의학물리. 제4권 1호 1993

# 인체 등가물질에 대한 방사선 조사

한영환, 권수일
경기대학교 이과대학 물리학과

초 록

L-alanine 단결정의 전자 스핀 공명 신호를 100K까지의 온도 영역에서 측정하였다. L-alanine 단결정을 중수에서 수화용액용법으로 성장시켰으며, 이렇게 성장된 결정에 cobalt-60 감마선을 32Gy 조사시키었다. 중수에서 성장된 L-alanine 단결정의 스펙트럼은 보통 L-alanine의 것과 초미세구조가 같게 나타났으며, 중앙공명선의 FWHM은 25%가 개선되었다. 감마선이 조사될 때 L-alanine에 생성되는 자유기는 $H_3CCR(R=COOH)$ 형태의 화학구조를 가짐을 알 수 있다. 또한 L-alanine의 온도 의존성으로부터 상온에서 L-alanine 자유기의 메틸기는 매우 빠르게 회전하며, 저온으로 갈수록 회전이 점점 정착됨을 알 수 있었다.

## 1. 서 론

근래에 와서 방사선이 생물에 미치는 영향에 대한 많은 연구가 수행됨에 따라 방사선 치료시, 치료 효과를 높이기 위해 조사선량(dosage)범위에 대한 명확한 선량 측정이 요구되어 졌고, 인체 조직을 구성하고 있는 분자들의 방사선 조사시 효과를 연구하기 위해 X-ray 혹은 γ-ray에 조사된 분말 형태(power form), 다결정형태(polycrstalliance form)의 고체들에 대한 연구들이 수행 되었다.

본 실험에서 사용된 alanine은 단백질(protein)을 구성하는 아미노산(amino acid) 중의 하나로 인체조직과 등가이고, 모든 결합이 단일 및 이중 공유결합(covalent bond)으로 이루어져 있고 결합에너지(bonding energy)는 $1.24\times10^{14}\sim4.99\times10^{24}Vmol^{-1}$이다. Alanine은 탄소원자 C〔carbon atom〕를 중심으로 메칠군(methyl group). 카르복실군(carboxyl group). 아미노군(amino group). 수소군(hydrogen group)으로 구성된 비대칭(asymmetric)분자이다. Alanine의 3차원 배열은 탄소원자를 중심으로 4개의 꼭지에 각군들이 배치된 사면체 구조를 이룬다. 이로 인해 탄소원자들 중심으로 4개의 군이 서로 거울상(mirror image)의 중첩(superimpose)을 나타내지 않는 두개의 방법으로 배열될 수 있으며, 이 탄소원자를 chiral atom 혹은 center atom이라 부른다.

이와 같은 이유로 두개의 광학적 이성질체(optical isomer) 혹은 이성체(stereoisomer)가 존재하며, chiral 화합물의 이성체는 L-Glyceraldehyde와 연관된 배치를 가지며 이 경우 L이라 나타내며 D-Glyceraldehyde에 관련된 이성체는 D로 표시한다. 그래서 L-Glyceraldehyde 혹은 D-Glyceraldehyde의 절대적 배치에 의해 alanine을 L 및 D-alanine으로 분류되며, 이상과 같이 분자구조 및 결정 구조(그림 1.)가 완전히 알려져 있어 분말 형태 단결정 형태의 분석이 용이하다.

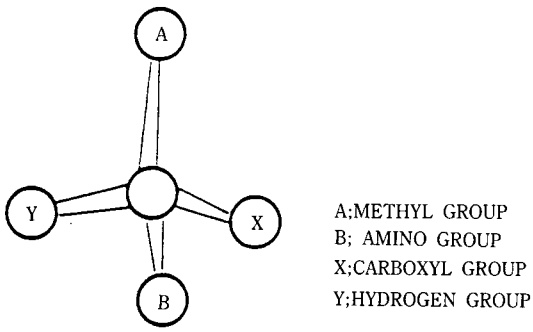



그림 1. alanine의 3차원 공간 배열

alanine은 방사선 조사시 coupling이 측정되지 않는 R group이 존재하는 $CH_3CHR$의 자유기 상태로 나타나므로 분말형태 혹은 단결정 형태의 alanine은 공유결합(covalent bond)이 깨어져 짝짓지 않는 전자(unpaired electron)를 갖는 자유기(free radical)에 대한 ESR(Electron Spin Resonance) 분석이 활발히 수행 되었으며, 특히, alanine의 단결정(single crystal)은 액상법(aqueous solution method)에 의한 결정성장이 용이하며, 성장된 결정은 결정축이 확연히 나타나므로 각 축방향으로 자기장을 걸어주며 축 방향에 대한 ESR spectrum을 얻어 낼 수 있고, 물과 중수(deuterium water)를 모두 용매로 사용하여 결정성장이 가능하며, 특히 중수에서 성장될 경우 ESR spectrum를 더 날카롭게 얻어 낼 수 있으므로 alanine의 용매(solvent)로는 중수를 사용한다. 본 실험에서는 alanine의 이성질체(stereoisomer) 중(그림 2.)의 하나인 L-alanine ESR 분석은 방사선에 조사된 L-alanine 분말을 중수에서 성장시킨 단결정에 대해 microwave X-band에서 수행 되었고 microwave X-band 및 J-band 영역에서 수행 된 결과, 방사선 조사에 의해 생성된 안정한 자유기 $CH_3CHR$에 대한 상온에서의 2차효과(Second order effect)가 I. Miyagawa와 W. Gordy에 의해 밝혀졌고, I. Miyagawa와 K. Iton의 저온실험을 통해 자유기에 메칠군(methyl group)의 숨겨져 있던 재배치 효과가 밝혀 졌다.

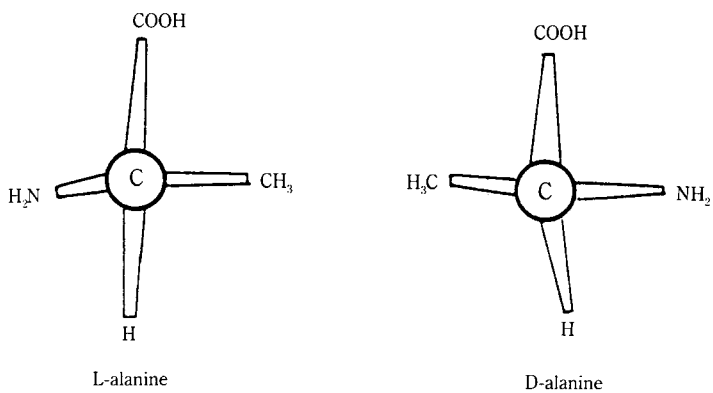


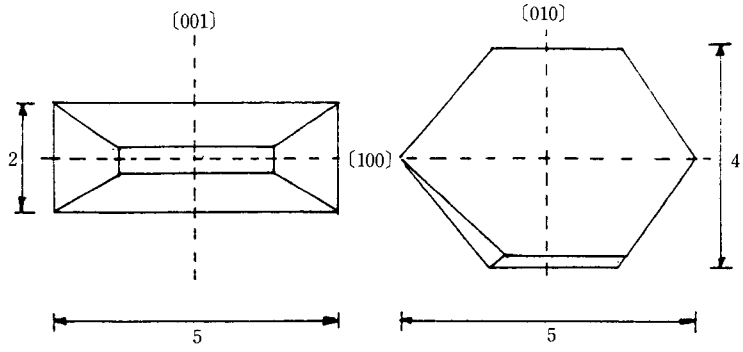

그림 2. alanine의 두 개의 광학적 이성질체

본 실험에서는 현재까지의 연구 결과를 바탕으로 조사되지 않은 L-alanine power을 중수에서 성장시켜 각 결정들을 치료방사선 범위인 32Gy γ-ray를 조사한 후 기초과학 연구지원센타의 자동화된 ESP-300S 실험장치의 microwave X-band 영역에서 상온실험을 통해 각축 방향에 대한 특성 spectrum을 얻었으며, (001) 축방향에 대해 저온실험을 통해 메칠군과 자유기 사이에 초 미세 결합상수(hyperfine coupling constant) A값과 온도 의존성(temperature dependence)을 조사 비교해 보고, 증류수와 중수에서 성장된 결정의 spectrum sharpness를 비교 고찰해 보았다.

## 2. 실 험

### (1) 시료

시료는 영국 BDH사의 L-alanine 99%와 벨기에 JANSSEN CHEMICA사의 L-alanine 99%를 사용하였으며 용매로는 미국 ALDRICH의 중수 99.9%와 일본 CHAMELEON사의 99% 증류수를 이용하여, 용액을 50℃까지 가열한 후 상온에서 서서히 증발시킴으로써 그림 3과 같은 단결정을 얻었다.




단 위 : mm

그림 3. 본 실험에서 성장시킨 L-alanine 결정이 축 방향에 대한 형태

### (2) γ-ray 조사

γ-ray 조사는 성장된 L-alanine 단결정들을 4개씩 5세트로 분류하여 상온에서 미국 PICKER사의 CO-60 원격 치료장치 선원에 의해 약 60㎝거리에서 방사선 조사 치료 선량 범위인 32Gy를 조사하였다.

### (3) 실험장치

본 실험에서의 ESR spectrum은 기초과학 연구지원 센타의 독일 BRUKER사의 자동화된 ESP-300S를 사용하여 얻었다. 시료 공동(cavity)은 동작 진동 모드(operation mode)가 $TE_{102}$인 다목적 직방체형(Mult-purpose rectangular cavity)를 사용하였으며, 전자석은 직경이 30.5㎝이고, 자극 간격은 7.6㎝이며, 자기장은 최고 1.5T까지 올릴 수 있다. Klystron으로

부터 발진되는 microwave의 진동수는 9.4~9.5GHz의 범위에서 측정하였다. 전자 스핀 공명 신호의 검출 방법은 한개의 microwave oscillater를 사용하는 monodyne식으로 microwave가 공동에서 반사 되어 나올때의 신호를 측정하게 되는 반사형(reflection type)이다. ESP-300S의 계통도를 그림 4.에 나타내었다.

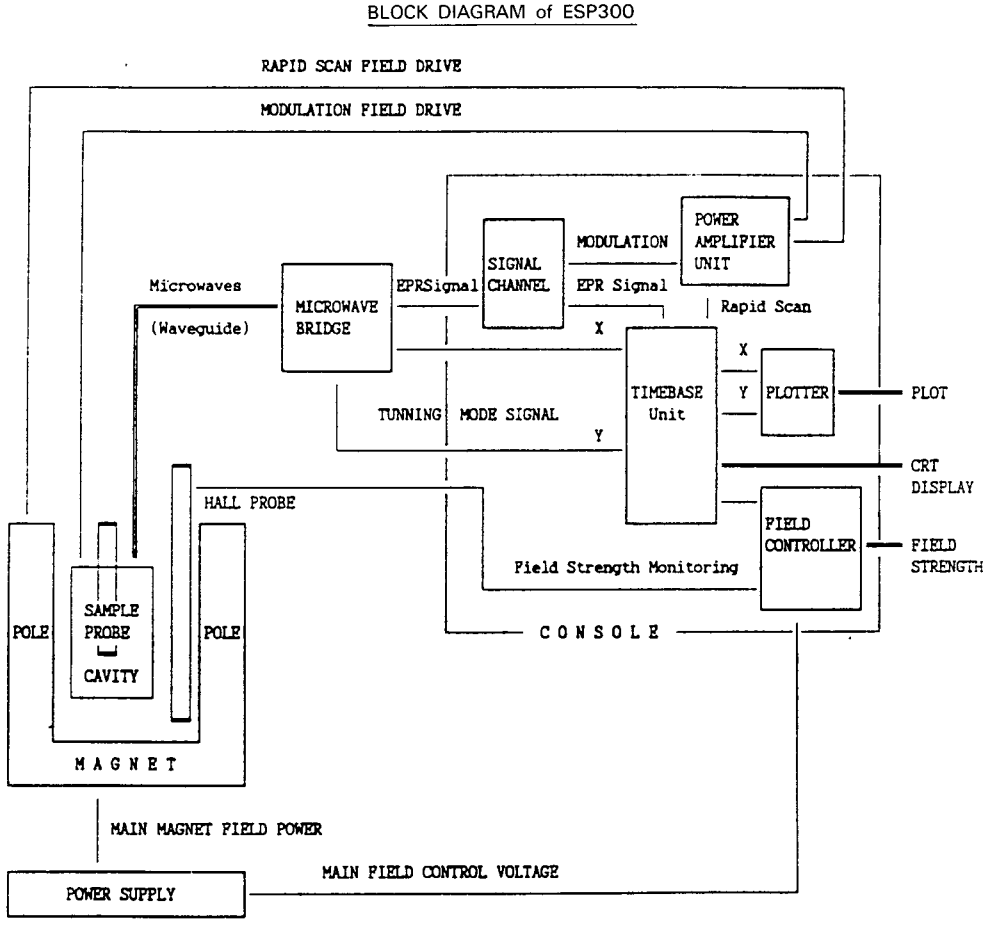



그림 4. ESR 실험장치 Block Diagram

(4) 실험방법

L-alanine 단결정은 각 결정축 방향에 대해 분석하기 위하여 이상적으로 성장된 단결정 그림을 보고 결정축 방향을 결정하여, 직경 4㎜, 길이 25㎝의 quartz관에 cyanoacrylate로 접착하여 microwave X-band영역의 진동수와 각 축방향으로 자기장을 걸어주어 약 200 gauss의 범위에서 측정하였다. 모든 흡수곡선들은 자기장에 대하여 2차 미분형으로 얻어졌다. 저온 실험은 액체 질소를 이용하여 300K~100K까지 10K씩 낮춰가며 실험하였으며, 온도 오차는 ±2.0K 이하였다.

실험 조건들은 (표 1)과 같다.

표 1. 실험 조건

| | | | |
|---|---|---|---|
| Scan range | 200.00G | Modulation freq | 100.00KHz |
| Resolution | 1024 points | receiver gain | 4.00e+0.4 |
| Time constant | 1.28ms | Temerature range | 300K~100K |
| Scan time | 83.886s | Microwave power | 2.00e+oomW |
| Modulation amp | 2.859G | Microwave freq. | 9.4246360GHz |

## 3.. 결과 및 고찰

### (1) 실험결과

모든 spectrum은 peak사이의 gauss 값을 알아내기 용이하며 대칭 관계가 분명히 드러나고, spectrum의 진폭을 비교하기 쉽고 상대적 세기비(relativistic intensity ratio)를 알아내기 편하므로 1차 미분형보다 2차 미분형으로 spectrum을 얻었으며, X축의 scan범위는 200gauss, signal 범위는 약 100gauss에서 나타났으며, g값은 2.0033+0.08로 나타났고, Y축은 intensity scale을 임의의 값으로 표기하며 그림 5~7에 나타냈다.

1)상온에서의 〔001〕, 〔100〕, 〔010〕 축 방향에 대한 결과

〔001〕축과 〔100〕축 방향에 대한 spectrum은 대칭성이 잘 나타났으나, 〔010〕축 방향에 대한 spectrum은 대칭성이 나타나지 않았으며, noise도 매우 심하게 나타났다. 〔001〕축 방향에 대한 peak와 peak사이의 gauss값은 27.0으로 나타났으며, 〔100〕, 〔010〕축 방향에서 1 : 4 : 6 : 4 : 1, 〔100〕축에 대해서는 1 : 2 : 3 : 3 : 3 : 3 : 2 : 1로 나타났으며 〔010〕축에 대해서는 근사적으로 1 : 2 : 3 : 3 : 2 : 1로 나타났으며, 그림 5에 나타내었다.

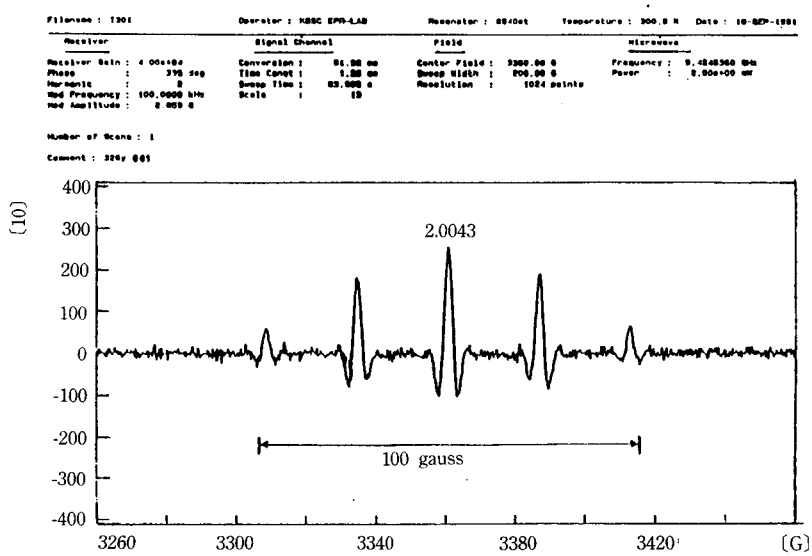



그림 5. 상온에서 32Gy로 조사된 결정축〔001〕 방향의 상온 spectrum

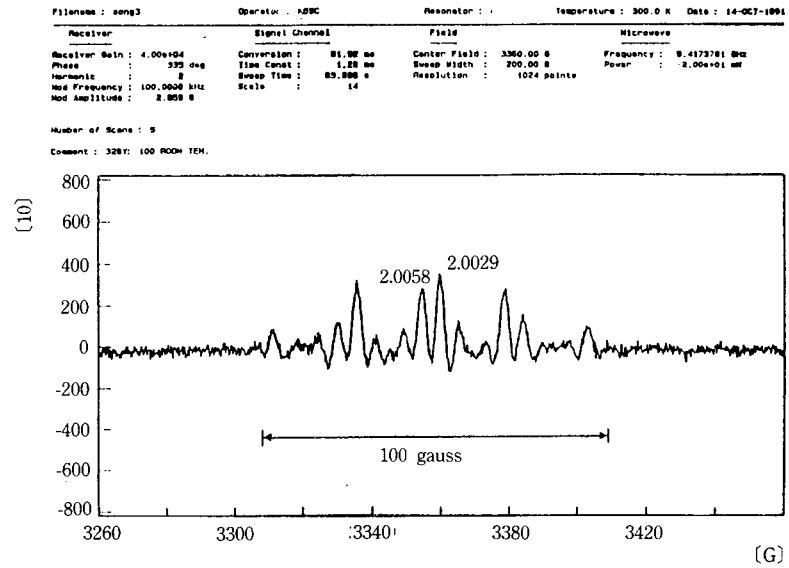



그림 5. 상온에서 32Gy로 조사된 결정축〔100〕 방향의 상온 spectrum

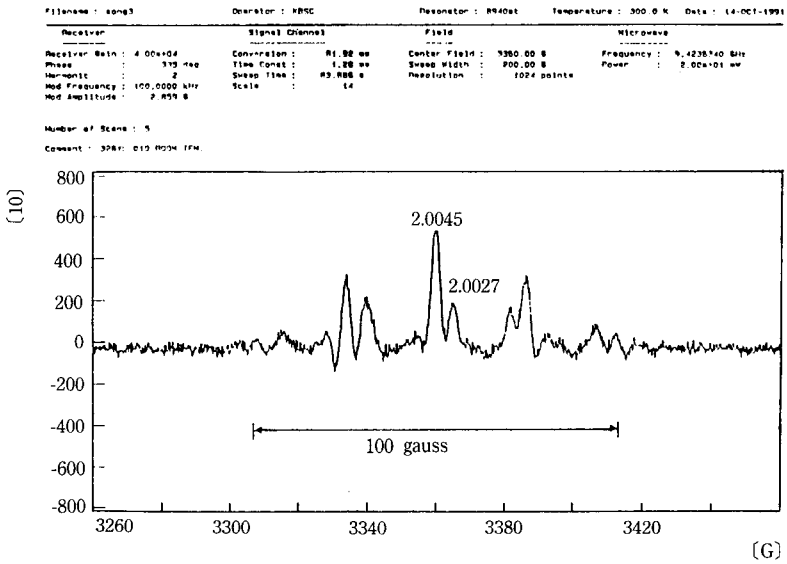



그림 5. 상온에서 32Gy로 조사된 결정축〔010〕 방향의 상온 spectrum

2) 저온 실험에 따른 결과

32Gy로 조사된 결정을 이용하여 〔001〕축 방향에 대해 저온 실험을 한 결과는 그림 5에 나타냈으며 spectrum의 변화는 200K~100K에서 뚜렷하게 일어났으며 상온에서 중앙의 peak는 온도가 낮아짐에 따라 진폭이 조금씩 줄어드는 현상을 볼 수 있었으며 150K에서는 중앙의 peak가 완전히 사라지고 4개의 peak들이 같은 진폭을 나타냈고, 130K에서 spectrum이 갈라지기 시작하여 100K에서 완전히 갈라짐을 볼 수 있다. 상대적 세기비는 300K의

1 : 1 : 2 : 2 : 1 : 1 : 1 : 1 : 2 : 2 : 1 : 1으로 분리됨을 볼 수 있었고 peak와 peak는 약 5 gauss로 나타났으며, spectrum의 최외각선의 위치는 온도에 따라 변함이 없었다.

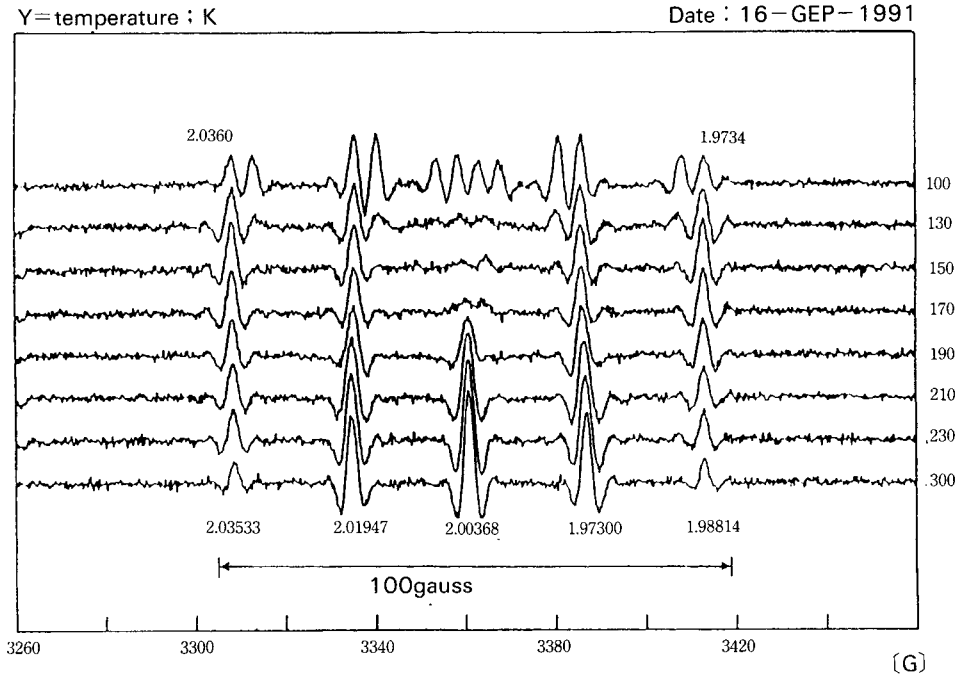



그림 6. 300K~100K범위의 변화 과정 spectrm

3) 중수에서 성장시킨 결과

증류수에서 성장된 결정에 대한 spectrum과 중수에서 성장된 시료와의 spectrum비교를 그림 7에 나타내었고, 2개의 spectrum을 비교해보면 중수에서 성장된 결정의 spectrum은 signal의 noise가 적어졌으며 spectrum의 상대적 세기비는 1 : 4 : 6 : 4 : 1로 모두 같게 나타났으며, 세기는 중수에서 성장된 것이 증류수에 의해 성장된 것보다 약 2배가 강해졌고 sharpness가 개선된 점을 알 수 있다.

(2) 고 찰

1) 상온에서 〔001〕, 〔100〕, 〔010〕축 방향에 대한 고찰

각 축방향에 대한 상온에서의 C-H의 초 미세 결합 상수는 〔001〕축 방향에 대해서는 25.5gauss로 나타났다. 이것은 기존 문헌의 값과 비교해 보면 〔001〕 및 〔010〕축 방향에 대한 값이 차이가 있음을 알 수 있다. 이 차이는 성장된 결정을 관찰해 보면 〔001〕축 방향의 면은 면과 면이 서로 평행하게 잘 성장되었고 면의 크기도 〔100〕, 〔010〕축 방향의 면의 결정성장이 잘 이루어지지 않았기 때문인 것으로 예상된다. 각 축 방향에 대한 초 미세 결합 상수를 문헌값과 비교하여 (표 2)에 나타내었다.

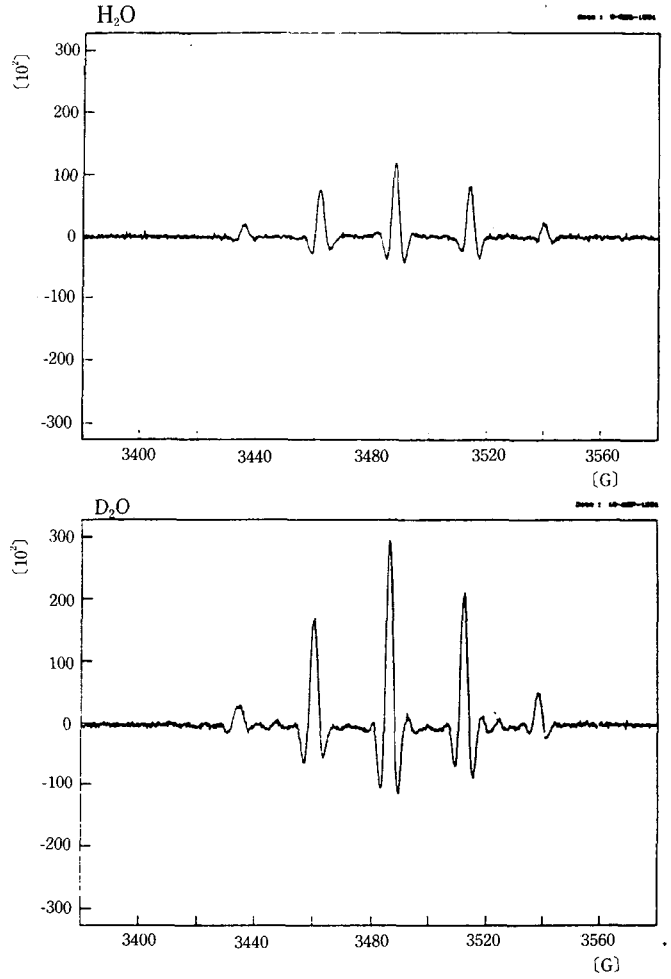



그림 7. 증류수및 중수에 의한 성장된 결정축〔001〕 방향의 spectrum 비교

표 2. 각 축 방향에 대한 C-H 미세 결합 상수 비교

(단위 : gauss)

| Dierction | 문 헌 값 | 본 실 험 값 |
|---|---|---|
| 〔001〕 | 26.1 | 25.5 |
| 〔100〕 | 18.7 | 21.8 |
| 〔010〕 | 19.7 | 25.0 |

2) 저온 실험에 의한 고찰

방사선에 조사된 L-alanine 단결정에 대한 전자스핀 공명연구의 대상은 결정내의 안정된 자유기 $CH_3\dot{C}HR$기인데 $CH_3\dot{C}HR$이온을 전자스핀이 S=1/2인

의 형태로 나타난다.

결정내에 위치하는 상자성 이온의 에너지 준위는 이웃원자들이나 이온들이 만들어주는 전기장에 의하여 영향을 받게 되는데 이것을 결정장(crystal field)이라 한다. 이러한 결정장에 의한 영향과 더불어 스핀-궤도 상호 작용, 스핀-스핀 상호작용 등으로 미세구조(fine structure)가 생기게 된다. 또한, 핵스핀과 전자 스핀사이에 자기장 상호작용으로 인하여 초 미세 구조(hyperfine structure)가 생기게 된다.

L-alanine 자유기 $CH_3\dot{C}HR$에 대한 스핀 Hamitonian은 다음과 같다.

$$H=Hz+Hc.f.+H_h \cdots\cdots\cdots\cdots (2.1)$$

이 식에서 Hz은 전자가 독립적으로 외부 자기장내에 존재할 때 Zeeman 항으로

$$Hz=\beta(\vec{H}.\ \vec{g}.\ \vec{S}) \cdots\cdots\cdots\cdots (2.2)$$

여기서 β=Bohr Magneton이고 H는 외부자기장, S는 전자스핀 벡터, g는 분광학적 분리인자이다. Hc. f. 는 결정장 항으로

$$Hc.f. =\sum eiV(ri) \cdots\cdots\cdots\cdots (2.3)$$

V(ri)는 각 전자의 상호 작용을 포함하는 이온의 electrostatic potential이다. Hh는 미세구조항으로

$$Hh=\vec{S}.\ A.\ \vec{I} \cdots\cdots\cdots\cdots (2.4)$$

여기서 S는 전자스핀이고, A는 초미세상수 I는 핵스핀이다. 분광학적 분리인자 g는 전자스핀 공면을 일으킨 자성 이온이 결정 내부에서 가지게 되는 결정 구조와 연관된 대칭성을 가지게 되므로 일반적으로 텐서로 표시된다. g텐서의 주축을 x, y, z 좌표축으로 잡고, 이에 대한 자기장 B의 방향 여현을 *l. m. n*이라 하면

$$\vec{B}\cdot\ddot{g}=(l.\ m.\ n)B\cdot\begin{pmatrix} gz & 0 & 0 \\ 0 & gy & 0 \\ 0 & 0 & gz \end{pmatrix}$$

$$=(lgx\ .\ mgy\ .\ ngz)B \cdots\cdots (2.5)$$

이므로 $\vec{B}\cdot\ddot{g}$ 의 방향을 Z([001])축으로 잡으면

$$H=\beta\,|\,\vec{B}\cdot\ddot{g}\,|\,Sz \cdots\cdots\cdots\cdots (2.6)$$

으로 나타나므로 다른 축방향의 기여를 무시할 때 상수로 놓을 수 있다. 실험결과에 의해 300K에서의 $H_3C\dot{C}HR$과 메칠군의 spectrum diagram과 100K 에서의 diagram 을 비교해 보면 그림 8과 같이 나타낼 수 있다. 이 diagram을 흡수형태로 분석하기 위해서는 1차 근사만으로도 가능하다. 메칠군의 3개의 수소원자에 대하여 Hamitonian의 미세항은

$$\vec{H}' = (A^{I}\vec{I}_{1Z} + A^{II}\vec{I}_{2Z} + A^{III}\vec{I}_{3Z})\vec{S}z \cdots\cdots (2.\ 7)$$

으로 나타나며 $A^{I}$, $A^{II}$, $A^{III}$은 메칠군의 3개의 수소원자에 대한 미세상수이며 Iz과 Sz은 외부장과 평행한 핵스핀 및 전자스핀이다. H′에 대한 에너지는

$$E' = (A^{I}I_{1Z} + A^{II}I_{2Z} + A^{III}I_{3Z})M \cdots\cdots (2.\ 8)$$

으로 나타낼 수 있으며 각 스핀에 대해 4개의 집합으로 나타나는 8개의 핵스핀 상태가 가능하다.

표 3. 각 전자 spin 상태에 대한 8개의 핵 spin상태

| | |
|---|---|
| I) (+++) | II) (−++), (+−+), (++−) |
| III) (+−−),(−+−),(−−+) | IV) (−−−) |

각 A값들은 에너지 고유치로부터 △Sz=1인 선택규칙을 적용하여 $(\triangle H)h = A/g^{\beta}$로서 구할 수 있다. 그리고 메칠군이 상온에서 상당히 빨리 재배치되므로 이 때의 Hamiltonian은

$$\dot{H} - \dot{A}(\vec{I}_{1Z} + \vec{I}_{2Z} + \vec{I}_{3Z})\vec{S}_{Z} \cdots\cdots (2.\ 9)$$

으로 쓸 수 있고 A의 평균값은

$$\bar{A} = 1/3(A^{I} + A^{II} + A^{III}) \cdots\cdots (2.\ 10)$$

으로 나타낼 수 있다.

Spectrum에 대하여 이 값들을 계산해 보면 다음 (표 4)와 같이 나타나며 $A^{III}$는 ·C−H에 대한 미세 상수이다. 이 값들로부터 〔001〕축 방향의 메칠군이 3개의 수소원자는 상온에서 상태 II와 III가 서로 섞여 있으며 저온에서는 ·C−H 효과에 의해 동등하지 않은 기여를 나타내나 ·C−H 효과에 대한 메칠군의 (−−−)와 (+++) 상태의 더 이상의 분리는 온도에 무관한 것으로 나타났으며 다른 선들은 온도에 의존하는 것을 볼 수 있다.

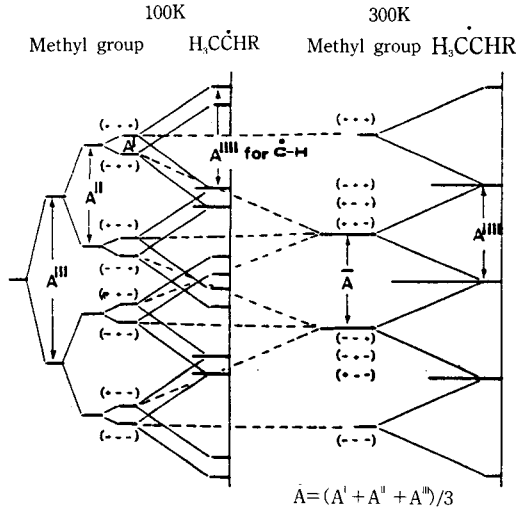



그림 8. 300K와 100K에서의 흡수곡선에 대한 spectrum diagram

표 4. 〔001〕축 방향의 핵 미세 결합 상수 비교

77K, 293K 값은 (1962년) I.Miyagawa, K. Itoh의한 것이고, 100K, 300K 값은 본 실험 결과임.

단위 : gauss

| | | Nuclear hyperfine coupling const | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $CH^3$ | | | | ·CH |
| Temperature | Direction | $A^{I}$ | $A^{II}$ | $A^{III}$ | Mean | $A^{IIII}$ |
| 77K | 〔001〕 | 5.1 | 27.6 | 46.1 | 26.2 | 27.6 |
| 100K | 〔001〕 | 5.0 | 27.5 | 45.6 | 26.3 | 27.0 |
| 293K | 〔001〕 | | 26.3 | | | 26.3 |
| 300K | 〔001〕 | | 26.0 | | | 26.0 |

3) 중수에서 성장시킨 결과에 대한 고찰

1961년 I.Miyagawa와 K.Itoh는 조사된 L-alanine분말을 중수에서 성장시켜 ESR spectrum의 sharpness가 좋아지는 것을 관찰하였으며, 그후 중수에서 성장된 L-alanine의 Proten-deutron Exchange 효과가 1963년 K.Itoh와 I.Miyagawa에 의하여 보고되었다. 본 실험에서는 Proton-Deutron Exchange 효과를 고려하지 않고, 물과 중소로서 성장된 단결정의 2차 미분 의 FWHM(the Full Line Width at the Half Maximum)을 증류수에서 성장된 것과 중수에서 성장된 결정의 spectrum sharpness의 비교 결과를 (표 5)에 나타내었다.

표 5. 증류수와 중수에서의 결정 성장에 의한 FWHM 비교 FWHM1은 중앙 Peak에서의 값이며, FWHM2는 다음 Peak에서의 값임.

단위 : gauss

| Compounds | $CH_3(NH_2)COOH$ | $CH_3CH(ND_2)COOD$ |
|---|---|---|
| FWHM1 | 3.2 | 2.4 |
| FWHM2 | 3.0 | 2.5 |

## 참 고 문 헌


1. Sung Sil Chu. 의학 물리 제1권 1호 31(1991)
2. B. Smaller, M. S. Matheson. J. Chem. Phys. 28. 1169(1958)
3. P. Neta, R. W. Fessenden. J. Phys. Chem. 75. 738(1971)
4. P. Neta. R. W. Fessenden. R. H. Schuler. J. Phys. Chem. 75, 1654(1971)
5. R. J. Fletterick, Chun-Che Tsai. Hughes. J. Chem. Phys. 75. 1654(1971)
6. I. Miyagawa, W. Gordy, J. Chem. Phys. 30. 1590(1959)
7. I. Miyagawa. N. Tamura. J. W. Cook Jr., J. Chem. Phys. 51. 3520(1969)
8. E. A. Friday. I. Miyagawa. J. Chem. Phys. 55. 3589(1971)
9. A. L. Lehninger, Principle of biochemistry. Worth (1982) ch. 2-ch.5
10. E. B. Uvarov Issaacs. The Penguin Dictionary of Science. ELBS(1986) p160
11. I. Miyagawa. W. Gordy. J. Chem. Phys. 32. 255(1960)
12. I. Miyagawa. K. Ithoh, J. Chem. Phys. 36. 2157(1962)

13. J. W. Sinclair. M. W. Hanna. J. Phys. Chem. 71, 84(1967)
14. J. G. Powles, H. S. Gustowsky. J. Chem. Phys. 23. 692(1955)
15. M. Karplas, J. Chem. Phys. 30. 15(1958)
16. C. P. Poole Jr., Electron Spin Resonance, Interscience (1967)
17. 조성호, 자기공명방법, 민음사(1985)
18. R. S. Alger. Electron Paramagentic Resonance. Interscience(1968) ch.1－ch.2
19. P. B. Ayscough, Electron Spin Resonance in Chemistry. Methuen(1967) ch.1－ch.3
20. H. M. Assenhem. Electron Spin Resonance, Plenum Press(1966) ch.2
21. K. Itoh. I. Miyagawa, J. Chem. Phys. 40. 3328(1964)

# Electron Spin Resonance of an Irradiated Single Crystal of L-alanine

Young Hwan Han, Soo Il Kwon
Dept. of Phy. Kyonggi University. Suwon 440-760

The electron spin resonanec of sigle crystals of L-alanine have been observed at T=300K, 100K and analyzed for different orieantations of the crystal in the magnetic field and at microwave frequency X-band.

The stable free radical profuced by the irradiation is proved to be of the form $CH_3CHR$, where R is a group which has no nuclei with detectable coupling.

A notable dependence on temperature of the absorption was observed in the range from 110K to 210K. It was concluded that the reorietation of the methy group of the radical $H_3CCHR$ is quenched at low temperature.