

Protocolo *Adaptative Steered Molecular Dynamics (ASMD)*

Tomás Cáceres <tomas.caceres.m@usach.cl>

Laboratorio de Simulación computacional y diseño de fármacos

Facultad de Química y Biología

Universidad de Santiago de Chile

23 – Julio – 2025

Table of Contents

Acerca de este protocolo.....	3
Sistema operativo.....	3
Software utilizado.....	3
Sobre los <i>scripts</i>	3
Protocolo.....	4
1. Equilibración del sistema.....	4
2. Crear directorio de trabajo y copiar archivos necesarios.....	4
3. Configuración de los <i>input files</i>	5
4. Ejecución de ASMD.....	10
5. FAQ.....	11
setup_ASMD.sh.....	11

Acerca de este protocolo

Es un protocolo para configurar los archivos de entrada (*input files*) para ejecutar *Adaptative steered molecular dynamics* (ASMD). Si bien existe un tutorial en la página de Amber (<https://ambermd.org/tutorials/advanced/tutorial26/>), en este protocolo se utilizan *scripts* que hacen más fácil el proceso de configuración y ejecución de ASMD.

Sistema operativo

Los *scripts* creados fueron probados en Ubuntu 22.04 y 25.04. En Windows deberían funcionar utilizando WSL2. En MacOS, **no** fueron probados. Queda a discreción del usuario si desea utilizarlo en otros sistemas operativos.

Software utilizado

- AmberTools: Los *scripts* para configurar ASMD dependen de programas disponibles en AmberTools, como *cpptraj* y *ambpdb*.
- Amber: Para la ejecución de dinámicas moleculares utilizando GPU (*pmemd.cuda*).
- PyMol (opcional): Para visualizar estructuras

Sobre los *scripts*

Se crearon dos *scripts* en *Bash*: uno es para la configuración de los *input files* para ASMD, llamado *setup_ASMD.sh*, y uno para la ejecución de ASMD, llamado *run_ASMD.sh*. Además, se requiere de un *script* de Python, llamado *ASMD.py*, que permite saber qué trayectoria es la más cercana al promedio de Jarzynski.

Estos *scripts* están disponibles en el siguiente link de Google Drive <https://drive.google.com/drive/folders/1ivP37ViaeOz1_szDq2tf6Ci7TnGKR8lO?usp=drive_link>.

Sin embargo, toda modificación futura a los *scripts* no estarán necesariamente actualizados en Google Drive. Por esto, existe un repositorio de GitHub <<https://github.com/tcaceresm/AmberMDHelper>> donde las modificaciones se actualizarán con mayor frecuencia en caso de requerirlo.

Protocolo

Todos los pasos involucran el uso de la terminal.

1. Equilibración del sistema

El sistema en estudio debe someterse a una MD para llevarlo al equilibrio. Los detalles de esta etapa no se mostrarán en este protocolo.

Lo que se requiere es el archivo de topología solvatada del sistema, y el archivo de coordenadas del término de la equilibración. Estos archivos suelen estar en formato *.parm7* y *.rst7*, respectivamente. En el siguiente [link](https://drive.google.com/drive/folders/1ivP37ViaeOz1_szDq2tf6Ci7TnGKR8lO?usp=drive_link) de Google Drive <https://drive.google.com/drive/folders/1ivP37ViaeOz1_szDq2tf6Ci7TnGKR8lO?usp=drive_link> se proveen archivos de ejemplo, para ejecutar este protocolo.

El sistema de estudio del ejemplo corresponde a hCOX-1 en complejo con flurbiprofeno, en el sitio catalítico. La topología solvatada es *flp_solv_com.parm7* y el archivo de coordenadas del final de la equilibración es *npt_equil_6.rst7*.

2. Crear directorio de trabajo y copiar archivos necesarios

Primero que todo, crea una carpeta de trabajo. En este tutorial, el directorio se creará en la carpeta *Documents*

```
mkdir ~/Documents/tutorial_asmd
```

y cambiemos de directorio a *tutorial_asmd*

```
cd ~/Documents/tutorial_asmd
```

Copia los archivos de topología y coordenadas, como también los *scripts* al directorio actual. Asumiendo que estos archivos se descargaron en la carpeta *Downloads*

```
cp ~/Downloads/flp_solv_com.parm7 .
```

```
cp ~/Downloads/npt_equil_6.rst7 .
```

El comando anterior copia los archivos en la carpeta *Downloads* hacia el directorio actual, es decir, *~/Documents/tutorial_asmd*

```
cp ~/Downloads/*ASMD* .
```

3. Configuración de los *input files*

Tras tener los archivos necesarios, se configurarán los *input files* de ASMD. Se utilizará el script *setup_ASMD.sh*

El *script* pide argumentos obligatorios y también es posible pasarle argumentos opcionales. Para acceder a la ayuda del *script*, ejecutar

```
bash setup_ASMD.sh --help
```

Los argumentos obligatorios son:

<code>-p, --topo <file></code>	: Topology file.
<code>-c, --coord <file></code>	: Equilibrated rst7 file.
<code>--prot_mask <AMBER MASK></code>	: AMBER mask of protein atoms.
<code>--lig_mask <AMBER MASK></code>	: AMBER mask of ligand atoms.
<code>--pull_length <numeric></code>	: Total pull length (Å).

tanto `--prot_mask` y `--lig_mask` corresponden a los átomos de la proteína y del ligando considerados para realizar SMD. Lo que se hace es modificar la distancia de los átomos de la proteína y del ligando. Si desea saber más sobre los *mask* de Amber, revise el manual de Amber24 [\(<https://ambermd.org/doc12/Amber24.pdf>\)](https://ambermd.org/doc12/Amber24.pdf).

`--pull_length` es la longitud del empuje. Si se desea que la distancia final sean 20 Å desde la distancia inicial, el `pull_length` es 20.

El *script* funciona con esos argumentos obligatorios, utilizando los valores por defecto de los argumentos opcionales. Para ejecutar:

```
bash setup_ASMD.sh -p flp_solv_com.parm7 -c npt_equil_6.rst7 --  
prot_mask ":358" --lig_mask ":560" --pull_length 20
```

:358 significa el residuo número 358, que corresponde a la Tirosina 358, y :560 corresponde al flurbiprofeno. En ambos casos, se utiliza el centro de masa.

Para ver los archivos creados, listar los archivos del directorio:

```
ls
```

Debería ver lo siguiente:

```
tcaceres@nothofagus:~/Documents/GitHubRepos/md_analysis/scripts/setupMD/test_asmd$ (develop) ls
10_A_ns  flp_solv_com.parm7  npt_equil_6.rst7  START_DISTANCE.data
```

START_DISTANCE.data contiene la distancia inicial calculada automáticamente entre los átomos del ligando y la proteína considerada en SMD:

```
cat START_DISTANCE.data
```

muestra

#Frame	Dist1
1	10.4532

Es decir, al distancia inicial son 10.45 Å.

La carpeta *10_A_ns* contiene los siguientes directorios:

```
10_A_ns/  
└─ force_7.2  
    └─ 5_stages_25_trajs  
        ├── stage_1  
        ├── stage_2  
        ├── stage_3  
        ├── stage_4  
        └─ stage_5
```

10_A_ns hace referencia a la velocidad del empuje. El valor por defecto son 10 Å por nanosegundo. Dentro de esta carpeta está *force_7.2*, que corresponde a la constante de fuerza utilizada. A su vez, dentro de esta carpeta está *5_stages_25_trajs*, que corresponde a cuántas etapas se divide el empuje total, y cuántas réplicas por etapa (25 trayectorias por etapa). Se realizó de esta forma, pues si es requerido hacer una validación con distintos valores de velocidad, fuerza, número de etapas y trayectorias, se mantiene un orden sistemático fácil de analizar posteriormente.

Dentro de cada carpeta *stage*, se encuentran los archivos de entrada. Por ejemplo, en la *stage_1*:

```
stage_1/
├─ SMD_distance_restraint_stage_1.RST
├─ SMD_stage_1_traj_10.in
├─ SMD_stage_1_traj_11.in
├─ SMD_stage_1_traj_12.in
├─ SMD_stage_1_traj_13.in
├─ SMD_stage_1_traj_14.in
├─ SMD_stage_1_traj_15.in
├─ SMD_stage_1_traj_16.in
├─ SMD_stage_1_traj_17.in
├─ SMD_stage_1_traj_18.in
├─ SMD_stage_1_traj_19.in
├─ SMD_stage_1_traj_1.in
├─ SMD_stage_1_traj_20.in
├─ SMD_stage_1_traj_21.in
├─ SMD_stage_1_traj_22.in
├─ SMD_stage_1_traj_23.in
├─ SMD_stage_1_traj_24.in
├─ SMD_stage_1_traj_25.in
├─ SMD_stage_1_traj_2.in
├─ SMD_stage_1_traj_3.in
├─ SMD_stage_1_traj_4.in
├─ SMD_stage_1_traj_5.in
├─ SMD_stage_1_traj_6.in
├─ SMD_stage_1_traj_7.in
├─ SMD_stage_1_traj_8.in
└─ SMD_stage_1_traj_9.in
```


Son 25 archivos *SMD_stage_1_traj_X.in*, pues son 25 trayectorias por etapa. Además, hay un archivo llamado *SMD_distance_restraint_stage_1.RST*, que contiene los átomos considerados en el SMD, además de la constante de fuerza, y la distancia inicial y final de esta etapa. Como es la etapa 1, la distancia inicial es idéntica a la de *START_DISTANCE.data*, y la distancia final son 14.4532, es decir, 4 Å más, pues son 20 Å dividido en 5 etapas (4 Å por etapa).

Se observa lo mismo para las distintas etapas, variando las distancias iniciales y finales.

4. Ejecución de ASMD

Tras revisar que todo esté bien, especialmente los archivos *.RST* de cada etapa, se procede a correr la ASMD mediante el *script* *run_ASMD.sh*.

Los argumentos obligatorios son:

<code>--wd <path></code>	: Working directory.
<code>-p, --topo <file></code>	: Topology file.
<code>-c, --coord <file></code>	: Equilibrated rst7 file.
<code>--velocity <numeric></code>	: Pulling velocity ($\text{\AA}/\text{ns}$).
<code>--stages <integer></code>	: Number of stages.
<code>--n_traj <integer></code>	: Number of trajectories per stage.
<code>--force_k <numeric></code>	: Force constant ($\text{kcal} * \text{mol}^{-1} * \text{\AA}^{-2}$).

Se le debe especificar la topología, coordenadas, y, a diferencia de *setup_ASMD.sh*, velocidad, etapas, trayectorias por etapa y la fuerza. Esto es para el caso en el que se hayan configurado distintas ASMD, por ejemplo, en una validación de parámetros. Al especificarle la velocidad, etapas, etc., se asegura de estar ejecutando el ASMD con los parámetros deseados.

En nuestro ejemplo, la velocidad son $10 \text{ \AA}/\text{ns}$, 5 etapas, 25 trayectorias por etapa, y una fuerza de 7.2. Además, el directorio de trabajo es el directorio actual, por tanto, `--wd .`

Ejecutar:

```
bash run_ASMD.sh --wd . -p flp_solv_com.parm7 -c
npt_equil_6.rst7 --velocity 10 --stages 5 --n_traj 25 --force_k
7.2
```

Esto toma tiempo, pues es la simulación ASMD como tal. Tras el término del cálculo, dentro de la carpeta *10_A_ns/force_7.2/5_stages_25_trajs/* se encuentra un archivo llamado *PMF.data*, que contiene los datos para generar el gráfico de PMF.

5. FAQ

setup_ASMD.sh

1. ¿Cómo verificar que los átomos que escogí sean realmente los que espero escoger?
 - **R:** el script *setup_ASMD.sh* tiene una opción *--create_pdb*, el cual generará un archivo en formato PDB para los átomos del receptor (*SMD_PROT_ATOMS.pdb*) como para los átomos del ligando (*SMD_LIG_ATOMS.pdb*), además de un archivo para el complejo (*COMPLEX.pdb*). Para visualizarlos, puede utilizar PyMol o su visualizador de preferencia.
2. ¿Cómo setear valores de número de etapas, número de trayectorias, velocidad, distancia inicial y distancia final distinto a los valores por defecto?
 - **R:** Para consultar sobre los argumentos requeridos y opcionales, puede utilizar *setup_ASMD.sh --help* donde verá que esos argumentos (número de etapas, de trayectorias, etc) corresponden a argumentos opcionales. Para setear una velocidad de, por ejemplo, 100 Å/ns, debe proveer, además de los argumentos requeridos, el argumento *--velocity 100*. Esto se vería así:

```
bash    ../setup_ASMD.sh    -p    flp_solv_com.parm7    -c
npt_equil_6.rst7 --prot_mask ":358" --lig_mask ":560" --pull_length
20 --velocity 100
```

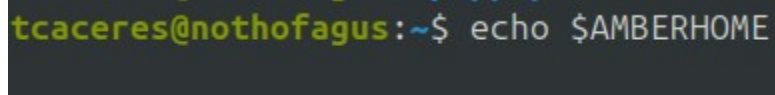
O si quiere modificar el número de etapas

```
bash    ../setup_ASMD.sh    -p    flp_solv_com.parm7    -c
npt_equil_6.rst7 --prot_mask ":358" --lig_mask ":560" --pull_length
20 --velocity 100 --stages 10
```

3. Mensaje “Error: cpptraj not available, exiting.” También aplica para el programa ambpdb y pmemd.cuda

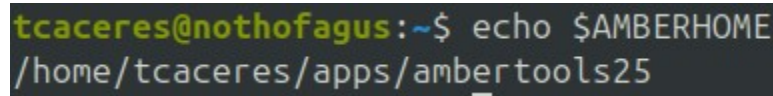
- **R:** Este error indica que el programa *cpptraj* no está disponible en la terminal. Esto puede ser debido a dos razones: 1) no está instalado AmberTools o 2) está instalado pero las variables necesarias no están seteadas en la terminal. Para la razón 1) diríjase a <<https://ambermd.org/Installation.php>>. Para la razón 2) debe ejecutar `echo $AMBERHOME` y debería obtener la ruta de instalación de Amber. Si no obtiene nada (ver foto 1), debe encontrar el directorio donde Amber está instalado, y ejecutar el script *amber.sh* (en la terminal, ejecutar `source amber.sh`) lo cual configurará las variables necesarias para poder utilizar los programas directamente en el terminal. Para saber si está todo listo, ejecutar `echo $AMBERHOME` y debería obtener la ruta de instalación de Amber (ver foto 2). Si no sabe ubicar el directorio de instalación, puede consultar a <tomas.caceres.m@usach.cl>.

Foto 1



```
tcaceres@nothofagus:~$ echo $AMBERHOME
```

Foto 2



```
tcaceres@nothofagus:~$ echo $AMBERHOME
/home/tcaceres/apps/ambertools25
```