DAEHAN HWAHAK HWOEJEE
(Journal of the Korean Chemical Society)
Vol. 34, No. 3, 1990
Printed in the Republic of Korea

Zn의 생화학적 역할에 관한 이론적 연구*

金鎬順·金光洙†
포항공과대학 화학과
(1989. 11. 6 접수)

Theoretical Studies on the Biochemical Roles of Zn*

Ho Soon Kim and Kwang Soo Kim†
Department of Chemiestry, Pohang Institute of Science and Technolgy, Pohang 790-600, Korea
(Received November 6, 1989)

요 약. Zn의 생화학적 역할을 연구하기 위하여, 간단한 모델시스템을 설정하였다. 즉, Zn가 리간드인 OH_2나 NH_3와 배위결합을 이루거나, carboxypeptidase A(CPA)의 기질에 해당하는 펩티드의 O=C-와 배위결합을 할 때, 그 기하학적 구조 및 net atomic charge의 변화를 조사하였다. Double Zeta basis set를 사용한 *ab initio* HF-SCF 계산에 의하면, Zn는 이들 리간드의 O-H, N-H, O=C-를 매우 polar 하게 만든다. 특히, 펩티드의 탄소는 친전자성이 매우 증가하여, nucleophile의 공격을 용이하게 받을 수 있을 것으로 예측되었다. 또한, CPA에서 Zn 주위에 있는 리간드의 분자배위 상태를 조사하기 위하여, CPA+glycyltyrosine complex에 관해 molecular mechanics 방법을 적용하였다. 이 결과를 X-ray 결과와 비교하였을 때, Zn는 4배위 결합 이외에 물분자도 관여할 것으로 예측된다.

ABSTRACT. To study the bioloical roles of Zn, we investigated simple model systems of Zn^{++} coordinated with OH_2 or NH_3, or with O=C– in peptide. The geometrical strcutures and net atomic charges were calculated by the ab initio HF-SCF theory using double zeta basis sets. The ligands of O-H, N-H, and O=C– are very polar due to Zn^{++}. Therefore, the carbon atom in peptide becomes so electrophilic that it can be easily attacked by other nucleophiles. In addition, to understand how Zn^{++} is coordinated with ligands in enzyme, a molecular mechanics method is applied to the system of the enzyme of carboxpeptidase A (CPA) with the substrate of glycyltyrosine. From our results, it appears that the Zn ion is coordinated not only by four ligands in enzyme and substrate but also by one water molecule.

서 론

생화학물질에 있는 금속이온의 생화학적 작용은 활성자리 등에서 중요한 역할을 함으로 이에대한 연구는 지대한 관심을 끌어 왔으나, 그 작용에 대한 이해는 별로 밝혀져 있지 않다. 특히 Zn는 많은 생화학물질에 존재하므로, 효소의 촉매작용을 이해하는데 있어서, Zn의 생화학적 역할에 대한 연구는 매우 중요하다[1~5]. Zn와 관련된 효소로는 단백질 가수분해 효소인 carboxypeptidase A (CPA), 고혈압 강하와 관련되는 angiotensin converting enzyme(ACE), 이 외에 thermolysin, carbonic anhydrase, horse liver alcohol dehydrogenase(HLADH) 등이 있다[6~16]. 이들 효소의 활성자리는 Zn^{++}에 단백질의 아미노산 잔기가 배위되어 서로 유사한 기본구조를 갖는다. 금속효소에서 Zn^{++}는 촉매적, 구조적, 통제적 및 비촉매적 등의 역할로 분류되는데, 주로 촉매적 및 구조적 역할로 논의되고 있다.

*이 논문을 회갑기념으로 이익춘 교수님께 바칩니다.

X-ray 분석에 의하면 촉매역할을 하는 Zn^{++}는 3개의 단백질 리간드와 물분자 한 개가 결합되어 있고, 구조적 및 비촉매 역할을 하는 Zn^{++}는 4개의 단백질 리간드와 결합되어 있다[1]. 따라서 효소의 활성자리에 있는 Zn^{++}는 4배위체인 4면체자리를 차지하는 것으로 알려져 있으나, 5배위설도 거론되고 있으며[17], Zn^{++}의 수화에 관한 6배위설이 computer simulation에 의하여 보고되어 왔고[18], 또한, X-ray diffraction으로도 확인되었다[19,20]. 또한 Zn^{++}에 의한 반응기구에 대한 분분한 의견도 있고, 그 생화학적 역할에 대한 이해는 아직 매우 미비하므로, 본 연구에서는 간단한 모델시스템을 설정하여 *ab initio* 계산에 의한 이론적 접근을 시도하여, Zn^{++}를 포함하고 있는 유사한 활성자리를 가지는 시스템에 대한 기초적 연구를 수행한다. 또한, CPA에 substrate(glycly tyrosine)가 결합된 약 3000개의 원자로 이루어진 시스템을 편의상 CPAS로 표기하기로 하고, 그 시스템 전체를 molecular mechanics 방법을 이용하여, 이 결과를 X-ray 구조와 비교 연구한다. 특히, Zn는 유기화합물의 원자들보다 매우 큰 원자이므로, 이를 포함하는 시스템에 대해 정량적인 결과를 얻는다는 것은 아직 가능한 실정이 아니므로, 정성적인 결과를 얻어서 활성자리의 전하분포를 비교 연구함으로써 반응성을 예측하고, 또한 효소내에서 Zn의 배위상태를 조사함으로써, Zn-효소간의 생화학적 이해를 돕고자 하는 것이 본 연구의 목적이다. 특히, 간단한 모델시스템이 아니라 전체시스템을 계산하는 molecular mechanics, molecular dynamics 연구에 필요한 Zn의 force field parameter가 없으므로 이러한 계산을 위한 기초자료 및 parameter를 얻는 것도 본 연구의 관심사이다.

계산 방법

HF(Hartree Fock)-SCF(self-consistent-field) 이론을 기초로한 Gaussian 88 프로그램[21]을 이용하였으며, basis set는 double zeta(DZ) level로 계산하였다. Zn를 제외한 원소는 Dunning의 DZ[22]를 이용하였으며, Zn에 대한 Dunning의 basis set는 없으므로, Wachters의 basis set(8*s* 4*p* 2*d*)[23]를 사용하였다. Zn에 관해서는 기존의 대부분의 basis set가 SCF 수렴이 어렵고, net atomic charge가 불합리한 값으로 종종 얻어지나, Wachters의 DZ basis set는 net atomic charge가 합리적인 값으로 나타나며, SCF 수렴문제도 상당히 완화된다. 예를 들면, 하전이 중성인 리간드가 배위되어 있을 때 STO-3G로 계산할 경우 Zn^{++}의 net atomic charge가 불과 0.8 정도 밖에 되지 않으나, DZ basis set의 경우는 1.7에서 1.9 정도의 합리적인 값을 갖는다. 최근 Kitchen과 Allen[24]은 Zn에 관해 effective core potential을 이용하여 일부 간단한 시스템을 계산하였으나, 본 연구에서는 정확한 HF-SCF 계산을 여러 시스템에 수행함으로써 신빙성 있는 net atomic charge를 얻어, 친전자성이나 친핵성 등에 관한 정량적 이해를 추구할 수 있게 한다. Macromolecular mechanics에서 사용한 force field parameter는 Kollman 등의 것을 사용하였으며, 유전상수는 자주 사용되는 intersite distance R_{ij}를 사용하였다[25,26]. Zn^{++}에 대한 van der Waals minimum radius와 well depth는 *ab initio* interaction potential 결과로부터 파라미터화 하였다. Non-bonded pairs에 대한 cutoff distance는 8 Å으로 하였다.

모델설정. 본 연구에서는 CPA, ACE 등의 효소나, 그 활성자리가 비슷한 Zn^{++} 화합물에서 Zn^{++}의 특성을 알아보기 위해서, 계산 편의상 활성자리 부분을 간단한 형태로 모델화하여 *ab initio* 계산을 하였다. 위의 효소의 활성자리 부분은 단백질 중의 아미노산 잔기인 산소나 질소가 Zn^{++}에 배위되어 있어, 산소를 포함한 가장 간단한 분자로 H_2O를 택하고, 질소를 포함한 가장 간단한 분자는 NH_3로 대치하였다.

먼저 Zn, Zn^{++}, $Zn(H_2O)^{++}$와 $Zn(H_2O)_4^{++}$의 *ab initio* 계산을 수행하여, Zn^{++}가 생화학물질의 산소원자와 배위화합물을 형성함에 따른 변화를 조사하고, 아울러 $Zn(NH_3)^{++}$, $Zn(NH_3)_4^{++}$도 조사함으로써, Zn^{++}와 질소원자와의

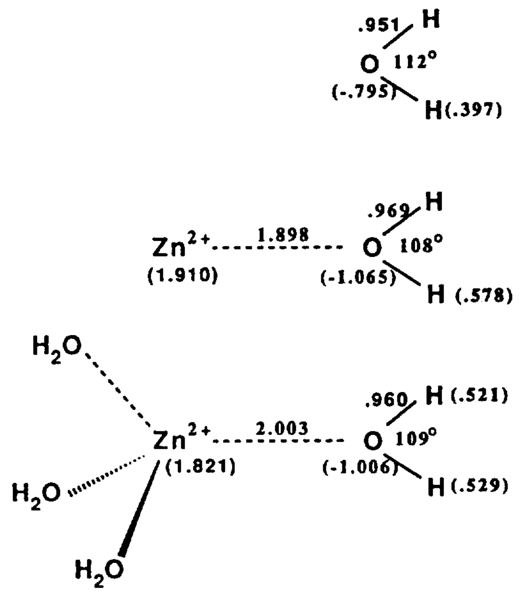

Fig. 1. Geometries and net atomic charges of H_2O, Zn $(H_2O)^{2+}$, and $Zn(H_2O)_4{}^{2+}$. The net atomic charges are given in parentheses.

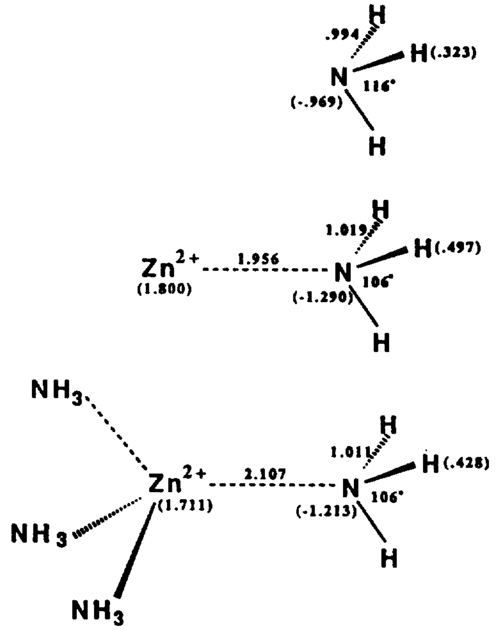

Fig. 2. Geometries and net atomic charges of NH_3, Zn $(NH_3)^{2+}$, and $Zn(NH_3)_4{}^{2+}$.

배위결합에 관한 연구도 수행한다. 다음에 Zn^{++}와 기질과의 결합관계를 이해하기 위해 peptide의 기본체인 $HCONH_2$를 기본모델로 하여, 이에 Zn^{++}가 카르보닐 산소에 결합될 때와 결합되지 않았을 때의 net atomic charge의 차이를 조사한다.

Molecular mechanics 연구에서는 CPAS system에서 Zn가 물분자와 전혀 배위되어 있지 않은 상태, 물분자가 배위된 상태, 물분자가 배위되고 기질의 NH_2가 $NH_3{}^+$로 대치된 상태의 세 경우를 조사한다.

결과 및 고찰

Zn^{++}가 H_2O의 산소원자와 배위결합을 형성함에 따른 그 구조변화를 HF-SCF level로 계산하였으며, 그 optimize된 구조를 *Fig.* 1과 2에 도시하였다.

그림에서 원자간의 결합길이(Å)와 결합각(degree)을 표시하였으며, 괄호안의 값은 net atomic charge이다. $Zn(H_2O)_4{}^{++}$는 D_{2d} 대칭구조 상태에서 optimize하였으며, $Zn(NH_3)_4{}^{++}$는 D_2 대칭구조 상태에서 optimize하였다. Gaussian DZ basis set에 의한 계산의 경우, H_2O와 NH_3의 결합각은 과대 평가되지만, 주위 시스템에 의한 구조 및 에너지 변화는 일관성이 있으므로, 시스템 변화에 따른 이론적 연구에 흔히 사용된다[27]. Zn^{++}에 H_2O 한 분자와 네 분자가 배위되어 있을 때, O-H 결합길이는 0.018 및 0.009 Å 늘어나고 H-O-H 결합각은 4° 및 3° 정도 감소된다. Net atomic charge를 비교해 보면, O는 −0.795에서 −1.065 및 −1.006으로, H는 0.397에서 0.578 및 0.529로되어 O-H 간의 polarity가 증가하고, Zn^{++}는 2.0에서 1.910 및 1.821로 감소되었다. 따라서, Zn^{++}에 H_2O 한 분자가 있을 때, 그 변화가 가장 크지만, 4분자가 결합되어도 그 변화가 크게 줄지 않으므로, 5-6개의 H_2O 분자가 결합되어도 4개가 결합되어 있을 경우에 비해 그 변화가 조금 줄어든 값을 가질 것으로 기대된다. Zn^{++}에 NH_3가 결합되어 있을 때도 H_2O와 비슷한 경향성을 보여준다. 따라서, Zn^{++}는 N-H나 O-H 길이를 약간 늘려주고, H-N-H나 H-O-H의 결합각을 줄이며, 특히 N이나 O는 더욱 음하전을 띠게 하고, H는 더욱

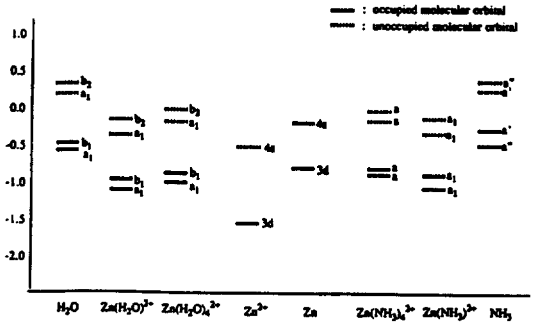

Fig. 3. Energy levels of frontier orbitals.

양하전을 띠게 함으로써, N-H나 O-H를 매우 polar 하게 만든다. Net atomic charge를 고려해 보면, $Zn(NH_3)_4^{++}$와 $Zn(H_2O)_4^{++}$에서 Zn^{++}의 하전이 각각 1.711과 1.821로서, $Zn(NH_3)_4^{++}$의 Zn^{++}가 NH_3 리간드에서 더 많은 음하전을 끌어당김으로서, 리간드의 N-H를 더욱 polar하게 한다. 즉, $Zn(H_2O)_4^{++}$의 O와 H의 net charge는 −1.006과 0.52인데, $Zn(NH_3)_4^{++}$의 N과 H는 −1.213과 0.43이다.

Fig. 3에 위에 논의된 분자시스템에 대한 frontier orbitals의 에너지준위들을 도시하였다. 그림의 중앙에 위치한 Zn의 전자배열은 [Ar]3$d^{10}4s^2$이고, Zn^{++}의 전자배열은 [Ar]3d^{10}인데, 3d와 4s만 표시하였다. Zn^{++}의 LUMO(lowest unoccupied molecular orbital)인 4s 궤도함수는 Zn의 4s 궤도함수보다 0.319 hartree 정도 낮아서 리간드인 H_2O나 NH_3의 HOMO(highest occupied molecular orbital)와 에너지준위가 비슷하여, Zn^{++}의 LUMO와 리간드의 HOMO가 서로 작용하여 배위된 화합물을 안정화시킨다. H_2O가 Zn^{++}에 결합될 때 H_2O 자체인 경우보다 HOMO가 훨씬 낮은 에너지준위를 가지는 것을 그림에서 볼 수 있으며, H_2O가 4개 결합되어도 1개 결합되는 것에 비해 HOMO 에너지준위가 별로 변하지 않으므로, Zn^{++}가 4-6개의 리간드를 가질 수 있음을 예측할 수 있다. NH_3의 경우에서도 비슷한 현상을 관찰할 수 있다.

이상에서 Zn^{++}의 리간드에 대해 설명하였으므로, 이제 Zn-효소가 기질과 결합할 때 기질에 어떻게 작용할 수 있는가를 조사한다. 한 예로써,

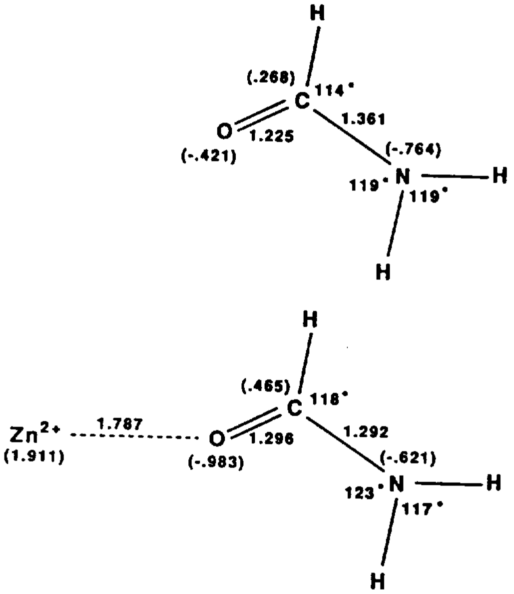

Fig. 4. Geometries and net atomic charges of $HCONH_2$ and $Zn(HCONH_2)^{2+}$.

CPA라는 효소는 기질인 단백질의 펩티드 결합을 끊는 작용을 하는것으로 알려져 있다[9]. Glycyl-tyrosine을 기질로 하는 CPA의 X-ray 구조에 의하면 Zn^{++}는 카르보닐 산소가 배위된 형태이다[28]. 간단한 모델로서 펩티드 분자를 택하여 계산한 결과를 *Fig.* 4에서 살펴보면, 펩티드 분자가 Zn^{++}에 배위되었을 때 C-O의 결합길이가 다소 길어지고 C-N의 결합길이가 다소 짧아지는 현상이 있으나, 가장 현저한 변화는 O=C-에서의 net atomic charge이다. 즉, Zn^{++}가 없을 때에 비해서 Zn^{++}가 있게될 경우에 O와 C의 net charge는 −0.421과 0.268에서 −0.983과 0.465의 현저한 변화가 일어난다. 따라서 O=C-는 매우 polar하게 되고, 특히 카르보닐 탄소의 친전자성이 매우 증가하여 nucleophile의 공격을 용이하게 해줄 것이다. 이러한 현상은 Zn^{++}가 4~6개의 리간드를 형성한 상태에서의 계산에서도 비슷한 결론이 도출될 것으로 기대된다. 왜냐하면, 앞에서 H_2O나 NH_3가 1개 결합되거나 4개 결합되거나, 그 결과에 큰 변화를 주지 않았기 때문이다. 단 Zn-O간의 거리는 1.787 Å에서, 4~6개의 리간드 결합을 고려하면, 앞의 계산한 경우에서와

Table 1. Frequencies (cm^{-1}) and force constants (mdyne/Å) of Stretching modes of H_2O, $Zn(H_2O)^{2+}$, and $Zn(H_2O)_4^{2+}$

	Symmetry	Frequency	Force constant	Mode*
H_2O	B_2	4204	11.35	a
	A_1	4028	9.91	s
$Zn(H_2O)^{2+}$	B_2	3899	9.73	a
	A_1	3822	8.98	s
$Zn(H_2O)_4^{2+}$	B_2	4055	10.53	
	A_1	4053	10.52	
	E	4051	10.51	
	A_1	3959	9.63	
	B_2	3950	9.58	
	E	3949	9.57	

*a: asymmetric mode of H_2O, s: symmetric mode of H_2O.

Table 2. Frequencies (cm^{-1}) and force constants (mdyne/Å) of stretching modes of NH_3, $Zn(NH_3)^{2+}$, and $Zn(NH_3)_4^{2+}$

	Symmetry	Frequency	Force constant
NH_3	A',A"	3993	10.33
	A'	3775	8.50
$Zn(NH_3)^{2+}$	E	3645	8.52
	A_1	3545	7.64
$Zn(NH_3)_4^{2+}$	3B	3748	9.01
	3B,2A	3746	8.99
	A	3636	8.02
	3B	3631	8.00

같이, 그 길이가 다소 길어져, 흔히 X-ray 실험에서 얻어지는 Zn와 카르보닐 산소와의 결합길이인 2 Å에 가까워질 것으로 기대된다.

또한, 본 연구에서 사용된 모델시스템들의 주요 진동수와 힘상수를 *Table*에 수록한다. DZ basis set는 결합각에 대해 그 optimized geometry가 다소 부적합하여 굽힘진동수는 실험과 정량적으로는 잘 일치하지 않는 반면, 신축운동에서는 그 결과가 신빙성이 있으므로 이에 대한 결과를 보고한다. *Table* 1은 H_2O, *Table* 2는 NH_3와 관련된 것이다. 실험에 의한 H_2O의 진동수는 비대칭신축운동, 대칭신축운동이 각각 3756, 3657 cm^{-1}이지만[29], 이것에서 기저 조화진동에 관한 진동수를 추출하면, 3943, 3832 cm^{-1}이다. 이에비해, DZ의 기저 조화진동에 대한 진동수는 *Table* 1에서와 같이 4204, 4028 cm^{-1}로 실험치에 비해 일관성 있게 약 8% 과대평가되는 경향이 있으므로, 리간드가 Zn^{++}에 배위됨에 따라 그 진동수나 힘상수의 변화를 조사함은 유익하다. *Table* 1에서 보이는 바와 같이, H_2O, $Zn(H_2O)^{++}$, $Zn(H_2O)_4^{++}$의 세 경우에 대해서, 비대칭신축운동은 각각 4200, 3900, 4050 cm^{-1}, 대칭신축운동은 4030, 3820, 3950이다. 한편, *Table*에는 수록하지 않았지만, Zn-O 간의 신축운동은 500 cm^{-1} 부근이고, Zn가 무거운 원소이므로 힘상수는 1 mdyne/Å 정도가 된다.

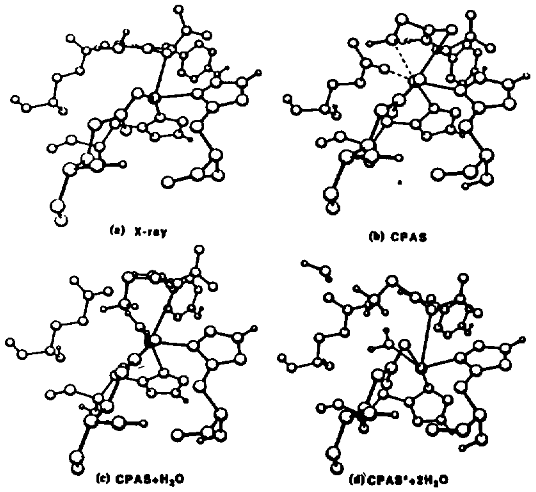

Fig. 5. X ray & simulation structures of CPA with substrate (glycyltyrosine): (a) X ray structure, (b) minimization without water, (c) minimization with one H_2O, (d) minimization with two H_2O, while NH_2 is replaced by NH_3^+ in glycyltyosine.

NH_3의 경우는 *Table* 2에서 살펴보면, 실험치인[30] 3577(d-stretch), 3506(s-stretch)에 비해서, DZ 계산값은 3993, 3775로, H_2O 경우와 유사하다.

Fig. 5는 CPA에 기질인 glycyltyrosine이 결합된 전체구조 중 Zn^{++}를 중심으로한 active site 주위만을 plotter로 그린 것이다. *Fig*. 5(a)는 X-ray 구조로써 Zn^{++}를 중심으로 His-69, Glu-72, His-196 및 glycyltyrosine이 배위되어

Table 3. Bond lengths between Zn^{2+} and ligands for X ray and simulation structures

	X ray	CPAS	CPAS $+H_2O$	CPAS* $+2H_2O$
His 69	2.10	2.25	2.15	2.13
Glu 72	2.24	2.33	2.32	2.30
His 196	2.09	2.16	2.15	2.13
Gly (O)	2.78	3.04	3.15	2.98
Gly (N)	2.93	2.32	2.30	4.12
Glu 270	6.34	2.21	4.37	4.78

*Amino terminal group of NH_2 in glycyltyrosine in CPAS is replaced by NH_3^+.

있고, 왼쪽에 결합되지 않은 Glu-270이 이웃해 있다. 그리고 수소는 표준화시켜서 붙인 것이다. *Fig.* 5(b, c)는 기질인 glycyltyrosine(Gly)의 말단 아미노기가 NH_2인 경우이다. *Fig.* 5(b)의 구조로 simulation한 결과 기질의 Gly-(N)과 이웃한 Glu-270의 산소가 Zn^{++}쪽으로 다가옴을 그림에서 볼 수 있고, Zn와의 거리를 *Table* 3에 제시하였다. Glu-270은 X-ray 결과에 비해서 minimize된 CPAS의 Zn에 지나치게 가까워짐을 알 수 있다. 그림에서 X-ray 구조를 잘 살펴보면 Glu-270과 Zn간의 거리는 X-ray 구조와는 달리 Gly-(N)은 여전히 Gly-(O) 보다도 가까이 있음을 알 수 있고, *Table* 3에서 확인할 수 있다. 이를 개선하기 위해서 Gly-(N)의 아미노기를 NH_3^+로 대치하고 H_2O는 2개 정도 넣고 simulation하였다. 이와 같이 한 이유는 기질의 아미노기가 NH_2인지 NH_3^+인지 불확실하기 때문이며, 물분자 배위에 관한 것도 밝혀지지 않은 상태이므로 그 가능성을 고려한 것이다. 그 결과 *Fig.* 5(d)에서 보는 바와 같이 H_2O 한 분자는 바깥쪽으로 밀려 나갔으며, H_2O 한 분자만이 Zn 주위에 있고 X-ray 구조와 유사해 졌음을 볼 수 있다. 이와 같이 분자의 크기가 크고 복잡하더라도, 주요한 부분인 active site는 가능한한 정교한 계산을 하고, 거대분자 전체는 molecular mechanics (MM) 이외에도, molecular dynamics(MD), Monte Carlo(MC) simulation을 사용할 수 있다. 특히, 용매나 counterion을 직접 넣어서 simulation 함으로써, 실험적으로는 잘 알기 어려운 효소, 기질, 억제제간의 생화학적 작용을 이해하는데 도움을 줄수 있으며, 신약개발이나 신소재 개발에의 응용도 기대할 수 있을 것이다.

김호순 박사는 한국과학재단 postdoc 연수자이며, 본 연구는 산업과학기술연구소 목적기초과제로 수행되었다.

인 용 문 헌

1. B. L. Vallee, A. Galdes, D. S. Auld, and J. F. Riordan, in "Metal Ions in Biology: Zinc Enzymes". ed. T. G. Spiro, Wiely, New York, pp.1-23, 1983.
2. B. L. Vallee and R. J. P. Williams, *Proc. Natl. Acad. Soc. USA*, **59**, 498 (1968).
3. J. F. Riordan and B. L. Vallee, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **48**, 33 (1974).
4. J. Suh, W. Cho, and S. Chung, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 4530 (1985).
5. T. -K. Li. *Adv, Enzymol.*, **45**, 427 (1977).
6. S. Lindskog and B. J. Malmstrom, *Biol. Chem.*, **237**, 1129 (1962).
7. M. L. Anson, *J. Gen. Physiol.*, **20**, 633 (1937).
8. B. L. Vallee and H. Neurath, *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5006 (1954).
9. W. N. Lipscomb, J. A. Hartsuck, G. N. Reeke, F. A. Quiocho, P. H. Bethge, M. L. Ludwig, T. A. Steitz, H. Muirhead, and J. C.Coppola, *Brookhaven Symp. Biol.*, **21**, 24 (1968).
10. D. C. Rees and W. N. Lipscomb, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 5455 (1981).
11. D. W. Christianson, L. C. Kuo, and W. N. Lipscomb, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 8281 (1985).
12. W. L. Mock and J. T. Tsay, *J. Biol. Chem.*, **263**, 8635 (1988).
13. D. Laurie, E. Lucas, D. C. Nonhebel, C. J. Suckling, *J. C. Waiton, Tetrahedron*, **42**, 1035 (1986).
14. S. K. Chung and D. F. Chodosh, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **9**, 44 (1988).
15. B. W. Matthews, *Acc. Chem. Res.*, **21**, 333 (1988).
16. *S. Nakagwa, H. Umeyama, K. Kitaura, and K. Morokuma Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 1 (1981).
17. D. W. Christianson and W. N. Lipscomb, *Acc. Chem. Res.*, **22**, 62 (1989).

18. E. Clementi, G. Corongiu, B. Jonsson, and S. Romano, *J. Chem. Phys.*, **72**, 260 (1980).
19. M. Sano and H. Yamatera, *Chem. Lett.*, 1285 (1980).
20. M. Sano and H. Yamatera, *Chem. Lett.*, 1495 (1980).
21. M. J. Frish, M. Head-Gordon, H. B. Schlegel, K. Raghvachari, J. S. Binkley. C. Gonzalez, D. J. Defrees, D. J. Fox. R. A. Whiteside, R. Seeger. C. F. Melius, J. Baker, R. Martin. L. R. Kahn, J. J. P. Stewart. E. M. Fluder, S. Topiol, and J. A.Pople, "Gaussian 88", Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 1988.
22. T. H. Dunning and P. J. Hay, "Modern Theoretical Chemistry", Plenum, New York, pp. 1-28, 1976.
23. A. J. H. Wachters, *J. Chem. Phys.*, **52**, 1033 (1970).
24. D. B. Kitchen and L. C.Allen, *J. Phys. Chem.*, **93**, 7265 (1989).
25. S. J. Weiner, P. A. Kollman, D. A. Case, U. C. Singh, G. Ghio, G. Alagona, S. Profeta, and P. Weiner, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 765 (1984).
26. K. S. Kim, *Chem. Phys. Letters* **156**, 261 (1989).
27. P. Carsky and M. Unban, in "Lecture Notes in Chemistry: Ab initio Calculations", ed. G. Berthier, Springer-Verlag, Berlin, 1980.
28. L. Stryer, "Biochemistry", 3rd Ed., Freeman and Company N. Y., pp.216-218, 1988.
29. A. Kaldor and R. F. Porter, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 2140 (1971).
30. J. L. Duncan and I. M. Mills, *Spectrochim. Acta*, **20**, 523 (1964).