

# 蔗糖脂肪酸酯型阳离子脂质体的制备及 基因转运性能研究

刘圣强 赵轶男\* 李明善 刘鸿瑜 李海月 张树彪

(大连民族大学生命科学院, 大连 116600)

**摘要** 该文采用蔗糖脂肪酸酯(sucrose fatty acid esters, SEs)作为助脂质与季铵盐型阳离子脂质1,2-双-[N-十四烷氧酰胺乙基-N,N-二甲基碘化铵](CTA14)制备阳离子脂质体, 测定了脂质体的粒径及Zeta电位, 脂质体的平均粒径为210~230 nm, Zeta电位为50~65 mV。DNA延滞实验表明, 蔗糖脂肪酸酯型脂质体能够有效压缩DNA。阳离子脂质体与绿色荧光蛋白基因(plasmid green fluorescent protein-N2, *pGFP-N2*)结合, 形成脂质体/DNA复合物, 通过载入喉癌细胞(Hep-2)和人宫颈癌细胞(Hela), 观察其转染效率和细胞毒性。结果表明, 阳离子脂质与SEs以质量比1:1、2:1混合制备的脂质体均能高效转染Hep-2和Hela细胞。毒性实验显示, SEs对两种细胞的毒性很小, 阳离子脂质单独存在时对癌细胞具有一定的细胞毒性, 随着SEs加入量的增加, 脂质体对的细胞毒性也明显减小。该文进一步证实了SEs能够作为助脂质用于基因载体系统进行基因转运。

**关键词** 阳离子脂质体; 蔗糖脂肪酸酯; 基因转运; 细胞毒性

## Preparation of SEs-Based Cationic Liposomes and Their Gene Delivery Performance

Liu Shengqiang, Zhao Yanan\*, Li Mingshan, Liu Hongyu, Li Haiyue, Zhang Shubiao

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

**Abstract** A quaternary ammonium-based lipid, and sucrose esters (SEs) as helper-lipids, were prepared into liposomes. The size, Zeta potential and morphology of cationic liposomes were researched. The sizes of these liposomes were from 210-230 nm, and Zeta potential were in the range of 50-65 mV. Lipoplexes formed by the cationic liposomes with pGFP-N2 (plasmid green fluorescent protein-N2) were evaluated in terms of gene transferring efficiency and cytotoxicity in Hep-2 and Hela cells. The liposomes with SEs as helper lipid showed high transfection at the lipid/SEs ratios of 1:1 and 2:1. Cytotoxicity assay indicated that SEs could reduce the toxicity of liposomes to some extent. The results convincingly demonstrated that SEs could be highly desirable candidates for gene delivery systems.

**Keywords** cationic liposome; SEs; gene transfer; cytotoxicity

阳离子脂质体是最有潜力的基因载体之一, 具备简便等优点<sup>[1-2]</sup>。阳离子脂质体由阳离子脂质组成, 阳离子脂质可以单独形成脂质体, 但是很多时候

收稿日期: 2016-08-26 接受日期: 2017-03-14

国家自然科学基金(批准号: 21176046/21606041)、国家高新技术研究发展计划(863计划)(批准号: 2014AA020707)、中央高校自主科研基金(批准号: DC201502020205)和大连民族大学大学生创新训练计划项目(批准号: XA201603079)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0411-87656141, E-mail: yinanzhao@dlnu.edu.cn

Received: August 26, 2016 Accepted: March 14, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.21176046/21606041), the National Hightechnology Research and Development Program (863 Program) of China (Grant No.2014AA020707), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.DC201502020205) and the Undergraduate Training Programs for Innovation and Entrepreneurship of Dalian Nationalities University (Grant No.XA201603079)

\*Corresponding author. Tel: +86-411-87656141, E-mail: yinanzhao@dlnu.edu.cn

网络出版时间: 2017-04-18 14:06:03 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170418.1406.002.html>

它们都和助脂质一起使用, 如二油酰磷脂酰乙醇胺(dioleoyl phosphoethanolamine, DOPE)、磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、胆固醇(cholesterol)等, 这些中性磷脂能起到稳定双层膜和降低阳性成分毒性的作用, 同时提供阳性类脂的细胞渗透功能<sup>[3-4]</sup>。DOPE、PC作为助脂质制备的脂质体, 转染效率高, 但是毒性相对较大<sup>[5-6]</sup>。胆固醇作为助脂质制备的脂质体, 体外转染效率低于DOPE为助脂质的脂质体<sup>[7]</sup>。蔗糖脂肪酸酯(sucrose fatty acid esters, SEs)是由蔗糖与羧酸反应生成一大类有机化合物的总称, 是一种新型的表面活性剂(单酯结构如图1A)<sup>[8]</sup>。它具有良好的乳化、增溶、渗透、防止老化和抗菌等性能<sup>[9-12]</sup>。SEs可食用, 本身及水解产物可作为营养物质被人体吸收, 对人体无害且无刺激性<sup>[13-14]</sup>。近年来, SEs越来越多地被用于制备各种纳米给药系统, 如纳米混悬剂或脂质纳米粒。Wissing等<sup>[15]</sup>制备了含有硬脂酸蔗糖酯的脂质纳米粒, 并研究了其在小鼠体内的影响。Arica等<sup>[16]</sup>证实了通过溶剂注入法或超声乳化法可以制备含有SEs的脂质纳米粒。Levente等<sup>[9]</sup>首次应用月桂酸蔗糖酯和肉豆蔻酸蔗糖酯作为药物辅料, 确定了使用的无毒剂量并证实了这两种蔗糖酯可以用作鼻用制剂中的通透性增强剂, 以增加药物递送循环能力。

本文选用两种碳链长度分别为18碳和16碳, 亲水亲油平衡值(hydrophilic lipophilic balance, HLB) $\leq 1$ 的硬脂酸蔗糖酯和棕榈酸蔗糖酯作为助脂质, 与课题组制备的季铵盐型阳离子脂质(CTA14, 结构如图1B)<sup>[8]</sup>制备阳离子脂质体, 观察蔗糖脂肪酸酯型阳离子脂质体的物理化学性质及体外基因转运性能。观察两种SEs的碳链长度及HLB值对脂质体转染效率及细胞毒性的影响。通过本研究挖掘了SEs在基

因运载体领域的应用潜力, 为构建新型阳离子脂质体基因载体提供理论依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

硬脂酸蔗糖酯S1、棕榈酸蔗糖酯P1均购自日本三菱公司; 类脂CTA14(分子量为938.4)由本课题组合成; Hep-2购自中国科学院上海生命科学研究院细胞库; 转染试剂Lipofectamine 2000(Lipo 2000)购自Invitrogen公司; 质粒pGFP-N2购自Clontech公司; Marker( $\lambda$  DNA/*EcoR* I+*Hind* III Markers 3)购自Fermentas公司; 胎牛血清、Opti-DMEM基础培养液均购自美国Gibico公司; GelRed、MTT均购自杭州四季青生物工程材料有限责任公司; 分析纯氯仿( $\text{CHCl}_3$ )购自天津市科密欧化学试剂有限公司。

倒置荧光显微镜(IX 71)购自日本奥林巴斯公司; 二氧化碳培养箱购自美国热电公司; 凝胶成像系统(LG3000)购自杭州朗基科学仪器有限责任公司; 携Zeta电位测定与纳米激光散射粒度分布仪(HORIBASZ-100)购自日本HORIBA公司; 酶标仪(Sunrise)购自澳大利亚Tecan公司。

### 1.2 脂质体的制备方法

课题组前期工作基础, 建立了阳离子脂质体的薄膜-超声分散制备法<sup>[8,17-18]</sup>。称取阳离子脂质CTA14和SEs(S1或P1), 分别溶于0.5 mL氯仿中, 两种溶液混合后用振荡器充分混匀。在 $\text{N}_2$ 下吹成均匀薄膜, 置于真空干燥箱干燥过夜。加入1 mL超纯水进行水化,  $55^\circ\text{C}$ 左右超声并反复多次震荡, 使壁上的膜充分水化, 得到澄清的脂质体溶液, 浓度为1 mg/mL。得到的四种阳离子脂质体分别标记为CTA14S(1:1)、CTA14S(2:1)、CTA14P(1:1)、

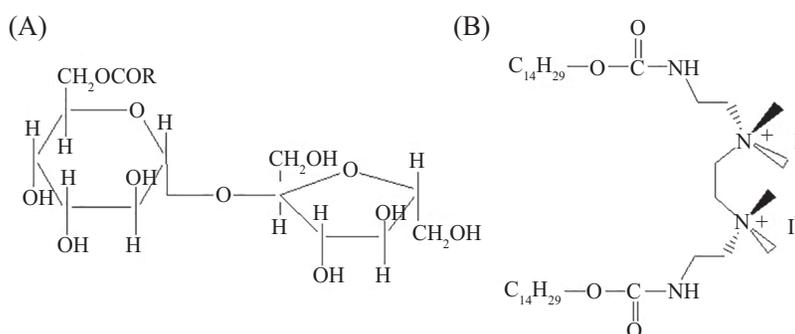


图1 蔗糖脂肪酸单酯(A)和阳离子脂质CTA14(B)的化学结构

Fig.1 Structure of SEs (A) and cationic lipid CTA14 (B)

CTA14P(2:1), 将制好的脂质体置于4 °C冰箱保存。

### 1.3 脂质体的物理性质表征

1.3.1 脂质体的粒径、Zeta电位检测 将脂质体超声处理20 min, 用超纯水稀释。通过纳米激光散射粒度分布仪测量脂质体平均粒径和Zeta电位, 检测条件为氩-氦激光, 波长630 nm。每个样品重复测量3次<sup>[17-18]</sup>。

1.3.2 脂质体的浊度检测 采用WGZ-2000型浊度计测定阳离子脂质体存放3个月前后的浊度, 测定前将脂质体超声处理, 准确移取脂质体20  $\mu$ L, 用1 mL超纯水稀释, 样品重复测量5次, 仪器显示读数稳定后即即为被测样品浊度值。

### 1.4 细胞培养

按照常规方法将Hep-2培养于含10%胎牛血清、100  $\mu$ g/mL青霉素、100  $\mu$ g/mL链霉素的DMEM培养液中, 在37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 每1~2 d更换1次培养液。

### 1.5 脂质体/DNA复合物的制备

将0.3  $\mu$ g pGFP-N2质粒及相应比例脂质体分别稀释于25  $\mu$ L DMEM中, 将质粒稀释液滴加到脂质体稀释液中, 用漩涡振荡器使其充分混匀, 室温温育20 min, 得到脂质体/DNA复合物。

### 1.6 复合物粒径、Zeta电位检测

参照实验方法1.3.1, 测定阳离子脂质体/DNA复合物的平均粒径和Zeta电位。

### 1.7 脂质体与DNA结合能力

首先将1.0  $\mu$ g质粒DNAp GFP-N2(plasmid green fluorescent protein-N2)稀释于DMEM中, 总体积10  $\mu$ L; 分别取质量浓度为1 mg/mL的CTA14S(1:1)、CTA14S(2:1)、CTA14P(1:1)和CTA14P(2:1)脂质体0、0.5、1、2、3、4、6、8  $\mu$ L稀释于DMEM中, 试样总体积10  $\mu$ L; 然后将上述转染试剂稀释液滴加到质粒DNA的稀释液中, 使得转染试剂和DNA的质量比分别为0、0.5、1、2、3、4、6、8倍, 用漩涡振荡器充分混匀, 室温温育20 min。将加样缓冲液3.2  $\mu$ L加入上述样品中混匀, 取20  $\mu$ L复合物加入到1.2%琼脂糖凝胶中, 90 V电泳50 min。在凝胶成像系统中观察DNA电泳条带并拍照<sup>[8,17]</sup>。

### 1.8 转染绿色荧光蛋白基因

根据课题组前期工作基础, 将Hep-2细胞种植于96孔细胞培养板中每孔加DMEM细胞培养液(含双抗和血清)100  $\mu$ L, 浓度约为 $1.0 \times 10^5$ /孔。将细胞

放置在37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中孵育24 h, 使在转染日细胞密度达80%~90%。移去生长培养基, 等量DMEM培养基(无血清)清洗, 再用等量DMEM培养基(无血清)替换。将质粒pGFP-N2 0.3  $\mu$ g及相应比例脂质体分别稀释于25 mL DMEM中, 将脂质体稀释液滴加到质粒稀释液中, 用漩涡振荡器使其充分混匀, 室温温育15 min, 得到脂质体/DNA复合物。将50  $\mu$ L脂质体/DNA复合物加到每孔中, 摇动培养板, 轻轻混匀。在37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养4~5 h, 更换含10%血清和抗生素的培养基, 培育48 h。采用倒置荧光显微镜进行基因表达分析, 观察倍数200倍<sup>[8,17-18]</sup>。

### 1.9 细胞毒性评价

采用MTT法测定Hep-2细胞的存活率。将复合物加入细胞中, 置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。每孔加入5 mg/mL MTT 20  $\mu$ L, 于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养4 h, 弃去培养液, 加入150  $\mu$ L DMSO溶解细胞, 用酶标仪测定 $D_{570}$ <sup>[14]</sup>。

### 1.10 统计学分析

统计结果以均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ S.D.)表示。

## 2 结果

### 2.1 阳离子脂质体的粒径、Zeta电位检测

使用激光粒度仪测定了类脂分别与两种蔗糖酯以不同比例结合制备的脂质体粒径(图2A)和Zeta电位(图2B)。四个脂质体的平均粒径都为210~230 nm, 分散指数(polymer dispersity index, PDI)分别为0.214、0.119、0.302和0.223, 电位为50~65 mV, 粒径均比商品转染试剂Lipofectamine 2000大, 所带的正电荷多。

### 2.2 阳离子脂质体的浊度检测

脂质体的浊度可以直接反映脂质体的稳定性。当光通过阳离子脂质体时, 产生的90°散射光信号与前向透射光和前向散射光信号的和之比随浊度大小而变化, 即90°散射信号/(前向投射+前向散射)信号。图3为4种阳离子脂质体制备后3个月内的结果。肉眼观测无沉降, 经浊度仪测定浊度值, 所制备的阳离子脂质体在放置3个月内浊度无明显变化。脂质体的浊度为4.5~6.5 NTU(nephelometric turbidity units)波动, 且波动幅度较小, 在可接受的合理范围内, 可以看出制得的阳离子脂质体稳定性较好。

### 2.3 脂质体/DNA复合物的粒径、Zeta电位检测

同样的方法测定了脂质体CTA14S(1:1)/DNA

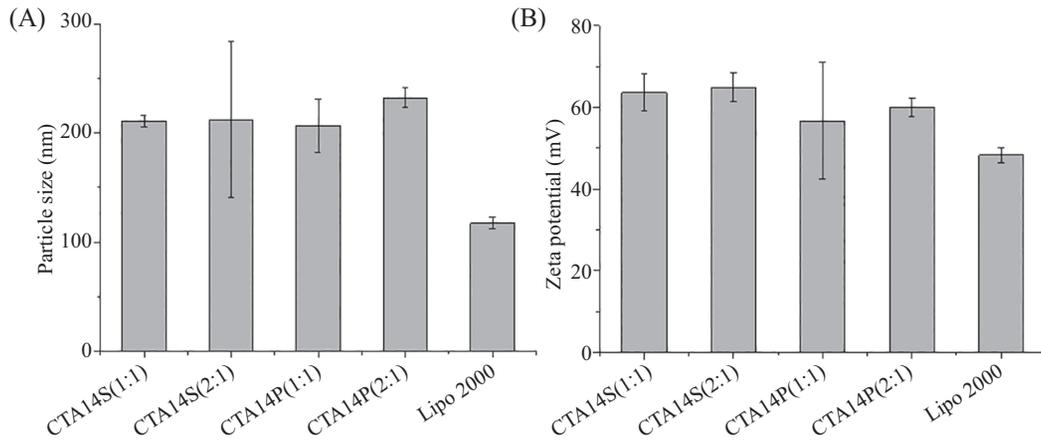


图2 阳离子脂质体的粒径(A)和Zeta电位(B)

Fig.2 Particle size (A) and Zeta potential (B) of cationic liposomes

复合物不同N/P下的粒径(图4A)和Zeta电位(图4B), 脂质体与DNA静电复合后粒径增大大约17%。Zeta电位随着N/P增加而增大, 当N/P=3:1时, Zeta电位大于商品转染剂Lipofectamine 2000, 说明其DNA复合效率优于商品转染剂Lipofectamine 2000, 当N/P=4:1

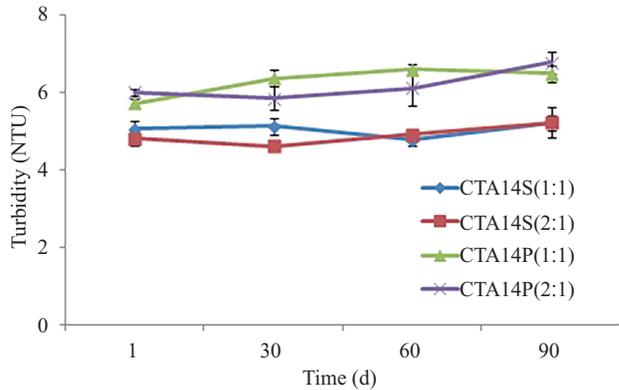


图3 脂质体3个月内的浊度变化

Fig.3 Turbidity changes of cationic liposomes within 3 months

时, 电位为正, 说明此比例下脂质体与DNA复合完全。

#### 2.4 脂质体与DNA复合能力

由于阳离子表面带有正电荷, 可以与DNA的磷酸根负离子发生静电复合作用, 从而达到转染细胞的目的。采用琼脂糖凝胶电泳实验来检测阳离子脂质体与DNA复合的能力(图5), 从而确定最佳复合比例。如图5所示, M为标志物, 0为裸DNA, 0.5、1、2、3、4、6和8分别为脂质体与DNA复合的质量比(N/P)。随着N/P比例的增加, DNA延滞作用明显增强。以P1为助脂质制备的脂质体CTA14P, 在N/P=3:1时, DNA完全被压缩。以S1为助脂质制备的脂质体CTA14S, 在N/P=4:1时, DNA完全被压缩。结合CTA14S/DNA复合物的Zeta电位分析, 在N/P=4:1时, 复合物电位为正电势, 能够完全压缩DNA, 与琼脂糖凝胶电泳结果相符。

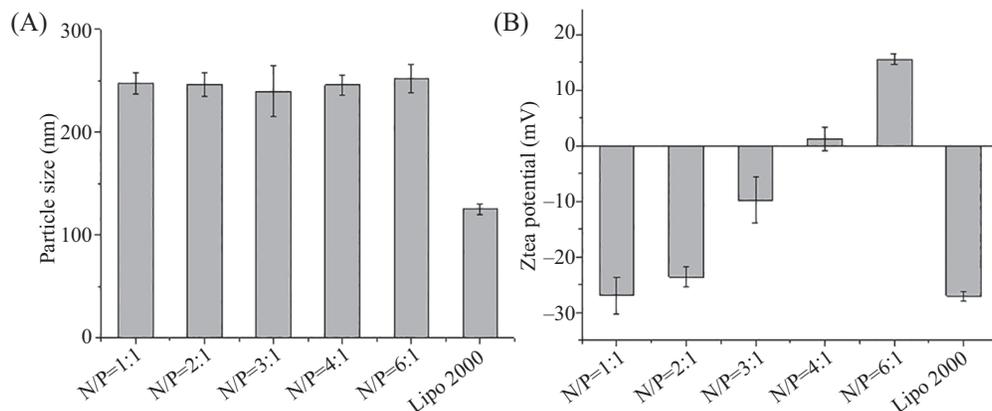


图4 阳离子脂质体CTA14S(1:1)/DNA复合物的粒径(A)和Zeta电位(B)

Fig.4 Particle size (A) and Zeta potential (B) of CTA14S(1:1)/DNA lipoplexes

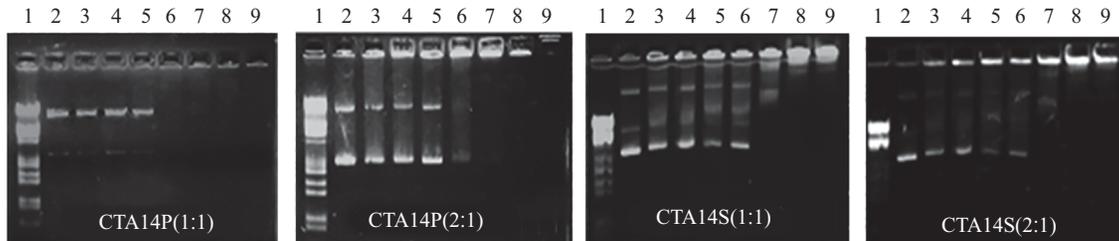
## 2.5 转染绿色荧光蛋白基因

质粒pGFP-N2中含有绿色荧光蛋白基因, 基因表达的产物含有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP), 阳性细胞发出明亮的绿色荧光。GFP阳性细胞越多, 信号越强, 表明转染效率越高, 可以定性分析脂质体/DNA复合物的转染效率。选取N/P质量比例为1:1、2:1、3:1、4:1和6:1, 转染处于对数增殖期的Hep-2细胞和Hela细胞, 48 h后检测GFP(图6和图7)。从图中可以看出, 对于Hep-2细胞, 脂质体CTA14S(1:1)和CTA14S(2:1)与DNA在质量比为3:1时, 有最佳的转染效率。而脂质体CTA14P(1:1)和CTA14P(2:1)与DNA在质量比为4:1时, 转染效率最佳。对于Hela细胞, 四种脂质体在N/P=3:1时, 有最佳的转染效率, 但低于Hep-2细胞。在N/P=6:1时, 四

种脂质体/DNA复合物的粒径较大, 正电荷过多, 转染效率明显下降。

## 2.6 脂质体/DNA复合物及蔗糖脂肪酸酯的细胞毒性

阳离子脂质体由于能和细胞表面带负电荷的多糖蛋白质复合物发生静电作用, 因此会引起细胞膜的毒性。采用MTT法测定了SEs及四种阳离子脂质体与DNA在N/P为3:1时对Hep-2和Hela细胞的毒性。从图8中可以看出, 四种脂质体转染细胞24 h后细胞存活率均在80%以上, CTA14与S1和P1以质量比1:1制备的脂质体, 两种细胞存活率均比CTA14与S1和P1以质量比2:1制备的脂质体高, 且都高于商品转染剂Lipofectamine 2000。结果表明, 通过SEs的加入, 能更好地帮助脂质体进入细胞, 从而提高季铵盐



1: marker; 2: 裸DNA; 3~9: N/P质量比例分别为0.5:1、1:1、2:1、3:1、4:1、6:1和8:1。

1: marker; 2: naked pDNA; 3-9: N/P ratios of 0.5:1, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 6:1, 8:1, respectively.

图5 阳离子脂质体的琼脂糖凝胶电泳

Fig.5 Gel electrophoresis of cationic liposomes

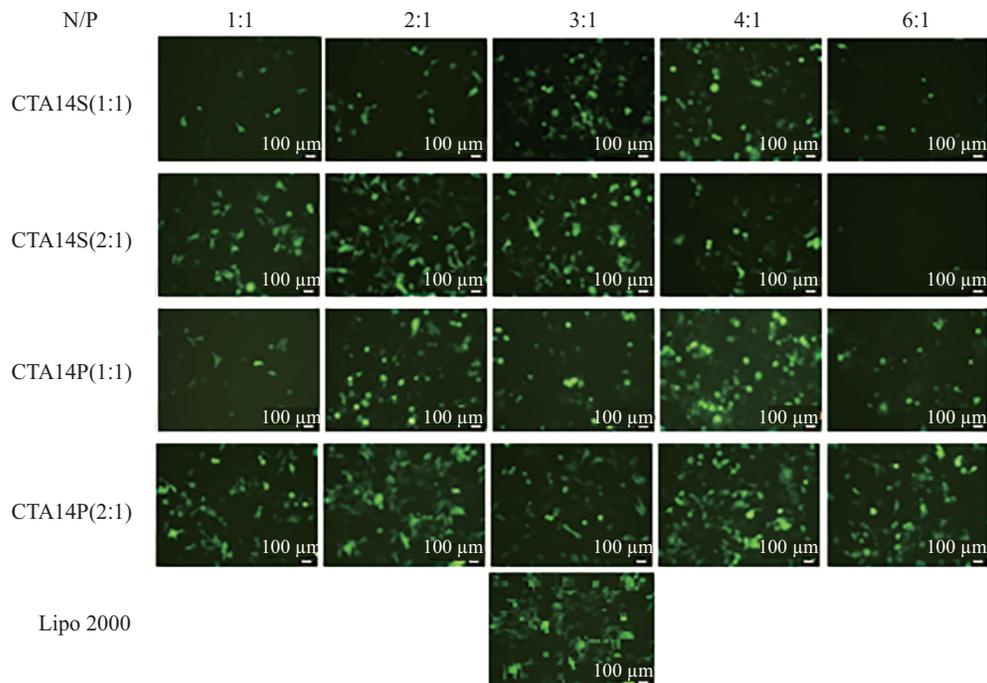


图6 运载绿色荧光蛋白基因转染Hep-2细胞的转染效率

Fig.6 The efficiency of transfection of GFP against Hep-2 cells

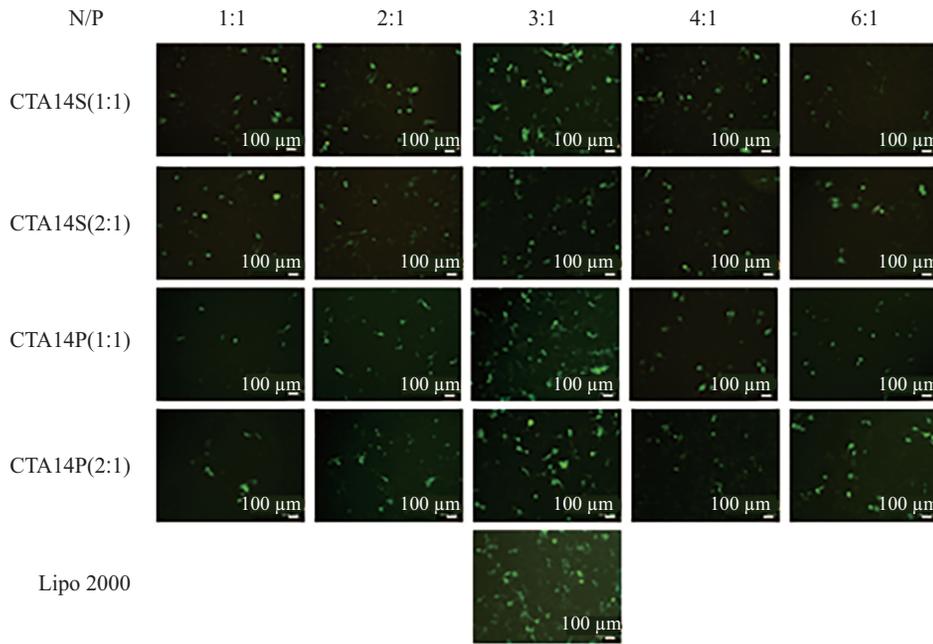


图7 运载绿色荧光蛋白基因转染Hela细胞的转染效率  
Fig.7 The efficiency of transfection of GFP against HeLa cells

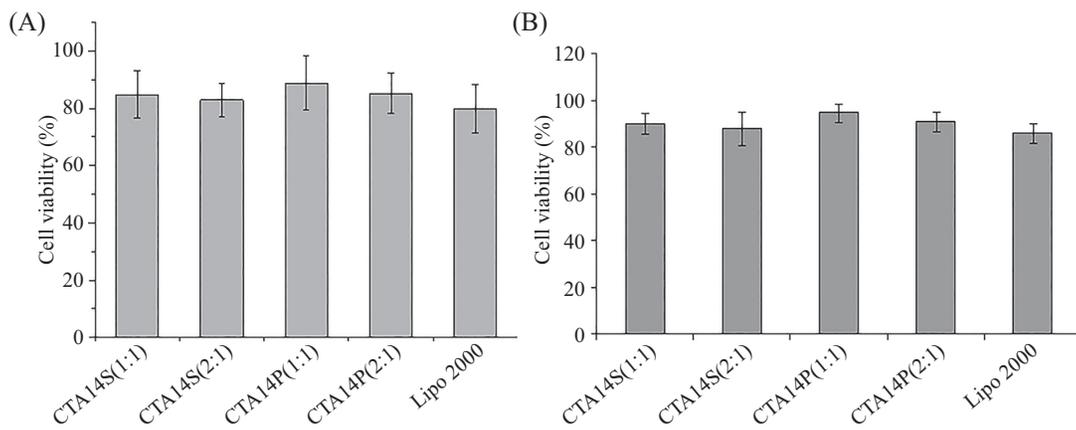


图8 蔗糖脂肪酸酯型阳离子脂质体对Hep-2(A)及Hela(B)的细胞毒性

Fig.8 Cytotoxicity of the cationic liposomes at different CTA14/SEs ratios and SEs in Hep-2 (A) and HeLa (B) cells

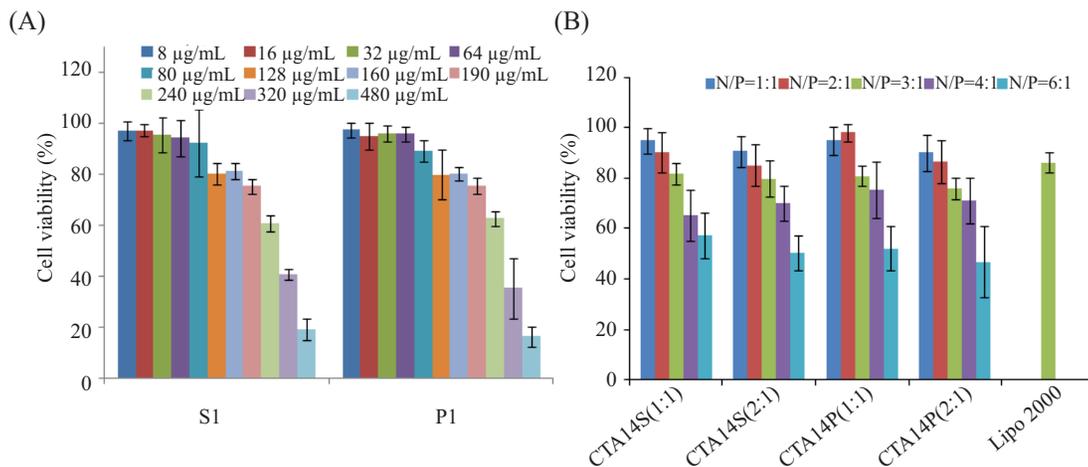


图9 脂质体(A)及SEs(B)的浓度对Hela细胞存活率的影响

Fig.9 The effect of liposomes (A) and SEs (B) on the viability of HeLa cells

脂质体的转染效率, 并降低季铵盐脂质体的细胞毒性。

四种阳离子脂质体及SEs对Hela细胞存活率的影响呈剂量效应关系。由图9可见, 随着脂质体和SEs的浓度逐渐增大, 细胞存活率逐渐降低。SEs在80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下, Hela细胞的存活率都在90%以上, 在240  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度下, 细胞存活率也能达到60%以上。脂质体与DNA在N/P为1:1~3:1, 细胞存活率均能达到80%。结果表明, 通过SEs的加入, 能更好地帮助脂质体进入细胞, 从而提高季铵盐脂质体的转染效率, 并降低季铵盐脂质体的细胞毒性。

### 3 讨论

本课题组前期工作选择阳离子脂质与SEs的质量比为1:1、2:1、1:2制备了阳离子脂质体, 但是以1:2比例制备的脂质体粒径较大, 放置后出现沉降, 稳定性较差, 不能用于生物学评价实验。因此, 本论文选择阳离子脂质与SEs混合比例为质量比2:1和1:1。有研究表明, 带较多正电荷的脂质体具有均匀的粒度分布, 平均直径为100~200 nm<sup>[19-20]</sup>, 此种脂质体与DNA复合能够完全压缩DNA。脂质体Zeta电位的绝对值大于30 mV时, 具有较好的静电稳定性, 绝对值大于60 mV, 已经相当稳定, 而绝对值小于30 mV容易产生融合并发生聚集。从粒径和Zeta电位结果可见, 选用两种蔗糖脂肪酸酯S1和P1作为助脂质与季铵盐型阳离子脂质制备阳离子脂质体, 可得到粒径为200 nm左右, 颗粒分布均匀的纳米级颗粒。阳离子脂质体和脂质体/DNA复合物的Zeta电位绝对值均为30~70 mV, 说明阳离子脂质体和脂质体/DNA复合物均具有良好的稳定性, 能有效压缩质粒DNA。多分散系数PDI指粒径分布的均一性, PDI值越小, 粒径分散越均匀。本研究中, 脂质体的PDI值均为0.2~0.3, 粒径分散均匀。助脂质S1和P1脂肪酸的碳链长度分别为18碳和16碳, 对脂质体的粒径和Zeta电位无太大影响, 较长碳链可使脂质体更易形成双层囊泡结构, 调节脂质体的刚性使其和流动性达到较好的平衡。因此, 本研究构建的蔗糖酯型阳离子脂质体满足作为基因转染载体的条件, 具有适于体内转染的应用潜力。

由于SEs是一种非离子表面活性剂, 由蔗糖和脂肪酸经酯化反应生成的单质或混合物, 以蔗糖的-OH为亲水基, 脂肪酸的碳链部分为亲油基。这

种结构在阳离子脂质体中可以起到稳定双层膜的作用, 可以增强脂质体的分散性, 同时提供阳离子脂质体的细胞渗透功能。常用的SEs的脂肪酸有饱和的癸酸、月桂酸、豆蔻酸、硬脂酸、棕榈酸等和非饱和的马来酸、油酸、亚油酸等。硬脂酸蔗糖酯是单酯、双酯和三酯的混合物, 改变三者的比例, 其亲水性也随之发生改变。棕榈酸蔗糖酯是比脂肪酸单甘酯性能更为优良的非离子表面活性剂。硬脂酸蔗糖酯和棕榈酸蔗糖酯形成的脂质载体对包覆的药物或基因的释放速度与其他类型蔗糖酯要缓慢, 可以实现长循环。同时, SEs具有广泛的亲水亲油平衡值HLB, 不同HLB值的SEs用途也有所不同, 在药物控释领域所用SEs的HLB值为1~16。本论文采用的是硬脂酸蔗糖酯S1和棕榈酸蔗糖酯P1, 脂肪酸碳链长度分别为18碳和16碳, HLB值分别为<1和1。两种脂肪酸蔗糖酯饱和度相同, 碳链长度和HLB值相差不大, 结果证实了构建的脂质体对Hep-2和Hela细胞的转染效率相当。目前, 课题组正在对SEs的脂肪酸碳链长度、饱和度及HLB值进一步研究, 找到SEs的物理性能与基因转运效率的关系, 优化出最适合用作基因载体助脂质的SEs。

由于蔗糖脂肪酸酯的表面活性较强, 使脂质体微粒均匀分散不容易聚集, 从而降低脂质体的正电性所导致的细胞毒性。此外, SEs可食用, 在生物体内能降解成脂肪酸和蔗糖, 是生物体本身所需要的营养物质, 因此SEs对生物体是无毒的。本研究中, 类脂与SEs以质量比1:1混合时, 细胞存活率高于类脂与SEs以质量比2:1混合时的细胞存活率。本研究挖掘了SEs作为助脂质在基因转载体领域的应用潜力, 为新型阳离子脂质体基因载体的构建提供了新思路。

### 参考文献 (References)

- 1 Zhi DF, Zhao YN, Cui SH, Chen HY, Zhang SB. Conjugates of small targeting molecules to non-viral vectors for the mediation of siRNA. *Acta Biomater* 2016; 36: 21-41.
- 2 Xia Y, Tian J, Chen X. Effect of surface properties on liposomal siRNA delivery. *Biomaterials* 2016; 79: 56-68.
- 3 Felgner PL, Ringold GM. Cationic liposome-mediated transfection. *Nature* 1989; 337(6205): 387-8.
- 4 Kedika B, Patri SV. Design, synthesis, and *in vitro* transfection biology of novel tocopherol based monocationic lipids: A structure-activity investigation. *J Med Chem* 2011; 54: 548-61.
- 5 Zuhorn IS, Bakowsky U, Polushkin E, Visser WH, Stuart MCA, Engberts JBFN, *et al.* Nonbilayer phase of lipoplex-membrane

- mixture determines endosomal escape of genetic cargo and transfection efficiency. *Mol Ther* 2005; 11(5): 801-10.
- 6 Szüts A, Sorrenti M, Catenacci L, Bettinetti G, Szabó-Révész P. Investigation of the thermal and structural behaviour of diclofenac sodium-sugar ester surfactant systems. *J Therm Anal Calorim* 2009; 95(3): 885-90.
- 7 Hong K, Zheng W, Baker A, Papahadjopoulos D. Stabilization of cationic liposome-plasmid DNA complexes by polyamines and poly(ethylene glycol)-phospholipid conjugates for efficient *in vivo* gene delivery. *FEBS Lett* 1997; 400(2): 233-7.
- 8 Zhao YN, Qureshi F, Zhang SB, Cui SH, Wang B, Chen HY, *et al.* Novel gemini cationic lipids with carbamate groups for gene delivery. *J Mater Chem B* 2014; 2(19): 2920-8.
- 9 Kürti L, Veszeka S, Bocsik A, Dung NT, Ozsvári B, Puskás LG, *et al.* The effect of sucrose esters on a culture model of the nasal barrier. *Toxicol In Vitro* 2012; 26(3): 445-54.
- 10 Ferrer M, Perez G, Plou FJ, Castell JV, Ballesteros A. Antitumour activity of fatty acid maltotriose esters obtained by enzymatic synthesis. *Biotechnol Appl Biochem* 2005; 42(1): 35-9.
- 11 Xiao D, Ye R, Davidson PM, Hayes DG, Golen DA, Zhong Q. Sucrose monolaurate improves the efficacy of sodium hypochlorite against *Escherichia coli* O157:H7 on spinach. *Int J Food Microbiol* 2011; 145(1): 64-8.
- 12 Zhang X, Wei W, Cao X, Feng F. Characterization of enzymatically prepared sugar medium-chain fatty acid monoesters. *J Sci Food Agric* 2015; 95(8): 1631-7.
- 13 Gumel AM, Annuar MSM, Heidelberg T, Chisti Y. Lipase mediated synthesis of sucrose fatty acid esters. *Process Biochem* 2011; 46(11): 2079-90.
- 14 Szüts A, Szabó-Révész P. Sucrose esters as natural surfactants in drug delivery systems a mini-review. *Int J Pharm* 2012; 433(1/2): 1-9.
- 15 Wissing SA, Müller RH. The influence of solid lipid nanoparticles on skin hydration and viscoelasticity-*in vivo* study. *Eur J Pharm Biopharm* 2003; 56: 67-72.
- 16 Arica YB, Benoit JP, Lamprecht A. Paclitaxel-loaded lipid nanoparticles prepared by solvent injection or ultrasound emulsification. *Drug Dev Ind Pharm* 2006; 32: 1089-94.
- 17 Zhao YN, Zhang SB, Zhang Y, Cui SH, Chen HY, Zhi DF, *et al.* Tri-peptide cationic lipids for gene delivery. *J Mater Chem B Mater Biol Med* 2015; 3(1): 119-26.
- 18 Zhao YN, Zhu J, Zhou HJ, Guo X, Tian T, Cui SH, *et al.* Sucrose ester based cationic liposomes as effective non-viral gene vectors for gene delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016; 145: 454-61.
- 19 赵轶男, 张树彪, 崔韶晖, 张传敏, 张淑芬. 阳离子脂质体介导pGFP-N2基因转染肿瘤细胞. *中国细胞生物学学报*(Zhao Yinan, Zhang Shubiao, Cui Shaohui, Zhang Chuanmin, Zhang Shufen. Transfection of genes into cancer cells mediated by cationic liposomes. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(10): 1459-64.
- 20 Joshi S, Cooke JRN, Chan DKW, Ellis JA, Hossain SS, Singh-Moon RP, *et al.* Liposome size and charge optimization for intraarterial delivery to gliomas. *Drug Deliv Transl Res* 2016; 6(3): 225-33.