 원심분리용 시판관(15 ml)에 옮긴 다음 초음파 세척조에 넣어 5분간 처리하였다. 240g 정도에서 3분간 원심분리한 다음 상층액은 버리고 침전으로 생성된  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 macroaggregate ( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)를 4 ml 생리식염수로 재차 현탁시켰다. 이 현탁액을 10 ml 바이알에 옮겨 넣고 밀봉한 다음 고압 멸균하였다(121°C, 30분). 이 바이알을 초음파 세척소에서 재차 1분간 처리하여 재응집된 입자를 골고루 분산시켰다.

### 3) $^{166}\text{Ho}$ -CHICO와 CHIMA의 체외 안정도 검사

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO 용액(1 mCi/ml)을 상온과 37°C에서 각각 25일간 정온 유지하면서 일정 시간마다 ITLC-SA(MeOH(49) : H<sub>2</sub>O(49) : Acetic acid(2))에 의해  $^{166}\text{Ho}$ 의 물리적 반감기와 유리되어 나오는 방사능을 고려하여 체외안정성을 조사하였다.  $^{166}\text{Ho}$ -

CHIMA의 경우, 0.9% NaCl 수용액 5 ml에 현탁, 여과하는 반복조작을 수행하면서 매회마다 CHIMA에 남아 있는 방사능과 여과액 속의 방사능을 각각 측정하여 비교하였다. 또한  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 마찬가지로 CHIMA를 상온과 37°C에서 각각 25일간 정온 유지하면서 일정 시간마다 침전과 여과액 양쪽의 방사능을 측정하여 안정성을 조사하였다.

4)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA의 체내 안정성 검사

①  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA의 무릎관절내 주사 :  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  제조후, 반응 혼합물의 pH를 5.5로 맞추고 0.45  $\mu\text{m}$  필터를 사용하여 여과하였다.

정상토끼를 대상으로  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  0.5 ml(400  $\mu\text{Ci}$ )를 뒷다리 무릎관절에 주사한 다음 일정한 시간별(1-48시간까지) 감마 카메라를 사용하여 무릎관절내에 남아 있는 방사능을 측정하였다.

$^{166}\text{Ho-CHIMA}$ 의 경우, 121°C에서 30분간 고압멸균후 뒷다리 무릎관절에 주사한 다음 일정한 시간별(1-48시간까지) 감마 카메라를 사용하여 무릎관절내에 남아 있는 방사능을 측정하였다.

②  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 복강내 분포도 측정 :  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  8 mCi를 150 ml의 생리식염수로 희석시킨 후 4 kg의 정상토끼 (female New Zealand white rabbit) 복강내로 주사한 다음 15분, 22시간 48시간 간격으로 감마카메라로 복부의 영상을 얻었다.

결 과

내부 방사선 치료용(Internal radiotherapy)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA를 개발하기 위하여  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성에 pH, 반응시간, chitosan 농도,  $^{166}\text{Ho}$ 의 양 등의 영향을 실험하고,  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$ 를 제조하여  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA의 체내의 안정성 검사 등의 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 천연의  $^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  40 mg을 중성자속이  $2 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$ 인 조사공에서 10시간 조사시켜 104 mCi를 생산할 수 있었으며 이때 방사성 핵종순도가 99.9 % 이상인  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 를 얻었다.

2)  $^{166}\text{Ho}$ 과 chitosan은 격렬히 교반하여 주면 10분 이내에 반응이 완결되며,  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성은 pH에 많은 영향을 받았으며 최적의 pH는 3.0이었다.

3)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성시 적어도 0.75% 이상의 chitosan 저장 용액을 준비해야하고, chitosan 무게에 대해 최고 20% 정도까지는  $^{166}\text{Ho}$ 과 거의 정량적으로 킬레이트를 형성하였다.

4) 최적의 조건하에서  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 형성하고 이 반응 혼합물을 희석시킨 후 격렬히 교반하면서 2 N NaOH를 천천히 떨어뜨려 pH가 9-10에 이르면 입자( $^{166}\text{Ho-CHIMA}$ )가 완전히 생성되었다.

5)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA 현탁액을 상온과 37°C에서 25일간 정온 유지하며 유리되어 나오는 holmium을 측정하였으나 무시될 정도로 적어서 체내 안정성이 매우 높음을 알 수 있었다.

6)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와 CHIMA를 토끼의 무릎관절내에 주사한 다음 감마 카메라로 방사능을 측정된 결과 주사후 48시간 경과하여도 관절외로 누출되는 것은 거의 없어 체내 안정성이 매우 높음을 알 수 있었다.

7)  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 는 복강내에서도 다른 장기 또는 조직으로 누출되는 양이 거의 무시될 정도여서 그 선택성이 매우 높게 나타났다.

8) Chitosan은 생체적합성, 생체친화성 및 생분해성의 특성을 지닌 천연의 고분자로 자유아민기가 베타 방출핵종인 holmium과 킬레이트를 형성하여 방사성 핵종이 치료제로서의 역할을 다한 후, 생체내에서 분해되는 이상적인 제제로 체내의 안정성이 매우 높게 나타나 내부 방사선 치료제로서 이용가능성이 매우 높다고 할 수 있다.

고 찰

천연에는  $^{166}\text{Ho}$ 가 100% 존재하기 때문에 원자로서 ( $n, \gamma$ ) 반응에 의해  $^{166}\text{Ho}$ 만을 쉽게 얻을 수 있다. 따라서 표적 원료 물질이 순수하다면 중성자 핵반응에 의해 생성되는 것은 순수한  $^{166}\text{Ho}$ 뿐이다. 중성자속이  $2 \times 10^{13} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{sec}$ 인 조사공에서  $^{165}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 를 조사시켜  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 을 생산할 수 있었으며 이때 방사성 핵종순도는 99.9% 이상이었다. Chitosan은 금속과 쉽게 킬레이트를 형성할 수 있는 아민기를 포함하고 있어 특정 금속이온을 선택적으로 포집하는 기능성고분자로서 주목을 끌고 있다. 또한 chitosan은 생체적합성 및 생분해성이 뛰어나고 알칼리 용액에서 쉽게 젤(gel)이나 입자(particle)를 형성

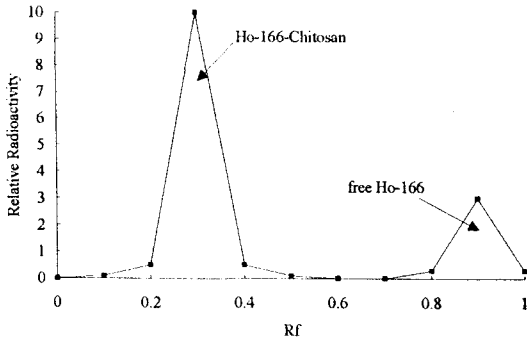


Fig. 1. Typical radiochromatogram of  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO and free  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  obtained by Instant Thin Layer Chromatography Silicic Acid (MeOH(49) : H<sub>2</sub>O(49) : Acetic acid(2))

할 수 있는 물질이다. 특히 중금속 이온에 대해 우수한 흡착력을 가지고 있다고 보고되었다<sup>1-3)</sup>. 그러나 란타넘계열원소들에 관해서는 별로 보고된 바가 없다. Chitosan 과 holmium의 반응은 양이온적 성질을 가진 금속 holmium이 chitosan 분자의 아민기와 킬레이트를 형성한 것으로 설명될 수 있다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 영향을 줄 수 있는 요소는 사용된 chitosan의 점성도 및 분자량, 반응 혼합물의 pH, 반응 시간, chitosan 농도, holmium 농도등이며 본 연구에서는 반응 조건을 달리 하여 실험한 결과,  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성을 위한 최적의 조건을 실험하였다. 반응의 진척도와 표지수율은 전개 용매계를 달리 하여 silicic acid를 고정상으로 하고 MeOH : H<sub>2</sub>O : Acetic acid (49 : 49 : 2)를 전개 용매로 사용하는 Instant Thin Layer Chromatography (ITLC-SA)로 조사한 결과, Fig. 1에서 보듯이 유리된 holmium의 R<sub>f</sub>는 0.8~1.0이고,  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 R<sub>f</sub>는 0.2~0.4로 유리된 holmium과  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 분리가 가장 좋았다. 다음은  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 pH, 반응 시간, chitosan 농도 및 점성도, holmium 농도등의 영향을 실험한 결과들이다.

30 mg의 chitosan을 1% acetic acid 4 ml에 완전히 녹여 chitosan 용액의 pH를 달리한 (pH 1.47, 2.00, 2.78, 3.53, 4.03, 5.00, 6.00) 7개의 vial을 준비하였다. 10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml를 준비된 chitosan 용액에 첨가하고 상온에서 격렬히 교반한 뒤 30분동안 정치시켰다. Table 1에 나타난 결과에서 알 수 있듯이 표지수율은 chitosan 용액의 pH

Table 1. The Effect of pH on Labelling Yield of  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO\*

| pH of Reaction Mixture | Labelling Yield** |
|------------------------|-------------------|
| 1.47                   | 20                |
| 2.00                   | 30                |
| 2.78                   | 95                |
| 3.53                   | 95                |
| 4.03                   | 30                |
| 5.00                   | 20                |
| 6.00***                | .                 |

\* Ten mg of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  in 0.1 ml of distilled H<sub>2</sub>O was reacted with 30 mg of chitosan dissolved in 4 ml of 1 % aq. HAC at r.t for 30 min.

\*\*Determined by Instant Thin Layer Chromatography(ITLC - SA, MeOH(49) : H<sub>2</sub>O(49) : Acetic acid(2)).

\*\*\*Gel was formed up to the pH of 6.0.

Table 2. The Effect of Elapsed Time on Labelling Yield of  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO\* at pH 3.0

| Elapsed Time (min) | Labelling Yield (%)** |
|--------------------|-----------------------|
| 5                  | 70                    |
| 10                 | > 95                  |
| 20                 | > 95                  |
| 30                 | > 95                  |
| 60                 | > 95                  |

\*, \*\* See Table 1

에 크게 영향을 받았다. pH 2.5-3.5에서 95% 이상의 표지수율을 나타냈으며 pH 2.5-3.5 보다 낮거나 더 높은 pH에서는 20-30%의 표지수율로 holmium이 거의 킬레이트를 형성하지 않은 채 남아 있었다. 그리고  $^{166}\text{Ho}$ 과 chitosan 반응혼합물의 pH가 6.0 이상이 되면 겔(gel)을 형성하였다. Chitosan이 금속과 킬레이트를 형성할 때 반응 혼합물의 최적의 pH는 사용된 금속에 따라 매우 다르다. 중금속이온들중  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  등은 pH 5-6에서 100%의 흡착능을 나타내고,  $\text{Hg}^{2+}$  인 경우는 pH 2에서,  $\text{Ga}^{3+}$ ,  $\text{In}^{3+}$ 는 pH 3에서,  $\text{Fe}^{3+}$ 는 pH 2-3에서 각각 최대의 흡착능을 보인다고 알려져 있다<sup>20)</sup>.

Chitosan 30 mg(pH 3.0)과 holmium 3.74 mg을 위와 같은 방법으로 반응시킨 다음, holmium을 첨가한 시간을 기준 시점으로 하여 반응 시간의 경과에 따라 (5분, 10분, 20분, 30분, 60분) 표지수율을 결정하였다. Table 2의 결과에서 보듯이 holmium을 첨가한 후 10분이 경과하면 표지수율이 95% 이상으로 반응

**Table 3. The Effect of the Concentration of Chitosan Solution on Labelling Yield of  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ \***

| Concentration of Chitosan (mg Chitosan/4 ml HAc) | Labelling Yield (%)** |
|--|-----------------------|
| 35   | 99                    |
| 30   | 95                    |
| 25   | 35                    |
| 20   | 20                    |
| 10   | 15                    |
| 4  | 15                    |

\* A 0.1 ml of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (10 mg) was reacted with chitosan solution of various concentration. The pH of reaction mixture was adjusted to 3.0.

\*\* See Table 1

이 거의 완전히 진행되었음을 알 수 있다. 이는 chitosan의 자유 아민기와 holmium이 반응하여  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 형성하는 형성상수(formation constant)가 매우 큼을 지시하는 것이며, 키트(kit)로 만들어 환자에게 주사하기전에 반응시켜 사용할 수 있게 함으로써 매우 편리하다.

10%  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  용액 0.1 ml (3.74 mg의 holmium)를 농도를 달리하여 미리 준비된 chitosan 용액과 반응시켰다. 실험방법은 앞에서 설명한 것과 동일하고  $^{166}\text{Ho}$ 과 chitosan이 반응할 때 chitosan 용액의 pH는 이전 실험결과에 의한 최적의 pH 3.0으로 유지시키고(Table 1), 반응시간은 30분으로 충분히 주었다. 실험 결과는 Table 3에서 보듯이 1% acetic acid 4 ml에 35 mg의 chitosan이 포함되어 있을 때 99% 이상의 표지 수율을 나타냈다. 25 mg 이하의 chitosan을 포함하고 있는 용액은 표지수율이 아주 낮게 나타났다. 이것으로  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성을 위하여 holmium 3.74 mg에 대해 적어도 0.75%이상의 농도를 가진 chitosan 저장 용액을 준비해야함을 알 수 있었다.

$^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성에 대한  $^{166}\text{Ho}$ 양의 영향을 알아보기 위해서  $^{166}\text{Ho}$ 양을 제외시키고 반응에 필요한 나머지 조건들 즉, chitosan 용액의 농도 및 pH는 고정시켰다. pH가 3.0인 chitosan 용액을 35 mg/4 ml의 농도로 6개 준비한 다음 앞에서와 같은 실험 방법으로 반응시켰다. 이때 첨가한 holmium의 양은 각각 3.78 mg, 7.48 mg, 11.22 mg, 14.96 mg, 22.44 mg, 29.92 mg이었다. 실험 결과는 Table 4에서 보

**Table 4. The Effect of an Amount of  $^{166}\text{Ho}$  on Labelling Yield of  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ \***

| Volume of $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (ml)*** | Amount of $^{166}\text{Ho}$ contained (mg) | Labelling Yield (%)** |
|--|--|-----------------------|
| 0.1  | 3.74                                       | 99                    |
| 0.2  | 7.48                                       | 99                    |
| 0.3  | 11.22                                      | 70                    |
| 0.4  | 14.96                                      | 66                    |
| 0.6  | 22.44                                      | 45                    |
| 0.8  | 29.92                                      | 17                    |

\* Chitosan (35 mg/4 ml) was reacted with various amount of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

\*\*\*Stock solution of 200 mg of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ /2 ml water

듯이 7.48 mg의 holmium이 첨가되었을 때 99 %이상의 표지수율을 나타냈으나 11.22 mg 이상의 holmium이 첨가되었을 때는 미반응의 holmium이 용액 속에 많이 존재하고 있음을 알 수 있었다. Chitosan이 holmium과 킬레이트를 형성하기 위해서는 chitosan : holmium은 3.6 : 1의 무게비로 chitosan은 20% 정도의 holmium과 킬레이트를 형성할 수 있다. 이러한 결과는 chitosan이 많은 양의 holmium과 킬레이트 형성이 가능하므로 주사시 신체내로 들어가는 방사선허종의 양을 최소로 할 수 있고, holmium의 비방사능을 높혀 적은 양을 주사하여 치료할 수 있으므로 holmium에 의한 독성은 문제되지 않는다.

Chitosan은 chitin의 탈아세틸화(deacetylation)반응에 의해 얻어지는 것이어서 분자량과 점성도 및 탈아세틸화가 다른 여러 종류의 것을 얻을 수가 있다. 본 실험에서는 삼천리 제약회사로 부터 구득한 점성도가 다른 5종류의 chitosan을 써서  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  형성에 미치는 점성도의 영향을 알아보았다. 그 결과 chitosan의 점성이 100 cps보다 낮아지면 holmium은 거의 표지되지 않은 채 남아 있었다(Table 5.). 따라서 본 연구에 사용된 모든 chitosan의 점성도는 150 cps였다. 점성도가 높은 chitosan이 킬레이트를 더 잘 형성하는 것에 대한 정확한 규명은 아직 밝혀지지 않았고 앞으로 해결해야 할 과제이다.

$^{166}\text{Ho-CHIMA}$ 를 만들기 위하여 먼저 앞실험과 동일한 방법으로 최적조건에서  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 를 생성시킨다. 크기가 작은  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$ 를 만들기 위하여 5배 부피의 증류수로  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 의 반응 혼합물을

**Table 5. The Effect of Chitosan Viscosity on Forming  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO\***

| Viscosity of Chitosan | Labelling Yield (%)** |
|-----------------------|-----------------------|
| 4 cps                 | 15                    |
| 50 cps                | 15                    |
| 100 cps               | 99                    |
| 150 cps               | 99                    |
| 170 cps               | 99                    |

\* Thirty mg of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  in 0.2 ml of distilled  $\text{H}_2\text{O}$  was reacted with 40 mg of chitosan dissolved in 4 ml of 1% aq. HAc at r.t for 30 min..

\*\*Determined by Instant Thin Layer Chromatography. (ITLC - SA, MeOH(49) :  $\text{H}_2\text{O}$ (49) : Acetic acid(2))

뭉친 다음, 격렬히 교반하면서 2N NaOH를 천천히 떨어뜨리면 서서히 입자가 뿌옇게 생성된다. 반응 혼합물의 pH가 9-10에 이르면 입자가 완전히 형성된다. 이때  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 반응 혼합물을 뭉치지 않고 그대로 2N NaOH를 떨어뜨리거나, 2N NaOH를 한꺼번에 첨가하면 젤(gel) 덩어리가 형성되어 초음파 세척조에서 처리를 하여도 원하는 크기의 입자(10-40  $\mu\text{m}$ )를 얻기가 어려웠다. 이는 농도가 너무 진해 입자가 생성되면서 순간적으로 입자들끼리 엉기기 때문이라고 생각된다. 원하는 입자 크기의  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA를 만든 다음 증류수로 5회 세척하면서 매회마다 원심분리하여 침전( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)에 남아 있는 방사능과 상층액의 방사능을 각각 계측하여 비교한 결과, 상층액의 방사능은 거의 무시할 정도였고 대부분의 방사능이 침전물( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)에 남아 있었다. Holmium은 쉽게 수산화물을 형성하여  $\text{Ho}(\text{OH})_3$ 로 존재한다고 알려져 있음에도 불구하고, 침전물( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)에 방사능이 그대로 남아 있다는 것은  $^{166}\text{Ho}$ 과 chitosan의 결합이 안정함을 말해 준다. 즉,  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 형성 상수가  $\text{Ho}(\text{OH})_3$ 의 형성 상수보다 크다. 따라서  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO로부터 간단히 CHIMA를 정량적으로 얻을 수 있었다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO 용액(1 mCi/ml)을 상온과 37°C에서 각각 25일간 정온 유지하면서 일정 시간마다 ITLC(Instant Thin Layer Chromatography)로 확인한 결과,  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO의 위치인  $R_f=0.2\sim 0.4$ 에 방사능이 그대로 남아 있었고 미반응 자유  $^{166}\text{Ho}$ 의 위치인  $R_f=0.8\sim 1.0$ 에는 무시할 수 있을 정도로 작은 방사능을 보였다. 이 결과는  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO는 분해되지 않

**Table 6. The Effect of Elapsed Time at Room Temperature on Stability of  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO\* and  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA\*\***

| Elapsed Time (day) | % Radiochemical Purity of $^{166}\text{Ho}$ -CHICO*** | % Radioactivity in $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA**** |
|--------------------|---|---|
| 0                  | 99  | 100   |
| 2                  | 99  | 100   |
| 4                  | 99  | 100   |
| 6                  | 99  | 100   |
| 13                 | 99  | 100   |
| 25                 | 99  | 100   |

\*Ten mg of  $^{166}\text{Ho}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  was reacted with 35 mg/4 ml chitosan solution (pH 3.0).

\*\*Prepared by treating  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO with 2 N NaOH to make alkaline (pH 9-10)

\*\*\*Determined by ITLC-SA

\*\*\*\*% Radioactivity was determined by subtracting radioactivity of supernatant after washing  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA with 5 ml water

**Table 7. The Effect of Elapsed Time at 37°C on Stability of  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO and  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA**

| Elapsed Time (day) | % Radiochemical Purity of $^{166}\text{Ho}$ -CHICO | % Radioactivity in $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA |
|--------------------|--|---|
| 0                  | 99   | 100   |
| 2                  | 99   | 100   |
| 4                  | 99   | 100   |
| 6                  | 99   | 100   |
| 13                 | 99   | 100   |
| 25                 | 99   | 100   |
| Autoclaving        | (0)  | (100)                                       |

Values in parenthesis are obtained after autoclaving at 121°C for 30 min.

고 체외에서 안정함을 지시하는 것이다(Table 6, 7). 그러나 방사능 농도가 mg당 30 mCi 이상인 경우에는 방사선에 의한 착물의 분해가 일어나지만 아스코르빈산 같은 안정제를 첨가하면 안정화될 수 있다. 방사능 농도에 따른 보다 구체적인 안정성영향은 별도의 논문에서 규명할 예정이다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHIMA의 0.9% NaCl(5 ml) 현탁액을 여과와 현탁조작을 되풀이하면서 침전( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)과 여액의 방사능을 비교한 결과, 생리식염수 5 ml씩 5번 즉 25 ml로 세척하여도 세척액에 녹는 성분이나 콜로이드 형태의 것은 검출되지 않았고 침전( $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA)에 100% 방사능이 함유되었다(Table 8). 또한  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA의 생리식염수 현탁액을 상온과

37°C에서 각각 25일간 정온 유지하면서 일정 시간마다 상층액과 침전 양쪽의 방사능을 각각 측정된 결과 침전에 방사능이 그대로 남아 있고 녹아서 상층액으로 이행한 방사능은 무시할 정도였다(Table 6, 7). 따라서 본  $^{166}\text{Ho-CHICO}$ 와  $\text{CHIMA}$ 는  $^{165}\text{Dy-FHMA}$ ,  $^{165}\text{Dy-HMA}$ 에 비하여 체외안정성이 더 높음을 알 수

있다. 이와 같은 이유는 자유아민기와  $\text{Ho}$  금속이 안정한 킬레이트를 형성했기 때문이라고 생각된다.

pH를 5.5로 맞춘  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  0.5 ml(400  $\mu\text{Ci}$ )를 정상토끼의 뒷다리 무릎관절내에 주사한 다음 일정한 시간별(1-48시간까지) 감마 카메라를 사용하여 영상을 얻고 방사능을 측정하였다. 주사 직후를 기준 시점으로 하고 물리적 방사능감쇠(반감기를 고려)를 보정하여 일정시간마다 관절내에 남아 있는 방사능을 백분율로 표시하였다.  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$ 의 경우 0.9%  $\text{NaCl}$  현탁액 0.5 ml(400  $\mu\text{Ci}$ )를 정상토끼 무릎관절에 주사한 다음 일정한 시간별(1-48시간까지) 감마 카메라를 사용하여 무릎관절내에 남아 있는 방사능을 측정하였다.

Table 9에서 보는 바와 같이 주사후 2시간(99.9%), 6시간(99.9%), 24시간(99.8%), 48시간(99.7%) 등에서 거의 대부분이 관절내에 그대로 머물러 있고 나머지 장기 또는 조직으로 새어나가지 않았음을 확인하였다. 또한 Fig. 2에서 보는 바와 같이 주사후 15분에  $^{166}\text{Ho}$ 의 방사능 거의 전부가 복강내에 분포되었고 이러한 현상이 주사후 22시간, 48시간에서도 지속적으로 나타났으며 복강외로 누출되어 타장기 또는 조직으로 집적되는 방사능은 거의 무시될 정도였다. 난소암으로부터 복강내에 전이된 암을 치료하기 위해 chromic phosphate ( $^{32}\text{P}$ )가 사용되었지만 복강내에 골고루 분포되지 않고 간과 폐 등으로 상당량의 방사능이 누출되어 임상적용에는 문제점이 많은 것으로 보고되었다

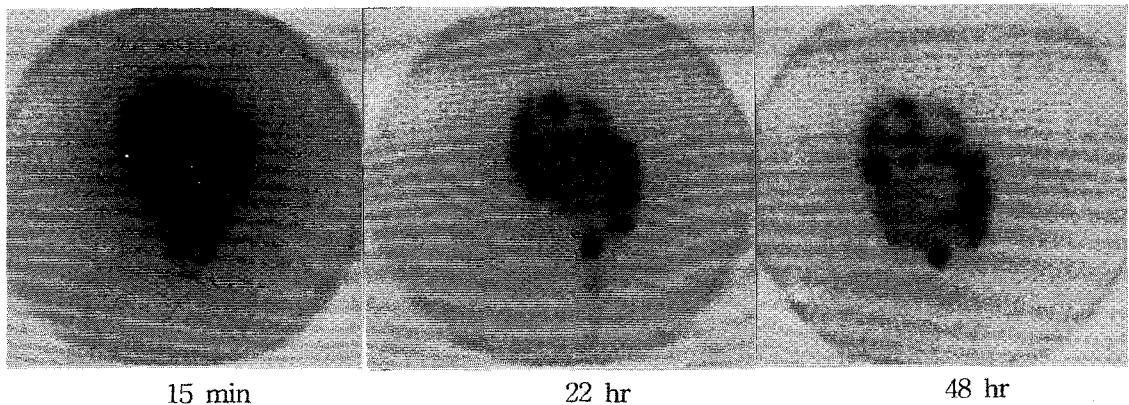
**Table 8. The Effect of Washing Volume on Stability of  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$**

| Washing Volume(ml) | Stability of $^{166}\text{Ho-CHIMA}$ (%) |
|--------------------|--|
| 5                  | 100                                      |
| 10                 | 100                                      |
| 15                 | 100                                      |
| 20                 | 100                                      |
| 25                 | 100                                      |
| 30                 | 100                                      |

**Table 9. Percentage of Administered  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  and  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$  Remaining in Normal Rabbit Knees by  $\gamma$ -Camera**

| Time (hr) | Percentage |            |
|-----------|------------|------------|
|           | Rabbit 1*  | Rabbit 2** |
| 0         | 100        | 100        |
| 2         | 99.9       | 99.9       |
| 6         | 99.9       | 99.8       |
| 24        | 99.8       | 99.8       |
| 48        | 99.7       | 99.7       |

\* Obtained by using  $^{166}\text{Ho-CHICO}$   
 \*\* Obtained by using  $^{166}\text{Ho-CHIMA}$



**Fig. 2. Anterior abdominal views showing intraperitoneal distribution of  $^{166}\text{Ho-CHICO}$  in rabbit from 15 minutes to 2 days after administration**



21, 22). 따라서 본  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO는 타장기로의 누출이 거의 없고 또한 용액제제이어서 기존의 콜로이드나 입자에 비해 훨씬 골고루 복강내에 분포될 것으로 예측되어 이상적인 복강내 전이암 치료제로 사용될 가능성이 높다.  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO와  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA의 체내 안정성이 매우 높은 이유는 전술한 바와 같이 Ho과 킬레이트를 형성한 chitosan이 생체친화성과 생체적합성을 가진 물질로서 체외에서 뿐만 아니라 체내에서도 매우 안정하여 방사능이 거의 또는 완전히 감쇠될 때까지 착물이 관절내에 그대로 흡착되어 있기때문이라고 보며, 방사능이 거의 감쇠된 후에 생분해성 고분자인 chitosan은 서서히 분해될것으로 생각된다. Chitosan의 생체내 메카니즘에 관해서는 더 많은 연구가 아직 남아 있지만, 본연구의 결과로 chitosan의 자유 아민기가 금속과 쉽게 킬레이트를 형성하여 치료용으로서 본래의 역할을 한 후에 생체내에서 분해되는 이상적인 방사성 의약품으로 평가될 것이라고 생각된다.

## 요 약

새로운 내부 방사선 치료용(Internal radiotherapy)  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO와 CHIMA를 개발하고자 한다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성에 pH, 반응시간, chitosan 농도,  $^{166}\text{Ho}$ 의 양 등의 영향을 실험하고, 형성된  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO로부터  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA를 제조하여  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO와 CHIMA의 체내외 안정성 검사 등의 실험을 수행하였다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO 형성시 최적의 조건은 pH 3.0에서 0.75% 이상의 chitosan 용액과, chitosan 무게에 대해 최대 20%까지는  $^{166}\text{Ho}$ 이 정량적으로 착물을 형성하였고,  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO를 알칼리 처리하여  $^{166}\text{Ho}$ -CHIMA를 제조하였다.

그리고  $^{166}\text{Ho}$ -CHICO와 CHIMA는 체내외에서 매우 안정하였다.

$^{166}\text{Ho}$ -CHICO와 CHIMA는 매우 이상적인 carrier로서의 특성을 지닌 천연의 chitosan에  $^{166}\text{Ho}$ 을 쉽게 정량적으로 표지할 수 있고, 높은 체내외 안정성으로 미루어보아 내부 방사선 치료용 제제로서의 이용 가능성이 매우 높으며, 앞으로 충분한 동물실험을 거치면 신규 내부 방사선 치료제로서 새로운 장을 열 수 있을

것이다.

## REFERENCES

- 1) Popper L, Knorr D: *Application of High pressure Homogenization for Food Preservation. Food Technology 1990;84-89*
- 2) R. A. A: Muzzarelli, "chitin", Pergamon Press, oxford 1977;255-265
- 3) 최규석, 안형수: 가교 Chitosan계 인산유도체의 합성과 금속이온 흡착특성에 관한 연구: *Polymer(korea) 1990;14/5:516-526*
- 4) John Wiley, Sons, Inc: *Journal of Applied Polymer Science, 1982;27:4827*
- 5) Deutsch E, Brodack JW, Deutsch KF: *Radiation Synovectomy revisited. Eur J Nucl Med 1993; 20:1113*
- 6) Zukerman JD, Sledge CB, et al.: *Treatment of rheumatoid arthritis using radiopharmaceuticals. Nucl Med Biol 1987;14:211*
- 7) Russell J Mumper, Betty Jo A Mills, U Yun Ryo, Michael J: *Polymeric Microspheres for Radionuclide Synovectomy Containing Neutron-Activated Holmium-166. J Nucl Med 1992; 33:398*
- 8) Ansel BM, Crook A, et al.: *Evaluation of intra-articular colloidal Au-198 in the treatment of persistent knee effusions. Ann Rheum Dis 1963; 22:435*
- 9) Oka M, Rekonen A, et al.: *Intra-articular injection of Y-90 resin collid in the treatment of rheumatoid knee joint effusions. Acta Rheum Scand 1971;17:148*
- 10) Delbarre F, Menkes CJ, et al.: *Une nouvelle preparation radioactive pour la synoviorthese: le rhenium-186 colloidal. Nouv Presse Med 1973; 2:1372*
- 11) Winston MA, Bluestone R, Cracchiolo A: *Radioisotope synovectomy with  $^{32}\text{P}$  chromic phosphate kinetic studies. J Nucl Med 1973;14:886*
- 12) Sledge CB, Noble J, et al.: *Experimental radiation synovectomy by  $^{165}\text{Dy}$ -ferric hydroxide macroaggregate. Arth Rheum 1977;20:1334*
- 13) Chinol M, Vallabhajosula, et al.:  *$^{166}\text{Ho}$ -FHMA: a new agent for radiation synovectomy. J Nucl Med 1989;30:856(abstract)*
- 14) Gumpel JM, Beer TC, Crawley Jcw, Farran HEA: *Yttrium-90 in persistent synovitis of the knee-a single centre comparison: the retention and extra-articular spread of four  $^{90}\text{Y}$  radio-*

- colloids. *Br J Radiol* 1975;48:377
- 15) Noble J, Jones AG, et al.: *Leakage of radioactive particle systems from a synovial joint studied with a gamma camera : its application. J Bone Joint Surg* 1983;65A:381
  - 16) Chinol M, Vallabhajosula, et al.: *In vivo stability of ferric hydroxide macroaggregates (FHMA). Is it suitable carrier for radionuclides used in synovectomy? Nucl Med Biol* 1990;17:479
  - 17) Chinol M, Vallabhajosula, et al.: *Chemistry and Biological behavior of Samarium-153 and Rhenium-186-Labelled Hydroxyapatite Particles: Potential Radiopharmacological for Radiation Synovectomy. J Nucl Med* 1993;34:1536
  - 18) Hnatowich DJ, Kramer RI, Sledge CB, et al.: *Dysprosium-165-ferric hydroxide macroaggregates for radiation synovectomy. J Nucl Med* 1978;19:303
  - 19) Tumer HJ, Claringbold PG, Klemp PFG, Cameron PJ, et al.: *<sup>166</sup>Ho-microsphere liver radiotherapy: a Preclinical SPECT dosimetry Study in the pig. Nucl Med Comm* 1994;15:545
  - 20) Katsutoshi Inoue, Kazuharu Yoshizuka, Yoshinari Baba: *Adsorption of metal ions on chitosan and chemically modified chitosan and their application to hydrometallurgy. Biotechnology and Bioactive Polymers* 1994;35-40
  - 21) Peter K Lechner: *Distribution and Tissue Dose of Intraperitoneally Administered Radioactive Chromic Phosphate (<sup>32</sup>P) in New Zealand White Rabbits. Therapeutic Radiology* 1980;134:729-734
  - 22) Peter K Lechner: *Therapeutic Intraperitoneal <sup>32</sup>P: A Clinical Assessment of the Dynamics of Distribution. Therapeutic Radiology* 1981;138: 683-688
-