

Universitat Rovira i Virgili
Grado de Química
Trabajo de Fin de Grado

Exploración Computacional de la Interacción entre la Albúmina Sérica Bovina y Polioxometalatos con Hierro (III): Un Biocatalizador Novedoso

Carles Moreno Vargas

Dirigido por:

Jordi Carbó Martín

y

Jordi Puiggalí I Jou



DEPARTAMENT DE QUÍMICA
FÍSICA i INORGÀNICA
Universitat Rovira i Virgili



Quantum
Chemistry
Group

Abstract

[ESP]

Este Trabajo de Fin de Grado aborda la comprensión molecular de la interacción entre polioxometalatos (POMs) tipo Keggin y Dawson (Wells-Dawson) y la albúmina sérica bovina (BSA), con vistas a su aplicación como biocatalizadores en reacciones redox fotoquímicas, principalmente la oxidación selectiva de hidrobenczoína. Se emplearon métodos computacionales, incluyendo docking molecular y simulaciones de dinámica molecular, para identificar sitios de unión en BSA, descubriendo un nuevo sitio de alta afinidad (etiquetado como IC) para ambos POMs. Las simulaciones, de 20 y 100 ns, demostraron la estabilidad y diferencias estructurales en las interacciones, que podrían explicar variaciones en la actividad catalítica. Además, se evaluó el efecto del disolvente, observando que el acetonitrilo puro favorece la agregación, mientras que el agua aumenta la movilidad y solvatación del complejo. Estos hallazgos proporcionan una base sólida para el diseño racional de sistemas biocatalíticos híbridos en oxidaciones fotoquímicas, abriendo camino a estudios futuros que incluyan cálculos DFT y optimización de condiciones catalíticas.

[ENG]

This Bachelor's thesis aims to understand the molecular mechanisms governing the interaction between Keggin and Dawson-type (Wells Dawson) polyoxometalates (POMs) and bovine serum albumin (BSA), targeting their use as biocatalytic systems in selective photoinduced redox reactions, especially benzoin oxidation. Computational tools, including molecular docking and molecular dynamics simulations, were employed to identify binding sites on BSA, revealing a novel high-affinity site (labeled as IC) for both POM types. The 20 and 100 ns simulations demonstrated the stability and structural differences of the interactions, potentially explaining catalytic activity variations. Additionally, solvent effects were studied, showing that pure acetonitrile promotes ion aggregation and reduced mobility, whereas water enhances solvation and protein mobility. These findings provide a robust foundation for the rational design of hybrid biocatalytic systems for photooxidation reactions, paving the way for future studies involving DFT calculations and catalytic optimization.

Agradecimientos

Durante la realización de este Trabajo de Fin de Grado he tenido la gran oportunidad de colaborar con el Dr. Jordi Carbó y el futuro doctor Jordi Puiggalí. Su trato ha sido excelente en todos los sentidos, tanto a nivel profesional como personal. Siempre han estado dispuestos a ayudarme en todo momento, y su pasión por la investigación ha sido tan contagiosa que me han hecho ver que a mí también me encantaría dedicarme a este ámbito en el futuro.

Agradezco también a Gonzalo Darío y Gerard Bru por introducirme al mundo de Python, lo cual ha sido fundamental para agilizar el proceso de análisis y evitar que ciertas tareas se volvieran tediosas. Asimismo, a Mario Villares, por enseñarnos a Albert y a mí a utilizar Overleaf, herramienta esencial para la redacción de este trabajo.

A mi compañero de TFG, Albert Soriol, con quien no solo he compartido buenos momentos, sino también una colaboración muy enriquecedora. Nuestra relación ha sido de auténtica simbiosis: cuando uno no sabía hacer algo, el otro lo complementaba. Además de un gran compañero, considero que he ganado un buen amigo.

Y, finalmente, al grupo de Química Computacional de la URV en su conjunto, por hacer que me sintiera muy cómodo durante todo este tiempo. Gracias a todos ellos, la experiencia ha sido tan grata que el tiempo ha pasado volando.

Índice

1. Objetivos	3
2. Introducción	5
3. Herramientas computacionales. <i>Docking</i> y dinámicas moleculares	11
3.1. Herramientas computacionales. Docking y dinámicas moleculares	11
3.1.1. Concepto general del docking	11
3.1.2. Funcionamiento de AutoDock4	12
3.1.3. Preparación del sistema	12
3.1.4. Cálculo de cargas: modelo de Gasteiger	12
3.1.5. Función de evaluación: <i>docking score</i>	13
3.1.6. Limitaciones del modelo	13
3.2. Dinámica Molecular: Fundamentos Teóricos	14
3.2.1. Principio físico del método clásico	14
3.2.2. Energía total, potencial y cinética	14
3.2.3. Tipos de campos de fuerza	16
3.2.4. Aspectos que simulan condiciones reales	17
3.2.5. Etapas típicas de una simulación de dinámica molecular	17
4. Detalles computacionales	19
5. Resultados y discusión	21
5.1. Exploración de los sitios de interacción en la proteína	21
5.2. Simulaciones de dinámica molecular POM-BSA	23

Índice	1
5.2.1. Simulaciones exploratorias de 20 ns	23
5.3. Simulaciones extensas de dinámica molecular	31
5.3.1. Energía de interacción	32
5.3.2. Deformación estructural	35
5.3.3. Mapas volumétricos	36
5.3.4. Persistencia de contacto por residuos clave	37
5.3.5. Discusión general de dinámicas exploratorias	41
5.3.6. Discusión general de simulaciones extendidas	42
5.3.7. Limitaciones metodológicas	42
6. Conclusiones	43
7. Bibliografía	45
8. Anexos	47

Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado es caracterizar computacionalmente la interacción entre la albúmina sérica bovina (BSA) y los polioxometalatos (POMs) de tipo Keggin y Dawson sustituidos con Fe(III). Se pretende relacionar estas interacciones con su aplicación como complejo biocatalítico en la oxidación fotoquímica de hidrobenczoína.

Objetivos específicos

- **Identificación de sitios de unión:** Explorar, mediante herramientas de acoplamiento molecular (*docking*), los lugares de interacción más estables entre la BSA y los POMs, incluyendo la validación del nuevo sitio IC descubierto.
- **Evaluación dinámica y energética:** Analizar, a través de simulaciones de dinámica molecular (20 ns exploratorios y 100 ns extensos), la estabilidad estructural y las energías de interacción en cada sitio identificado, comparando los sistemas con estructuras tipo Keggin y Dawson.
- **Caracterización del efecto del solvente:** Evaluar cómo varían la interacción, la estabilidad y el solvatación preferente de los complejos BSA–POMs al modificar la proporción de H₂O:ACN.

Introducción

Los enzimas son biomoléculas proteicas que actúan como catalizadores de reacciones químicas en organismos vivos. Se caracterizan por su alta eficiencia, especificidad y funcionamiento en condiciones benignas. Estas propiedades los convierten en herramientas clave en el desarrollo de procesos sostenibles. En este marco, la biocatálisis ha emergido como un campo de gran interés con aplicaciones en la síntesis química, farmacéutica y biotecnológica. Uno de sus principales retos es ampliar el repertorio de reacciones más allá de las transformaciones naturales, lo cual ha impulsado el desarrollo de metaloenzimas artificiales que combinan entornos proteicos con centros metálicos para explorar nuevas rutas catalíticas^{1,2}.

Un área particularmente prometedora es la fotocatalisis redox, donde la luz visible se emplea para activar reacciones redox mediante la generación de especies fotoactivas. En estos sistemas, la transferencia electrónica inducida por fotones puede generar especies reactivas como radicales o intermedios oxidados, útiles para transformaciones químicas selectivas. Un ejemplo relevante es la oxidación de 1,2-dioles como la hidrobenczoína, reacción que genera benzaldehído como producto. Esta transformación tiene un gran interés en química sintética por su aplicabilidad en la producción de compuestos aromáticos, precursores farmacéuticos y materiales funcionales³.

Recientemente, Zeymer et al.⁴ lograron inducir actividad fotoredox en una proteína artificial *de novo* (PLZ1.0) mediante la incorporación de un complejo de cerio como centro catalítico. Bajo irradiación visible y condiciones acuosas, esta metaloenzima permitió la escisión oxidativa de enlaces C–C en hidrobenczoína. El mecanismo propuesto implica una transferencia de carga ligando–metal (LMCT) y la generación de radicales alcóxidos en presencia de oxígeno molecular.

En este contexto, los polioxometalatos (POMs) surgen como cofactores inorgánicos versátiles. Son clústeres de óxidos metálicos compuestos por metales de transición en su estado de oxidación más alto (W, Mo, V, Nb), capaces de aceptar múltiples electrones y mostrar estructuras bien definidas y tunables. Los POMs presentan propiedades redox destacadas, estabilidad en solución acuosa y capacidad de funcionalización, lo que los hace atractivos para catálisis, electroquímica, biomedicina y ensamblaje molecular⁵.

Entre sus estructuras más comunes se encuentran los tipos Keggin y Dawson, que pueden ser modificados mediante la sustitución de un centro W(VI) por otros centros metálicos como el Fe(III), entre otras posibilidades, dando lugar a POMs funcionalizados con nuevas propiedades electrónicas y reactivas⁵.

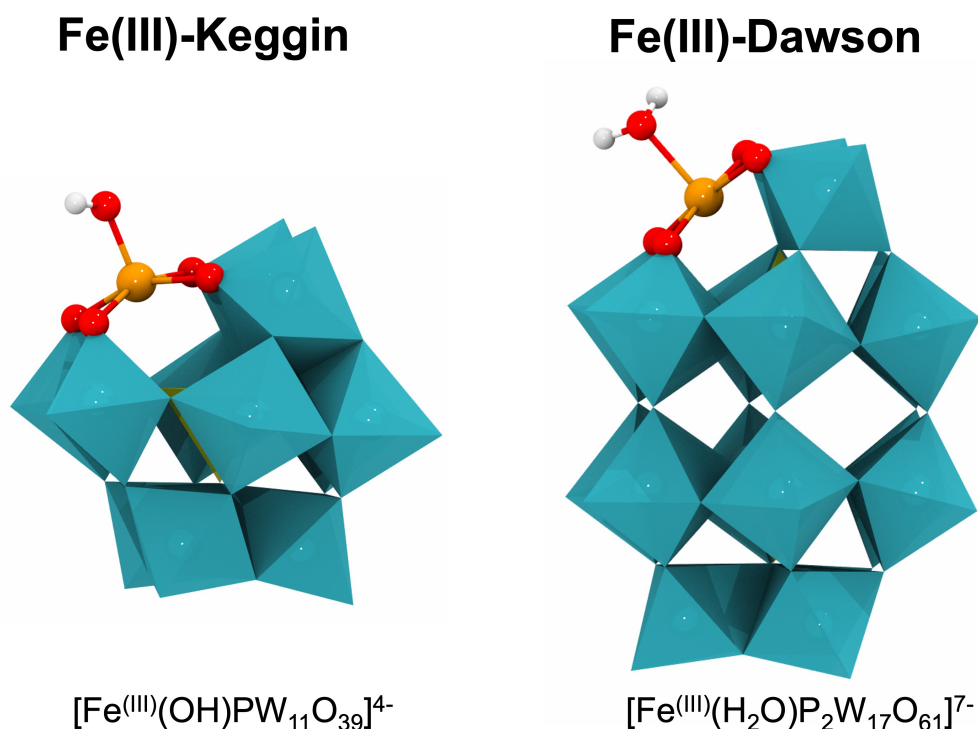


Figura 2.1: Representaciones gráficas de los polioxometalatos (POMs) de tipo Keggin y Dawson respectivamente sustituidos con hierro(III). Código de color: W (azul), Fe (naranja), O (rojo) y H (blanco), producidos con VMD⁶.

En el marco de oxidaciones fotoquímicas de dioles, la oxidación de la hidrobenczoína se usa como reacción modelo. El *Laboratory of Bioinorganic Chemistry* de KU Leuven ha desarrollado un sistema catalítico basado en la interacción entre POMs funcionalizados con Fe(III) y albúmina sérica bovina (BSA), generando metaloenzimas artificiales activas en condiciones acuosas bajo irradiación LED. Estos sistemas permiten oxidar hidrobenczoína con altos rendimientos (hasta 92 %) en presencia de luz y oxígeno⁷.

Antecedentes experimentales

Los estudios experimentales realizados por el grupo de la profesora Tatjana N. Parac-Vogt han demostrado que los POMs funcionalizados con Fe(III) (como Fe-Keggin y Fe-Dawson, ver Figura 2.1) pueden actuar como fotooxidantes eficientes. Su activación se produce mediante excitación de los orbitales *d* del Fe(III), lo cual permite la coordinación de oxígeno molecular y la generación de especies reactivas. Además, al estar inmovilizados en una proteína como BSA, se observa una cooperación significativa entre el *cluster* inorgánico y el entorno biológico. La proporción óptima observada para esta interacción fue 1:1.

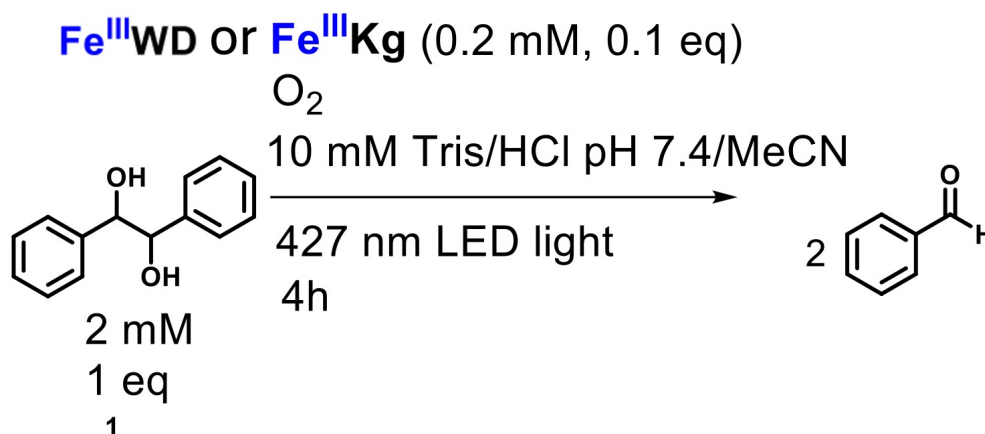


Figura 2.2: Esquema comparativo de la oxidación fotoquímica de hidrobenzoína catalizada por polioxometalatos tipo Keggin y Dawson.

La Figura 2.2 muestra la reacción de oxidación de hidrobenzoína (2 mM, 1 eq) mediada por Fe^{III}Keggin (Fe^{III}Kg, 0.2 mM, 0.1 eq) y Fe^{III}Dawson (Fe^{III}WD, 0.2 mM, 0.1 eq), en condiciones aeróbicas (O₂), utilizando una disolución de Tris/HCl (10 mM, pH 7.4) con acetonitrilo como co-solvente, bajo irradiación LED de 427 nm durante 4 horas. En ambos casos, se observa la formación de dos equivalentes de benzaldehído como producto principal.

Tabla 2.1: Rendimientos de la oxidación fotocatalítica de hidrobenzoína con distintos catalizadores basados en polioxometalatos de Fe(III), en ausencia y presencia de BSA. Los resultados fueron tomados del grupo del *Laboratory of Bioinorganic Chemistry* de KU Leuven.

Tabla de rendimientos	Yield / % (std)
Diferentes Catalizadores	
[Fe ^{III} (OH)PW ₁₁ O ₃₉] ⁴⁻ (FeKg)	37 (0.6)
[PW ₁₂ O ₄₀] ³⁻ (Kg)	4.1 (0.9)
[(FeOH ₂) _{α2} -P ₂ W ₁₇ O ₆₁] ⁷⁻ (FeWD)	50 (4)
[PW ₁₁ O ₃₉] ⁷⁻ (lacunary Kg)	0
FeCl ₃	0
Fe ₂ (acac) ₃	0
Sistema POM-BSA	
FeKg-BSA (20:1)	36 (0.1)
FeKg-BSA (2:1)	46 (1.8)
FeKg-BSA (1:1)	92 (0.5)
FeWD-BSA (1:1)	59 (4)

Selectividad estereoquímica

Los estudios también exploraron la conversión de distintos diastereoisómeros de hidrobenzoína: meso, (*R,R*) y (*S,S*). Se observó (Tabla 2.1 una fuerte influencia del entorno proteico en la selectividad, siendo el sistema Fe-Kegggin/BSA (1:1) el más eficiente para los isómeros enantiopuros (92 %), y algo menos para el isómero *meso* (63 %). Estos resultados refuerzan el potencial de estas metaloenzimas artificiales para reacciones estereoselectivas. La Tabla 2.2 muestra los valores de conversión para diferentes estereoisómeros (Figura 2.3) de la hidrobenzoína.

Tabla 2.2: Conversión para diferentes estereoisómeros de hidrobenzoína a benzaldehído (%) en la oxidación fotoquímica, en presencia de FeKg y diversas albúminas séricas.

Sistema catalítico	<i>meso</i>	(<i>R,R</i>)	(<i>S,S</i>)
FeKg (sin proteína)	30 % (± 1.3 %)	30 % (± 1.2 %)	34 % (± 0.0 %)
FeKg + BSA	63 % (± 1.0 %)	92 % (± 2.1 %)	92 % (± 0.4 %)
FeKg + HSA	72 % (± 0.5 %)	85 % (± 0.0 %)	87 % (± 2.3 %)
FeKg + PSA	57 % (± 2.8 %)	79 % (± 0.9 %)	59 % (± 0.4 %)
FeKg + RSA	54 % (± 0.0 %)	58 % (± 0.8 %)	60 % (± 0.6 %)

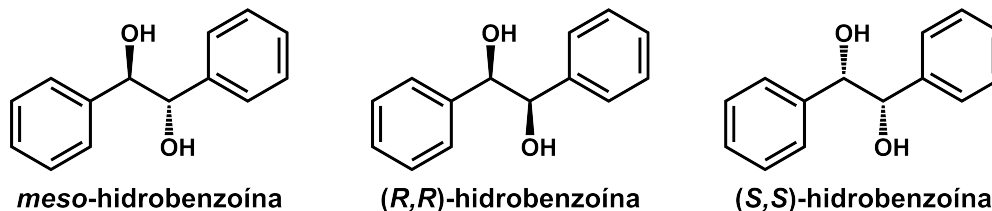


Figura 2.3: Representación del diastereoisomero *meso* y los enantiomeros *R,R* y *S,S* de la hidrobenzoína, hecho con el programa ChemDraw⁸

Interacción proteína–POM

La BSA está compuesta por tres dominios (I, II y III), cada uno con subdominios A y B. Entre los sitios más relevantes se encuentran los subdominios IIA y IIIA (sitios de *Sudlow* I y II). También destaca el subdominio IIB, que puede alojar moléculas pequeñas como la Warfarina (Figura 2.4). Esta se une al subdominio IIB interactuando con residuos clave como LYS211, TRP213, ARG208, TYR318, LYS322, LYS350 y TYR352⁹.

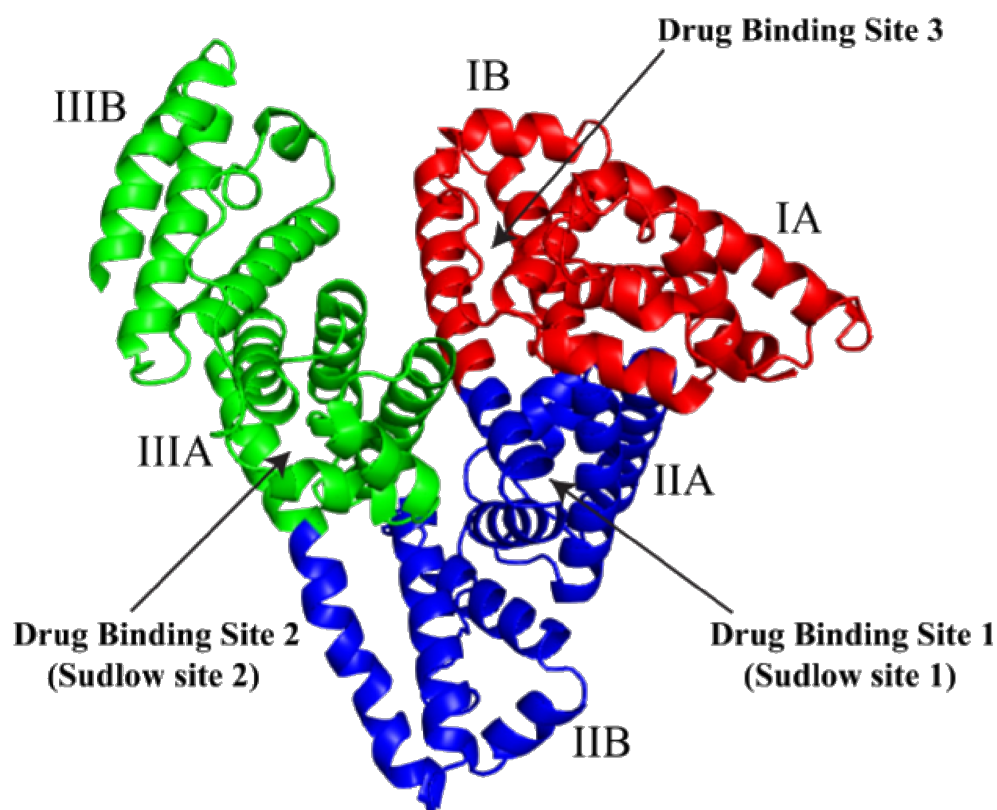


Figura 2.4: Organización de dominios de la albúmina sérica. Adaptado de Mishra *et al.*, 2021.¹⁰

- Los POMs funcionalizados con Fe(III) muestran un efecto cooperativo con la proteína: Ni los POMs sin hierro ni las sales de Fe(III) solas catalizan eficazmente la reacción.
- La combinación Fe-Keggin/BSA (1:1) alcanza rendimientos superiores al 90 %, evidenciando una sinergia entre el centro metálico y el entorno proteico.

Estos resultados son muy interesantes ya que resaltan un efecto singular en la interacción Keggin-BSA, el cual puede aportar nuevos conocimientos en el diseño racional de sistemas biocatalíticos híbridos con aplicaciones selectivas y sostenibles.

Herramientas computacionales. *Docking* y dinámicas moleculares

Para profundizar en la comprensión de estos sistemas híbridos, el presente trabajo empleará herramientas computacionales como acoplamiento molecular (*docking*) y dinámica molecular (MD). Estas metodologías permiten estudiar las interacciones POM · · · proteína a nivel atómico, identificar los modos de unión más favorables y analizar la dinámica estructural del sistema catalítico. Estudios previos han demostrado la utilidad de estas técnicas para investigar interacciones POM–proteína y para predecir la estabilidad y reactividad de complejos supramoleculares en solución^{6,11-14}.

3.1. Herramientas computacionales. Docking y dinámicas moleculares

El acoplamiento molecular (*molecular docking*) es una técnica computacional diseñada para predecir la interacción entre una molécula pequeña (ligando) y una macromolécula (receptor), que en la mayoría de los casos son proteínas, utilizando campos de fuerza clásicos. Esta técnica estima tanto la conformación del complejo como su afinidad de unión. Su aplicación abarca desde la biología estructural hasta la catálisis y el diseño racional de moléculas bioactivas^{15,16}.

3.1.1. Concepto general del docking

El proceso de docking se basa en dos pilares principales:

1. **Exploración conformacional:** se generan múltiples poses del ligando respecto al receptor, considerando translaciones, rotaciones y torsiones internas.
2. **Evaluación energética (scoring):** se asigna una puntuación a cada pose en función de una función empírica de energía que estima la estabilidad del complejo.

AutoDock4, uno de los programas más utilizados para este propósito, emplea una estrategia de acoplamiento semi-flexible: el ligando es flexible y el receptor rígido. Este modelo permite un equilibrio entre precisión y eficiencia computacional¹⁶.

3.1.2. Funcionamiento de AutoDock4

AutoDock4 utiliza un algoritmo genético de Lamarck (*Lamarckian Genetic Algorithm*) para explorar eficientemente el espacio conformacional. Este algoritmo combina mutaciones aleatorias con un refinamiento local para identificar mínimos de energía¹⁶.

3.1.3. Preparación del sistema

Para realizar una simulación con AutoDock4, se requiere preparar correctamente la información del ligando y del receptor:

- Ambos deben estar en formato `.pdbqt`, que incluye coordenadas, tipos atómicos, cargas parciales y rotaciones permisibles.
- El receptor se trata como rígido, mientras que el ligando conserva rotaciones alrededor de enlaces simples.
- Se define una caja de búsqueda (*grid box*) alrededor del sitio activo o en todo el receptor (docking ciego).
- Se generan mapas de energía para cada tipo atómico del ligando (archivos `.map`).

3.1.4. Cálculo de cargas: modelo de Gasteiger

Las cargas atómicas parciales son necesarias para calcular las interacciones electrostáticas, que tienen alta relevancia para definir las interacciones ligando · · · proteína. AutoDock emplea, por defecto, las cargas de Gasteiger-Marsili¹⁷, calculadas mediante un método iterativo de redistribución de carga basado en diferencias de electronegatividad entre átomos enlazados, tal y como se describe en la siguiente ecuación:

$$\delta q = \frac{\chi_i - \chi_j}{\eta_i + \eta_j} \quad (1)$$

donde:

- δq es la carga parcial transferida entre los átomos i y j .
- χ_i y χ_j son las electronegatividades de los átomos i y j , respectivamente.
- η_i y η_j son las durezas químicas, o parámetros relacionados con la resistencia al cambio de carga, de los átomos i y j .

Estas cargas se calculan rápidamente y ofrecen resultados razonables para métodos semiempíricos como AutoDock.

3.1.5. Función de evaluación: *docking score*

AutoDock4 estima la energía libre de unión (ΔG_{bind}) de cada conformación usando una función empírica basada en múltiples contribuciones físicas y estadísticas:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \sum [W_{\text{vdW}}E_{\text{vdW}} + W_{\text{elec}}E_{\text{elec}} + W_{\text{HB}}E_{\text{HB}} + W_{\text{desolv}}E_{\text{desolv}}] + W_{\text{tors}}N_{\text{tors}} \quad (2)$$

donde:

- E_{vdW} es la energía de Van der Waals (potencial Lennard-Jones)¹⁸.
- E_{elec} es la energía electrostática (ley de Coulomb)¹⁹.
- E_{HB} es la energía por puentes de hidrógeno.
- E_{desolv} es la penalización de desolvación basada en volumen atómico.
- N_{tors} es el número de enlaces rotables en el ligando.
- W_i son coeficientes ajustados por regresión sobre datos experimentales.

Interpretación: Cuanto más negativo es el valor de ΔG_{bind} , mayor es la afinidad teórica de unión del ligando con el receptor. No obstante, esta metodología tiene limitaciones al utilizar parámetros clásicos y empíricos, por lo que los resultados deben considerarse cualitativos y complementarse con simulaciones de dinámica molecular para un análisis más detallado.

3.1.6. Limitaciones del modelo

Aunque AutoDock es una herramienta poderosa, presenta ciertas limitaciones:

- Considera el receptor rígido por defecto, lo que puede excluir efectos de *induced fit*.
- El *scoring* no contempla de forma completa el efecto entrópico.
- El método depende en gran medida de la calidad de la preparación del sistema.

Induced fit: este término se refiere a la capacidad que tienen las proteínas para adaptar su conformación al unirse a un ligando, modificando la estructura de su sitio activo para optimizar la interacción. Dado que AutoDock considera el receptor generalmente como rígido, no captura completamente estos cambios conformacionales, lo que puede limitar la precisión en la predicción de modos de unión reales.

3.2. Dinámica Molecular: Fundamentos Teóricos

La dinámica molecular (MD) es una técnica de simulación basada en la mecánica clásica que permite estudiar el comportamiento temporal de sistemas moleculares mediante la integración de las ecuaciones de Newton²⁰. Esta aproximación, aunque simplificada en comparación con métodos cuánticos, permite acceder a escalas espaciales y temporales imposibles de alcanzar con otras metodologías más precisas, pero también más costosas computacionalmente.

3.2.1. Principio físico del método clásico

En la aproximación clásica, se considera que los átomos son partículas puntuales de masa conocida, y sus movimientos están determinados por la segunda ley de Newton:

$$m_i \cdot \vec{a}_i = \vec{F}_i = -\nabla_i V(\vec{r}) \quad (3)$$

donde $V(\vec{r})$ representa la energía potencial del sistema en función de las coordenadas de los átomos. La trayectoria temporal del sistema se obtiene integrando estas ecuaciones con algoritmos numéricos, como Verlet o Leapfrog, a lo largo de pasos de tiempo del orden de femtosegundos.

3.2.2. Energía total, potencial y cinética

La energía total del sistema en dinámica molecular se descompone en la suma de la energía potencial y la energía cinética:

$$E_{\text{total}} = E_{\text{pot.}} + E_{\text{cin.}} \quad (4)$$

donde:

$$E_{\text{pot.}} = E_{\text{enlaces}} + E_{\text{no enlace}}$$

es la energía potencial, compuesta por términos asociados a enlaces y no enlaces, y

$$E_{\text{cin.}} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N m_i v_i^2 \quad (5)$$

es la energía cinética, con m_i y v_i la masa y velocidad del átomo i , respectivamente.

Términos de enlace

Incluyen interacciones entre átomos conectados mediante enlaces covalentes:

■ **Estiramiento de enlaces:**

$$E_{\text{stretch}} = \sum k_r (r - r_0)^2 \quad (6)$$

donde:

- k_r es la constante de fuerza del enlace.
- r es la distancia entre dos átomos.
- r_0 es la distancia de equilibrio del enlace de esos dos átomos.

■ **Ángulos de enlace:**

$$E_{\text{bend}} = \sum k_\theta (\theta - \theta_0)^2 \quad (7)$$

donde:

- k_θ es la constante de fuerza del ángulo.
- θ es el ángulo en que se encuentran los tres átomos.
- θ_0 es el ángulo de equilibrio entre esos tres átomos.

■ **Torsión de ángulos diedros:**

$$E_{\text{torsion}} = \sum V_n [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \quad (8)$$

donde:

- V_n es la amplitud de la torsión.
- n es el número de repeticiones periódicas.
- ϕ es el ángulo diedro.
- γ es el desfase.

Términos no covalentes

Son fundamentales para capturar el comportamiento de moléculas en solución:

■ **Interacciones de Van der Waals**, típicamente modeladas mediante el potencial de Lennard-Jones¹⁸

$$E_{\text{vdW}} = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (9)$$

donde:

- ϵ es la profundidad del pozo del potencial.
- σ es la distancia a la cual la energía es cero.
- r es la distancia entre átomos.

- **Interacciones electrostáticas**, descritas por la ley de Coulomb¹⁹:

$$E_{\text{elec}} = \sum \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (10)$$

donde:

- q_i y q_j son las cargas parciales de los átomos i y j .
- ϵ_0 es la permitividad eléctrica del vacío.
- r_{ij} es la distancia entre los átomos i y j .

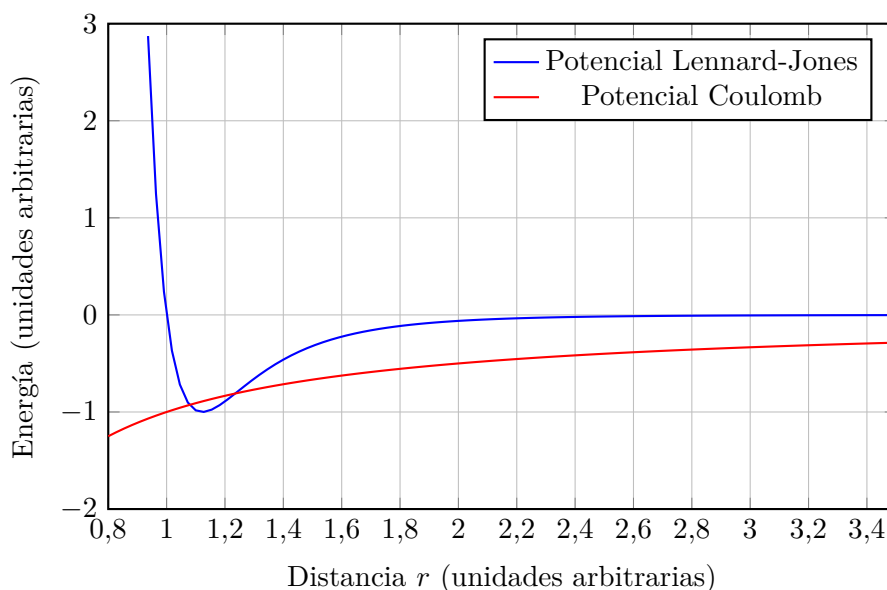


Figura 3.1: Comparación de perfiles de energía típicos: el potencial de Lennard-Jones modela interacciones de Van der Waals, exhibiendo una fuerte repulsión a distancias cortas y una atracción débil a distancias intermedias, caracterizada por un mínimo de energía a la distancia de equilibrio. Por otro lado, el potencial de Coulomb describe la interacción electrostática entre cargas puntuales, que decrece de manera monótona con la distancia. La principal diferencia radica en que Lennard-Jones incluye un equilibrio entre fuerzas atractivas y repulsivas, mientras que Coulomb solo muestra interacción atractiva o repulsiva dependiendo del signo de las cargas.

3.2.3. Tipos de campos de fuerza

Existen múltiples campos de fuerza desarrollados para distintos tipos de sistemas:

- **UFF** (Universal Force Field): cubre toda la tabla periódica, útil en sistemas inorgánicos²¹.
- **AMBER, CHARMM, GROMOS**: diseñados para biomoléculas como proteínas y ácidos nucleicos²².
- **Force fields específicos**: para sistemas no convencionales, como polioxometalatos, pueden desarrollarse manualmente con ayuda de datos cuánticos²³.

3.2.4. Aspectos que simulan condiciones reales

Para imitar un sistema físico real, se aplican técnicas adicionales en la simulación:

- **Condiciones de contorno periódicas (PBC):** permiten simular un volumen infinito replicando la caja de simulación en el espacio tridimensional.
- **Técnicas de acoplamiento térmico y barostático:** se usan termostatos (Nosé-Hoover^{24,25} y Berendsen²⁶) y barostatos (Parrinello-Rahman²⁷) para mantener la temperatura y la presión constantes.
- **Ecuaciones de estado canónicas:** las simulaciones suelen realizarse en ensembles NVT o NPT para emular condiciones experimentales.

3.2.5. Etapas típicas de una simulación de dinámica molecular

Una simulación de dinámica molecular sigue una serie de pasos necesarios para obtener resultados fiables:

1. **Minimización de energía:** elimina contactos no realistas o tensiones en la geometría inicial.
2. **Equilibración NVT (volumen constante):** estabiliza la temperatura del sistema usando termostatos como Berendsen o Nosé-Hoover²⁴⁻²⁶.
3. **Equilibración NPT (presión constante):** ajusta la densidad del sistema usando barostatos como el de Parrinello-Rahman²⁷.
4. **Producción:** una vez equilibrado, se realiza la simulación principal bajo condiciones controladas (por ejemplo, NVT a 300 K durante 10 ns).

Detalles computacionales

Todos los cálculos computacionales se han llevado a cabo utilizando programas específicos tanto para la preparación de los sistemas como para las simulaciones y su posterior análisis. En la Tabla 4.1 se indican los programas empleados y su función respectiva.

Tabla 4.1: Programas utilizados en el estudio y sus respectivas funciones.

Programa	Función
GROMACS 2022 ¹²	Simulación de dinámica molecular (MD) clásica utilizando el campo de fuerza AMBER99 ²⁸ .
AutoDock v4.2.6 ¹³	Realización de cálculos de acoplamiento molecular (docking).
Open Babel v3.0.0 ²⁹	Conversión de archivos moleculares entre distintos formatos.
VMD v1.9.4a55 ⁶	Visualización de estructuras y trayectorias moleculares.
MDAnalysis v2.9.0 ¹⁴	Análisis de trayectorias moleculares mediante <i>scripts</i> en Python.
PyMol v3.1 ¹¹	Visualización de mapas electrostáticos y estructuras moleculares.

Acoplamiento molecular

Los cálculos de acoplamiento molecular se realizaron mediante AutoDock v4.2.6¹³, utilizando AutoDockTools (ADT) como interfaz gráfica para la preparación de archivos y análisis de los resultados.

Se generaron los archivos necesarios en formato `.pdbqt` para el receptor (proteína) y el ligando (POM tipo Keggin y Dawson), aplicando cargas de Gasteiger¹⁵ y añadiendo hidrógenos polares. Los parámetros de interacción no enlazantes para los átomos metálicos del POM (como W y Fe) se definieron manualmente en un archivo adicional de parámetros Lennard-Jones (`AD4_parameters.dat`). Dichos parámetros fueron extraídos a partir del archivo `.itp` desarrollado por el grupo de investigación³⁰, que incluye cargas parciales calculadas mediante el método CHELPG³¹, y procesados mediante un *script* (Figura 6.9) propio para obtener los valores de interacción no enlazante (parámetros tipo *A* y *B* del potencial de Lennard-Jones).

La caja de docking (*grid box*) se definió con un tamaño de $60 \times 60 \times 60$ puntos y un espaciado de $0,375 \text{ \AA}$, centrada sobre el centro geométrico del sitio activo. Los mapas de potencial fueron generados con `autogrid4`, y las simulaciones de acoplamiento se llevaron a cabo utilizando el

algoritmo Lamarckian Genetic Algorithm (LGA). Se realizaron 20 ejecuciones independientes, cada una con una población de 150 individuos, permitiendo hasta 2.5 millones de evaluaciones y un máximo de 27,000 generaciones por corrida.

Los resultados fueron visualizados con AutoDockTools, seleccionando la conformación con menor energía libre de acoplamiento para su posterior análisis estructural y como punto de partida para las simulaciones de dinámica molecular.

Simulaciones de dinámica molecular

Las simulaciones se llevaron a cabo utilizando GROMACS 2022¹², con el campo de fuerza AMBER99²⁸, adaptado para incluir los parámetros del polioxometalato (POM) tratado como sistema rígido mediante el protocolo de Bonet-Ávalos et al.³⁰, implementado a través del programa `topoM0x`³².

El agua fue modelada con el modelo TIP3P³³, mientras que el acetonitrilo se representó utilizando el modelo de fuerza clásico desarrollado por Pintado et al.³⁴. La energía potencial del sistema (U) se describió como la suma de términos de enlace (enlaces, ángulos y dihedros) y no enlace (interacciones de tipo 1–6–12, es decir, electrostáticas y de van der Waals). Estas últimas se aplican tanto a átomos de distintas moléculas como a aquellos separados por más de tres enlaces en la misma molécula.

Todas las simulaciones se realizaron a una temperatura constante de 298.15 K, utilizando el termostato de V-rescale para el acoplamiento térmico. Para el conjunto formado por la proteína, el solvente (agua, acetonitrilo) y los iones, se utilizó un valor de $\tau\text{-}t = 0.1$. En cambio, para el grupo correspondiente al POM se aplicó un valor reducido de $\tau\text{-}t = 0.02$, con el fin de evitar inestabilidades térmicas sin comprometer su rigidez estructural.

Se realizó una doble minimización energética con el algoritmo de *steepest descent*. Primero se minimizó el sistema compuesto por la proteína y el POM en una caja de 12 nm³; luego se añadió el solvente y se efectuó una nueva minimización para relajar las interacciones soluto-solvente. Posteriormente, se añadieron los iones Na⁺ necesarios para neutralizar el sistema.

A continuación, se llevaron a cabo dos simulaciones de equilibrio bajo condiciones NVT, cada una con una duración de 500 ps. En la primera simulación se congelaron los átomos de la proteína y el POM para permitir la reorganización del solvente. En la segunda, se liberaron todas las restricciones para permitir una relajación completa del sistema.

Después se efectuó una simulación en condiciones NPT de 250 ps utilizando el baróstato de Parrinello-Rahman, permitiendo la estabilización de la densidad y el ajuste del volumen.

Las simulaciones de producción fueron de 20 ns y 100 ns, con un paso temporal de 2 fs. Se aplicaron restricciones sobre enlaces con hidrógenos mediante el algoritmo LINCS, manteniéndose constantes la temperatura y la presión durante toda la producción.

Resultados y discusión

Se utilizó el acoplamiento molecular mediante AutoDock4¹³ para identificar zonas de unión preferentes del ligando en la superficie proteica y obtener geometrías de partida robustas. En lugar de emplear un *blind docking*, se realizaron *dockings dirigidos* a regiones¹⁰ de alto interés, identificadas previamente por criterios estructurales. A partir de las conformaciones más estables obtenidas por docking, se realizaron simulaciones de dinámica molecular (MD¹²) usando GROMACS, para analizar la estabilidad estructural de los complejos y caracterizar en detalle las interacciones intermoleculares.

5.1. Exploración de los sitios de interacción en la proteína

Se realizaron un total de 10 simulaciones de acoplamiento molecular (*dockings*) en la proteína BSA, 5 para cada tipo de polioxometalato (POM), Keggin y Dawson, utilizando AutoDock4 para cada una de las potenciales regiones de unión reportadas y sugeridas por el grupo experimental de KU Leuven, nombradas como IB, IIB, IA, IIIA e IC (Figura 5.1). Excepcionalmente, la zona IC fue identificada a partir de mapas electrostáticos generados con PyMOL (Figura 5.2) y método por saturación. Esta última metodología consiste en saturar la proteína con POMs (20 en este caso) en una caja solvatada y realizar una dinámica molecular de 20 ns. Con esta simulación se pudo identificar la zona IC, donde se observó una interacción entre el POM y la proteína que se produjo rápidamente y fue persistente durante toda la simulación. El sitio IC, no reportado previamente, respalda el enfoque metodológico aplicado. Esta nueva propuesta resulta relevante al presentar una nueva zona de potencial interacción entre los POMs y la BSA, con posibles implicaciones en la actividad biológica de estos complejos.

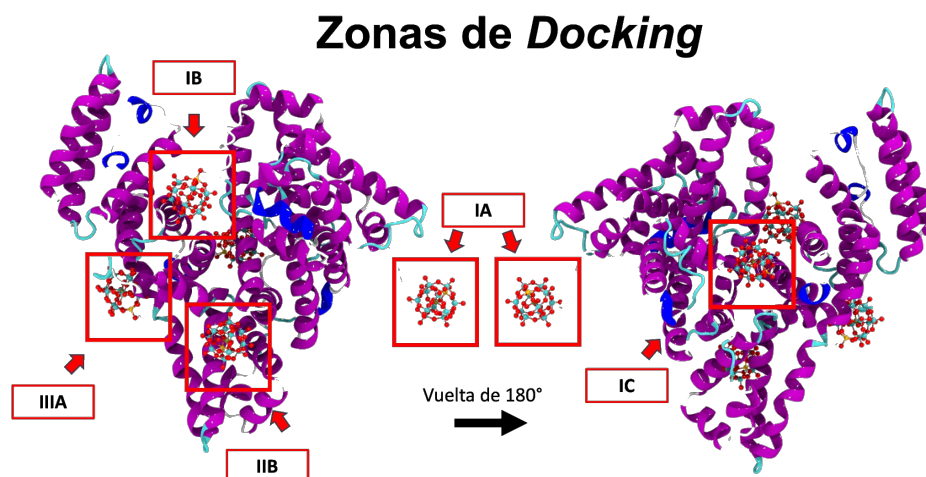


Figura 5.1: Sitios de docking producidos con AutoDock en la proteína BSA, visualizados con VMD.

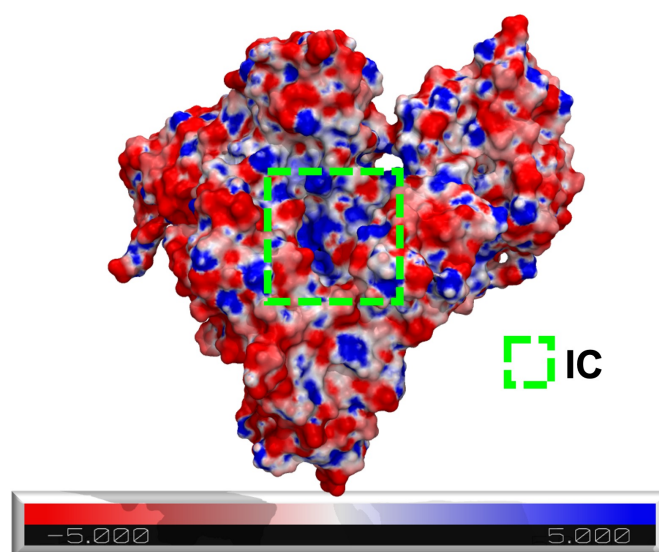


Figura 5.2: Mapa electrostático generado con PyMOL¹¹ de la proteína BSA con indicación de color verde del sitio IC identificado como zona preferente de interacción para POMs. La barra de colores inferior muestra la escala del potencial electrostático en unidades de kT/e , donde los colores rojos indican regiones con carga negativa, los colores azules representan zonas con carga positiva y los colores intermedios (blancos o tonos neutros) áreas con carga cercana a cero.

Los *docking scores*, que representan la afinidad de unión (en KJ/mol), se muestran en la Tabla 5.1. Cuanto más negativo es el valor, mayor es la afinidad del POM por el sitio indicado. El análisis comparativo muestra que el sitio IC es el de mayor afinidad para el compuesto tipo Keggin, con un valor de $-38.1 KJ/mol$, mientras que para Dawson, el sitio más favorable fue el IIIA, con $-34.7 KJ/mol$. Estas diferencias sugieren que cada tipo de POM presenta preferencias distintas de unión en la BSA, posiblemente debido a variaciones en su geometría y distribución de carga.

Tabla 5.1: Docking scores para los compuestos Keggin y Dawson en los distintos sitios de interacción presentados en $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Sitio	Keggin	Dawson
IB	-18.8	-23.4
IIB	-18.8	-12.1
IA	-14.2	-13.0
IIIA	-34.7	-27.6
IC	-38.1	-23.0

Es importante considerar que los *docking scores* no incluyen explícitamente los efectos dinámicos del sistema con su entorno, incluyendo sus interacciones con el solvente y los contraiones. Sin embargo, ofrecen una primera aproximación para estimar la afinidad relativa de los ligandos, y permiten seleccionar conformaciones representativas que serán refinadas mediante simulaciones de dinámica molecular. Adicionalmente, esta técnica proporciona estructuras de partida de los complejos POM–proteína más precisas respecto a la construcción manual de estas para la realización de simulaciones clásicas.

5.2. Simulaciones de dinámica molecular POM-BSA

Con el objetivo de caracterizar de manera más profunda la interacción entre los polioxometalatos (POMs) y la albúmina sérica bovina (BSA), se diseñaron dos fases de simulación de dinámica molecular. La proteína BSA se tomó de la estructura cristalográfica con código PDB 4F5S³⁵, la cual fue utilizada como base para todos los sistemas simulados. Cada sistema consistió en una caja cúbica de 12 nm^3 que contenía un único POM, ya sea de tipo Keggin o Dawson, dependiendo del sistema, junto con las contracationes necesarias para neutralizar la carga, que en este caso fueron iones sodio (Na^+). El solvente empleado fue una mezcla 50:50 en volumen de agua y acetonitrilo, con el fin de simular condiciones experimentales relevantes para la actividad biocatalítica. La primera fase comprendió simulaciones exploratorias de 20 ns, orientadas a evaluar la estabilidad inicial de los complejos proteína–ligando, la interacción electrostática, la solvatación y la posible deformación conformacional inducida en la proteína. Además, se analizaron los tiempos de contacto (*time binding*) y las regiones más frecuentemente ocupadas por los POMs mediante mapas volumétricos (*volmap*).

5.2.1. Simulaciones exploratorias de 20 ns

Se realizaron simulaciones de 20 ns utilizando las conformaciones más estables obtenidas por *docking* en las zonas IA, IB, IIB e IC, para ambos POMs: Keggin y Dawson sumando un total de 10 dinámicas producidas. Estas simulaciones permitieron observar diferencias clave en la estabilidad de los complejos en función del tipo de POM y la zona de acoplamiento.

Uno de los principales elementos para evaluar la estabilidad de las interacciones es a partir de las energías de interacción de tipo Coulomb de corto alcance, descartando las interacciones de

Lennard-Jones por su menor magnitud y variación relativa.

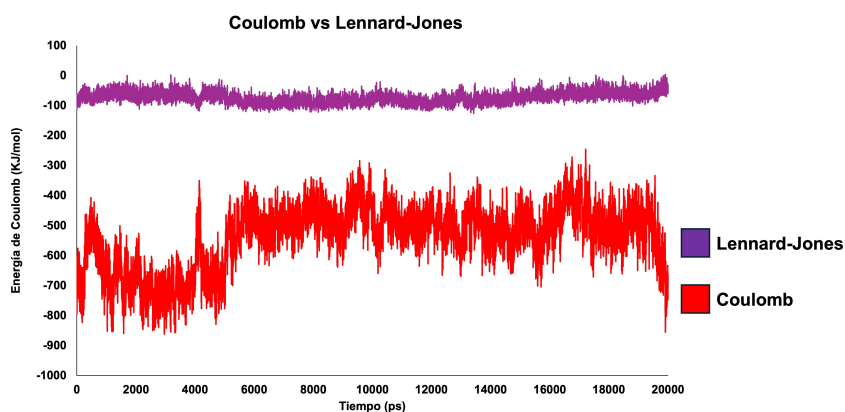


Figura 5.3: En esta figura de la interacción POM-Proteína, sacada del sistema IC, podemos ver como los valores de Lennard-Jones (LJ) son despreciables. En todas las simulaciones se ha verificado que la interacción LJ tiene valores muy bajos en valor absoluto en comparación a la de tipo Coulombica.

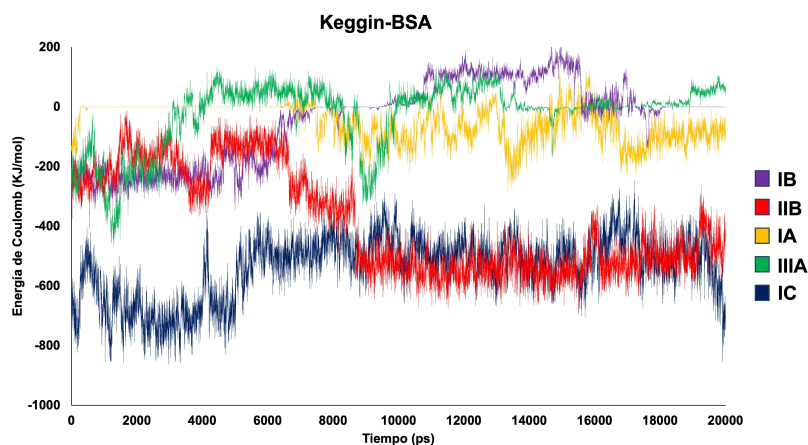


Figura 5.4: Energía de interacción Coulomb *short-range* entre la BSA y el POM tipo Keggin en medio 50:50 v/v ACN:H₂O (promedio de los últimos 10 ns).

Tabla 5.2: *Docking scores* y energías relativas de interacción potencial para las distintas zonas de unión del POM tipo Keggin en BSA. Las energías están referidas a la zona con energía más estable (IIB).

Sitio	<i>Docking Score</i> (kJ/mol)	$\Delta E_{\text{POM-BSA}}$ (kJ/mol)
IB	-18.8	580
IIB	-18.8	0
IA	-14.2	445
IIIA	-34.7	546
IC	-38.1	22

Las Figuras 5.3 y 5.4 muestran la evolución temporal de la interacción entre el POM tipo Keggin y la proteína para los diferentes sitios de la proteína explorados. Durante el tiempo de simulación, se observa que la interacción del POM en los sitios IIB e IC es más fuerte y persistente que en los sitios IB, IA y IIIA. Al comparar las energías de interacción POM-BSA con los valores de *docking score* Tabla 5.2, no se aprecia una correlación clara, pero ambas aproximaciones señalan el sitio IC

como uno de los lugares de interacción preferente. Según las simulaciones de dinámica molecular, la diferencia energética entre las zonas IC e IIB es pequeña, aproximadamente 22 kJ/mol. Estas discrepancias entre aproximaciones probablemente son debidas a que el entorno de solvatación no fue considerado durante el proceso de acoplamiento molecular, además de las limitaciones intrínsecas en la definición del *docking score*, que utiliza parámetros empíricos y modelos simplificados para evaluar la afinidad.

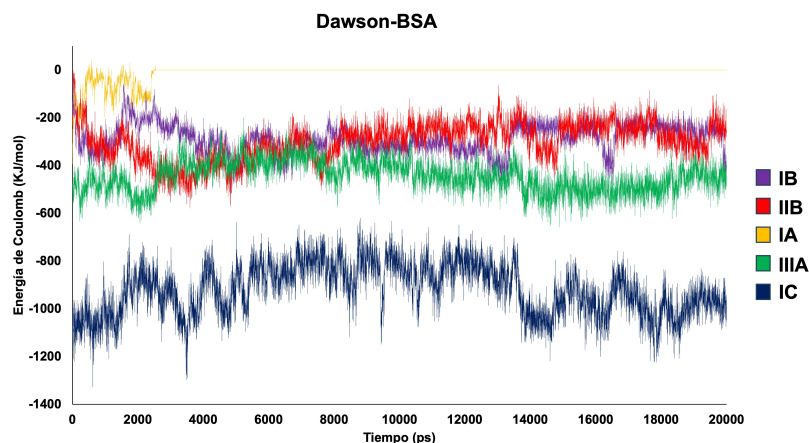


Figura 5.5: Energía de interacción Coulomb *short-range* entre la BSA y el POM tipo Dawson en medio 50:50 v/v ACN:H₂O (promedio de los últimos 10 ns).

Tabla 5.3: *Docking scores* y energías relativas de interacción potencial para las distintas zonas de unión del POM tipo Dawson en BSA. Las energías están referidas a la zona con energía más estable (IC).

Sitio	<i>Docking Score</i> (kJ/mol)	$\Delta E_{\text{POM-BSA}}$ (kJ/mol)
IB	-23.43	654
IIB	-12.14	679
IA	-12.96	935
IIIA	-27.59	467
IC	-23.01	0

La Figura 5.5 y la Tabla 5.3 recogen los valores de la energía de interacción POM-BSA para el anión Dawson. En cuanto a la posible correlación entre los *docking scores* y las energías de interacción en el caso del POM de tipo Dawson, no se observa una relación tan clara como en Keggin. Los valores más altos de *docking score* no siempre corresponden a mayores interacciones con la proteína. Esto puede deberse a que el proceso de docking no incluye el efecto del entorno de solvatación, y en el caso de Dawson, este efecto es más pronunciado que en Keggin, posiblemente debido a su mayor superficie, afectando notablemente la afinidad estimada en ausencia de solvente explícito. Para el POM tipo Dawson sustituido con hierro(III), la zona IC es la más estable, con una diferencia significativa respecto al siguiente sitio más estable, IIIA, con 467 kJ · mol⁻¹ de diferencia. La zona IIB es la segunda menos estable, con 679 kJ · mol⁻¹ respecto a la zona IC, lo cual supone una diferencia respecto al caso del Keggin.

Deformación proteica (RMSD)

La desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés) es una medida cuantitativa que se utiliza para evaluar la estabilidad y los cambios conformacionales de una estructura molecular a lo largo del tiempo durante una simulación. Un valor bajo de RMSD indica que la estructura se mantiene estable y cercana a la conformación de referencia, mientras que valores elevados sugieren cambios conformacionales significativos.

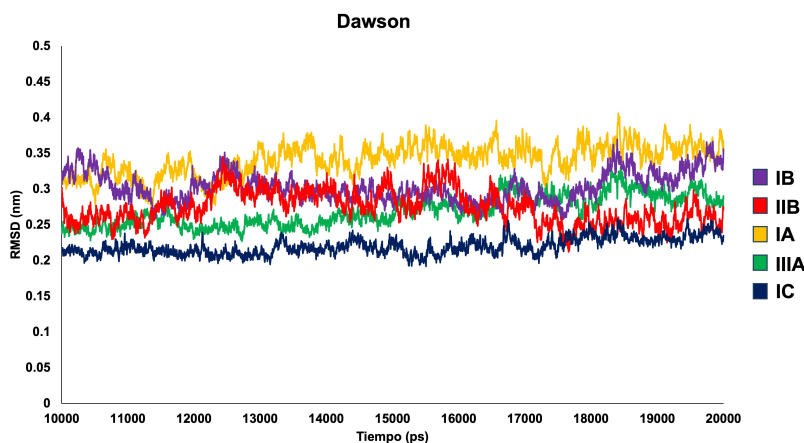


Figura 5.6: RMSD para los complejos BSA–Dawson en las zonas IA, IB, IC, IIB y IIIA.

Tabla 5.4: Valores de RMSD promedio de la proteína BSA durante los últimos 10 ns de simulación en diferentes sitios de unión con los POMs de tipo Dawson.

Sitio	RMSD (nm)
IB	0.305
IIB	0.274
IA	0.341
IIIA	0.269
IC	0.220

La Figura 5.6 muestra la evolución del valor RMSD a lo largo de las diferentes simulaciones dinámicas para el POM tipo Dawson. Los valores de RMSD se mantuvieron dentro de un rango moderado (0.3–0.4 nm), como se puede ver en la Tabla 5.4, sin evidenciar inestabilidad estructural significativa. Las zonas IC e IIB mostraron menor desviación estructural, sugiriendo la estabilidad de la interacción sin ningún efecto significativo en la estructura proteica ya que para considerarlos como significativos deberían estar alrededor de 1 nm según estudios de RMSD en proteínas³⁶.

Mapas volumétricos de ocupación

Para analizar la distribución espacial y la persistencia de los POMs alrededor de la proteína BSA durante las simulaciones exploratorias de 20 ns, se generaron mapas volumétricos de ocupación utilizando la herramienta *VolMap* disponible en VMD⁶.

Estos mapas volumétricos representan la densidad espacial acumulada del ligando a lo largo de la trayectoria, destacando las regiones donde el POM pasa más tiempo y, por tanto, las zonas de mayor afinidad o interacción preferente. En otras palabras, proporcionan una visualización tridimensional de las áreas de mayor frecuencia de localización del POM sobre la superficie proteica, lo que ayuda a identificar los sitios de unión más estables y relevantes en términos de contacto persistente (Figuras 5.7 y 5.8).

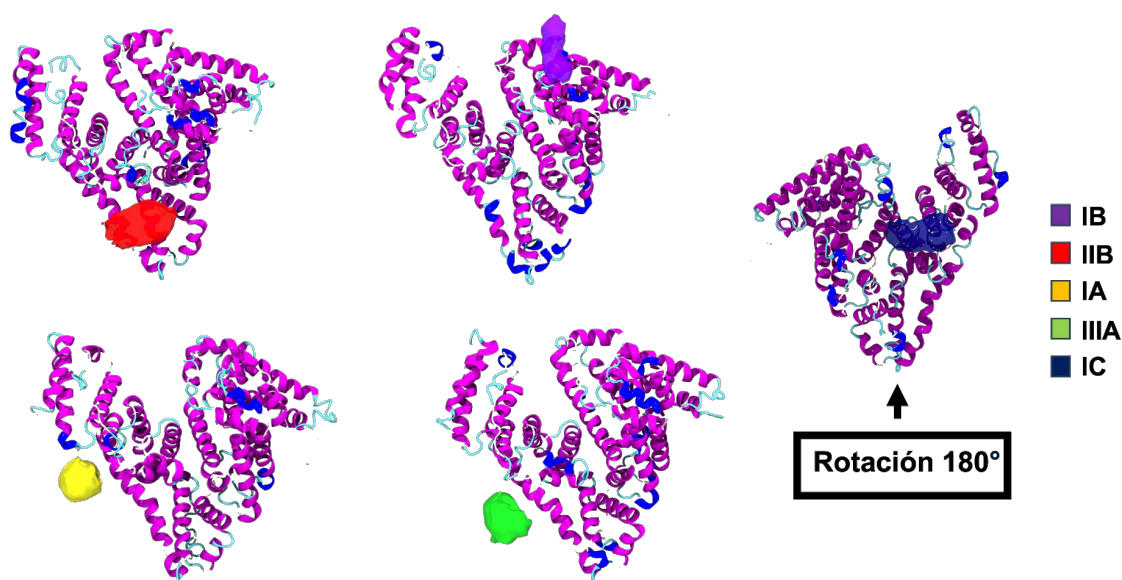


Figura 5.7: Mapa volumétrico de ocupación del POM tipo Keggin en BSA durante una simulación de 20 ns. Las regiones más intensas corresponden a las zonas donde el POM se localiza con mayor frecuencia.

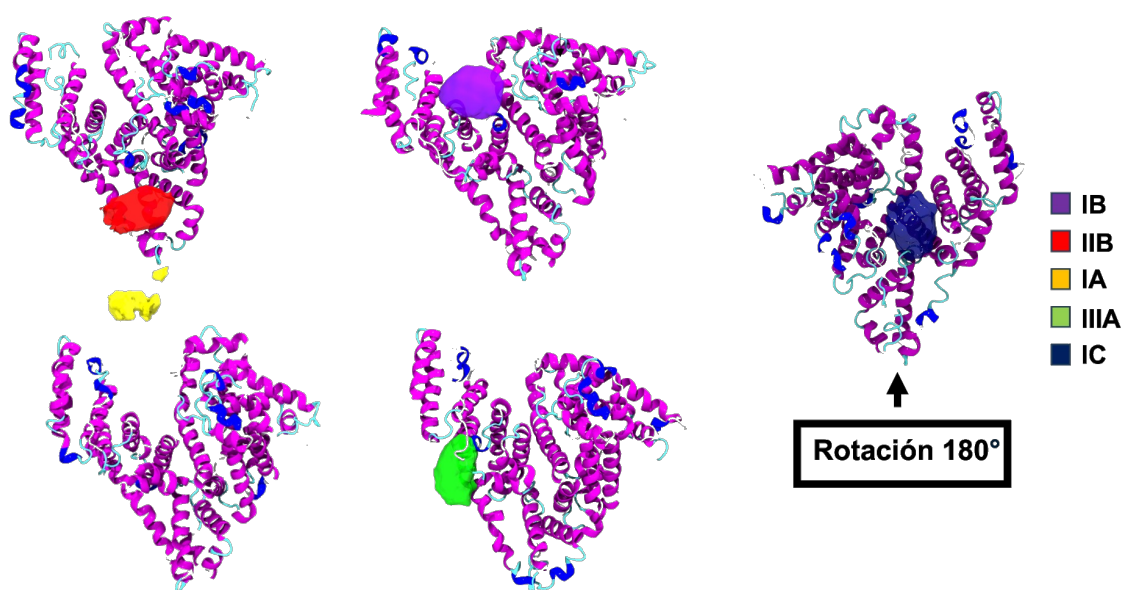


Figura 5.8: Mapa volumétrico de ocupación del POM tipo Dawson en BSA durante una simulación de 20 ns. Se observan zonas de alta persistencia, indicativas de sitios de unión estables.

Los mapas obtenidos muestran una localización espacial coherente con los resultados de energía de interacción y análisis de contactos, la zona IA queda descartada debido a los valores de energía de interacción débiles y por su poca persistencia en la zona. Estas observaciones apoyan la selección de las zonas IIB e IC para las dinámicas extendidas de 100ns ya que vemos que las respectivas interacciones son persistentes dado que los mapas volumétricos se encuentran totalmente en la misma zona.

Tiempos de contacto (*Time Binding*)

El *time binding* es una medida cuantitativa que indica el porcentaje de tiempo durante la simulación en el cual el POM permanece unido a la proteína BSA en una zona de interacción específica. Para calcularlo, se consideró que el POM está unido si la distancia entre sus átomos de la superficie y el residuo más cercano de la proteína es menor a 3.5 Å. El análisis se realizó sobre los últimos 10 ns de la simulación, período en el que el sistema mostró un comportamiento estable y representativo.

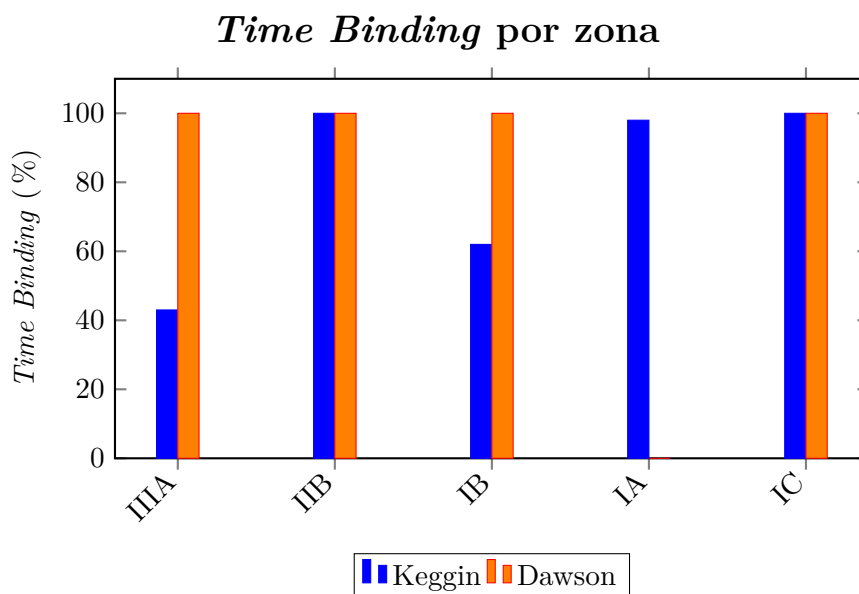


Figura 5.9: Porcentaje de *time binding* de Keggin y Dawson en cada zona de interacción durante las simulaciones de 20 ns.

Los resultados evidencian una alta persistencia de contacto en las zonas IIB e IC para ambos POMs, coincidiendo con las regiones de mayor estabilidad energética (Figura 6.5 y Figura 6.4) y menor movilidad observadas en las simulaciones. En particular, el POM tipo Keggin presenta un *time binding* elevado en la zona IA; los mapas volumétricos (Figura 6.7) muestran que el POM migra desde la zona IA hacia la zona IIIA a lo largo de la simulación, indicando una movilidad significativa y un posible cambio en su sitio preferente de unión. Para el POM tipo Dawson, el *time binding* en la zona IA es prácticamente nulo, reflejando que el complejo se aleja rápidamente de esa región y permanece distante de la proteína, como también se observa en el mapa volumétrico correspondiente (Figura 6.8). Esto sugiere que la interacción en la zona IA para Dawson es transitoria o poco favorable, lo que justifica su exclusión en simulaciones más prolongadas.

Estudio de entorno de solvatación del sistema

Paralelamente, se ha estudiado el efecto del solvente en los sistemas, ya que experimentalmente se trabaja con mezclas de agua y acetonitrilo para solubilizar la proteína juntamente con los POMs y el sustrato orgánico, respectivamente. En este contexto, se exploró la solvatación de los POMs en mezclas con diferentes proporciones de agua y acetonitrilo. Se realizaron simulaciones con 100 %, 50 %, 30 % y 0 % de agua en los sistemas de Keggin y Dawson en la zona IIB. A partir de estas simulaciones, podemos caracterizar la afinidad del POM respecto al solvente mediante el cálculo de funciones de distribución radial (RDF).

Las RDF representan la probabilidad de encontrar moléculas de solvente a una distancia dada del centro de masas del POM, proporcionando información detallada sobre la estructura del entorno molecular y la formación de esferas de solvatación. A continuación se muestran las Figuras 5.10 y 5.11:

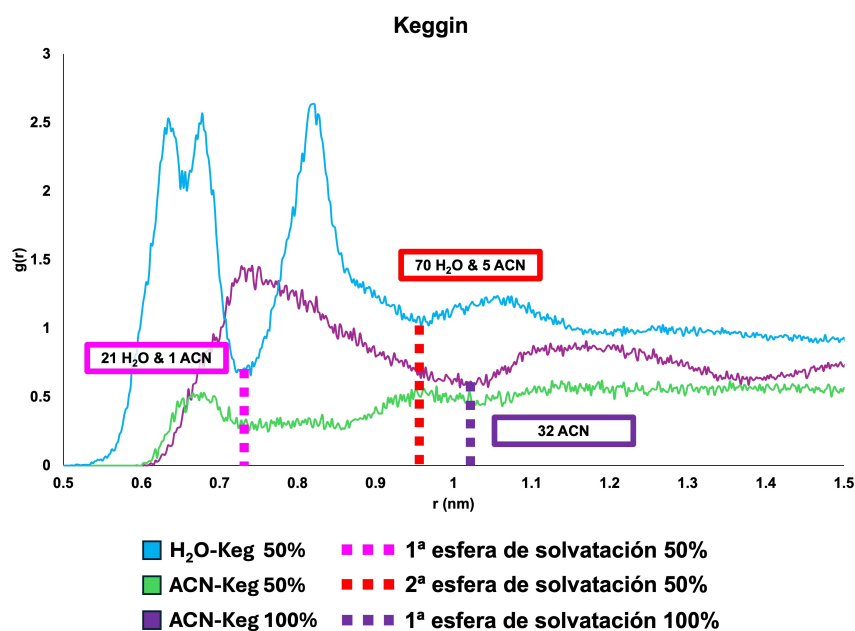


Figura 5.10: Funciones de distribución radial (RDF) entre el centro de masas del POM tipo Keggin y el centro de masas de las moléculas de solvente para diferentes proporciones de agua y acetonitrilo, obtenidas de simulaciones de 20 ns.

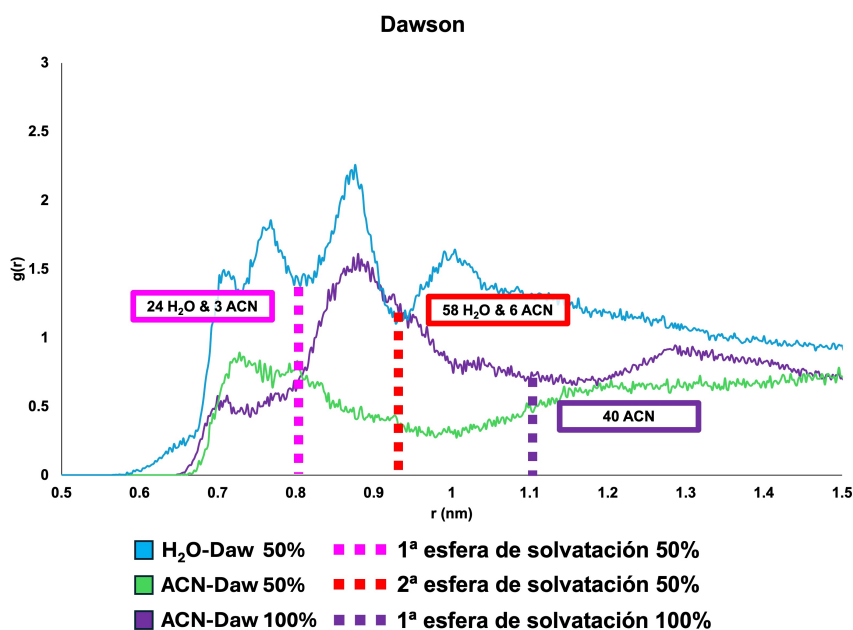


Figura 5.11: Funciones de distribución radial (RDF) entre el centro de masas del POM tipo Dawson y el centro de masas de las moléculas de solvente para distintas mezclas de agua y acetonitrilo, a partir de simulaciones de 20 ns.

En las Figuras 5.10 y 5.11 se presentan las RDF correspondientes a los sistemas con 50 % y 0 % de agua, ya que son los que permiten observar con mayor claridad el comportamiento preferencial de los POMs. Se muestran las primeras esferas de coordinación para ambos sistemas, así como la segunda esfera de coordinación para el sistema con 50 %. Además, se indica el número de moléculas de solvente presentes en cada esfera.

Se observa que en el sistema con 0 % de agua (100 % acetonitrilo) hay aproximadamente 32 moléculas de ACN en el caso del Keggin y 40 para el Dawson en la primera esfera de coordinación. Sin embargo, en el sistema con 50 % de agua este número disminuye drásticamente, siendo reemplazado por una abundancia significativa de moléculas de agua. En la segunda esfera de coordinación para el sistema con 50 %, la diferencia es aún más pronunciada: 70 moléculas de agua frente a solo 5 de acetonitrilo en el caso del Keggin, y 58 moléculas de agua frente a 6 de acetonitrilo en el Dawson.

Estos resultados evidencian el carácter preferentemente hidrofílico de los POMs, con una tendencia más marcada en el POM tipo Keggin.

La forma particular de las curvas se debe a que el análisis se realizó tomando como referencia el centro de masas del POM. Debido a la geometría y tamaño del complejo, existen varias distancias desde el centro de masas hasta la superficie molecular. En este sentido, las curvas de los POM tipo Keggin y Dawson difieren debido a su tamaño y forma: el Dawson, con un radio aproximado de 10.5 Å y simetría no esférica, presenta esferas de coordinación más alejadas que el Keggin, cuyo radio es alrededor de 7.2 Å y tiene simetría más esférica.

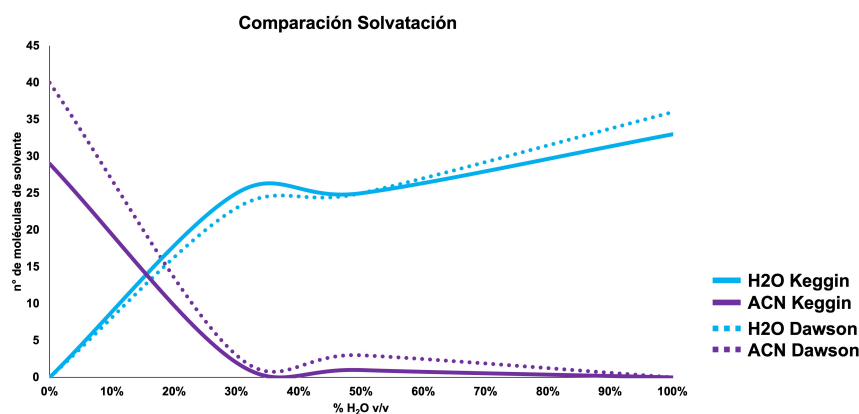


Figura 5.12: Número de moléculas de agua y acetonitrilo en la primera esfera de coordinación de los POMs tipo Keggin y Dawson en mezclas con diferente porcentaje volumétrico de agua. Valores obtenidos de las simulaciones de 0 %, 30 %, 50 % y 100 % de agua respecto al volumen.

En la Figura 5.12 se observa claramente que ambos POMs presentan una mayor afinidad por solvatare con agua en comparación con acetonitrilo. Al comparar ambos, el POM tipo Dawson evidencia una mayor coordinación con moléculas de agua que el Keggin, lo que refuerza su carácter más hidrofílico, debido a su mayor tamaño.

Estos resultados son consistentes con estudios previos³⁷ que han evidenciado que los polioxometalatos, especialmente aquellos funcionalizados con hierro, poseen un carácter marcadamente hidrofílico, favoreciendo la coordinación y solvatación por agua frente a solventes orgánicos menos polares. Esta afinidad por el agua puede tener un impacto directo en la estabilidad y reactividad catalítica de los complejos, tal como se refleja en las diferencias observadas en la solvatación de los sistemas Keggin y Dawson aquí analizados.

5.3. Simulaciones extensas de dinámica molecular

Debido al tiempo limitado de cálculo del que se dispone, se seleccionaron las zonas IC al ser la más estable en ambos casos y la zona IIB sugerida por los resultados obtenidos y los estudios experimentales debido a la inhibición de la reacción con la presencia de la Warfirina⁹ para hacer simulaciones más largas y análisis más estadísticamente significativos y detallados.

5.3.1. Energía de interacción

Se calcularon las energías de interacción Coulomb de corto alcance entre los POMs y distintos componentes del sistema: agua, acetonitrilo, iones sodio y proteína. Para tal de mostrar el comportamiento compensatorio que refleja equilibrio energético.

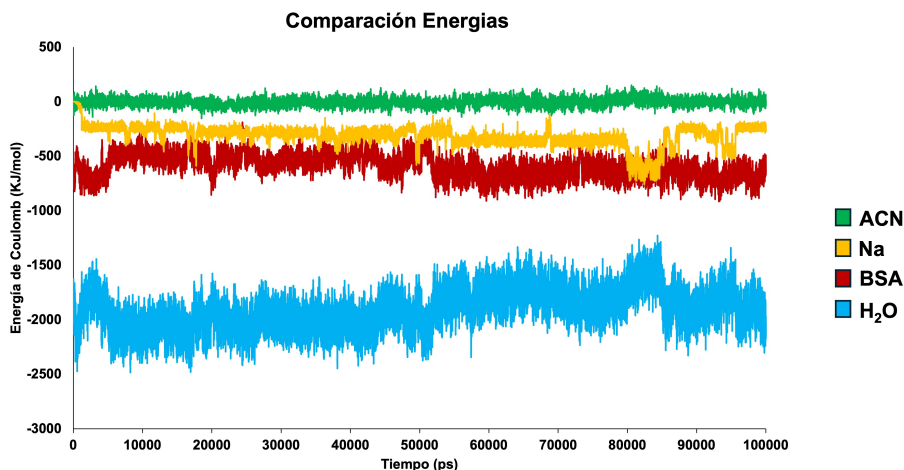


Figura 5.13: Energías de interacción entre los componentes del sistema y el POM a lo largo de la simulación de la zona IC.

Por ejemplo vemos un aumento de la energía de interacción POM · · · H₂O entre los 80000 y 90000 ps mientras la del POM · · · Na baja ya que este rango de tiempo de la simulación un catión de sodio extra entra en el entorno del POM.

Tabla 5.5: Energías promedio de interacción (en kJ/mol) entre cada componente del sistema y el POM en simulación de 100 ns en la zona IC.

Componente	Energía media (kJ/mol)
ACN	-4.19
H ₂ O	-1907.08
BSA	-588.57
Na	-316.88

Con esta tabla de valores podemos ver la diferencia energética entre cada componente, con estos promedios podemos saber con que parte del sistema el POM interactúa más, nótese que la energía de interacción con el agua es más estable que la del acetonitrilo, evidenciando su hidrofiliidad.

Interacciones con el entorno

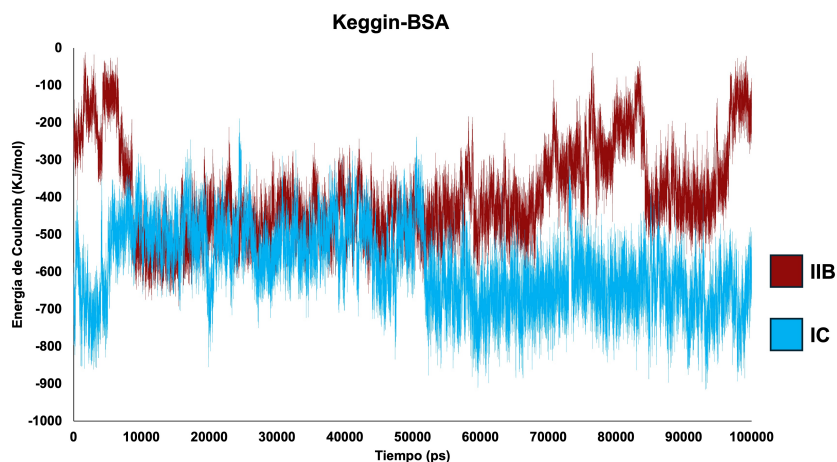


Figura 5.14: Energía de interacción entre Keggin y la BSA en zonas IIB e IC. Se suprimieron los 10ns iniciales por equilibración inicial del sistema.

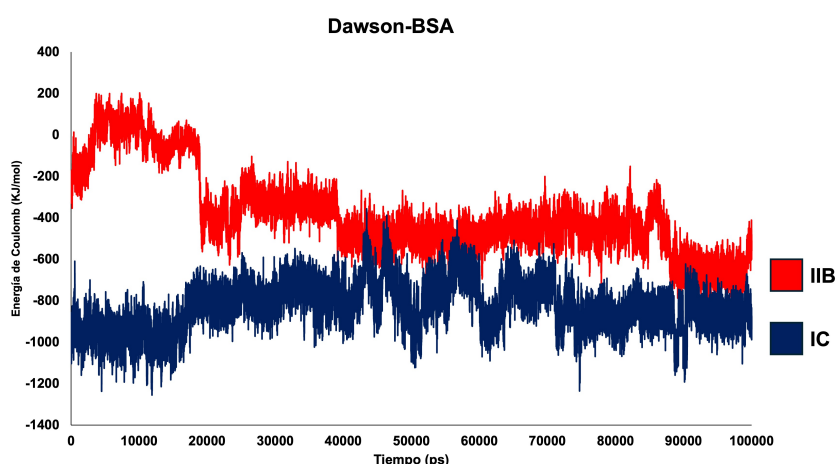


Figura 5.15: Energía de interacción entre Dawson y BSA en zonas IC e IIB. Se suprimieron los 10ns iniciales por equilibración inicial del sistema.

Las simulaciones de 100 ns muestran una convergencia clara en las interacciones del complejo POM-BSA, excepto en la zona IIB para Keggin, donde se observan fluctuaciones significativas a lo largo del tiempo. Esta inestabilidad puede atribuirse a la coordinación dinámica con iones sodio, tal como evidencian las variaciones en la energía de interacción de sodio, en la Figura 6.6 se puede observar que hay una interacción más fuerte con el Keggin de la zona IIB con los sodios en el intervalo de 90000 ps y 100000 ps justamente cuando se ve esa fluctuación de energía. Este comportamiento refleja el dinamismo del sistema debido a la solvatación acuosa, que favorece interacciones menos permanentes y más móviles.

En contraste, Dawson presenta menor fluctuación en ambas zonas, con perfiles energéticos más estables que coinciden con una coordinación más firme de los iones sodio, lo que sugiere un entorno local más rígido y estable. En la Figura 6.3 se puede ver un perfil más constante de coordinación de sodios que en el caso del Keggin (Figura 6.6).

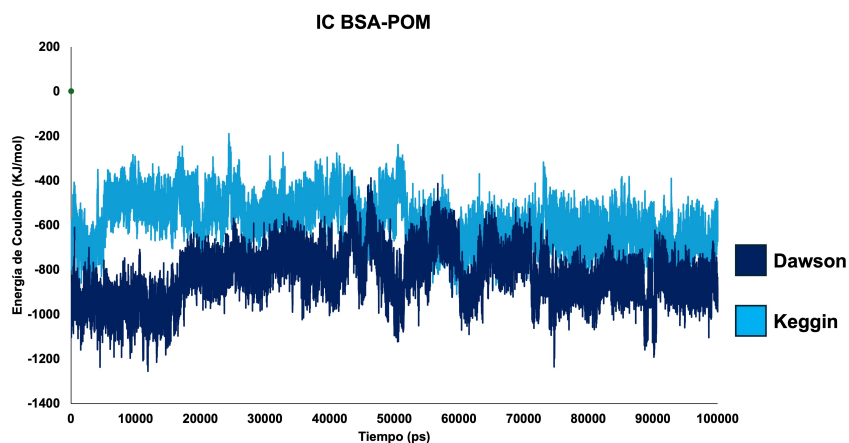


Figura 5.16: Comparación de energía en zona IC entre Keggin y Dawson. Se suprimieron los 10ns iniciales por equilibración inicial del sistema.

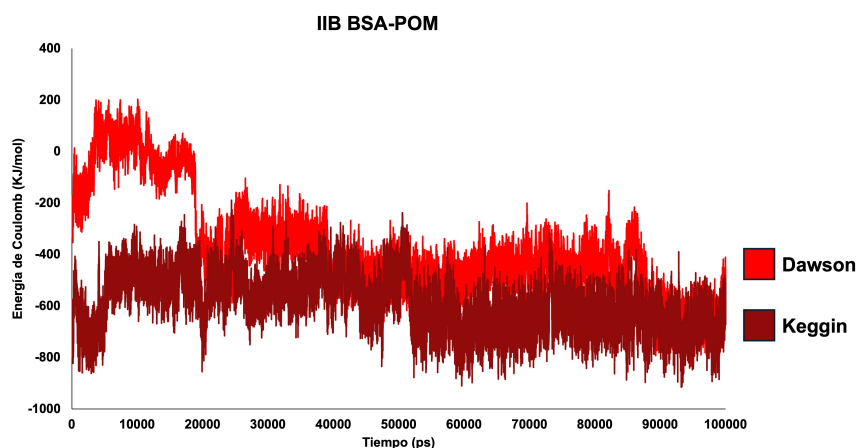


Figura 5.17: Comparación de energía en zona IIB entre Keggin y Dawson. Se suprimieron los 10ns iniciales por equilibración inicial del sistema.

Tabla 5.6: Energías relativas promedio de interacción Coulomb para las zonas IIB e IC con los POMs tipo Keggin y Dawson. La energía más negativa (Dawson IC) se toma como referencia cero. Se hizo el promedio de los últimos 50ns de simulación.

Zona-POM	Energía Relativa (kJ/mol)
Keggin-IIB	427.50
Keggin-IC	175.15
Dawson-IIB	315.82
Dawson-IC	0.00

La mayor estabilidad del complejo Dawson en la zona IC puede explicarse por su carga neta más negativa, que potencia las interacciones electrostáticas favorables con la proteína, el entorno acuoso y la cantidad considerable de aminoácidos positivos (pon figura siguiente punto) .

Además, la diferencia en tamaño estructural entre los polioxometalatos influye en su comportamiento: el Dawson presenta un diámetro aproximado de 10.5 Å, mientras que el Keggin es más compacto, con alrededor de 7.2 Å de diámetro (medido entre sus puntos más alejados, dado que su forma es más ovoide que esférica). Esta diferencia en tamaño favorece un mayor contacto superficial y mejor estabilización del Dawson en la zona IC, lo que podría contribuir a la mayor persistencia e interacción observada en dicha región..

5.3.2. Deformación estructural

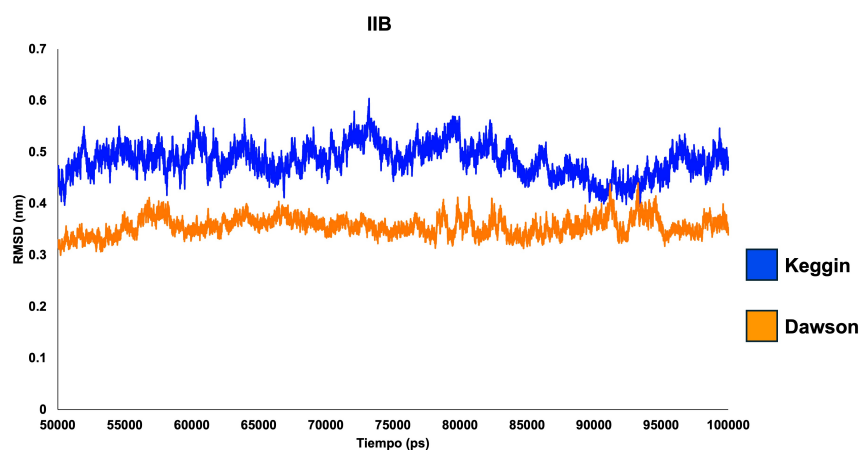


Figura 5.18: Gráfica de los valores de RMSD para los complejos proteína-POM en zona IIB.

Los valores de RMSD son bajos y estables para ambas zonas. Nótese que ha habido un aumento del valor RMSD promedio respecto a los análisis RMSD exploratorios, debido a que antes no había convergido. En el caso de Dawson ha pasado de 0.27 a 0.37 nm, y el Keggin de 0.34 a 0.48 nm. A pesar del aumento, no alcanza el criterio³⁶ de RMSD para considerar deformaciones grandes (más de 1 nm). Estos valores indican estabilidad entre la interacción de los POM de tipo Keggin y Dawson con la proteína BSA.

5.3.3. Mapas volumétricos

Mapa Volumétrico IC

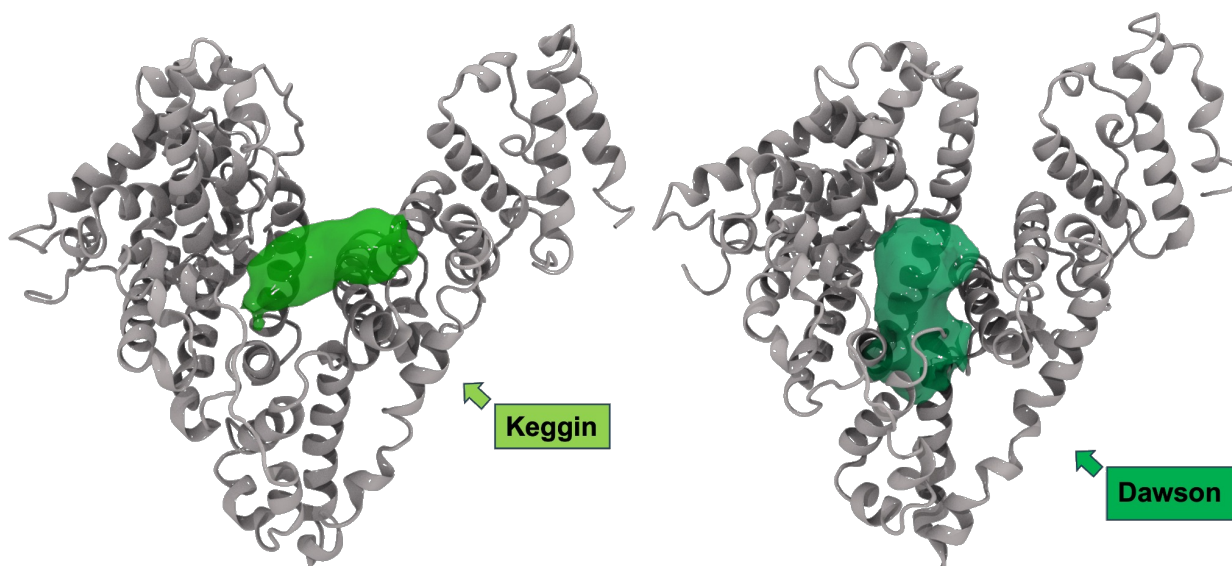


Figura 5.19: Densidad de ocupación en zona IC para Keggin y Dawson (últimos 50 ns).

Mapa Volumétrico IIB

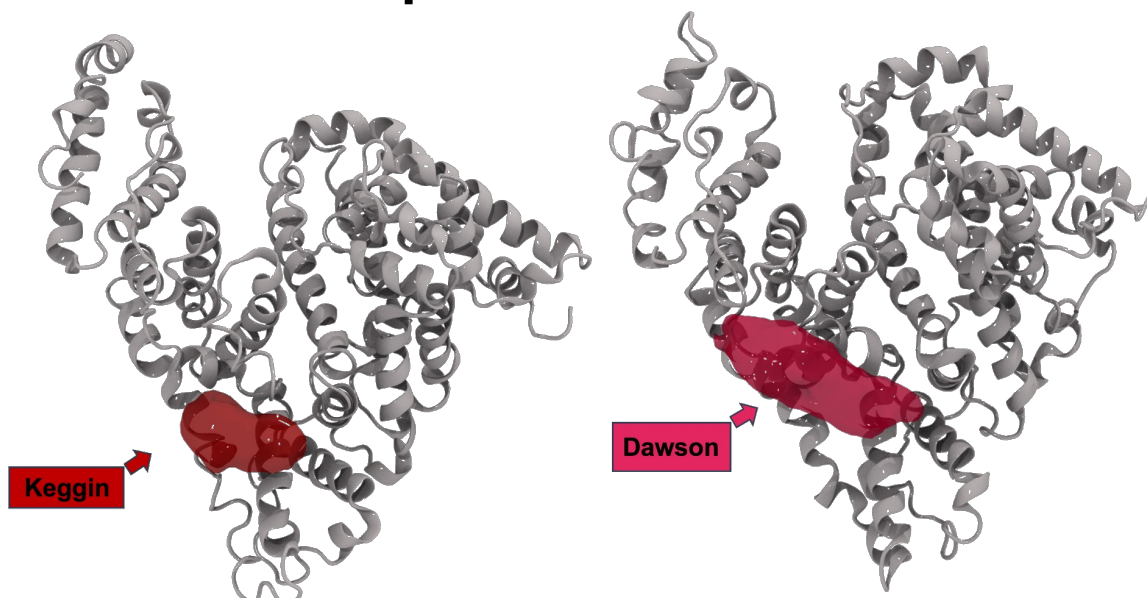


Figura 5.20: Densidad de ocupación en zona IIB para Keggin y Dawson (últimos 50 ns).

Ambos polioxometalatos (POMs) muestran ocupaciones persistentes en las regiones IC e IIB, indicando zonas estables de interacción con la proteína BSA. Sin embargo, se observa que el POM tipo

Dawson presenta una ocupación volumétrica más extensa en ambas zonas en comparación con el Keggin. Esta diferencia en tamaño y volumen podría influir en su capacidad para modular el acceso al sitio catalítico o para establecer interacciones específicas con residuos de aminoácidos cercanos.

La mayor extensión espacial del Dawson podría favorecer interacciones múltiples y más complejas con la proteína, mientras que el Keggin, de menor tamaño, podría establecer contactos más localizados y precisos. Estas características estructurales pueden repercutir en la selectividad y eficiencia catalítica del sistema, aspectos que se abordan en el siguiente apartado a través del análisis detallado de las interacciones con aminoácidos clave, Figuras 5.21 y 5.24.

5.3.4. Persistencia de contacto por residuos clave

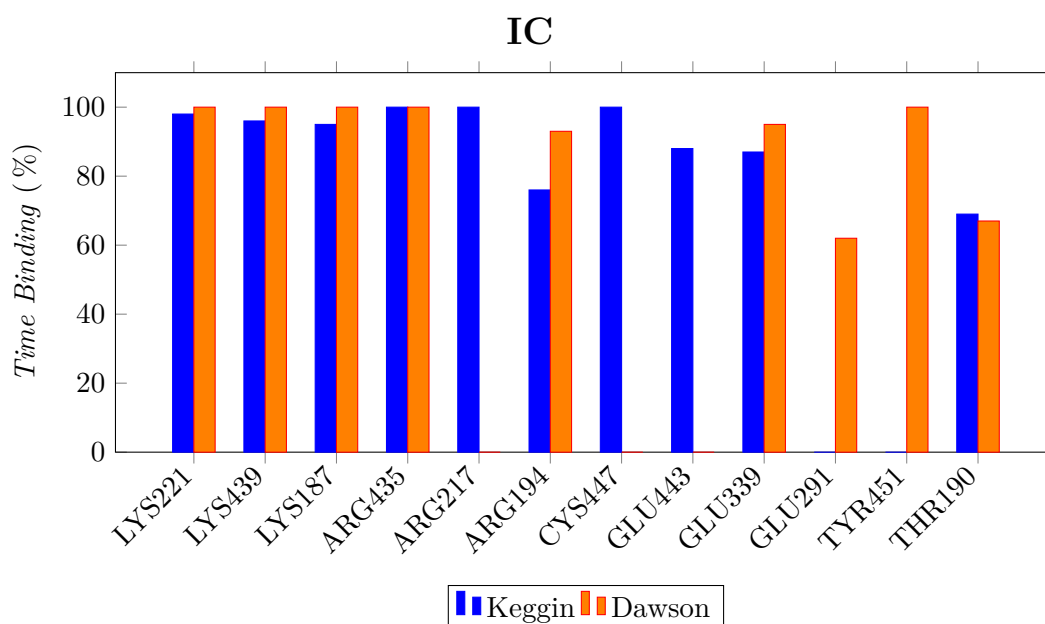


Figura 5.21: Se muestran los 10 aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) para cada uno de los polioxometalatos Keggin y Dawson en el sitio IC de BSA durante los últimos 50 ns de simulación. Datos obtenidos con la ayuda de la librería MDAnalysis¹⁴ y el *script* de la Figura 6.7.

Zona IC Keggin

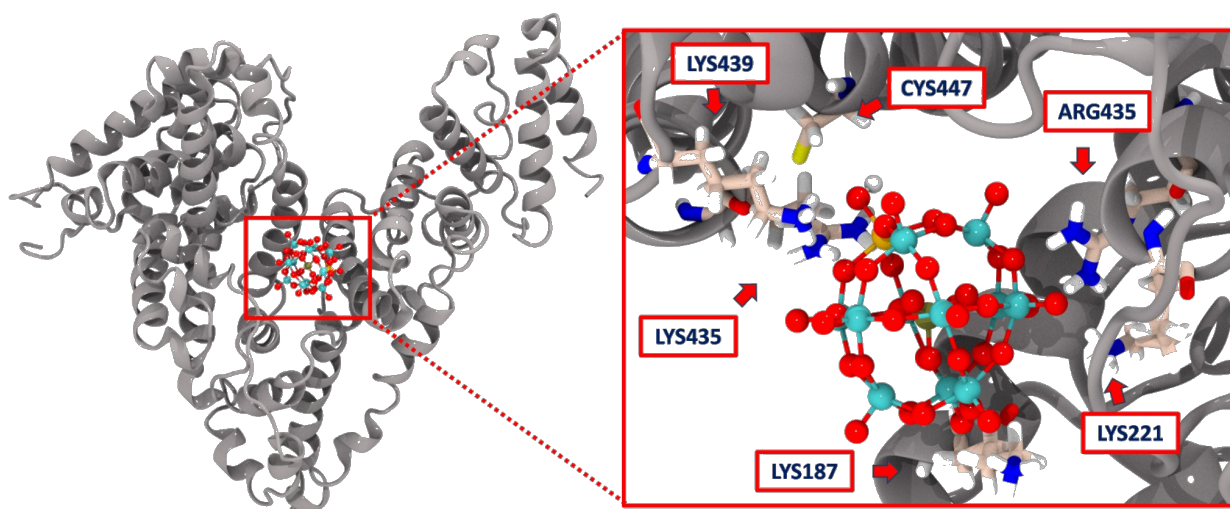


Figura 5.22: Representación estructural de los aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) con el polioxometalato de tipo Keggin en la zona IC de la proteína BSA durante los últimos 50 ns de simulación.

Zona IC Dawson

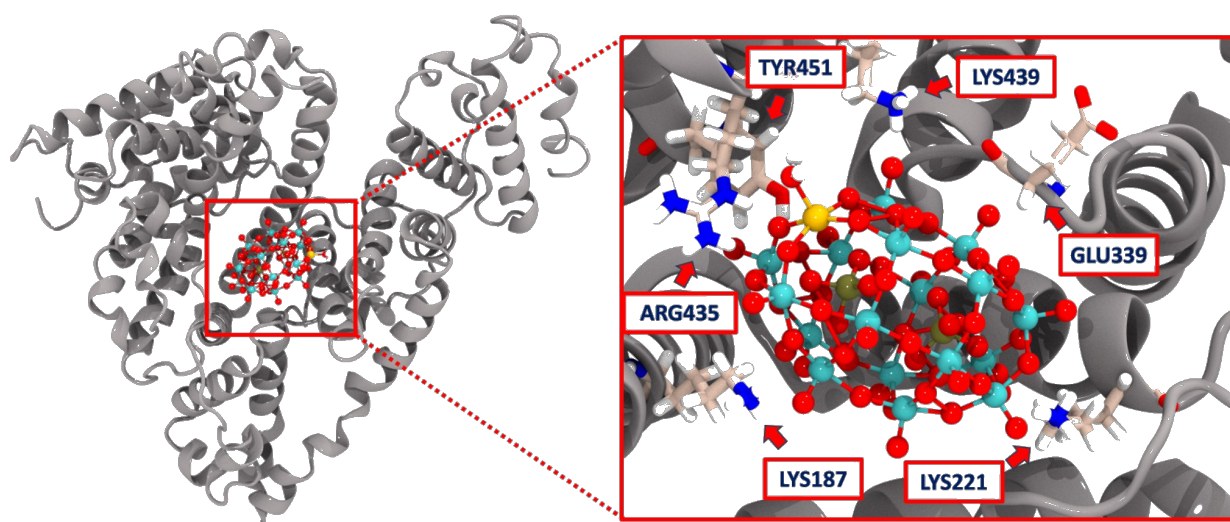


Figura 5.23: Representación estructural de los aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) con el polioxometalato de tipo Dawson en la zona IC de la proteína BSA durante los últimos 50 ns de simulación.

La zona IC muestra una alta persistencia de interacción con ambos polioxometalatos, destacándose la mayor estabilidad del complejo con Keggin evidenciada por los valores elevados de *time binding* en residuos como LYS221, LYS439, LYS187, ARG435 y ARG217 (Figura 5.21).

Es especialmente relevante la interacción exclusiva del Keggin con el residuo CYS447, que posee un grupo tiol (SH) capaz de facilitar transferencias electrónicas. Esta interacción podría promover

la reducción del hierro (III) a hierro (II) dentro del centro activo del POM, mejorando la coordinación y activación del oxígeno molecular, un aspecto clave para la actividad catalítica. Además, podemos ver cómo el centro de hierro (III) está encarado hacia la citosina, cosa que podría facilitar el proceso de transferencia de electrones. Por tanto, esta interacción es una hipótesis que debería explorarse computacionalmente con cálculos cuánticos y experimentalmente para confirmar su impacto funcional.

En contraste, Dawson, aunque mantiene también fuerte interacción con residuos positivos como LYS221 y ARG435, presenta menos contactos con residuos como CYS447, lo que podría afectar su estabilidad redox y su dinamismo en esta zona.

Estos patrones de interacción se correlacionan con los resultados energéticos, donde Keggin muestra una energía de interacción más favorable en IC comparada con Dawson (Tabla 5.6), reforzando la idea de que la zona IC es un sitio funcional preferente para Keggin en la BSA.

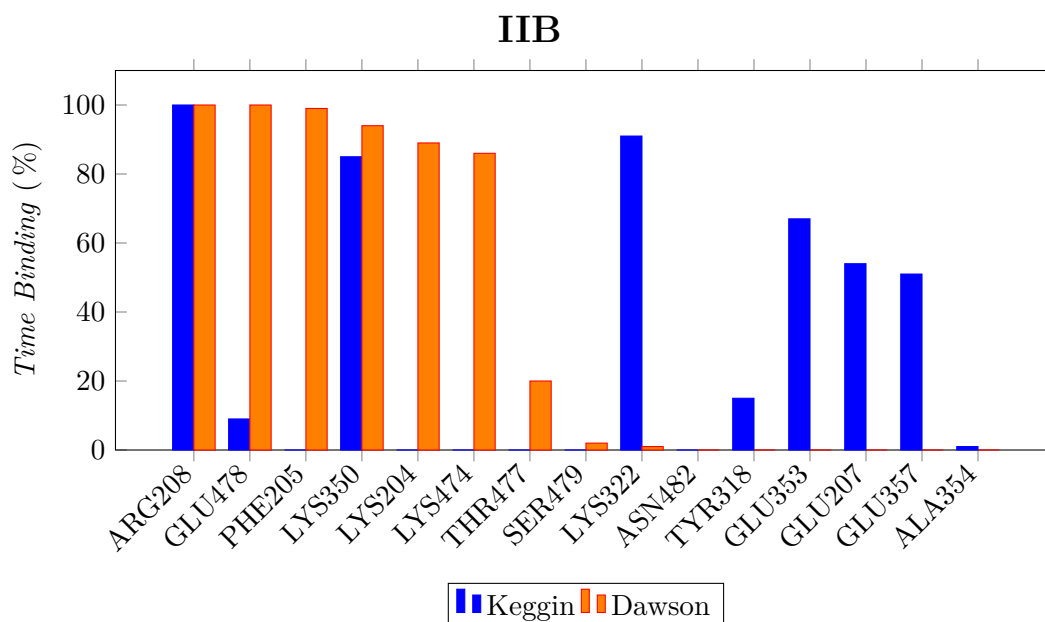


Figura 5.24: Se muestran los 10 aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) para cada uno de los polioxometalatos Keggin y Dawson en el sitio IIB de BSA durante los últimos 50 ns de simulación.

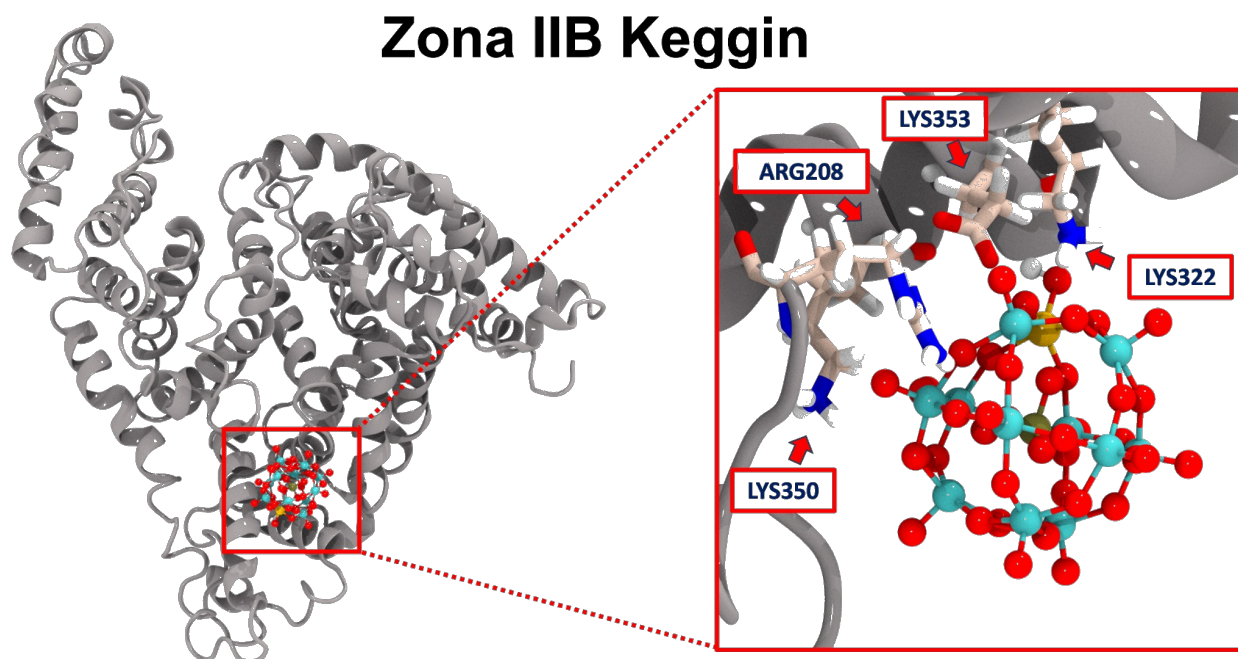


Figura 5.25: Representación estructural de los aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) con el polioxometalato de tipo Keggin en la zona IIB de la proteína BSA durante los últimos 50 ns de simulación.

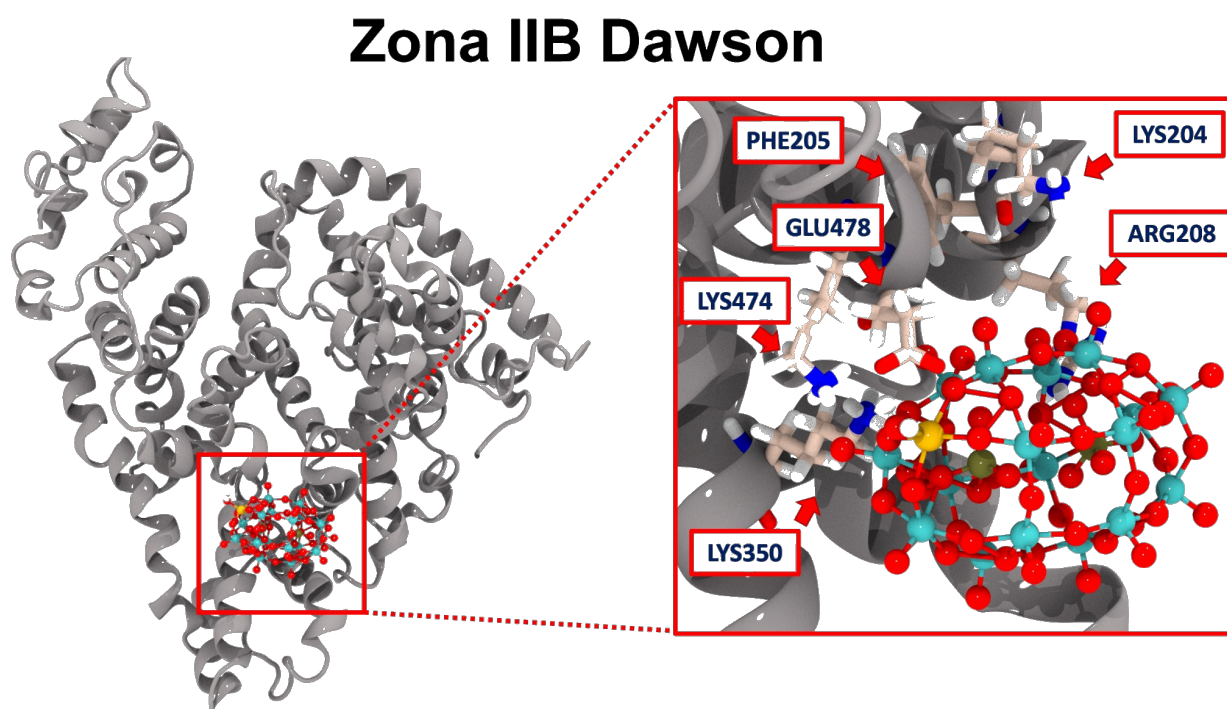


Figura 5.26: Representación estructural de los aminoácidos con mayor tiempo de interacción (*time binding*) con el polioxometalato de tipo Dawson en la zona IIB de la proteína BSA durante los últimos 50 ns de simulación.

En la zona IIB, los resultados muestran que Dawson establece interacciones más extensas y persistentes con un conjunto más amplio de residuos cargados positivamente, tales como ARG208,

LYS350 y LYS474, reflejando un alto *time binding* en estos aminoácidos (Figura 5.24).

Por otro lado, Keggin presenta contactos más localizados y con menor tiempo de interacción en esta región, lo que coincide con su menor estabilidad energética en IIB respecto a IC.

La presencia significativa de interacciones con residuos básicos en Dawson puede contribuir a su mayor estabilidad en esta zona, que también se refleja en la menor energía relativa comparada con Keggin (Tabla 5.6).

Además, la coordinación de los iones sodio en la zona IIB, especialmente para Keggin, puede explicar la mayor variabilidad observada en las simulaciones energéticas, aportando dinamismo y posibles fluctuaciones en la interacción con la proteína.

La comparación entre las zonas IC e IIB revela diferencias importantes en la especificidad de unión de los polioxometalatos a la BSA. Mientras Keggin muestra una preferencia clara por la zona IC, con interacciones electrostáticas fuertes y específicas, Dawson parece tener un comportamiento más favorable en la zona IIB, apoyado por una red más amplia de contactos con residuos cargados positivamente.

Estas diferencias pueden estar influenciadas también por el tamaño y la forma de los POMs: el Dawson, con un diámetro aproximado de 10.5 Å y estructura menos esférica, tiende a formar interacciones más extensas y voluminosas, mientras que el Keggin, con un diámetro menor de aproximadamente 7.2 Å y forma más compacta, establece contactos más específicos y localizados.

La distinta naturaleza y número de interacciones en cada sitio pueden afectar directamente la estabilidad del complejo y su potencial actividad catalítica, sugiriendo que la modulación de la interacción proteína-POM podría optimizarse según la arquitectura molecular del POM y la región de unión en la proteína.

5.3.5. Discusión general de dinámicas exploratorias

Los análisis de las simulaciones exploratorias muestran de manera consistente que:

- Las zonas IIB e IC son las regiones con mayor afinidad para ambos tipos de POMs y más fuerza en la interacción POM-BSA.
- La zona IA fue descartada para Dawson debido a la notable inestabilidad observada en las simulaciones.
- Los mapas volumétricos de ocupación espacial confirman la preferencia de los POMs por las regiones IC, IIB e IB.
- El carácter hidrofílico de los POMs se refleja en la mezcla de solventes H₂O:ACN observándose una microsolvatación de moléculas de agua alrededor de los POMs.

5.3.6. Discusión general de simulaciones extendidas

Los resultados obtenidos permiten destacar las siguientes conclusiones clave sobre el comportamiento de los polioxometalatos en interacción con la albúmina sérica bovina (BSA):

- El complejo Keggin alcanza una mayor estabilidad energética y estructural en la zona IC, evidenciado por una fuerte ocupación y contactos persistentes con residuos catiónicos tipo lisina y arginina. Adicionalmente, interacciona persistentemente con el aminoácido cisteína (CYS447), mientras que el Dawson no lo hace. El hecho que la cisteína sea activa en procesos redox sugiere que esta diferencia podría explicar las diferencias en actividad fotocatalítica observadas para los 2 tipos de POMs en los complejos POM-BSA.
- El POM tipo Dawson también muestra estabilidad en la zona IC, pero su significativa interacción con iones Na^+ y una mayor ocupación en la zona IIB sugieren una menor afinidad por la región IC.
- Ambos POMs mantienen la integridad estructural de la proteína durante la simulación, con valores de RMSD moderados y constantes, indicando estabilidad global del sistema.

5.3.7. Limitaciones metodológicas

A pesar de la riqueza y utilidad de la información obtenida, el estudio presenta ciertas limitaciones que deben considerarse para la interpretación y extrapolación de los resultados:

- La solvatación fue considerada solo parcialmente, dado que los *docking scores* iniciales no incorporaron una descripción explícita del solvente.
- Las simulaciones exploratorias de 20 ns pueden no capturar procesos dinámicos lentos o interacciones transitorias relevantes.
- Las simulaciones extensas de 100 ns se focalizaron únicamente en las zonas IC e IIB, limitando el alcance general para otras regiones potenciales de unión.
- El análisis de *time binding* se basó en un umbral de 3.5 Å, que podría omitir contactos relevantes situados a distancias ligeramente mayores.

Estas limitaciones deben tenerse en cuenta al aplicar estos hallazgos a sistemas experimentales más complejos o a estudios funcionales posteriores.

Conclusiones

En este trabajo se han estudiado las interacciones entre la albúmina sérica bovina (BSA) y polioxometalatos mediante herramientas computacionales, empleando técnicas de *docking* y simulaciones de dinámica molecular. A partir de los correspondientes cálculos y análisis, se han obtenido las siguientes conclusiones principales:

- Los polioxometalatos sustituidos con hierro (III) tienen afinidad por diferentes zonas de la proteína BSA. Además de las zonas propuestas en la hipótesis experimental, etiquetadas como IA, IIIA, IB e IIB, se ha identificado un nuevo sitio de interacción, no reportado previamente, etiquetado como zona IC.
- La evaluación de la fuerza de interacción de los POMs con los diferentes *sites* indica que en la zona IC es alta para los dos tipos de POM, mientras que en la zona IIB también se produce una interacción fuerte, particularmente para el POM tipo Keggin.
- El tipo de interacción en la zona IC es diferente para los dos tipos de POMs. La estructura tipo Keggin tiene una interacción persistente con un aminoácido con actividad redox, la cisteína 447, mientras que la estructura tipo Dawson no la tiene. Esta diferencia podría explicar por qué el complejo BSA-Keggin aumenta su actividad fotocatalítica respecto a la POM sin proteína, mientras que para el complejo BSA-Dawson no se observa variación en la actividad.
- Adicionalmente, el análisis de la solvatación de los polioxometalatos indica que tienen un marcado carácter hidrofílico, y que en mezclas de solvente H₂O:MeCN, se produce una microsolvatación de H₂O alrededor de los POMs.

En conjunto, este estudio proporciona una visión inicial, pero robusta, sobre la interacción entre polioxometalatos y la proteína BSA, y sienta las bases para comprender los mecanismos implicados en la reacción de oxidación fotoquímica de la hidrobenczoína, en la cual la BSA y el polioxometalato tipo Keggin podrían actuar como complejo biocatalítico.

Bibliografía

- (1) Lu, Y.; Yeung, N.; Sieracki, N. y Marshall, N. M. *Nature* **2009**, *460*, 855-862.
- (2) Sheldon, R. A. y Woodley, J. M. *Chemical Reviews* **2018**, *118*, 801-838.
- (3) McKinnon, S. J. y Macklin, T. J. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 7185-7440.
- (4) Klein, A. S.; Leiss-Maier, F.; Mühlhofer, R.; Boesen, B.; Mustafa, G.; Kugler, H. y Zeymer, C. *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, Supporting Information available at <https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/ja>
DOI: 10.1021/jacs.4c04618.
- (5) Berning, D. E. y Parac-Vogt, T. N. *Chemical Society Reviews* **2022**, *51*, 1662-1706.
- (6) Humphrey, W.; Dalke, A. y Schulten, K. *J. Mol. Graph.* **1996**, *14*, 33-38.
- (7) Parac-Vogt, T.; Stroobants, S.; Bonchio, M.; Carraro, M.; Quanten, T. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, *62*, e202303817.
- (8) Informatics, P. *PerkinElmer, Inc.* **2024**, *22*, Software.
- (9) Zsila, F.; Bikádi, Z. y Simonyi, M. *J. Chromatogr. B* **2008**, *876*, 225-232.
- (10) Mishra, V. y Heath, R. J. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 8411.
- (11) DeLano, W. L. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 3.0, Schrödinger, LLC. Available at: <https://pymol.org/>, 2025.
- (12) Abraham, M. J.; Murtola, T.; Schulz, R.; Páll, S.; Smith, J. C.; Hess, B. y Lindahl, E. *SoftwareX* **2015**, *1-2*, 19-25.
- (13) Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S. y Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785-2791.
- (14) Michaud-Agrawal, N.; Denning, E. J.; Woolf, T. B. y Beckstein, O. *J. Comput. Chem.* **2011**, *32*, 2319-2327.
- (15) Huey, R.; Morris, G. M.; Olson, A. J. y Goodsell, D. S. *J. Comput. Chem.* **2007**, *28*, 1145-1152.
- (16) Morris, G. M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M. F.; Belew, R. K.; Goodsell, D. S. y Olson, A. J. *J. Comput. Chem.* **2009**, *30*, 2785-2791.
- (17) Gasteiger, J. y Marsili, M. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 3219-3228.
- (18) Jones, J. E. *Proceedings of the Royal Society A* **1924**, *106*, 463-477.
- (19) Coulomb, C. A. d. *Histoire de l'Académie Royale des Sciences* **1785**, *6*, 569-577.
- (20) Alder, B. J. y Wainwright, T. E. *J. Chem. Phys.* **1959**, *31*, 459-466.

- (21) Rappé, A. K.; Casewit, C. J.; Colwell, K. S.; Goddard, W. A. y Skiff, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10024-10035.
- (22) Caleman, C.; van Maaren, P. J.; Hong, M.; Hub, J. S.; Costa, L. T. y van der Spoel, D. *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 61-74.
- (23) Chaumont, A. y Wipff, G. *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 18233-18243.
- (24) Nosé, S. *The Journal of Chemical Physics* **1984**, *81*, 511-519.
- (25) Hoover, W. G. *Physical Review A* **1985**, *31*, 1695-1697.
- (26) Berendsen, H. J. C.; Postma, J. P. M.; van Gunsteren, W. F.; DiNola, A. y Haak, J. R. *The Journal of Chemical Physics* **1984**, *81*, 3684-3690.
- (27) Parrinello, M. y Rahman, A. *Journal of Applied Physics* **1981**, *52*, 7182-7190.
- (28) Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I. y Kollman, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5179-5197.
- (29) O'Boyle, N. M.; Banck, M.; James, C. A.; Morley, C.; Vandermeersch, T. y Hutchison, G. R. *Journal of Cheminformatics* **2011**, *3*, 33.
- (30) López, X.; Nieto-Draghi, C.; Bo, C.; Avalos, J. B. y Poblet, J. M. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 1216-1222.
- (31) Besler, B. H.; Merz, K. M. y Kollman, P. A. *J. Comput. Chem.* **1990**, *11*, 431-439.
- (32) Masip-Sánchez, A. **2024**, Available at <https://github.com/qcgurv/topoM0x>.
- (33) Jorgensen, W. L.; Chandrasekhar, J.; Madura, J. D.; Impey, R. W. y Klein, M. L. *The Journal of Chemical Physics* **1983**, *79*, 926-935.
- (34) Pintado, M. E.; Martín, B.; Pérez, A.; Carrión, F. J. y Cossío, F. P. *Inorg. Chem.* **2024**, *63*, 20347-20357.
- (35) Niesen, F. H.; Berglund, H. y Vedadi, M. The Protein Data Bank Entry 4F5S: Bovine Serum Albumin Structure, <https://doi.org/10.2210/pdb4F5S/pdb>, Accessed: 2025-06-13, 2010.
- (36) Author, A. y Author, B. *ResearchGate* **2023**, DOI: <https://www.researchgate.net>.
- (37) Koshevoy, I. O.; Shova, L. T.; Vedernikov, A. N.; Pavlishchuk, V. V. y Yanovskaya, E. V. *Inorganic Chemistry* **2010**, *49*, 10294-10301.

Anexos

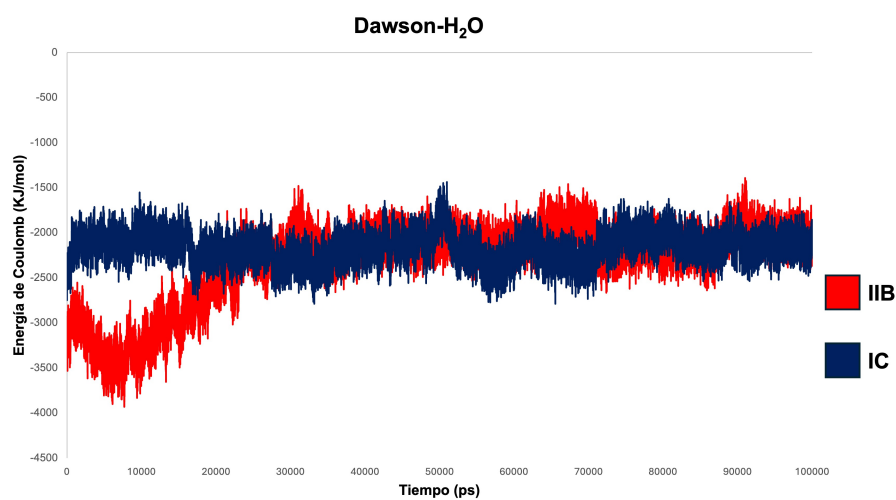


Figura 6.1: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Dawson y las moléculas de agua.

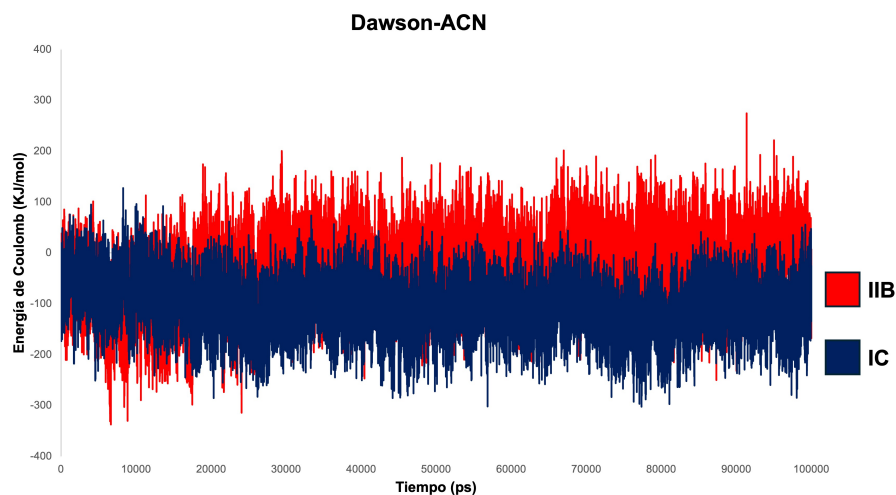


Figura 6.2: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Dawson y el acetonitrilo.

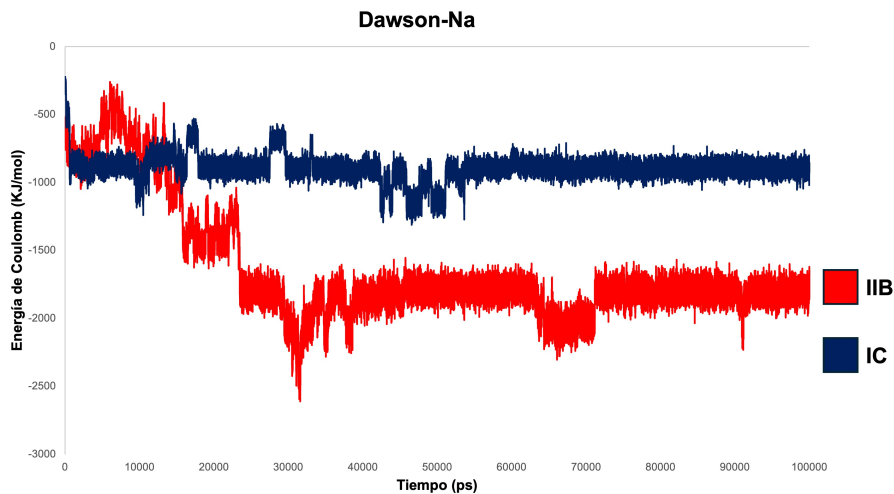


Figura 6.3: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Dawson y los iones sodio a lo largo de la simulación.

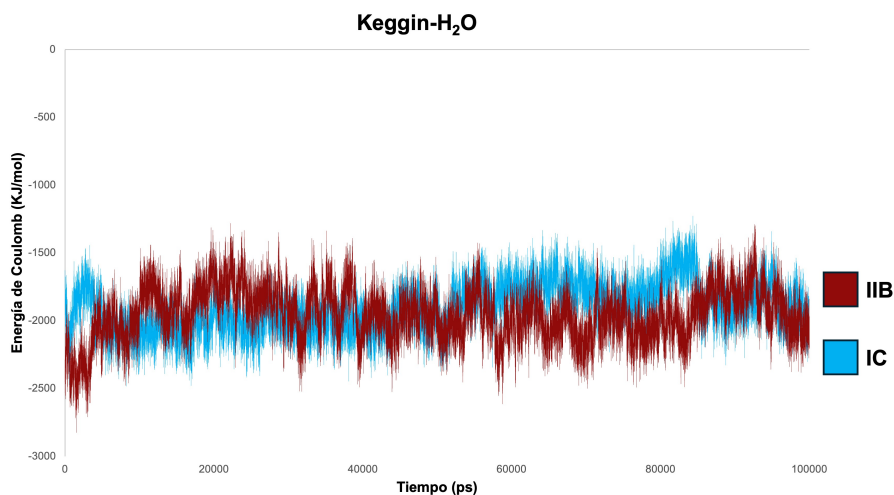


Figura 6.4: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Keggin y las moléculas de agua.

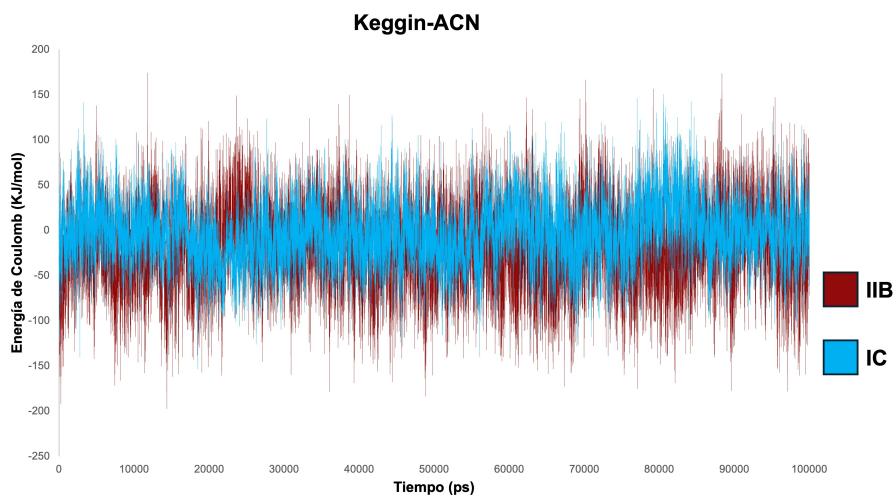


Figura 6.5: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Keggin y el acetonitrilo.

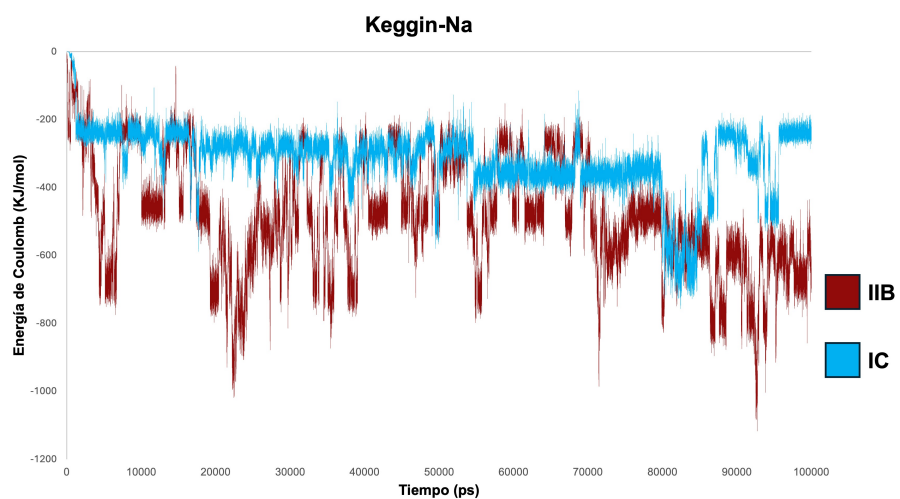


Figura 6.6: Energía de interacción coulombiana de corto alcance entre el POM tipo Keggin y los iones sodio a lo largo de la simulación.

```

import MDAnalysis as mda
import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
from MDAnalysis.lib.distances import distance_array
# ----- CONFIGURACIÓN -----
top_file = "IC_DAW.gro"      # Archivo .gro o .tpr
traj_file = "IC_50_DAW.xtc"  # Archivo de trayectoria
ligando = "resname P2W"      # Selección del ligando (ajusta a tu molécula)
receptor = "protein"        # Selección del sistema receptor (puedes afinar
más)
cutoff = 3.5 # Ångstroms: umbral de contacto
# ----- CARGAR DATOS -----
u = mda.Universe(top_file, traj_file)
lig = u.select_atoms(ligando)
prot = u.select_atoms(receptor)
residuos = prot.residues
# Inicializar diccionario para contar contactos por residuo
contactos_por_residuo = {residue.resid: 0 for residue in residuos}
total_frames = 0
# ----- ANÁLISIS FRAME A FRAME -----
for ts in u.trajectory:
    total_frames += 1
    for residue in residuos:
        atoms_res = residue.atoms
        dist = distance_array(lig.positions, atoms_res.positions)
        if np.any(dist < cutoff):
            contactos_por_residuo[residue.resid] += 1
# ----- POSTPROCESADO -----
# Calcular tiempo (en ns si timestep está en ps)
dt_ps = u.trajectory.dt
dt_ns = dt_ps / 1000

```

Figura 6.7: Script usado para poder analizar el *time binding* de los aminoácidos gracias a la librería MDAnalysis¹⁴. Parte 1.

```

# Crear DataFrame con los resultados
df = pd.DataFrame({
    "Resid": list(contactos_por_residuo.keys()),
    "ResidName": [r.resname for r in residuos],
    "FramesInContact": list(contactos_por_residuo.values())
})

df["TimeInContact_ns"] = df["FramesInContact"] * dt_ns
df["PercentOfTime"] = 100 * df["FramesInContact"] / total_frames

# Ordenar por tiempo en contacto
df_sorted = df.sort_values(by="TimeInContact_ns", ascending=False)

# ----- MOSTRAR TOP RESIDUOS -----
top_n = 10
print(f"\n🔴 Top {top_n} residuos con más binding:")
print(df_sorted.head(top_n)[["Resid", "ResidName", "TimeInContact_ns",
"PercentOfTime"]])

# ----- GRAFICAR -----
plt.figure(figsize=(10, 5))
plt.bar(df_sorted.head(top_n)["Resid"].astype(str),
df_sorted.head(top_n)["TimeInContact_ns"])

plt.xlabel("Residuo")
plt.ylabel("Tiempo de contacto (ns)")
plt.title(f"Top {top_n} residuos con más tiempo de binding")
plt.tight_layout()
plt.show()

```

Figura 6.8: *Script* usado para poder analizar el *time binding* de los aminoácidos gracias a la librería MDAnalysis¹⁴. Parte 2.

```

import re

def convert_sigma_to_Rii(sigma_nm):
    return sigma_nm * (2 ** (1 / 6)) * 10 # nm → Å

def convert_epsilon_to_epsii(epsilon_kjmol):
    return epsilon_kjmol / 4.184 # kJ/mol → kcal/mol

input_file = "ffnonbonded.itp"
output_file = "AD4_parameters_generated.dat"

with open(input_file, 'r', encoding='latin-1') as f:
    lines = f.readlines()

atomtypes_section = False
output_lines = []

for line in lines:
    if '[ atomtypes ]' in line:
        atomtypes_section = True
        continue

    if atomtypes_section:
        if line.strip() == '' or line.strip().startswith('['):
            break # end of section

        if line.strip().startswith(';'):
            continue # skip comments

        tokens = re.split(r'\s+', line.strip())

        if len(tokens) < 7:
            continue # skip invalid lines

        atom_name = tokens[0]
        sigma_nm = float(tokens[5])
        epsilon_kjmol = float(tokens[6])

        Rii = convert_sigma_to_Rii(sigma_nm)
        epsii = convert_epsilon_to_epsii(epsilon_kjmol)

        # Valores por defecto válidos para los otros campos

        solpar = 0.00110
        vol = 0.00110

```

Figura 6.9: *Script* usado para poder cambiar el formato del .itp al .dat para que AutoDock4¹³ pueda leer el archivo.

```
hbdep = 0.00000
rec_index = 0.00000
map_index = 0.00000
output_line = (
    f"atom_par {atom_name:<4} {Rii:8.4f} {epsii:8.4f} "
    f"{solpar:8.5f} {vol:8.5f} {hbdep:8.5f} {rec_index:8.5f}
{map_index:8.5f} "
    f"; sigma={sigma_nm:.4f}nm epsilon={epsilon_kjmol:.4f}kJ/mol"
)
output_lines.append(output_line)
with open(output_file, 'w') as f:
    f.write('\n'.join(output_lines))
print(f"✅ Archivo generado: {output_file}")
```

Figura 6.10: *Script* usado para poder cambiar el formato del .itp al .dat para que AutoDock4¹³ pueda leer el archivo.