



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

VANUSA BEZERRA PACHÊCO

**ESTUDO TEÓRICO DO EFEITO DE MICRO-SOLVATAÇÃO NA
MOLÉCULA ÁCIDO ORTO-AMINOBENZÓICO (O-ABZ)**

**SÃO CARLOS-SP
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

VANUSA BEZERRA PACHÊCO

**ESTUDO TEÓRICO DO EFEITO DE MICRO-SOLVATAÇÃO NA
MOLÉCULA ÁCIDO ORTO-AMINOBENZÓICO (O-ABZ)**

Tese de Doutorado submetida à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Física, da Universidade
Federal de São Carlos, como requisito
parcial para obtenção do título de Doutora
em Física.

Orientador: Prof. Dr. Puspitapallab Chaudhuri

**SÃO CARLOS-SP
2013**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

P116et Pachêco, Vanusa Bezerra.
Estudo teórico do efeito de micro-solvatação na molécula
ácido orto-Aminobenzóico (o-Abz) / Vanusa Bezerra
Pachêco. -- São Carlos : UFSCar, 2014.
124 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2013.

1. Física. 2. Micro-hidratação. 3. Ligação de hidrogênio. 4.
Ácido orto-Aminobenzóico (o-Abz). I. Título.

CDD: 530 (20^a)

VANUSA BEZERRA PACHÊCO

Tese de Doutorado submetida à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Física, da Universidade
Federal de São Carlos, como requisito
parcial para a obtenção do título de
Doutora em Ciências.

Aprovada em 27 de Agosto de 2013

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Puspitapallab Chaudhuri (orientador)
Universidade Federal do Amazonas - UFAM



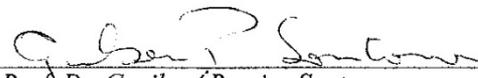
Prof. Dr. José Pedro Rino
Universidade Federal de São Carlos - UFSCar



Prof. Dr. Rodrigo do Monte Gester
Universidade Federal do Para - UFPA



Prof. Dr. Sérgio Michielon de Souza
Universidade Federal do Amazonas - UFAM



Prof. Dr. Genilson Pereira Santana
Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Aos meus pais,

Thomé Gaia Pachêco (*in memorium*)

e **Maria do Carmo Bezerra Pachêco.**

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Puspitapallab Chaudhuri pelo incentivo, paciência e orientação.

À minha mãe e irmãos pelo apoio, incentivo e compreensão.

Ao meu pai, em memória, que apesar de não ter presenciado mais um filho terminando uma tese de doutorado, não esquecerei um de seus conselhos: “jamais esqueça que o seu melhor amigo é o estudo, este jamais lhe abandonará e sempre será seu companheiro”.

Ao Gabriel Pachêco, Miguel Pachêco pelo amor e carinho.

No desenvolvimento desta tese tive duas perdas familiares o falecimento do meu esposo Cleófano Cordeiro de Almeida e do meu pai, mas Deus me deu de presente uma nova família, para que eu pudesse continuar e concluir esta tese, a vocês, Dartaguinan da Silva Goés e seus filhos Dartanhan, Roberto e Cristiano de Almeida Góes, agradeço pelo amor, carinho, apoio, incentivo e compreensão.

Ao órgão de fomento, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas-FAPEAM pelo apoio financeiro.

Aos meus colegas que me acompanharam durante o curso de doutorado.

Aos professores do programa de pós-graduação em física da UFSCar, da Universidade Federal do Amazonas - UFAM e à secretária da pós-graduação em física da UFSCar Renata dos Reis pelo apoio.

Aos professores José Ricardo de Sousa, Hidembergue Ordozgoith da Frota, Antônio Carlos Rodrigues Bittencourt, Walter Esteves de Castro Junior, Haroldo de Almeida Guerreiro e a coordenadora do curso de pós-graduação em física da UFAM Angsula Ghosh e ao ex-diretor do Instituto de Saúde e Biotecnologia ISB/UFAM, Paulo Jacob São Thiago que me incentivaram a concluir esta tese.

À banca examinadora desta tese pelas sugestões.

Resumo

Neste trabalho analisamos o efeito de microssolvatação nas propriedades eletrônica da molécula orto-aminobenzóico (o-Abz) na fase gasosa utilizando o solvente água. Para isto consideramos duas situações, uma em que o solvente molécula da água está próxima ao grupo carboxílico e outra que a molécula da água está próxima ao grupo amino resultando os aglomerados $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ e $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, quando adicionamos a água até $n = 3$. Para estudar a interação de ligação de hidrogênio entre a molécula o-Abz e água, investigamos a variação energética, a variação do espectro vibracional e o efeito de cooperatividade em virtude da influência da ligação do hidrogênio. Obtivemos os resultados usando a teoria do funcional de densidade com o funcional B3LYP com duas bases 6-31++G(d,p) e aug-cc-pVDZ. Os resultados foram comparados com outros resultados teóricos e com dados experimentais. De modo geral, verificamos de maneira geral que as ligações de hidrogênio dos aglomerados $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ são muito mais estáveis que dos aglomerados $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$. Além disso, analisamos o efeito da formação de ligação de hidrogênio nos parâmetros de ressonância magnética nuclear. Para este estudo, calculamos o deslocamento químico isotrópico e anisotrópico para todos os átomos de o-Abz isolado e do aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, utilizamos os métodos teóricos de Hartree-Fock e de teoria do funcional de densidade com os dois conjuntos de base, 6-31++G(2d,2p) e aug-cc-pVDZ. Verificamos que o deslocamento químico isotrópico ^1H e ^{13}C referente à molécula de o-Abz isolada está em razoável acordo com dados experimentais. Os valores do deslocamento químico dos átomos do grupo carboxílico da molécula o-Abz micro-hidratada relativo a o-Abz isolado não mostram dependência significativa com o conjunto de base. Os átomos de hidrogênio e carbono que constituem o grupo carboxílico do o-abz foram afetados com um deslocamento de campo baixo devido à formação de ligação de hidrogênio com a molécula de água. Encontramos uma variação do comprimento de ligação de hidrogênio com o número de moléculas de água próxima a o-Abz. Observamos uma direta correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio e o deslocamento químico isotrópico do hidrogênio blindado nas interações das ligações $\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}$ e $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$.

Abstract

In this work we analyzed the effect microsolvation in the electronic properties of the molecule ortho-aminobenzóic (o-Abz) in the gas phase using the solvent water. For this we considered two situations, one in that the solvent water molecule are placed close to the carboxyl group and another that the water molecule are placed close to the amino group producing the clusters $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ and $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, when we added the water to even $n = 3$. To study the interaction of hydrogen bond with the molecule o-Abz and water we investigated the variation of the vibrational spectra and energetic, the effect of cooperativity by virtue of hydrogen bond. The results were compared with other theoretical results and experimental data. We obtained the results using the density functional theory with functional B3LYP with two bases 6-31++G(d,p) and aug-cc-pVDZ. In general, we verified that the hydrogen bond of the $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters are found to be more stable than $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters. Besides, we analyzed the influence of the hydrogen formation on the nuclear magnetic resonance parameters. For this study we calculated the isotropic and anisotropic chemical shifts for all atoms of the isolated o-Abz and of the $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters the theoretical methods of Hartree-Fock were used and of theory of the functional of density with two basis sets, 6-31++G(2d,2p) and aug-cc-pVDZ. We verified We verified that the isotropic chemical shifts ^1H and ^{13}C regarding the molecule isolated o-Abz are in reasonable agreement with experimental data. The chemical shift values of the carboxyl group atoms of micro-hydrated o-Abz relative to isolated o-Abz do not show significant basis set dependence. The hydrogen and carbon atoms that constitute the carboxyl group of o-Abz were affected downfield shift due to formation of hydrogen bond with water. We found a variation of the length of hydrogen bond with the number of water molecules present around o-Abz. We observed a direct correlation between the hydrogen bond length and isotropic chemical shift of the bridging hydrogen in the interactions of the bonds $\text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{O}$ and $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$.

Lista de Figuras

- 1 - As estruturas do ácido antranílico. Os dois hidrogênios do grupo amino são chamados de H_a e H_b , sendo que o H_a está próximo ao grupo COOH..... 17
- 2 - A molécula de o-Abz micro-hidratada (I) a água está próxima ao grupo carboxílico e (II) a água está entre o grupo COOH e o grupo NH_2 19
- 3 - Estrutura de equilíbrio de o-Abz otimizada por B3LYP/6-31++G(d,p) em fase gasosa. A linha tracejada representa ligação de hidrogênio intramolecular de $N_7-H_{16}\cdots O_9$ 46
- 4 - Estrutura de equilíbrio de o-Abz otimizada por B3LYP/ aug-cc-pVDZ em fase gasosa. A linha tracejada representa ligação de hidrogênio intramolecular de $N_7-H_{16}\cdots O_9$ 47
- 5 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula de água quando a água encontra-se próxima ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p)..... 48
- 6 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula de água quando a água encontra-se próxima ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ..... 49
- 7 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula de água quando a água encontra-se próxima ao grupo NH_2 , otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p)..... 51
- 8 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula de água quando a água encontra-se próxima ao grupo NH_2 , otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ..... 52
- 9 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p)..... 53
- 10 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ..... 54
- 11 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo NH_2 , otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p)..... 55

12 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo NH ₂ , otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.....	56
13 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).....	57
14 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.....	58
15 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo NH ₂ , otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).....	59
16 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo NH ₂ , otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.....	60
17 - Estrutura de equilíbrio dos vários agrupamentos de o-Abz-água. As letras maiúsculas são para facilitar a identificação dos dados expostos na Tabela 1. (a) Geometria de o-Abz(H ₂ O) _n para n = 1, 2, 3 com a(s) água(s) próxima(s) ao grupo COOH. (b) Geometria de o-Abz(H ₂ O) _n com a(s) água(s) próxima (s) ao grupo NH ₂	63
18 - Comparação do deslocamento químico isotrópico e anisotrópico (em ppm) para átomos do grupo carboxílico do ácido orto-Aminobenzóico, o-Abz ...[H ₂ O] _n ^{COOH} (n = 1-3), calculado para três modelos: (1) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p); (2) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (3) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. Na legenda, δ ⁱ e δ ^a significam δ ^{iso} e δ ^{aniso} , respectivamente.....	82

Lista de Tabelas

- 1 - Alguns parâmetros estruturais calculados usando dois modelos teóricos do agrupamento entre o-Abz e água, que formam ligações de hidrogênio..... 62
- 2 - Alguns parâmetros relevantes de cooperatividade calculados usando dois modelos teóricos..... 67
- 3 - Valores do momento de dipolo (em Debye) e polarizabilidade (α_0^3) da molécula isolada o-Abz ($n = 0$) do aglomerado o-Abz \cdots [H₂O]_n calculados usando dois modelos teóricos..... 69
- 4 - Modos vibracionais de altas frequências com número de ondas no intervalo de 3000-4000 cm⁻¹ da molécula o-Abz isolada em fase gasosa calculada usando dois modelos teóricos..... 72
- 5 - Alguns modos de estiramentos vibracionais do aglomerado e deslocamentos de frequência ($\Delta\nu$) em relação à molécula o-Abz isolada e alguns modos de estiramento vibracionais calculados usando dois modelos teóricos..... 74
- 6 - Valores de blindagem isotrópica (σ^{iso}) e anisotrópica (δ^{aniso}) da molécula isolada o-Abz em unidade de ppm usando três modelos..... 78
- 7 - Deslocamento químico δ (em ppm) teórico e experimental da molécula o-Abz isolada do espectro de NMR ¹H e ¹³C em relação a ressonância de tetrametilsilano (TMS) usando três modelos teóricos..... 79
- 8 - Valores do deslocamento químico isotrópico e anisotrópico $\delta^{\text{iso/aniso}}(\text{X})$ para cada átomo X de o-Abz quando a molécula de o-Abz está micro-hidratada calculados utilizando o modelo (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ //B3LYP/aug-cc-pVDZ. Os deslocamentos químicos com correção BSSE dos átomos do grupo carboxílico estão em negrito..... 83
- 9 - Correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio (d^{HB}) quando o-Abz é o receptor de próton e a água é doador de próton na ligação C=O \cdots H-O. A distribuição de carga de Mulliken (ϵ) dos átomos envolvidos na ligação e os respectivos parâmetros de NMR do hidrogênio blindado..... 84
- 10 - Correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio (d^{HB}) quando o-Abz é o doador de próton e a água é o receptor de próton (O-H \cdots O). A distribuição de carga do Mulliken (ϵ) dos átomos envolvidos na ligação e os respectivos parâmetros de NMR do hidrogênio blindado..... 85

Lista de Siglas e Abreviaturas

B3LYP	Funcional da densidade híbrido, com termo de troca de Becke com 3 parâmetros e correlação de Lee, Yang e Parr.
BSSE	Bases Set Superposition Error (Erros de Superposição do Conjunto de Bases).
CP	Counterpoise Correction (Correção de Counterpoise)
DFT	Density Functional Theory (Teoria do Funcional da Densidade)
GTO	Gaussian Type Orbital (Orbital Tipo Gaussiana)
HF	Hartree-Fock
HK	Hohenberg e Kohn
KS	Kohn e Sham
LCAO	Linear Combination of Atomic Orbitals (Combinação Linear de Orbitais Atômicos)
LDA	Local Density Approximation (Aproximação da Densidade Local)
LSDA	Local Spin Density Approximation (Aproximação da Densidade Local de Spin)
MP2	Teoria de Perturbação de Moller-Plesset de 2ª ordem
NMR	Nuclear magnetic resonance (Ressonância Magnética Nuclear)
STO	Slater Type Orbital (Orbital Tipo Slater)
VWN	Vosko, Wilk e Nusair.

Sumário

1	Introdução.....	13
2	Teoria do Funcional da Densidade e Ligação de Hidrogênio.....	26
	2.1 - A equação de Schrödinger independente do tempo para um sistema molecular.....	28
	2.2 - Teoria do funcional da densidade.....	30
	2.3 - A aproximação do funcional de troca.....	36
	2.4 - Funções de base.....	37
	2.5 - Ligações de hidrogênio.....	41
	2.6 - Método computacional.....	42
3	Resultados e Discussão.....	45
	3.1 - Propriedades estruturais.....	45
	3.2 - Energias dos aglomerados, estabilização e cooperatividade.....	65
	3.3 - Propriedades elétricas.....	69
	3.4 - Espectro vibracional.....	71
	3.5 - Propriedades magnéticas.....	76
4	Conclusão.....	87
	Referências.....	90
	Apêndice A. Artigo: Effects of microhydration on the electronic properties of ortho-aminobenzoic acid. Autores: <u>Vanusa Bezerra Pachêco</u> e Puspitapallab Chaudhuri.....	102
	Apêndice B. Artigo: Effect of hydrogen bond formation on the NMR properties of microhydrated ortho-aminobenzoic acid. Autores: Angsula Ghosh, <u>Vanusa Bezerra Pachêco</u> e Puspitapallab Chaudhuri.....	113

Capítulo 1

Introdução

O interesse geral em moléculas de ácido aminobenzóico e seus mecanismos de solvatação surge de sua importância biológica e suas propriedades químicas. O ácido aminobenzóico consiste de um anel benzênico e possui grupos amino (-NH₂) e ácido carboxílico (-COOH). Ele possui três configurações, *orto* [1], *meta* [2] e *para* [3]. Na configuração *orto*, os terminais amino e ácido carboxílico se encontram ligados a átomo de carbonos adjacentes ao anel benzênico. Na configuração *meta*, os grupos amino e ácido carboxílico encontram-se ligados aos carbonos intercalados por outro carbono. Na configuração *para*, os grupos encontram-se ligados por carbonos em posições opostas. Os ácidos *orto*-aminobenzóico, *meta*-aminobenzóico e *para*-aminobenzóico são moléculas que podem formar ligações de hidrogênio através dos grupos -NH₂ e -COOH e são chamados na literatura como moléculas multifuncional de ligações de hidrogênio [4]. Essas moléculas interagindo com o solvente água localizado próximo aos grupos -COOH e -NH₂ podem agir como receptores de átomo hidrogênio da molécula água pelo átomo de oxigênio do grupo de C=O e pelo átomo de nitrogênio do grupo de NH₂, e doadores de hidrogênio do grupo OH e do grupo de NH₂. Essas moléculas podem também formar ligações de hidrogênio pelos seus elétrons π aromáticos. Nos aspectos biológicos são antimetabólico de sulfanilamida e são usados geralmente como sonda fluorescente. O efeito da água nos comportamentos fotofísicos dessas moléculas é crucial para a interpretação de mensagem da sonda fluorescente [4, 5].

Recentemente, houve grande interesse nos estudos das propriedades eletrônicas e químicas do ácido orto-aminobenzóico (*o*-Abz), também chamado de ácido antranílico ou 2-ácido aminobenzóico [1, 4, 6-14]. O *o*-Abz é composto dos elementos carbono,

hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, e representado por $C_6H_4(NH_2)CO_2H$ ou $C_7H_7NO_2$. Por causa de seu tamanho pequeno e estrutura comparável a aminoácidos naturais, o o-Abz pode ser inserido dentro de estruturas de proteínas e peptídeos sem causar muita perturbação [6,7, 15, 16]. Devido seu alto rendimento quântico, vida longa, e por conter comprimentos de onda próximos ao ultravioleta (UV) é utilizado em experimento sobre fluorescência [6-9,15, 16]. Com relação ao efeito do solvente no soluto, o-Abz foi analisado para vários solventes com diferentes polaridades, sendo identificado que o seu comportamento fluorescente depende da polaridade do solvente, causando grandes efeitos nos comprimentos de onda de absorção e emissão de o-Abz [8, 9].

Vários trabalhos experimentais [6-9, 15, 17-22] e teóricos [10, 16, 27, 28], já foram desenvolvidos para o estudo do o-Abz, e outros trabalhos sobre esta molécula [1, 4, 11, 12, 13] combinam estudos experimentais e teóricos, ou seja, nos trabalhos experimentais incluem alguns cálculos teóricos, geralmente usando o método da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) para um propósito de comparação. Os estudos iniciais, executados durante o período de 1968-1986, são experimentais que tratam da determinação da estrutura cristalográfica de o-Abz [17-22]. Em 1981 e 1983 foram realizados estudos teóricos de propriedade estrutural eletrônica e de propriedade espectroscópica dessa molécula [23, 24]. Porém, uma série de trabalhos experimentais sobre espectroscopia de o-Abz foram desenvolvidos no período de 1998-2009 [6-9,15, 16].

Sobre o comportamento fluorescente de o-Abz tem-se o trabalho de 1998 de Turchiello et al. [15] que investigaram o o-Abz como uma sonda fluorescente para monitorar a interação de peptídeos e micelas. O estudo foi feito com os aminoácidos, argina (Arg), fenilalalina (Phe), leucina (Leu), glutamato (Glu) ligados com orto-aminobenzóico-aminoacil-monometil. Foram analisados o rendimento quântico, a posição espectral, anisotropia e o tempo de vida de fluorescência na presença e ausência de micelas de dodecil sulfato sódio (SDS - *sodium dodecyl sulfate*). Mudanças significantes nos parâmetros de fluorescência foram observadas para Abz-Arg-NHCH₃ em comparação a Abz-Glu-NHCH₃, indicando uma forte componente eletrostática na interação com as micelas de carga negativa. Quando a sonda é inserida nos aminoácidos hidrofóbicos Abz-Phe-NHCH₃ e Abz-Leu-NHCH₃ foram observados mudanças nos parâmetros de fluorescência. Quando estudaram os parâmetros de fluorescência de Abz-NHCH₃ verificaram que foram menos afetados pela presença de micelas, indicando que as propriedades fluorescentes da sonda na presença de micelas dependem dos aminoácidos.

Foram, também, realizadas medidas com o peptídeo Abz-Leu-Arg-Phe-NH₂. Concluíram que o grupo fluorescente de Abz é uma sonda muito conveniente para o estudo de interações de agregados de peptídeos hidrofóbicos. Além de Abz ligado a peptídeo na presença de micelas de dodecil sulfato de sódio (SDS - *Sodium Dodecyl Sulfate*), foi também estudado em meio aquoso.

Ainda, em 1998, o mesmo grupo de pesquisa, Ito e colaboradores [16], investigaram a absorção óptica e propriedades fluorescentes, em meio aquosa, de Abz ligada para o grupo α -amino de Ala (alanina), Gly (glicina), Leu (Leucina), Ile (Isoleucina), Val (Valina), Pro (Prolina), Phe (Fenilalanina), Arg (Arginina), Glu (Glutamato), Met (Metionina), Asn (Asparagina), Tyr (Tirosina), e Trp (Triptofano), com grupo α -carboxila monometil-amidato. Foram examinadas as propriedades de fluorescência como comprimento de onda máximo de absorção e de emissão, rendimento quântico, tempo de vida de fluorescência e tempo de vida radioativa de o-Abz e seus derivados o-Abz-NHCH₃ (2-amino-metil-benzamida), o-Abz-N(CH₃)₂ (2-amino-dimetil-benzamida), o-Abz-NH₂ (2-amino-benzamida) e o-Abz-pirolidina. Foram, também, coletados dados de Ressonância Magnética Nuclear (NMR - Nuclear Magnetic Resonance) de o-Abz-NHCH₃ e o-Abz-N(CH₃)₂. E concluíram que o-Abz manteve as propriedades de fluorescência quando ligado na maioria dos aminoácidos exceto quando ligado a prolina e triptofano com os quais se verificou baixo rendimento quântico. Assim ficou determinado que o-Abz pode ser usado como sonda fluorescente em estudo sobre a atividade de enzimas proteolíticas. A ênfase neste trabalho foi o Abz que tem tamanho pequeno, uma estrutura comparável a dos aminoácidos naturais, e a possibilidade de conectar a molécula para o grupo amino N ^{α} de peptídeos sem qualquer mudança significativa em sua característica espectroscópica, qualificando-a como uma sonda fluorescente extrínseca aos peptídeos.

Em 2001, Ito e colaboradores publicaram outro artigo [7] para o estudo das propriedades da fluorescência, agora para as conformações *meta*, *para* e *orto* de ácido aminobenzóico ligados a melanotropina usando o hormônio alfa estimulador de melanócito e seu análogo (NDP- α MSH). Eles analisaram a absorção óptica para m-Abz e p-Abz ligados a melanotropina e para o-Abz ligado e não ligado a melanotropina. Foi, também, observada a transferência de energia do triptofano (Trp) que atuou como doador para o-Abz (receptor) ligado a melanotropina usando o modelo de transferência de energia por ressonância de Förster (FRET- *Förster Resonance Energy Transfer*). Esse estudo foi

realizado para obter informação das propriedades de dinâmica conformacional de melanotropina e sua dependência no solvente, para as determinações das distâncias intramolecular doador-receptor dentro de peptídeos que são informações importantes para outras técnicas espectroscópicas que podem ser usadas na determinação da estrutura e correlação de moléculas de atividades biológica.

Turchiello et al. [6], em 2002, fizeram um estudo das propriedades de fluorescência, utilizando como sonda o ácido orto-aminobenzóico para monitorar a interação de peptídeos do hormônio de bradicinina (BK) com vesículas aniônica de DMPG (1,2-Dimiristoil-*sn*-Glicero-3-[Fosfo-*rac*-(1-glicerol)](Sal de Sódio)). Foi, também, realizada análise de propriedade espectroscópica em solução aquosa e interação de lipídios e peptídeos. No referido trabalho o peptídeo tem uma sonda fluorescente extrínseca, o-Abz, conectada próximo ao C-terminal para monitorar a interação de peptídeo por agregados de anfifílico. Os peptídeos estudados foram a sequência de BK da forma Abz-Arg¹-Pro²-Pro³-Gly⁴-Phe⁵-Ser⁶-Pro⁷-Phe⁸-Arg⁹-NH₂, seu homólogo mais curto BK¹⁻⁵ da forma Abz-Arg¹-Pro²-Pro³-Gly⁴-Phe⁵-NH₂.

Southern e Levy [1], em 2003, estudaram a espectroscopia eletrônica do o-Abz como uma molécula isolada e examinaram os espectros infravermelhos em seus estados eletrônicos fundamentais e excitados para estudar as propriedades de ligação de hidrogênio. As medidas eletrônicas e de espectro infravermelho foram realizadas em um jato supersônico. As características vibracionais observadas foram nomeadas com a ajuda de cálculos da teoria do funcional de densidade (DFT). Foi feito uma comparação do espectro eletrônico do infravermelho com do ácido salicílico (orto-hidroxi-benzóico) comparando o efeito de excitação eletrônica nos grupos NH₂ e OH, bem como a ligação de hidrogênio. Foram discutidas semelhanças e diferenças espectroscópicas entre as duas moléculas.

Os cálculos utilizando de DFT foram feitos para duas conformações que diferem por uma rotação de 180° do grupo do ácido carboxílico e são chamados por eles por rotâmero I e rotâmero II de acordo com a Figura 1.

Utilizaram o funcional híbrido B3LYP (Becke-Lee-Yuang-Parr) com o conjunto de base com seis funções gaussianas na camada interna (caroço), três funções gaussianas na parte interna da camada de valência, uma função gaussiana na parte externa da camada de valência e funções de polarização d e p foram incluídas em todos os átomos. Este conjunto de funções foi representado pela notação 6-31G(d,p) para realizar cálculos para o estado

eletrônico fundamental do o-Abz para proporcionar uma base de comparação com os resultados experimentais.

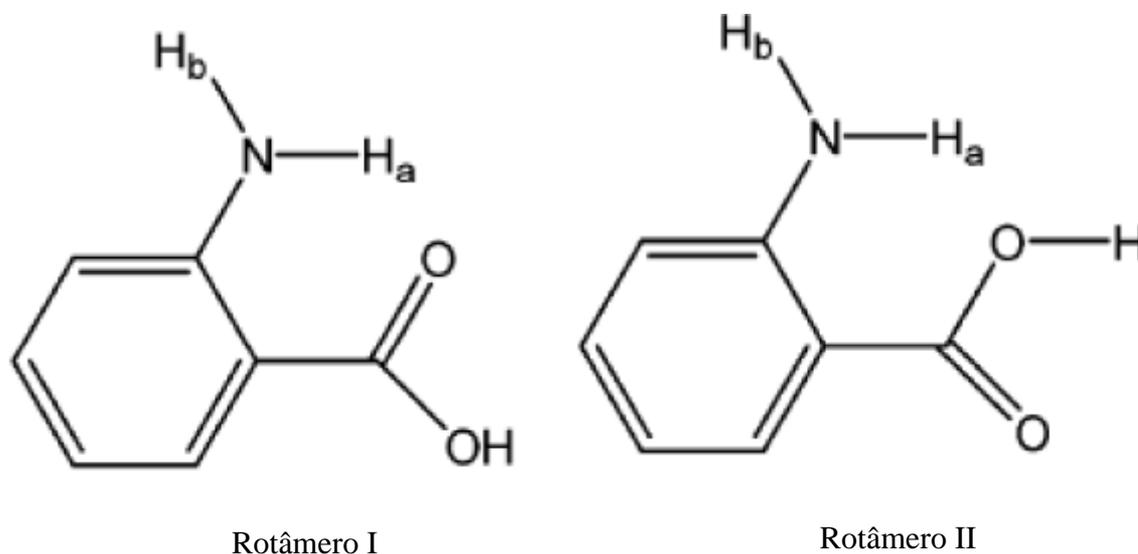


Figura 1 – As estruturas do ácido antranílico. Os dois hidrogênios do grupo amino são chamados de H_a e H_b , sendo que o H_a está próximo ao grupo COOH. Fonte: Southern et al. (2003) [1].

Foram calculadas para as estruturas otimizadas, frequências harmônicas e intensidades do infravermelho (IR) para as duas conformações do o-Abz. Para o estado excitado os cálculos de frequências harmônicas foram realizados utilizando o método de interação de configuração (CIS- *configuration interaction of singly excited configurations*). Concluíram pelos cálculos que o rotâmero I é mais estável que o rotâmero II, por 3,16 kcal/mol incluindo a correção da energia do ponto zero. Os ângulos diédricos CCNH para os dois hidrogênios H_a e H_b do rotâmero I são $8,5^\circ$ e $12,1^\circ$, respectivamente. O hidrogênio do amino que está mais próximo ao grupo carboxílico (H_a) é mais planar que o outro hidrogênio do amino (H_b) como comprovado pelo ângulo diédrico menor. A presença do orto do grupo carboxila para o grupo amino afeta a geometria dos hidrogênios do amino. O comprimento de ligação de C=O foi observado ser de 1,229 Å. Provável causa para estes efeitos é uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o hidrogênio do amino (H_a) e a carbonila da carboxila. O grupo carbonila é um forte receptor de ligação de hidrogênio do que o grupo hidroxila, à distância NH...O=C observada do rotâmero I foi de 1,924 Å. Os estiramentos NH observadas no espectro do estado de excitado diferem

consideravelmente no espectro de estado fundamental. Um desses estiramentos NH do estado excitado acontece na posição que é aproximadamente a média do estiramento simétrico e assimétrico NH do estado fundamental, aproximadamente 3460 cm^{-1} . Ainda, observaram no estado fundamental sete estiramentos: quatro estiramentos aromáticos CH ($3038, 3063, 3073, 3093\text{ cm}^{-1}$), dois estiramentos NH (3394 cm^{-1} – simétrico e 3542 cm^{-1} - assimétrico), e um estiramento OH (3592 cm^{-1}).

Como vimos Southern et al. (2003) investigaram o espectro eletrônico e infravermelho para o-Abz isolado, no entanto, Stearns et al. [25] estenderam a investigação para o o-Abz com água. Eles analisaram a deslocação do átomo de hidrogênio no estado excitado do o-Abz estudando o estiramento do grupo carboxílico e do amido e os efeitos da água nesta molécula. Os efeitos da água na molécula o-Abz foram estudados por espectroscopia ultravioleta e infravermelha. O trabalho foi realizado com uma água localizando primeiro próximo ao grupo carboxílico formando uma interação $\text{C}=\text{O}\dots\text{H}-\text{O}\dots\text{H}-\text{O}$ e depois entre o grupo do ácido carboxílico e o grupo amino formando a interação $\text{C}-\text{C}=\text{O}\dots\text{H}-\text{O}\dots\text{H}-\text{N}-\text{C}$ (veja a Figura 2). O trabalho foi realizado também experimental e teórico. Na parte experimental foi utilizado a espectroscopia R2PI (*Two-color resonant two-photon ionization*) e a espectroscopia RIDIRS (*resonant ion-dip infrared spectroscopy*) e para um estudo teoria foram utilizados os cálculos de DFT usando o funcional B3LYP com o conjunto de base com seis funções gaussianas na camada interna (caroço), três funções gaussianas na parte interna da camada de valência, uma função gaussiana na parte externa da camada de valência e adição de função difusa (+) e função de polarização d (*) que denota que foram incluídas gaussianas em todos os átomos, exceto os hidrogênios representada pela notação 6-31+G*, com isso foram calculadas frequências vibracionais e energias para comparar com os dados experimentais. Para relatar o que foi realizado pelos autores iremos aqui simbolizar para água próxima do grupo carboxílico como conformação I, e a outra possibilidade como conformação II. Para os cálculos teóricos observaram para I os estiramentos: simétrico NH_2 (3390 cm^{-1}); assimétrico NH_2 (3525 cm^{-1}); COOH (3242 cm^{-1}); OH com H ligado a água (3462 cm^{-1}); OH água livre (3707 cm^{-1}). Para II os estiramentos: simétrico NH_2 (3416 cm^{-1}); assimétrico NH_2 (3526 cm^{-1}); COOH (3600 cm^{-1}); OH com H ligado a água (3595 cm^{-1}); OH água livre (3727 cm^{-1}). Agora para o monômero o-Abz calcularam os estiramentos: simétrico NH_2 (3397 cm^{-1}); assimétrico NH_2 (3542 cm^{-1}); COOH (3592 cm^{-1}). O I foi encontrado 5 kcal/mol mais estável que o II. A parte experimental para espectroscopia

RIDIRS, o estado fundamental do espectro infravermelho do *o*-Abz mais água é comparada com o monômero do *o*-Abz [1] e com IPA-H₂O (*indole propionic acid-water complex* [28]). E verificaram que o estiramento simétrico e assimétrico do ácido antranílico mais água são 3400 e 3545 cm⁻¹, respectivamente. Os cumes largos concentram-se entre 3267 e 3494 cm⁻¹ que foi devido à ponte da molécula de água que une o carbonila e OH do grupo do ácido carboxílico. Com estes argumentos concluíram que o *o*-Abz mais água tem uma estrutura semelhante, com I, com água preferindo ficar próximo ao grupo COOH. Esse argumento é também confirmado comparando os resultados experimentais com os cálculos de frequência vibracional e intensidade infravermelho. Observaram também a presença intensa de um deslocamento de frequência para o vermelho.

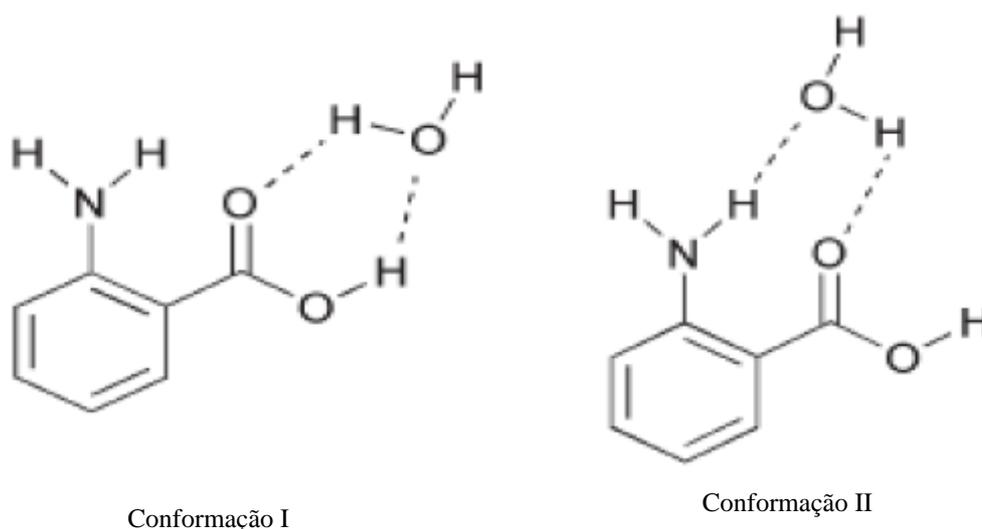


Figura 2 – A molécula *o*-Abz micro-hidratada: (I) a água está próxima ao grupo carboxílico e (II) água entre o grupo COOH e o grupo NH₂. Fonte: Stearns e colaboradores (2003) [25].

Posteriormente, em 2005, podemos citar o trabalho de He e colaboradores [4] que utilizaram a conformação *o*-Abz mais estável obtida por Southern e colaboradores [1], na qual uma ligação de hidrogênio intramolecular é formada entre um átomo do amido e do grupo carbonílico que também foi utilizada por Stearns e colaboradores. [25].

He e colaboradores [4] fizeram um estudo teórico e experimental do *orto*-Abz e *para*-Abz mais uma e duas moléculas de água e compararam com trabalho feito com

meta-Abz [5] também com adição de uma e duas águas. Apresentaram os estiramentos vibracional utilizando como Stearns e colaboradores [25], o espectro de ressonância multifóton de duas cores o REMPI (*two-color resonantly enhanced multiphoton ionization*), ainda utilizaram cálculos teóricos utilizando a DFT, para otimização das estruturas com o funcional B3LYP e o conjunto de base de 6-31+G(d), o mesmo que a notação 6-31+G*, foram utilizadas cinco configurações para *o*-Abz(H₂O)₁, I, II, III, IV, V, sendo que I e II são da mesma forma que a de [25], III contém a ligação C–N–H_b⋯O–H_w, onde H_b é referente a NH₂ e H_w é referente a molécula de água; para IV e V a forma da ligação é C–N⋯H_w–O e C–C–O⋯H_w–O, respectivamente, sendo que após a otimização dos cinco isômeros foi escolhida para análise a estrutura mais estável do estado fundamental como ponto de partida para otimizar o estado excitado do aglomerado com o funcional CIS e o conjunto 6-31G que significa que no cálculo consideraram a camada interna (caroço) do sistema com seis funções gaussianas, à parte interna da camada de valência foi tratada com três funções gaussianas e a parte externa da camada de valência foi representada por uma função gaussiana. O isômero (I) foi selecionado por conter a mais baixa energia em relação ao (II) e aos demais isômeros. A energia relativa que é a diferença de energia do isômero mais estável (I) em relação ao segundo(II), já incluindo a energia vibracional do ponto zero, foi de 4,45 kcal/mol. Para o complexo com duas águas, *o*-Abz (H₂O)₂, apresenta duas estruturas, sendo que a estrutura mais estável é aquela que *o*-Abz (H₂O)₂ forma uma estrutura de anel cíclica que envolve três ligações de hidrogênio, com ambas ligações de moléculas de água ao grupo carboxílico C=O⋯H_{w1}–O⋯H_{w1}–O⋯H–O. Concluíram que os locais que as águas preferem ocupar para formarem ligações de hidrogênio são no grupo carboxílico. As ligações intramoleculares em *o*-Abz têm efeito mínimo quando são adicionados os complexos de água. Os resultados teóricos estão em bom acordo com os resultados experimentais. O isômero *o*-Abz (H₂O)₂ demonstram deslocamento espectral para o azul e o *o*-Abz (H₂O)₁ um deslocamento para o vermelho em relação à molécula isolada *o*-Abz.

Ainda em 2005, Samsonowicz et al. [12] examinaram a influência do posicionamento do grupo amino para o grupo de carboxílico na estrutura de vibração de *o*-Abz e analisaram experimentalmente FT-IR, FT-Raman e espectros de NMR. Takara e Ito [9] descreveram um estudo sobre os efeitos dos solventes nos espectros de absorção e emissão de *o*-Abz. Foram feitas medidas com vários solventes apolares, tais como ciclohexano, benzeno, dioxano e polares, como etanol, metanol, água, acetonitrila,

dimetilsulfóxido (DMSO), acetona, trifluoroetanol (TFE). Foi examinada a interação entre o-Abz e os solventes através dos valores de constante dielétrica, posição espectral, deslocamento de Stoke, rendimento quântico, tempo de vida de fluorescência e parâmetros empíricos descrevendo característica do ácido Brønsted. Observaram que o comportamento da fluorescência de o-Abz depende da polaridade do solvente. O uso de diferentes polaridades dos solventes mostrou que o solvente ácido Brønsted promove formação de ligações de hidrogênio que envolve os grupos amino e carboxílico, causando grandes efeitos nos comprimentos de onda de absorção e emissão de o-Abz que predomina sobre os efeitos gerais dos solventes.

Até aqui apresentamos pelos trabalhos relatados características interessantes de o-Abz. Ainda temos outros, como o que envolve dímeros de o-Abz [11], o-Abz como sonda fluorescente para monitorar membranas [26]. A sonda fluorescente para monitorar membrana, chamada de Ahba, consiste do fluoróforo o-aminobenzóico ligado covalentemente para a acila do hexadecilamida produzindo o composto 2-amino N-hexadecil-benzamida. A sonda Ahba é uma sonda que foi sintetizada como uma variação da sonda fluorescente lipofílica o-Abz. Em estudo de emissão de fluorescente de Ahba é utilizado como referência, o rendimento quântico de o-Abz no solvente etanol.

Verificamos que existem várias investigações experimentais envolvendo a molécula o-Abz, mas poucos estudos teóricos foram executados com esta molécula. Temos o trabalho de 1993 de Palafox et al. [24], que utiliza o método semi-empírico, AM1, para o estudo teórico da estrutura do espectro de o-Abz em fase de gasosa. No decorrer do desenvolvimento desta tese foi elaborado um trabalho que está inserido no nosso grupo de pesquisa que utiliza métodos de alto nível *ab initio* (a teoria da perturbação de segunda ordem de Moller-Plesset) foi usado para analisar a estrutura eletrônica e espectros vibracionais de o-Abz em fase de gasosa como também em solução aquosa com auxílio do método contínuo polarizável (PCM - *Polarizable Continuum Method*) [14]. Ainda temos outros trabalhos a citar como o que utiliza métodos *ab initio* de Hartree-Fock (HF) e interação de configuração (CIS) como também teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TDDFT) utilizados para avaliar a mudança de geometria do o-Abz em excitação e os modos vibracionais [10]. Outro, que apresenta estudos experimentais e teóricos realizados com o ácido orto-aminobenzóico e três derivados desta molécula para estudar o efeito de solventes no espectro óptico [8]. Recentemente, foi realizado um estudo comparativo de Ahba (2-Amino-N-hexadecil-benzamida) com outra sonda lipofílica,

Laurdan 6-dodecanoil-2-dimetilamina-naftaleno [27], para monitoramento de bicamadas lipídicas que são usados como modelos para imitar membranas.

O efeito do solvente no soluto em várias reações químicas é um sistema complexo que levanta várias perguntas de interesse científico. A presença de moléculas solventes ao redor de uma molécula é um dos tópicos importantes em biofísica, química e biologia, pois a maioria das reações químicas e processos biológicos ocorrem em solução [29]. O efeito do solvente na estrutura da molécula, o soluto, pode ser estudado em várias maneiras. Colocando poucas moléculas solventes em locais apropriados de uma determinada molécula soluto onde elas possam formar ligações de hidrogênio, o qual é conhecido como microssolvatação. Nesta aproximação onde poucas moléculas solventes são incluídas na otimização da geometria, descreve os efeitos do solvente de curto alcance, interações de ligações de hidrogênio e consiste em obter o estudo sobre propriedades eletrônicas. É possível também incluir um número suficientemente grande das moléculas solventes ao redor do soluto para simular um estado líquido para estudar as propriedades eletrônicas do conjunto utilizando as técnicas de simulação computacional como dinâmica molecular ou metodologia de QM/MM (*Quantum Mechanics/ Molecular mechanics*) [30, 31] onde a parte do sistema, geralmente o soluto e algumas moléculas solventes, são tratados quanticamente e outra parte do sistema composta pelas moléculas solventes mais externas são tratadas por mecânica clássica. Através deste método foi possível incluir as interações específicas entre o soluto e solvente, mas, o procedimento, fica muito caro computacionalmente. Existe também o método de campo de reação auto-consistente (*Self-consistent Reaction Field* ou SCRF) [32] onde o soluto é colocada em uma cavidade rodeada por um meio dielétrico contínuo polarizável que representa o solvente. Neste método há uma dependência referente à forma e ao tamanho da cavidade onde a molécula isolada é envolvida, não descreve adequadamente interações do tipo ligação de hidrogênio e transferência de carga. Porém, o SCRF é um modelo bastante simples e fácil de aplicar. Por isso, este método foi amplamente utilizado nos estudos de efeitos de solventes e várias formas diferentes do SCRF foram desenvolvidas ao longo de tempo [33].

A microssolvatação é controlada pela adição de um determinado número de moléculas solventes próximas a um soluto, uma molécula neutra ou carregada. A microssolvatação tem sido o foco de várias investigações para diferentes tipos de soluto [4, 5, 29, 34-40]. A microssolvatação pode descrever interações individuais entre soluto e moléculas solventes, que pode ser particularmente importante quando o solvente e o soluto

podem formar ligações de hidrogênio. A ligação de hidrogênio é uma das interações mais importantes que representa um papel crucial em muitos processos químicos e bioquímicos e ajuda a entender as propriedades das moléculas [41, 42]. Tem sido mostrado na literatura que o efeito do solvente [34, 35, 39-48] na estrutura do soluto no estudo microscópico muda as propriedades moleculares e ainda podem-se obter informações adicionais como estudo espectroscópico, diferentes energias de interações de muitos corpos que contribui para a energia de ligação e também um detalhado conhecimento de ligação de hidrogênio.

Muitos estudos da fase gasosa envolvem microssolvatação entendendo uma variedade de interações entre soluto e moléculas solventes [4, 5, 49-52], assim são de grande importância caracterizar o processo de microssolvatação de moléculas em fase gasosa.

Por causa da presença do grupo carboxílico (-COOH) e amino (-NH₂), o o-Abz contém múltiplos locais para formação de ligações de hidrogênio com água ou outras moléculas solventes e pode agir simultaneamente como um receptor de próton e um doador de próton. Estudos teóricos e experimentais de microssolvatação de moléculas como o-Abz que consiste em mais de um local para formação de ligação de hidrogênio constituem um área ativa de pesquisa. Os estudos de ligações de hidrogênio de moléculas microssolvatadas ou micro-hidratadas [41, 42, 53-61] (microssolvatação com moléculas de água) são de fundamentais importâncias para a compreensão do papel do solvente nas mudanças estruturais e bioquímicas do soluto no sistema soluto-solvente como também para o entendimento de outros tipos de interações que podem ocorrer nesse sistema. As investigações teóricas que consideram interação entre soluto e solvente na fase gasosa devido as ligações de hidrogênio são importantes para o entendimento de outros tipos de interações que podem ocorrer entre soluto e solvente. As informações das interações de soluto e solvente podem ser úteis para calibrar funções de energias potenciais que são requeridas nos estudos de simulação moleculares.

Devido os grupos amino e ácido carboxílico serem polares, o o-Abz é altamente solúvel em água. O solvente água chama muita atenção por ser um meio mais natural para micro-hidratar moléculas biológicas [62-66]. No entanto, na literatura existem poucos estudos da interação entre o-Abz e água como uma molécula modelo para o estudo de micro-hidratação [4, 25]. Estes trabalhos tratam da parte espectroscópica do o-Abz com a molécula de água, em geral até duas moléculas de água. Portanto, no presente trabalho iremos estudar a microssolvatação da molécula orto-aminobenzóico, e escolhemos como

solvente a água. Na biologia água é o meio natural para a vida e na química de solução a água como um solvente universal é o meio mais útil para as reações químicas. Em física é utilizado como modelo para pesquisa no desenvolvimento de potenciais de interação. Em física atmosférica o conhecimento do espectro da água é uma parte fundamental para modelagem da atmosfera. Analisando a micro-hidratação da molécula o-Abz em fase gasosa, estaremos contribuindo com a expansão da literatura sobre o estudo de micro-hidratação de moléculas.

Diante do exposto, a motivação deste trabalho reside nos resultados experimentais e teóricos da molécula o-Abz. No presente trabalho investigamos as ligações de hidrogênio na interação da molécula de o-Abz na fase gasosa com uma até três moléculas de água, $\text{o-Abz} \cdots (\text{H}_2\text{O})_{1-3}$. Como visto na literatura [1] o-Abz, em fase gasosa, possui duas conformações (rotâmeros). As duas estruturas são diferentes por uma rotação de 180° do grupo carboxílico (COOH). Neste trabalho usaremos a conformação que possui a energia eletrônica mais baixa, ou seja, a conformação com energia mais estável. Iniciamos colocando uma molécula de água estrategicamente próxima ao grupo de carboxílico (COOH) e posteriormente ao grupo amino (NH_2) de maneira que forme interação de ligação de hidrogênio. Para outros passos, aumentamos o número de moléculas de água gradualmente até três moléculas ao redor da molécula o-Abz.

O presente trabalho está inserido no projeto de pesquisa sistemas moleculares e modelagem computacional, na linha de pesquisa estudo teórico de propriedades de sistemas biomoleculares, tem como objetivo principal analisar o efeito de microsolvatação na molécula o-Abz, utilizando o solvente água. O método proposto é a teoria do funcional de densidade (DFT) com o funcional híbrido B3LYP [67, 68] e os dois conjuntos de base 6-31++G(d,p) [69] e aug-cc-pVDZ [70] que consiste em 232 e 293 funções gaussianas, respectivamente. O efeito de micro-hidratação na estrutura e no espectro vibracional é estudado quando colocamos as moléculas de água estrategicamente ao redor de o-Abz e otimizamos a geometria com o programa computacional Gaussian 03 [71] na forma de agrupamento, para obter as propriedades estruturais, eletrônicas, vibracionais e as magnéticas. Esses resultados serão obtidos para investigar as ligações de hidrogênio e os efeitos que o solvente causa na molécula o-Abz e comparar os resultados dos dois conjuntos de base. Nas propriedades magnéticas serão estudadas as variações dos parâmetros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) dos átomos de o-Abz participantes na interação com a água utilizando o conjunto de base 6-31++G(2d,2p) e o funcional

híbrido B3LYP para examinar os parâmetros deslocamentos químicos anisotrópico e isotrópico. Serão investigadas essas propriedades magnéticas, também, com o método de Hartree-Fock com a base 6-31++G(2d,2p) apenas para comparar com B3LYP com a mesma base.

No capítulo 2 apresentamos o método aproximativo DFT para a solução da equação de Schrödinger que pode ser utilizado para sistemas multieletrônicos como moléculas em estados estacionários. Nesse capítulo incluímos um breve comentário sobre ligações de hidrogênio. No capítulo 3 apresentamos as estruturas moleculares de o-Abz micro-hidrato, algumas propriedades eletrônicas, as frequências vibracionais, ligações de hidrogênio, propriedades magnéticas e a discussão dos resultados. E finalmente no capítulo 4 a conclusão e sugestões. Através deste trabalho foram publicados dois artigos [72, 73], os quais irão contribuir na literatura para entendimento da micro-hidratação em molécula.

Capítulo 2

Teoria do Funcional da Densidade e Ligação de Hidrogênio

Em mecânica quântica aprendemos que todas as informações que podemos ter sobre um determinado sistema estão contidas no conhecimento da função de onda. Se tivermos interessados somente na estrutura eletrônica de átomos, moléculas, e sólidos, no sistema aparece um potencial agindo nos elétrons de forma que a função de onda dependa somente das coordenadas eletrônicas, e esta função de onda pode ser obtida para resolver a equação de Schrödinger para um sistema não relativístico. Os sistemas de átomos e moléculas são multieletrônicos, contendo muitos corpos, que são bastante complicados ao serem analisados. Porém, é possível tratá-los de forma razoável, usando métodos aproximativos para solução da equação de Schrödinger. Um dos métodos aproximativos que utiliza a função de onda como solução da equação de Schrödinger é o método de Hatree-Fock [74,75], que torna o problema de N corpos interagentes no problema de N corpos desacoplados. No método de Hatree-Fock (HF) a função de onda que descreve o sistema molecular é representada por um determinante de Slater, nesta aproximação cada elétron está sujeito a um potencial efetivo chamado na literatura como potencial autoconsistente e considera a interação elétron-elétron de forma média, ou seja, esse método não considera correlação eletrônica. Um método que considera correlação eletrônica é a teoria da perturbação de Moller-Plesset [76, 77]. A teoria de perturbação de Mooler Plesset inclui a correlação eletrônica na energia de Hatree-Fock, usando a teoria da perturbação de muitos corpos. Para qualquer sistema molecular a energia de correlação deve ser determinada para que se tenha a possibilidade de encontrar as propriedades físicas

do sistema. A teoria de perturbação de Moller-Plesset de segunda ordem (MP2) é definida como a energia de Htree-Fock mais a correção de segunda ordem, essa teoria requer apenas inclusão de excitações duplas. A energia de correção de segunda ordem tem sempre o sinal negativo, portanto a energia MP2 é menor que a energia de Htree-Fock, porém na maioria das vezes a energia de correção de segunda ordem superestima o valor da energia de correlação, de forma que MP2 leva a uma energia menor que a energia exata. A MP2 também usa a função de onda como solução da equação de Schrödinger para moléculas. Na literatura encontramos um método que utiliza a densidade eletrônica que descreve a distribuição de carga em uma molécula para resolver a equação de Schrödinger e assim podemos escrever uma equação de densidade eletrônica com três variáveis, isto quando não condiremos o spin. Este método é conhecido como Teoria do funcional de densidade (DFT) e para ser utilizado é necessário o desenvolvimento de funcionais de troca-correlação. Uma das vantagens de se utilizar a DFT é que o custo computacional é bem menor que para o MP2. A DFT é utilizada amplamente para estudo de sistemas muito complexos, como sistemas moleculares encontrados em pesquisas farmacêuticas, agroquímicas, biotecnológicas, ciências de materiais e polímeros, estado sólido, eletroquímica.

A DFT é uma aproximação da mecânica quântica para descrever as propriedades da matéria no seu diverso estado sólido, líquido ou gás, a energia de ligação de moléculas e estruturas de ligações de sólidos em química e física. Para adquirir uma primeira idéia da aproximação da teoria da DFT, é necessário recordarmos alguns fundamentos da mecânica quântica [78, 79]. No entanto, a DFT é uma teoria usada para investigar, em geral, o estado fundamental de sistemas, e suas propriedades podem ser determinadas através de funcionais de densidade eletrônica. A DFT é construída através de uma fundamentação teórica quântica e utiliza a densidade eletrônica como uma variável básica para descrever o sistema de muitos corpos. O uso da densidade eletrônica como variável básica na descrição de um sistema eletrônico inicia-se com o trabalho de Drude em 1900 [80], quando construiu uma teoria da condução elétrica e térmica, aplicando a teoria cinética dos gases ao metal, considerando como um gás de elétrons. E depois foi aperfeiçoado por Sommerfeld [81], Thomas [82], Fermi [83] e Dirac [84]. O modelo de Thomas-Fermi-Dirac também usa a densidade eletrônica em lugar da função de onda para obter informações sobre sistemas atômicos e moleculares. Neste capítulo iremos abordar apenas alguns elementos essenciais da DFT. O alicerce da DFT esta nos dois teoremas de

Hohenberg-Kohn [85] e nas equações de Kohn-Sham [86]. Para uma revisão dos métodos de Hatree-Fock temos os livros textos [76-78], para um detalhamento no desenvolvimento da DFT [76, 77, 87, 88] e para um breve resumo de fundamentos e aplicações de química quântica [89].

2.1 – A Equação de Schrödinger independente do tempo para um sistema molecular

A equação de Schrödinger independente do tempo e não relativística para muitos corpos é dada da pela seguinte expressão:

$$\hat{H}\Psi_i(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_n, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_m) = E_i\Psi_i(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_n, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_m) \quad (2.1)$$

onde \hat{H} é o operador Hamiltoniano, que atua na função de onda Ψ_i para um sistema de moléculas consistindo de m núcleos e n elétrons na ausência de campos magnéticos e elétricos e E_i é a energia total do sistema. Este operador pode ser representado em unidades atômicas pela expressão

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{A=1}^m \frac{1}{M_A} \nabla_A^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^m \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>1}^n \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{A=1}^m \sum_{B>A}^m \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}, \quad (2.2)$$

onde os índices A e B referem-se ao sistema de m núcleos e i e j denotam ao sistema de n elétrons. O primeiro termo descreve a energia cinética dos elétrons, o segundo termo a energia cinética dos núcleos atômicos de massa M_A , e ∇^2 é o operador diferencial Laplaciano, o terceiro termo representa a energia potencial de atração eletrostática entre os núcleos de números atômicos Z_A e os elétrons distantes dos núcleos nas posições r_{iA} , o quarto termo corresponde a energia potencial repulsiva de interações coulombiana entre elétrons nas posições r_{ij} e o quinto termo refere-se a energia potencial de interações coulombiana entre os núcleos atômicos de números atômicos Z_A e Z_B localizados nas posições R_{AB} . As distâncias entre duas partículas, por exemplo, A e B , é $R_{AB} = |\vec{R}_A - \vec{R}_B|$. A função de onda depende de $3N$ coordenadas espaciais dos elétrons, N coordenadas de spin representadas por \vec{x}_n e $3M$ coordenadas espaciais do núcleo representadas por \vec{R}_m . A

função de onda contém toda a informação que pode ser conhecida possivelmente sobre o sistema quântico, sendo que, a energia total é o valor numérico da energia do estado escrito pela função de onda.

É necessário resolver a equação de Schrödinger para estudar qualquer sistema quântico como moléculas. Porém, não é possível resolver esta equação analiticamente para sistemas multieletrônicos.

A equação de Schrödinger pode ser simplificada se levarmos em consideração a significativa diferença entre as massas de núcleos e elétrons, isto é, os núcleos movem-se muito mais lento que os elétrons, em consequência podemos numa aproximação considerar apenas os elétrons movendo-se em um campo do núcleo fixo, esta metodologia é chamada de aproximação de Born-Oppenheimer [90].

Nesta aproximação os núcleos são fixos no espaço e não se movem então a energia cinética dos núcleos é zero e a energia potencial devido à repulsão de núcleo-núcleo é uma constante. Assim, a Eq. (2.2) se reduz ao Hamiltoniano eletrônico

$$\hat{H}_e = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{A=1}^m \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_{i=1}^n \sum_{j>i}^n \frac{1}{r_{ij}} = \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} . \quad (2.3)$$

A solução da equação de Schrödinger, com o operador Hamiltoniano, é uma função de onda eletrônica Ψ_e e energia eletrônica E_e . A função de onda eletrônica depende das coordenadas eletrônicas. A energia total E_T é a soma das energias eletrônica e o termo de repulsão nuclear constante, ou seja,

$$\hat{H}\Psi_T = E_T\Psi_T, \quad (2.4)$$

onde $\hat{H} = \hat{H}_e + \hat{V}_{NN}$, sendo \hat{V}_{NN} expresso por

$$\hat{V}_{NN} = \sum_{A=1}^m \sum_{B>A}^m \frac{Z_A Z_B}{r_{AB}} \quad (2.5)$$

e

$$E_T = E_e + E_N . \quad (2.6)$$

2.2. – Teoria do funcional da densidade

Os conceitos iniciais da teoria do funcional de densidade (DFT) encontram-se no trabalho de Hohenberg e Kohn (1964) [85] sobre gás de elétrons não-homogêneos. Este trabalho trata-se do estado fundamental de um gás de elétron interagindo em um potencial externo $v(r)$. Hohenberg e Kohn (HK) demonstram que existe um funcional de densidade universal, $F[\rho(\vec{r})]$, com a expressão para energia $E[\rho(\vec{r})] = \int v(\vec{r})\rho(\vec{r}) + F[\rho(\vec{r})]$ que tem como seu valor mínimo a energia do estado fundamental associada ao potencial externo. Deste modo, o estado fundamental de muitas partículas é um funcional único da densidade. Deste artigo surgiram dois teoremas: (i) O potencial externo sentido pelos elétrons é um funcional único da densidade eletrônica $\rho(\vec{r})$; (ii) A energia do estado fundamental assume seu valor mínimo para densidade eletrônica exata. Thomas e Fermi foram os primeiros a usarem a densidade como uma variável básica, porém, o uso da densidade eletrônica como uma variável somente foi posta sobre uma fundamentação física firme com os dois teoremas de HK. E o método principal de implementação da DFT está no trabalho de Kohn e Sham (1965) [86]. A seguir iremos analisar o método de Kohn e Sham (KS).

2.2.1 – A aproximação de Kohn-Sham

O trabalho de Kohn-Sham (KS) surgiu em 1965, um ano depois de Hohenberg-Kohn (HK) terem apresentado os teoremas comentados acima. No trabalho de KS, eles apresentam como podemos trabalhar com os teoremas de HK. Eles utilizam o método Hartree-Fock e os spin-orbitais, o conceito de um sistema de referência não interagente construído de um conjunto de orbitais tal que a parte principal da energia cinética pode ser computada com boa precisão. Por este método, uma parte das informações é computada exatamente e deixando somente uma parte da energia total ser determinada por um funcional aproximado. Este funcional é composto pela energia cinética de um sistema de

elétrons não interagentes com densidade eletrônica e outra energia que contém a energia de troca, a energia de correção de um sistema interagente com densidade eletrônica, contendo também a correção da energia cinética, essa parte é chamada de funcional de densidade de troca-correlação. Nesta aproximação é introduzida um potencial efetivo que depende da densidade eletrônica e de um potencial chamado de potencial de *exchange*-correlação (potencial de troca-correlação). A equação de Schrodinger é construída utilizando este potencial efetivo de KS, na qual surge o operador Hamiltoniano de KS, construindo a equação de KS, cuja solução é obtida através do cálculo autoconsistente, que para termos o potencial efetivo é necessário fazer uma escolha do funcional de troca-correlação (*exchange*-correlação). Após essa breve introdução da aproximação de KS, agora iremos discutir algumas de suas principais características.

Os teoremas de Hohenberg-Kohn nos permitem construir uma teoria que usa a densidade de elétron como a quantidade fundamental. A energia do estado fundamental de um sistema atômico ou molecular pode ser escrito com um funcional de densidade que contém as contribuições individuais da energia cinética, a interação Coulombiana clássica e a porção não clássica devido à correção de mesma interação, troca, e efeitos de correlação eletrônica, e mais a energia potencial devido à atração núcleo-núcleo. Este funcional universal é expresso como

$$F[\rho(\vec{r})] = T[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{ncl}[\rho(\vec{r})], \quad (2.7)$$

sendo que $J[\rho(\vec{r})]$ é conhecido, enquanto as formas explícitas das outras duas contribuições não são conhecidas. No modelo de Thomas-Fermi e Thomas-Fermi-Dirac temos a energia cinética, o potencial devido aos núcleos, a repulsão Coulomb clássica, porém, no caso do Thomas-Fermi-Dirac, ainda, modela a contribuição de troca, todas essas contribuições de energia são funcionais explícitos da densidade eletrônica, e suas expressões são modeladas de forma muito simples. No entanto, no modelo de Thomas-Fermi não dão bons resultados. Para tratar a energia cinética de forma diferente, Kohn e Shan propuseram um novo modelo.

O modelo de Hartree-Fock (HF) tem uma função de onda que é aproximadamente o determinante Slater construído de N spin-orbitais. Enquanto o determinante de Slater entra no método de HF como a aproximação para a verdadeira função de onda de N

elétrons, ele também pode ser olhado como a função de onda exata de um sistema fictício de N elétrons não interagentes [88]. Para este tipo de função de onda, a energia cinética pode ser expressa exatamente como

$$T_{HF} = -\frac{I}{2} \sum_i^N \langle \chi_i | \nabla^2 | \chi_i \rangle \quad (2.8)$$

O spin-orbital χ_i que aparece nesta expressão é escolhido de tal forma que o valor de E_{HF} atinge seu mínimo de forma que o spin-orbital permaneça ortonormal

$$E_{HF} = \min_{\Phi \rightarrow N} \langle \Phi | \hat{T} + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_{ee} | \Phi \rangle. \quad (2.9)$$

A conexão importante do método de HF com a teoria do funcional de densidade é que a expressão de energia cinética que é válida para férmions não interagentes é computada na fração principal da energia cinética do sistema interagente.

As funções de onda acima para sistema não interagentes são os determinantes de Slater [91] Assim, será possível montar um sistema de referência não interagente, com um Hamiltoniano no qual introduzimos um potencial efetivo local, $V_s(\vec{r})$:

$$\hat{H}_s = -\frac{I}{2} \sum_i^N \nabla_i^2 + \sum_i^N V_s(\vec{r}_i). \quad (2.10)$$

Desde que este operador Hamiltoniano não contenha nenhuma interação de elétron-elétron, realmente isto descreve um sistema não interagente. Adequadamente, sua função de onda do estado fundamental é representada pelo determinante de Slater o qual iremos simbolizar aqui por Θ_s e os spins-orbitais por φ , portanto

$$\Theta_S = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{bmatrix} \varphi_1(\bar{x}_1) & \varphi_2(\bar{x}_1) & \cdots & \varphi_N(\bar{x}_1) \\ \varphi_1(\bar{x}_2) & \varphi_2(\bar{x}_2) & \cdots & \varphi_N(\bar{x}_2) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \varphi_1(\bar{x}_N) & \varphi_2(\bar{x}_N) & \cdots & \varphi_N(\bar{x}_N) \end{bmatrix} \quad (2.11)$$

onde os spins-orbitais estão relacionados com um operador, o qual irá chamar de o operador de KS \hat{f}_{KS} , dado por

$$\hat{f}_{KS} \varphi_i = \varepsilon_i \varphi_i. \quad (2.12)$$

com o operador de KS de um elétron definido como

$$\hat{f}_{KS} = -\frac{1}{2} \nabla^2 + V_S(\vec{r}). \quad (2.13)$$

Aqui os spins-orbitais serão chamados simplesmente de orbitais KS e está relacionado com a densidade eletrônica da forma:

$$\rho_S = -\sum_i \sum_s |\varphi_i(\vec{r}, s)|^2 = \rho_0(\vec{r}). \quad (2.14)$$

A idéia de Kohn e Sham foi sugerir o uso da expressão (2.8) para obter a energia cinética exata do sistema levando em conta a mesma densidade tanto para o sistema de referência não interagente quanto para o sistema interagente, onde a energia cinética não interagente é dada por

$$T_S = -\frac{1}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle. \quad (2.15)$$

Foi, ainda, considerado um funcional $F[\rho(\vec{r})]$ escrito como

$$F[\rho(\vec{r})] = T_S[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{XC}[\rho(\vec{r})]. \quad (2.16)$$

onde E_{XC} é denominada a energia de troca-correlação (XC) de um sistema interagente com densidade $\rho(\vec{r})$ e está definida como a soma da energia de troca E_X devido ao princípio de exclusão de Pauli, com a energia devido às correlações E_C , ou seja,

$$E_{XC}[\rho(\vec{r})] \equiv (T[\rho(\vec{r})] - T_S[\rho(\vec{r})]) + (E_{ee}[\rho(\vec{r})] - J[\rho(\vec{r})]) = T_C[\rho(\vec{r})] + E_{nci}[\rho(\vec{r})]. \quad (2.17)$$

E, ainda, escrever $G[\rho(\vec{r})]$ na forma

$$G[\rho(\vec{r})] = T_S[\rho(\vec{r})] + E_{XC}[\rho(\vec{r})]. \quad (2.18)$$

onde T_S representa a parte da energia cinética de partículas não interagentes, T_C é parte residual da verdadeira energia cinética $T[\rho(\vec{r})] \equiv T_S[\rho(\vec{r})] + T_C[\rho(\vec{r})]$, portanto T_C é parte de E_C .

A energia de troca-correlação (*exchange-correlation*) E_{XC} é um funcional que contém tudo o que é desconhecido, não só contém os efeitos de correção de auto interação não clássica, troca e correlação que são as contribuições a energia potencial do sistema, mas também uma porção que pertence à energia cinética. Como visto temos uma relação entre densidade e orbitais então temos a indicação de que T_S seja um funcional de ρ . Um modo de olhar para isto é notar que a expressão da energia do sistema não interagente contém somente duas componentes: a energia cinética e a energia devido à interação com o potencial externo. Pelo teorema de Hohenberg-Kohn, temos que a energia total é um funcional da densidade. Igualmente, a interação com o potencial externo é um funcional explícito da densidade. Consequentemente, T_S também é necessariamente um funcional da densidade de carga. Mas, nota-se que não temos uma expressão simples para T_S onde a densidade entra explicitamente temos que T_S é um funcional explícito de orbital, mas um funcional implícito de densidade, ou seja, $T_S[\rho] = T_S[\{\phi_i[\rho]\}_i]$, assim temos que T_S depende de um conjunto de orbitais, na qual é um funcional de densidade.

Escrevemos agora a expressão para a energia do sistema, destacando a dependência nos orbitais, utilizando as Eqs (2.14) e (2.15):

$$\begin{aligned}
E[\rho(\vec{r})] &= T_s[\rho(\vec{r})] + J[\rho(\vec{r})] + E_{xc}[\rho(\vec{r})] + E_{Ne}[\rho(\vec{r})] . \\
&= T_s[\rho(\vec{r})] + \frac{I}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_1)\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{xc}[\rho(\vec{r})] + V_{Ne}\rho(\vec{r}) d\vec{r} \\
&= -\frac{I}{2} \sum_i^N \langle \varphi_i | \nabla^2 | \varphi_i \rangle + \frac{I}{2} \sum_i^N \sum_j^N \iint |\varphi_i(\vec{r}_1)|^2 \frac{I}{r_{12}} |\varphi_j(\vec{r}_2)|^2 d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 + E_{xc}[\rho(\vec{r})] \\
&\quad - \sum_i^N \int \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{IA}} |\varphi_i(\vec{r}_i)|^2 d\vec{r} .
\end{aligned} \tag{2.19}$$

O único termo para o qual nenhuma forma explícita pode ser dada é E_{xc} .

Podemos definir V_s como um potencial efetivo V_{eff} dado por

$$V_s(\vec{r}) \equiv V_{eff}(\vec{r}) = \int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + V_{xc}(\vec{r}_i) - \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{IA}} . \tag{2.20}$$

Substituindo na Eq. (2.13), teremos

$$\begin{aligned}
\hat{f}_{KS} \varphi_i &= \left\{ -\frac{I}{2} \nabla^2 + V_s(\vec{r}) \right\} \varphi_i \\
&= \left\{ -\frac{I}{2} \nabla^2 + \left[\int \frac{\rho(\vec{r}_2)}{r_{12}} d\vec{r}_2 + V_{xc}(\vec{r}_i) - \sum_A^M \frac{Z_A}{r_{IA}} \right] \right\} \varphi_i
\end{aligned} \tag{2.21}$$

O potencial V_{xc} é o potencial devido à energia de troca-correlação. Desde que não sabemos como esta energia deveria ser expressa, também não sabemos sobre a forma explícita do potencial correspondente. Consequentemente, V_{xc} está simplesmente definido como o derivada do funcional E_{xc} com respeito à ρ ,

$$V_{XC} \equiv \frac{\delta E_{XC}}{\delta \rho}. \quad (2.22)$$

Se as formas exatas de E_{XC} e V_{XC} fossem conhecidas, a estratégia de KS conduziria à energia exata, isto é, teríamos os autovalores corretos do operador Hamiltoniano da equação de Schrödinger. A aproximação só é feita quando tivermos decidido numa forma explícita do desconhecido funcional para a energia de troca-correlação e do correspondente potencial. A meta principal da teoria do funcional de densidade é então encontrar as melhores aproximações para estas duas quantidades

2.3 – A aproximação do funcional de troca

Para aplicar o esquema de KS como uma ferramenta para resolver a equação de Schrodinger só é possível se tivermos o funcional troca e correlação E_{XC} . Vários trabalhos de pesquisa e metodologias vêm sendo desenvolvidas visando descrever esse funcional. Temos a conexão adiabática que provê ligação entre a energia potencial não clássica de troca e correlação e o funcional E_{XC} do esquema de KS, as aproximações da densidade local (LDA) que consiste no tratamento de densidade eletrônica localmente como sendo um gás eletrônico homogêneo, e a aproximação da densidade de spin local (LSDA) que estuda sistemas de camada aberta, spins desemparelhados, utilizando o formalismo de polarização de spins, temos, também, a aproximação do gradiente generalizado (GGA), onde as energias de correlação são dependentes tanto da densidade eletrônica quanto do gradiente da densidade, nesta aproximação a energia de troca e a energia de correlação podem ser modeladas separadamente. Finalmente, temos os funcionais híbridos que são geralmente chamados como funcionais de correlação e troca híbridos, esses consistem em misturar as energias de troca, calculada no método de HF, com as energias de correlação e de troca obtidas com a DFT. A conexão dos modelos onde os elétrons não interagem entre si e sistemas cujos elétrons interagem entre si é feita por meio da conexão adiabática. Como neste trabalho iremos trabalhar com funcional híbrido, B3LYP, iremos a seguir comentar sobre este funcional.

2.3.1 – Funcional híbrido B3LYP

Os funcionais híbridos são compostos de mistura de combinações de funcionais de troca e correlação. O funcional híbrido mistura os funcionais de troca e correlação da aproximação LSDA do método KS com o termo de troca do método de Hartree-Fock e ainda o funcional de troca de Becke 88 [92, 93]. Funcionais deste tipo é chamado de funcionais híbridos DFT/HF por misturarem funcionais de densidade com o funcional de troca de Hartree-Fock. Em 1993 Becke [67] introduziu os coeficientes semiempíricos determinando pesos para cada funcional, ou seja,

$$E_{XC}^{B3} = E_{XC}^{LSDA} - aE_X^{LSDA} + aE_X^{HF} + bE_X^{B88} + cE_C^{PW91}. \quad (2.23)$$

Nesta equação temos três parâmetros a , b e c . A quantidade do funcional de troca exato está determinada pelo parâmetro a , enquanto b e c controlam as contribuições de troca e correlação. Becke, utilizou o funcional de troca do trabalho feito por ele em 1988 e o termo de correlação E_c^{PW91} é referente a Perdew e Wang [94, 95] conhecido na literatura como PW91. Os três parâmetros empíricos foram determinados pelo ajuste dos valores previstos para um conjunto de energias atômicas, potenciais de ionização e próton afinidade, onde isto conduziu $a = 0,20$, $b = 0,72$, e $c = 0,81$.

Atualmente o funcional híbrido mais popular é conhecido como B3LYP [68], que foi, também, utilizado por Stephens et al., em 1994 [96]. Em B3LYP, o funcional de correlação de PW91 é substituído pelo termo do funcional de correlação proposto por Lee, Yuang e Parr [68]. Assim, a expressão para o funcional de troca-correlação B3LYP é escrita como

$$E_{XC}^{B3LYP} = E_X^{LSDA} - aE_X^{LSDA} + aE_X^{HF} + bE_X^{B88} + cE_C^{LYP} + (1-c)E_C^{LSDA}. \quad (2.24)$$

O B3LYP tem um desempenho excelente em várias aplicações químicas.

2.4 – Funções de base

A Combinação Linear de Orbitais Atômicos (LCAO – *Linear Combination of Atomic Orbitals*) é sem dúvida um modo eficiente para se fazer o procedimento autoconsistente para se resolver a Equação de KS computacionalmente. Levando a escolha de um tipo de conjunto de base para iniciar os cálculos. Na LCAO considera-se que a aproximação de um orbital molecular pode ser obtida pela combinação linear de seus

orbitais atômicos para um sistema de N funções de base que são simplesmente chamadas de funções de base ou conjunto de base.

Segundo a teoria de KS, os orbitais são autofunções do Hamiltoniano de KS, então relembrando na forma de operador de KS temos a Eq. (2.12), dada por

$$\hat{f}_{KS}\varphi_i = \varepsilon_i\varphi_i. \quad (2.12)$$

A Eq. (2.12) representa um sistema complicado com equações contendo operador diferencial e integral. É necessário encontrar computacionalmente um modo eficiente de resolver estas equações. A aplicação da teoria do funcional de densidade de KS faz uso da LCAO com os orbitais moleculares φ_i . O esquema que os orbitais moleculares podem ser obtidos como uma combinação linear de funções de bases foi sugerida por Roothaan [97] em 1951 utilizando o método de Hartree-Fock. Portanto, na aproximação LCAO iremos chamar um conjunto de função de base L da forma $\{\eta_\mu\}$ e através da combinação linear dessas funções obtêm-se os orbitais de KS como

$$\varphi_i = \sum_{\mu=1}^L c_{i\mu}\eta_\mu. \quad (2.25)$$

O conjunto de $\{\eta_\mu\}$ estará completo quando $L = \infty$, no entanto em aplicações reais L é finito, então é necessário escolher um conjunto de função de base tal que a combinação linear da equação acima se aproxime quanto possível dos orbitais de KS exatos. As funções de base são normalmente escolhidas de acordo com o problema que se quer estudar.

Se operarmos o operador de KS no orbital que é a combinação linear das funções de base da forma $\eta_\nu(\vec{r}_i)$ teremos uma expressão

$$\hat{f}^{KS}(\vec{r}_i)\sum_{\nu=1}^L c_{\nu i}\eta_\nu(\vec{r}_i) = \varepsilon_i\sum_{\nu=1}^L c_{\nu i}\eta_\nu(\vec{r}_i). \quad (2.26)$$

Se agora multiplicamos a Eq. (2.26) com uma função de base arbitrária η_μ e integrarmos sobre o espaço L obtemos

$$\sum_{v=1}^L c_{vi} \int \eta_\mu(\vec{r}_1) \hat{f}^{KS}(\vec{r}_1) \eta_v(\vec{r}_1) d\vec{r}_1 = \varepsilon \sum_{v=1}^L c_{vi} \int \eta_\mu(\vec{r}_1) \eta_v(\vec{r}_1) d\vec{r}_1 \text{ para } 1 \leq i \leq L. \quad (2.27)$$

O integrando em ambos os lados da Eq. (2.27) define uma matriz. Do lado esquerdo teremos,

$$F_{\mu\nu}^{KS} = \int \eta_\mu(\vec{r}_1) \hat{f}^{KS}(\vec{r}_1) \eta_\nu(\vec{r}_1) d\vec{r}_1, \quad (2.28)$$

a matriz de KS, enquanto do lado direito os elementos de matriz de uma matriz a qual simbolizaremos por $S_{\mu\nu}$

$$S_{\mu\nu} = \int \eta_\mu(\vec{r}_1) \eta_\nu(\vec{r}_1) d\vec{r}_1, \quad (2.29)$$

Podemos ainda escrever uma matriz C com os coeficientes c_{vi} e uma matriz diagonal ε das energias do orbital ε_i .

$$C = \begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} & \cdots & c_{1L} \\ c_{21} & c_{22} & \cdots & c_{2L} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ c_{L1} & c_{L2} & \cdots & c_{LL} \end{pmatrix} \quad (2.30)$$

e

$$\varepsilon = \begin{pmatrix} \varepsilon_{11} & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & \varepsilon_{22} & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & \cdots & \varepsilon_{LL} \end{pmatrix}, \quad (2.31)$$

respectivamente.

Assim, podemos construir uma equação matriz da forma

$$F^{KS}C = SC\varepsilon, \quad (2.32)$$

onde F^{KS} contém os elementos de matriz de KS e S a matriz referente a sobreposição das funções de base. Para resolver a equação acima é necessário o conjunto de base e os coeficientes iniciais c_{vi} , assim podem-se construir os orbitais moleculares, obter a densidade eletrônica,

$$\rho(\vec{r}) = \sum_i^N |\varphi_i(\vec{r})|^2, \quad (2.33)$$

resolver a equação $F^{KS}C = SC\varepsilon$, obter novos orbitais moleculares, recalculando $\rho(\vec{r})$ até que haja consistência e assim pode-se calcular a energia total $E = E[\rho(\vec{r})]$.

Uma vez que a densidade eletrônica pode ser definida a partir dos orbitais moleculares, estes podem ser construídos a partir da combinação linear de um conjunto de função de base, existem algumas representações para este conjunto de base. Os principais tipos de funções de base são os chamados orbitais do tipo Slater (STOs) e funções do tipo gaussianas GTOs.

As STOs foram introduzidas em 1930 [98, 99] e são representadas pela expressão

$$\eta^{STO} = N x^a y^b z^c e^{-\xi r}, \quad (2.34)$$

onde ξ é chamado expoente orbital, N é uma constante de normalização, os fatores em x , y e z estão associados aos orbitais e os termos a , b e c são parâmetros ajustados. No entanto, as funções do tipo gaussianas (GTOs) são as mais utilizadas nos programas de cálculos, pois suas integrais moleculares são mais simples de calcular [100-102]. As funções gaussianas são representadas por:

$$\eta^{GTO} = N x^a y^b z^c e^{-\alpha r^2}, \quad (2.35)$$

onde α é um parâmetro fixo. As bases STOs são utilizadas para sistemas atômicos ou para cálculos moleculares semi empíricos, no entanto as bases GTOs são utilizadas para cálculos *ab initio* de moléculas poliatômicas. Computacionalmente se devem buscar

funções simplificadas, podemos escrever a função gaussiana de forma simplificada chamada de função gaussiana contraída (CGF),

$$\eta_{\tau}^{CGF} = \sum_{\beta} d_{\beta\tau} \eta_{\beta}^{GTO}, \quad (2.36)$$

A função contraída contém várias funções primitivas η_{β}^{GTO} do tipo GTO e $d_{\beta\tau}$ são coeficientes previamente fixados. Podemos citar como funções gaussianas contraídas as funções de base mínima [78] onde um mínimo de funções é utilizado para representar orbital e base estendida que são utilizadas para melhorar os resultados teóricos e para descrever o maior número de átomos e moléculas [103-112]. Existem vários modos de estender as funções entre eles temos: (i) divisão de orbitais; (ii) separando os orbitais de valência; (iii) adicionando funções de polarização; (iv) adicionando funções difusas.

Até aqui descrevemos alguns elementos fundamentais da teoria do funcional de densidade. A DFT está implementada em vários programas computacionais da química quântica.

2.5 – Ligações de hidrogênio

Ligação é a interação que se exerce entre dois ou mais sistemas atômicos que constituem uma molécula, e que dá a esta uma configuração estável. Quando temos interação entre moléculas temos interações intermoleculares. Numa interação as moléculas se atraem ou se repelem. A ligação de hidrogênio é uma interação atrativa sendo forma peculiar de interação molecular. Efetuam-se quando duas moléculas vizinhas interagem por intermédio de um átomo de hidrogênio que pertence a uma delas e liga-se a um sítio eletronegativo da outra molécula. A ligação de hidrogênio é a interação que contém uma ligação da forma $A - H \cdots B$. A ligação de hidrogênio requer que A e B sejam átomos eletronegativos e o átomo de hidrogênio serve como ponte entre os dois átomos eletronegativos. Quando o hidrogênio serve como ponte entre o átomo eletronegativo com quem está ligado e com o outro átomo eletronegativo situado na outra molécula teremos uma ligação intermolecular. Agora quando a ligação de hidrogênio ocorre na mesma molécula teremos uma ligação intramolecular

A ligação de hidrogênio pode ser descrita basicamente através de três parâmetros à distância $A - H$, à distância $H \cdots B$ e o ângulo entre $A - H \cdots B$. As ligações de hidrogênio

podem ser simétricas ou assimétricas. Numa ligação de hidrogênio simétrica o átomo de hidrogênio fica na metade da distância entre os dois outros átomos. Porém na configuração assimétrica a ligação $A - H$ é mais curta que a ligação $H \cdots B$. Segundo Hibbert e Emsley [71] podem existir três tipos de ligações de hidrogênio que dependem do valor da energia de ligação tais como: (i) ligações de hidrogênio fracas entre -2,4 e -12 kcal/mol; (ii) Ligações fortes entre -12 e -24 kcal/mol; (iii) ligações de hidrogênio muito fortes para energias mais negativas que -24kcal/mol temos. Os átomos eletronegativos ligados ao hidrogênio geralmente são o Flúor (F), o nitrogênio (N) e o oxigênio (O). Porém existem investigações sobre outras formas de ligações de hidrogênio como, por exemplo: $O - H \cdots \pi$ [115-117], $C - H \cdots B$ onde B é um átomo eletronegativo [44, 113] e $C - H \cdots \pi$ [114, 115].

Vários métodos espectroscópicos têm sido desenvolvidos para estudar a natureza da ligação de hidrogênio em sistema molecular. O método espectroscópico infravermelho (IR) e o Raman são usados para observar a influência da ligação do hidrogênio nas características vibracionais. Por outro lado o método de ressonância magnética nuclear (NMR) é um método espectroscópico ainda mais importante. Enquanto a espectroscopia no infravermelho revela os tipos de grupos funcionais presentes em uma molécula, a NMR oferece informações sobre o núcleos do átomo, os mais comuns estudados são o núcleo de hidrogênio e do carbono. A combinação de dados de IR e NMR são suficientes para determinar a estrutura de uma molécula [116]. A NMR é uma ferramenta para obtenção de informações detalhadas de ligação de hidrogênio [117-121].

Através do método DFT, podemos analisar a formação de ligação de hidrogênio utilizando a microssolvatação o qual tem sido bem aceita pela comunidade científica. No capítulo seguinte abordaremos o efeito de ligação de hidrogênio na molécula orto-aminobenzóico micro-hidratada por meio do método DFT.

2.6 - Método computacional

Neste trabalho para obter as otimizações das geometrias, os cálculos das frequências e as energias, foi utilizado o programa GAUSSIAN 03 [71]. Escolhemos o funcional híbrido, B3LYP e dois conjuntos de base $6-31++G(d, p)$ e $aug-cc-pVDZ$. O primeiro conjunto de base contém seis funções gaussianas para os orbitais que se encontram no caroço, enquanto a camada de valência é subdividida em duas, a parte

interna da camada de valência que é tratada com três funções gaussianas e a parte externa da camada de valência é representada por uma função gaussiana. Para melhorar os conjuntos de funções de base são adicionadas ainda as chamadas de funções difusas e funções de polarização [78] com objetivo de corrigir eventuais distorções e polarizações na estrutura eletrônica e, assim descrever satisfatoriamente as propriedades do sistema. As funções difusas são representadas pelo sinal, +, antes da letra *G* (a letra *G* significa Gaussiana), significando que temos funções gaussianas difusas dos tipos *s* e *p* em todos os átomos, exceto os hidrogênios, acrescentando um segundo +, indica que também foi incluída uma função gaussiana do tipo *s* para os hidrogênios. Na referida base as funções de polarização adicionadas são representadas por *d* e *p* após a letra *G*. As funções de polarização ainda podem ser representadas por, *, após a letra *G*. Um asterisco significa que foi incluída função de polarização do tipo *d* no conjunto de base, dois asteriscos indicam que funções *d* e *p* foram incluídas no conjunto de base. Portanto, na base 6-31++*G*(*d,p*) foram acrescentadas funções difusas e polarização em todos os átomos da molécula. Esta função de base é chamada do tipo Pople [69, 106-108]

Agora a base *aug-cc-pVDZ* é o conjunto de base de correlação consistente desenvolvida por *Dunning* [70, 109, 110] sendo que o prefixo *aug* significa que foram adicionadas funções difusas. A idéia das bases *cc* é criar uma hierarquia de bases em que, a cada etapa da série, sejam incluídas todas as funções que contribuem em quantidades aproximadamente iguais de correlação eletrônica de valência. As bases *cc* também se caracterizam pelo aumento do número de funções *sp* a cada etapa da sequência diminuindo de forma consistente, os erros referentes à polarização, o *p* significa polarização, assim *cc-p* significa conjunto de base com correlação consistente polarizado, *V* significa valência e *DZ* significa duplo-zeta (*doble-zeta*) que é quando o conjunto de base da molécula é formado pela duplicação de sua base mínima.

A combinação do método com o conjunto de funções de bases constitui modelo de teoria ou modelo de cálculo, portanto, o efeito da micro-hidratação na molécula o-Abz será analisada utilizando dois modelos de teoria B3LYP/ 6-31++*G*(*d,p*) e B3LYP/*aug-cc-pVDZ*. De maneira geral a escolha do método e das funções de base é referente à precisão dos cálculos e do custo computacional.

Para construir as estruturas de o-Abz e água, ou seja, o-Abz micro-hidratada utilizamos o *software* ArgusLab [122]. O estudo da geometria molecular de o-Abz foi realizado a partir de informações das estruturais obtidas com dados experimentais ou

trabalhos teóricos existentes na literatura. Para realizar a otimização da conformação estrutural de o-Abz e água independentemente, e o-Abz na presença de algumas moléculas da água localizadas em pontos estratégicos onde é possível a formação de ligações de hidrogênio foi utilizado o programa computacional Gaussian 03 [71]. A otimização das geometrias e cálculos de frequência são executadas independentemente para micro-hidratação de o-Abz com uma, duas e três moléculas de água. Para visualizar as estruturas otimizadas e as frequências vibracionais utilizamos o *software* de visualização Gaussview 4.1 [123].

Capítulo 3

Resultados e Discussão

3.1 - Propriedades estruturais

As Figuras 3 e 4 mostram as geometrias otimizadas da molécula o-Abz isolada na fase gasosa usando DFT com o funcional B3LYP e os conjuntos de base 6-31++G(d,p) e aug-cc-pVDZ, respectivamente, na conformação que iremos utilizar neste trabalho.

Nas Figuras 5 e 6, apresentamos a molécula o-Abz formando ligações de hidrogênio quando uma molécula de água é colocada próxima ao grupo carboxílico (–COOH) para o modelo 1 e modelo 2, B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ, respectivamente. Quando as moléculas de águas estiverem próximas do grupo COOH de o-Abz, o aglomerado será representado por $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, ($n = 1-3$), enquanto as Figuras 7 e 8 mostram o-Abz com uma água quando esta está próxima ao grupo NH_2 . Quando as moléculas de água estiverem próximas ao grupo NH_2 , o aglomerado será abreviado como $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, ($n = 1-3$). Para qualquer um dos casos, iremos também, representar o aglomerado $n = 1$ por 1:1, para $n = 2$, 1:2 e $n = 3$, 1:3.

No caso da geometria otimizada do $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$, Figuras 5, 6, a molécula de água situa-se quase simetricamente entre as ligações O–H e C=O do grupo COOH de forma que resultam em uma ligação de hidrogênio intermolecular da forma $[(\text{O}-\text{H})_{\text{o-Abz}} \cdots \text{O}_{\text{água}}]$ com distância de ligação $\text{H} \cdots \text{O}$ de 1,79 Å tanto para o modelo 1 como para o modelo 2, e outra ligação de hidrogênio intermolecular da forma $[(\text{O}-\text{H})_{\text{água}} \cdots \text{O}_{\text{o-Abz}}]$ com distância de ligação $\text{H} \cdots \text{O}$ para modelo 1 de 1,94 Å e para o modelo 2 de 1,92 Å, chegando a ser esta quase igual em comprimento para ambos os modelos. Para a configuração de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, Figuras 7 e 8, temos também duas ligações hidrogênio intermoleculares, porém a situação é diferente, encontramos a distância da ligação $\text{H} \cdots \text{O}$

da ligação hidrogênio intermolecular, $[(N-H)_{o-Abz} \cdots O_{\text{água}}]$, utilizando o modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(d,p) um valor de 2,23 Å e usando o modelo de cálculo de B3LYP/aug-cc-pVDZ obtemos 2,31 Å, no entanto na ligação hidrogênio intermolecular $[(O-H)_{\text{água}} \cdots O_{o-Abz}]$ verificamos que a distância da ligação $H \cdots O$ é menor para modelo 1 de 1,99 Å e também para o modelo 2 de 1,97 Å .

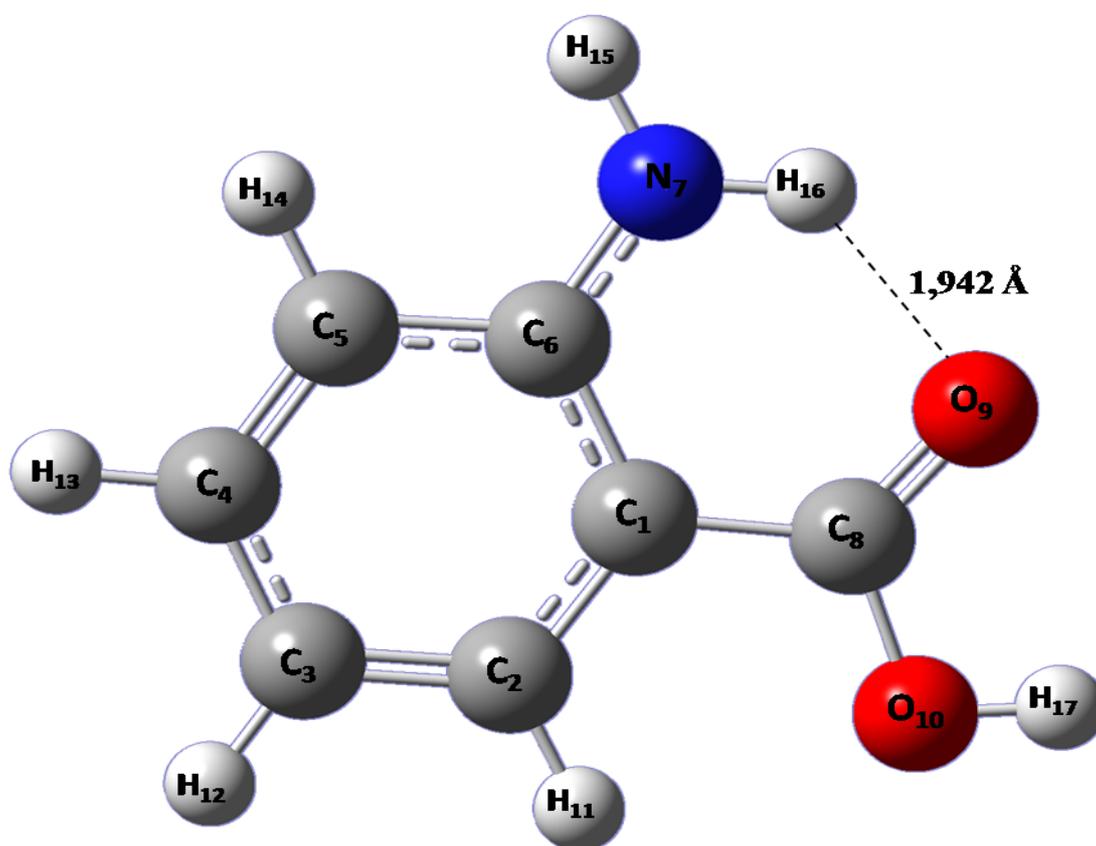


Figura 3 - Estrutura de equilíbrio de o-Abz otimizada por B3LYP/6-31++G(d,p) em fase gasosa. A linha tracejada representa ligação de hidrogênio intramolecular de $N_7-H_{16} \cdots O_9$.

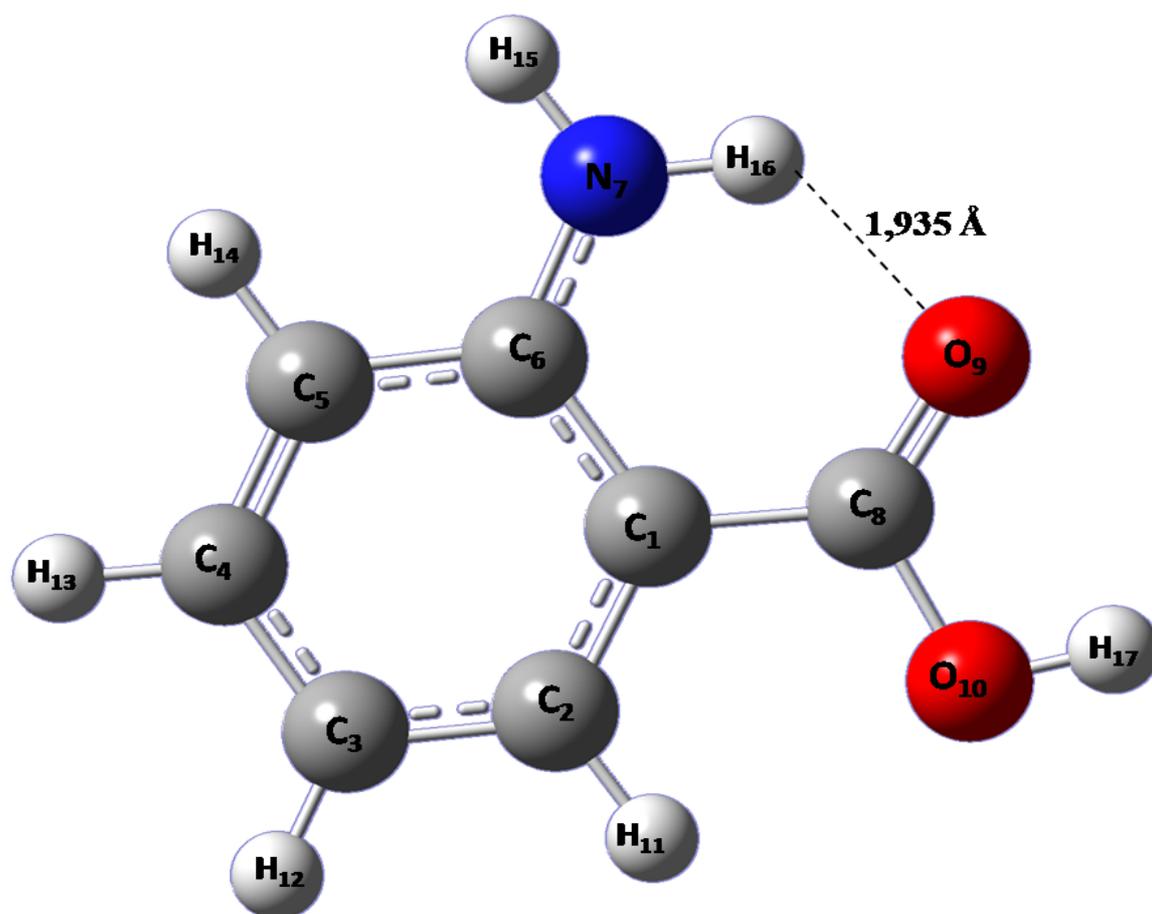


Figura 4 - Estrutura de equilíbrio de o-Abz otimizada por B3LYP/aug-cc-pVDZ em fase gasosa. A linha tracejada representa ligação de hidrogênio intramolecular de N₇-H₁₆···O₉.

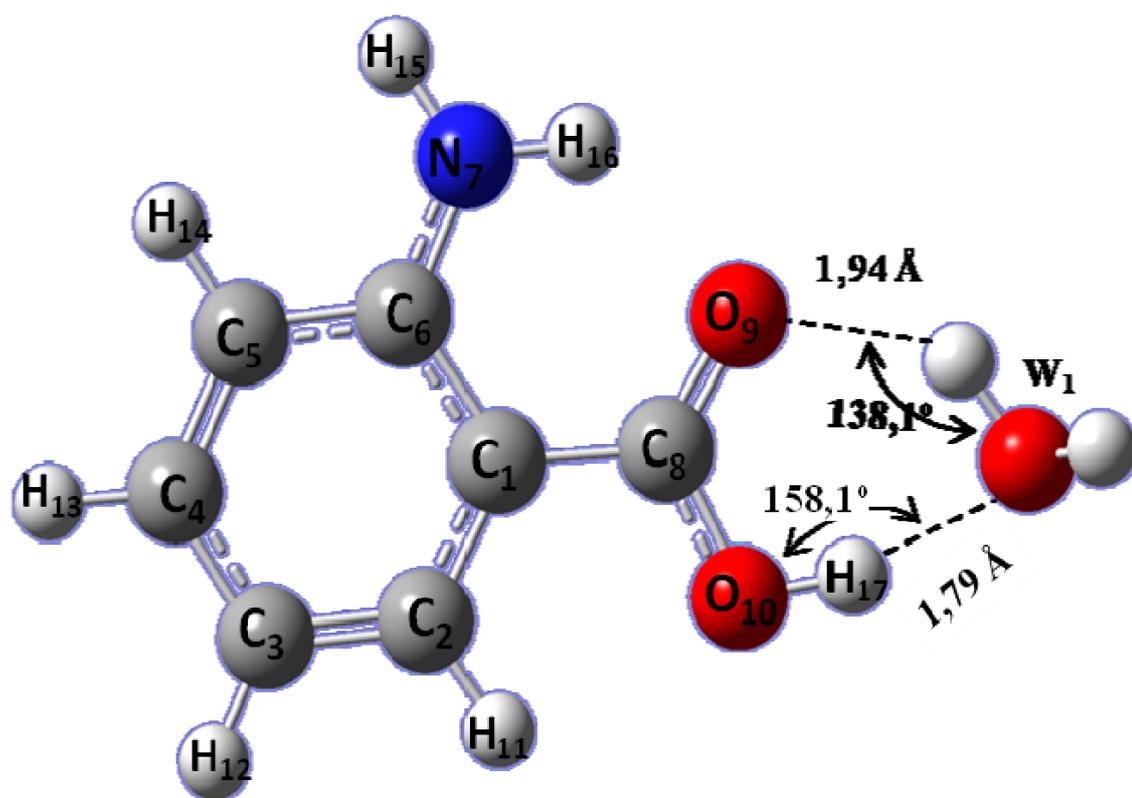


Figura 5 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula da água quando a água encontra-se próxima ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

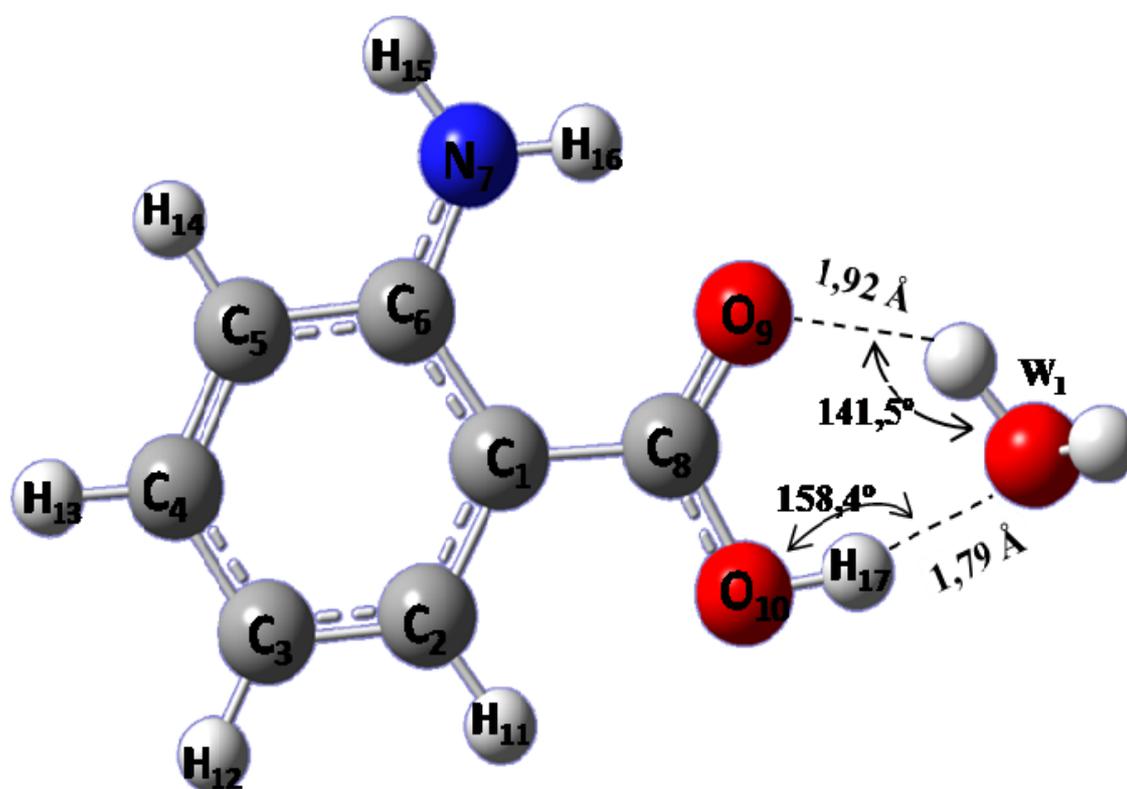


Figura 6 - Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula da água quando a água encontra-se próxima ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Observamos, ainda, que o grupo NH_2 não consegue segurar a molécula de água quando é colocado próximo a este grupo. A alta densidade eletrônica do grupo carboxílico puxa a molécula de água para o grupo carbonila e o sistema adquire estabilização com a molécula de água instalando-se entre a ligação $\text{C}=\text{O}$ do grupo COOH e a ligação $\text{N}-\text{H}$ do grupo NH_2 . Ao contrário da geometria $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$, as duas ligações de hidrogênio formadas no caso do complexo $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$ não são simétricas. Os arranjos intermoleculares do complexo 1:1 de o-Abz com água por ligação de hidrogênio já foram observados com um cálculo de B3LYP/6-31+G* [25]. Além disso, a distância de $\text{H} \cdots \text{O}$ da ligação de hidrogênio intramolecular $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ da molécula isolada obtidos pelo modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(d,p) foi de 1,943 Å, Figura 3, e 1,935 Å para o modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ, Figura 4. Ao adicionarmos uma água na molécula o-Abz isolada verificamos que a distância dessa ligação na geometria de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$ para os dois modelos diminuíram com valores para o modelo 1 de 1,938 Å e para o modelo 2 de 1,931 Å, no entanto, na geometria $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$ a ligação é mais alongada com valores para o modelo 1 de 2,088 Å e para o modelo 2 de 2,069 Å.

Agora, analisando os ângulos e os comprimentos em um mesmo aglomerado, por exemplo, para $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$, quando as distâncias $\text{H} \cdots \text{O}$ aumentam os ângulos de ligação de hidrogênio diminuem, no entanto, quando temos o aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, à distância $\text{H} \cdots \text{O}$ é inversamente proporcional ao ângulo da ligação de hidrogênio. Isso, também, ocorrem para os aglomerados 1:2 e 1:3.

Quando uma segunda molécula de água é acrescentada no aglomerado 1:1, a otimização do aglomerado 1:2 mostra o mesmo comportamento referente à característica estrutural do 1:1, este é estabilizado com a formação de duas ligações de hidrogênio com uma água, entretanto no aglomerado 1:2 são três ligações de hidrogênio formadas para dar estabilização, pois além de duas ligações de hidrogênio formadas entre o-Abz com as águas, uma terceira ligação se forma entre duas moléculas de água, como podem ser observadas nas Figuras 9, 10, 11 e 12.

No caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$, Figuras 9 e 10, a primeira molécula de água continua interagindo com a ligação $\text{O}-\text{H}$ do grupo COOH de o-Abz como receptor de próton, mas não interage diretamente com o grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$). A segunda molécula de água atua como um doador de próton para o grupo $\text{C}=\text{O}$ de o-Abz .

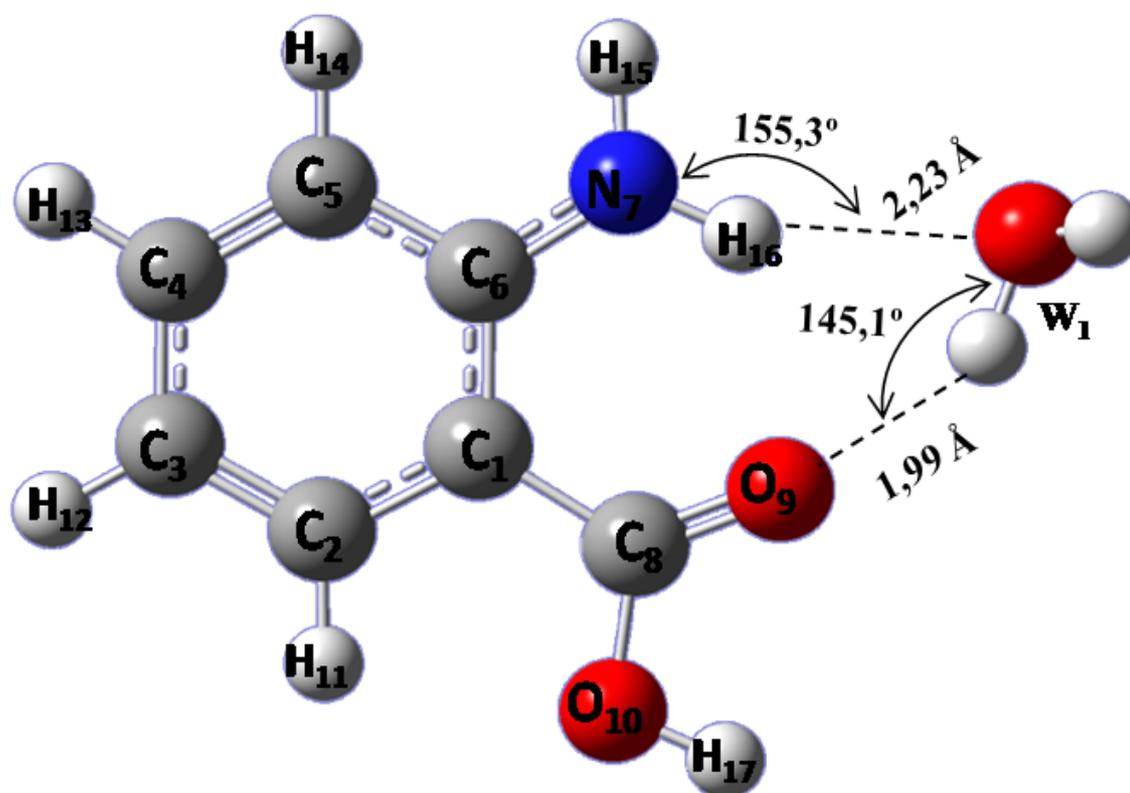


Figura 7 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula da água quando a água encontra-se próxima ao grupo NH₂, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

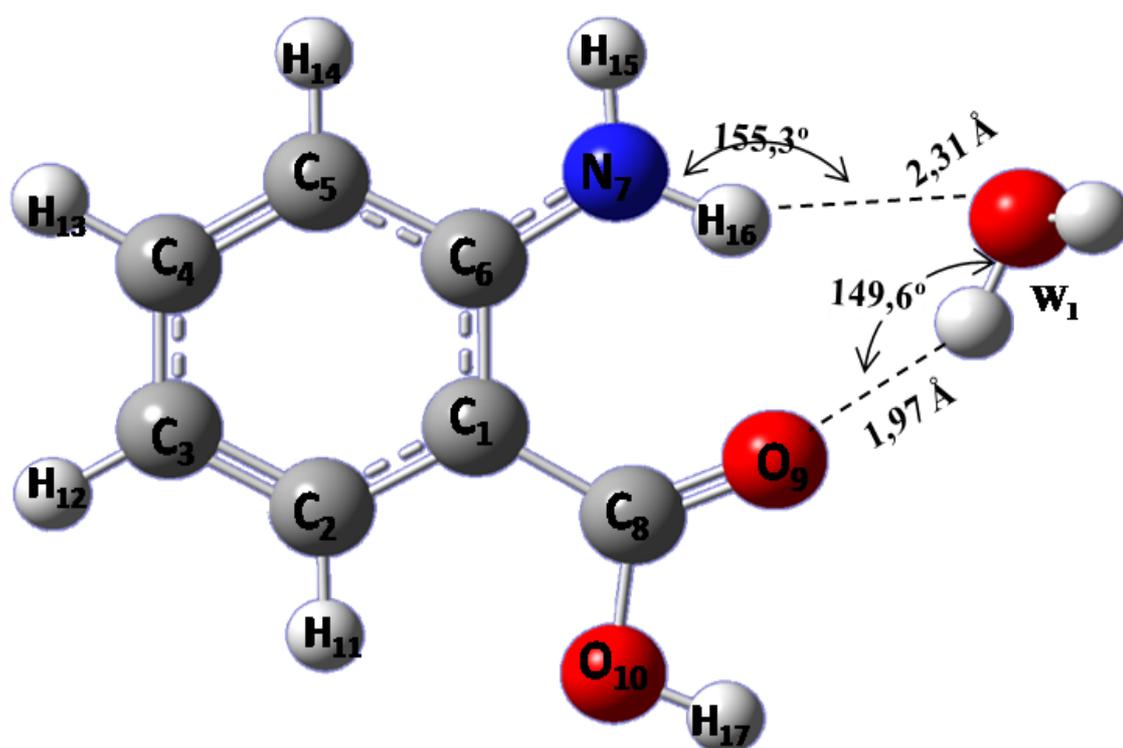


Figura 8 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com a molécula da água quando a água encontra-se próxima ao grupo NH₂, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

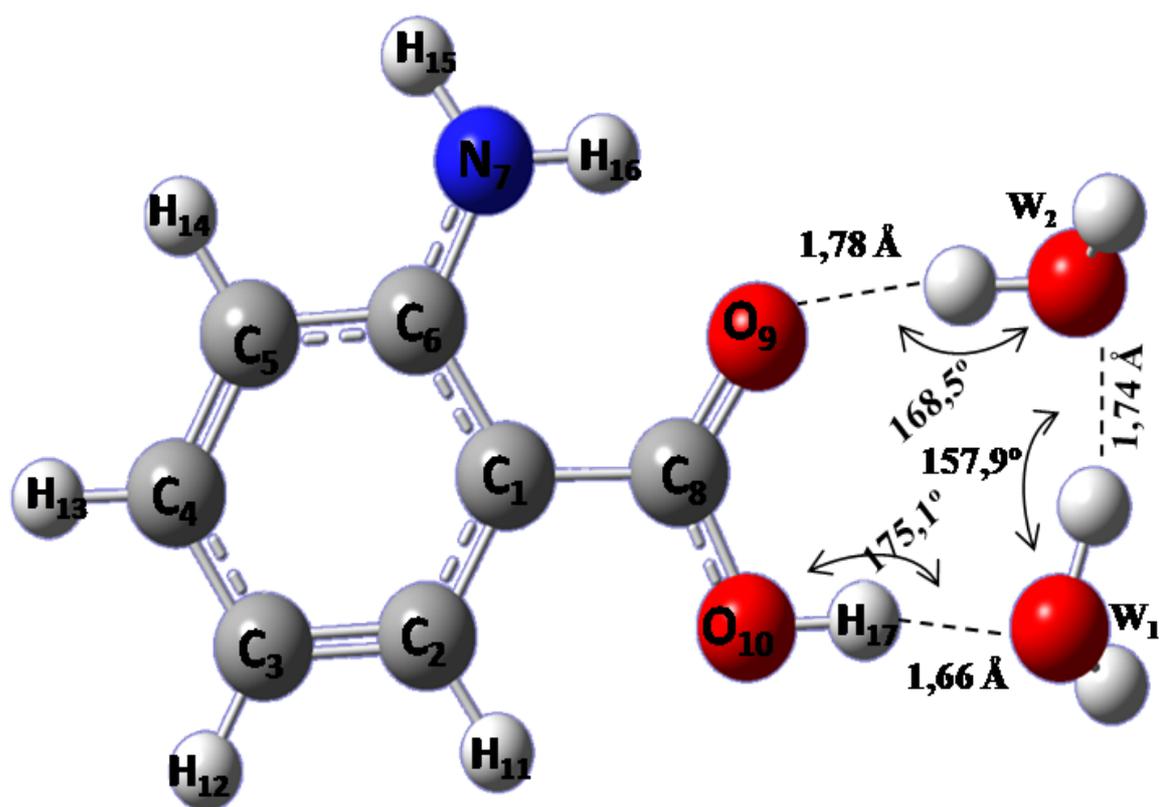


Figura 9 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

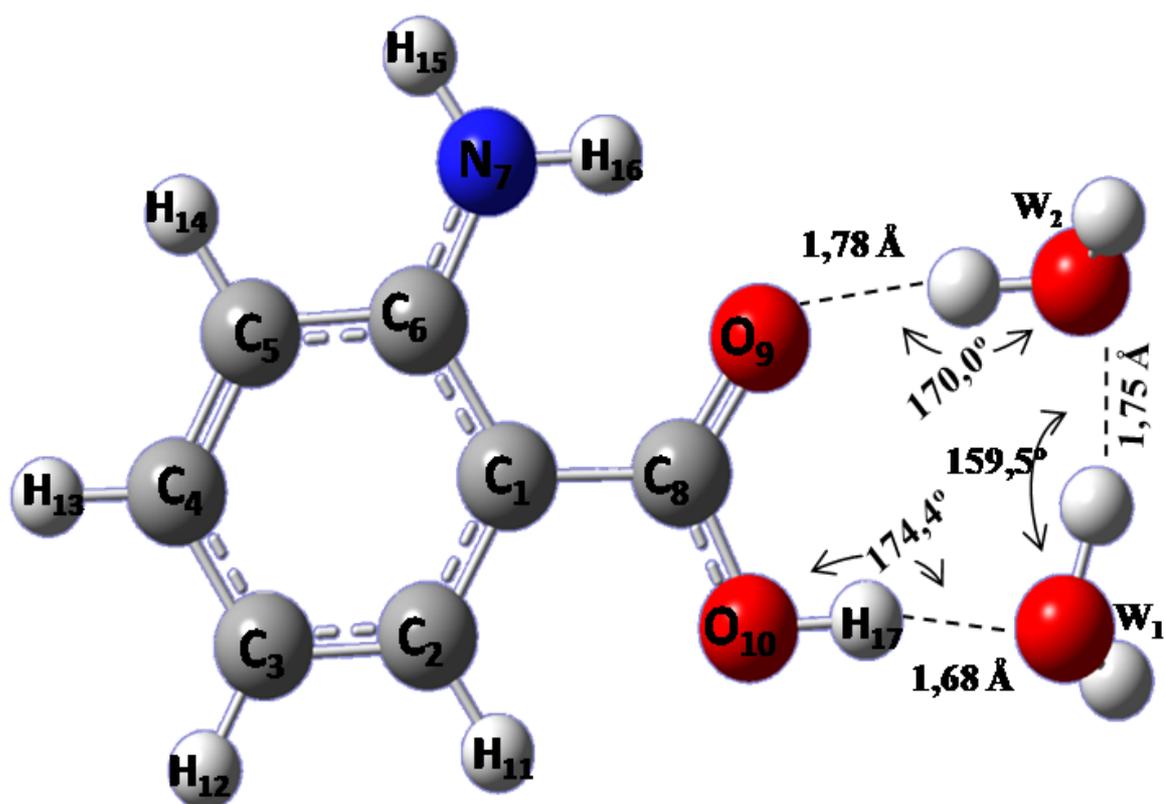


Figura 10 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

No caso do aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$, Figuras 11, 12, a primeira molécula de água continua na mesma posição, enquanto a segunda água encontra-se centralmente ao grupo NH_2 . O alongamento da ligação intramolecular de hidrogênio $\text{N}_7\text{-H}_{16} \cdots \text{O}_9$ é menor no caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$ quando comparado ao caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$. A ligação de hidrogênio entre as duas moléculas de água é mais longa no caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$ (1,90 Å no nível B3LYP/aug-cc-pVDZ), Figura 12, quando comparada com o caso $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$ (1,75 Å), Figura 10.

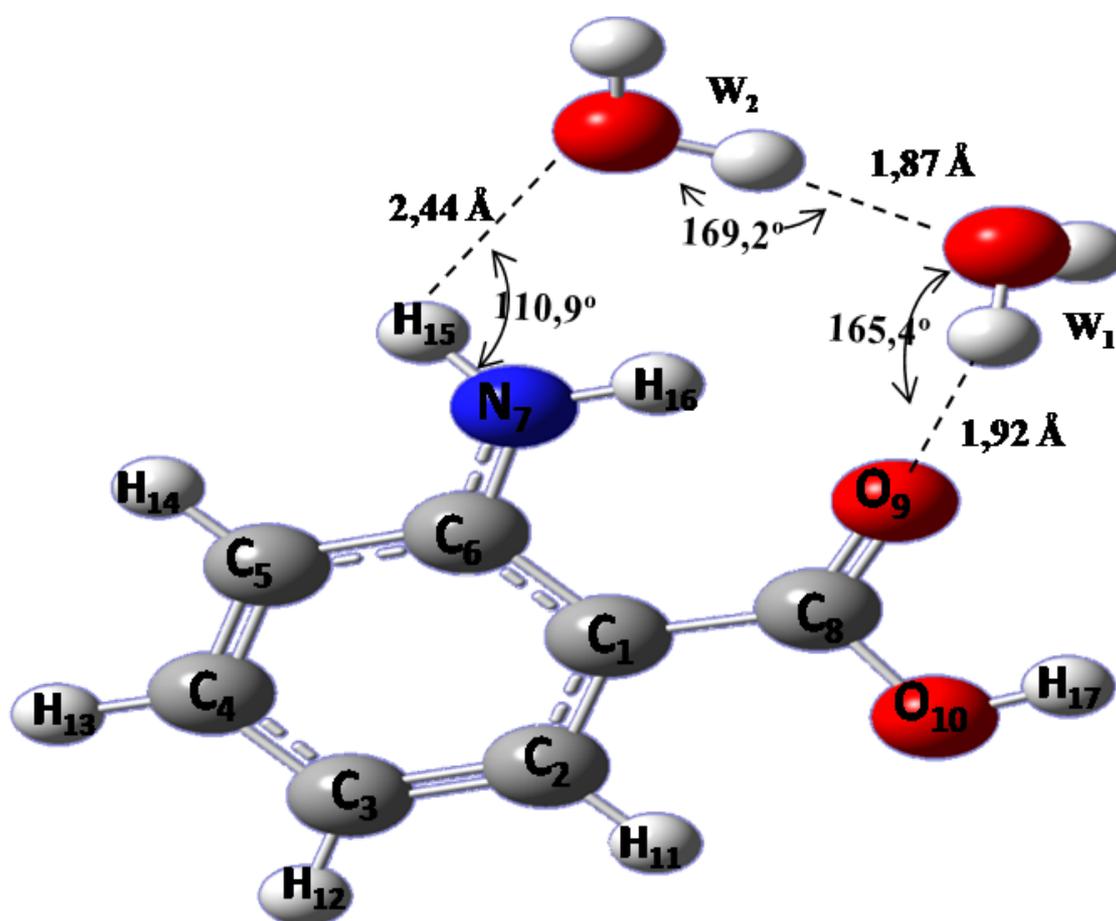


Figura 11 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com duas águas próximas ao grupo NH_2 , otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

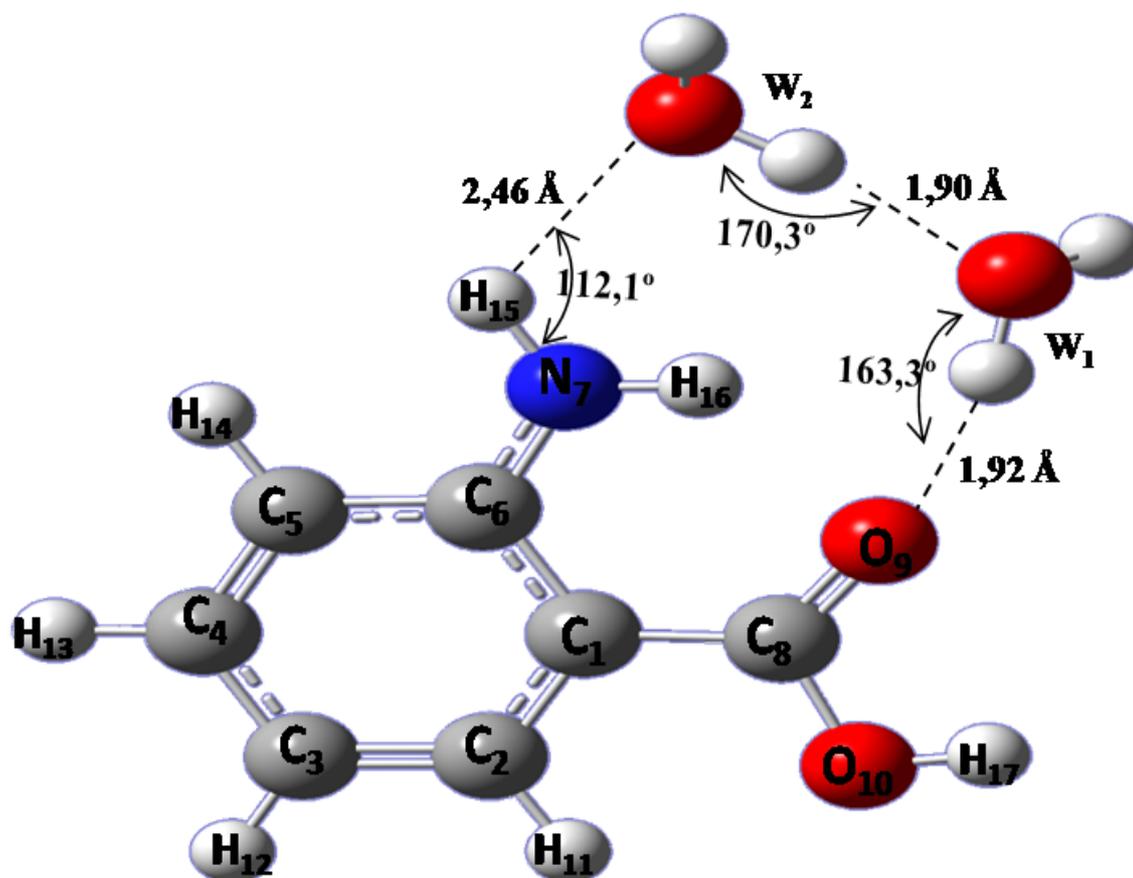


Figura 12 – Molécula de *o*-Abz formando ligações de hidrogênio com duas moléculas de águas próximas ao grupo NH_2 , otimizada pelo modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

O caso do aglomerado 1:3 é um pouco diferente, como no $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$ entre as três moléculas de água, duas estão colocadas em paralelo ao grupo COOH formando uma rede cíclica de três ligações $\text{O-H} \cdots \text{O}$. As duas ligações de hidrogênio formadas entre as duas moléculas de água e o grupo $-\text{COOH}$ de *o*-Abz, como mostrados nas Figuras 13 e 14, para o modelo 1 a distância $\text{O}_9 \cdots \text{H}_{\text{W}2}$ é de 1,64 Å a distância $\text{H}_{17} \cdots \text{O}_{\text{W}1}$ é de 1,73 Å, no entanto, para o modelo 2 essas distâncias são quase do mesmo comprimento (aproximadamente 1,7 Å), enquanto a ligação formada entre duas moléculas de água é mais alta (1,85 Å) para os dois modelos. A terceira molécula de água do complexo 1:3 ficou entre os grupos COOH e NH_2 depois da geometria otimizada, formando uma ligação de hidrogênio $\text{O-H} \cdots \text{O}$ de 2,1 Å com a segunda molécula. Além disso, existe uma interação fraca entre a ligação N-H do grupo amino que está direcionada ao oxigênio da

terceira molécula. Há distância 2,56 Å e 2,60 Å utilizando os modelos B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ, respectivamente, entre o átomo de hidrogênio da ligação N–H e o oxigênio da água W₃. Em geral, no complexo 1:3 as três moléculas de água são organizada mais ou menos na mesma maneira. Assim, no caso do complexo o-Abz ⋯[H₂O]_{n=3}^{NH₂}, duas moléculas de água estão perto do grupo NH₂ e a terceira está entre os grupos COOH e NH₂, enquanto no caso de o-Abz ⋯[H₂O]_{n=3}^{COOH}, as duas moléculas de água estão próximas ao grupo COOH e a terceira também está entre o grupo COOH e NH₂, como podem ser verificadas nas Figuras 13,14, 15 e 16.

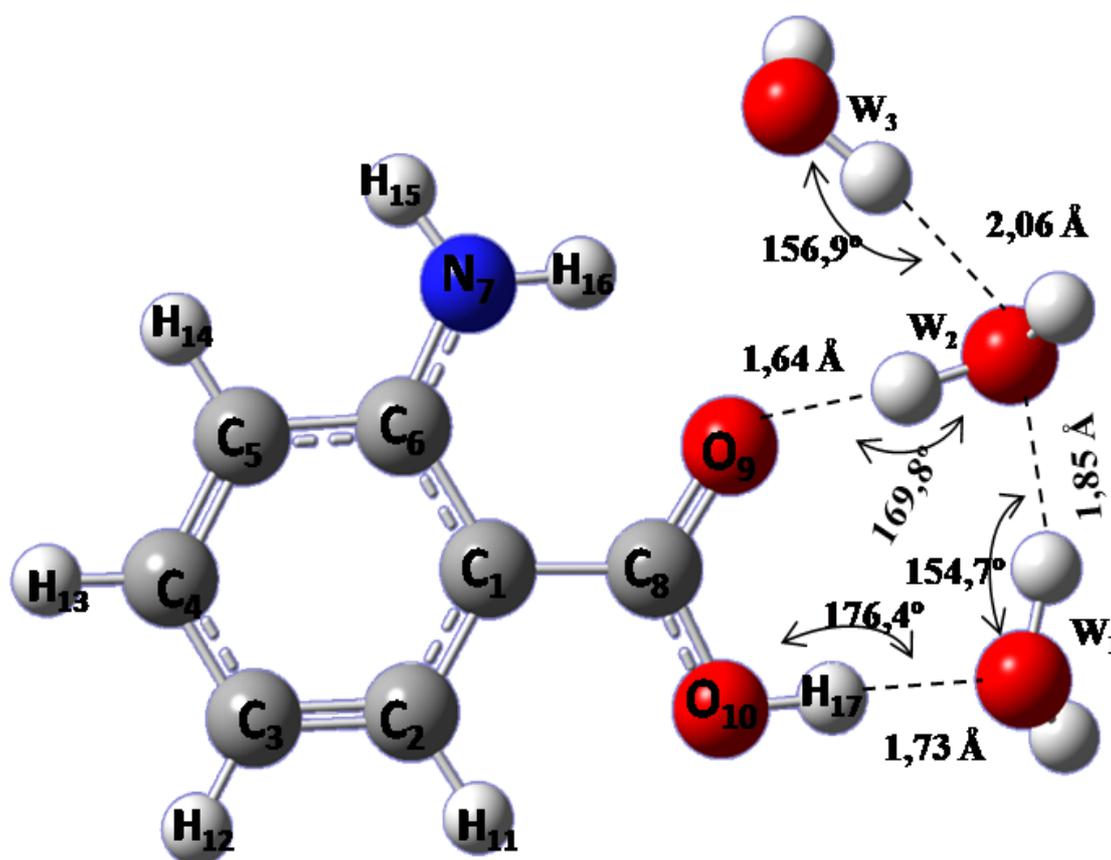


Figura 13 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

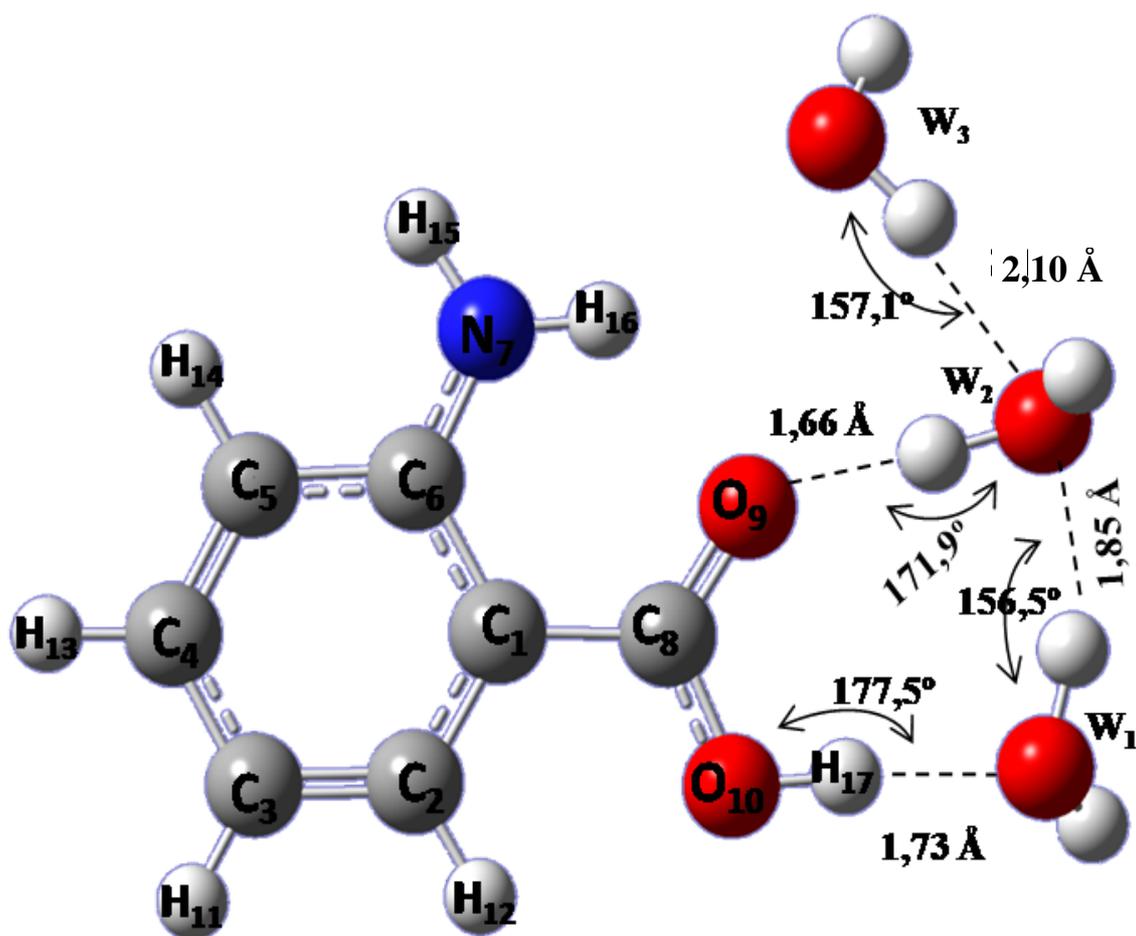


Figura 14 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo COOH, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

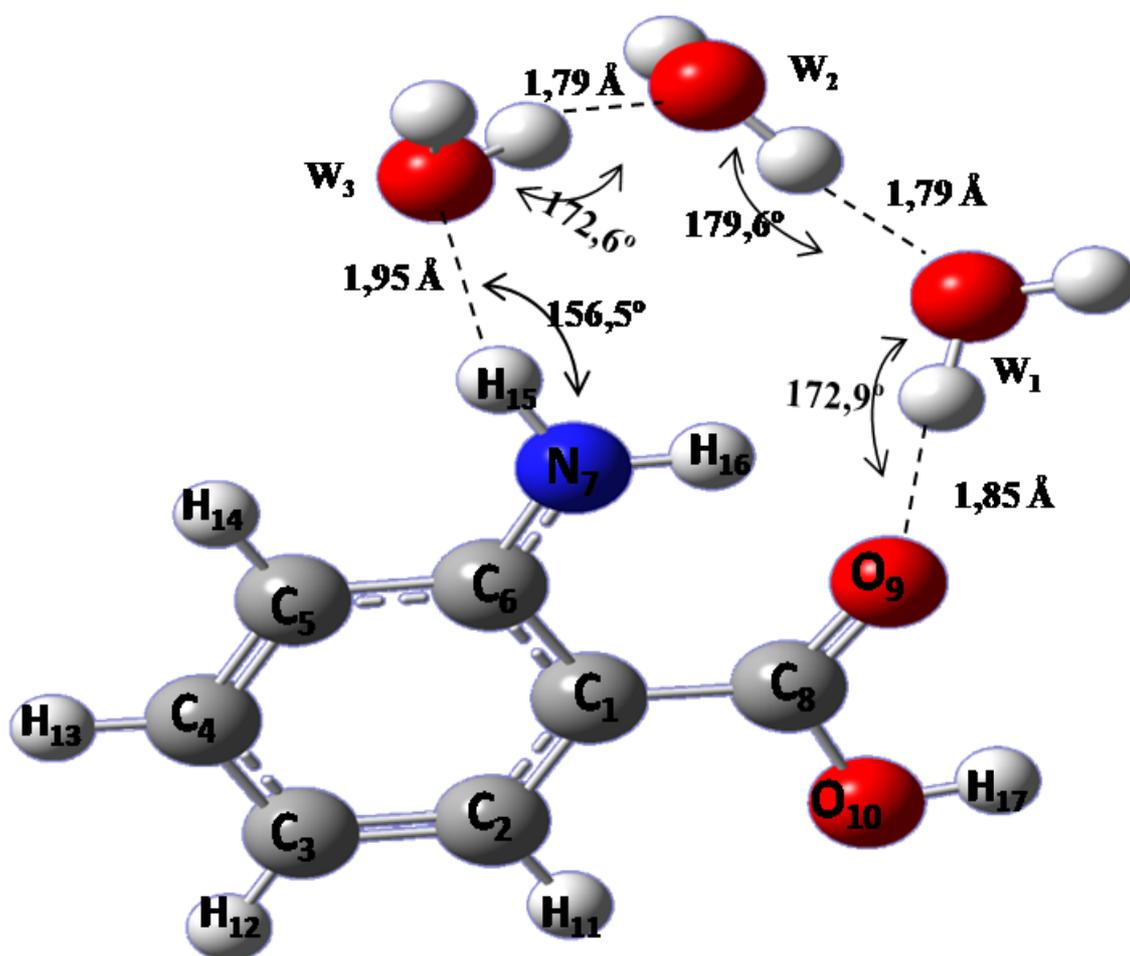


Figura 15 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo NH₂, otimizada pelo modelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p).

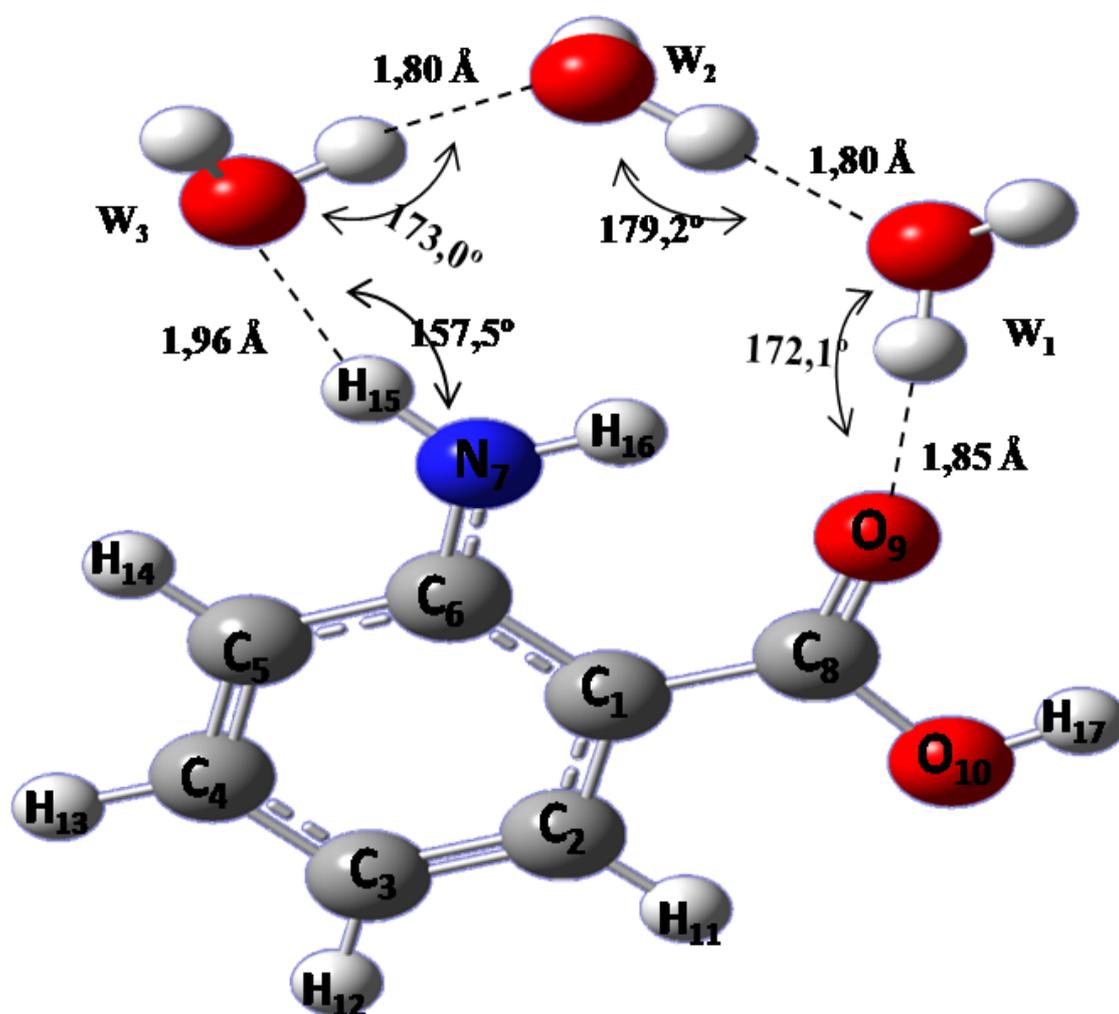


Figura 16 – Molécula de o-Abz formando ligações de hidrogênio com três águas próximas ao grupo NH₂, otimizada pelo modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

Na Tabela 1 apresentamos alguns parâmetros estruturais importantes de o-Abz microssolvatado com água para as duas diferentes conformações do aglomerado o-Abz...[H₂O]_n, formados através das ligações de hidrogênio, calculados com o funcional de troca e correlação B3LYP utilizando os dois conjuntos de base modelo 1 e modelo 2. Para auxiliar a análise dos dados da Tabela 1 construímos a Figura 17. Comparando os comprimentos de ligação e ângulos de ligação, observamos os efeitos de micro-hidratação na estrutura molecular de o-Abz.

Quando as moléculas de água são colocadas perto do grupo (-COOH) e também próximas do grupo NH₂, o-Abz age como doador e receptor de próton.

Examinando os resultados calculados para o monômero o-Abz e os aglomerados o-Abz...[H₂O]_n, observamos pequenas mudanças na geometria do monômero devido à formação do aglomerado. Por exemplo, a máxima mudança no comprimento de ligação do C=O foi uma alongação de 0,016 Å para o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{COOH}. Por outro lado, o comprimento de ligação C-O é encurtado no complexo com água, e o máximo encurtamento de 0,031 Å ocorre novamente para o aglomerado o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{COOH}. Os comprimentos de ligação C=O e C-O para a molécula isolada o-Abz para o modelo 2, são 1,2279 Å e 1,3617 Å, respectivamente. A mudança máxima do comprimento de ligação O-H para o mesmo aglomerado é uma alongação de 0,032 Å. Os parâmetros estruturais (comprimento de ligação e ângulo de ligação) do monômero o-Abz sofrem um aumento gradual ou diminuição gradual quando vamos de o-Abz para dímero o-Abz...[H₂O]_{n=1}^{COOH} para trímero o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{COOH}. Porém, no caso do aglomerado o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{COOH} a variação ocorre na direção oposta. Assim no modelo de cálculo B3LYP/aug-cc-pVDZ, por exemplo, o comprimento de ligação C=O aumenta de 1,228 Å para 1,241 Å a 1,243 Å conforme vamos do monômero o-Abz para o-Abz...[H₂O]_{n=1}^{COOH} a o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{COOH}, entretanto diminui para 1,242 Å quando alcançamos o aglomerado o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{COOH}. O ângulo do C-H-O do grupo COOH, do mesmo modo aumenta de 106,1° (monômero) para 108,6° (dímero) a 112,7° (trímero) e então diminui a 110,4° para o tetrâmero o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{COOH}. Na realidade, ambos os ângulos C-H-O e O=C-O aumentam gradualmente do monômero para o trímero e depois então diminui para tetrâmero. Como resultado, a ligação intramolecular O-H...O também apresenta o mesmo tipo de variação.

Tabela 1 - Alguns parâmetros estruturais calculados usando dois modelos teóricos^a do agrupamento entre o-Abz e água, que formam ligações de hidrogênio.

	<i>n</i> = 1		<i>n</i> = 2		<i>n</i> = 3	
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2
Molécula de água próximo ao grupo COOH do ácido orto-Aminobenzóico: o-Abz ...[H ₂ O] _{<i>n</i>} ^{COOH}						
C=O (Å)	1,2427	1,2412	1,2458	1,2434	1,2432	1,2416
C-O (Å)	1,3410	1,3422	1,3288	1,3306	1,3338	1,3348
ΔR _{O-H} (x 10 ⁻²)	1,86	1,85	3,14	2,95	2,45	2,44
R _{O...H} (Å)	1,94 (A) 1,79 (B)	1,92 1,79	1,78 (A) 1,66 (B) 1,74 (C)	1,78 1,68 1,75	1,64 (A) 1,73 (B) 1,85 (C) 2,06 (E)	1,66 1,73 1,85 2,10
∠O ... H - O (°)	138,1 (A) 158,1 (B)	141,5 158,4	168,5 (A) 175,1 (B) 157,9 (C)	170,0 174,4 159,5	169,8 (A) 176,4 (B) 154,7 (C) 156,9 (E)	171,9 177,5 156,5 157,1
ESE (au ³)	2,13	2,14	2,95	2,95	3,54	3,57
ΔESE (au ³)	0,73	0,73	1,55	1,55	2,14	2,17
Molécula de água próximo ao grupo NH ₂ do ácido orto-Aminobenzóico: o-Abz ...[H ₂ O] _{<i>n</i>} ^{NH₂}						
ΔR _{N-H(15)} (Å)	-1,4 x 10 ⁻³	-2,2 x 10 ⁻³	-4,8 x 10 ⁻³	-5,2 x 10 ⁻³	-3,5 x 10 ⁻³	-4,1 x 10 ⁻³
ΔR _{N-H(16)} (Å)	8,0 x 10 ⁻⁴	6,0 x 10 ⁻⁴	2,5 x 10 ⁻³	1,5 x 10 ⁻³	1,2 x 10 ⁻²	9,2 x 10 ⁻³
R _{O...H} (Å)	1,99 (A) 2,23 (D1)	1,97 2,31	1,92 (A) 2,44 (D2) 1,87 (C)	1,92 2,46 1,90	1,85 (A) 1,95 (D2) 1,79 (C) 1,79 (E)	1,85 1,96 1,80 1,80
∠O ... H - O ∠N - H ... O (°)	145,1 155,3	149,6 155,3	165,4 (A) 110,9 (D2) 169,2 (C)	163,3 112,1 170,3	172,9 (A) 156,5 (D2) 179,6 (C) 172,6 (E)	172,1 157,5 179,2 173,0
ESE (au ³)	2,08	2,09	2,81	2,87	3,54	3,58
ΔESE (au ³)	0,67	0,69	1,40	1,46	2,14	2,18

^aModelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ.

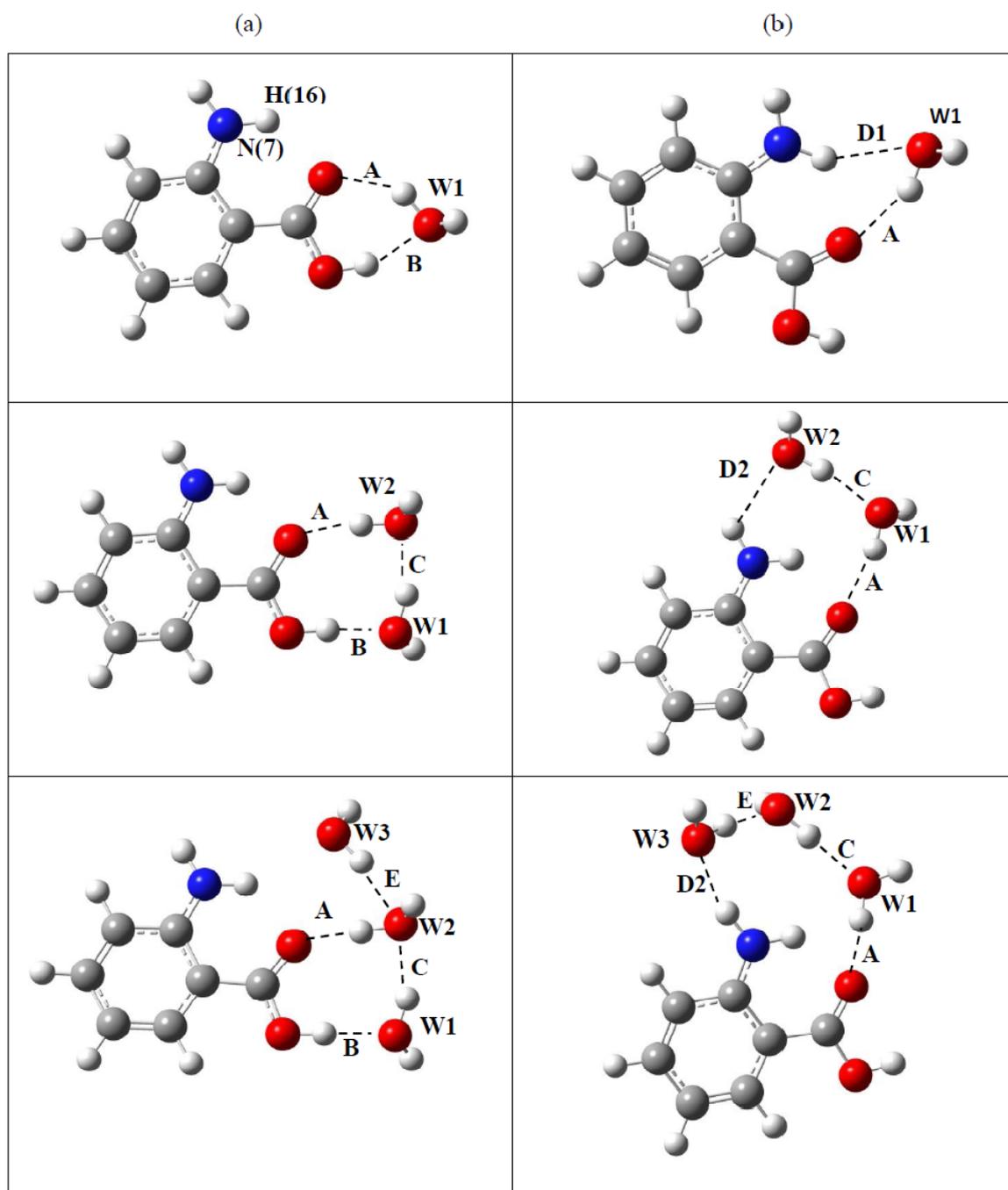


Figura 17 - Estrutura de equilíbrio dos vários agrupamentos de *o*-Abz-água. As letras maiúsculas são para facilitar a identificação dos dados exposto na Tabela 1. (a) Geometria de *o*-Abz(H₂O)_{*n*} para *n* = 1, 2, 3 com a(s) água(s) próxima(s) ao grupo COOH. (b) Geometria de *o*-Abz(H₂O)_{*n*} com a(s) água(s) próxima(s) ao grupo NH₂.

Na interação de ligação de hidrogênio intermolecular, o grupo COOH do o-Abz forma diretamente duas ligações de hidrogênio um pelo grupo aceitador de próton, C=O (representado pela letra **A** na Figura 17) e outra pelo grupo doador de próton, O-H (representado pela letra **B** na Figura 17) quando as moléculas de água estão localizadas próximo deste grupo. Estas duas ligações de hidrogênio mostram uma natureza diferente de variações. No modelo de cálculo B3LYP/aug-cc-pVDZ, a ligação de hidrogênio **B** (O-H...O) diminui de 1,79 Å do dímero o-Abz...[H₂O]_{n=1}^{COOH} para 1,68 Å para o trímero o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{COOH} e então aumenta para 1,73 Å para o tetrâmero o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{COOH}. Por outro lado, ao mesmo nível de cálculo, a ligação de hidrogênio **A** (C=O...H-O) diminui da mesma maneira quando vamos do dímero (1,92 Å) para o trímero (1,78 Å) e finalmente para o tetrâmero (1,66 Å). Quando as moléculas de água estão próximas do grupo NH₂, a ligação de hidrogênio **A** (C=O...H-O) continua existindo, mostrando o mesmo padrão com uma diminuição gradual em comprimento com o aumento no tamanho do aglomerado. Além do mais temos a interação entre ligação N-H do grupo amino de o-Abz e o oxigênio da água. Para o-Abz...[H₂O]_{n=1}^{NH₂} observamos a ligação de hidrogênio N-H...O de 2,23 Å no modelo de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p) e 2,31 Å no modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ, onde somente a ligação N-H que está mais próxima da ligação C=O contribui na formação da ligação de hidrogênio. Identificamos esta ligação de hidrogênio como **D1** na Figura 17 b. Para o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{NH₂}, esta ligação de hidrogênio **D1** se alonga mais ainda para 2,79 Å (2,63 Å), enquanto a outra ligação N-H de NH₂ forma uma diferente e mais forte ligação N-H...O identificada como **D2**, de 2,44 Å (2,46 Å) com a segunda molécula de água no modelo de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) como ilustrado na Figura 17 b. No caso de o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{NH₂}, por outro lado, esta ligação N-H de NH₂ forma uma ligação N-H...O mais forte de 1,95 Å (1,96 Å) com a terceira molécula de água, enquanto a outra ligação N-H...O (com a ligação N-H próxima da ligação C=O) chega a ter o comprimento de 2,96 Å no modelo de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p) e 2,86 Å no modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ.

A Tabela 1, também mostra as mudanças na extensão espacial eletrônica (ESE) devido ao aumento no tamanho dos aglomerados. O ESE caracteriza o volume de densidade de elétron ao redor do aglomerado [124-128]. Os ESEs para a molécula livre de o-Abz e a molécula de água isolada na fase de gasosa são de 1,39 e 0,02 au³ para ambos os modelos de cálculo, B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ. Com o aumento do

monômero no aglomerado, é esperado que ESSE também aumente que será refletido no aumento da polarizabilidade. A diferença de ESE é denotada por ΔESE [124] para o complexo de o-Abz-água é calculada por

$$\Delta ESE = ESE_{o-Abz \cdots [H_2O]_n} - [ESE_{o-Abz} + ESE_{\text{água}}]. \quad (3.1)$$

Como pode ser visto na Tabela 1, ΔESE aumenta linearmente com o aumento do tamanho do aglomerado. Os valores absolutos de ESE e o aumento de ΔESE são bem similares para os dois modelos de cálculo e para ambos os tipos de aglomerados $o-Abz \cdots [H_2O]_n^{COOH}$ e $o-Abz \cdots [H_2O]_n^{NH_2}$, ($n = 1-3$).

3.2 - Energias dos aglomerados, estabilização e cooperatividade

A energia de ligação sem e com correção de counterpoise e energia vibracional do ponto zero (Zero-Point Vibrational Energy - ZPE), a energia de relaxação e o efeito de cooperatividade para cada aglomerado de o-Abz-água são mostrados na Tabela 2 para os dois modelos de cálculo. A energia de ligação, ΔE_N^{HB} é calculada no modelo usual subtraindo a soma das energias dos monômeros constituintes da energia do respectivo aglomerado.

$$\Delta E_N^{HB} = E_N^{HB}(N) - \sum_{i=1}^N E_i. \quad (3.2)$$

onde $E_N^{HB}(N)$ e E_i representam a energia do aglomerado com N monômeros e a energia do i -ésimo monômero isolado, respectivamente.

A correção para o erro de superposição do conjunto de base é considerada no presente trabalho seguindo uma versão modificada do método de correção de *counterpoise* [129] prescrita por Turi e Dannenberg [130,131]

$$\Delta E_N^{CP} = E_N^{CP}(N) - \sum_{i=1}^N E_i(i), \quad (3.3)$$

onde

$$E_N^{CP}(N) = E_N^{HB}(N) + \Delta E_{BSSE}^{CP} = E_N^{HB}(N) + \sum_i [E_i^N(i) - E_i^N(N)] \quad (3.4)$$

Na equação acima, $E_i^N(i)$ refere-se a energia do enésimo monômero na geometria especificada que é adquirida quando o aglomerado é otimizado. $E_i^N(N)$ é a energia do mesmo monômero calculado a mesma geometria específica, mas com conjunto de base inteira do aglomerado, colocando “ghost orbitals” em outros monômeros.

A energia de relaxação que é uma medida do grau de distorção que as moléculas constituintes do aglomerado sofrem para formar uma estrutura estável de ligação de hidrogênio é obtida como a diferença entre a energia do monômero tendo a geometria fixa dentro do aglomerado, $E_i^N(i)$, e a energia do monômero isolado, E_i , sendo dado por,

$$\Delta E_N^{RELAX} = \sum_{i=1}^n [E_i^N(i) - E_i]. \quad (3.5)$$

É compreendido que a energia de relaxamento é uma parte da energia de ligação, ΔE_N^{HB} [132, 133].

A correção devido a ZPE é considerada como um termo aditivo na energia de ligação da correção de *counterpoise*.

$$\Delta E_N^{CP+ZPE} = \Delta E_N^{CP} + \Delta E_N^{ZPE}. \quad (3.6)$$

O efeito de cooperatividade pode ser atribuído ao aumento na estabilidade ao efeito não aditivo, por haver múltiplas ligações de hidrogênio no aglomerado e foi discutido amplamente para sistemas biomoleculares de ligação de hidrogênio nos recentes anos [134-139].

Na Tabela 2, apresentamos valores calculados para a energia de interação cooperativa que adota modos diferentes de cálculo. Primeiro medimos a cooperatividade, calculando a energia média da ligação de hidrogênio no aglomerado, $\langle \Delta E_N^{HB} \rangle = \frac{\Delta E_N^{HB}}{n_{HB}}$, onde n_{HB} é o número de ligação de hidrogênio presente no aglomerado. Por causa dos vários tipos de interações X-H...Y (X,Y= O ou N) presente entre os aglomerados o-Abz...[H₂O]_n, consideramos somente ligações de hidrogênio onde as distâncias H...Y estão entre a extensão de 1,6-2,4 Å. Seguindo este critério, observamos duas, três e quatro interações

de ligação de hidrogênio no dímero, trímero e tetrâmero, respectivamente. A energia média da ligação de hidrogênio, $\langle \Delta E_N^{HB} \rangle$ varia com o aumento do tamanho do aglomerado.

Tabela 2 - Alguns parâmetros relevantes^a de cooperatividade calculados usando dois modelos teóricos^b.

	$n = 1$		$n = 2$		$n = 3$	
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2
Molécula de água próxima ao grupo COOH do ácido orto-Aminobenzóico: $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$						
ΔE_N^{HB}	-10,45	-9,24	-22,58	-19,70	-27,34	-23,67
$\langle \Delta E_N^{HB} \rangle$	-5,23	-4,62	-7,53	-6,57	-6,83	-5,92
ΔE_N^{CP}	-9,47	-8,75	-20,16	-18,73	-24,14	-22,15
ΔE_N^{CP+ZPE}	-4,38	-4,14	-15,07	-14,12	-32,40	-30,8
ΔE_N^{RELAX}	0,78	0,75	2,56	2,31	2,54	2,22
ΔE_N^{CE}	---	---	-4,26	-4,45	-3,69	-3,84
Molécula de água próxima ao grupo NH ₂ do ácido orto-Aminobenzóico: $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$						
ΔE_N^{HB}	-5,29	-4,67	-14,50	-12,43	-26,70	-22,70
$\langle \Delta E_N^{HB} \rangle$	-2,64	-2,34	-4,83	-4,14	-6,68	-5,68
ΔE_N^{CP}	-4,59	-4,16	-12,70	-11,37	-23,34	-21,30
ΔE_N^{CP+ZPE}	-0,30	-0,13	-8,41	-7,34	-32,41	-30,60
ΔE_N^{RELAX}	0,55	0,45	0,72	0,51	1,28	1,12
ΔE_N^{CE}	---	---	-1,43	-1,60	-4,74	-5,23

^a ΔE_N^{HB} refere-se a energia de ligação de hidrogênio do aglomerado contendo N monômeros; ΔE_N^{CP} e ΔE_N^{CP+ZPE} representam a energia de ligação com correções do erro de superposição do conjunto de base e energia do ponto zero, respectivamente, ΔE_N^{RELAX} denota a energia de relaxação total do aglomerado, ΔE_N^{CE} indica a energia de interação de cooperatividade dos aglomerados e $\langle \Delta E_N^{HB} \rangle$ é a energia de ligação média por ligação de hidrogênio. ^bModelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p), Modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Assim de acordo com a Tabela 2, indo do aglomerado 1:1 para 1:2 de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ temos variação de -5,23 (-4,62) kcal/mol para -7,53 (-6,57) kcal/mol, um aumento de 38% (42%) em virtude da ligação no modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ), que é claramente evidente da ação da cooperatividade. Porém, quando deslocamos para tetrâmero, aglomerado 1:3, $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ diminui um pouco com respeito ao aglomerado 1:2 em ambos os modelos de cálculo, indicando enfraquecimento da força do aglomerado. No caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, contudo, observamos uma visão diferente. A cooperatividade aumenta quando vamos do aglomerado 1:1 para 1:2, mas aumenta aproximadamente 130% quando avançamos para aglomerado 1:3.

O efeito de cooperatividade pode ser definido como [140, 43]

$$\Delta E_N^{\text{CE}} = \Delta E_N^{\text{CP}} - \sum \Delta E_2^{\text{CP}}. \quad (3.7)$$

onde $\sum \Delta E_2^{\text{CP}}$ refere-se a soma sobre todas as energias dos dímeros presentes dentro do aglomerado, cada um corrigido pelo erro de superposição do conjunto de base pelo método de Boys e Bernardi [141]. Como podemos observar na Tabela 2, o efeito de cooperatividade calculado pela Eq. 3.7 é bastante significativo para aglomerado com $N > 2$. Para o trímero (aglomerado 1:2) e tetrâmero (aglomerado 1:3) de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, ele mede aproximadamente 19% (23%) e 13% (16%) da energia de ligação de hidrogênio, ΔE_N^{HB} no modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ), respectivamente. No caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ porém, ele é aproximadamente 10% (13%) da ΔE_N^{HB} para o complexo 1:2 e 18% (23%) de ΔE_N^{HB} para o aglomerado 1:3. Assim, observamos uma diminuição na cooperatividade para o sistema $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, um aumento na cooperatividade para $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ quando vamos do aglomerado 1:2 para 1:3, que está consistente com a observação de cooperatividade via $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$.

Outra medida extensamente usada de cooperatividade é a variação do comprimento ligação O-H, ($\Delta R_{\text{O-H}}$), no grupo doador e o comprimento de ligação de hidrogênio ($R_{\text{O} \cdots \text{H}}$) do aglomerado com o aumento do tamanho do agrupamento. Ambos os parâmetros estão incluídos na Tabela 1, e as variações também são consistentes com a natureza da cooperatividade do sistema o-Abz -água observado por intermédio das variações de

$\langle \Delta E_N^{HB} \rangle$ e ΔE_N^{CE} . O comprimento de ligação de O–H de o-Abz aumenta em todos os casos quando forma agrupamentos de ligação de hidrogênio com a água. Contudo, o aumento máximo é observado dentro no o-Abz \cdots [H₂O]_{n=2}^{COOH}. Para o-Abz \cdots [H₂O]_n^{NH₂}, ΔR_{O-H} é menor que de o-Abz \cdots [H₂O]_n^{COOH}. Porém, neste caso o comprimento de ligação aumenta linearmente com o aumento do tamanho do aglomerado para os dois modelos de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ.

3.3 Propriedades elétricas

Na Tabela 3 apresentamos o cálculo do momento de dipolo e polarizabilidade média da molécula o-Abz isolada e do aglomerado o-Abz \cdots [H₂O]_n, conformações que formam ligações de hidrogênio.

Tabela 3 - Valores do momento de dipolo (em Debye) e polarizabilidade (a_0^3) da molécula isolada o-Abz ($n = 0$) e do aglomerado o-Abz \cdots [H₂O]_n calculados usando dois modelos teóricos^a:

		$n = 0$ (o-Abz)	$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$
Moléculas de água próxima ao grupo COOH do ácido orto-Aminobenzóico o-Abz \cdots [H ₂ O] _n ^{COOH}					
μ	Modelo 1	1,35	2,07	1,73	1,87
	Modelo 2	1,29	2,14	1,66	1,61
$\bar{\alpha}$	Modelo 1	99,95	110,10	120,07	129,93
	Modelo 2	104,99	116,50	127,56	138,43
Moléculas de água próxima ao grupo NH ₂ do ácido orto-Aminobenzóico o-Abz \cdots [H ₂ O] _n ^{NH₂}					
μ	Modelo 1	1,35	1,14	1,35	1,73
	Modelo 2	1,29	1,33	0,88	1,60
$\bar{\alpha}$	Modelo 1	99,95	110,06	129,93	130,34
	Modelo 2	104,99	116,36	138,43	138,59

^aModelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Tendo as estrutura otimizadas, como acima mencionado, as polarizabilidades (independente da frequência) e o dipolo são calculados usando o método campo finito [142,143]. A presença do campo elétrico externo de uma onda de luz incidente pode induzir momentos elétricos oscilatórios num sistema molecular. Assim, a densidade de carga molecular pode se reorganizar, o momento de dipolo pode mudar e a molécula pode sofrer distorções devido ao campo aplicado. Esta mudança pode ser expressa convenientemente como uma expansão de Taylor do momento de dipolo elétrico permanente com respeito ao campo elétrico aplicado, E :

$$\mu_{pj}(E) = \mu_{pj}(0) + \sum_{j=x}^z \alpha_{ij} E_j + \frac{1}{2} \sum_{J=x}^z \sum_{k=x}^z \beta_{ijk} E_J E_k + \dots \quad (3.8)$$

onde os $\mu_{pj}(0)$ são os j -ésimo componentes cartesianas do momento de dipolo na ausência de campo elétrico aplicado, e $\mu_{pj}(E)$ são os momentos de dipolo na presença do campo. Os α_{ij} definem o tensor de polarizabilidade com seis componentes independentes, as quantidades β_{ijk} definem os as primeiras componentes de hiperpolarizabilidade, e assim por diante. O tensor de polarizabilidade α relaciona o vetor força do campo elétrico da onda de luz com a quantidade do dipolo induzido.

Devido à orientação aleatória da molécula em relação a direção do campo incidente, é necessário considerar uma média ao longo das orientações moleculares dentro do modelo de espalhamento. Este cálculo da média pode ser convenientemente expressa em termos da polarizabilidade média denotada como $(\bar{\alpha})$ [144,145], dado por

$$\bar{\alpha} = \frac{1}{3} (\alpha_{xx} + \alpha_{yy} + \alpha_{zz}), \quad (3.9)$$

a anisotropia da polarizabilidade é dada por:

$$\bar{\alpha} = \frac{1}{2} [(\alpha_{xx} + \alpha_{yy})^2 + (\alpha_{yy} + \alpha_{zz})^2 + (\alpha_{xx} + \alpha_{zz})^2] + 3[(\alpha_{xy})^2 + (\alpha_{xz})^2 + (\alpha_{yz})^2] \quad (3.10)$$

que são invariantes no que diz respeito à rotação. Os de α_{yy} são os elementos do tensor de polarizabilidade.

Os momentos de dipolo para as moléculas o-Abz e a água são 1,35 D (1,29 D) e 2,19 D (1,85 D) nos modelos de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ), respectivamente. Com adição gradual de moléculas de água, o momento de dipolo do aglomerado o-Abz-H₂O sofre variações. Porém, a natureza da variação em o-Abz...[H₂O]_n^{COOH} é diferente do o-Abz...[H₂O]_n^{NH₂}, como podemos verificar na Tabela 3. Devido à formação do complexo da água, o momento do dipolo do sistema o-Abz...[H₂O]_n é reduzido significativamente quando comparado com a formação por complexo total (a soma do momento de dipolo das moléculas de o-Abz e água livre). A polarizabilidade do complexo, porém, aumenta linearmente com a adição de cada molécula de água do o-Abz em aglomerados de o-Abz...[H₂O]_n^{COOH}. No caso do aglomerado o-Abz...[H₂O]_n^{NH₂}, porém, a variação de polarização dá sinal de saturação quando saímos de o-Abz...[H₂O]_{n=2}^{NH₂} para o-Abz...[H₂O]_{n=3}^{NH₂}.

3.4 - Espectro vibracional

O o-Abz possui 45 modos normais de vibrações infravermelho (IR). O espectro vibracional de o-Abz de acordo com cálculos teóricos é dividido em duas regiões espectrais. A região de 50-1800 cm⁻¹ abrange 38 modos vibracional. A segunda região de 3000-4000 cm⁻¹ contém sete modos vibracionais. Uma discussão detalhada das frequências vibracionais na fase gasosa de o-Abz em ambos os níveis teórico e experimental pode ser encontrada na literatura [1, 4,11,12,14,24,29]. No presente trabalho por causa do interesse em investigar os efeitos de micro-hidratação no espectro vibracional, focalizamos nossa atenção somente na região espectral do IR de 3000-4000 cm⁻¹. Esta região abrange os modos de estiramentos C-H, N-H e O-H, estes ativamente participam nas interações entre soluto e solvente. Por causa do grupo carboxílico e amino, o-Abz pode agir simultaneamente como um receptor e doador de próton em meio aquoso para formar ligações de hidrogênio, os modos de estiramento O-H e N-H são sensíveis as propriedades dinâmicas e estruturais das ligações de hidrogênio. O grupo C-H também é capaz de formar ligações de hidrogênio [146-150]. Na tabela 4, mostramos as frequências

dos sete estiramentos do o-Abz calculado utilizando o método DFT comparando-as com outros valores teóricos e experimentais [1].

Tabela 4 - Modos vibracionais de altas frequências com número de ondas no intervalo de 3000-4000 cm^{-1} da molécula o-Abz isolada em fase gasosa calculados usando os dois modelos teóricos^a.

	Exp. Ref. [1]	Modelo 1		MP2 Base 1 ^b Ref. [14]	Modelo 2		MP2 Base 2 ^b Ref. [14]	Modo vibracional
		Sem escala	Com escala		Sem escala	Com escala		
1	3038	3174	3063	3047	3166	3074	3078	Estiramento C-H
2	3063	3191	3080	3065	3183	3091	3097	Estiramento C-H
3	3057	3209	3096	3080	3200	3107	3113	Estiramento C-H
4	3076	3229	3116	3098	3221	3128	3130	Estiramento C-H
5	3381	3557	3433	3396	3537	3435	3416	Simétrico NH ₂ .
6	3546	3728	3598	3531	3712	3604	3565	Assimétrico NH ₂ .
7	3592	3772	3640	3567	3759	3650	3605	Estiramento O-H

^aModelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Modelo 2: B3LYP/ aug-cc-pVDZ juntamente com outros resultados teóricos e experimentais [1]. ^bBase 1: 6-31++G(d,p); Base 2: aug-cc-pVDZ. Todas as frequências estão expressas em unidades de cm^{-1} .

Os valores de frequências vibracionais calculadas com o funcional B3LYP, com os conjuntos de base 6-31++G(d,p) e aug-cc-pVDZ são modificadas com um fator de escala 0,965 e 0,971, respectivamente, considerando os efeitos de anarmonicidade da superfície potencial e o efeito da ambiente. Os fatores de escala foram extraídos do trabalho de Merrick et al. [149]. Os resultados teóricos utilizando o método MP2 e os conjuntos de base 6-31++G(d,p) e aug-cc-pVDZ foram modificados pelos fatores de escala 0,941 e 0,964 [14], respectivamente. Como pode ser visto na Tabela 4, os cálculos com os métodos MP2 e B3LYP sobrestimam os números de ondas dos modos vibracionais até mesmo quando utilizados os fatores de escala. Embora os resultados de B3LYP são similares aos gerados pelo MP2 é os valores com este método que se aproximam do experimental. Porém, comparando os dois modelos é o modelo teórico B3LYP/6-

31++G(d,p) que se aproxima mais dos valores experimentais do que o modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ. As análises dos modos vibracionais foram feitos com o programa de visualização GaussView 4.1 [123].

Agora discutiremos o efeito de micro-hidratação no espectro vibracional de o-Abz. Por causa da molécula soluto apresentar múltiplos locais de ligação de hidrogênio devido à presença de ambos os grupos COOH e NH₂ dividimos a investigação em dois procedimentos separados, como já comentado anteriormente. Primeiro adicionamos uma a uma a molécula solvente água sucessivamente próximo ao grupo COOH, repetimos o mesmo processo localizando o solvente molécula de água próximo ao grupo NH₂ e analisamos as características de ligação de hidrogênio desses aglomerados.

Na Tabela 5, apresentamos o deslocamento de frequência referente ao modo de estiramento vibracional acima do número de onda de 3000 cm⁻¹ devido à formação de ligação de hidrogênio de o-Abz e moléculas de água.

Considerando a diminuição da frequência do estiramento IR de X-H, o deslocamento para o vermelho, sendo X um elemento eletronegativo como nitrogênio (N), oxigênio (O) ou flúor (F) como característico da formação de ligação de hidrogênio [150]. Observando os dados da Tabela 5, verificamos que o aglomerado de o-Abz ...[H₂O]_{n=1}^{COOH} é estabilizado por uma forte ligação de hidrogênio entre a molécula de água e o grupo -COOH do o-Abz. Quando a segunda molécula de água é adicionada no aglomerado próxima ao COOH observamos uma ligação de hidrogênio muito mais forte e o deslocamento para o vermelho do modo do estiramento O-H da molécula o-Abz ($\nu_{\text{O-H}}^{\text{o-Abz}}$) aumenta significativamente de -157,6 (-184,6) cm⁻¹ do o-Abz ...[H₂O]_{n=1}^{COOH} para -635,9 (-596,3) cm⁻¹ do aglomerado o-Abz ...[H₂O]_{n=2}^{COOH} no modelo de cálculo B3LYP6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ).

Quando a terceira molécula de água é adicionada próxima ao COOH, o deslocamento para o vermelho diminui levemente quando comparado ao caso que forma o aglomerado o-Abz ...[H₂O]_{n=2}^{COOH}, que é consistente com a variação das outras propriedades como vista nas subseções anteriores. Além disso, no aglomerado o-Abz ...[H₂O]_{n=3}^{COOH}, observamos duas frequências vibracionais IR ativas.

Tabela 5 - Alguns modos de estiramentos vibracionais do aglomerado $o\text{-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n$ e deslocamentos de frequências ($\Delta\nu$) em relação à molécula $o\text{-Abz}$ isolada calculados usando dois modelos teóricos^a.

	Modo Vibracional	$\Delta\nu (n = 1)$		$\Delta\nu (n = 2)$		$\Delta\nu (n = 3)$	
		Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 1	Modelo 2
Molécula de água próxima ao grupo COOH do ácido orto-aminobenzóico $o\text{-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$							
1	Estiramento C-H	-1,1	-0,8	-1,4	-1,2	-1,8	-2,2
2	Estiramento C-H	0,6	-0,3	-0,9	-0,9	-1,7	-1,6
3	Estiramento C-H	-0,2	0,1	-0,5	-0,4	-1,4	-1,0
4	Estiramento C-H	1,9	2,4	2,6	3,0	-1,9	-1,4
5	Simétrico NH_2	1,8	8,2	5,4	13,0	6,5	17,0
6	Assimétrico NH_2	-5,3	2,9	-7,5	-0,7	-9,9	-4,6
7	Estiramento O-H	-157,6	-184,6	-635,9	-596,3	-518,9 -459,7	-509,0 -443,4
Moléculas de água próxima ao grupo NH_2 do ácido orto-Aminobenzóico $o\text{-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$							
1	Estiramento C-H	0,1	0,4	5,3	4,4	7,4	6,1
2	Estiramento C-H	0,1	0,5	3,0	2,9	7,1	6,3
3	Estiramento C-H	0,7	1,0	0,4	0,7	-0,4	-0,2
4	Estiramento C-H	2,9	3,4	1,2	2,6	0,5	1,3
5	Simétrico NH_2	33,4	41,0	52,1	51,0 58,6	-108,9 -73,6	-94,4 -61,5
6	Assimétrico NH_2	-2,6	2,7	5,5	10,0	-54,4	-47,8
7	Estiramento O-H	3,4	3,5	1,5	4,3	3,6	4,7

^aModelo 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Modelo 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Analisando as duas frequências para $\nu_{\text{O-H}}^{\text{o-Abz}}$ no aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$, verificamos que para o modelo B3LYP/6-31++G(d,p) os números de ondas são $3253,4 \text{ cm}^{-1}$ e $3312,6 \text{ cm}^{-1}$, para o modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ são de $3250,2 \text{ cm}^{-1}$ e 3315 cm^{-1} , que pode ter ocorrido nesse caso é que a relaxação vibracional intermolecular pode ter sido mais rápida devido ao aumento do número de formação de ligação de hidrogênio entre a molécula água e o grupo COOH de o-Abz. Porém, a intensidade do modo de estiramento vibracional do número de onda mais alto é mais de 10 vezes mais intenso do que o número de onda mais baixo. Além disso, no mesmo número de onda a molécula de água que forma a ligação de hidrogênio $\text{O-H} \cdots \text{O}$ com o oxigênio de C=O de o-Abz também possui o modo de estiramento vibracional O-H . Contudo, no mais baixo número de onda, $3253,4 \text{ cm}^{-1}$ no modelo B3LYP/6-31++G(d,p) os vetores deslocamento desses dois modos de estiramento O-H , $\nu_{\text{O-H}}^{\text{o-Abz}}$ e $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}$ apontam em direções opostas, enquanto os de número de onda mais altos apontam nas mesmas direções.

No entanto, nos outros modos de estiramento como o modo de estiramento aromático C-H são observados deslocamentos de frequência insignificantes como esperado. Os modos de estiramento simétrico N-H sofrem um pequeno deslocamento para o azul, enquanto o modo de estiramento assimétrico mostra um pequeno deslocamento para o vermelho, mostrando que esses têm participações mínimas ou nenhuma com a formação de ligação de hidrogênio quando as moléculas de água são colocadas próximas ao grupo COOH de o-Abz.

No próximo passo quando as moléculas de água são colocadas próximas ao grupo NH_2 , o modo de estiramento C-H , não mostra quase nenhuma variação característica no número de onda vibracional, e o $\nu_{\text{O-H}}^{\text{o-Abz}}$ mostra pequeno deslocamento para o azul que vibra com intensidade semelhante em todos os casos de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, $n = 1, 2, \text{ e } 3$. Porém, o modo de estiramento N-H mostra claramente dependência de interação. No aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, o estiramento assimétrico NH_2 ($\nu_{\text{NH}_2}^{\text{as}}$) mostra pequeno deslocamento para o vermelho de $54,4$ e $47,8 \text{ cm}^{-1}$ para os modelos B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ, respectivamente. No caso de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, observamos um proeminente estiramento simétrico ($\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$) com o número de onda de $3590,6 \text{ cm}^{-1}$ ($3578,4 \text{ cm}^{-1}$) no modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) onde as duas ligações de N-H de estiramento simétrico executam vibração sincronizada e equivalente. Mas, o

modo de $\nu_{\text{NH}_2}^s$ de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$ mostra pequeno deslocamento para o azul de números de ondas de 33,4 e 41 cm^{-1} quando comparados ao o-Abz isolado nos modelos B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ, respectivamente. Entretanto para o aglomerado $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$, observamos uma dependência no conjunto de base. Enquanto o cálculo com B3LYP/6-31++G(d,p) prediz um único número de onda de 3609,3 cm^{-1} para $\nu_{\text{NH}_2}^s$ da ligação N–H, um deslocamento para o azul de 51,2 cm^{-1} com o mesmo comportamento visto no caso $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, no modelo B3LYP/aug-cc-pVDZ verificamos dois números de onda 3588,4 cm^{-1} e 3596 cm^{-1} , cada qual representa uma combinação de $\nu_{\text{NH}_2}^s$ e $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}_2)$, do modo de estiramento O–H da segunda molécula de água. Porém, em 3588,4 cm^{-1} , a vibração $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}_2)$ é mais intensa, enquanto em 3596 cm^{-1} , a vibração $\nu_{\text{NH}_2}^s$ é mais intensa do que a $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}_2)$. Finalmente, quando vamos para $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, observamos diferentes comportamentos de modos de estiramento N–H. Temos novamente dois números de onda, por exemplo, no modelo de cálculo de B3LYP/aug-cc-pVDZ, cada um representando a combinação de três modos de estiramento, $\nu_{\text{NH}_2}^s + \nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}_2) + \nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}_3)$. Porém, na interação intermolecular mais forte devido à presença de uma terceira molécula de água (W_3) próximo ao grupo NH_2 , as duas ligações de N–H, $\text{N}_7\text{--H}_{15}$ e $\text{N}_7\text{--H}_{16}$, vibram independentemente, embora simetricamente com os vetores deslocamentos das duas ligações movendo-se para a mesma direção. Analisando a estrutura de $\text{o-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, notamos que W_3 forma uma forte ligação de hidrogênio com a ligação $\text{N}_7\text{--H}_{16}$ que é direcionado para o átomo de oxigênio (O_{W_3}) sendo a distância entre H_{16} e O_{W_3} de 1,96 Å. A distância entre H_{15} na ligação $\text{N}_7\text{--H}_{15}$ e os átomos de oxigênio de W_2 e W_1 são de valores muito mais altos. A forte ligação de hidrogênio entre H_{19} e O_{W_3} faz com que a ligação $\text{N}_7\text{--H}_{16}$ vibre com mais intensidade que a ligação $\text{N}_7\text{--H}_{15}$, em ambos os números de onda 94,4 e 61,5 cm^{-1} com deslocamento para o vermelho com relação a o-Abz isolado. No modelo B3LYP/6-31++G(d,p) os deslocamentos para o vermelho de $\nu_{\text{NH}_2}^s$, chegam a 108,9 e 73,6 cm^{-1} , como pode ser vista na Tabela 5.

3.5 – Propriedades magnéticas

O parâmetro químico, blindagem nuclear (σ) é calculado como a segunda derivada parcial da energia total em relação ao campo magnético aplicado e ao momento magnético [88].

Os deslocamentos químicos isotrópico (δ^{iso}) e anisotrópico (δ^{aniso}) para o átomo X são calculados como a diferença entre blindagem do átomo no complexo e a blindagem do mesmo átomo no monômero,

$$\delta(\text{X})^{\text{iso/aniso}} = \sigma(\text{X})_{\text{aglomerado}}^{\text{iso/aniso}} - \sigma(\text{X})_{\text{monômero}}^{\text{iso/aniso}}, \quad (3.11)$$

onde a blindagem isotrópica para um átomo X é obtida como

$$\sigma(\text{X})^{\text{iso}} = \frac{1}{3} (\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}) \quad (3.12)$$

e a blindagem anisotrópica como,

$$\sigma(\text{X})^{\text{aniso}} = \sigma_{33} - \frac{1}{2} (\sigma_{11} + \sigma_{22}) \text{ com } \sigma_{11} < \sigma_{22} < \sigma_{33} \quad (3.13)$$

sendo σ_{11} , σ_{22} e σ_{33} são os valores principais do tensor σ .

Na Tabela 6 listamos os valores absolutos calculados dos parâmetros químico de blindagem para todos os átomos constituintes da molécula isolada o-Abz para três modelos: (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p); (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Como podemos observar na Tabela 6, nos valores de blindagem isotrópica (σ^{iso}), o efeito do conjunto de base é pequeno em ambos os modelos de cálculo B3LYP/6-31++G(2d,2p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ produzindo resultados similares. A inclusão da correlação eletrônica via DFT reduz o valor absoluto de σ^{iso} para todos os átomos, e o efeito de correlação torna-se mais intenso especialmente para átomos não hidrogênicos. Assim, por exemplo, a blindagem isotrópica do átomo de nitrogênio, σ^{iso} (N7) diminui de 213,54 ppm no modelo de cálculo de HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) para 189,08 ppm em B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) produzindo uma variação de

blindagem negativa de 11,5 % . A variação negativa foi também observada para a ligação O–H do grupo COOH, σ^{iso} (O10) e σ^{iso} (H17) são 23,5% e 2,3%, respectivamente.

Tabela 6 - Valores de blindagem isotrópica (σ^{iso}) e anisotrópica (σ^{aniso}) da molécula o-Abz isolada em unidade de ppm usando três modelos teóricos^a.

	σ^{iso}			σ^{aniso}		
	Modelo (i)	Modelo (ii)	Modelo (iii)	Modelo (i)	Modelo (ii)	Modelo (iii)
C1	99,80	85,35	83,46	122,25	120,59	122,08
C2	62,91	60,80	58,92	193,02	171,19	175,23
C3	92,99	79,71	77,96	150,10	143,33	150,10
C4	60,94	59,33	56,86	194,95	172,76	174,23
C5	92,03	79,88	78,24	128,34	120,26	124,68
C6	44,77	43,00	38,25	191,73	160,94	169,90
N7	213,54	189,08	183,07	61,45	64,70	61,47
C8	35,87	24,04	21,59	101,54	87,95	95,28
O9	12,37	-21,27	-32,07	453,26	427,18	437,21
O10	194,19	148,54	144,28	155,12	168,84	171,18
H11	23,49	23,37	23,36	8,47	7,90	7,62
H12	25,37	24,82	24,84	3,97	3,89	4,15
H13	24,23	24,07	24,12	4,94	4,65	4,74
H14	25,34	24,92	24,98	6,34	6,04	5,91
H15	25,00	23,25	23,36	15,16	14,09	13,73
H16	28,18	27,20	27,26	12,68	9,91	9,43
H17	26,46	25,89	26,08	14,30	10,12	9,96

^a(i)HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p); (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

No entanto, para o caso do outro átomo de oxigênio, σ^{iso} (O9) muda de 12,37 ppm no HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) para -21,27 e 32,07 ppm nos modelos de cálculos de B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ //B3LYP/aug-cc-pVDZ, respectivamente. Porém, no caso da blindagem anisotrópica (σ^{aniso}) há uma notável diferença entre os dois modelos de cálculos de DFT para os átomos que não são os hidrogênios mostrando efeito proeminente no conjunto de base. Além disso, para alguns átomos como C1, C3 e N7, o modelo de cálculo HF/6-31++G(2d,2p) produz praticamente o mesmo valor de σ^{aniso} como do B3LYP/aug-cc-pVDZ . Entre os dois níveis de cálculos de DFT, o B3LYP/aug-cc-pVDZ prediz valores de σ^{iso} similares,

mas um pouco abaixo que o correspondente resultado de B3LYP/6-31++G(2d,2p) . No caso de σ^{aniso} observamos uma tendência oposta para a maioria dos átomos.

Na Tabela 7 apresentamos o deslocamento químico do ^{13}C e ^1H de o-Abz em relação ao tetrametilsilano (TMS) e para comparar os resultados calculados com outros resultados teóricos [12] e experimentais [12, 13, 151], o parâmetro químico de blindagem foi calculado exatamente da mesma maneira nos três métodos. Notamos, exceto para o átomo C1, que os três resultados experimentais do deslocamento químico ^{13}C diferem um pouco entre eles. Além disso, observamos um efeito significativo do conjunto de base nos cálculos teórico. Enquanto o cálculo de HF/6-31G* superestima o deslocamento químico ^{13}C de [12], o resultado com HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) reduz erro relativo com respeito ao resultado experimental. Por outro lado quando saímos dos cálculos utilizando o método HF para DFT/B3LYP, observamos um aperfeiçoamento sucessivo nos valores do deslocamento químico ^{13}C , quando comparados com os dados experimentais, provavelmente devido ao efeito de correlação eletrônica. Entre os dois modelos de cálculo utilizando o método DFT, o B3LYP/aug-cc-pVDZ //B3LYP/aug-cc-pVDZ proporcionou uma melhor concordância dos deslocamentos químicos com os dados experimentais. Mas, no caso dos deslocamentos químicos ^1H observamos uma mínima dependência referente os métodos de cálculos.

Tabela 7 - Deslocamento químico δ (em ppm) teórico e experimental da molécula o-Abz isolada do espectro de NMR de ^1H e ^{13}C em relação a ressonância de tetrametilsilano (TMS), usando três modelos teóricos^a.

	RHF/ 6-31G* [11]	B3LYP/ 6-311+G* [11]	Modelo (i)	Modelo (ii)	Modelo (iii)	EXP. 1 [11]	EXP. 2 [12]	EXP. 3 [152]
C1	114,90	97,36	103,61	105,73	106,81	109,69	109,9	109,6
C2	152,72	135,20	140,5	130,28	131,35	131,26	133,4	132,2
C3	122,11	104,58	110,42	111,37	112,31	116,42	117,3	116,8
C4	152,18	134,69	142,47	131,75	133,41	133,82	136,6	135,1
C5	121,72	104,22	111,38	111,2	112,03	114,69	117,3	116,5
C6	166,29	148,81	158,64	148,08	152,02	151,58	153	151,1
C8	172,82	155,30	167,54	167,04	168,68	169,69	174,3	173,6
H11	9,04	8,33	8,78	8,19	8,2	7,70	---	---
H12	6,94	6,23	6,9	6,74	6,72	6,50	---	---
H13	7,94	7,23	8,04	7,49	7,44	7,21	---	---
H14	6,88	6,16	6,93	6,64	6,58	6,74	---	---

^a(i)HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p); (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Agora, iremos considerar a molécula o-Abz micro-hidratada, para análise do efeito de ligação de hidrogênio no deslocamento químico (δ), utilizaremos o complexo o-Abz \cdots [H₂O]_n^{COOH}, ($n = 1-3$). Os deslocamentos químicos provêm do uso de informações estruturais que são diretamente influenciadas pela ação do núcleo que estão em um ambiente químico de ressonância magnética nuclear (*Nuclear Magnetic Resonance* – NMR). Pode ser usado para identificar de maneira eficaz a existência de ligação de hidrogênio e seus respectivos comprimentos. A formação de ligação de hidrogênio desprotege o próton, ou seja, quando mais forte a ligação de hidrogênio, mais desblindado fica o próton, causando um deslocamento químico negativo (ou de campo baixo). Existem muitos estudos teóricos e experimentais [118-121, 153-157] que estabelecem o campo baixo do ¹³C e ¹H devido à formação de ligação de hidrogênio.

Valores calculados de deslocamento químico isotrópico e anisotrópico de todos os átomos que constituem a molécula o-Abz micro-hidratada em relação à molécula o-Abz isolada são apresentados na Tabela 8, para o modelo de cálculo de B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ, para o outro modelo de teoria e para o método de HF são expostos graficamente na Figura 18.

Todos os resultados do deslocamento químico foram corrigidos os erros de superposição do conjunto de base (BSSE) utilizando o método de correção de *counterpoise* (CP), onde para cada ligação de hidrogênio do complexo o-Abz-H₂O calculamos a blindagem do monômero de o-Abz usando as funções de base do complexo. Ambos os resultados corrigido (CP) e não corrigido (NC) para todas as ligações de hidrogênio do aglomerado, o-Abz \cdots [H₂O]_n^{COOH}, ($n = 1-3$) são mostrados na Tabela 8. Para a maioria dos átomos avaliamos o erro de superposição de base (ΔE^{CP}). Focalizamos nossa atenção nos átomos do grupo carboxílico de o-Abz que participam diretamente na formação da ligação de hidrogênio, observamos que o deslocamento químico isotrópico para H17 exhibe um aumento de 23% e 18% para os aglomerados o-Abz \cdots [H₂O]_{n=1}^{COOH} e o-Abz \cdots [H₂O]_{n=3}^{COOH}, respectivamente, enquanto diminui 15% para o-Abz \cdots [H₂O]_{n=2}^{COOH} quando comparado a molécula isolada de o-Abz. Ao contrário do hidrogênio, a correção de CP para o átomo C8 aumenta com o número de molécula de água. Por outro lado a correção para o deslocamento químico anisotrópico mostra tendência oposta. Para H17 a correção varia entre 2% e 4% enquanto para C8 os valores de correção CP são a metade do não corrigido.

Como podemos observar na Tabela 8 ambos os isotrópicos e anisotrópicos $\delta(H)$ são geralmente menor que $\delta(C)$, $\delta(O)$ e $\delta(N)$ exceto o hidrogênio da carbonila (H17). Como observado para outros sistemas C8 e H17 que constituem o grupo carboxílico de o-Abz são desblindados devido à formação de ligação de hidrogênio com a água. Além disso, entre os dois átomos de oxigênio do grupo carboxílico, enquanto o próton aceitador O9 experimenta um forte deslocamento de campo alto (ou para cima), o próton doador O10 sentiu uma desblindagem (deslocamento de campo baixo). A correção de CP $\delta^{iso}(H17)$ [$\delta^{iso}(C8)$] são -2,15 [-3,34], -8,29 [-2,93] e -5,29 [-1,96] ppm para $n = 1, 2,$ e 3 respectivamente no modelo de cálculo de B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. No mesmo modelo, $\delta^{iso}(O9)$ são 31,73 42,71 e 48,17 ppm , $\delta^{iso}(O10)$ são -5,18, -18,97 e -12,46 respectivamente para $n = 1, 2,$ e 3 .

Porém, o deslocamento químico anisotrópico corrigido-CP , $\delta^{aniso}(C8)$, varia pouco com aumento do tamanho do aglomerado que permanece na extensão de 3,6-4,7 ppm, enquanto o $\delta^{aniso}(H17)$ aumenta de 10,72 ppm em $n = 1$ para 18,01 ppm para $n = 2$ e então diminui para 14,72 para $n = 3$ mostrando uma tendência oposta de mais ou menos da mesma proporção como de $\delta^{iso}(H17)$. Ao contrário do caso isotrópico os deslocamentos químicos anisotrópico de O9 e de O10 mostram menores blindagens sendo bastante altos os valores negativos destes deslocamentos químicos em comparação com os outros com de blindagem negativa. O valor calculado de $\delta^{aniso}(O9)$ ($\delta^{aniso}(O10)$) são -18,68 (-50,58), -52,31 (-33,95) e -61,92 (-46,73) ppm para $n = 1, 2$ e 3 , respectivamente, no modelo de teoria B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

Calculamos, também, o deslocamento químico isotrópico e anisotrópico em outros modelos de teoria (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) e (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p). Os resultados obtidos com estes modelos de teoria são comparados com os resultados informados na Tabela 8 mostrados graficamente na Figura 18. Podemos observar na Figura 18 os deslocamentos químicos isotrópicos e anisotrópico dos átomos do grupo carboxílico do o-Abz micro-hidratada relativo ao o-Abz isolado calculados com os modelos de teoria B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ que mostram resultados bem parecidos demonstrando uma dependência insignificante desses conjuntos de base. Porém, o deslocamento químico no modelo de cálculo HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) são

evidentemente menores em todos os casos quando comparado com os cálculos de DFT-B3LYP.

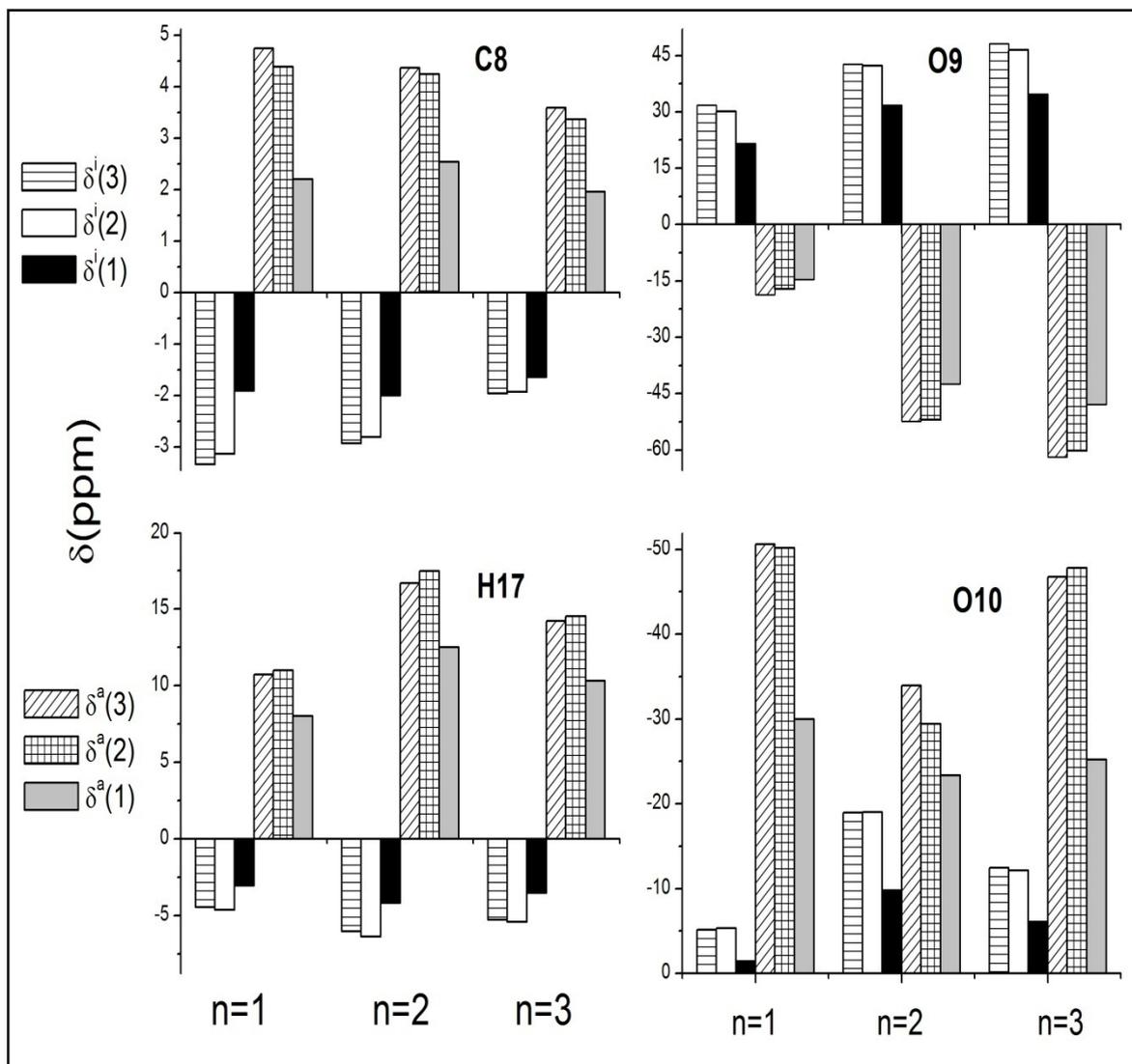


Figura 18 - Comparação do deslocamento químico isotrópico e anisotrópico (em ppm) para átomos do grupo carboxílico do ácido orto-Aminobenzóico, $o\text{-Abz} \cdots [\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ ($n = 1-3$), calculado para três modelos, (1) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) (2) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (3) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. Na legenda, δ^i e δ^a significam δ^{iso} e δ^{aniso} , respectivamente.

Tabela 8 - Valores do deslocamento químico isotrópico e anisotrópico $\delta^{\text{iso/aniso}}(\text{X})$ para cada átomo X de o-Abz quando a molécula de o-Abz está micro-hidratada calculados utilizando o modelo (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. Os deslocamentos químicos com correção BSSE dos átomos do grupo carboxílico estão em negrito.

X	<i>n</i> = 1				<i>n</i> = 2				<i>n</i> = 3			
	$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$	
	N. CP	CP	N. CP	CP	N. CP	CP	N. CP	CP	N. CP	CP	N. CP	CP
C1	-1,53	-0,85	0,03	0,22	-2,64	-0,90	0,37	0,69	-0,6	0,00	-1,23	-1,54
C2	-0,3	-0,54	0,38	0,85	-0,5	-1,06	2,81	2,96	0,31	-0,76	2,78	2,23
C3	0,12	-0,31	0,89	0,43	-0,21	-0,43	0,57	0,44	1,51	0,41	-1,26	-1,34
C4	0,08	-0,17	4,16	0,08	0,07	-0,17	4,4	-0,08	0,85	-0,40	-0,24	-0,32
C5	-0,18	0,17	-1,34	-0,54	-0,7	0,27	-1,75	-0,74	-0,36	-0,09	-0,63	-1,01
C6	0,98	0,11	0,38	-0,61	0,58	0,17	-2,03	-0,77	0,39	-0,83	4,33	0,45
N7	0,52	0,85	-0,8	-0,50	1,15	1,30	-1,21	-0,68	-5,39	-5,09	-2,9	-0,05
C8	-4,96	-3,34	9,36	4,74	-4,12	-2,93	8,98	4,37	-3,71	-1,96	8,14	3,59
O9	26,8	31,73	-18,01	-18,68	37,77	42,71	-46,43	-52,31	38,53	48,17	-49,25	-61,92
O10	-3,55	-5,18	-67	-50,58	-12,1	-18,97	-63,92	-33,95	-7,48	-12,46	-69,48	-46,73
H11	-0,08	-0,10	0,55	0,44	-0,12	-1,80	0,82	-2,27	0,02	-0,08	0,88	0,69
H12	-0,04	-0,02	0,09	0,08	-0,04	1,41	0,16	-3,47	0,1	0,04	-0,13	0,03
H13	0,02	0,00	-0,08	-0,04	0,01	-0,70	-0,08	0,49	0,2	0,02	-0,29	-0,10
H14	0	0,03	0,06	0,00	0,03	0,88	0,11	1,29	0,01	0,06	0,63	0,33
H15	0,12	0,16	0,6	0,59	0,22	-1,38	1,31	9,07	0,12	-0,36	1,46	2,56
H16	0,03	0,03	0,09	0,15	0,1	3,98	0,13	-4,17	0,03	-0,13	-0,69	-0,91
H17	-2,8	-2,15	10,94	10,72	-7,06	-8,29	17,41	18,01	-6,23	-5,29	14,72	14,21

Embora, nossa discussão sobre deslocamento químico esteja focalizando principalmente no grupo COOH de *o*-Abz, é interessante observar o comportamento do deslocamento químico de ^1H das moléculas de água que formam interação de ligação de hidrogênio com *o*-Abz. As propriedades de NMR da água e aglomerados de água já foram estudadas amplamente. Para o dímero da água de ligação de hidrogênio ($\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$) o deslocamento químico isotrópico de campo baixo do átomo de hidrogênio blindado (da ligação de hidrogênio $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$) com respeito à molécula isolada água foi calculado obtendo-se um valor de -2,6 ppm no modelo de teoria de MP2/6-31+G** [121]. De acordo com nosso cálculo com B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ, este mesmo parâmetro foi encontrado com um valor de -3,10 ppm. Agora para o aglomerado $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ ($n = 1-3$), temos ligação de hidrogênio $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$, onde a molécula da água atua como doador de próton pelo grupo O-H e *o*-Abz atua como próton receptor pelo grupo C=O. Observamos direta correlação entre comprimento de ligação de hidrogênio $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ e o deslocamento químico isotrópico relativo à blindagem do hidrogênio da molécula de água, quanto maior o comprimento de ligação de hidrogênio, altamente é a blindagem e, como uma consequência, o deslocamento químico diminui $\delta^{\text{iso}}(\text{H})$ com respeito à água isolada, como podemos observar na Tabela 9.

Tabela 9 - Correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio (d^{HB}) quando *o*-Abz é o receptor de próton e a água é doador de próton na ligação $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$. A distribuição de carga de Mulliken (ϵ) dos átomos envolvidos na ligação e o respectivo parâmetro NMR do hidrogênio blindado.

Sistema	d^{HB} (Å)	$\sigma^{\text{iso}}(\text{H})^a$ (ppm)	$\delta^{\text{iso}}(\text{H})^b$ (ppm)	$\epsilon(\text{H})$	$\epsilon(\text{O})_{\text{o-Abz}}$	$\epsilon(\text{O})_{\text{água}}$
H_2O		31,34				
$\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}$	1,92	26,76	-4,58	0,190e	0,246e	0,792e
$\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_2$	1,78	25,14	-6,20	0,246e	-0,303e	-0,849e
$\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_3$	1,64	23,10	-8,24	0,342e	-0,410e	-0,857e

^a Blindagem química absoluta do hidrogênio blindado da interação de $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$.

^b Deslocamento químico do hidrogênio blindado com respeito a molécula água isolada.

Agora observando o átomo C8 referente ao comprimento de ligação de hidrogênio de $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ verificamos uma tendência oposta de $\delta^{\text{iso}}(\text{C})$ para $\delta^{\text{iso}}(\text{H})$. No caso do carbono da carbonila quando maior é o comprimento (d^{HB}) de ligação de hidrogênio

$C=O \cdots H-O$, maior é o deslocamento químico. Nas Tabelas 8 e 9, verificamos que o valor de $\delta^{iso}(d^{HB})$ para átomo são C8 são de -1,96 ppm ($d^{HB} = 1,64 \text{ \AA}$), -2,93 ppm ($d^{HB} = 1,78 \text{ \AA}$) e -3,34 ppm ($d^{HB} = 1,92 \text{ \AA}$) para $o\text{-Abz} \cdots [H_2O]_{n=1}^{COOH}$, $o\text{-Abz} \cdots [H_2O]_{n=2}^{COOH}$ e $o\text{-Abz} \cdots [H_2O]_{n=3}^{COOH}$, respectivamente.

Em geral a interação da água com qualquer molécula de soluto pode trazer algumas mudanças na geometria do soluto e distribuição de carga que diretamente afetam as propriedades de NMR em ambas as moléculas. No presente caso que é um processo de micro-hidratação da molécula de *o*-Abz redistribui-se significativamente a carga atômica na interação local. Com aumento da molécula de água ao redor de *o*-Abz, a ligação de hidrogênio entre o grupo $C=O$ de *o*-abz e água fica gradativamente mais forte como é evidente na redução do comprimento da ligação de hidrogênio $C=O \cdots H-O$. Além disso, os dois átomos de oxigênio ficam mais negativos levando o átomo de hidrogênio a ficar mais positivo quanto aos aumentos do tamanho do agrupamento, claramente visto nas últimas três colunas de Tabela 9. A contínua redistribuição de carga atômica causa o aumento gradativo da desblindagem do hidrogênio da interação $C=O \cdots H-O$.

Tabela 10 - Correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio (d^{HB}) quando *o*-Abz é o doador de próton e a água é o receptor de próton ($O-H \cdots O$), a distribuição de carga do Mulliken (ϵ) dos átomos envolvidos na ligação e os respectivos parâmetros de NMR do hidrogênio blindado.

Sistema	d^{HB} (Å)	$\sigma^{iso}(H17)^a$ (ppm)	$\delta^{iso}(H17)^b$ (ppm)	$\epsilon(H17)$	$\epsilon(O)_{o\text{-Abz}}$	$\epsilon(O)_{\text{água}}$
<i>o</i> -Abz		26,08		0,243e	-0,556e	
<i>o</i> -Abz \cdots H ₂ O	1,79	23,28	-2,8	0,306e	-0,549e	-0,246e
<i>o</i> -Abz \cdots (H ₂ O) ₂	1,68	19,02	-7,06	0,365e	-0,576e	-0,271e
<i>o</i> -Abz \cdots (H ₂ O) ₃	1,73	19,85	-6,23	0,342e	-0,557e	-0,264e

^aBlindagem química absoluta do hidrogênio blindado de interação $O-H \cdots O$.

^bDeslocamento químico do hidrogênio blindado com respeito a molécula *o*-Abz isolada.

No caso da desblindagem do átomo de hidrogênio H17 de *o*-Abz observamos a mesma correlação entre o comprimento de ligação de hidrogênio e o deslocamento químico. Porém a contribuição da redistribuição de carga atômica na formação de ligação de hidrogênio para deslocamento químico de NMR é um pouco diferente. Neste caso, quando vamos do aglomerado $o\text{-Abz} \cdots [H_2O]_{n=1}^{COOH}$ para $o\text{-Abz} \cdots [H_2O]_{n=2}^{COOH}$, os dois átomos de

oxigênios eletronegativos em qualquer lado de H17 atraem a nuvem eletrônica do átomo de hidrogênio eletropositivo que conduz a um aumento efetivo no deslocamento químico negativo por 4,26 ppm do hidrogênio blindado com respeito ao desblindamento de -2,80 ppm para $n = 1$ ($\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$) como podemos verificar na Tabela 8. No caso de $\text{CH}_3\text{HO}\cdots\text{H}_2\text{O}$ foi encontrado um valor de -3,18 ppm para o deslocamento químico do hidrogênio blindado no modelo de cálculo de B3LYP/6-31++G(2d,2p) [124]. Porém quando vamos de $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$ para o $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$, ao contrário do caso anterior, os dois átomos de oxigênio em qualquer lado de H17 atraem a nuvem eletrônica e assim se tornam menos negativo e o átomo H17, ao mesmo tempo fica menos positivo. Como resultado, observamos um pequeno campo para cima sobre deslocamento químico de H17. Esta diferença do comportamento de δ^{iso} (H17) está resumida na Tabela 10 onde usamos os valores absolutos de blindagem e deslocamento químico que não são corrigidos por BSSE para permanecer consistente com a Tabela 9 onde as trocas químicas são calculadas com respeito à molécula de água isolada.

Capítulo 4

Conclusão

Foram realizados, neste trabalho de doutorado, cálculos detalhados e sistemáticos da estrutura eletrônica da molécula orto-Aminobenzoíco (o-Abz) micro-hidratada utilizando o funcional de densidade de alta qualidade com conjuntos de bases suficientemente estendidas. O objetivo principal foi analisar os efeitos de micro-hidratação na estrutura geométrica, propriedades eletrônicas e espectro vibracional. Analisamos as variações dos parâmetros de ressonância magnética nuclear dos átomos de o-Abz participantes na interação com água. Entre as duas conformações possíveis do o-Abz na literatura, a conformação que utilizamos neste trabalho foi a de energia mais baixa na fase gasosa. Foram investigadas as interações de ligação de hidrogênio da molécula o-Abz com uma até três moléculas de água, $\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_n$, ($n = 1-3$). Usamos dois modelos teóricos quântico B3LYP/6-31++G(d,p) e B3LYP/ aug-cc-pVDZ para otimização da geometria e para calcular as propriedades eletrônicas tanto para o monômero de o-Abz quanto para os aglomerados de o-Abz com moléculas de água ($\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_n$). Os parâmetros estruturais e espectroscópicos do o-Abz calculados em ambos os modelos estão de bom acordo com resultados experimentais e com outros cálculos teóricos. Consideramos duas conformações de ligações de hidrogênio do aglomerado $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$, dependendo do posicionamento da molécula água próximo a molécula o-Abz. Uma dessas conformações é quando as moléculas de água são localizadas próximo ao grupo ($-\text{COOH}$) de o-Abz produzindo o complexo $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, ($n = 1-3$) e outra quando a molécula de água é colocada próxima ao grupo amino ($-\text{NH}_2$) produzindo o aglomerado $\text{o-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$. O posicionando das moléculas de água ao redor de o-Abz e a formação de ligação de hidrogênio intermolecular nas geometrias otimizadas dos dois aglomerados de

$o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ mostram diferenças significativas. Comparando as propriedades entre $o\text{-Abz}$ isolado e as duas conformações da molécula $o\text{-Abz}$ micro-hidratada revelam que com a adição gradativa de moléculas de água, a energia de ligação do complexo aumenta gradualmente para ambos aglomerados $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ e $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$. Porém, quando analisamos a cooperatividade, esta se mostra diferente nos diferentes aglomerados. No caso do $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, o trímero, $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$, mostram máximo de cooperatividade, enquanto para $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ a interação cooperatividade aumenta com aumento gradual do tamanho do aglomerado. O efeito de cooperatividade foi calculado utilizando os dois modelos, estes deram resultados consistentes. A energia de ligação de $n = 1$ (dímero) e $n = 2$ (trímero) para o aglomerado $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ são energeticamente mais estáveis que os correspondentes aglomerados de $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$. No entanto, $n = 3$, ambos aglomerados, $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$ e $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, tem energia ligação semelhantes. No geral, as ligações de hidrogênio dos aglomerados de $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ são mais estáveis que as ligações dos aglomerados de $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$.

A análise detalhada do espectro vibracional de micro-hidratação considerando números de ondas acima de 3000 cm^{-1} mostrou que a ação de microssolvatação com água próxima ao grupo carboxílico ($-\text{COOH}$) de $o\text{-Abz}$ provoca um deslocamento das frequências vibracionais para o vermelho de grau variado. Verificou-se que o máximo deslocamento para o vermelho ocorre no aglomerado $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$ quando comparado com os aglomerados $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$ e $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$. Isto é consistente com o comportamento do efeito de cooperatividade para o sistema. Entretanto, para os aglomerados de $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, foram observados tanto o deslocamento frequências vibracionais para o vermelho como para o azul.

Quando analisamos o efeito de formação de ligação de hidrogênio no ambiente micro-hidratado de $o\text{-Abz}$ considerando até três moléculas de água utilizando os parâmetros de ressonância magnética nuclear, deslocamentos químicos isotrópico e anisotrópico, para todos os átomos do aglomerado $o\text{-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_{1-3}$, estes foram calculados usando três modelos teóricos: (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p); (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) e (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. Esta análise resultou que os valores de deslocamento químico isotrópico da molécula $o\text{-Abz}$ isolada do ^1H e ^{13}C , estão em concordância razoável com os dados experimentais disponíveis. Os valores do deslocamento químico dos átomos do grupo

carboxílico de o-Abz micro-hidratado relativo a o-Abz isolado não mostram dependência significativa com os conjuntos de base. Os átomos de hidrogênio e carbono que constituem o grupo carboxílico de o-Abz estão desblindados devido à formação de ligação de hidrogênio com a água. Com base nos resultados dos comprimentos de ligação de hidrogênio formado entre o-Abz e água foi identificado uma variação desses comprimentos devido ao número de água presentes próximas da molécula o-Abz. Encontramos uma correlação direta entre o comprimento de ligação de hidrogênio e o deslocamento químico isotrópico do hidrogênio blindado nas interações das ligações de $C=O \cdots H-O$ e $O-H \cdots O$.

Acreditamos que com este trabalho conseguimos gerar alguns conhecimentos relevantes a respeito da interação da ligação de hidrogênio no sistema biomolecular e essas informações serão úteis nos estudos futuro que iremos tratar o sistema de forma mais detalhada e realista.

Referências

- [1] SOUTHERN, C. A. et al. Electronic and infrared spectroscopy of anthranilic acid in a supersonic jet. *J. Phys. Chem. A*, v. 107, n. 20, p. 4032-4040, apr. 2003.
- [2] HE, Y.; WU, C.; KONG, W. Observation of rotamers of m-aminobenzoic acid: Zero kinetic energy photoelectron and hole-burning resonantly enhanced multiphoton ionization spectroscopy. *J. Chem. Phys.*, v. 121, n. 17, p. 8321-8328, 1 nov. 2004.
- [3] HE, Y.; WU, C.; KONG, W. Zero kinetic energy photoelectron spectroscopy of p-amino benzoic acid. *J. Chem. Phys.*, v. 121, n. 8, p. 3533-3539, 22 aug. 2004.
- [4] HE, Y.; WU, C.; KONG, W. Theoretical and experimental studies of water complexes of p-and o-aminobenzoic acid. *J. Phys. Chem. A*, v. 109, n. 12, p. 2809-2815, mar. 2005.
- [5] HE, Y.; WU, C.; KONG, W. A Theoretical and Experimental Study of Water Complexes of m-Aminobenzoic Acid MABA(H₂O)_n (n = 1 and 2). *J. Phys. Chem. A*, v. 109, n. 5, p. 748-753, jan. 2005.
- [6] TURCHIELLO, R. F. et al. Ortho-aminobenzoic acid-labeled bradykinins in interaction with lipid vesicles: Fluorescence study. *Biopolymers*, v. 65, n. 5, p. 336-346, 2002.
- [7] ITO, A. S. et al. Fluorescence study of conformational properties of melanotropins labeled with aminobenzoic acid. *Biophys. J.*, v. 81, n. 2, p. 1180-1189, aug. 2001.
- [8] TAKARA, M. et al. Solvent effects in optical spectra of ortho-aminobenzoic acid derivatives. *J. Fluoresc.*, v. 19, n. 6, p. 1053-1060, jun. 2009.
- [9] TAKARA, M.; ITO, A. S. General and specific solvent effects in optical spectra of ortho-aminobenzoic acid. *J. Fluoresc.*, v. 15, n. 2, p. 171-177, mar. 2005.
- [10] LEŚNIEWSKI, S. et al. Franck-Condon analysis of laser-induced fluorescence excitation spectrum of anthranilic acid: Evaluation of geometry change upon S₀→S₁ excitation. *J. Chem. Phys.*, v. 130, n. 5, p. 054307- 054307-14, 5 feb. 2009.
- [11] SOUTHERN, C. A. et al. Spectroscopic consequences of localized electronic excitation in anthranilic acid dimer. *J. Phys. Chem. A.*, v. 108, n. 21, p. 4599-4609, may 2004.

- [12] SAMSONOWICZ, M. et al. Experimental and theoretical IR, Raman, NMR spectra of 2-, 3- and 4-aminobenzoic acids. *J. Mol. Struct.*, v. 744-747, n. 1, p. 345-352, jan. 2005.
- [13] BURNETTE, R. R.; WEINHOLD, F. Determination of the conformation of 2-hydroxy- and 2-aminobenzoic acid dimers using ^{13}C NMR and density functional theory/natural bond order analysis: the central importance of the carboxylic acid carbon. *J. Phys. Chem. A.*, v. 110, n. 28, p. 8832-8839, 2006.
- [14] MACIEL, B. C. M.; CHAUDHURI, P. An ab initio quantum chemical characterization of structure and vibrational spectra of anthranilic acid. *Int. J. Quant. Chem.*, v. 111, n. 3, p. 1709-1718, 2011.
- [15] TURCHIELLO, R. F. et al. Ortho-aminobenzoic acid as a fluorescent probe for the interaction between peptides and micelles. *Biophys. Chem.*, v. 73, n. 3, p. 217-225, mar. 1998.
- [16] ITO, A. S. et al. Fluorescent properties of amino acids labeled with ortho-aminobenzoic acid. *Biospectroscopy*, v. 4, n. 6, p. 395-402, jul. 1998.
- [17] BROWN, C. J. The crystal structure of anthranilic acid. *Proc. Roy. Soc. A.*, v. 302, n. 1469, p. 185-199, jun. 1968.
- [18] BOONE, C. D. G.; DERISSEN, J. L.; SCHOONE, J. C. Anthranilic acid II (o-aminobenzoic acid). *Acta Cryst. B.*, v. 33, n. 10, p. 3205-3206, may 1977.
- [19] LU, T. H.; CHATTOPADHYAY, P.; LIAO, F. L.; LO, J. M. Crystal structure of 2-Aminobenzoic acid. *Analytical sciences.*, v. 17, n. 7, p. 905-906, jul. 2001
- [20] BROWN, C. J.; Ehrenberg, M. Anthranilic acid, $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$, by neutron diffraction. *Acta Crystallogr. C.*, v. 41, n. 3, p. 441-443, 1985.
- [21] SÁNCHEZ de La Blanca, E. ; NÚÑEZ, J. L.; MARTÍNEZ, P. Vibrational spectra of some o-substituted benzoic acid derivatives. *J. Mol. Struct.*, Amsterdam, v.142, n.1, p. 45-48. 1986.
- [22] SUH, J. S.; MOSKOVITS, M. Surface-enhanced Raman spectroscopy of amino acids and nucleotide bases adsorbed on silver. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 108, n. 16, p. 4711-4718, 1986
- [23] VOOGD, J.; DERISSEN, J.L.; DUIJNEVELDT, F. B. Calculation of proton-transfer energies and electrostatic lattice energies of various amino acids and peptides using CNDO/2 and ab initio SCF methods. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 103, n. 26, p. 7701-7706, 1981.
- [24] PALAFOX, M. A.; GIL, M.; NÚÑEZ, J. L. Structure and spectral characteristics of o-aminobenzoic acid by AM1. *Vib Spectrosc.*, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 95-105, 1993.
- [25] STEARNS, J. A.; DAS A.; ZWIER, T. S. Hydrogen atom dislocation in the excited state of anthranilic acid: probing the carbonyl stretch fundamental and the effects of water complexation, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 6, n. 10, 2605- 2610, 2004.

- [26] MARQUEZIN, C. A. et al. Spectroscopic characterization of 2-amino-N-hexadecylbenzamide (AHBA), a new fluorescence probe for membranes. *Biophys. Chem.*, v. 124, n. 2, p. 125-133, jun. 2006.
- [27] VEQUI-SUPLICY, C. C., LAMY, M. T.; MARQUEZIN, C. A. The New Fluorescent Membrane Probe Ahba: A Comparative Study with the Largely Used Laurdan. *J. Fluoresc.*, v. 23, n.1, p. 479–486, feb. 2013.
- [28] CARNEY, J. R. The role of water bridges in directing the conformational preferences of 3-indole-propionic acid and tryptamine. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 123, n. 23, p. 5596-5597, 2001.
- [29] AIKENS, C.M.; GORDON, M.S. Incremental solvation of nonionized and zwitterionic glycine. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 128, n. 39, p. 12835-12850, 2006.
- [30] COUTINHO, K.; CANUTO, S. Solvent effects from a sequential Monte Carlo-quantum mechanical approach. *Adv. Quantum Chem.*, v. 28, n. 1, p. 89-105, 1997.
- [31] COUTINHO K.; CANUTO, S.; ZERNER, M. C. A Monte Carlo-quantum mechanics study of the solvatochromic shifts of the lowest transition of benzene. *J. Chem. Phys.*, v. 112, n. 22, p. 9874-9880, 2000.
- [32] TAPIA, O.; GOSCINSKI, O. Self-consistent reaction field theory of solvent effects *Mol. Phys.*, v. 29, n. 6, p. 1653-1661, 1975.
- [33] ALEMÁN, C. Solvation of cytosine and thymine using a combined Discrete/SCRF model. *Chem. Phys. Lett.*, v. 302, n. 5, p. 461-470, 26 mar. 1999.
- [34] RAI, A. K. et al. Effects of microsolvation and aqueous solvation on the tautomers of histidine: a computational study on energy, structure and IR spectrum. *Theor. Chem. Acc.*, v. 124, n. 1-2, p. 37–47, may 2009.
- [35] CHAUDHARI, A.; SAHU, P. K.; LEE, S. L. Microsolvation effect on alanine: a many-body interaction study using ab initio method. *J. Mol. Struct.:Theochem.*, v. 683, n. 1, p. 115-119, aug. 2004.
- [36] BACHRACH, S. M.. Microsolvation of glycine: a DFT study. *J. Phys. Chem. A*, v. 112, n. 16, p. 3722-3730, mar. 2008.
- [37] BACHRACH, S. M.; NGUYEN, T. T.; DEMOIN, D. W. Microsolvation of cysteine: a density functional theory study. *J. Phys. Chem. A*, v. 113, n. 21, p. 6172-6181, may. 2009.
- [38] HUANG, Z. et al. Microsolvation of aminoethanol: a study using DFT combined with QTAIM. *J. Mol. Model.*, v. 17, n. 11, p. 2781-2796, feb. 2011.
- [39] MELICHERČÍK, M., et al. Electron Affinities of Uracil: Microsolvation Effects and Polarizable Continuum Model. *J. Phys. Chem. A*, v. 116, n. 9, p. 2343-2351, fev. 2012.

- [40] NIELSEN, S. B.; ANDERSEN, L. H. Properties of microsolvated ions: From the microenvironment of chromophore and alkali metal ions in proteins to negative ions in water clusters. *Biophys. Chem.*, v. 124, n. 3, p. 229-237, 22 apr. 2006.
- [41] CERÓN-CARRASCO, J. P. et al. Intermolecular proton transfer in microhydrated guanine–cytosine base pairs: a new mechanism for spontaneous mutation in DNA. *J. Phys. Chem. A*, v. 113, n. 39, p. 10549-10556, set. 2009.
- [42] ALAM, T. M.; PEARCE, C. J.; JENKINS, J. Ab initio investigation of Sarin microhydration. *Comp. Theor. Chem.*, v. 995, n. 1, p. 24-35, jun. 2012.
- [43] SCHEINER, S. *Hydrogen Bonding: a theoretical perspective*. New York: Oxford University Press, 1997. 400 p.
- [44] HOBZA, P.; HAVLAS, Z.. Blue-shifting hydrogen bonds. *Chem. Rev.*, v. 100, n. 11, p. 4253-4264, sep. 2000.
- [45] VALLEJOS, M. M.; PERUCHENA, N. M. Preferential formation of the different hydrogen bonds and their effects in tetrahydrofuran and tetrahydropyran microhydrated complexes. *J. Phys. Chem. A*, v. 116, n. 16, p. 4199-4210, 2012.
- [46] ALATA, I et al. Microhydration effects on the electronic spectra of protonated polycyclic aromatic hydrocarbons: [naphthalene-(H₂O)_{n=1,2}] H⁺. *J. Chem. Phys.*, v. 134, n. 7, p. 074307-074307, feb. 2011.
- [47] ZUEV, D. et al. Effect of microhydration on the electronic structure of the chromophores of the photoactive yellow and green fluorescent proteins. *J. Chem. Phys.*, v. 135, n. 19, p. 194304-194304, nov. 2011.
- [48] CABALEIRO-LAGO, E. M.; RODRÍGUEZ-OTERO, J.; PEÑA-GALLEGO, Á. Effect of microhydration on the guanidinium benzene interaction. *J. Chem. Phys.*, v. 135, n. 21, p. 214301-214301, dec. 2011
- [49] PLUHAŘOVÁ, E. et al.. Peptide salt bridge stability: from gas phase via microhydration to bulk water simulations. *J. Chem. Phys.*, v. 137, n. 18, p. 185101-185101, 2012
- [50] JIANG, L. et al. Gas-phase vibrational spectroscopy of microhydrated magnesium nitrate ions [MgNO₃ (H₂O)₁₋₄]⁺. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 132, n. 21, p. 7398-7404, 2010
- [51] REJNEK, J. et al. Correlated ab initio study of nucleic acid bases and their tautomers in the gas phase, in a microhydrated environment and in aqueous solution. Part 4. Uracil and thymine. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 7, n. 9, p. 2006-2017, 2005.
- [52] PATEROVÁ, J. et al. Microhydration of the magnesium (II) acetate cation in the gas phase. *J. Phys. Chem. A*, v. 115, n. 25, p. 6813-6819, 2011.

- [53] CHAKRABORTY, S. et al. Infrared and electronic spectra of microhydrated para-dichlorobenzene cluster cations *Chem. Phys. Lett.*, v. 485, n. 1, p. 49–55, 2010.
- [54] JACQUEMIN, D. et al. Comparison of microhydration methods: protonated glycine as a working example. *J. Phys. Chem. B.*, v. 115, n. 13, p. 3604-3613, 16 mar. 2011.
- [55] CHAUDHARI, A.; SAHU, P. K.; LEE, S. L. Many-body interaction in glycine–(water)₃ complex using density functional theory method. *J. Chem. Phys.*, v.120, n.1, p. 170-174, 1 jan. 2004.
- [56] CHAUDHARI, A.; LEE, S. L. Computational study of glycine–(water)₃ complex by density functional method. *Chem. Phys.*, v. 310, n. 1, p. 281-285, nov. 2005.
- [57] CHAUDHARI, A.; LEE, S. L. Density functional study of hydrogen-bonded acetonitrile–water complex. *Inter. J. Quantum Chem.*, v. 102, n.1, p. 106-111, jan. 2005.
- [58] NUGENT, M. L.; ADAMOWICZ, L. Stabilization of the adenine covalent anion by micro-hydration: theoretical study. *Mol. Phys.*, v. 103, n. 11-12, p. 1467-1472, 10-20 jun. 2005.
- [59] BELAU, L. Vacuum-ultraviolet photoionization studies of the microhydration of DNA bases (Guanine, cytosine, adenine, and Thymine). *J. Phys. Chem. A*, v. 111, n. 31, p. 7562-7568, 2007.
- [60] KUMAR, A.; SEVILLA, M. D., SUHAI, S. Microhydration of the guanine-cytosine (GC) base pair in the neutral and anionic radical states: A density functional study. *J. Phys. Chem. B*, v. 112, n. 16, p. 5189-5198, 2008
- [61] KIM, S.; SCHAEFER, H. F. Microhydration of cytosine and its radical anion: Cytosine·(H₂O)_n (n = 1–5). *The Journal of Chemical Physics*, v. 126, n. 6, p. 064301-064301-9, fev. 2007.
- [62] EBATA, T. et al. Hydration profiles of aromatic amino acids: conformations and vibrations of L-phenylalanine–(H₂O)_n clusters. *Phys Chem Chem Phys.*, v. 8, n. 41, p. 4783-4791, set 2006.
- [63] SHISHKIN, O.V. The interaction of the most stable guanine tautomers with water. The structure and properties of monohydrates. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 4, n. 21, p. 5359-5364, set. 2002.
- [64] SICINSKA, D.; PANETH, P.; TRUHLAR, D.G. How well does microsolvation represent macrosolvation? A test case: dynamics of decarboxylation of 4-pyridylacetic acid zwitterions. *J Phys Chem B.*, v. 106, n. 10, p. 2708-2713, 2002.
- [65] ROBERTSON, E.G.; SIMONS, J. P. Getting into shape: conformational and supramolecular landscapes in small biomolecules and their hydrated clusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 3, n. 1., p. 1-18, 2001.

- [66] ZWIER, T.S. Laser spectroscopy of jet-cooled biomolecules and their water-containing clusters: Water bridges and molecular conformation. *J. Phys. Chem. A.* 105, n. 39, p. 8827-8839, 2001.
- [67] BECKE, A. D. Density functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.*, v. 98, n.7, p. 5648-5652, 1 apr. 1993.
- [68] LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colic-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B.*, v. 37, n. 2, p. 785-789, 15 jan. 1988.
- [69] HEHRE, W.J. et al. *Ab Initio Molecular Orbital Theory*. New York: John Wiley, 1986. 548 p.
- [70] DUNNING Junior, T. H. Gaussian basis sets for use incorrelated molecular calculations. I. The atoms baron through neon and hydrogen. *J. Chem. Phys.*, v. 90, n. 2, p. 1007-1023, 1989.
- [71] FRISCH, M. J. et al. *Gaussian 03 Revision E.01*. Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.
- [72] GHOSH, A.; PACHÊCO, V. B.; CHAUDHURI, P. Effect of hydrogen bond formation on the NMR properties of microhydrated ortho-aminobenzoic acid. *Mol. Phys.*, v. 111, n. 3, p. 403-412, 2013.
- [73] PACHÊCO, V. B., CHAUDHURI, P. The effects of microhydration on the electronic properties of ortho-aminobenzoic acid. *J. Phys. Chem. A.*, v. 117, n. 27, p. 5675-5684, jun. 2013.
- [74] HARTREE, D. R. The wave mechanics of an atom with a non-coulomb central field. Part I. Theory and methods. *Proc. Camb. Phil. Soc.*, v. 24, p. 89-110. Part II. Some results and discussion, p. 111-132. Part III. Term values and intensities in series an optical spectra p. 426-437, 1928.
- [75] FOCK, V. Näherungsmethode zur lösung des quantenmechanischen mehrkörperproblems. *Z. Phys.*, v. 61, n. 1, p. 126-148, 1930.
- [76] VIANNA, J. D.; FAZZIO, A.; CANUTO S. *Teoria quântica de moléculas e sólidos: simulação computacional*. São Paulo: Livraria da Física, 2004. 401 p.
- [77] MORGON, N. H.; COUTINHO, K. *Métodos de química teórica e modelagem molecular*. São Paulo: Livraria da Física, 2007. 539 p.
- [78] SZABO A.; OSTLUND, N. S. *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*. New York: Dover Publications, Inc., 1996. 466 p.
- [79] LEVINE, I. N. *Quantum Chemistry*. 5th. ed. New Jersey: Prentice Hall, 2000. 739 p.

- [80] DRUDE, P. Zur elektronentheorie der metalle. *Ann. Phys.*, v. 306, n. 3, p. 566-613, 1900.
- [81] SOMMERFELD, A. Zur Elektronentheorie der Metalle. *Naturwiss.*, v. 15, n. 41, p. 825-832, 1927.
- [82] THOMAS, L. H. The calculation of atomic fields. *Math. Proc. Cam. Phil. Soc.*, v. 23, n. 5, p. 542-548, jan. 1927.
- [83] FERMI, E. Eine statistische methode zur bestimmung einiger eigenschaften des atoms und ihre anwendung auf die theorie des periodischen systems der elemente. *Z. Phys.*, v. 48, n. 1-2, p. 73-79, 1928.
- [84] DIRAC, P. A. M. Quantum mechanics of many-electron systems. *Proc. R. Soc. Lond. A*, v. 123, n. 729, p. 714-733, 6 apr., 1929.
- [85] HOHEMBERG, P.; Kohn, W. Inhomogeneous electron gas. *Phys. Rev*, v. 136, n. 3B, p. 864-871, 9 nov. 1964.
- [86] KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Phys. Rev.*, v. 140, n. 4A, p. 1133-1138, 15 nov. 1965.
- [87] PARR, R.G.; YANG, W. *Density-functional theory of atoms and molecules*. New York: Oxford University Press, 1989. v. 16, 333 p.
- [88] KOCH W.; HOLTHAUSEN, M. C. *A Chemist's guide to Density Functional Theory*. 2nd ed. Weinheim: Willey-VCH, 2001. 293 p.
- [89] TRSIC, M.; PINTO, M. F. S. *Química Quântica: Fundamentos e Aplicações*. 2^a ed. Barueri, SP: Manole Ltda, 2009. 154 p.
- [90] BORN, M.; OPPENHEIMER, J.R. Zur quantentheorie der molekeln, *Ann. Phys.*, v. 84, n. 20, p. 457-484, 1927.
- [91] SLATER, J. C. A simplification of the Hartree-Fock method. *Phys. Rev.*, v. 81, n. 3, p. 385-390, 1951.
- [92] BECKE, A. D. Correlation Energy of an Inhomogeneous Electron Gas. A Coordinate Space Model, *J. Chem. Phys.*, v. 88, n. 2, p. 1053-1062, 1988.
- [93] BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic-behavior, *Phys. Rev. A*, v. 38, n. 6, p. 3098- 3100, 1988.
- [94] PERDEW, J. P. Unified Theory of Exchange and Correlation Beyond the Local Density Approximation. In: P. Ziesche; H. Eschrig. *Electronic Structure of Solids*. Berlin: Akademie Verlag, 1991. v. 11, p. 11-20.

- [95] PERDEW, J. P.; WANG, Y. Accurate and Simple Analytic Representation of the Electron Gas Correlation Energy, *Phys. Rev. B.*, v. 45, n. 23, p. 13244-13249, 15 jun. 1992.
- [96] STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculations of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using SCF, MP2, and Density Functional Theory Force Fields, *J. Phys. Chem.*, v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 10 nov. 1994.
- [97] ROOTHAAN, C. C. J. New developments in molecular orbital theory. *Rev. Mod. Phys.*, v. 23, n. 2, p. 69-89, 1951.
- [98] SLATER, J. C. Atomic shielding constants. *Phys. Rev.*, v. 36, n. 1, p. 57-60, 1930.
- [99] ZENER, C. Analytic atomic wave functions. *Phys. Rev.*, v. 36, n. 1, p. 51-56, 1930.
- [100] BOYS, S. F. The integral formulae for the variational solution of the molecular many-electron wave equation in terms of Gaussian functions with direct electronic correlation. *Proc. R. Soc. Lond. A*, v. 258, n. 1294, p. 402-411, 1960.
- [101] BOYS, S. F. Construction of some molecular orbitals to be approximately invariant for changes from one molecule to another. *Rev. Mod. Phys.*, v. 32, n. 2, p. 296-299, 1960.
- [102] BOYS, S. F.; COOK, G. B. Mathematical problems in the complete quantum predictions of chemical phenomena. *Rev. Mod. Phys.*, v. 32, n. 2, p. 285-295, 1960.
- [103] BINKLEY, J. S.; POPLE, J. A.; HEHRE, W. J. Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 102, n. 3, p. 939-947, 30 jan. 1980.
- [104] GORDON, M. S. et al. Self-consistent molecular-orbital methods. 22. Small split-valence basis sets for second-row elements. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 104, n. 10, p. 2797-2803, 1982.
- [105] PIETRO, W. J. et al. Self-consistent molecular orbital methods. 24. Supplemented small split-valence basis sets for second-row elements. *J. Amer. Chem. Soc.*, v. 104, n. 19, p. 5039-5048, 1982.
- [106] DITCHFIELD, R. H. W. J.; HEHRE, W. J.; POPLE, J. A. Self-consistent molecular-orbital methods. IX. An extended Gaussian-type basis for molecular-orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, v. 54, n. 2, p. 724-728, 15 jan. 1971.
- [107] HEHRE, W. J.; DITCHFIELD R.; POPLE, J. A. Self-consistent molecular orbital methods. XII. Further extensions of Gaussian-type basis sets for use in molecular orbital studies of organic molecules. *J. Chem. Phys.*, v. 56, n. 7, p. 2257-2261, 1 mar. 1972.
- [108] HARIHARAN, P. C.; POPLE, J. A. Accuracy of AH n equilibrium geometries by single determinant molecular orbital theory. *Mol. Phys.*, v. 27, n. 1, p. 209-214, 1974.

- [109] DUNNING Junior., T. H. Gaussian basis functions for use in molecular calculations. I. Contraction of (9s5p) atomic basis sets for the first-row atoms. *J. Chem. Phys.* v. 53, n. 7, p. 2823-2833, 1 oct. 1970.
- [110] WOON, D. E.; DUNNING Junior, T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. III. The atoms aluminum through argon. *J. Chem. Phys.*, v. 98, n. 2, p. 1358-1371, 1993.
- [111] KENDALL, R. A.; DUNNING Junior, T. H.; HARRISON, R. J. Electron affinities of the first-row atoms revisited. Systematic basis sets and wave functions. *J. Chem. Phys.*, v. 96, n. 9, p. 6796-6806, 1992.
- [112] PETERSON, K. A.; WOON, D. E.; DUNNING Junior, T. H. Benchmark calculations with correlated molecular wave functions. IV. The classical barrier height of the $H^+ H_2 \rightarrow H_2^+ H$ reaction. *J. Chem. Phys.*, v. 100, n. 10, p. 7410-7415, 1994.
- [113] STEINER, T.; DESIRAJU, G. R. Distinction between the weak hydrogen bond and the van der Waals interaction. *Chem. Commun*, v. 1, n. 8, p. 891-892, 1998.
- [114] PRIBBLE, R. N. et al. Resonant ion-dip infrared spectroscopy of benzene-H₂O and benzene-HOD. *J. Chem. Phys.*, v. 103, n. 2, p. 531-544, 1995.
- [115] BUCKINGHAM, A. D.; DISCH, R.-L. The quadrupole moment of the carbon dioxide molecule. *Proc. R. Soc. A*, v. 273, n. 1353, p. 275-289, 1963.
- [116] PAVIA, D. L. et al. *Introdução à espectroscopia*. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 700 p.
- [117] ZHOU, N. E. et al. Relationship between amide proton chemical shifts and hydrogen bonding in amphipathic. alpha.-helical peptides. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 114, n. 11, p. 4320-4326, 1992.
- [118] ASAKAWA, N. et al. Hydrogen-bonding effect on carbon-13 NMR chemical shifts of L-alanine residue carbonyl carbons of peptides in the solid state. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 114, n. 9, p. 3261-3265, apr. 1992.
- [119] WISHART, D. S.; SYKES, B. D.; RICHARDS, F. M. Relationship between nuclear magnetic resonance chemical shift and protein secondary structure. *J. Mol. Biol.*, v. 222, n. 2, p. 311-333, 1991.
- [120] SCHEINER, S.; KAR, T.; GU, Y. Strength of the C-H...O hydrogen bond of amino acid residues. *J. Bio. Chem.*, v. 276, n. 13, p. 9832-9837, 2001.
- [121] FILETI, E. E.; CANUTO, S. Ab initio NMR study of the isomeric hydrogen-bonded methanol-water complexes. *Int. J. Quant. Chem.*, v. 102, n. 5, p. 554-564, 2005.

- [122] THOMPSON, M. A. *ArgusLab 4.0.1*: Computational Chemistry Software. Seattle, WA: Planaria Software LLC, 2004.
- [123] DENNINGTON, R.; KEITH, T.; MILLAM, J. *GaussView*, Version 4.1.2, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2006.
- [124] IBĂNESCU, B. C.; ALLAN, M. A Dramatic Difference between the Electron-Driven Dissociation of Alcohols and Ethers and Its Relation to Rydberg States. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 10, n. 34, p. 5232-5237, 2008.
- [125] FAZLON, C. T.; WANG, F. Understanding Glycine Conformation through Molecular Orbitals. *J. Chem. Phys.*, v. 123, n. 1, p. 214307-1–214307-12, 2005.
- [126] IGOR Reva, I.; SIMÃO, A.; FAUSTO, R. Conformational Properties of Trimethyl Phosphate Monomer. *Chem. Phys. Lett.*, v. 406, n. 1, p. 126–136, 2005.
- [127] MOSS, C. L.; TURECEK, F. Protonation Sites in Peptide Dications and Cation-Radicals Containing β -Amino Acid Residues. *Int. J. Mass Spectrom.*, v. 316–318, n. 1, p. 157–67, 2012
- [128] WANG, Y. F.; LI, Z. R. et al. Excess Electron Is Trapped in a Large Single Molecular Cage C60F60. *J. Comput. Chem.*, v. 31, n. 1, p. 195–203, 2010.
- [129] BOYD, S. L.; BOYD, R. J. A Density Functional Study of Methanol Clusters. *J. Chem. Theory Comput.*, v. 3, n. 1, p. 54–61, 2007
- [130] TURI, L.; DANNENBERG, J. J. Correcting for basis set superposition error in aggregates containing more than two molecules: ambiguities in the calculation of the counterpoise correction. *J. Phys. Chem.*, v. 97, n. 11, p. 2488-2490, 1993.
- [131] SIMON, S.; DURAN, M.; DANNENBERG, J. J. How Does Basis Set Superposition Error Change the Potential Surfaces for Hydrogen Bonded Dimers? *Chem. Phys.*, v. 105, n. 1, p. 11024–11031, 1996.
- [132] CHAUDHURI, P.; CANUTO, S. Many-Body Energy Decomposition of Hydrogen-Bonded Glycine Clusters in Gas-Phase. *Chem. Phys. Lett.*, v. 491, n. 1, p. 86–90, mar. 2010.
- [133] RINCÓN, L.; ALMEIDA, R.; GARCÍA-ALDEA, D. Many-Body Energy Decomposition Analysis of Cooperativity in Hydrogen Fluoride Clusters. *Int. J. Quantum Chem.*, v. 102, n. 4, p. 443–453, 2005.
- [134] GUO, H.; KARPLUS, M. Solvent Influence on the Stability of the Peptide Hydrogen Bond: A Supramolecular Cooperative Effect. *J. Phys. Chem.*, v. 98, n. 29 7104–7105, 1994.
- [135] LUDWIG, R.; WEINHOLD, F.; FARRAR, T. C. Theoretical Study of Hydrogen Bonding in Liquid and Gaseous N-Methylformamide. *J. Chem. Phys.*, v. 107, n. 2, p. 499-507, 1997.

- [136] LUDWIG, R. Cooperative Hydrogen Bonding in Amides and Peptides. *J. Mol. Liq.*, v. 84, n. 1, p. 65–75, jan. 2000.
- [137] TAN, H. et al. The Role of Charge Transfer in the Hydrogen Bond Cooperative Effect of cis-N-Methylformamide Oligomers. *J. Phys. Chem. A*, v. 109, n. 28, p. 6303–6308, 21 jul. 2005.
- [138] HYRE, D. E. et al. Cooperative Hydrogen Bond Interactions in the Streptavidin–Biotin System. *Protein Sci.*, v. 15, n. 3, p. 459–467, mar. 2006.
- [139] KHEDKAR, J. K. et al. Hydrogen Bond Energies and Cooperativity in Substituted Calix[n]-arenes ($n = 4, 5$). *J. Phys. Chem. A*, v. 116, n. 14, p. 3739–3744, 2012.
- [140] MOORE Plummer, P. L. Theoretical Study of Hydrogen Bonded Complexes of Ammonia and Hydrogen Cyanide. *J. Phys. Chem. B*, v. 108, n. 51, p. 19582–19588, 2004.
- [141] BOYS, S. F.; BERNARDI, F. The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol. Phys.*, v.100, n. 1, p. 65-73, jun. 1970.
- [142] BUCKINGHAM, A. D. Permanent and induced molecular moments and long-range intermolecular forces. *Adv. Chem. Phys.*, Hoboken, NJ, USA. v. 12, n. 1, p. 107-142, 1967.
- [143] HINCHLIFFE, Alan; SOSCÚN MACHADO, H. J. Density functional studies of molecular polarizabilities.: Part 8. Acenaphthene and acenaphthylene. *Chem. Phys. Lett.*, v. 321, n. 1, p. 151-155, 21 Apr. 2000.
- [144] HERZBERG, G. *Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules*. New York: Van Nostrand Company, 1945. 632 p.
- [145] RISSI, E.; FILETI, E. E.; CANUTO, S. Rayleigh and Raman light scattering in hydrogen-bonded acetonitrile–water. *Theor. Chem. Acc.*, v. 110, n. 6, p. 360-366, 2003.
- [146] BRYANTSEV, V. S.; HAY, B. P. Are CH Groups significant hydrogen bonding sites in anion receptors? Benzene complexes with Cl^- , NO_3^- , and ClO_4^- . *J. Am. Chem. Soc.*, v. 127, n. 23, p. 8282–19588, 2005.
- [147] LEE, C. H. et al. Single side strapping: a new approach to fine tuning the anion recognition properties of Calix[4]pyrroles. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 125, n. 24, p. 7301–7306, 2003.
- [148] WALLACE, K. J. et al. Slow anion exchange, conformational equilibria, and fluorescent sensing in Venus flytrap aminopyridinium-based anion hosts. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 125, n. 32, p. 9699–9715, 2003.
- [149] MERRICK, J. P.; MORAN, D.; RADOM, L. An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors. *J. Phys. Chem. A*, v. 111, n. 45, p. 11683–11700, 2007.

- [150] SHARMA, A. et al. Study of vibrational spectra and molecular structure of intermolecular hydrogen bonded 2-thiohydantoin using density functional theory. *J. Mol. Struct.*, v. 1004, n. 1, p. 237–247, 2011.
- [151] HARRIS, R. K.; JACKSON, P. High-resolution ^1H and ^{13}C NMR of solid 2-aminobenzoic acid. *J. Phys. Chem. Solids*, v. 48, n. 9, p. 813-818, jan. 1987.
- [152] LEVY, G. C. et al. Natural abundance ^{15}N and ^{13}C spectroscopy. aminobenzoic acids, substituted anilines, and related compounds. *J. Magn. Resonance*, v. 29, n. 3, p. 553-562, 1978.
- [153] URRY, D. W.; MITCHELL, L. W.; OHNISHI, T. Carbon-13 magnetic resonance evaluation of polypeptide secondary structure and correlation with proton magnetic resonance studies. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*. v. 71, n. 8, p. 3265-3269, aug. 1974.
- [154] BARTMAN, B.; DEBER, C. M.; BLOUT, E. R. Cyclic peptides. 16. Carbon-13 NMR relaxation studies of complexes between cyclo (L-Pro-Gly) 3 and amino acids. Conformational aspects of stepwise binding. *J. Am. Chem. Soc.*, v. 99, n. 4, p. 1028-1033, 1977.
- [155] LONDON, R. E. et al. ^{13}C and proton nuclear magnetic resonance studies of bradykinin and selected peptide fragments. *Biochem.*, v. 17, n. 12, p. 2270-2277, 1978.
- [156] ASAKURA, T.; KAMIO, M.; NISHIOKA, A. ^1H -and ^{13}C -NMR studies of N-acetyl-L-alanine methylester and N-acetyl-L-alanine methylamide. I. Self-association. *Biopolymers*, v. 18, n. 2, p. 467-477, 1979.
- [157] BERGLUND, B.; CARSON, D.G.; VAUGHAN, R.W. J. The chemical shift tensor for a strongly hydrogen-bonded proton: The carboxylic proton in $\text{KHCH}_2(\text{COO})_2$. *Chem. Phys.* v. 72, n. 2, p. 824-827, jan. 1980.

Apêndice A

Artigo: Effects of microhydration on the electronic proprieties of ortho-aminobenzoic acid. Autores: Vanusa Bezerra Pachêco e Puspitapallab Chaudhuri.

THE JOURNAL OF
PHYSICAL CHEMISTRY A

Article

pubs.acs.org/JPCA

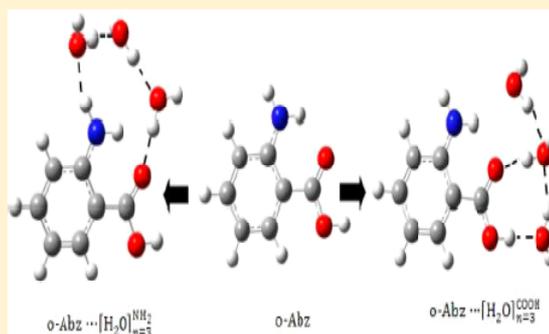
Effects of Microhydration on the Electronic Properties of *ortho*-Aminobenzoic Acid

Vanusa Bezerra Pachêco^{†,‡} and Puspitapallab Chaudhuri^{*,†}

[†]Departamento de Física, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

[‡]Departamento de Física, Universidade Federal do São Carlos (UFSCar), São Paulo, Brazil

ABSTRACT: High-level density functional electronic structure calculations have been performed to analyze the effect of microsolvation with water on the electronic properties of *ortho*-aminobenzoic acid (*o*-Abz). The hydrogen-bonded interaction of the *o*-Abz molecule with one to three water molecules, $o\text{-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n = 1\text{--}3$), has been considered in two different situations, once the solvent water molecules are placed close to the carboxyl ($-\text{COOH}$) group of *o*-Abz producing the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ complexes and when the water molecules are placed close to the amino ($-\text{NH}_2$) group producing the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters. Variation of the vibrational spectra and energetics upon hydrogen-bond formation are analyzed and compared with available experimental data. The effect of cooperativity is also analyzed. Overall, the hydrogen-bonded $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters are found to be more stable than the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters.



1. INTRODUCTION

Recently, there has been a growing interest in studying the electronic and chemical properties of *ortho*-aminobenzoic acid (*o*-Abz), also known as anthranilic acid,^{1–13} known for its important biological and chemical activities and commercial utilities. It is an important constituent of the lenticular pigments present in the eye lenses of humans and certain diurnally active animals.¹⁴ The presence of *o*-Abz has recently been related to the hypertension of diabetic patients¹⁵ and periodontal disease in orthodontic appliances.¹⁶ It has long been discovered that *o*-Abz serves as an intermediate in the biosynthetic pathway to form the essential amino acid tryptophan and its derivatives.^{17,18} A series of recent elegant experiments with steady-state and time-resolved fluorescence spectroscopy^{3,6,12,13,19,20} that explored the natural fluorescence, small size, and high quantum yield of *o*-Abz has renewed the interest in this molecule. Because of its small size and structure comparable to natural amino acids, it can be inserted within a peptide structure without significant structural perturbation and can be used conveniently as an efficient extrinsic fluorescent probe to monitor the peptide binding to lipids and as a protease assay in internally quenched fluorescent peptides.^{12,13,19,20} The fluorescence behavior of *o*-Abz was found to depend on the polarity of the solvent as well as on the amino acid to which it is bound.^{3,6} The use of different polarity scales had shown that Bronsted acid solvent promotes hydrogen-bond formation involving both amino and carboxyl groups, causing large effects in the wavelengths of absorption and emission of *o*-Abz, which predominate over the general solvent effects.³ Recently performed combined experimental and theoretical studies^{7,9–11} reveal some interesting features of *o*-Abz. The IR–UV hole burning experiments accompanied by the fluorescence-dip

infrared spectroscopy of bare *o*-Abz in a supersonic jet⁹ indicates a possible molecular geometry change via an intramolecular hydrogen atom dislocation between the carboxyl and amino group as *o*-Abz goes from the ground (S_0) to the excited (S_1) state. Dimers of *o*-Abz were also investigated in the supersonic jet,¹¹ and it was shown that electronic excitation localizes on one of the monomeric units, as a consequence of the large geometry change associated with the excited state of anthranilic acid. Resonant ion-dip infrared spectroscopy¹⁰ was used to further extend this investigation to microhydrated *o*-Abz. The measured IR spectra of the *o*-Abz–H₂O complex jointly with DFT calculations established that the water binds between the carbonyl oxygen and the acid hydrogen, and the bound single water molecule has little effect on the hydrogen atom dislocation.¹⁰ Later, two-color resonantly enhanced multiphoton ionization spectroscopy⁷ was employed to study the spectroscopic properties of the hydrogen-bonded complexes of *o*-Abz and water, *o*-Abz⋯(H₂O)_{0–2}, in a supersonically cooled environment. It was concluded that the carboxyl group of the *o*-Abz is the preferred site for the water molecules to form hydrogen bonding. Recently, the influence of the amino group positioned toward the carboxylic group on the vibration structure of *o*-Abz was studied through experimental FT-IR, FT-Raman, and NMR spectra of the molecule.⁸

Compared to several experimental investigations,^{21–25} very few theoretical studies have been performed on *o*-Abz. Recently, high-level ab initio methods (second-order Møller–Plesset perturbation theory) have been used to analyze the

Received: April 2, 2013

Revised: June 8, 2013

Published: June 11, 2013

electronic structure and vibrational spectra of the *o*-Abz in the gas phase as well as in aqueous solution using a polarized continuum model.² Earlier, apart from an application of the CNDO/2 method to study the proton-transfer energy,²⁶ the AM1 semiempirical method was used for a detailed theoretical study on the structure and spectra of *o*-Abz in the gas phase.²⁷ The ab initio Hartree–Fock (HF) and configuration interaction of singly excited configurations (CIS) as well as the time-dependent density functional theory (TD-DFT) methods have been utilized to evaluate the geometry change of the *o*-Abz upon excitation.⁴ Very recently, we have studied the effect of microsolvation on the NMR parameters of *o*-Abz.¹ The recent experimental studies,^{7–11} however, include some theoretical calculations for comparison purpose, usually with DFT methods.

The presence of the carboxyl (–COOH) and amino (–NH₂) groups makes *o*-Abz offer multiple sites for hydrogen bonding with water or other solvent molecules and act simultaneously as a proton acceptor and a proton donor. Theoretical and experimental studies of microsolvated biomolecules (amino acids, nucleic acids, DNA base pairs) and organic chromophores like *o*-Abz that offer competitive multiple hydrogen-bonding sites constitute an active area of research. The importance of such studies lies not only in the fundamental nature of hydrogen bonding itself but also in the understanding of the role of the solvent on the structural and biochemical changes in the solute and the solute–solvent system, in general. As a solvent, water draws much attention as it is the most natural medium for biological molecules and has important impact on their molecular structure.^{28–32} Also, many gas-phase processes involve microsolvation, where water molecules affect the reactivity and structure of the biomolecules by electrostatic interactions.³³ Therefore, theoretical investigations considering explicit interaction between the solute and a few solvent molecules in the gas phase are important, although the major parts of the experimental works are performed in the condensed phase. It can provide microscopic models to understand the nature of a variety of solute–solvent interactions that exist due to hydrogen-bond formation.

Keeping pace with the current scenario, we investigate in the present work the hydrogen-bonded interaction of the *o*-Abz molecule with one to three water molecules, *o*-Abz⋯(H₂O)_{1–3}, positioned at different hydrogen-bonding sites using high-level density functional methods. As per the literature,^{2,27} *o*-Abz in the gas phase possesses two conformations (rotamers). The main structural difference between them is a 180° rotation of the –COOH group. Out of the two *o*-Abz conformations, the one that possesses the lower electronic energy (called conformation I hereafter) is around 2.45 kcal/mol more stable than the higher-energy conformation (conformation II). We have considered conformation I for the present work. We start our investigation by putting one water molecule strategically first at the carboxyl group (COOH) site and then at the amino group (NH₂) site so that a hydrogen-bonded interaction is obtained to provide stabilization to the resulting *o*-Abz–H₂O cluster. Afterward, we gradually increase the number of water molecules to three.

2. COMPUTATIONAL METHOD

Fully unconstrained geometry optimizations are performed for the *o*-Abz molecule in the gas phase using the DFT B3LYP functional (three-parameter hybrid exchange functional of Becke with the Lee–Yang–Parr correlation functional)^{34,35}

with two different basis sets, (i) 6-31++G(d,p) and (ii) aug-cc-pVDZ. The basis for *o*-Abz consists of 232 and 293 contracted Gaussian-type functions at the 6-31++G(d,p) and aug-cc-pVDZ levels, respectively. Geometry optimization is followed by frequency calculation in both models to calculate the harmonic vibration modes of the molecule and also to ensure the global minimum of the stationary points. Later, the effect of microhydration on the structure and vibrational spectra is investigated by putting the water molecules strategically at the hydrogen-bonding sites of *o*-Abz and reoptimizing the cluster geometry. Both geometry optimization and frequency calculations are performed independently for microhydration with one, two, and three water molecules. All calculations are performed using the Gaussian03 suite of program.³⁶ Construction of the initial structures and postcalculation analysis of structures and vibrational properties are done with molecular structure visualization software, ArgusLab³⁷ and Gaussview 4.1.³⁸

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.a. Cluster Structure. Figure 1 shows the B3LYP/aug-cc-pVDZ gas-phase optimized structures of conformation I of the

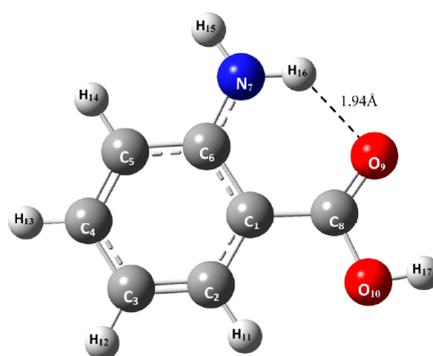


Figure 1. Equilibrium structure of *o*-Abz optimized by B3LYP/aug-cc-pVDZ in the gas phase. The intramolecular N₇–H₁₆ O₉ hydrogen bond is identified by the dashed line.

o-Abz molecule. Each atom of the molecule is properly labeled. The intramolecular H-bond is represented by the dotted line. In Figure 2a, we present the hydrogen-bonded *o*-Abz–water complexes when the water molecules are placed near the carboxyl (–COOH) group of *o*-Abz, abbreviated as *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*}^{COOH} (*n* = 1–3) henceforth, while Figure 2b shows the same complexes with the water molecules placed close to the amino (–NH₂) group, abbreviated as *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*}^{NH₂} (*n* = 1–3).

In Table 1, we present some relevant structural parameters for these two different conformations of the hydrogen-bonded *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*} clusters, calculated with the B3LYP exchange–correlation functional utilizing two different basis sets. Comparing the bond lengths and bond angles, we can observe the effects of microhydration on the molecular structure of *o*-Abz. When a single water molecule is placed near the –COOH group and then close to the NH₂ group, the resulting 1:1 *o*-Abz–water complexes are stabilized by the formation of two hydrogen bonds as both water and *o*-Abz act as a simultaneous proton donor and acceptor. In the case of the optimized *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*}^{COOH} geometry, the water molecule places itself

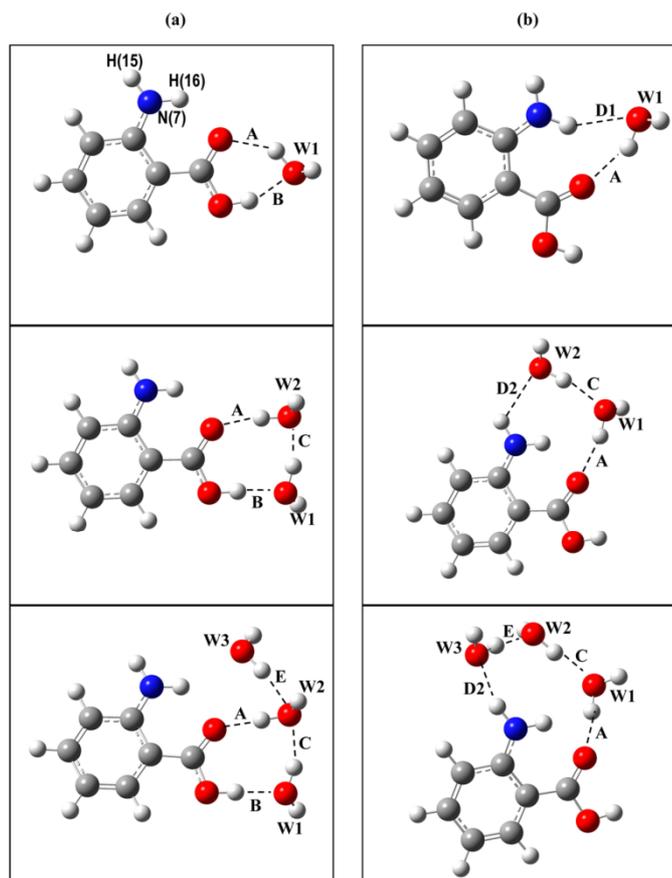


Figure 2. Equilibrium structure of the several *o*-Abz–water clusters optimized by B3LYP/aug-cc-pVDZ in the gas phase. The intermolecular hydrogen bonds are identified by dashed line and labeled with capital letters (A, B, C, etc.) in order to facilitate the identification of the corresponding bond length and angle in Table 1.

almost symmetrically between the O–H and the C=O bonds of the COOH group so that the two resulting H-bonds, [(O–H)_{*o*-Abz}⋯O_{water}] and [(O–H)_{water}⋯O_{*o*-Abz}] become almost equal in size. However, in the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{NH₂}, the situation is a bit different. The hydrophilic character of the amino group that contains a lone pair of electrons cannot really get hold of a single water molecule when it is placed close to it. The high electron density of the carboxyl group wins the race by pulling the water molecule toward itself, and the system gets stabilization with the single water molecule being settled in the middle of the C=O bond of the COOH group and the N–H bond of the NH₂ group that is closer to the C=O bond, as can be seen from Figure 1b. Unlike the *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{COOH} geometry, the two H-bonds formed in the case of the *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{NH₂} complex are not as symmetric. These intermolecular arrangement of 1:1 *o*-Abz–water complexes via hydrogen bonding has already been observed earlier in a B3LYP/6-31+G* calculation,¹⁰ where the position of the water molecule in *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{COOH} and *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{NH₂} is termed pocket 1 and pocket 2, respectively. Moreover, the N–H⋯O intramolecular H-bond of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{NH₂} (2.07 Å at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level) is slightly more elongated than that of the *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{COOH} (1.93 Å at the same level

of calculation). In an isolated *o*-Abz, this intramolecular H-bond length is also 1.93 Å.

When a second water molecule is added to the 1:1 complex, the optimized 1:2 complexes show the same behavior/structural feature, albeit the number of H-bonds formed to give stabilization is three in these cases as one H-bond is formed between the two water molecules. In *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=2}^{COOH}, the first water molecule continues to interact with the O–H bond of the COOH group of *o*-Abz as a proton acceptor but stops to interact directly with the C=O group. The second water molecule plays this role as a proton donor to the C=O group of *o*-Abz. In the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=2}^{NH₂}, the first water molecules continues to be in the same position, while the second water finds itself centrally to the NH₂ group. The elongation of the intramolecular N–H⋯O H-bond is less in the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=2}^{NH₂} as compared to that in the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=1}^{NH₂}. The H-bond between the two water molecules is also longer in the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=2}^{NH₂} (1.90 Å at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level) compared to that of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=2}^{COOH} (1.75 Å). The case of 1:3 clusters is slightly different as in the case of *o*-Abz⋯[H₂O]_{*n*=3}^{COOH}; out of the three water molecules, two are placed parallel to the COOH group, forming a cyclic network of three O–H⋯O H-bonds. The two

Table 1. Some Relevant Structural Parameters of the the Hydrogen-Bonded *o*-Abz–Water Clusters Calculated Using Two Different Theoretical Models^a

	<i>n</i> = 1		<i>n</i> = 2		<i>n</i> = 3	
	model 1	model 2	model 1	model 2	model 1	model 2
Water Molecules Close to the COOH Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: <i>o</i> -Abz...[H ₂ O] _{<i>n</i>} ^{COOH}						
C=O (Å)	1.24	1.24	1.25	1.24	1.24	1.24
C–O (Å)	1.34	1.34	1.33	1.33	1.33	1.34
Δ <i>R</i> _{O–H} (×10 ^{–2})	1.86	1.85	3.14	2.95	2.45	2.44
<i>R</i> _{O...H} (Å)	1.94 (A)	1.92	1.78 (A)	1.78	1.64 (A)	1.66
	1.79 (B)	1.79	1.66 (B)	1.68	1.73 (B)	1.73
			1.74 (C)	1.75	1.85 (C)	1.85
					2.06 (E)	2.10
∠O...H–O	138.1 (A)	141.5	168.5 (A)	170.0	169.8 (A)	171.9
	158.1 (B)	158.4	175.1 (B)	174.4	176.4 (B)	177.5
			157.9 (C)	159.5	154.7 (C)	156.5
					156.9 (E)	157.1
ESE (au ³)	2.13	2.14	2.95	2.95	3.54	3.57
ΔESE (au ³)	0.73	0.73	1.55	1.55	2.14	2.17
Water Molecules Close to the NH ₂ Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: <i>o</i> -Abz...[H ₂ O] _{<i>n</i>} ^{NH₂}						
Δ <i>R</i> _{N–H(15)} (Å)	–1.4 × 10 ^{–3}	–2.2 × 10 ^{–3}	–4.8 × 10 ^{–3}	–5.2 × 10 ^{–3}	–3.5 × 10 ^{–3}	–4.1 × 10 ^{–3}
Δ <i>R</i> _{N–H(16)} (Å)	8.0 × 10 ^{–4}	6.0 × 10 ^{–4}	2.5 × 10 ^{–3}	1.5 × 10 ^{–3}	1.2 × 10 ^{–2}	9.2 × 10 ^{–3}
<i>R</i> _{O...H} (Å)	1.99 (A)	1.97	1.92 (A)	1.92	1.85 (A)	1.85
	2.23 (D1)	2.31	2.44 (D2)	2.46	1.95 (D2)	1.96
			1.87 (C)	1.90	1.79 (C)	1.80
					1.79 (E)	1.80
∠O...H–O	145.1	149.6	165.4 (A)	163.3	172.9 (A)	172.1
∠N–H...O	155.3	155.3	110.9 (D2)	112.1	156.5 (D2)	157.5
			169.2 (C)	170.3	179.6 (C)	179.2
					172.6 (E)	173.0
ESE (au ³)	2.08	2.09	2.81	2.87	3.54	3.58
ΔESE (au ³)	0.67	0.69	1.40	1.46	2.14	2.18

^aModel 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Model 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

H-bonds formed between the two water molecules and the –COOH group of *o*-Abz, as shown in Figure 2a, are of the same length (1.7 Å), while the bond formed between two water molecules is slightly higher (1.85 Å). The third water molecule of the 1:3 complex gets settled in between the COOH and NH₂ group after optimization, forming a standard O–H...O H-bond of 2.1 Å with the second water molecule. Furthermore, there might exist a weak interaction between the N–H bond of the amino group that is looking directly toward the oxygen of the third water molecule. The distance between the hydrogen atom of this N–H bond and the oxygen of water is observed to be 2.61 Å at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level. In general, in the optimized 1:3 complexes, the three water molecules are organized more or less in the same fashion. Thus, in the case of the optimized *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{NH₂} complex, two water molecules are found close to the NH₂ group, the third one remaining in between the NH₂ and COOH group, while in the case of *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH}, two water molecules are close to the COOH group, and the third one is in between the NH₂ and COOH group, as can be verified in Figure 2a and b.

Surveying the calculated results for the geometry of the *o*-Abz monomer and the *o*-Abz...[H₂O]_{*n*} clusters, we observe minor changes in the monomer geometry due to cluster formation. For example, the maximum change in the C=O bond length is an elongation of 0.016 Å for *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH}. On the other hand, the C–O bond length gets shortened upon complexation with water, and the maximum shortening of 0.031 Å occurs again for the *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} cluster. The C=O and C–O bond lengths for the isolated *o*-Abz molecules are 1.23 and 1.36

Å, respectively, at both levels of calculation. The maximum change of the O–H bond length for the same cluster is an elongation of 0.032 Å. The structural parameters (bond lengths and bond angles) of the monomer *o*-Abz suffer either a gradual increase or gradual decrease as we go from monomer *o*-Abz to dimer *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} to trimer *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH}. However, in the case of the *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} cluster, the variations occur in the opposite direction. Thus, at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation, for example, the C=O bond length increases from 1.228 to 1.241 to 1.243 Å as we go from the *o*-Abz monomer to *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} to *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH}, but it decreases to 1.242 Å when we reach the *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} cluster. The C–H–O angle of the COOH group, in the same fashion, increases from 106.1 (monomer) to 108.6 (dimer) to 112.7° (trimer) and then decreases to 110.4 for tetramer *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH}. In fact, both the C–H–O and O=C–O angles increase gradually from the monomer to trimer and then decrease. As a result, the intramolecular O–H...O H-bond also presents the same kind of variation.

As far as the intermolecular hydrogen-bonded interactions are concerned, the COOH group of *o*-Abz directly forms two H-bonds, one through the proton-acceptor C=O bond (labeled A in Figure 2) and another through the proton-donor O–H bond (labeled B in Figure 2) when the water molecules are placed near this group. These two H-bonds show a different nature of variations. At the B3LYP/aug-cc-pVDZ level, the hydrogen bond B (O–H...O) decreases from 1.79 Å for dimer *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} to 1.68 Å for trimer *o*-Abz...[H₂O]_{*n*}^{COOH} and then increases to 1.73 Å for tetramer

Table 2. Some Relevant Parameters^a Related to the Binding Energy (in kcal/mol) and Cooperativity Effect Calculated Using Two Different Theoretical Models^b

	$n = 1$		$n = 2$		$n = 3$	
	model 1	model 2	model 1	model 2	model 1	model 2
	Water Molecules Close to the COOH Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$					
ΔE_N^{HB}	-10.45	-9.24	-22.58	-19.70	-27.34	-23.67
$\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$	-5.23	-4.62	-7.53	-6.57	-6.83	-5.92
ΔE_N^{CP}	-9.47	-8.75	-20.16	-18.73	-24.14	-22.15
$\Delta E_N^{\text{CP+ZPE}}$	-4.38	-4.14	-15.07	-14.12	-32.40	-30.8
$\Delta E_N^{\text{RELAX}}$	0.78	0.75	2.56	2.31	2.54	2.22
ΔE_N^{CE}			-4.26	-4.45	-3.69	-3.84
	Water Molecules Close to the NH ₂ Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$					
ΔE_N^{HB}	-5.29	-4.67	-14.50	-12.43	-26.70	-22.70
$\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$	-2.64	-2.34	-4.83	-4.14	-6.68	-5.68
ΔE_N^{CP}	-4.59	-4.16	-12.70	-11.37	-23.34	-21.30
$\Delta E_N^{\text{CP+ZPE}}$	-0.30	-0.13	-8.41	-7.34	-32.41	-30.60
$\Delta E_N^{\text{RELAX}}$	0.55	0.45	0.72	0.51	1.28	1.12
ΔE_N^{CE}			-1.43	-1.60	-4.74	-5.23

^a ΔE_N^{HB} denotes the binding energy of the hydrogen-bonded clusters containing N monomers; ΔE_N^{CP} and $\Delta E_N^{\text{CP+ZPE}}$ denote the binding energy with corrections for basis set superposition error without and with zero-point energy correction, respectively, $\Delta E_N^{\text{RELAX}}$ denotes the total relaxation energy of the clusters, ΔE_N^{CE} denotes the cooperative interaction energy of the clusters, and $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ denotes the binding energy per hydrogen bond. ^bModel 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Model 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

$o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$. On the other hand, at the same level of calculation, the hydrogen bond A (C=O \cdots H-O) decreases all the way as we go from the dimer (1.92 Å) to the trimer (1.78 Å) and finally to the tetramer (1.66 Å). When the water molecules are closer to the NH₂ group, this proton-acceptor hydrogen bond A (C=O \cdots H-O) continues to exist, showing the same pattern of a gradual decrease in length with an increase in the cluster size. Besides, we now have the direct interaction between the N-H bonds of the amino group of *o*-Abz and the oxygen of water. For $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, we observe one N-H \cdots O hydrogen bond of 2.23 Å (2.31 Å) at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation, where only the N-H bond that is closer to the C=O bond takes part. We label this N-H \cdots O hydrogen bond as D1 in Figure 2b. For $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$, this D1 H-bond gets further elongated to 2.79 Å (2.63 Å), while the other N-H bond of NH₂ forms a different and stronger N-H \cdots O hydrogen bond, labeled as D2, of 2.44 Å (2.46 Å) with the second water molecule at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level, as illustrated in Figure 2b. In the case of $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, on the other hand, this later N-H bond of NH₂ forms an even stronger N-H \cdots O hydrogen bond of 1.95 Å (1.96 Å) with the third water molecule, while the other N-H \cdots O distance (with the N-H bond closer to the C=O bond) becomes 2.96 Å (2.86 Å) at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculations.

Table 1 also reports the changes in the electronic spatial extent (ESE) due to the increase in the size of the clusters. The ESE characterizes the electron density volume around the cluster.^{39–43} The ESEs for the free *o*-Abz molecule and free water molecule in the gas phase are calculated as 1.39 and 0.02 au³ at both levels of calculation, B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ. With the increase of monomers in the clusters, it is expected that ESE will increase, which will be reflected in the increase of polarizability. This ESE difference, denoted by ΔESE ,³⁹ is calculated for the *o*-Abz–water complexes as

$$\Delta\text{ESE} = \text{ESE}_{o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n} - [\text{ESE}_{o\text{-Abz}} + \text{ESE}_{\text{water}}]$$

As can be seen from Table 1, ΔESE increases linearly with the increase of the cluster size. The absolute values of the ESE and the increase ΔESE are very similar in both models of calculation and for both kinds of complex, $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ and $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ ($n = 1–3$).

3.b. Cluster Energy, Stabilization, and Cooperativity.

The binding energy, without and with counterpoise correction and zero-point vibrational energy (ZPE), the relaxation energy, and the cooperative effect for each *o*-Abz–water cluster are reported in Table 2 for both levels of calculations. The binding energies, ΔE_N^{HB} are calculated in the usual fashion by subtracting the sum of the constituent monomer energies from the energy of the respective cluster

$$\Delta E_N^{\text{HB}} = E_N^{\text{HB}}(N) - \sum_N^{i=1} E_i$$

where $E_N^{\text{HB}}(N)$ are E_i represent the energy of the cluster with N monomers and the energy of the i th isolated monomer, respectively.

The correction for the basis set superposition error is considered in the present work following a modified version of the counterpoise correction method⁴⁴ prescribed by Turi and Dannenberg⁴⁵

$$\Delta E_N^{\text{CP}} = E_N^{\text{CP}}(N) - \sum_N^{i=1} E_i(i)$$

where

$$\begin{aligned} E_N^{\text{CP}}(N) &= E_N^{\text{HB}}(N) + \Delta E_{\text{BSSE}}^{\text{CP}} \\ &= E_N^{\text{HB}}(N) + \sum_i [E_i^N(i) - E_i^N(N)] \end{aligned}$$

In the above equation, $E_i^N(i)$ denotes the energy of the i th monomer at the specific geometry that it acquired while optimizing the cluster. $E_i^N(N)$ is the energy of the same monomer calculated at the same specific geometry but with the basis set of the whole cluster, placing “ghost orbitals” on other monomers.

The relaxation energy, which is a measure of the degree of distortion that the constituent molecules of the cluster pass through to form the stable hydrogen-bonded structure, is obtained by taking the difference between the monomer energy having fixed geometry within the cluster, $E_i^N(i)$, and the energy of the isolated monomer, E_i

$$\Delta E_N^{\text{RELAX}} = \sum_n^{i=1} [E_i^N(i) - E_i]$$

It is understood that the relaxation energy is a part of the binding energy, ΔE_N^{HB} .^{46,47}

Correction due to ZPE is considered as an additive term on the counterpoise-corrected binding energy

$$\Delta E_N^{\text{CP+ZPE}} = \Delta E_N^{\text{CP}} + \Delta E_N^{\text{ZPE}}$$

The cooperativity effect, the increase in stability that can be attributed to nonadditive effects of having multiple hydrogen bonds in the cluster, has been widely discussed for hydrogen-bonded biomolecular systems in recent years.^{48–53} In Table 2, we also report calculated values for the cooperative interaction energy adopting different ways of calculation. First, we measure the cooperativity, calculating the average energy of the hydrogen bonds in the cluster, $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle = (\Delta E_N^{\text{HB}}/n_{\text{HB}})$, where n_{HB} is the number of hydrogen bonds present in the cluster. Out of the several X–H...Y (X,Y = O or N) type interactions found present among the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ clusters, we have considered only those to be hydrogen-bonded ones, where the H...Y distance lies in between the range of 1.6–2.4 Å. Following this criterion, we have observed two, three, and four hydrogen-bonded interactions in dimer, trimer, and tetramer, respectively. The average energy of the hydrogen bonds, $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ varies with the increase of cluster size. Thus, according to Table 2, as we go from the 1:1 to 1:2 $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ cluster, $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ changes from -5.23 (-4.62) to -7.53 (-6.57) kcal/mol, an increase of 38% (42%) in bond strength at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation, which is clearly evidence of cooperative action. However, as we move to the tetramer 1:3 cluster, $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ decreases slightly with respect to that of the 1:2 cluster at both levels of calculation, indicating weakening of the cluster strength. In the case of $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, however, we observe a different picture. Cooperativity increases negligibly as we go from the 1:1 to 1:2 cluster, but it increases $\sim 130\%$ as we move forward to the 1:3 cluster.

The cooperative effect can also be defined as^{54,55}

$$\Delta E_N^{\text{CE}} = \Delta E_N^{\text{CP}} - \sum \Delta E_2^{\text{CP}}$$

where $\sum \Delta E_2^{\text{CP}}$ denotes the sum over all dimer energies present within the cluster, each one corrected for basis set superposition error by the Boys and Bernardi method. As we can see from Table 2, the effect of cooperativity measured by ΔE_N^{CE} is quite significant for clusters with $N > 2$. For the trimer (1:2 complex) and tetramer (1:3 complex) of $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, it accounts for ~ 19 (23%) and 13% (16%) of the hydrogen-bonding energy, ΔE_N^{HB} (column 1 of Table 1), respectively, at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation. In the case of $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, however, it accounts for $\sim 10\%$ (13%) of ΔE_N^{HB} for the 1:2 complex and 18% (23%) of ΔE_N^{HB} for the 1:3 complex. Thus, we observe a decrease in cooperativity for the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ system but an increase in cooperativity for $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ as we go

from the 1:2 to 1:3 cluster, which is consistent with the earlier observation of cooperativity through $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$.

Another widely used measurement of cooperativity is the variation of the O–H bond length ($\Delta R_{\text{O-H}}$) of the donor group and the H-bond lengths ($R_{\text{O}\cdots\text{H}}$) of the cluster with the increase in cluster size. Both of these parameters are included in Table 1, and the variations are also consistent with the nature of the cooperativity of the $o\text{-Abz}$ –water systems observed through variations of $\langle \Delta E_N^{\text{HB}} \rangle$ and ΔE_N^{CE} . The O–H bond length of $o\text{-Abz}$ increases in all cases as it forms hydrogen-bonded clusters with water. However, the maximum increase is observed in $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$. For $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, $\Delta R_{\text{O-H}}$ is smaller than that of $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$. However, in this case, the O–H bond length increases linearly with the increase of cluster size at both the B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP//aug-cc-pVDZ levels of calculations.

3.c. Electric Properties. In Table 3, we report the calculated dipole moment and polarizability of the two different

Table 3. Calculated Values of the Dipole Moments (in Debye) and Polarizability (in \AA^3) of the Isolated $o\text{-Abz}$ Molecule ($n = 0$) and Hydrogen-Bonded $o\text{-Abz}$ –Water Complexes Calculated Using Two Different Theoretical Models^a

		$n=0$ ($o\text{-Abz}$)	$n = 1$	$n = 2$	$n = 3$
Water Molecules Close to the COOH Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$					
μ	model 1	1.35	2.07	1.73	1.87
	model 2	1.29	2.14	1.66	1.61
$\bar{\alpha}$	model 1	99.95	110.10	120.07	129.93
	model 2	104.99	116.50	127.56	138.43
Water Molecules Close to The NH ₂ Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$					
μ	model 1	1.35	1.14	1.35	1.73
	model 2	1.29	1.33	0.88	1.60
$\bar{\alpha}$	model 1	99.95	110.06	129.93	130.34
	model 2	104.99	116.36	138.43	138.59

^aModel 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Model 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

conformations of the hydrogen-bonded $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ clusters, $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ and $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ ($n = 1-3$). The dipole moments of isolated $o\text{-Abz}$ and water molecules are 1.35 (1.29 D) and 2.19 D (1.85 D), respectively, at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation. With gradual addition of the water molecule, the dipole moment of the $o\text{-Abz}$ –H₂O clusters suffers variations. However, the nature of variation in $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ is different from that $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, as can be seen from the table. Upon complex formation with water molecules, the dipole moment of the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ system gets reduced significantly when compared to the precomplex formation total dipole moment (sum of the dipole moments of free water and the $o\text{-Abz}$ molecule). The polarizabilities of the complex, however, increase linearly with the addition of each water molecule around $o\text{-Abz}$ in $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters. In the case of the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters, however, the variation of polarization signals saturation when we go from $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$ to $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$.

3.d. Vibrational Spectra. $o\text{-Abz}$ possesses 45 normal modes of IR-active vibrations. The vibrational spectra of $o\text{-Abz}$, according to the theoretical calculations, is divided in two distinct spectral regions. The region of 50–1800 cm^{-1} is

Table 4. High-Frequency Stretching Modes of Isolated *o*-Abz in the Gas Phase Calculated Using Two Different Theoretical Models^a

	expt ref	model 1		MP2 basis 1 ^b ref 2	model 2		MP2 basis 2 ^b ref 2	assignment
		unscaled	scaled		unscaled	scaled		
1	3038	3174	3063	3047	3166	3074	3078	C–H stretch
2	3063	3191	3080	3065	3183	3091	3097	C–H stretch
3	3057	3209	3096	3080	3200	3107	3113	C–H stretch
4	3076	3229	3116	3098	3221	3128	3130	C–H stretch
5	3381	3557	3433	3396	3537	3435	3416	NH ₂ sym str.
6	3546	3728	3598	3531	3712	3604	3565	NH ₂ assym str.
7	3592	3772	3640	3567	3759	3650	3605	O–H stretch

^aModel 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Model 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ along with other theoretical and experimental results.¹¹ All frequencies are expressed in the units of cm⁻¹. ^bBasis 1: 6-31++G(d,p); Basis 2: aug-cc-pVDZ.

Table 5. Frequency Shifts ($\Delta\nu$) Relative to That in the Isolated *o*-Abz (in cm⁻¹) of Some Characteristic Stretching Vibrational Mode Complexes Calculated Using Two Different Theoretical Models^a

	assignment	$\Delta\nu(n=1)$		$\Delta\nu(n=2)$		$\Delta\nu(n=3)$		
		model 1	model 2	model 1	model 2	model 1	model 2	
Water Molecules Close to the COOH Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: <i>o</i> -Abz...[H ₂ O] _n ^{COOH}								
1	C–H stretch	-1.1	-0.8	-1.4	-1.2	-1.8	-2.2	
2	C–H stretch	-0.6	-0.3	-0.9	-0.9	-1.7	-1.6	
3	C–H stretch	-0.2	0.1	-0.5	-0.4	-1.4	-1	
4	C–H stretch	1.9	2.4	2.6	3	-1.9	-1.4	
5	NH ₂ sym	1.8	8.2	5.4	13	6.5	17	
6	NH ₂ assym	-5.3	2.9	-7.5	-0.7	-9.9	-4.6	
7	O–H stretch	-157.6	-184.6	-635.9	-596.3	-518.9	-509.0	
						-459.7	-443.4	
Water Molecules Close to the NH ₂ Group of <i>ortho</i> -Aminobenzoic Acid: <i>o</i> -Abz...[H ₂ O] _n ^{NH₂}								
1	C–H stretch	0.1	0.4	5.3	4.4	7.4	6.1	
2	C–H stretch	0.1	0.5	3.0	2.9	7.1	6.3	
3	C–H stretch	0.7	1.0	0.4	0.7	-0.4	-0.2	
4	C–H stretch	2.9	3.4	1.2	2.6	0.5	1.3	
5	NH ₂ sym	33.4	41.0	52.1	51.0	-108.9	-94.4	
					58.6	-73.6	-61.5	
6	NH ₂ assym	-2.6	2.7	5.5	10.0	-54.4	-47.8	
7	O–H stretch	3.4	3.5	1.5	4.3	3.6	4.7	

^aModel 1: B3LYP/6-31++G(d,p); Model 2: B3LYP/aug-cc-pVDZ.

densely populated with 38 vibrational modes of different kinds. The second region of 3000–4000 cm⁻¹ contains seven fundamentals, all of which are stretching modes of vibration. Detailed discussions on the gas-phase harmonic vibrational frequencies of *o*-Abz, both at the theoretical and experimental levels, are already available in the literature.^{2,7–11,27} In the present case, because our interest is to investigate the effect of microhydration on the vibrational spectra, we focus our attention only on the 3000–4000 cm⁻¹ IR spectral region as this region exclusively contains all of the important C–H, N–H, and O–H stretching modes that actively participate in the solute–solvent interactions. Because of the presence of the carboxyl, –COOH, and amino, –NH₂, groups, *o*-Abz can act simultaneously as a proton acceptor and a proton donor in an aqueous medium to form hydrogen bonds, and the O–H and N–H stretching modes are particularly sensitive to the structural and dynamical properties of H-bonds. The aryl C–H groups are also capable of forming hydrogen bonds with anions.^{56–58} In Table 4, we report the seven stretching frequencies pertaining to this region calculated by DFT methods used in the present work and compare them with other theoretical and experimental values.¹¹

The calculated results of the vibrational frequencies at the B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ basis sets are scaled by a factor of 0.965 and 0.971, respectively, in order to account for the anharmonicity of the vibrational potential energy surface and environmental effects. These scale factors are chosen from the work of Merrick et al.⁵⁹ The theoretical MP2 results using the 6-31++G(d,p) and aug-cc-pVDZ basis sets were scaled by factors of 0.941 and 0.964, respectively.² As can be seen from Table 4, both MP2 and B3LYP calculations overestimate the wavenumbers of vibrational modes even after scaling. Although B3LYP results are quite similar to those generated by MP2, the latter agrees slightly better with experiments. Among the two models, however, the model 1 B3LYP/6-31++G(d,p) performs better against the model 2 B3LYP/aug-cc-pVDZ. The assignments are carried out by the analysis of the vibrational modes with the GaussView 4.1 molecular visualization program.³⁸

Next, we discuss the effect of microhydration on vibrational spectra of *o*-Abz. Because the solute molecule offers multiple hydrogen-bonding sites due to the presence of both COOH and NH₂ groups, we divide our investigation in two separate processes, as stated before. First, we add the solvent water molecule sequentially at the COOH site and then repeat the

same process at the NH_2 site and analyze the hydrogen-bonding characteristics of these two sites.

In Table 5, we present the frequency shifts suffered by the vibrational stretching modes of *o*-Abz above 3000 cm^{-1} due to the H-bond formation between *o*-Abz and water molecules in the microhydrated environment. We have included only the frequency shifts for the economy of space. Considering the characteristic decrease of X–H infrared stretching frequency (red shift), with X being an element like N, O, or F with an electronegativity greater than hydrogen, as the signature of the hydrogen-bond formation,⁶⁰ we can infer from Table 5 that the 1:1 *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$ complex is stabilized by a strong hydrogen bonding between the single water molecule and the –COOH group of *o*-Abz. When the second water molecule is added closer to the COOH site, we observe a much stronger hydrogen-bonded complex, and the red shift of the O–H stretching mode of the *o*-Abz molecule ($\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$) increases significantly from -157.6 (-184.6) cm^{-1} for *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$ to -635.9 (-596.3) cm^{-1} for the 1:2 *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$ complex at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation. When the third water molecule is added closer to the COOH site, the red shift of the $\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$ decreases slightly as compared to the former case of the 1:2 complex, which is consistent with the variation of other properties, as seen in earlier sections. Moreover, in the case of this 1:3 *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$ complex, we observe two different IR-active vibrational frequencies (3253.4 and 3312.6 cm^{-1} at the B3LYP/6-31++G(d,p) level and 3250.2 and 3315 cm^{-1} at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation) for the $\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$, which might occur due to the intermolecular vibrational relaxation accelerated by the increased number of H-bond formations between the water molecules and the COOH group for *o*-Abz. However, the intensity of vibration of the O–H stretching mode at the higher wavenumber is over 10 times more intense than that at the lower wavenumber. Furthermore, at the same wavenumbers, the particular water molecule that forms the O–H \cdots O H-bond with the oxygen of C=O of *o*-Abz also possesses O–H stretching vibrational modes ($\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$). However, at lower wavenumber (3253.4 cm^{-1} at the B3LYP/6-31++G(d,p) level, for example), the displacement vectors of these two O–H stretching modes, $\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$ and $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}$ point in opposite directions, while those at higher wavenumbers point in the same direction. As far as the other stretching modes are concerned, the aromatic C–H stretching modes suffer insignificant frequency shifts, as expected. Among the N–H stretch modes, while the symmetric N–H stretching mode undergoes a tiny blue shift, the asymmetric mode shows a tiny red shift, showing that these groups have little or no participation in the hydrogen-bond formation when the water molecules are placed closer to the COOH site of *o*-Abz.

In the next step, when the water molecules are placed closer to the NH_2 group of *o*-Abz, the aromatic C–H stretching modes, as usual, show almost no variations in the characteristic vibrational wavenumbers, and the $\nu_{\text{O-H}}^{\text{Abz}}$ shows tiny blue shifts vibrating with very similar intensity in all cases of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, $n = 1, 2,$ and 3 . However, the N–H stretching modes show clear dependence on the nature of interaction. The asymmetric NH_2 stretching ($\nu_{\text{NH}_2}^{\text{as}}$) shows small red shifts of 54.4 and 47.8 cm^{-1} at the B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ levels, respectively, only for the *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$ complex. In case of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, we observe a prominent NH_2 symmetric stretching ($\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$) at the wave-

number of 3590.6 cm^{-1} (3578.4 cm^{-1}) at the B3LYP/6-31++G(d,p) (B3LYP/aug-cc-pVDZ) level of calculation, where the two N–H bonds perform stretching vibration in a symmetric, synchronized, and equivalent way. Thus, the $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$ mode of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$ shows small blue shifts of 33.4 and 41 cm^{-1} when compared to that of isolated *o*-Abz at the B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ levels of calculation, respectively. In the case of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{NH}_2}$, we observe a basis set dependence. While the B3LYP/6-31++G(d,p) calculation predicts a single wavenumber of 3609.3 cm^{-1} for $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$, a blue shift of 51.2 cm^{-1} , with the same behavior of the individual N–H bonds as that seen in the case of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{NH}_2}$, the B3LYP/aug-cc-pVDZ calculation assigns two wavenumbers, 3588.4 and 3596 cm^{-1} , each of which represents a combination of $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$ of *o*-Abz and $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}2)$, the O–H stretching mode of the second water molecule (W2). However, at 3588.4 cm^{-1} , the $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}2)$ vibration is more intense, while at 3596 cm^{-1} , the $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$ vibration is more intense than that of the $\nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}$. Finally, as we go to *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, we observe a different behavior of the N–H stretching modes. We again have two distinct wavenumbers (3443 and 3475.9 cm^{-1} , for example, at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation), each of which represents a combination of three stretching modes, $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}} + \nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}2) + \nu_{\text{O-H}}^{\text{H}_2\text{O}}(\text{W}3)$. However, due to higher intermolecular interaction due to the presence of a third water molecule (W3) close to the NH_2 group, the two N–H bonds ($\text{N}_7\text{--H}_{15}$ and $\text{N}_7\text{--H}_{16}$) start vibrating independently although symmetrically as the displacement vectors of the two bonds move in the same direction. Analyzing the structure of *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$, we notice that the W3 forms a strong hydrogen bond with a $\text{N}(7)\text{--H}(16)$ bond that is directed toward its oxygen atom ($\text{O}_{\text{W}3}$), the distance between $\text{H}(16)$ and $\text{O}_{\text{W}3}$ being 1.96 \AA . The distance between the $\text{H}(15)$ of other $\text{N}_7\text{--H}_{15}$ bond and the oxygen atoms of W2 and W1 are much higher. This stronger hydrogen bonding between $\text{H}(19)$ and $\text{O}_{\text{W}3}$ makes the $\text{N}(7)\text{--H}(16)$ bond vibrate with higher intensity than the $\text{N}_7\text{--H}_{15}$ bond at both wavenumbers with a red shift of 94.4 and 61.5 cm^{-1} with respect to the isolated *o*-Abz. At the B3LYP/6-31++G(d,p) level, these red shifts of $\nu_{\text{NH}_2}^{\text{s}}$ amount to 108.9 and 73.6 cm^{-1} , as can be seen from Table 5.

4. CONCLUSIONS

High-level density functional electronic structure calculations have been performed with large enough basis sets to analyze, in detail, the effect of microhydration on the geometrical structure, electronic properties, and vibrational spectra of the lowest-energy conformation of *o*-Abz in the gas phase. The hydrogen-bonded interaction of the *o*-Abz molecule with one to three water molecules, *o*-Abz $\cdots(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n = 1\text{--}3$), has been considered. Two different theoretical quantum chemical models B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ have been used for optimization of geometry and other electronic properties for the monomer *o*-Abz and the respective *o*-Abz–water clusters. The structural and spectroscopic parameters calculated in both models are in good agreement with experiments and other high-level theoretical calculations. Two different conformations of the hydrogen-bonded *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ clusters, depending on the positioning of the water molecules around *o*-Abz, have been considered. Once the water molecules are placed near the carboxyl (–COOH) group of *o*-Abz producing the *o*-Abz $\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ complexes and then

when the water molecules are placed close to the amino ($-\text{NH}_2$) group producing the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters. The positioning of the water molecules around $o\text{-Abz}$ and the intermolecular hydrogen-bond formation pattern in the optimized geometries in the two different $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n$ complexes show significant differences. Comparison of the properties between the isolated $o\text{-Abz}$ and different conformations of microhydrated $o\text{-Abz}$ clusters reveals that with gradual addition of water molecules, the binding energy of the complex increases gradually for both $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ and $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters. However, cooperativity shows a different nature in different clusters in the case of the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$, the trimer, $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$, shows maximum cooperativity, while for $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, the cooperative interaction increases with a gradual increase of cluster size. The cooperative effect has been estimated using several different methods. All methods give consistent results. As far as the binding energy is considered, for $n = 1$ (dimer) and $n = 2$ (trimer), $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters are energetically more stable than the corresponding $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters. However, for $n = 3$, both $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$ and $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{NH}_2}$ have very similar binding energies. A detailed analysis of the microhydration on the vibrational spectra is also done. In all cases above the wavenumber of 3000 cm^{-1} , the act of microsolvation with water at the carboxyl ($-\text{COOH}$) group of $o\text{-Abz}$ inflicts a red shift of varying degree on the vibrational frequencies. The $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=2}^{\text{COOH}}$ complex, however, shows a maximum red shift compared to $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=1}^{\text{COOH}}$ and $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_{n=3}^{\text{COOH}}$ complexes, which is consistent with the behavior of the cooperative effect for the system. For $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$, both the red shift and blue shift are observed upon microsolvation. Overall, the hydrogen-bonded $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{COOH}}$ clusters are found to be more stable than the $o\text{-Abz}\cdots[\text{H}_2\text{O}]_n^{\text{NH}_2}$ clusters.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*E-mail: puspito@gmail.com. Tel: +55-92-33052829.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the Brazilian agencies Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support. The work is also supported in part by the research network NBioNet sponsored by Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERENCES

- (1) Ghosh, A.; Pachêco, V. B.; Chaudhuri, P. Effect of Hydrogen Bond Formation on the NMR Properties of Microhydrated ortho-Aminobenzoic Acid. *Mol. Phys.* **2013**, *111*, 403–412.
- (2) Maciel, B. C. M.; Chaudhuri, P. An Ab Initio Quantum Chemical Characterization of Structure and Vibrational Spectra of Anthranilic Acid. *Int. J. Quantum Chem.* **2011**, *111*, 1709–1718.
- (3) Takara, M.; Eisenhut, J. K.; Hirata, I. Y.; Juliano, L.; Ito, A. S. Solvent Effects in Optical Spectra of ortho-Aminobenzoic Acid Derivatives. *J. Fluoresc.* **2009**, *19*, 1053–1060.
- (4) Leśniewski, S.; Kołek, P.; Pirowska, K.; Sobolewski, A. L.; Najbar, J. Franck-Condon Analysis of Laser-Induced Fluorescence Excitation Spectrum of Anthranilic Acid: Evaluation of Geometry Change upon $S \rightarrow S$ Excitation. *J. Chem. Phys.* **2009**, *130*, 054307/1–054307/14.
- (5) Burnette, R. R.; Weinhold, F. Determination of the Conformation of 2-Hydroxy- and 2-Aminobenzoic Acid Dimers Using ^{13}C NMR and Density Functional Theory/Natural Bond Order Analysis: The Central Importance of the Carboxylic Acid Carbon. *J. Phys. Chem. A* **2006**, *110*, 8832–8839.
- (6) Takara, M.; Ito, A. S. General and Specific Solvent Effects in Optical Spectra of ortho-Aminobenzoic Acid. *J. Fluoresc.* **2005**, *15*, 171–177.
- (7) He, Y.; Wu, C.; Kong, W. Theoretical and Experimental Studies of Water Complexes of *p*- and *o*-Aminobenzoic Acid. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 2809–2815.
- (8) Samsonowicz, M.; Hrynaskiewicz, T.; Świsłocka, R.; Regulska, E.; Lewandowski, W. Experimental and Theoretical IR, Raman, NMR Spectra of 2-, 3- and 4-Aminobenzoic Acids. *J. Mol. Struct.* **2005**, *744*, 345–352.
- (9) Southern, C. A.; Levy, D. H.; Stearns, J. A.; Florio, G. M.; Longarte, A.; Zwier, T. S. Spectroscopic Consequences of Localized Electronic Excitation in Anthranilic Acid Dimer. *J. Phys. Chem. A* **2004**, *4599*–4609.
- (10) Stearns, J. A.; Das, A.; Zwier, T. S. Hydrogen Atom Dislocation in the Excited State of Anthranilic Acid: Probing the Carbonyl Stretch Fundamental and the Effects of Water Complexation. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 2605–2610.
- (11) Southern, C. A.; Levy, D. H.; Florio, G. M.; Longarte, A.; Zwier, T. S. Electronic and Infrared Spectroscopy of Anthranilic Acid in a Supersonic Jet. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 4032–4040.
- (12) Turchiello, R. F.; Lamy-Freund, M. T.; Hirata, I. Y.; Juliano, L.; Ito, A. S. Ortho-Aminobenzoic Acid-Labeled Bradykinins in Interaction with Lipid Vesicles: Fluorescence Study. *Biopolymers* **2002**, *65*, 336–346.
- (13) Ito, A. S.; de Souza, E. S.; Barbosa, S. R.; Nakaie, C. R. Fluorescence Study of Conformational Properties of Melanotropins Labeled with Aminobenzoic Acid. *Biophys. J.* **2001**, *81*, 1180–1189.
- (14) Nie, S.; Castillo, C. G.; Bergbauer, K. L.; Kuck, J. F. R.; Nabiev, I. R.; Yu, N.-T. Surface Enhanced Raman Spectra of Eye Lens Pigments. *Appl. Spectrosc.* **1990**, *44*, 571–575.
- (15) Buczko, P.; Stokowska, W.; Górska, M.; Kucharewicz, L.; Pawlak, D.; Buczko, W. Tryptophan Metabolites via Kynurenine Pathway in Saliva of Diabetic Patients. *Dent. Med. Probl.* **2006**, *43*, 21–25.
- (16) Tankiewicz, A.; Buczko, P.; Szarmach, I. J.; Kasacka, L.; Pawlak, D. The Concentration of Anthranilic Acid in Saliva of Orthodontic Appliances. *Adv. Med. Sci.* **2006**, *51*, 31–33.
- (17) Trudinger, P. A. The Synthesis of Indole from Anthranilic Acid by *Escherichia coli*. *Biochem. J.* **1956**, *62*, 480–488.
- (18) Kutáček, M.; Eder, J.; Kbfeli, V. I.; Vacková, K.; Langer, I.; Procházka, S. L-Tryptophan Synthesis from ^{14}C -Anthranilic Acid in Plants with High and Low Tryptophan Content. *Biologia Plantarum* **1978**, *20*, 34–46.
- (19) Turchiello, R. F.; Lamy-Freund, M. T.; Hirata, I. Y.; Juliano, L.; Ito, A. S. Ortho-Aminobenzoic Acid As a Fluorescent Probe for the Interaction between Peptides and Micelles. *Biophys. Chem.* **1998**, *73*, 217–225.
- (20) Ito, A. S.; Turchiello, R. D. F.; Hirata, I. Y.; Cezari, M. H. S.; Meldal, M.; Juliano, L. Fluorescent Properties of Amino Acids Labeled with Ortho Aminobenzoic Acid. *Biospectroscopy* **1998**, *4*, 395–402.
- (21) Brown, C. J. The Crystal Structure of Anthranilic Acid. *Proc. R. Soc. London, Ser. A* **1968**, *302*, 185–199.
- (22) Boone, C. D. G.; Derissen, J. L.; Schoone, J. C. Anthranilic Acid II (*o*-Aminobenzoic Acid). *Acta Crystallogr., Sect. B* **1977**, *33*, 3205–3206.
- (23) Brown, C. J.; Ehrenberg, M. Anthranilic Acid, $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$, by Neutron Diffraction. *Acta Crystallogr., Sect. C* **1985**, *41*, 441–443.
- (24) Sánchez de La Blanca, E.; Núñez, J. L.; Martínez, P. Vibrational Spectra of Some *O*-Substituted Benzoic Acid Derivatives. *J. Mol. Struct.* **1986**, *142*, 45–48.

- (25) Suh, J. S.; Moskovits, M. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy of Amino Acids and Nucleotide Bases Adsorbed on Silver. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 4711–4718.
- (26) Voogd, J.; Derissen, J. L.; Duijneveldt, F. B. Calculation of Proton-Transfer Energies and Electrostatic Lattice Energies of Various Amino Acids and Peptides Using CNDO/2 and Ab Initio SCF Methods. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 7701–7706.
- (27) Palafox, M. A.; Gil, M.; Núñez, J. L. Structure and Spectral Characteristics of *o*-Aminobenzoic Acid by AM1. *Vib. Spectrosc.* **1993**, *6*, 95–105.
- (28) Zwier, T. S. Laser Spectroscopy of Jet-Cooled Biomolecules and Their Water-Containing Clusters: Water Bridges and Molecular Conformation. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8827–8839.
- (29) Robertson, E. G.; Simons, J. P. Getting into Shape: Conformational and Supramolecular Landscapes in Small Biomolecules and Their Hydrated Clusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2001**, *3*, 1–8.
- (30) Sicinska, D.; Paneth, P.; Truhlar, D. G. How Well Does Microsolvation Represent Macrosolvation? A Test Case: Dynamics of Decarboxylation of 4-Pyridylacetic Acid Zwitterions. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 2708–2713.
- (31) Shishkin, O. V.; Sukhanov, O. S.; Gorb, L.; Leszczynski, J. The Interaction of the Most Stable Guanine Tautomers with Water. The Structure and Properties of Monohydrates. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2002**, *4*, 5359–5364.
- (32) Ebata, T.; Hashimoto, T.; Ito, T.; Inokuchi, Y.; Altunso, F.; Brutschy, B.; Tarakeshwar, P. Hydration Profiles of Aromatic Amino Acids: Conformations and Vibrations of *L*-Phenylalanine-(H₂O)_n Clusters. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 4783–4791.
- (33) Brondsted, N. S.; Andersen, L. H. Properties of Microsolvated Ions: From the Microenvironment of Chromophore and Alkali Metal Ions in Proteins to Negative Ions in Water Clusters. *Biophys. Chem.* **2006**, *124*, 229–237.
- (34) Becke, A. D. Density Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652.
- (35) Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. Development of the Colle–Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B* **1988**, *37*, 785–789.
- (36) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Montgomery, J. A., Jr.; Vreven, T.; Kudin, K. N.; Burant, J. C.; Millam, J. M.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J. E.; Hratchian, H. P.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Ayala, P. Y.; Morokuma, K.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Zakrzewski, V. G.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Strain, M. C.; Farkas, O.; Malick, D. K.; Rabuck, A. D.; Raghavachari, K.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cui, Q.; Baboul, A. G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B. B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R. L.; Fox, D. J.; Keith, T.; Al-Laham, M. A.; Peng, C. Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P. M. W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M. W.; Gonzalez, C.; Pople, J. A. *Gaussian 03*, revision E.01; Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, 2004.
- (37) Thompson, M. A. *ArgusLab 4.0.1*, Computational Chemistry Software; Planaria Software LLC: Seattle, WA, 2004.
- (38) Dennington, R.; Keith, T.; Millam, J. *GaussView*, version 4.1.2; Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS, 2006.
- (39) Ibănescu, B. C.; Allan, M. A Dramatic Difference between the Electron-Driven Dissociation of Alcohols and Ethers and Its Relation to Rydberg States. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 5232–5237.
- (40) Fazlon, C. T.; Wang, F. Understanding Glycine Conformation through Molecular Orbitals. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 214307/1–214307/12.
- (41) Igor Reva, I.; Simão, A.; Fausto, R. Conformational Properties of Trimethyl Phosphate Monomer. *Chem. Phys. Lett.* **2005**, *406*, 126–136.
- (42) Moss, C. L.; Turecek, F. Protonation Sites in Peptide Dications and Cation-Radicals Containing β -Amino Acid Residues. *Int. J. Mass Spectrom.* **2012**, *316–318*, 57–67.
- (43) Wang, Y.-F.; Li, Z.-R.; Wu, D.; Sun, C.-C.; Gu, F.-L. Excess Electron Is Trapped in a Large Single Molecular Cage C₆₀F₆₀. *J. Comput. Chem.* **2010**, *31*, 195–203.
- (44) Boyd, S. L.; Boyd, R. J. A Density Functional Study of Methanol Clusters. *J. Chem. Theory Comput.* **2007**, *3*, 54–61.
- (45) Simon, S.; Duran, M.; Dannenberg, J. J. How Does Basis Set Superposition Error Change the Potential Surfaces for Hydrogen Bonded Dimers? *Chem. Phys.* **1996**, *105*, 1024–11031.
- (46) Chaudhuri, P.; Canuto, S. Many-Body Energy Decomposition of Hydrogen-Bonded Glycine Clusters in Gas-Phase. *Chem. Phys. Lett.* **2010**, *491*, 86–90.
- (47) Rincón, L.; Almeida, R.; García-Aldea, D. Many-Body Energy Decomposition Analysis of Cooperativity in Hydrogen Fluoride Clusters. *Int. J. Quantum Chem.* **2005**, *102*, 443–453.
- (48) Guo, H.; Karplus, M. Solvent Influence on the Stability of the Peptide Hydrogen Bond: A Supramolecular Cooperative Effect. *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 7104–7105.
- (49) Ludwig, R.; Weinhold, F.; Farrar, T. C. Theoretical Study of Hydrogen Bonding in Liquid and Gaseous *N*-Methylformamide. *J. Chem. Phys.* **1997**, *107*, 499.
- (50) Ludwig, R. Cooperative Hydrogen Bonding in Amides and Peptides. *J. Mol. Liquids* **2000**, *84*, 65–75.
- (51) Tan, H.; Qu, W.; Chen, G.; Liu, R. The Role of Charge Transfer in the Hydrogen Bond Cooperative Effect of *cis*-*N*-Methylformamide Oligomers. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 6303–6308.
- (52) Hyre, D. E.; Trong, I. L.; Merritt, E. A.; Eccleston, J. F.; Green, N. M.; Stenkamp, R. E.; Stayton, P. S. Cooperative Hydrogen Bond Interactions in the Streptavidin–Biotin System. *Protein Sci.* **2006**, *15*, 459–467.
- (53) Khedkar, J. K.; Deshmukh, M. M.; Gadre, S. R.; Gejji, S. P. Hydrogen Bond Energies and Cooperativity in Substituted Calix[*n*]-arenes (*n* = 4,5). *J. Phys. Chem. A* **2012**, *109*, 6303–6308.
- (54) Scheiner, S. *Hydrogen Bonding: A Theoretical Perspective*; Oxford University Press: New York, 1997.
- (55) Moore Plummer, P. L. Theoretical Study of Hydrogen Bonded Complexes of Ammonia and Hydrogen Cyanide. *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 19582–19588.
- (56) Bryantsev, V. S.; Hay, B. P. Are CH Groups Significant Hydrogen Bonding Sites in Anion Receptors? Benzene Complexes with Cl⁻, NO₃⁻, and ClO₄⁻. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8282–19588.
- (57) Lee, C. H.; Na, H.-K.; Yoon, D.-W.; Won, D.-H.; Cho, W.-S.; Lynch, V. M.; Schevchuk, S. V.; Sessler, J. L. Single Side Strapping: A New Approach to Fine Tuning the Anion Recognition Properties of Calix[4]pyrroles. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7301–7306.
- (58) Wallace, K. J.; Belcher, W. J.; Turner, D. R.; Syed, K. F.; Steed, J. W. Slow Anion Exchange, Conformational Equilibria, and Fluorescent Sensing in Venus Flytrap Aminopyridinium-Based Anion Hosts. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9699–9715.
- (59) Merrick, J. P.; Moran, D.; Radom, L. An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors. *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 11683–11700.
- (60) Sharma, A.; Gupta, V.; Mishra, R.; Tandon, P.; Maeda, S.; Kunimoto, K. K. Study of Vibrational Spectra and Molecular Structure of Intermolecular Hydrogen Bonded 2-Thiohydantoin Using Density Functional Theory. *J. Mol. Struct.* **2011**, *1004*, 237–247.

Apêndice B

Artigo: Effect of hydrogen bond formation on the NMR properties of microhydrated ortho-aminobenzoic acid.

Autores: Angsula Ghosh, Vanusa Bezerra Pachêco e Puspitapallab Chaudhuri.

Molecular Physics, 2013

Vol. 111, No. 3, 403–412, <http://dx.doi.org/10.1080/00268976.2012.726380>



RESEARCH ARTICLE

Effect of hydrogen bond formation on the NMR properties of microhydrated ortho-aminobenzoic acid

Angsula Ghosh^a, Vanusa Bezerra Pachêco^{ab} and Puspitapallab Chaudhuri^{a*}

^a*Departamento da Física, Universidade Federal do Amazonas, 69077-000 Manaus, AM, Brazil;* ^b*Departamento de Física, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo 13565-905, Brazil*

(Received 24 July 2012; final version received 23 August 2012)

The influence of the hydrogen bond formation on the nuclear magnetic resonance parameters has been investigated in the case of microhydrated ortho-aminobenzoic acid (o-Abz) in the gas-phase. DFT-B3LYP/aug-cc-pVDZ predicted ¹H and ¹³C isotropic chemical shifts with respect to TMS of the isolated o-Abz are in reasonable agreement with available experimental data. The isotropic and anisotropic chemical shifts for all atoms of o-Abz within the o-Abz⋯(H₂O)₁₋₃ complexes have been calculated at the Hartree–Fock, and density functional (B3LYP) theoretical levels using the 6-31++G(2d,2p) and aug-cc-pVDZ basis sets and considering the counterpoise corrections for the basis set superposition errors. The chemical shift values of the carboxyl group atoms of microhydrated o-Abz relative to isolated o-abz do not show significant basis set dependence. Both the hydrogen and carbon atoms constituting the carboxyl group of o-Abz suffer downfield shift due to formation of hydrogen bond with water. The length of hydrogen bond formed between o-Abz and water is found to vary with the number of water molecules present around o-Abz. A direct correlation between the hydrogen bond length and isotropic chemical shift of the bridging hydrogen is observed for both C=O⋯H-O and O-H⋯O interactions.

Keywords: ortho-Aminobenzoic acid; NMR; Chemical shift; hydrogen bond; microhydration

1. Introduction

The hydrogen bond has long been a subject of active experimental and theoretical research as it plays a key role in forming stable conformations of biomolecular structures like polypeptides, proteins and clusters [1–10]. Various spectroscopic methods have been developed in recent decades, which are being used widely to study the nature of the hydrogen bonds in molecular systems. Infrared (IR) and Raman spectroscopic methods are used to observe the influence of hydrogen bonding on characteristic molecular vibrations. High resolution NMR spectroscopy, on the other hand, allows direct study of the hydrogen-bonded protons. It is one of the most powerful tools for obtaining useful information about details of the hydrogen bond [11–15]. In recent years, analysis of hydrogen-bond formation through microsolvation technique by applying quantum chemical methods has also gained a lot of acceptance in the scientific community [16–26]. In microsolvation, a small defined number of solvent molecules are placed strategically around the hydrogen bond forming sites. In many cases these hydrogen bonded interactions with solvent can produce large variations in the chemical and

structural properties of the solute molecule. In this respect, microhydration (microsolvation with water molecules) of biomolecules draws special attention because water is the natural medium for biological molecules and has an important impact on their molecular structure and chemical properties. Also, many gas phase processes involve microsolvation where water molecules affect the reactivity and structure of the biomolecules through electrostatic interactions. So, it is equally important to characterize the microhydration process of amino acids and related biomolecules in solution as well as in the gas phase.

Ortho-aminobenzoic acid (o-Abz), or anthranilic acid, is an organic molecule with important commercial use, especially in the production of dyes and pigments and manufacture of saccharin. Due to its intense fluorescence activity, small size and high quantum yield [27–31], it has been widely used as a convenient fluorescence probe in internally quenched fluorescent peptides. The simultaneous presence of the carboxyl, $-\text{COOH}$ and amino, $-\text{NH}_2$ groups permits o-Abz to offer multiple sites for hydrogen bonding with water or other solvent molecules and it can act simultaneously as a proton acceptor and a proton donor.

There are several experimental studies on the crystal structure and spectra [32–38] of o-Abz. Some chemical and biochemical activities of the molecule has also been investigated in detail [27–44]. Ito and his collaborators [27–30] have performed detailed investigations on the dependence of the fluorescence behavior of o-Abz labelled amino acids and o-Abz derivatives on the solvent environment that surrounds it and also on the nature of the amino acids and peptides to which it is bound while acting biochemically. Their studies on the dependence of the spectral properties of pure o-Abz in organic solvents [31] revealed that the absorption and emission properties reflect the internal electronic changes of the molecule suffered due to the solute-solvent interactions. Levy and his collaborators [39,40], on the other hand, investigated the intrinsic photo-physical behavior of anthranilic acid monomer and dimer studying the electronic and infrared spectroscopy of the molecule in the isolated environment of a supersonic expansion. He *et al.* [41] studied the spectroscopic properties of the hydrogen-bonded complexes of o-Abz and water, o-Abz \cdots (H₂O)₀₋₂ by two-colour resonantly enhanced multiphoton ionization spectroscopy. Samsonowicz *et al.* [42] studied the influence of amino group position towards the carboxylic group on the vibration structure of o-Abz through experimental FT-IR, FT-Raman and NMR spectra of the molecule. Much earlier, Levy *et al.* [43] studied experimentally the ¹³C and ¹⁵N spin-lattice relaxation and chemical shifts for o-Abz, while Harris and Jackson [44] measured a solid-state ¹H and ¹³C NMR parameters for three different crystalline modifications of o-Abz. Recently, Burnette and Weinhold [45] performed a combined experimental and theoretical investigation to determine the preferential molecular rotamer of o-Abz analyzing the chemical shift of carbonyl carbon when o-Abz forms dimer with formic acid.

In comparison with the number of experimental studies on o-Abz, there exist very few theoretical studies [46–49] with detailed analysis of the structure and spectral characteristics. Palafox *et al.* [47] performed a detailed theoretical study on the structure and spectra o-Abz in gas phase using the AM1 semi-empirical method. Leśniewski *et al.* [48] have used the *ab initio* Hartree-Fock (HF) and configuration interaction of singly excited configurations as well as the time-dependent density functional theory to evaluate the geometry change of the o-Abz upon excitation. Very recently, Maciel and Chaudhuri [49] used high-level *ab initio* methods (second-order Moller-Plesset perturbation theory) to analyze the electronic structure and vibrational spectra of the o-Abz in gas phase as well as in aqueous solution using polarized-continuum model.

The recent experimental studies [39–42], however, include some theoretical calculations for comparison purpose, usually with DFT methods.

In the present work, we study the effect of microsolvation with water on the NMR properties of o-Abz in gas phase. Nuclear magnetic resonance frequencies have been considered to be an effective tool to monitor the presence of hydrogen bonds [12–14]. We report here the results of chemical shielding and chemical shift calculations performed by HF and DFT methods with extended basis sets.

2. Computational method

Fully unconstrained geometry optimizations are performed for the isolated o-Abz as well as for the microhydrated o-Abz molecule with up to three water molecules, o-Abz \cdots (H₂O)_{*n*}, (*n* = 1–3) in gas phase using the Hartree-Fock method with Pople type [50], 6-31++G(d,p) basis set and the gradient corrected B3LYP combination of density functionals with two different basis sets: (i) 6-31++G(d,p) and (ii) the Dunning correlation consistent, aug-cc-pVDZ [51]. Geometry optimization for each system is followed by frequency calculation in all models to calculate the harmonic vibration modes of the molecule and also to assure the global minimum of the stationary points. Finally the NMR parameters are calculated for isolated o-Abz and the corresponding microhydrated complexes using the gauge-including atomic orbital (GIAO) method in three different ways. First, we use the HF/6-31++G(2d,2p) model to calculate the chemical shielding (σ) and chemical shift (δ) for all atoms of each system using the corresponding HF/6-31++G(d,p) optimized geometry, abbreviated as HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) henceforth. Similarly, within the DFT method, NMR parameters are calculated at the B3LYP/6-31++G(2d,2p) level using B3LYP/6-31++G(d,p) geometry of each system, which will be abbreviated from now on as B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p). Lastly, we calculate the same parameters applying B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation on the geometries optimized at the same level. These basis sets are generally accepted as sufficient to predict fairly accurate structural and spectroscopic parameters of medium-sized molecules. The chemical shift calculations are corrected for the basis set superposition error (BSSE) using the Boys and Bernardi counterpoise method [52].

The chemical shielding parameters are calculated as the mixed second derivative of the energy with respect to magnetic moment of the nucleus and the strength of the applied magnetic field. The isotropic (δ^{iso}) and

There are several experimental studies on the crystal structure and spectra [32–38] of o-Abz. Some chemical and biochemical activities of the molecule has also been investigated in detail [27–44]. Ito and his collaborators [27–30] have performed detailed investigations on the dependence of the fluorescence behavior of o-Abz labelled amino acids and o-Abz derivatives on the solvent environment that surrounds it and also on the nature of the amino acids and peptides to which it is bound while acting biochemically. Their studies on the dependence of the spectral properties of pure o-Abz in organic solvents [31] revealed that the absorption and emission properties reflect the internal electronic changes of the molecule suffered due to the solute-solvent interactions. Levy and his collaborators [39,40], on the other hand, investigated the intrinsic photo-physical behavior of anthranilic acid monomer and dimer studying the electronic and infrared spectroscopy of the molecule in the isolated environment of a supersonic expansion. He *et al.* [41] studied the spectroscopic properties of the hydrogen-bonded complexes of o-Abz and water, o-Abz \cdots (H₂O)₀₋₂ by two-colour resonantly enhanced multiphoton ionization spectroscopy. Samsonowicz *et al.* [42] studied the influence of amino group position towards the carboxylic group on the vibration structure of o-Abz through experimental FT-IR, FT-Raman and NMR spectra of the molecule. Much earlier, Levy *et al.* [43] studied experimentally the ¹³C and ¹⁵N spin-lattice relaxation and chemical shifts for o-Abz, while Harris and Jackson [44] measured a solid-state ¹H and ¹³C NMR parameters for three different crystalline modifications of o-Abz. Recently, Burnette and Weinhold [45] performed a combined experimental and theoretical investigation to determine the preferential molecular rotamer of o-Abz analyzing the chemical shift of carbonyl carbon when o-Abz forms dimer with formic acid.

In comparison with the number of experimental studies on o-Abz, there exist very few theoretical studies [46–49] with detailed analysis of the structure and spectral characteristics. Palafox *et al.* [47] performed a detailed theoretical study on the structure and spectra o-Abz in gas phase using the AM1 semi-empirical method. Leśniewski *et al.* [48] have used the *ab initio* Hartree-Fock (HF) and configuration interaction of singly excited configurations as well as the time-dependent density functional theory to evaluate the geometry change of the o-Abz upon excitation. Very recently, Maciel and Chaudhuri [49] used high-level *ab initio* methods (second-order Moller-Plesset perturbation theory) to analyze the electronic structure and vibrational spectra of the o-Abz in gas phase as well as in aqueous solution using polarized-continuum model.

The recent experimental studies [39–42], however, include some theoretical calculations for comparison purpose, usually with DFT methods.

In the present work, we study the effect of microsolvation with water on the NMR properties of o-Abz in gas phase. Nuclear magnetic resonance frequencies have been considered to be an effective tool to monitor the presence of hydrogen bonds [12–14]. We report here the results of chemical shielding and chemical shift calculations performed by HF and DFT methods with extended basis sets.

2. Computational method

Fully unconstrained geometry optimizations are performed for the isolated o-Abz as well as for the microhydrated o-Abz molecule with up to three water molecules, o-Abz \cdots (H₂O)_{*n*}, (*n* = 1–3) in gas phase using the Hartree-Fock method with Pople type [50], 6-31++G(d,p) basis set and the gradient corrected B3LYP combination of density functionals with two different basis sets: (i) 6-31++G(d,p) and (ii) the Dunning correlation consistent, aug-cc-pVDZ [51]. Geometry optimization for each system is followed by frequency calculation in all models to calculate the harmonic vibration modes of the molecule and also to assure the global minimum of the stationary points. Finally the NMR parameters are calculated for isolated o-Abz and the corresponding microhydrated complexes using the gauge-including atomic orbital (GIAO) method in three different ways. First, we use the HF/6-31++G(2d,2p) model to calculate the chemical shielding (σ) and chemical shift (δ) for all atoms of each system using the corresponding HF/6-31++G(d,p) optimized geometry, abbreviated as HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) henceforth. Similarly, within the DFT method, NMR parameters are calculated at the B3LYP/6-31++G(2d,2p) level using B3LYP/6-31++G(d,p) geometry of each system, which will be abbreviated from now on as B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p). Lastly, we calculate the same parameters applying B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation on the geometries optimized at the same level. These basis sets are generally accepted as sufficient to predict fairly accurate structural and spectroscopic parameters of medium-sized molecules. The chemical shift calculations are corrected for the basis set superposition error (BSSE) using the Boys and Bernardi counterpoise method [52].

The chemical shielding parameters are calculated as the mixed second derivative of the energy with respect to magnetic moment of the nucleus and the strength of the applied magnetic field. The isotropic (δ^{iso}) and

anisotropic chemical shifts (δ^{aniso}) for atom X are calculated as the difference between the shielding of the atom in the complex and the shielding of this same atom in the monomer. Thus,

$$\delta(X)^{\text{iso/aniso}} = \sigma(X)_{\text{cluster}}^{\text{iso/aniso}} - \sigma(X)_{\text{monomer}}^{\text{iso/aniso}} \quad (1)$$

where the isotropic shielding for an atom X is obtained as

$$\sigma(X)^{\text{iso}} = \frac{1}{3}(\sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33}) \quad (2)$$

and the anisotropic shielding as,

$$\sigma(X)^{\text{aniso}} = \sigma_{33} - \frac{1}{2}(\sigma_{11} + \sigma_{22}) \text{ with } \sigma_{11} < \sigma_{22} < \sigma_{33} \quad (3)$$

σ_{11} , σ_{22} and σ_{33} are the principal values of the σ tensor. All calculations are performed using Gaussian 03 [53].

3. Results and discussion

As per literature [39,40,45–48] o-Abz, in gas phase, possesses two rotamers. The only structural difference between them is a 180° rotation of the carboxyl (COOH) group. Out of these two o-Abz rotamers, one that possesses lower electronic energy (called as rotamer-I hereafter) is around 2.45 kcal/mol more stable than the higher energy conformation (rotamer II). We have considered rotamer I for the present work. Furthermore, o-Abz offers two strategic sites, the carboxyl (COOH) and the amino (NH₂) groups where hydrogen bonded interactions are possible. However, in the present work we study only those microhydrated clusters of o-Abz when the water molecules are placed close to the COOH group, abbreviated as o-Abz...H₂O_n^{COOH}, ($n=1-3$) hereafter, as we found them to be energetically more stable than the o-Abz...H₂O_n^{NH₂}, ($n=1-3$) complexes. For example, at the B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation, the binding energy of the o-Abz...H₂O_{n=1}^{COOH} is found to be -9.24 kcal/mol, whereas that of o-Abz...H₂O_{n=1}^{NH₂} is -4.67 kcal/mol.

In Figure 1(a) we show the B3LYP/6-31++G(2d,2p) gas phase optimized structures of the rotamer I of o-abz. Each atom of the molecule is properly labeled and the intra-molecular H-bond is represented by the dotted line. In Figure 1(b)–(d) we present the hydrogen-bonded oabz–water complexes, o-Abz...H₂O_n^{COOH}, ($n=1-3$) for each of which the isotropic and anisotropic NMR shielding parameters and chemical shifts have been calculated.

In Table 1, we list the calculated absolute values of chemical shielding parameters for all the constituent

atoms of isolated o-Abz for three different methods:

- (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p)
- (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p)
- and (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

In Table 2, we present the isotropic ¹³C and ¹H chemical shift of o-Abz with respect to TMS and compare the calculated results with other available theoretical [42] and experimental [42,44,45] results. The chemical shielding parameters of TMS were calculated exactly in the same manner in three different methods. As can be seen from Table 1, for isotropic chemical shielding (σ^{iso}) the basis set effect is small, as both the B3LYP/6-31++G(2d,2p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ levels of calculation produce similar results. However, the effect of correlation is found to be strong, especially for non-hydrogenic atoms. Inclusion of electronic correlation via DFT reduces the absolute value of σ^{iso} for all atoms. Thus, for example, the isotropic chemical shielding of the nitrogen atom, σ^{iso} (N7) goes down from 213.54 ppm at HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) level to 189.08 ppm at the B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) level of calculation producing a negative shielding change of 11.5%. These negative changes for the O–H bond of COOH group, σ^{iso} (O10) and σ^{iso} (H17) are 23.5% and 2.3%, respectively. In case of the other oxygen atom, σ^{iso} (O9) changes from 12.37 ppm at the HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) level to -21.27 and -32.07 ppm at the B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) and B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ levels of calculation, respectively. In the case of anisotropic chemical shielding (σ^{aniso}), however, the two levels of DFT calculations differ notably for the non-hydrogen atom showing some prominent basis set effect. Moreover, for some atoms like C1, C3 and N7, the HF/6-31++G(2d,2p) calculation produces practically the same value of σ^{aniso} as that of B3LYP/aug-cc-pVDZ. Among the two DFT levels of calculation, the B3LYP/aug-cc-pVDZ predicted σ^{iso} values were similar, but slightly lower than the corresponding B3LYP/6-31++G(2d,2p) results. In case of σ^{aniso} we observe the opposite trend for most atoms.

From Table 2 we notice, except for the C1 atom, the three experimental results of the ¹³C chemical shift differ slightly among themselves. Furthermore, we observe a significant basis set effect in theoretical calculations. While the HF/6-31G* calculation [42] overestimates significantly the ¹³C chemical shift, HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) reduces the relative error with respect to experiments. On the other hand, as we move from HF to DFT/B3LYP calculations, we observe a gradual improvement in the ¹³C chemical shift when compared with experiments,

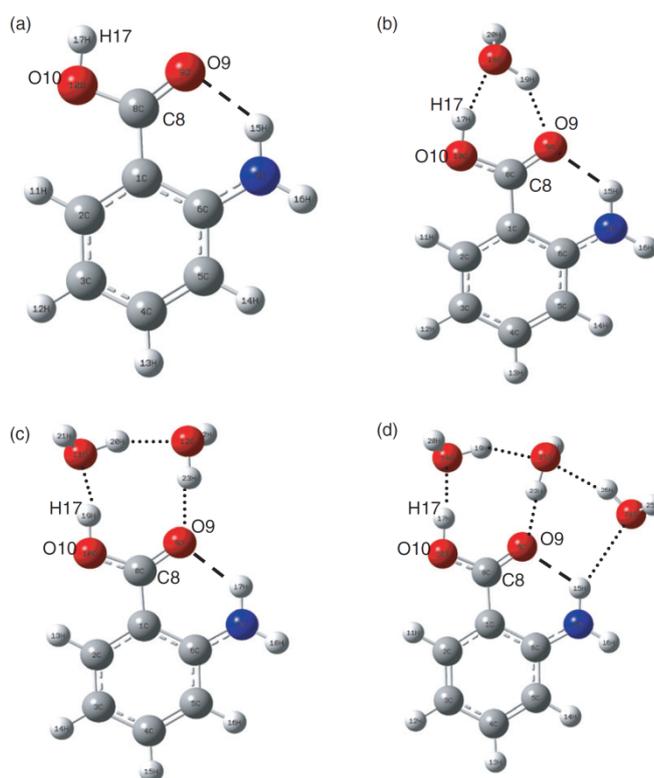


Figure 1. Structures of (a) isolated ortho-aminobenzoic acid (o-abz), and microhydrated o-abz with (b) one water molecule, $o\text{-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=1}^{\text{COOH}}$, (c) two water molecules, $o\text{-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=2}^{\text{COOH}}$ and (d) three water molecules, $o\text{-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=3}^{\text{COOH}}$. The intra-molecular and inter-molecular hydrogen bonds are represented by the dashed and dotted lines, respectively.

probably due to the effect of electron correlation. Between the two DFT methods used in the present work, the model (iii) or B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ provides best agreement with experiments chemical shifts. In case of ^1H chemical shift, however, the dependence on the applied method of calculation is observed to be minimum.

Next, we consider the systems of microhydrated ortho-Aminobenzoic acid, $o\text{-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_n^{\text{COOH}}$, ($n=1-3$), and analyse the effect of hydrogen bond formation on chemical shift (δ). Chemical shifts provide useful structural informations since it is directly influenced by the chemical environment of the NMR active nucleus. It can effectively be used to identify the existence of hydrogen bond and their relative lengths. Hydrogen bond formation actually deshields a proton, causing a downfield shift (negative chemical shift). There exist many interesting theoretical and experimental [12–15, 54–58] studies that establish the ^{13}C and

^1H downfield as signatures of hydrogen bond formation.

The calculated values of the isotropic and anisotropic chemical shifts of all the constituent atoms of the hydrogen-bonded o-Abz molecule, relative to the isolated o-Abz monomer, are reported in Table 3. For the economy of space, we report the results of B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ only, considering it as our best result. Calculations at other levels are shown graphically in Figure 2.

All results for the chemical shifts were corrected for BSSE using the counterpoise correction method [41], where for each hydrogen-bonded o-Abz- H_2O complex, we have also calculated the shielding of the o-Abz monomer using the entire basis functions of the complex. Both the uncorrected (No CP) and BSSE corrected (CP) results for all the hydrogen-bonded o-Abz-water clusters, $o\text{-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_n^{\text{COOH}}$, ($n=1-3$) are shown in Table 3. For most atoms we observe an

Table 1. Values of the isotropic and anisotropic chemical shielding (in ppm) of isolated o-Abz using three different models, (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) and (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ.

	Isotropic chemical shielding			Anisotropic chemical shielding		
	Model (i)	Model (ii)	Model (iii)	Model (i)	Model (ii)	Model (iii)
C1	99.80	85.35	83.46	122.25	120.59	122.08
C2	62.91	60.80	58.92	193.02	171.19	175.23
C3	92.99	79.71	77.96	150.10	143.33	150.10
C4	60.94	59.33	56.86	194.95	172.76	174.23
C5	92.03	79.88	78.24	128.34	120.26	124.68
C6	44.77	43.00	38.25	191.73	160.94	169.90
N7	213.54	189.08	183.07	61.45	64.70	61.47
C8	35.87	24.04	21.59	101.54	87.95	95.28
O9	12.37	-21.27	-32.07	453.26	427.18	437.21
O10	194.19	148.54	144.28	155.12	168.84	171.18
H11	23.49	23.37	23.36	8.47	7.90	7.62
H12	25.37	24.82	24.84	3.97	3.89	4.15
H13	24.23	24.07	24.12	4.94	4.65	4.74
H14	25.34	24.92	24.98	6.34	6.04	5.91
H15	25.00	23.25	23.36	15.16	14.09	13.73
H16	28.18	27.20	27.26	12.68	9.91	9.43
H17	26.46	25.89	26.08	14.30	10.12	9.96

Table 2. Theoretical and experimental chemical shift of isolated o-Abz in ^1H and ^{13}C NMR spectra, δ (in ppm) relative to the resonance of tetramethylsilane (TMS).

	RHF/6-31G* [40]	B3LYP/6-311+G* [40]	Model (i)	Model (ii)	Model (iii)	EXPT 1 [40]	EXPT 2 [42]	EXPT 3 [43]
C1	114.90	97.36	103.61	105.73	106.81	109.69	109.9	109.6
C2	152.72	135.20	140.5	130.28	131.35	131.26	133.4	132.2
C3	122.11	104.58	110.42	111.37	112.31	116.42	117.3	116.8
C4	152.18	134.69	142.47	131.75	133.41	133.82	136.6	135.1
C5	121.72	104.22	111.38	111.2	112.03	114.69	117.3	116.5
C6	166.29	148.81	158.64	148.08	152.02	151.58	153	151.1
C8	172.82	155.30	167.54	167.04	168.68	169.69	174.3	173.6
H11	9.04	8.33	8.78	8.19	8.2	7.70	—	—
H12	6.94	6.23	6.9	6.74	6.72	6.50	—	—
H13	7.94	7.23	8.04	7.49	7.44	7.21	—	—
H14	6.88	6.16	6.93	6.64	6.58	6.74	—	—

appreciable basis set superposition error (ΔE^{CP}). Focusing our attention on the atoms of the carboxyl group of o-Abz that participate directly in the formation of the hydrogen bond we observe that the isotropic chemical shift for H17 exhibits an increase of 23% and 18% for the clusters $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=1}^{\text{COOH}}$ and $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=3}^{\text{COOH}}$, respectively, while a 15% decrease for $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=2}^{\text{COOH}}$ when compared to that of the isolated one. Unlike hydrogen, CP correction for BSSE in C8 atom increases with an increase in the number of water molecules. On the other hand the corrections for the anisotropic chemical shift show the opposite trend. For H17 the correction varies between

2 and 4% while for C8 the CP corrected δ^{aniso} values are half of the non-corrected ones.

As can be seen from the Table 3, both isotropic and anisotropic $\delta(\text{H})$ are generally smaller than $\delta(\text{C})$, $\delta(\text{O})$ and $\delta(\text{N})$ except for the carbonyl hydrogen (H17). As observed earlier for other systems C8 and H17 that constitute the carboxyl group of o-Abz suffer deshielding due to formation of hydrogen bond with water. Moreover, among the two oxygen atoms of the above group, while the proton-acceptor O9 suffers a strong upfield shift, the proton-donor O10 exhibits deshielding. The CP corrected $\delta^{\text{iso}}(\text{H17})$ [$\delta^{\text{iso}}(\text{C8})$] are -2.15 [-3.34], -8.29 [-2.93] and -5.29 [-1.96] ppm for

Table 3. Values of isotropic and anisotropic chemical shift, $\delta^{\text{iso/aniso}}(\text{X})$ for each atom X of o-Abz as defined in Equation (1) for microhydrated o-Abz at the B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ (Model (iii)) level of calculation. BSSE corrected chemical shifts of the carboxyl group atoms are bold fonts.

X	$n=1$				$n=2$				$n=3$			
	$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{iso}}(\text{X})$		$\delta^{\text{aniso}}(\text{X})$	
	No CP	CP	No CP	CP	No CP	CP	No CP	CP	No CP	CP	No CP	CP
C1	-1.53	-0.85	0.03	0.22	-2.64	-0.90	0.37	0.69	-0.6	0.00	-1.23	-1.54
C2	-0.3	-0.54	0.38	0.85	-0.5	-1.06	2.81	2.96	0.31	-0.76	2.78	2.23
C3	0.12	-0.31	0.89	0.43	-0.21	-0.43	0.57	0.44	1.51	0.41	-1.26	-1.34
C4	0.08	-0.17	4.16	0.08	0.07	-0.17	4.4	-0.08	0.85	-0.40	-0.24	-0.32
C5	-0.18	0.17	-1.34	-0.54	-0.7	0.27	-1.75	-0.74	-0.36	-0.09	-0.63	-1.01
C6	0.98	0.11	0.38	-0.61	0.58	0.17	-2.03	-0.77	0.39	-0.83	4.33	0.45
N7	0.52	0.85	-0.8	-0.50	1.15	1.30	-1.21	-0.68	-5.39	-5.09	-2.9	-0.05
C8	-4.96	-3.34	9.36	4.74	-4.12	-2.93	8.98	4.37	-3.71	-1.96	8.14	3.59
O9	26.8	31.73	-18.01	-18.68	37.77	42.71	-46.43	-52.31	38.53	48.17	-49.25	-61.92
O10	-3.55	-5.18	-67	-50.58	-12.1	-18.97	-63.92	-33.95	-7.48	-12.46	-69.48	-46.73
H11	-0.08	-0.10	0.55	0.44	-0.12	-1.80	0.82	-2.27	0.02	-0.08	0.88	0.69
H12	-0.04	-0.02	0.09	0.08	-0.04	1.41	0.16	-3.47	0.1	0.04	-0.13	0.03
H13	0.02	0.00	-0.08	-0.04	0.01	-0.70	-0.08	0.49	0.2	0.02	-0.29	-0.10
H14	0	0.03	0.06	0.00	0.03	0.88	0.11	1.29	0.01	0.06	0.63	0.33
H15	0.12	0.16	0.6	0.59	0.22	-1.38	1.31	9.07	0.12	-0.36	1.46	2.56
H16	0.03	0.03	0.09	0.15	0.1	3.98	0.13	-4.17	0.03	-0.13	-0.69	-0.91
H17	-2.8	-2.15	10.94	10.72	-7.06	-8.29	17.41	18.01	-6.23	-5.29	14.72	14.21

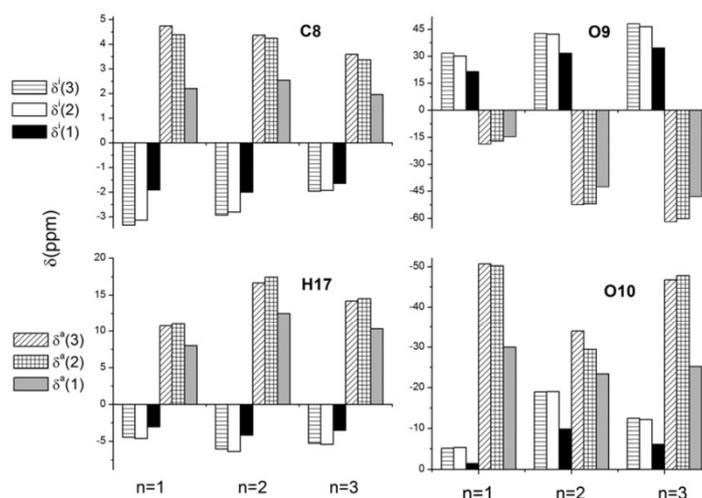


Figure 2. Comparison of the isotropic and anisotropic chemical shift (in ppm) for the carboxyl group atoms of microhydrated ortho-Aminobenzoic acid, $o\text{-Abz} \cdots \text{H}_2\text{O}_n^{\text{COOH}}$ ($n=1-3$), calculated by three different models, (1) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) (2) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) and (3) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. In the figure, δ^i and δ^a signify δ^{iso} and δ^{aniso} , respectively.

$n=1, 2$ and 3 respectively at the B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ level of calculation. Now at the same level, $\delta^{\text{iso}}(\text{O9})$ are 31.73, 42.71 and 48.17 and $\delta^{\text{iso}}(\text{O10})$ are -5.18, -18.97 and -12.46, respectively.

As far as the CP-corrected anisotropic shifts are concerned, $\delta^{\text{aniso}}(\text{C8})$ varies little with increase in cluster size remaining in the range of 3.6–4.7 ppm, while the $\delta^{\text{aniso}}(\text{H17})$ increases from 10.72 ppm at $n=1$ to 18.01 ppm for $n=2$ and then decreases to 14.72 for

Table 4. Correlation between the hydrogen bond length (d^{HB}) when o-Abz is the proton-acceptor and water molecule is the proton-donor ($\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$), Mulliken charge distribution (ϵ) of the atoms involved in the bonding and the respective NMR parameters of the bridging hydrogen.

System	d^{HB} (Å)	$\sigma^{\text{iso}}(\text{H})^*$ (ppm)	$\delta^{\text{iso}}(\text{H})^\#$ (ppm)	$\epsilon(\text{H})$	$\epsilon(\text{O})_{\text{o-Abz}}$	$\epsilon(\text{O})_{\text{water}}$
H_2O		31.34				
$\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}$	1.92	26.76	-4.58	0.190e	-0.246e	-0.792e
$\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_2$	1.78	25.14	-6.20	0.246e	-0.303e	-0.849e
$\text{o-Abz}\cdots(\text{H}_2\text{O})_3$	1.64	23.10	-8.24	0.342e	-0.410e	-0.857e

Notes: *Absolute chemical shielding of the bridging hydrogen of $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ interaction.

$^\#$ The chemical shift of the bridging hydrogen with respect to the free water molecule.

$n=3$ showing an opposite trend of more or less the same proportion as that of $\delta^{\text{iso}}(\text{H}17)$. Unlike the case of isotropic chemical shift, the anisotropic shifts of both O9 and O10 show consistent deshielding and the values of these negative chemical shifts are quite high in comparison with other deshieldings. The calculated values of $\delta^{\text{anis}}(\text{O}9)$ [$\delta^{\text{anis}}(\text{O}10)$] are -18.68 [-50.58], -52.31 [-33.95] and -61.92 [-46.73] ppm for $n=1$, $n=2$ and $n=3$, respectively at the B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ level of theory.

We have also calculated the same isotropic and anisotropic chemical shifts in other levels of theory: (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p). The results of these calculations compared to those reported in Table 3 are shown graphically in Figure 2. As can be seen from the Figure 2, both the isotropic and anisotropic chemical shifts of the carboxyl group atoms of microhydrated o-Abz relative to isolated o-abz do not show significant basis set dependencies as B3LYP/6-31++G(2d,2p)//B3LYP/6-31++G(d,p) and the B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ calculations produce very similar results. HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) chemical shifts, however, are notably smaller in all cases compared to the DFT-B3LYP calculations.

Although, we are focusing our attention mainly on the carboxyl group of o-Abz, it is interesting to observe the behaviour of ^1H chemical shift of the water molecules that form hydrogen-bonded interaction with o-Abz. NMR properties of water and water clusters have already been studied widely. For hydrogen-bonded water dimer ($\text{H}_2\text{O}\cdots\text{H}_2\text{O}$) the downfield isotropic shift of the bridging hydrogen atom (of the $\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}$ hydrogen bond) with respect to the isolated water molecule was calculated to be -2.6 ppm at the MP2/6-31+G** level of theory [14]. According to our B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ calculation, this same parameter is found to be -3.10 ppm. Now in our $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_n^{\text{COOH}}$ ($n=1-3$) clusters, we always have one $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ hydrogen bond,

where the water molecule acts as proton donor through the $\text{O}-\text{H}$ group and o-Abz acts as proton acceptor through $\text{C}=\text{O}$ group. We observe a direct correlation between the $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ hydrogen bond length and relative isotropic chemical shift of the bridging hydrogen of the water molecule: the higher the hydrogen bond length, the higher the shielding and, as a consequence, the lower the chemical shift, $\delta^{\text{iso}}(\text{H})$ with respect to the bare water, as can be seen from the Table 4. Now looking back at the C8 atom from the perspective of this $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ hydrogen bond length, we observe a trend for $\delta^{\text{iso}}(\text{C})$ which is opposite to $\delta^{\text{iso}}(\text{H})$. In the case of the carbonyl carbon, the higher the $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ hydrogen bond length (d^{HB}), the higher is the chemical shift. From Tables 3 and 4, we can see that the values of $\delta^{\text{iso}}(d^{\text{HB}})$ for C8 atom are -1.96 ppm ($d^{\text{HB}}=1.64$ Å), -2.93 ppm ($d^{\text{HB}}=1.78$ Å) and -3.34 ppm ($d^{\text{HB}}=1.92$ Å) for $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=1}^{\text{COOH}}$, $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=2}^{\text{COOH}}$ and $\text{o-Abz}\cdots\text{H}_2\text{O}_{n=3}^{\text{COOH}}$, respectively.

In general, interaction of water with any solute molecule may bring some changes in solute geometry and charge distribution which directly affect the NMR properties of both molecules. In the present case, the process of microhydration does not introduce any significant changes in the geometry of the o-Abz molecules, but redistributes significantly the partial atomic charges locally at the interaction site. With increase of water molecule around o-Abz, the hydrogen bond between the $\text{C}=\text{O}$ group of o-abz and water becomes gradually stronger as is evident from the shortening of the $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ hydrogen bond length. Moreover, the two oxygen atoms become more and more negative leaving the hydrogen atom to be more and more positive as the cluster size increases, clearly seen from the last three columns of Table 4. This continuous redistribution of atomic charges causes the gradual increase of the hydrogen deshielding at the $\text{C}=\text{O}\cdots\text{H}-\text{O}$ interaction site.

In the case of the deshielding of H17 atom of o-Abz, discussed earlier in the present section,

Table 5. Correlation between the hydrogen bond length (d^{HB}) when o-Abz is the proton-donor and water molecule is the proton-acceptor (O-H \cdots O), Mulliken charge distribution (ϵ) of the atoms involved in the bonding and the respective NMR parameters of the bridging hydrogen.

System	d^{HB} (Å)	$\sigma^{\text{iso}}(\text{H17})^*$ (ppm)	$\delta^{\text{iso}}(\text{H17})^{\#}$ (ppm)	$\epsilon(\text{H17})$	$\epsilon(\text{O})_{\text{o-Abz}}$	$\epsilon(\text{O})_{\text{water}}$
o-Abz		26.08		0.243e	-0.556e	
o-Abz \cdots H ₂ O	1.79	23.28	-2.8	0.306e	-0.549e	-0.246e
o-Abz \cdots (H ₂ O) ₂	1.68	19.02	-7.06	0.365e	-0.576e	-0.271e
o-Abz \cdots (H ₂ O) ₃	1.73	19.85	-6.23	0.342e	-0.557e	-0.264e

Notes: *Absolute chemical shielding of the bridging hydrogen of O-H \cdots O interaction.

[#]The chemical shift of the bridging hydrogen with respect to the free o-Abz molecule.

we observe the same correlation between the hydrogen bond length and the chemical shift. However, the contribution of the atomic charge redistribution upon hydrogen bond formation to the NMR chemical shift is a bit different. In this case, as we go from the cluster o-Abz \cdots H₂O^{COOH}_{n=1} to o-Abz \cdots H₂O^{COOH}_{n=2}, the two electronegative oxygen atoms on either side of H17 attract the electron clouds of the electropositive hydrogen atom leading to an effective increase in the negative chemical shift by 4.26 ppm of the bridging hydrogen with respect to the deshielding of -2.80 ppm for $n=1$ (o-Abz \cdots H₂O^{COOH}_{n=1}) as can be seen from Table 3. In the case of CH₃HO \cdots H₂O, the chemical shift of the bridging hydrogen was found to be -3.18 ppm at the B3LYP/6-31++G(2d,2p) level of calculation [15]. However, as we move from o-Abz \cdots H₂O^{COOH}_{n=2} to o-Abz \cdots H₂O^{COOH}_{n=3}, unlike the previous case, the two oxygen atoms on either side of H17 stop attracting the electron cloud and thereby become less negative and the H17 atom, at the same time, becomes less positive. As a result, we observe a small upfield of the H17 chemical shift. This different behaviour of δ^{iso} (H17) is summarized in Table 5 where we have used the values of absolute shielding and chemical shifts that are not corrected for BSSE to remain consistent with Table 4 where the chemical shifts are calculated with respect to isolated water molecule.

4. Conclusion

In this work, we have analysed the effects of hydrogen bond formation between naturally fluorescent o-Abz and water molecules on the NMR parameters in a microhydrated environment considering up to three water molecules. The isotropic and anisotropic chemical shifts for all atoms of the o-Abz \cdots (H₂O)₁₋₃ complexes have been calculated using three different quantum-chemical models: (i) HF/6-31++G(2d,2p)//HF/6-31++G(d,p) (ii) B3LYP/6-31++G(2d,2p)//

B3LYP/6-31++G(d,p) and (iii) B3LYP/aug-cc-pVDZ//B3LYP/aug-cc-pVDZ. Additionally, the basis set superposition errors were removed by applying the counterpoise correction method for all the above models. DFT-B3LYP/aug-cc-pVDZ predicted ¹H and ¹³C isotropic chemical shifts with respect to TMS of the isolated o-Abz are in reasonable agreement with available experimental data. The chemical shift values of the carboxyl group atoms of microhydrated o-Abz relative to isolated o-Abz do not show significant basis set dependence. Both the hydrogen and carbon atoms constituting the carboxyl group of o-Abz suffer deshielding due to formation of hydrogen bond with water as also observed earlier for other systems. The length of hydrogen bond formed between o-Abz and water is found to vary with the number of water molecules present around o-Abz. A direct correlation between the hydrogen bond length and isotropic chemical shift of the bridging hydrogen is observed for both C=O \cdots H-O and O-H \cdots O interactions.

Acknowledgement

The authors gratefully acknowledge the financial support from CNPq, the Brazilian funding agency. One of us (VBP) would like to thank FAPEAM, Brazil.

References

- [1] G.A. Jeffrey and W. Saenger, *Hydrogen Bonding in Biological Structures* (Springer-Verlag, Berlin, 1991).
- [2] S. Scheiner, *Hydrogen Bonding: A Theoretical Perspective* (Oxford University Press, New York, 1997).
- [3] G.R. Desiraju and T. Steiner, *The Weak Hydrogen Bond in Structural Chemistry and Biology* (Oxford University Press, New York, 1999).
- [4] C.L. Perrin and J.B. Nielson, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **48**, 511 (1997).
- [5] P. Hobza and Z. Havlas, *Chem. Rev.* **100**, 4253 (2000).
- [6] W. Zierkiewicz, P. Jurecka and P. Hobza, *ChemPhysChem.* **6**, 609 (2005).

- [7] A.D. Buckingham, J.E. Del Bene and S.A.C. McDowell, *Chem. Phys. Lett.* **463**, 1 (2008).
- [8] I.V. Alabugin, M. Maniharan, S. Peabody and F. Weinhold, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 5973 (2003).
- [9] P. Chaudhuri and S. Canuto, *Chem. Phys. Lett.* **491**, 86 (2010).
- [10] E. Oerestes, P. Chaudhuri and S. Canuto, *Mol. Phys.* **110**, 297 (2012).
- [11] N.E. Zhou, B.-Y. Zhu, B.D. Syke and R.S. Hodges, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 4320 (1992).
- [12] N. Asakawa, S. Kuroki, H. Kurosu, I. Ando, A. Shoji and T. Ozakit, *J. Am. Chem. Soc.* **114**, 3261 (1992).
- [13] D.S. Wishart, B.D. Sykes and F.M. Richards, *J. Mol. Biol.* **222**, 311 (1991).
- [14] S. Scheiner, T. Kar and Y. Gu, *J. Bio. Chem.* **276**, 9832 (2001).
- [15] E.E. Fileti and S. Canuto, *Int. J. Quant. Chem.*, **102**, 554 (2005).
- [16] C. Aikens and M. Gordon, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 12835 (2006).
- [17] S. Blanco, J. Lopez, L. Alberto and J. Alonso, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 12111 (2006).
- [18] S.M. Bachrach, *J. Phys. Chem. A* **112**, 3722 (2008).
- [19] X. Yang, Y.-J. Fu, X.-B. Wang, P. Slaviček, M. Mucha, P. Jungwirth and L.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 876 (2004).
- [20] A.A. Mohamed and F. Jensen, *J. Phys. Chem. A* **105**, 3259 (2001).
- [21] E.G. Robertson and J.P. Simons, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3**, 1 (2001).
- [22] M. Pasquini, N. Schiccheri, G. Piani, G. Pietraperzia, M. Becucci and E. Castellucci, *Phys. Scr.* **78**, 058109 (2008).
- [23] P.C. do Couto, R.C. Guedes, B.J.C. Cabral and J.A.M. Simões, *J. Chem. Phys.* **119**, 7344 (2003).
- [24] S. Kim, S.E. Wheeler and H.F. Schaefer III, *J. Chem. Phys.* **124**, 204310 (2006).
- [25] A.D. Kulkarni, D. Rai, L.J. Bartolotti and R.K. Pathak, *J. Chem. Phys.* **131**, 054310 (2009).
- [26] D. Jacquemin, C. Michaux, E.A. Perpète and G. Frison, *J. Phys. Chem. B* **115**, 3604 (2011).
- [27] R.F. Turchiello, M.T. Lamy-Freund, I.Y. Hirata, L. Juliano and A.S. Ito, *Biophys. Chem.* **73**, 217 (1998).
- [28] A.S. Ito, R.F. Turchiello, I.Y. Hirata, M.H. Cezari, M. Meldal and L. Juliano, *Biospectroscopy* **4**, 395 (1998).
- [29] R.F. Turchiello, M.T. Lamy-Freund, I.Y. Hirata, L. Juliano and A.S. Ito, *Biopolymers* **65**, 336 (2002).
- [30] M. Takara, J.K. Eisenhut, I.Y. Hirata, L. Juliano and A.S. Ito, *J. Fluoresc.* **19**, 1053 (2009).
- [31] M. Takara and A.S. Ito, *J. Fluoresc.* **15**, 171 (2005).
- [32] C. Brown, *Proc. Roy. Soc. A* **302**, 185 (1968).
- [33] C.D.G. Boone, J.L. Derissen and J.C. Schoone, *Acta Crystallogr B* **33**, 3205 (1977).
- [34] T.-H. Lu, P. Chattopadhyay, F.-L. Liao and J.-M. Lo, *Anal. Sci.* **17**, 905 (2001).
- [35] C.J. Brown and M. Ehrenberg, *Acta Crystallogr. C* **41**, 441 (1985).
- [36] E.S. Blanca, J.L. Núñez and P. Martínez, *J. Mol. Struct.* **142**, 45 (1986).
- [37] J.S. Suh and M. Moskovits, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 4711 (1986).
- [38] S. Jiang, J.H. ter Horst and P.J. Jansens, In *BIWIC 2006, 13th International Workshop on Industrial Crystallization*, edited by S. Jiang, J.H. ter Horst and P.J. Jansens (IOS Pres BV: The Netherlands, 2006; p 24).
- [39] C.A. Southern, D.H. Levy, G.M. Florio, A. Longarte and T.S. Zwier, *J. Phys. Chem. A* **107**, 4032 (2003).
- [40] C.A. Southern, D.H. Levy, J.A. Stearns, G.M. Florio, A. Longarte and T.S. Zwier, *J. Phys. Chem. A* **108**, 4599 (2004).
- [41] Y. He, C. Wu and W. Kong, *J. Phys. Chem. A* **109**, 2809 (2005).
- [42] M. Samsonowicz, T. Hrynaszkiewicz, R. S'wislocka, E. Regulska and W. Lewandowski, *J. Mol. Struct.* **744-747**, 345 (2005).
- [43] G.C. Levy, A.D. Godwin, J.M. Hewitt and C. Sutcliffe, *J. Magn. Resonance* **29**, 553 (1978).
- [44] R.K. Harris and P. Jackson, *J. Phys. Chem. Solids* **48**, 813 (1987).
- [45] R.R. Burnette and F. Weinhold, *J. Phys. Chem. A* **110**, 8832 (2006).
- [46] J. Voogd, J.L. Derissen and F.B. Duijneveldt, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 7701 (1981).
- [47] M.A. Palafox, M. Gil and J.L. Núñez, *Vib. Spectrosc.* **6**, 95 (1993).
- [48] S. Leśniewski, P. Kolek, K. Pirowska, A.L. Sobolewski and J. Najbar, *J. Chem. Phys.* **130**, 054307 (2009).
- [49] B.C.M. Maciel and P. Chaudhuri, *Int. J. Quant. Chem.* **111**, 1709 (2011).
- [50] W.J. Hehre, L. Random, P.V.R. Schleyer and J.A. Pople, *Ab Initio Molecular Orbital Theory* (Wiley, New York, 1986).
- [51] T.H. Dunning Jr, *J. Chem. Phys.* **90**, 1007 (1989).
- [52] S.F. Boys and F. Bernardi, *Mol. Phys.* **19**, 553 (1970).
- [53] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery, Jr, T. Vreven, K.N. Kudin, J.C. Burant, J.M. Millam, S.S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J.E. Knox, H.P. Hratchian, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, P.Y. Ayala, K. Morokuma, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, V.G. Zakrzewski, S. Dapprich, A.D. Daniels, M.C. Strain, O. Farkas, D.K. Malick, A.D. Rabuck, K. Raghavachari, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, Q. Cui, A.G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B.B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R.L. Martin, D.J. Fox, T. Keith, M.A. Al-Laham, C.Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P.M.W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M.W. Wong,

- C. Gonzalez and J.A. Pople, Gaussian 03, (Gaussian Inc., Wallingford, CT, 2004).
- [54] D.W. Urry, L.W. Michell and T. Ohnishi, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **71**, 3265 (1974).
- [55] B. Bartman, C.M. Debar and E.R. Blout, J. Am. Chem. Soc. **99**, 1028 (1977).
- [56] R.E. London, J.M. Stewart, J.R. Cann and N.A. Matwiyoff, Biochemistry **17**, 2271 (1978).
- [57] T. Asakura, M. Kamio and A. Nishioka, Biopolymers **18**, 467 (1979).
- [58] B. Berglund, D.G. Carson and R.W. Vaughan, J. Chem. Phys. **72**, 824 (1980).