

2.实验教学项目描述

2-1 名称

抗流感病毒活性药物的设计与筛选

2-2 实验目的

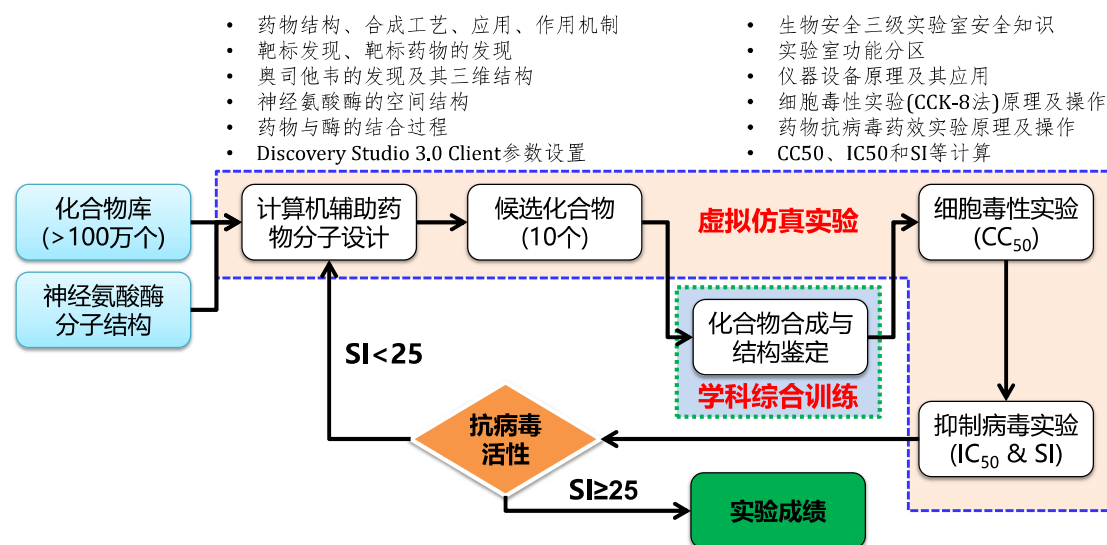
十九大报告指出，“创新是引领发展的第一动力”。然而，目前国内药品市场中仿制药占比很大，而具有自主知识产权的创新药物仍然少之又少。昂贵的外国研制的新药给患者带来了巨大的经济负担。因此，新药研制已经上升为国家战略层面。目前，药学人才培养体系还集中在培养国内仿制药生产企业需求的应用型人才。由于受到实验条件和时间上的限制，对学生创新药物研制的培养还停留在教材上。因此，苏州大学药学院立足专业核心课程，围绕药物研发路线关键环节，选择代表性药物，建设现实无法开展的项目，构建“药物研发虚拟仿真实验训练平台”，系统培养学生对药物研发过程的理解和知识掌握。

本项目围绕培养具有**创新思维、创新意识和创新能力**的药学专业人才，依托江苏省“十三五”重点学科、ESI 全球前 1%学科、省级药学学科综合训练中心和省级重点实验室，选择**①**药学专业**核心**课程《药物化学》和《药理学》、**②**药物研发的**关键**环节“药物分子设计与筛选”、**③****昂贵**的药物分子设计机组（约 300 万元）和生物安全三级实验室（近亿元）、**④****耗时**的细胞活性筛选实验（约 1 周）、**⑤**社会**关切**的流感病毒及其治疗药物奥司他韦为对象，坚持“**能实不虚、虚实结合、虚实互补**”原则，按照“**药物分子设计→活性筛选→药物分子再设计→活性再筛选……**”的实验设计思路，通过进阶式学习与通关式问答相结合、线上虚拟交互与线下综合实训相结合、学生自主学习与平台虚拟示教相结合，突破时间和空间限制，加强学生对于“理论”和“实践”的双重学习体验。使学生：

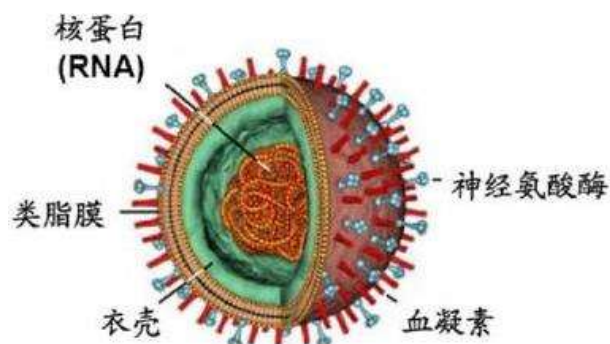
1. 掌握基于药物受体靶标的计算机辅助药物分子设计；
2. 理解药物与体内靶标相互作用；
3. 掌握药物对细胞毒性测定的方法和操作步骤；
4. 掌握药物体外抗流感病毒药效试验的方法和操作步骤；
5. 掌握药物开发思路、要求和过程。

2-3 实验原理（或对应的知识点）

本项目的实验原理和涉及的知识点如下图所示，主要包括三部分内容：（一）以流感病毒表面的神经氨酸酶为作用靶标，采用药物分子设计软件 Discovery Studio 3.0 Client，基于小分子化合物与神经氨酸酶空间结构进行结合，通过设置不同的软件参数，从化合物数据库中筛选出可能与神经氨酸酶结合的小分子化合物。由于需要昂贵的软件和计算集群，长时的运算，所以本项目将该部分内容进行了虚拟仿真。（二）根据化合物的结构，采用化学反应进行合成小分子化合物。该部分内容借助前期建设的药学学科综合训练平台完成。（三）在生物安全三级实验室中，采用细胞筛选实验，检测小分子化合物对 MDCK 犬肾细胞的毒性，即在培养细胞中加入不同浓度的小分子化合物溶液，作用 5 天后，采用 CCK-8 法测定细胞半数中毒浓度 CC_{50} 。然后，检测小分子化合物对流感病毒的抑制活性，即用流感病毒感染 MDCK 细胞，加入不同浓度的小分子化合物溶液作用，再采用中性红法测定病毒半数抑制浓度 IC_{50} 。根据 $SI=IC_{50}/CC_{50}$ 计算治疗指数 SI，并与阳性对照药利巴韦林的 SI 值进行比较，判断小分子化合物的抗病毒活性。由于该部分实验需要在生物安全三级实验室中完成，而该实验室的建设成本极其昂贵，所以本项目对该部分内容进行虚拟化。



流感病毒（Influenza viruses）是一种 RNA 病毒，由于其传染性强、传播速度快，所引起的并发症和死亡现象非常严重。比如，1918-1919 年爆发的“西班牙流感”导致约 5000 万人死亡；2009 年甲型流感中也有 18449 人死亡。因此，备受社会关切。



目前用于防治流感的药物主要有两类：一是上市较早的离子通道阻断剂，以金刚烷胺和金刚乙胺为代表；二是神经氨酸酶抑制剂，对甲型和乙型流感病毒均有效，以扎那米韦和奥司他韦为代表。但是，抗病毒药物长期应用易产生耐药性，降低疗效，病情复发，成为临床治疗及新药开发的重要问题。

随着计算机技术的日新月异以及药物化学、分子生物学、结构生物学、生物信息学和计算化学的发展，计算机辅助药物分子设计（CADD）已经发展成为一门完善和新兴的研究领域。CADD 的关键技术，虚拟筛选方法作为高通量筛选的一个重要补充受到了越来越多的关注。通过整合运用计算集群强大的计算能力以及分子模拟和分子建模的理论和方法，虚拟筛选方法可高效地筛选和评价筛选数据库中的小分子化合物，进而得到靶点潜在的活性化合物。

小分子化合物作为候选药物的虚拟筛选，大致可分为两种策略：1）基于配体的虚拟筛选策略，2）基于受体的虚拟筛选策略。当药物靶点的结构信息缺失或未知的时候，可以用基于配体的虚拟筛选策略对小分子化合物进行评价。基于配体的虚拟筛选策略主要分为子结构匹配、相似性搜索、由基于已知靶点活性化合物所构建的定量构效关系（QSAR）模型或药效团模型等来筛选小分子化合物数据库。当药物靶点信息已知的情况下，可以用基于靶标（受体）的虚拟筛选策略包括分子对接、基于受体或复合物结构的药效团模型等来评价数据库中的小分子和靶点的互补性以及亲和力来得到有希望的潜在活性化合物。

目前抗病毒活性药物的筛选主要分为体外筛选模型和体内筛选模型。初筛模型多选择体外模型，采用组织细胞培养法观察药物的抗病毒作用，大致分为 2 步，即药物对细胞毒性实验（如 CCK-8 法）以及药物抗病毒药效实验（如 CPE 观察及中性红染料吸收法）。本项目以病毒为实验模型，是易感染、难操作的高危险性、高技术含量的实验，按照规定应该在生物安全三级实验室（BSL-3）进

行。所以，先进行相关实验安全培训。然后，选择 MDCK 犬肾细胞作为抗流感病毒药物活性的体外筛选模型，以利巴韦林为阳性对照药，检测筛选出来的化合物对细胞毒性影响及其体外抗病毒能力，初步评价其抗流感病毒活性。

2-4 实验仪器设备（装置或软件等）

1. 药物分子设计所需的相关软件及其运行所需的计算机组；



2. 生物安全防护三级实验室；

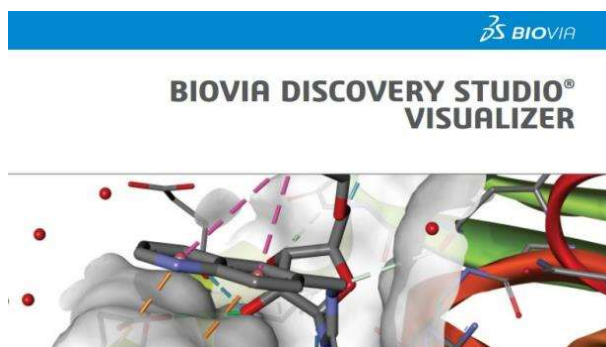


3. 生物安全柜、细胞培养箱、-80℃超低温冰箱、普通冰箱、显微镜、酶标仪等。



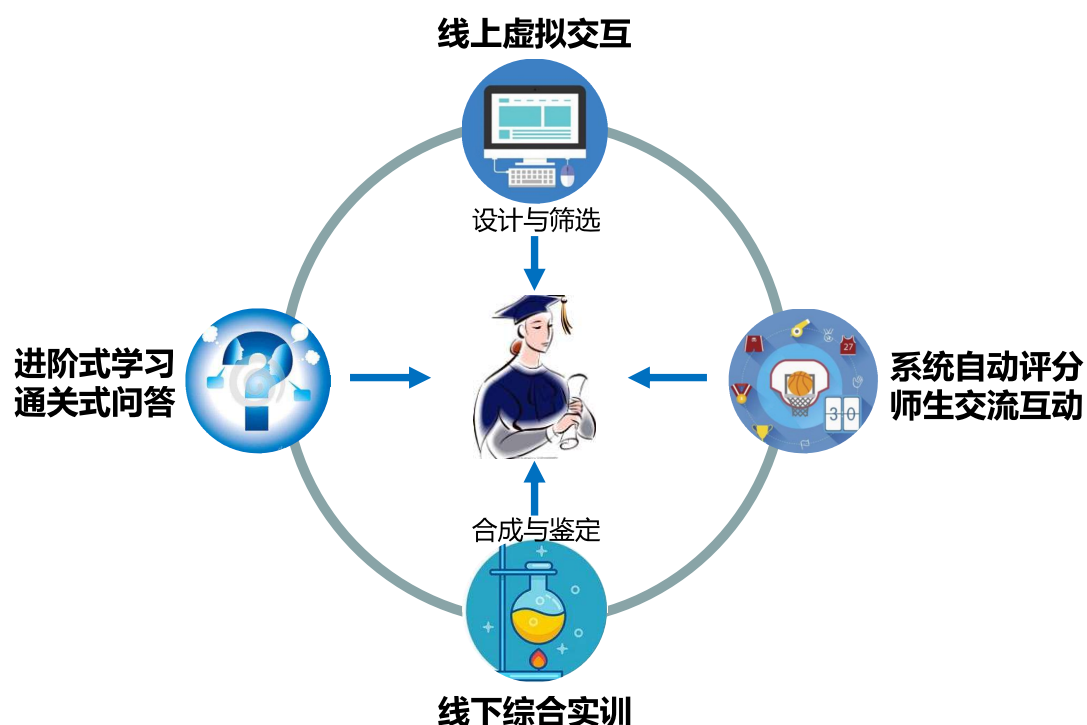
2-5 实验材料（或预设参数等）

1. 软件系统：Discovery Studio 3.0 Client 或 SYBYL 等。



2. 体外细胞模型：MDCK犬肾细胞；
3. 病毒株：流感病毒甲型H1N1；
4. 试剂：CCK-8，中性红染料，DMEM细胞培养基，PBS缓冲液,乙酸乙酯；
5. 受试化合物；
6. 阳性对照药物：利巴韦林。

2-6 实验教学方法（举例说明采用的教学方法的使用目的、实施过程与实施效果）



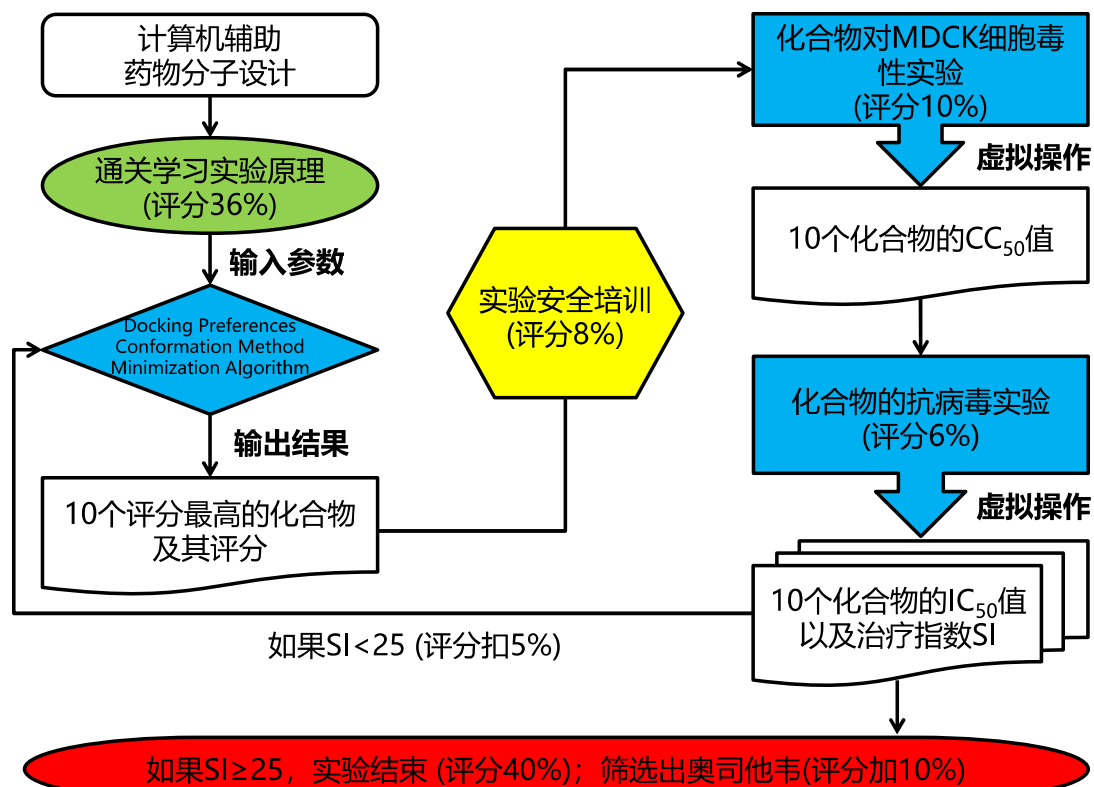
本项目采取在教师引导下，学生**自主探究式学习**的方式实施。线上虚拟教学依托药物研发虚拟仿真实验训练平台，学生自主完成：实验原理阅读、实验**视频**

演示/动画观看、**交互式虚拟实验操作**，着眼于知识点回顾、实验流程展示、虚拟实验操作和实验结果分析处理；生物安全三级实验室的**3D 虚拟场景体验**；**问题导向的进阶学习和通关训练**，提升项目趣味性；学生自主思考选择实验器材和步骤，激发学生主观能动性；多次反复练习，强化操作流程。

具体实施过程：登陆药物研发虚拟仿真实验训练平台→选择实验子模块（奥司他韦片研发虚拟仿真实验）→选择实验子项目（抗流感病毒活性药物的设计与筛选）→选择项目虚拟操作内容（抗流感病毒活性药物的设计）或者虚拟操作内容（抗流感病毒活性药物的筛选）；完成实验原理阅读、实验示教视频/动画观看、交互式虚拟实验操作，着眼于知识点回顾、实验流程展示、虚拟实验操作和实验结果分析处理。如果未筛选出抗流感病毒活性强的药物，则重新进行药物分子设计软件参数设置，获得候选化合物后再进行活性筛选；如此循环，直至筛选出抗流感病毒活性强于阳性对照药的药物。

通过该项目的实施，可实现学生自主学习和相互评价，大大减少了教师工作量，同时学生的创新思维、创新意识和创新能力不断加强，综合素质全面提升。

2-7 实验方法与步骤要求（学生操作步骤应不少于 10 步）

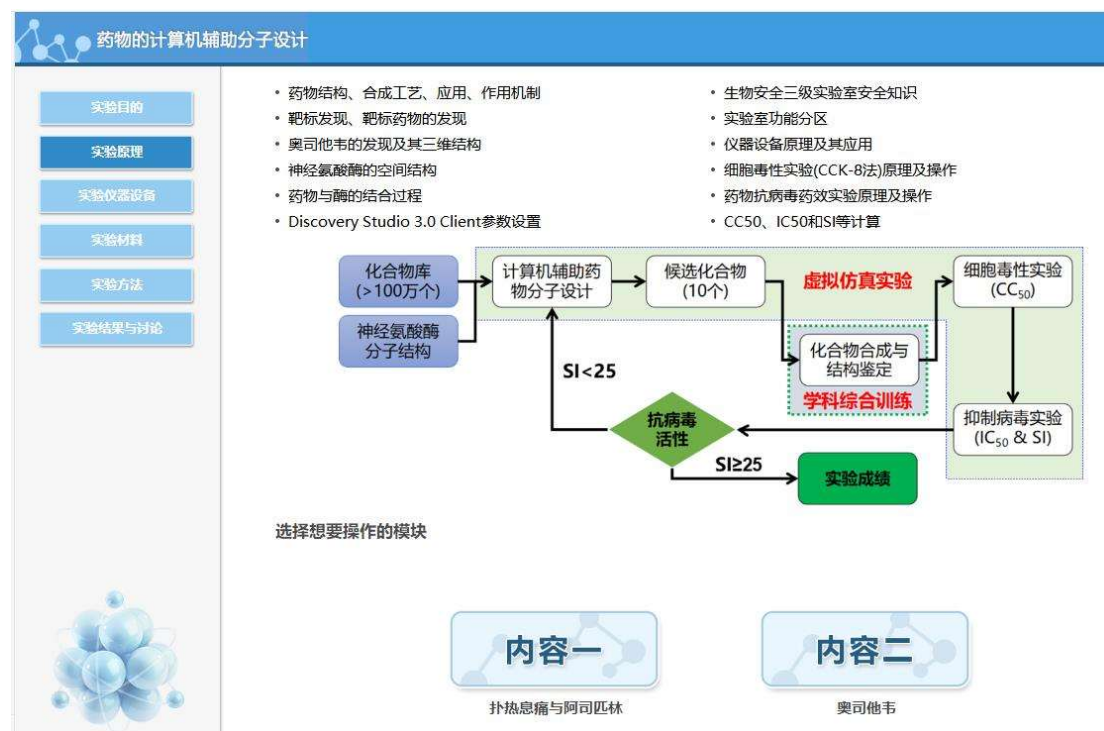


网址：http://mvlsuda.edu.cn/virlab/userzy/yaowufenzi/astw_2.html（推荐使用

IE10 以上浏览器、火狐浏览器、360 浏览器极速模式）



【第一步】：点击“理论知识”，自主学习实验目的、实验原理、实验仪器设备、实验材料、实验方法、实验结果与讨论等内容。



【第二步】：进阶式学习结合通关式问答完成实验相关理论知识学习。

(1) 内容一：药物化学的基本知识

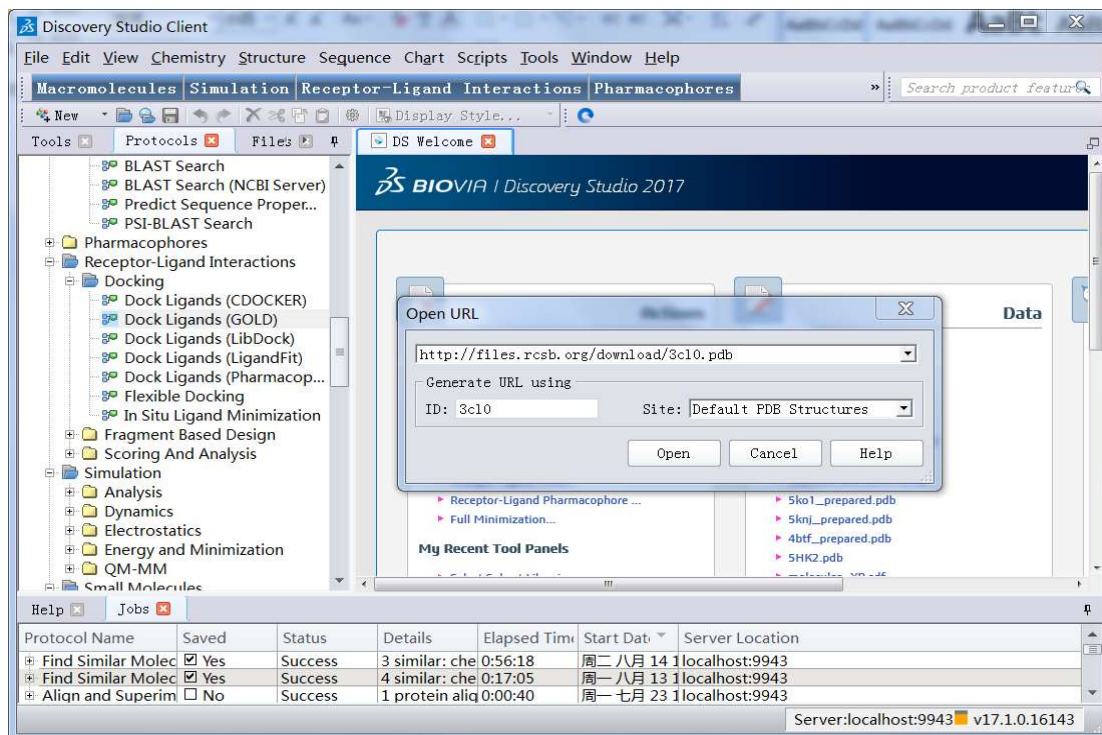
(2) 内容二：基于靶点结构设计的药物——奥司他韦

[illegible]

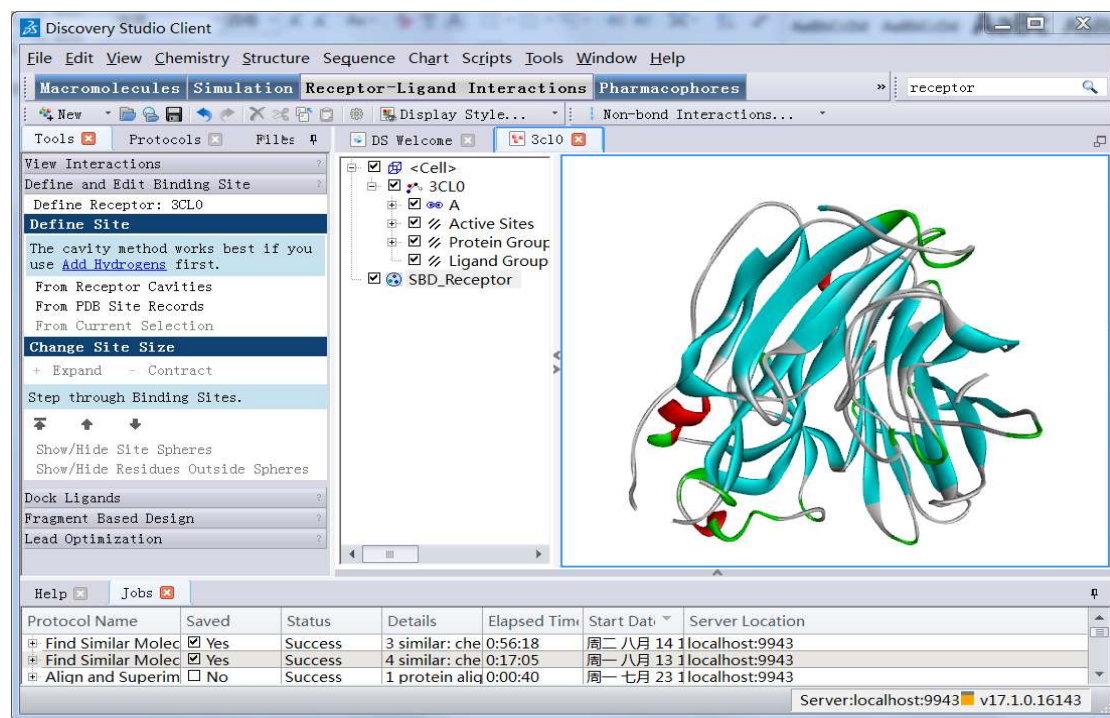
【第三步】：点击“虚拟操作”→→选择“抗流感病毒活性药物的设计”→→选择“实验目录”， 观看视频演示，学习靶标分子定义和化合物库对接。

(1) 定义蛋白为受体分子

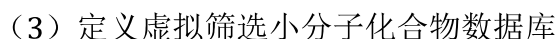
点击 File---Open URL---在 ID 栏输入 3cl0，出现画面，如下图：



然后，点击 Open---在打开的系统视图中删除复合物晶体结构中的水分子和小分子配体，随后在工具浏览器 Tools 中，展开 Define and Edit Binding Site，点击 Define Receptor。在系统视图中添加 SBD_Receptor 一栏。将前面准备的蛋白分子 3cl0 定义为受体分子，供下一步使用。



如果晶体结构中不包括 H 原子，在菜单栏中选择 **Chemistry|Hydrogens|Add** 加氢。随后在 **Tools** 工具栏中，在 **Define Site** 一栏下点击 **From Receptor Cavities**。通过寻找受体中的空腔来寻找受体中可能的结合部位。在系统视图中自动添加 10 个结合位点 (**Site1-10**)，即找到了 10 个可能的结合位点，最大的可能的结合位点则显示在图形视图中。





www.specs.net





[About Specs](#)
[Products & Services](#)
[Research Projects](#)
[News & Events](#)
[Contact Us](#)
[Job Opportunities](#)

[Unique selling points](#)
[Offices around the world](#)
[Factsheets](#)

Specs.net

database download
online chemistry search
[...more](#)

About Specs

Specs, founded in 1987, provides chemistry and chemistry related services that are required in drug discovery.

Today, Specs is world's leading provider of compound management services besides being a main supplier of screening compounds and building blocks to the Life Science Industry.

In addition to providing compound handling services and high quality compounds Specs offers a wide range of services such as:

- cheminformatics
- custom synthesis
- contract research
- compound sourcing

These global activities are managed from the headquarters in Zoetermeer, The Netherlands, supported by regional offices and representatives in North America, Japan, India and China ✕

Login to Specs.net

Username

Password

[Sign in](#)

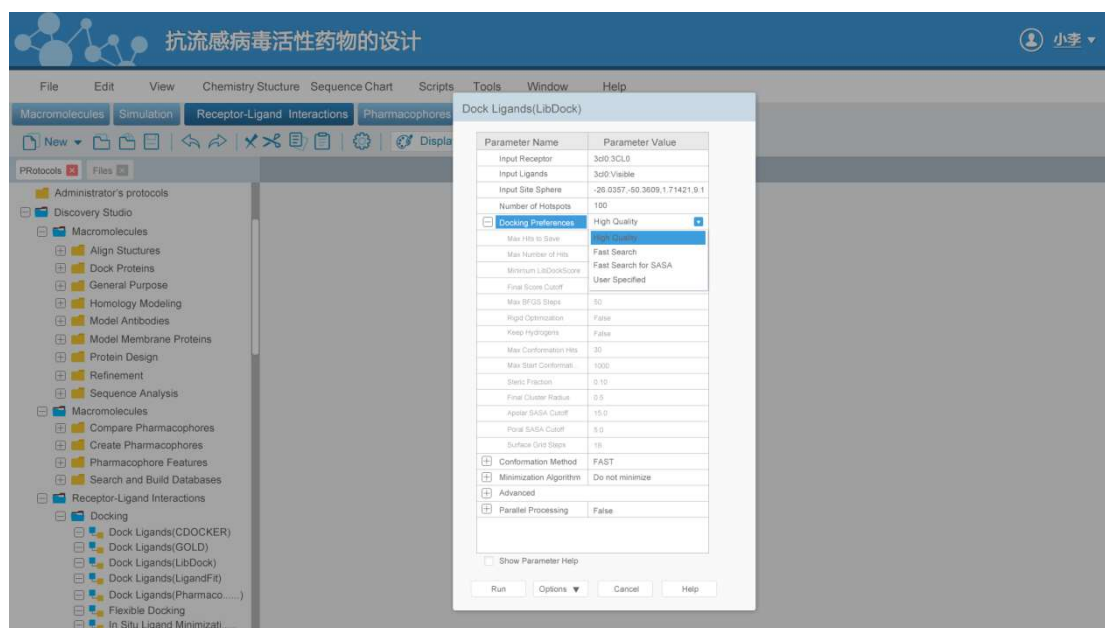
☐ remember login:

[Forgot password?](#)

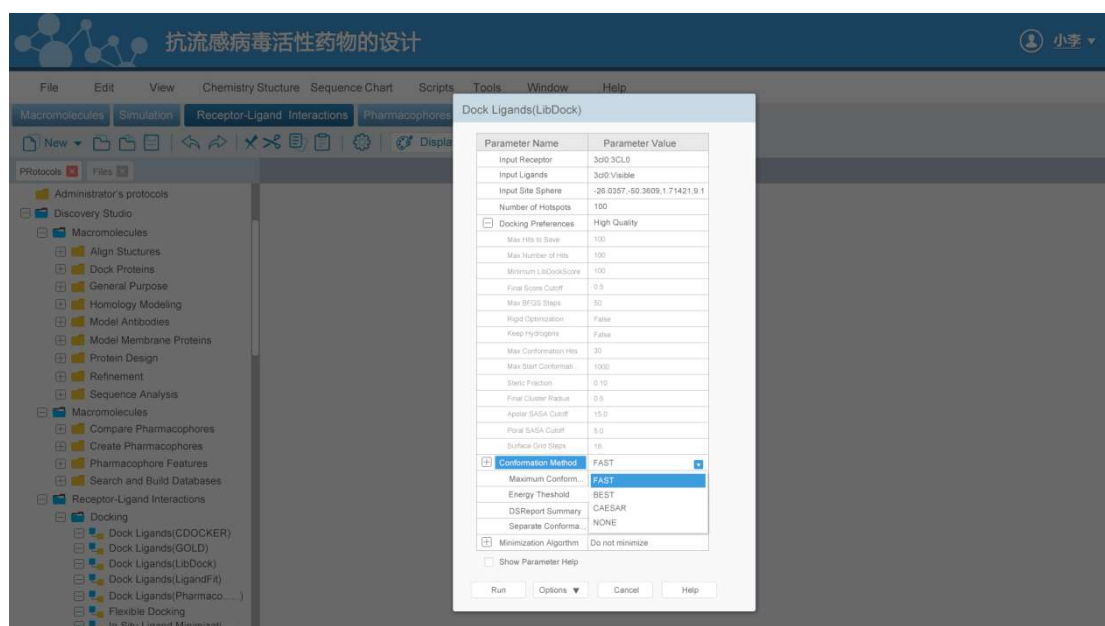
[Free user registration](#)

【第四步】：设置 Docking Preferences、Conformation Method、Minimization Algorithm 等参数。

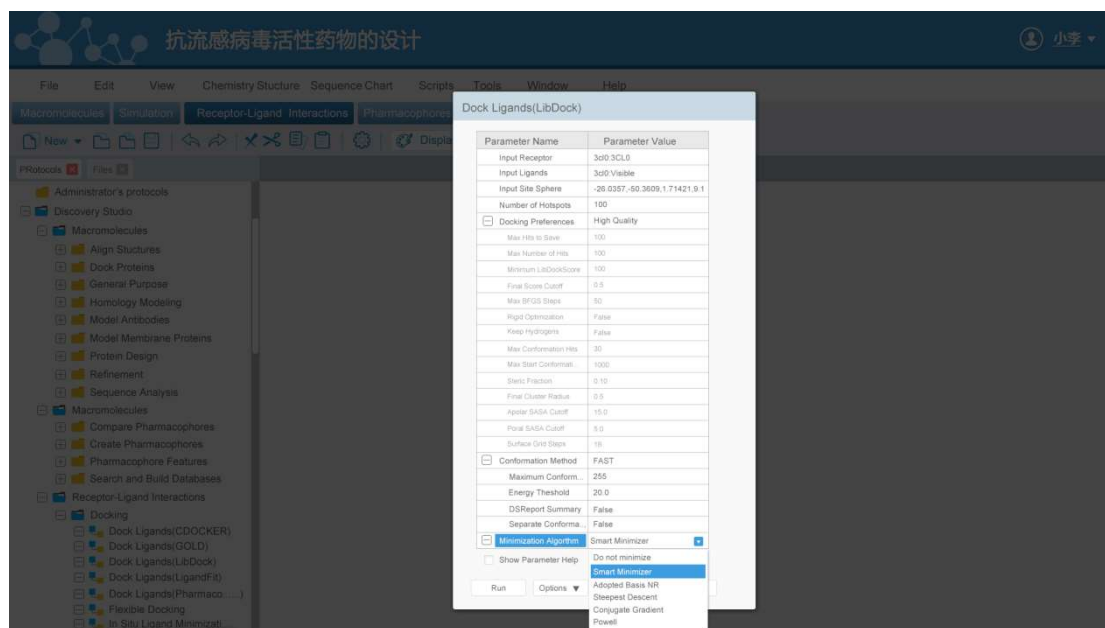
❶ 选择对接速度和精度之间的平衡方式 Docking Preferences：在 Docking Preferences 中选择 Fast Search、High Quality 或 Fast Search for SASA）。



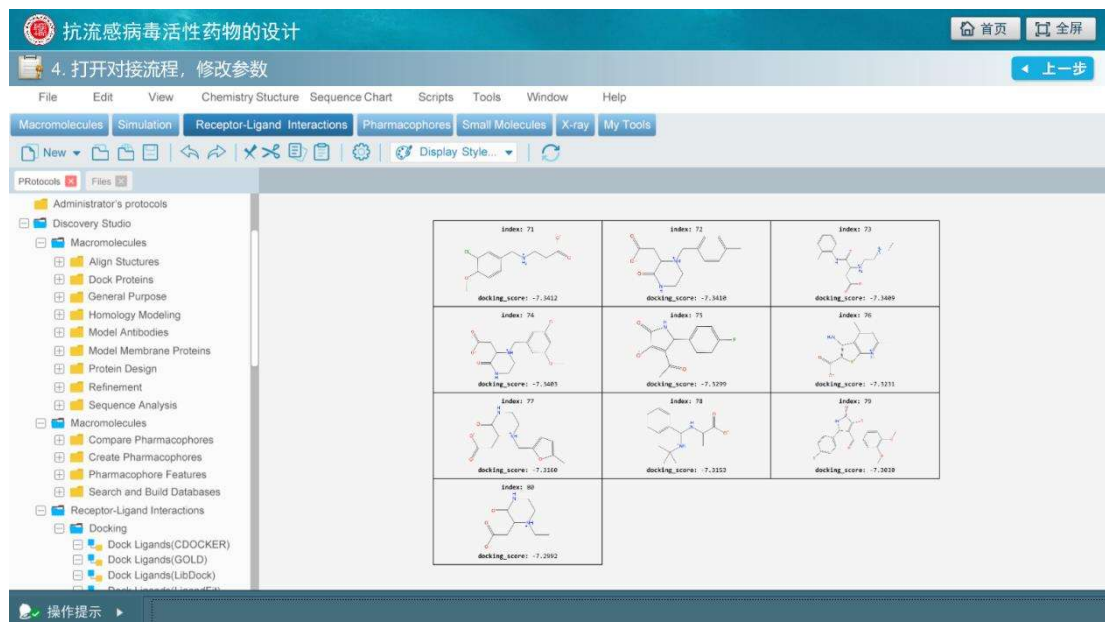
❷ 选择构象采样方法 Conformation Method：在 Conformation Method 中选择 Fast、CAESAR 或 Best。



③选择能量优化方法 Minimization Algorithm: 在 Minimization Algorithm 中选择 Smart Minimizer、Steep Descent 或 Conjugate Gradient。



【第五步】: 运行软件, 获得 10 个评分最高的可能与神经氨酸酶结合的候选化合物。



【第六步】：选择“抗流感病毒活性药物的筛选”，学生自主学习“实验目的”、“实验原理”和“实验设计”等内容。



【第七步】：点击“开始实训”→→选择“实验安全培训”。

❶ 生物安全三级实验室 3D 场景体验；



❷ 选择功能分区，了解实验室布局；





③ 学习仪器设备知识



【第八步】：选择“体外抗流感病毒药物筛选”，完成药物活性筛选实验。



(1) 药物对MDCK 细胞毒性实验

①培养和观察细胞



②稀释药物



③加药处理



④检测样品



⑤系统给出细胞半数中毒剂量（CC₅₀）

抗流感病毒活性药物的筛选

实验目的 实验原理 实验设计 虚拟仿真实验操作

二、体外抗流感病毒药物筛选 < 药物对MDCK细胞毒性实验

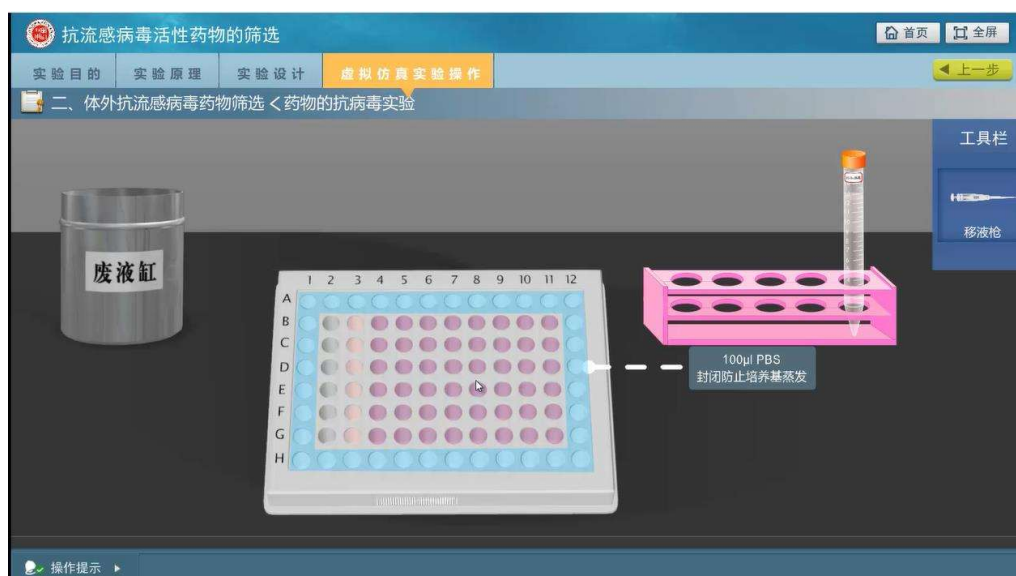
5) CCK-8检测

细胞半数中毒浓度	
化合物	细胞半数中毒浓度 CC ₅₀ (μg/ml)
利巴韦林	742.0±76.9
#161	482.8±48.3
#162	991.2±25.7
#163	123.6±89.3
#164	683.7±44.0
#165	488.0±7.3
#166	61.4±92.5
#167	829.2±48.6
#168	176.7±17.4
#169	972.8±70.1
#170	345.0±32.8

操作提示 请点击下一步

(2) 药物的抗病毒实验

①用96 孔培养板将MDCK 细胞培养成单层细胞。



②病毒吸附、培养、吸去病毒。



③药物稀释、加药、培养及检测。

④系统给出抑制病毒半数有效浓度(IC₅₀)和治疗指数 SI。

⑤结果判断：化合物 78 的抗病毒活性最强，其 SI 值为 7.93；小于阳性对照药利巴韦林的 SI 值 24.9。

抗流感病毒活性药物的筛选

实验目的 实验原理 实验设计 虚拟仿真实验操作

二、体外抗流感病毒药物筛选 < 药物的抗病毒实验

化合物的抗病毒活性

化合物	细胞半数中毒浓度 CC ₅₀ (μg/ml)	抑制病毒半数有效浓度 IC ₅₀ (μg/ml)	治疗指数 SI (CC ₅₀ /IC ₅₀)
利巴韦林	742.0±76.9	29.8±6.7	24.9
#161	482.8±48.3	305.1±25.6	1.58
#162	991.0±110.0	200.0±10.0	2.81
#163	123.0±12.3	200.0±10.0	0.48
#164	683.0±68.3	200.0±10.0	1.77
#165	488.0±48.8	200.0±10.0	18.4
#166	61.4±92.5	339.0±39.5	0.18
#167	829.2±48.6	427.2±12.8	1.94
#168	176.7±17.4	316.9±45.2	0.56
#169	972.8±70.1	265.3±47.7	3.67
#170	345.0±32.8	353.3±43.8	0.98

SI < 2.5, 返回重新筛选
目前次数: 0 最多5次

【第九步】：重复第五~八步，直至受试化合物 SI 值高于阳性对照药利巴韦林的 SI 值，或者发现活性最强的药物奥司他韦；实验结束，系统给出实验得分。

抗流感病毒活性药物的筛选

实验目的 实验原理 实验设计 虚拟仿真实验操作

二、体外抗流感病毒药物筛选 < 药物的抗病毒实验

化合物的抗病毒活性

化合物	细胞半数中毒浓度 CC ₅₀ (μg/ml)	抑制病毒半数有效浓度 IC ₅₀ (μg/ml)	治疗指数 SI (CC ₅₀ /IC ₅₀)
利巴韦林	742.0±76.9	29.8±6.7	24.9
#151	370.6±7.8	351.9±25.0	1.05
#152	868.6±14.5	251.5±27.2	3.45
#153	151.0±97.4	486.1±13.5	0.31
#154	553.6±35.1	303.2±9.1	1.83
#155	108.9±15.2	152.6±47.3	0.71
#156	908.0±79.0	12.6±49.0	72.1
#157	586.3±54.5	121.2±25.1	4.84
#158	151.9±65.5	189.4±35.4	0.80
#159	850.1±64.1	380.7±13.6	2.23
#160	741.5±66.1	54.4±36.8	13.6

操作提示

【第十步】：在线提交实验报告；在线提问，师生互动交流。

The image displays two screenshots of a web-based experimental report submission and Q&A interface. The top screenshot shows the '实验报告' (Experimental Report) page, which includes sections for '实验目的' (Experimental Purpose), '实验原理' (Experimental Principle), '仪器与材料' (Instruments and Materials), and '实验内容' (Experimental Content). Each section has a text input area and a '提交' (Submit) button. The bottom screenshot shows the '我有疑问' (I have a question) page, which includes a '问题' (Question) input area, a '内容' (Content) input area, and a '提交' (Submit) button. Both screenshots show a sidebar with navigation links and a top header with the course title '抗流腺病毒活性药物的设计与筛选' (Design and Selection of Anti-influenza Virus Active Drugs).

附：学生学习场景

