低温保护剂对关节软骨冻结过程中热膨胀行为的定量构效关系研究

余华星，李代禧，徐斐，柴培，潘琦，王丹丹
（上海理工大学医疗器械与食品学院，上海 200093）

摘要：在对关节软骨进行低温保存时，常常缺乏对实验条件和保护剂种类的筛选依据。本论文通过计算不同醇类保护剂的分子结构描述符，利用 GFA 模型，对筛选后的分子结构描述符建立了关于猪软骨冷冻过程中结晶焓及热应变的 QSAR 模型。两种模型的 R^2 和 R_{pre}^2 分别为 0.931、0.881 和 0.845、0.733，均具有良好的拟合性和预测性。通过对模型的分析，发现保护剂分子极性面积越大，脂水分配系数越高，保护剂发挥的保护作用越强；而所添加的保护剂羟基数和碳原子数合适配比时，结晶焓值较小，保护效果更佳；降温速率和保护剂浓度仍然是影响结晶焓和热应变的主要因素。其中，降温速率对结晶焓的影响受到保护剂分子量的制约，而对热应变的影响则存在最佳降温速率（3 ℃/min）。可以看出，保护剂的分子结构是决定低温保护效果的重要因素，利用建立的 QSAR 模型可以实现对冷冻条件的优化。

关键词：定量构效关系；热膨胀；结晶；冷冻保护剂；猪软骨

文章篇号：1673-9078(2015)12-214-219 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.032

Quantitative Structure-activity Relationship during the Freezing Process of Cryoprotectants Used for Thermal Expansion of Articular Cartilage

YU Hua-xing, LI Dai-xi, XU Fei, CHAI Pei, PAN Qi, WANG Dan-dan
(School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: There is often a lack of control basis for experimental conditions and cryoprotective agents used during the cryopreservation of articular cartilage. After calculating the diverse molecular descriptors of alcohol-protectants, quantitative structure-activity relationship (QSAR) predictive models based on crystallization enthalpy and thermal strains were built using the genetic function approximation (GFA) method and selected descriptors. The values of R^2 and R_{pre}^2 were 0.931, 0.881 and 0.845, 0.733, respectively, sharing a preferably fitting and predictive ability. On analyzing the model, the cooling rate and concentration of the cryoprotectant were confirmed to be the main factors that affected the values of crystallization enthalpy and thermal strain. The degree to which the cooling rate affected the crystallization enthalpy was constrained by the molecular weight. Meanwhile, an optimal cooling rate (3 ℃/min) of the thermal strain was found. In addition, the cryoprotectant shows a stronger protective effect with higher values of molecular polar surface area and AlogP. Moreover, an appropriate proportion of hydroxyl and carbon atoms results in a smaller crystallization enthalpy, indicating an enhanced protective effect. These results suggest that the molecular structure of cryoprotective agents is an important factor determining the effect of cryopreservation. The QSAR model developed in this study can be used for the optimization of freezing conditions.

Key words: quantitative structure–activity relationship; thermal expansion; crystallization; cryoprotective agents; articular cartilage

关节软骨移植是治疗骨关节疾病的重要手段之一[1]，然而，在对关节软骨进行低温保存时，常常会观察到低温断裂现象[2~4]。现有的低温保存方案中，常常需要往被保护的组织中加入一定浓度的冷冻保护剂。为了探究关节软骨低温损伤的机理，寻找冷冻保护剂的筛选依据，本人之前利用热机械分析仪(TMA)[5]，研究了降温速率和低温保护剂对软骨在冻结过程热膨胀行为的影响，讨论了软骨低温保存过程

收稿日期：2015-01-21
基金项目：国家自然科学基金(50906056)；上海市“创新行动计划”国际科技合作项(12430702000)；上海市重点学科项目(T0503，P0502)；上海市自然科学基金(12ZR1420400)；上海市教委科研创新项目(14YZ092)；上海市联盟计划项目。
作者简介：余华星（1992-），女，博士，研究方向：计算生物学和低温生物热科学
通讯作者：李代禧（1975-），男，博士，副教授

中发生的生物力学性能变化。同时，利用差示扫描量热仪(DSC)和修正的 Avrami 动力学方程[6]，分别考察软骨低温保存过程中结晶焓及结晶动力学参数的变化，探究了软骨结晶过程的动力学特性。此方法排除了软骨细胞外基质的影响，从热力学和动力学角度研究了关节软骨在低温保存过程中的结晶机制。通过对比两种研究手段得到的结论，间接验证了关节软骨细胞外存在的大量胶原类成分对结晶过程力学环境存在的影响。

定量构效关系(Quantitative structure activity relationship, QSAR)方法是指以一类同系物的理化参数或分子结构参数等为自变量，生物活性、物理化学性能为因变量，用数理统计方法建立化合物的化学结构与性能之间的数学模型。最初主要是用于药物设计，邱松山等[7]利用定量构效关系研究了对羟基苯甲酸酯类化合物的抗菌活性，所得 QSAR 模型具有较好的预测效果。随着方法的成熟和计算机软硬件的发展,目前在与化学相关的很多学科中得到广泛的应用[8~9],而在低温热科学中的应用还鲜见相关报道。而且，之前的研究多为考察特定条件下，单纯分子结构参数与活性参数的相关关系，并未考虑环境因素对分子结构参数发挥构效关系的最终影响程度。本文通过 QSAR 模型，系统考虑环境因素、保护剂分子结构因素对于猪软骨冷冻保护过程生物活性的综合影响，以期为冷冻保护剂的筛选以及冷冻条件的优化提供参考。

1 原理与方法

1.1 数据来源

猪软骨冻结过程中的热应变(24 个样本)[5]及结晶焓(30 个样本)为添加不同保护剂条件下，以 1 ℃/min、3 ℃/min、5 ℃/min 的降温速率从 0 ℃程序降温至 -60 ℃实验所得，均取自本人的前期研究结果[5]。保护剂分子用 DS Viewer Pro 6.0[10]软件构建，并进行结构优化,分子描述符利用 E-dragon2.1[11]软件计算获得。

1.2 建模方法

遗传函数逼近(Genetic function approximation, GFA) 是模拟自然界生物进化和自然选择而建立的智能型回归算法[12]。本文尝试采用 GFA 对不同种类醇类保护剂的结构描述符与猪软骨冻结过程中的热应变及结晶焓分别进行相关性研究，为预测和估算醇类保护剂对关节软骨的保护效果提供一种有效方法。其算法流程如下[13]：

（1）随机选择描述符和基础函数(线性、平方、乘积、样条等)产生初始方程种群。

（2）从该种群中随机选择两个作为父代方程，然后在方程内随机选择杂交点进行杂交产生子代方程。这些方程同时包含有两个父代的特征。因为允许两个方程的杂交点不同，所以产生的子代方程可能包含比父代多或少的项。

（3）每一个子代方程的适宜度由 Friedman 的 lack- of- fit(LOF)测度来衡量:

$$LOF = LSE/(1-(c+dp)/m)^2$$

其中，*LSE* 是最小方差，*c* 是模型中基础函数的数目，*d* 是平滑参数，*p* 是模型中所用到的描述符的数目，*m* 是训练集中样本的数目。

本研究使用初始方程长度为 5，标准化的平滑参数设为 0.5，通过 *LOF* 值限制增加项(比如描述符或者基础函数)来预防过拟合。

（4）如果新的方程的 *LOF* 值位于前 100 个方程中，那么该方程将被保留，而原来的第 100 个方程将被舍弃。否则该子代方程直接被舍弃。

杂交步骤(2)~(4)重复进行 5000 次，通过方程中项的重新组合不断地选择最优的方程，最终找到具有较好拟合能力和预测能力的 QSAR 模型。

最后用统计软件包 SPSS19.0 中的线性回归分析模块建立 QSAR 模型预测值和实验值的一元线性回归模型。

2 结果与分析

2.1 不同条件下猪软骨结晶焓的 QSAR 分析

利用醇类保护剂(乙醇、乙二醇、1,2-丙二醇、甘油及山梨醇)的分子结构信息，通过软件计算的筛选出的结构描述符，以及实验进行的降温速率及保护剂浓度如表 1 所示。

结晶焓能从热力学角度反应关节软骨在低温保存过程中的结晶机制，因此，本文以猪软骨冷冻过程中的结晶焓作为因变量，对建模数据（见表 1 和表 2）进行 GFA 回归，筛选出与结晶焓最相关的描述符，得到醇类保护剂作用下的猪软骨结晶焓的预测值如表 2 所示，其中 QSAR 预测模型及其参数如下：

$$\Delta H_p=-405.53+27.289\times CR+150\times NHA+61.253\times ALP\times NHA-0.346\times CR\times MW+49.993\times MC\times PSA \quad (1)$$

注：其中 CR，NHA，ALP，MW，MC 及 PSA 分表代表降温速率、氢受体数、脂水分配系数、分子量、保护剂浓度和分子极性面积。

表 1 GFA 模型使用到的相关参数

Table 1 Relative parameters used by the GFA model

保护剂/(*V*/*V*)	浓度/(mol/L)	降温速/(℃/min)	脂水分配系数	分子量	扭转键数	氢受体数	氢供体数	分子极性面积
乙醇	1.5	1	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙醇	1.5	3	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙醇	1.5	5	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙醇	4.5	1	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙醇	4.5	3	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙醇	4.5	5	-0.010	46.0684	0	1	1	0.312
乙二醇	1.5	1	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
乙二醇	1.5	3	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
乙二醇	1.5	5	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
乙二醇	4.5	1	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
乙二醇	4.5	3	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
乙二醇	4.5	5	-0.898	62.0678	1	2	2	0.527
甘油	1.5	1	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
甘油	1.5	3	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
甘油	1.5	5	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
甘油	4.5	1	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
甘油	4.5	3	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
甘油	4.5	5	-1.409	92.0938	2	3	3	0.574
1,2-丙二醇	1.5	1	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
1,2-丙二醇	1.5	3	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
1,2-丙二醇	1.5	5	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
1,2-丙二醇	4.5	1	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
1,2-丙二醇	4.5	3	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
1,2-丙二醇	4.5	5	-0.520	76.0944	1	2	2	0.431
山梨醇	1.5	1	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431
山梨醇	1.5	3	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431
山梨醇	1.5	5	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431
山梨醇	4.5	1	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431
山梨醇	4.5	3	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431
山梨醇	4.5	5	-2.941	182.1720	5	6	6	0.431

其中 GFA 模型的 R^2=0.931，R_{pre}^2=0.881，P=8.099e^{-10}<0.01，说明模型具有较好的拟合性和预测性。图 1 为 GFA 模型计算值对实验观测值的相关情况，由预测值与真实值建立的回归模型方程 y=0.931x-9.302（r^2 =0.927）。图 2 为利用 SPSS 软件构建的线性回归模型对实验数据的适应性检验残差图，图中模型残差的正态分布直方图没有偏离正态分布的异常点出现，表明方案满足模型的正态性假设要求。

为了进一步验证模型的预测能力，需要对模型进行外部验证。本文利用 1,2 丙二醇的理化参数作为验证集，得到结晶焓的预测值如表 3 所示。对ΔH 及ΔH_p值进行 t 检验，所计算的概率值 P＝0.192，大于 0.01，说明预测值与实验值之间无显著差异，可以用 QSAR 建立的 GFA 方程来预测样本结晶焓。

通过分析 QSAR 建立的方程，可以发现降温速率(CR)和保护剂浓度(MC)仍然是影响结晶焓的主要因素，这与之前对猪软骨冻结过程的热力学分析结果一致。通过降温速率在方程中的系数(27.289-0.346×M_W)可以看出，其影响规律并不是单纯的正负相关，而是受保护剂的分子量制约。其原因可能是降温速率的升高，会使水分子迅速过冷，然而保护剂分子量的大小直接影响保护剂迁移速率。分子量大的保护剂会因为迁移速度慢而使软骨组织中局部溶液浓度存在差异，从而在晶核的形成和生长中难以发挥保护效果。

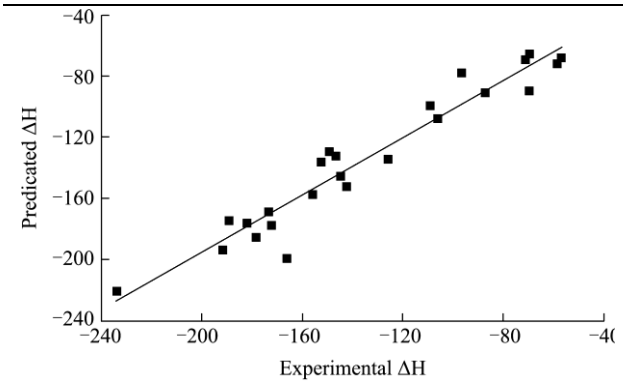


图 1 结晶焓训练集实验值与计算值相关图

Fig.1 Plot of experimental and calculated values of Δ*H* in the training sets

表 2 结晶焓训练集实验值与预测值以及线性回归模型拟合值

Table 2 Experimental and predicted data of Δ*H* for the training sets

保护剂 /(*V*/*V*)	浓度 /(mol/L)	降温速率 /(℃/min)	回归模型拟合值/(J/g)	残差 /(J/g)
乙醇	1.5	1	-226.94	-6.83
乙醇	1.5	3	-163.76	-2.15
乙醇	1.5	5	-169.52	-2.57
乙醇	4.5	1	-185.59	-3.76
乙醇	4.5	3	-141.85	-0.52
乙醇	4.5	5	-148.65	-1.03
乙二醇	1.5	1	-170.32	-2.63
乙二醇	1.5	3	-155.10	-1.50
乙二醇	1.5	5	-143.88	-0.67
乙二醇	4.5	1	-74.28	4.49
乙二醇	4.5	3	-99.55	2.62
乙二醇	4.5	5	-73.94	4.51
甘油	1.5	1	-178.49	-3.24
甘油	1.5	3	-175.18	-2.99
甘油	1.5	5	-188.08	-3.95
甘油	4.5	1	-90.44	3.29
甘油	4.5	3	-110.77	1.78
甘油	4.5	5	-107.76	2.00

而保护剂的浓度系数为 49.993*PSA，受保护剂分子的极性表面积(PSA)影响。这可能是由于水溶液为极性溶液，保护剂在水溶液中发挥作用的部分，主要是其极性面积部分。分子极性面积越大，保护剂的水溶性更佳，发挥的保护作用越强。而项(61.253*ALP*NHA)代表的是保护剂亲脂性和亲水性的拮抗作用，所添加的保护剂的氢受体数(NHA，醇类保护剂理解为羟基数)越多，结晶焓越小，保护效果越好。其主要原因是因为可形成氢键原子越多，同保护剂形成氢键而被束缚的水分子数越多，最终参与形成冰晶的水分子含量也随之相应减少。然过多的羟基容易形成分子内氢键，从而影响其与水分子的结合。而具有一定疏水性的“甲基化”作用，能够缓解这一现象，而脂水分配系数(ALP)表征的正是醇类保护剂分子甲基化效应的大小，脂水分配系数越高，保护效果越好。这也验证了 Fahy[14]的猜想，即低温保护剂结合水能力的高低，除了部分与本身所含有的羟基个数有关，还与是否含有甲基以及甲基的个数有关，也就是所谓的“甲基化效应”。甲基的存在降低了羟基之间键合，切断了溶质之间羟基链的键合，增大了与水分子之间键合的可能性。

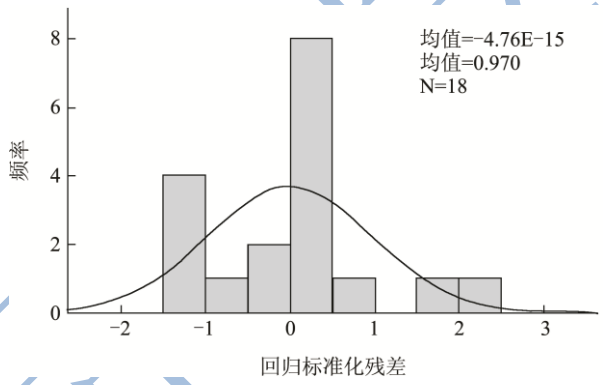


图 2 结晶值 QSAR 模型适合性检验残差图

Fig.2 Fit testing residual plots for the QSAR model of Δ*H*

表 3 结晶焓 QSAR 模型验证集理化参数

Table 3 Physical and chemical parameters of Δ*H* in the validation sets

保护剂 /(*V*/*V*)	浓度 /(mol/L)	降温速率 /(℃/min)	ΔH_p /(J/g)	Δ*H* /(J/g)
1,2-丙二醇	1.5	1	-149.74	-152.79±0.01
1,2-丙二醇	1.5	3	-137.19	-125.57±0.02
1,2-丙二醇	1.5	5	-124.65	-146.56±0.02
1,2-丙二醇	4.5	1	-112.51	-57.98±0.05
1,2-丙二醇	4.5	3	-99.92	-71.54±0.01
1,2-丙二醇	4.5	5	-87.43	-56.96±0.03

通过上述对影响结晶焓大小的因素分析可以看出，在一定浓度和降温速度下，保护剂的种类对于猪软骨冷冻保存过程中的热力学特性具有很大的影响。选取分子极性面积大，分子量小的保护剂，对于猪软骨的保护效果更佳。同时只有羟基数与碳原子数存在合适配比，保护剂才能发挥最佳的作用。

2.2 不同条件下猪软骨热应变的 QSAR 分析

生物组织出现低温断裂现象最可能的原因，是生物材料富含的水分冻结膨胀所致较大热应力[15]。以猪软骨冷冻过程中的热应变值作为因变量，对建模数据（表 2、4）进行 GFA 回归，筛选出与热应变最相关

的描述符，得到醇类保护剂作用下的猪软骨热应变的预测值如表 2 所示，其中 QSAR 预测模型及其参数如下：

$$Strain=10.25-2.684\times CR-1.366\times MC+0.841\times PSA+0.35\times CR^2+0.17\times CR\times MC \quad (2)$$

注：其中 GFA 方程的 $R^2=0.845$，$R_{pre}^2=0.733$，$P=1.058e^{-6}<0.01$。CR，MC 及 PSA 分表代表降温速率、浓度和分子极性面积。

表 4 热应变训练集热应变实验值和预测值

Table 4 Experimental and predicted parameters of the training sets

保护剂 /(V/V)	浓度 /(mol/L)	降温速率 /(℃/min)	回归模型拟合值/(J/g)	残差 /(J/g)
乙醇	1.5	1	5.76	0.31
乙醇	1.5	3	4.11	0.01
乙醇	1.5	5	5.24	0.21
乙醇	4.5	1	2.56	-0.28
乙醇	4.5	3	2.70	-0.26
乙醇	4.5	5	3.94	-0.03
乙二醇	1.5	1	6.08	0.36
乙二醇	1.5	3	4.12	0.00
乙二醇	1.5	5	5.24	0.21
乙二醇	4.5	1	2.22	-0.35
乙二醇	4.5	3	3.31	-0.14
乙二醇	4.5	5	3.76	-0.06
1,2-丙二醇	1.5	1	6.91	0.519
1,2-丙二醇	1.5	3	3.36	-0.13
1,2-丙二醇	1.5	5	4.62	0.10
1,2-丙二醇	4.5	1	3.71	-0.08
1,2-丙二醇	4.5	3	2.01	-0.39
1,2-丙二醇	4.5	5	3.33	-0.15
甘油	1.5	1	6.70	0.48
甘油	1.5	3	4.21	0.02
甘油	1.5	5	5.89	0.33
甘油	4.5	1	3.05	-0.19
甘油	4.5	3	2.71	-0.258
甘油	4.5	5	2.94	-0.21

对 QSAR 模型的预测值与真实值建立的回归模型，如图 3 所示。回归模型方程 $y=0.845x+0.640$($r^2=0.830$)，相关系数 r 可以看出模型具有较好的拟合能力，图 4 为 GFA 模型对实验数据的适应性检验残差图，图中模型残差的正态分布直方图没有偏离正态分布的异常点出现，表明方案满足模型的正态性假设要求。利用山梨醇的理化参数作为验证集，得到热应变预测值如表 4 所示。对实验值及预测值进行 t 检验，所计算的概率值 P＝0.258，大于 0.01，预测值与实验值之间无显著差异，说明可以利用 QSAR 建立的 GFA 方程来预测样本热应变。

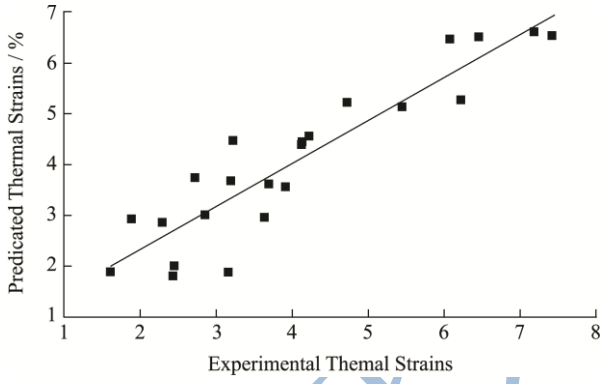


图 3 热应变训练集实验值与计算值相关图

Fig.3 Plot of experimental and calculated values of *Thermal Strains* in the training sets

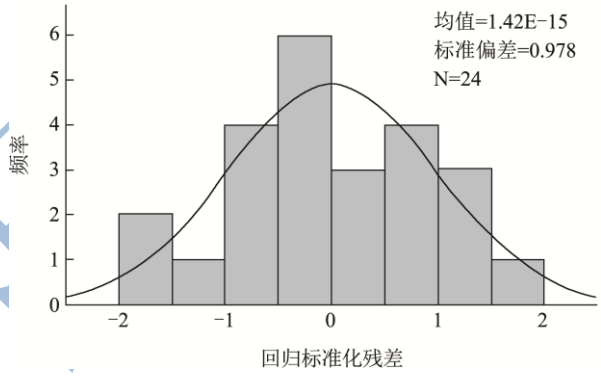


图 4 热应变回归模型适合性检验残差图

Fig.4 Fit testing residual plots for the QSAR model of *Thermal Strains*

基于 QSAR 建立的热应变 GFA 模型可知，降温速率及保护剂浓度是决定热应变大小的主要因素，且降温速率为平方项。这是因为热应变为动力学特性，影响其大小的因素不仅有冰晶的生长还有胞外基质的缓冲作用，而这两个因素均受降温速率的影响。且降温速率相比于结晶焓对热应变的影响更为显著。且通过降温速率项($0.35CR^2-2.684CR+0.17MC*CR$)发现，CR 存在最佳降温速率（依据二次函数最小值计算方法，当降温为(-(-2.684+0.17MC)/2*0.35)时，即 CR 约为 3 ℃/min 时，热应变存在最小值。保护剂浓度因素的系数为(-1.366+0.17CR)<0，与热应变负相关，即保护剂浓度越高，结晶焓越小，保护效果更佳，这也与实验结果相吻合。而保护剂浓度对热应变影响的大小，则受到降温速率的制约，降温速率越大，保护剂浓度系数越小，影响越不明显。则也是由于降温速率越大，保护剂来不及迁移，发挥保护效果，造成主软骨局部热应力较大。

表 5 热应变 QSAR 模型验证集理化参数

Table 5 Physical and chemical parameters of QSAR model for *Thermal Strains* in the validation sets

保护剂 /(V/V)	浓度 /(mol/L)	降温速率 /(℃/min)	热应变预测值/%	热应变实验值/%
山梨醇	1.5	1	4.75	6.66±0.04
山梨醇	1.5	3	4.18	4.60±0.02
山梨醇	1.5	5	5.29	5.34±0.01
山梨醇	4.5	1	3.58	3.07±0.02
山梨醇	4.5	3	1.09	2.03±0.02
山梨醇	4.5	5	3.89	3.79±0.02

通过建立相同实验条件控制下，猪软骨冷冻保存的过程中结晶焓和热应变的2D-QSAR模型可以发现，结晶焓的 GFA 模型的 R^2(0.931)大于热应变模型（0.845），QSAR 模型对于结晶焓具有更好的预测性。这可能是由于结晶焓反应的是猪软骨中水分子的结晶能力，影响其大小的因素主要为降温条件和保护剂的使用情况。然而热应变反应的是猪软骨组织对于结晶产生应力的抵抗能力，会受到自身胞外基质的影响，而此影响因素难以用数学计量符加以评估。

结晶焓和热应变的大小均受降温速率和保护剂浓度的影响，而在对热应变的影响过程中，降温速率和保护剂浓度之间存在交互作用。降温速率对于热应变的影响更为明显，而保护剂结构特性对于热应变的影响相较于结晶焓而言较小。所以，可以认为保护剂在猪软骨冷冻保护中，主要是控制的是软骨中水结晶的程度。而降温速率大小则是影响猪软骨最终对结晶抵抗能力大小的关键因素，由此可以推断，降温速率此过程中主要还影响猪软骨胞外基质的生物力学特性。

3 结论

3.1 通过 QSAR 成功建立了猪软骨冻结过程中的结晶焓及热应变的预测模型，验证了降温速率使影响猪软骨冻结过程中结晶焓和热应变的重要因素，且降温速率对于热应变的影响相较于结晶焓更大，可能是其对软骨胞外基质生物力学特性的影响较大造成的。

3.2 通过建立的模型推断，选择分子量小，分子极性面积大，脂水分配系数较高的保护剂，其发挥的保护作用效果越强。所添加的保护剂的羟基数和碳原子数合适配比时，与水分子形成氢键的能力较强，结晶焓越小，保护效果越佳。

3.3 在对模型影响因素分析时可以发现，保护剂结构对生物活性的影响会受到环境因素的干扰，单纯建立理化参数和活性参数的数学模型，可能会造成较大误差。

3.4 热应变预测模型 R^2 值（0.931）小于结晶焓预测模型（0.845），原因可能是未将胞外基质因素考虑在内。

3.5 由此可见，除实验条件的外部客观因素外，保护剂的分子结构是决定低温保护效果的重要也是关键的内在客观因素。通过低温保护剂的定量构效关系关系研究可以发现，低温保护剂的选择不仅仅是在实验上不断地尝试和试错，而是在理论上有章可循的。因为保护剂分子结构的特点已经内在地决定了相同实验条件下低温保护的效果。这说明低温保护剂 QSAR 的研究对保护剂筛选是非常必要的，是一种重要的低温保护剂优选方法。该方法的应用和推广对低温生物学的长远发展将有重要的意义。

参考文献

[1] 曹乐,何耀华,嵇伟平,等.骨关节炎易感基因研究进展[J].国际骨科学杂志,2008,29(4):262-263
CAO Le, HE Yao-hua, JI Wei-ping, et al. Progress on candidate genes of osteoarthritis [J]. International J. Orthopaedics, 2008, 29(4):262-263

[2] 胥义,周国燕,高才,等.兔主动脉冻结膨胀行为及其影响因素的研究[J].工程热物理学报, 2005, 26(6) : 1013-1015
XU Yi, ZHOU Guo-yan, GAO Cai, et al. Study on the thermal expansion behaviors of rabbit artery during freezing and affecting factors [J]. Journal of Engineering Thermophysics, 2005, 26(6): 1013-1015

[3] Shi X L, DaltaA K. Thermal stresses from large volumetric expansion during freezing of biomaterials [J]. Transaction of the ASME, 1998, 120: 720-726

[4] XU Yi, HUAZe-zhao, SUN Da-wen, et al. Effects of freezing rates and dimethyl sulfoxide concentrations on thermal expansion of rabbit aorta during freezing phase change as measured by thermo mechanical analysis [J]. J. Biomech., 2007, 40: 3201-3206

[5] 余华星,李代禧,胥义,等.醇类保护剂对猪软骨低温膨胀过程的作用[J].制冷学报,2014,35(4):113-118
YU Hua-xing, LI Dai-xi, XU Yi, et al. Effects of cryoprotectant on thermal expansion of articular cartilage during freezing process [J]. Journal of Refrigeration, 2014, 35(4):113-118

[6] Jeziorny A. Parameters characterizing the kinetics of the non-isothermal crystallization of poly (ethylene terephthalate) determined by DSC [J]. Polymer, 1978, 19:1142-1144

[7] 邱松山,姜翠翠,周如金,等.对羟基苯甲酸酯类化合物抗菌

活性的定量构效关系探讨[J].现代食品科技,2014,30(6): 98-102

[8] 周卫红,苗志伟,文欣,等.药物分子设计与定量构效关系研究进展[J].天津师大学报(自然科学版),1999,19(1):34-39
ZHOU Wei-hong, MIAO Zhi-wei, WEN Xin, et al. Progress of quantitative structure-activity relationship inaided drug design [J]. Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition), 1999, 19(1):34-39

[9] 梁桂兆,梅虎,周原,等.计算机辅助药物设计中的多维定量构效关系模型化方法[J].化学进展,2006,18(1):119-127
LIANG Gui-zhao, MEI Hu, ZHOU Yuan, et al. Modeling techniques of multidimensional quantitative structure- activity relationship in computer-aided drug design [J]. Progress in Chemistry, 2006, 18(1): 119-127

[10] Spencer C M, Faulds D. Paclitaxel: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the treatment of cancer [J]. Drugs, 1994, 48: 794-847

[11] Todeschini R, Consonni V, Mauri A, et al. DRAGON, Version 2.1 for Windows, Software for the calculation of moleculardescriptors. 2002, Taletesrl, Milan, Italy

[12] David R, HopfingerA J. Application of genetic function approximation to quantitative structure–activity relationships and quantitative structure - property relation -ships [J]. J. Chem. Inf. Comput. Sci., 1994, 34: 854-866

[13] 史惠祥,赵德明,雷乐成,等.US/H_2O_2 协同降解苯酚的动力学研究[J].化工学报,2003,54(10):1436-1440
SHI Hui-xiang, ZHAO De-ming, LEI Le-cheng, et al. Synergetickineticsofphenoldegradationinwater using ULTRA SONIC/H2O2 system [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2003, 54(10):1436-1440

[14] Fahy GM, Levy DI. Some emerging principle underlying the physical property, biologicalaction and utility of vitrification solution [J]. Cryobiology, 1987, 24: 196-214

[15] Rabin Y, Steif P S. Thermal stress modeling in cryosurgery [J]. International Journal of Solid and Structures, 2000, 37, 2363-2375

现代食品科技