

新型葫芦[6]脲纳米颗粒超极化 ^{129}Xe “分子笼” 研究袁晨露^{1,2}, 郭茜旒¹, 陈世桢¹, 周 欣^{1*}

1. 波谱与原子分子物理国家重点实验室, 武汉磁共振中心(中国科学院 武汉物理与数学研究所), 湖北 武汉 430071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘 要: 在相同浓度下, 超极化 ^{129}Xe 的核磁共振 (NMR) 灵敏度是传统质子 NMR 的 10 000 倍以上, 但单原子 Xe 不具有靶向性, 只有单一 NMR 信号. 若超极化 ^{129}Xe 与“分子笼”相结合, 就能获得新的“笼”内 Xe 信号, 为发展超极化 ^{129}Xe 分子探针奠定基础. 因此, 构建新型的“分子笼”是发展新型超极化 ^{129}Xe 分子探针的一个重要方向. 葫芦[6]脲纳米颗粒的出现能改善以葫芦[6]脲为主体的 ^{129}Xe 分子探针水溶性差、信号弱等缺点. 本文构建了水溶性的葫芦[6]脲纳米颗粒, 并发现其具有葫芦[6]脲/纳米颗粒内部两个“笼”内 ^{129}Xe 信号. 这一发现使这种纳米颗粒具有成为超极化 ^{129}Xe 分子探针的潜力, 能降低检测结果中假阳性和假阴性的发生率, 值得更深入的探索和研究.

关键词: 超极化 ^{129}Xe 核磁共振; 双信号; 化学交换饱和转移 (CEST); 纳米颗粒; 葫芦[6]脲

中图分类号: O482.53 **文献标识码:** A

A Novel Molecular Cage for Hyperpolarized ^{129}Xe Based on Cucurbit[6]uril NanoparticlesYUAN Chen-lu^{1,2}, GUO Qian-ni¹, CHEN Shi-zhen¹, ZHOU Xin^{1*}

1. State Key Laboratory of Magnetic Resonance and Atomic and Molecular Physics, National Center for Magnetic Resonance in Wuhan (Wuhan Institute of Physics and Mathematics, Chinese Academy of Sciences), Wuhan 430071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Abstract: Hyperpolarized ^{129}Xe NMR has a detection sensitivity up to 10 000 times higher than that in the conventional ^1H NMR. Hyperpolarized ^{129}Xe gas has only one NMR signal, but can produce multiple signals when combined with molecular cages, providing the chances to develop targeted molecular probes. In this paper, water-soluble cucurbit[6]uril nanoparticles were used for loading hyperpolarized ^{129}Xe gas to construct targeted molecular probes. It was observed that such molecular probes had double “cage” signals and the potential to be developed into multi-functional probes.

Key words: hyperpolarized ^{129}Xe nuclear magnetic resonance, chemical exchange saturation transfer (CEST), nanoparticle, cucurbit[6]uril

收稿日期: 2019-04-26; **在线发表日期:** 2019-05-30

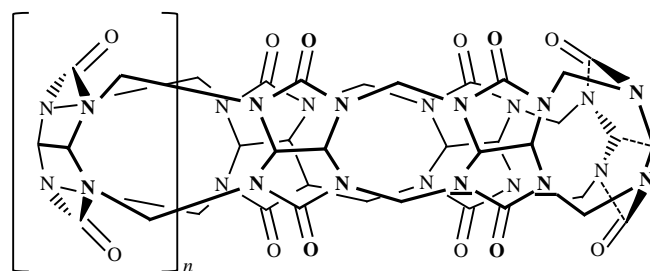
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(91859206, 81625011); 国家重点研发计划(2016YFC1304704); 中国科学院前沿科学重点研究计划(QYZDY-SSWSLH018).

通讯联系人(Corresponding author): * Tel: 027-87198802, E-mail: xinzhou@wipm.ac.cn.

引言

核磁共振 (NMR) 技术因具有无损伤、无辐射、空间分辨率高等诸多优点在疾病诊断上有着广泛的应用^[1]。但是传统的质子磁共振信号存在灵敏度低、背景干扰强等缺点^[2]。近些年来兴起的自旋交换光泵技术可将 ^{129}Xe 的极化度相对于热极化状态提高 10 000 倍，极大地提高了磁共振信号的灵敏度^[3-7]。随着这项技术的发展，新型超极化 ^{129}Xe 分子探针也应运而生，实现了低浓度、高精度的无损伤磁共振探测。据文献报道，超极化 ^{129}Xe 分子探针已经实现了对蛋白^[8-10]、酶^[11,12]、核酸^[13]、受体^[14-18]、硫醇^[19]等多种生命物质，pH 值^[20,21]和金属离子^[22-25]的探测，具有非常广阔的发展前景。但是单原子 Xe 本身不具备特异性，由于这一缺点的限制，使得超极化 ^{129}Xe 分子探针的构建必须依托特定的“分子笼”。当前对主体“分子笼”的研究以穴番为主^[26]，然而经过数十年的不断探索，基于穴番的超极化 ^{129}Xe 分子探针技术已经趋于成熟，很难再有大的突破。因此新型“分子笼”的构建是超极化 ^{129}Xe 磁共振领域面临的巨大挑战。

葫芦[6]脲 (CB[6]) 是葫芦[n]脲 (CB[n]) 家族中的一员。葫芦[n]脲一般都是多个甘脲通过亚甲基桥联形成的大环笼状酰胺化合物，它们的结构一般为中空南瓜状 (图 1)，有一个疏水性的空腔和两个羰基氧原子构成的半亲水的端口。2015 年，Leif 研究组研究表明 CB[6] 具有疏水、刚性开放，且与 Xe 尺寸 (范德华直径约为 0.43 nm) 相似的空腔的特点，可促进其空腔内外 ^{129}Xe 有较快的交换速率，也可用作超极化 ^{129}Xe 分子探针的主体分子^[27]。但是，相较于穴番“分子笼”，基于 CB[6] 的超极化 ^{129}Xe 分子探针往往有信号过宽、较弱、易被噪声掩盖等缺点，同时，CB[6] 自身水溶性和修饰难度也制约着此类分子探针的发展。近年来，科学家们找到了可以直接官能化 CB[n] 的方法，经由简单的几步反应就能合成各种特定的 CB[n] 衍生物^[28]，并探索它们的应用^[29]，包括合成基于 CB[6] 的囊泡^[30]和聚合物纳米胶囊^[31]。这种新型的基于 CB[6] 的纳米颗粒有良好的水溶性和独特的疏水空腔，可以用来装载特定的小分子化合物。



CB[5](n=0), CB[6](n=1), CB[7](n=2), CB[8](n=3)

图 1 葫芦[n]脲的结构式

Fig. 1 Structural formula of cucurbit[n]urils

为了改善以 CB[6] 为主体的超极化 ^{129}Xe 分子探针的信号，发展更具优势的 CB[6] 类“分子笼”，我们在前人研究的基础上，制备了一系列以 CB[6] 为基础的纳米颗粒 (一个纳米颗粒包含多个 CB[6] “分子笼”，能够实现信号增强)，并进行超极化 ^{129}Xe 化学交换饱和和转移 (Hyper-CEST) 测试，以期筛选出水溶性良好、有较强 CB[6] CEST 信号的纳米颗粒。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器: Hyper-CEST 测试均在 Bruker AVANCE 400 中进行. 纳米颗粒样品的水合粒径测试均使用仪器 Malvern Zetasizer 90. 纳米颗粒样品的透射电镜 (TEM) 图均由 HITACHI H-7000 FA 拍摄.

试剂: 氯化钠 (纯度 60%, 分散在矿物油中)、乙酸、甲酸、过氧化氢溶液、丙酮、乙醚、浓盐酸、甲醇、2-氨基乙硫醇盐酸盐、尿素、浓盐酸、氢氧化钠、氯化钾、多聚甲醛、1,2-乙二硫醇、碘甲烷、乙烯基乙醚均从国药集团化学试剂有限公司购买; 烯丙基溴 (分析纯) 购自萨恩化学技术 (上海) 有限公司; 甲氧基聚乙二醇巯基 (HS-PEG, 化学纯, 分子量分别为 2 000 和 5 000) 购自上海芃圣生物科技有限公司. 如无其他说明, 所有试剂均直接使用, 未经过进一步的纯化.

1.2 纳米颗粒的制备

1.2.1 骨架型 CB[6] 纳米颗粒的合成及表征

骨架型 CB[6] 纳米颗粒的合成采用以下步骤 (图 2) 进行: 1) 参照文献[29], 合成化合物 12-烯丙氧基 CB[6] (**a**). 2) 参照文献[32], 纳米颗粒 **1-1** 由化合物 **a** 和 1,2-乙二硫醇以 1:48 的比例在甲醇溶液中经紫外照射 20 h 后直接聚合而成. 后续处理中加入乙烯基乙醚, 洗去纳米颗粒表面多余裸露的巯基链, 然后透析, 滤去多余的硫醇. 3) 参照文献[33], 由纳米颗粒 **1-1** 经过量碘甲烷甲基化后制得纳米颗粒 **1-2**, 纳米颗粒 **1-1** 中硫元素被甲基化后形成 $\text{S}^+\text{-CH}_3$ 而带正电, 使得纳米颗粒 **1-2** 也带大量正电荷, 增加了水溶性. 4) 由纳米颗粒 **1-1** 与少量己二胺盐混合搅拌制得纳米颗粒 **1-3**, 因为 CB[6] 与多胺小分子间存在很强的亲和力 ($K > 10^6 \text{ mol}^{-1}$), 所以利用己二胺盐占据部分 CB[6] 空腔以提高整个纳米颗粒的水溶性.

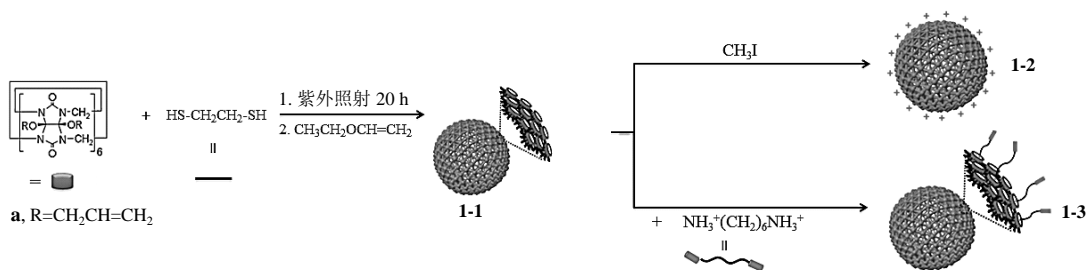


图 2 骨架型 CB[6] 纳米颗粒 **1-1**、**1-2** 和 **1-3** 的合成
Fig. 2 Synthesis of skeletal CB[6] nanoparticles **1-1**, **1-2** and **1-3**

通过动态光散射 (DLS) 测试发现骨架型 CB[6] 纳米颗粒的粒径主要分布于 220 nm 左右 [图 3(a)]. 由纳米颗粒 **1-1** 的 TEM 图 [图 3(b)] 可以看出, 此类纳米颗粒具备明显的壳层结构, 粒径大小与 DLS 测试结果相符.

1.2.2 自组装型 CB[6] 纳米颗粒的合成和表征

自组装型 CB[6] 纳米颗粒的合成采用以下步骤 (图 4) 进行: 1) 参照文献[34], 12-烯丙氧基 CB[6] (**a**) 和 2-氨基乙硫醇盐酸盐 (**b1**) 以 1:6 的比例在甲醇溶液中经紫外照射 3 天, 形成两性单体 (CB[6]

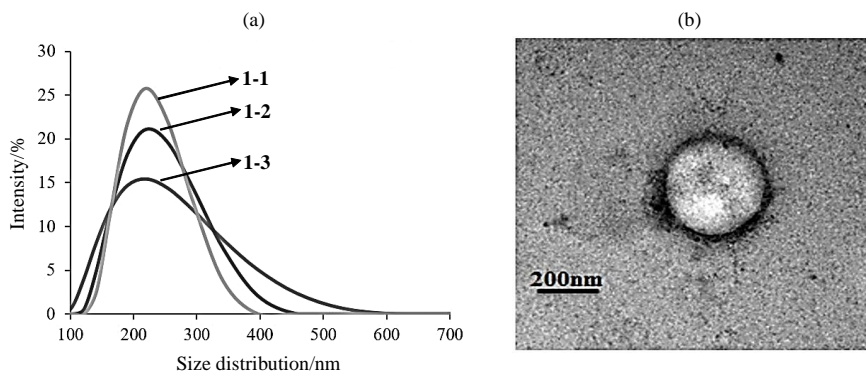


图 3 (a) DLS 测试骨架型 CB[6] 纳米颗粒的水合粒径分布; (b) 纳米颗粒 1-1 的 TEM 图
 Fig. 3 (a) Size distribution of skeletal CB[6] nanoparticles measured by DLS; (b) TEM image of nanoparticle 1-1

自身空腔疏水, 修饰的巯基化合物亲水), 将单体加入蒸馏水中超声 30 min, 即可得到纳米颗粒 **2-1**. 纳米颗粒 **2-2** 制备方法同上, 用 2-羟基乙硫醇 (**b2**) 代替 **b1**. 纳米颗粒 **2-3** 制备方法同上, 用甲氧基聚乙二醇巯基 (**b3**) (分子量为 2 000) 代替 **b1**. 2) 参照文献[35], 制备单羟基 CB[6], 修饰上双键后和甲氧基聚乙二醇巯基 (**b4**) (分子量为 5 000), 以 1:1.5 的比例在甲醇溶液中经紫外照射 3 天, 形成两亲性单体, 将单体加入蒸馏水中超声 30 min, 即可得到纳米颗粒 **2-4**.

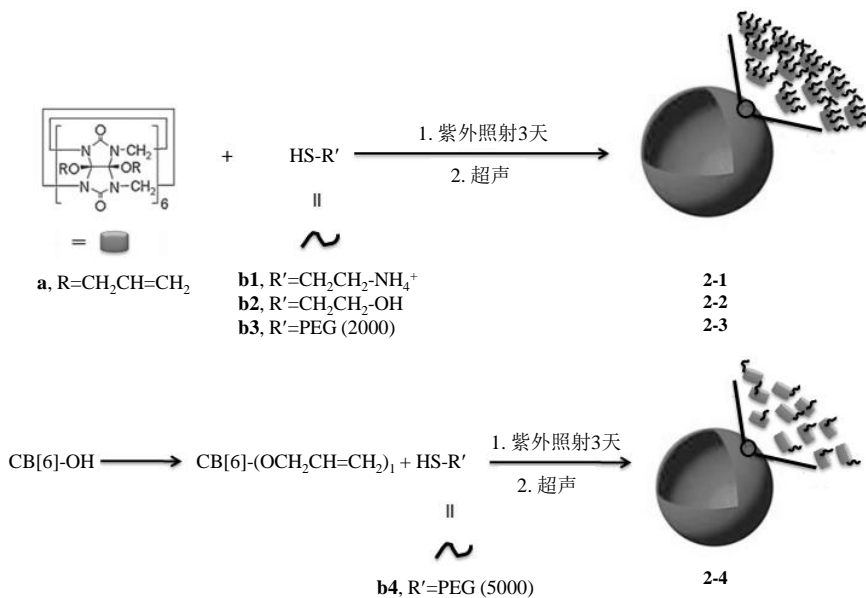


图 4 自组装型 CB[6] 纳米颗粒 2-1、2-2、2-3 和 2-4 的合成
 Fig. 4 Synthesis of self-assembling CB[6] nanoparticles 2-1, 2-2, 2-3 and 2-4

DLS 测试结果[图 5(a)]显示自组装型 CB[6] 纳米颗粒 **2-1** 的粒径主要分布在 300 nm, **2-2**、**2-3** 的粒径主要分布在 350 nm, **2-4** 主要集中在 450 nm (受 PEG 链长影响). 由纳米颗粒 **2-4** 的 TEM 图[图 5(b)]可以看出, 自组装型纳米颗粒非刚性结构, 形状并不十分规则, 但所得粒径大小也与 DLS 测试结果相符.

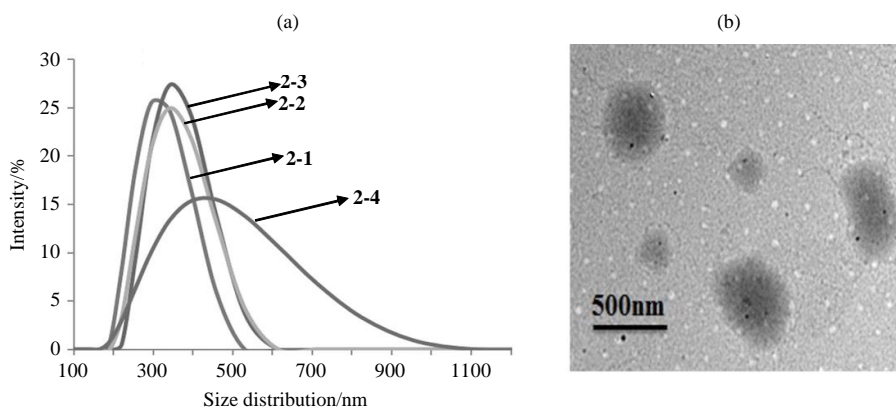


图 5 (a) DLS 测试自组装型 CB[6] 纳米颗粒的水合粒径分布; (b) 纳米颗粒 2-4 的 TEM 图

Fig. 5 (a) Size distribution of self-assembling CB[6] nanoparticles measured by DLS; (b) TEM image of nanoparticle 2-4

1.3 纳米颗粒的 Hyper-CEST ^{129}Xe 测试

在配制溶液时, 我们发现不同类型的纳米颗粒溶解度差异比较大, 在遵循制得溶液无固体析出和得到最优的测试结果两个前提下, 不同种类的纳米颗粒在实际测量中使用不同的浓度, 具体详见表 1. 对于溶液浓度的确定, 骨架型纳米颗粒的浓度以其本身质量计算, 自组装型纳米颗粒的浓度以其单体质量估算.

表 1 纳米颗粒 Hyper-CEST ^{129}Xe 测试时所用的溶液浓度

Table 1 Solution concentrations used in Hyper-CEST ^{129}Xe testing for nanoparticles

纳米颗粒	1-1	1-2	1-3	2-1	2-2	2-3	2-4
浓度/(mg/mL)	0.3	0.3	0.3	2	2	2	1

取配好的纳米颗粒水溶液 2 mL, 向其中加入少许消泡剂, 混匀后转移至 10 mm NMR 样品管. 测试时, 通入超极化的 Xe 气体 (气体成分: 2% 天然丰度的 Xe, 10% N_2 , 88% He) 20 s 后, 停止通气, 然后进行选择性信号的饱和, 再利用 90° 脉冲激发信号进行采样, 测试温度恒定在 298 K. 实验时所选择谱宽为 220 ppm, 饱和和照射范围为 30~250 ppm, 饱和和照射脉冲强度为 $13 \mu\text{T}$, 在每个设置的饱和点位置 (根据经验和文献的报道饱和位点并不完全均匀分布), 分别饱和和照射 10 s, 然后采集获得一系列 ^{129}Xe 谱, 对溶解态 Xe 信号进行积分, 其积分值为 M_z ; 关闭饱和和照射脉冲后采集 ^{129}Xe 谱, 对溶解态 Xe 信号进行积分, 其积分值为 M_0 ; 然后以饱和和照射点的频率为横坐标, 以 M_z/M_0 (需做归一化处理) 为纵坐标作图, 即可得到 CEST 谱图.

2 结果与讨论

2.1 骨架型 CB[6] 纳米颗粒的 Hyper-CEST ^{129}Xe 测试

据文献[27]报道, CB[6] 内的 Hyper-CEST ^{129}Xe 的化学转移通常出现在 100 ppm 左右, 经简单修饰所形成纳米颗粒中的 CB[6] 的信号也应分布在 100 ppm 附近. 三种骨架型 CB[6] 纳米颗粒的结果如图 6 所示.

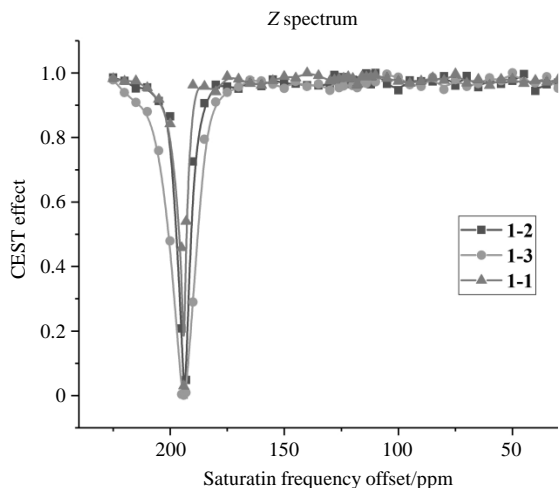
图 6 骨架型 CB[6] 纳米颗粒的 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱图Fig. 6 Hyper-CEST ^{129}Xe magnetic resonance spectra of skeletal CB[6] nanoparticles

图 6 显示, 100 ppm 处无任何 CEST 信号出现, 溶解态信号 (即 194 ppm 处信号) 很窄, 这意味着超极化 ^{129}Xe 在此类纳米颗粒溶液中基本没有 CEST 交换, 或者交换较少, 信号强度未能达到检测限. 分析原因可能是因为这类纳米颗粒巨大的刚性结构, 使其在水中的溶解度不高, 溶液中没有足够的可以用来进行 CEST 交换的“笼子”, 导致只有溶解态 Xe 信号出现.

2.2 自组装型 CB[6] 纳米颗粒的 Hyper-CEST ^{129}Xe 测试

2.2.1 全取代的自组装型 CB[6] 纳米颗粒

为了进一步改善溶解性的问题, 我们尝试在 CB[6] 的腰部修饰亲水性基团. 由于 CB[6] 自身带有疏水性空腔, 这样形成的两亲性化合物在超声的作用下, 依靠分子间作用力很容易自组装成纳米颗粒. 相较于骨架型纳米颗粒的刚性结构, 柔性可变结构使自组装型纳米颗粒在溶解性方面更具优势. 全取代的自组装型纳米颗粒 2-1、2-2、2-3 的 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱测试结果如图 7 所示.

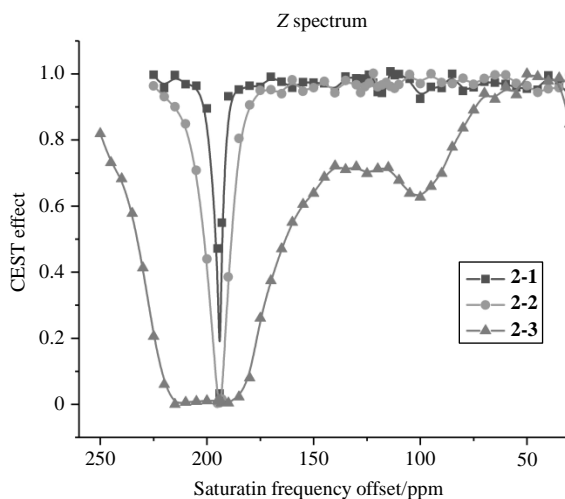
图 7 全取代自组装型纳米颗粒 2-1、2-2、2-3 的 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱图Fig. 7 Hyper-CEST ^{129}Xe magnetic resonance spectra of total-replaced self-assembling nanoparticles 2-1, 2-2, 2-3

图 7 显示, 纳米颗粒 **2-1**、**2-2** 在 100 ppm 左右没有信号出现, 可能单体亲水端所修饰的易溶小分子对最终形成的纳米颗粒的水溶性提升不够明显, 依旧未能达到 Hyper-CEST 检测水平; 只有修饰长链 (PEG), 极大改善纳米颗粒水溶性后才会有 CB[6] 100 ppm 处的信号出现.

另外, 在纳米颗粒 **2-3** 的 CEST 谱图中我们观察到另一个信号的存在, 即出现在溶解态信号附近 210 ppm 处的信号. 经过调研文献^[33], 我们得知合适的纳米尺寸“分子笼”也能有效的装载超极化 ^{129}Xe 分子, 而且其 CEST 信号一般出现在溶解态信号左右. 这一信号的出现给了我们极大的启发, 在实际测试中, 以单一信号作为评判标准很难去除偶然误差所带来的影响, 假阳性或者假阴性信号的出现会对最终测试结果造成偏差, 容易引发误判. 如果在一次测试中, 同时有两个信号的改变, 可以有效的避免这种情况的发生. 这也为我们所构建的纳米颗粒找到了一个新的发展方向. 当用此类“分子笼”运载特定化合物 (如疏水性药物) 时, 在化合物载入或者释放前后, 纳米颗粒上 CB[6] 的信号和纳米颗粒自身空腔的信号会同时发生变化, 根据双信号的同时改变, 我们可以对特定化合物的传递作出准确地判断, 在一定程度上, 有效避免了假阳性或者假阴性信号的可能.

2.2.2 单取代的自组装型 CB[6] 纳米颗粒

纳米颗粒 **2-3** 在 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱测试中出现的双信号, 给予我们很大的启发, 但是同时我们也发现这两处信号都比较宽, 如果环境的扰动比较小, 可能就很难观察到双信号的变化. 如果我们后续想要将其运用到特定化合物的传递上, 必须对此纳米颗粒进行优化.

经过分析, 我们认为这是由全取代过程中的反应不完全导致的, 不完全反应会产生质量不一的两亲性单体, 这使得自组装形成的纳米颗粒也不够均一, 众多信号的叠加造成信号变宽, 于是在纳米颗粒基础上我们做了如下改进: 1) 参考文献, 合成单羟基 CB[6], 再进一步合成单取代两亲性单体, 确保单体性质的均一; 2) 用单取代代替全取代, 意味着纳米颗粒中 PEG 的含量会大大下降, 为了维持纳米颗粒良好的水溶性, 我们决定适当增加 PEG 的链长 (分子量由 2 000 增大至 5 000). 经过多次尝试最终合成纳米颗粒 **2-4** 用于 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱测试, 其结果如图 8 所示.

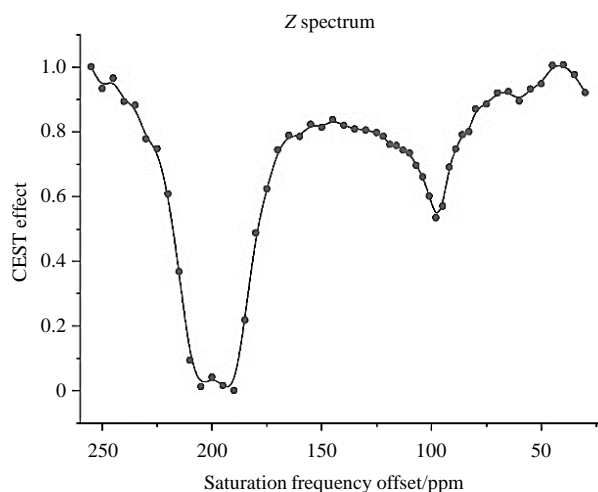


图 8 单取代自组装型纳米颗粒 **2-4** 的 Hyper-CEST ^{129}Xe 磁共振谱图

Fig. 8 Hyper-CEST ^{129}Xe magnetic resonance spectrum of single-replaced self-assembling nanoparticle **2-4**

首先, 双信号再次同时出现, 这是后续能够进行特定化合物传递研究的保障; 其次, 纳米颗粒 **2-4** 相较于 **2-3** 双信号峰的变窄, 意味其对化学环境的变化更加敏感; 最后, 100 ppm 处 CB[6] 的信号

强度的增加, 使得纳米颗粒 2-4 能在复杂环境(细胞或者活体)中同样发挥作用。

3 结论

本文构建了一系列以 CB[6]为基础的纳米颗粒, 从中成功筛选出了水溶性良好、有较强 CB[6]“笼”内 Xe CEST 信号的纳米颗粒, 并发现了这种纳米颗粒中存在 CB[6]/纳米颗粒内部的两个“笼”内 ^{129}Xe 信号。这一发现表明, 这种以 CB[6]为基础的水溶性纳米颗粒可以作为一种性质优秀的超极化 ^{129}Xe 磁共振“分子笼”, 具有进一步成为超极化 ^{129}Xe 磁共振分子探针的潜力。凭借超极化 ^{129}Xe 磁共振技术带来的高灵敏度, 借助纳米颗粒双 ^{129}Xe CEST 信号的同时改变, 该纳米颗粒可以实现在复杂环境下对疏水性药物(如紫杉醇)传递效率的准确判断, 有效降低检测结果中假阳性与假阴性的发生率, 具有非常广阔的研究前景。

参考文献:

- [1] TERRENO E, CASTELLI D D, VIATE A, et al. Challenges for molecular magnetic resonance imaging[J]. *Chem Rev*, 2010, 110(5): 3019-3042.
- [2] GAO D L, SUN P, ZHANG X, et al. Interactions between albumin and fatty acids studied by NMR spectroscopy[J]. *Chinese J Magn Reson*, 2018, 35(3): 338-344.
高东莉, 孙鹏, 张许, 等. 运用 NMR 研究白蛋白与脂肪酸的相互作用[J]. *波谱学杂志*, 2018, 35(3): 338-344.
- [3] PALANIAPPAN K K, FRANCIS M B, PINES A, et al. Molecular sensing using hyperpolarized xenon NMR spectroscopy [J]. *Israel J Chem*, 2014, 54(1/2): 104-112.
- [4] WALKER T, HAPPER W. Spin-exchange optical pumping of noble-gas nuclei[J]. *Rev Mod Phys*, 1997, 69(2): 629-642.
- [5] ZHOU X, SUN X P, LUO J, et al. Production of hyperpolarized Xe-129 gas without nitrogen by optical pumping at Cs-133 D-2 line in flow system[J]. *Chin Phys Lett*, 2004, 21(8): 1501-1503.
- [6] ZHOU X, GRAZIANI D, PINES A. Hyperpolarized xenon NMR and MRI signal amplification by gas extraction[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(40): 16903-16906.
- [7] ZHAO X C, SUN X P, ZHOU X, et al. Measuring polarization of hyperpolarized xenon-129 gas with low-field NMR[J]. *Chinese J Magn Reson*, 2016, 33(3): 458-467.
赵修超, 孙献平, 周欣, 等. 超极化气体氙-129 的低场 NMR 测量[J]. *波谱学杂志*, 2016, 33(3): 458-467.
- [8] SCHLUNDT A, KILIAN W, BEYERMANN M, et al. A xenon-129 biosensor for monitoring MHC-peptide interactions[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48(23): 4142-4145.
- [9] BOUTIN C, STOPIN A, LENDA F, et al. Cell uptake of a biosensor detected by hyperpolarized Xe-129 NMR: The transferrin case[J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19(13): 4135-4143.
- [10] KOTERA N, DUBOST E, MILANO G, et al. A doubly responsive probe for the detection of Cys4-tagged proteins[J]. *Chem Commun*, 2015, 51(57): 11482-11484.
- [11] WEI Q, SEWARD G K, HILL P A, et al. Designing Xe-129 NMR biosensors for matrix metalloproteinase detection[J]. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(40): 13274-13283.
- [12] CHAMBERS J M, HILL P A, AARON J A, et al. Cryptophane xenon-129 nuclear magnetic resonance biosensors targeting human carbonic anhydrase[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(2): 563-569.
- [13] ROY V, BROTON T, DUTASTA J P, et al. A cryptophane biosensor for the detection of specific nucleotide targets through xenon NMR spectroscopy[J]. *Chemphyschem*, 2007, 8(14): 2082-2085.
- [14] KHAN N S, RIGGLE B A, SEWARD G K, et al. Cryptophane-folate biosensor for Xe-129 NMR[J]. *Bioconjugate Chem*, 2015, 26(1): 101-109.
- [15] PALANIAPPAN K K, RAMIREZ R M, BAJAJ V S, et al. Molecular imaging of cancer cells using a bacteriophage-based ^{129}Xe NMR biosensor[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52(18): 4849-4853.
- [16] ROSSELLA F, ROSE H M, WITTE C, et al. Design and characterization of two bifunctional cryptophane A-based host molecules for xenon magnetic resonance imaging applications[J]. *Chempluschem*, 2014, 79(10): 1463-1471.
- [17] WITTE C, MARTOS V, ROSE H M, et al. Live-cell MRI with xenon Hyper-CEST biosensors targeted to metabolically labeled cell-surface glycans[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54(9): 2806-2810.
- [18] ROSE H M, WITTE C, ROSSELLA F, et al. Development of an antibody-based, modular biosensor for Xe-129 NMR molecular imaging of cells at nanomolar concentrations[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(32): 11697-11702.
- [19] YANG S J, JIANG W P, REN L L, et al. Biothiol xenon MRI sensor based on thiol-addition reaction[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(11): 5835-5840.
- [20] BERTHAULT P, DESVAUX H, WENDLINGER T, et al. Effect of pH and counterions on the encapsulation properties of xenon in water-soluble cryptophanes[J]. *Chem Eur J*, 2010, 16(43): 12941-12946.
- [21] RIGGLE B A, WANG Y, DMOCHOWSKI I J. A “smart” Xe-129 NMR biosensor for pH-dependent cell labeling[J]. *J Am Chem Soc*, 2015,

- 137(16): 5542-5548.
- [22] KOTERA N, TASSALI N, LEONCE E, et al. A sensitive zinc-activated ^{129}Xe MRI probe[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51(17): 4100-4103.
- [23] TASSALI N, KOTERA N, BOUTIN C, et al. Smart detection of toxic metal ions, Pb^{2+} and Cd^{2+} , using a Xe-129 NMR-based sensor[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(3): 1783-1788.
- [24] ZHANG J, JIANG W P, LUO Q, et al. Rational design of hyperpolarized xenon NMR molecular sensor for the selective and sensitive determination of zinc ions[J]. *Talanta*, 2014, 122: 101-105.
- [25] GUO Q N, ZENG Q B, JIANG W P, et al. A molecular imaging approach to mercury sensing based on hyperpolarized Xe-129 molecular clamp probe[J]. *Chem Eur J*, 2016, 22(12): 3967-3970.
- [26] WANG Y F, DMOCHOWSKI I J. An expanded palette of xenon-129 NMR biosensors[J]. *Acc Chem Res*, 2016, 49(10): 2179-2187.
- [27] KUNTH M, WITTE C, HENNIG A, et al. Identification, classification, and signal amplification capabilities of high-turnover gas binding hosts in ultra-sensitive NMR[J]. *Chem Sci*, 2015, 6(11): 6069-6075.
- [28] JON S Y, SELVAPALAM N, OH D H, et al. Facile synthesis of cucurbit[n]uril derivatives via direct functionalization: expanding utilization of cucurbit[n]uril[J]. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(34): 10186-10187.
- [29] KIM K, SELVAPALAM N, KO Y H, et al. Functionalized cucurbiturils and their applications[J]. *Chem Soc Rev*, 2007, 36(2): 267-279.
- [30] LEE H K, PARK K M, JEON Y J, et al. Vesicle formed by amphiphilic cucurbit[6]uril: versatile, noncovalent modification of the vesicle surface, and multivalent binding of sugar-decorated vesicles to lectin[J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(14): 5006-5007.
- [31] KIM D, KIM E, KIM J, et al. Direct synthesis of polymer nanocapsules with a noncovalently tailorable surface[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46(19): 3471-3474.
- [32] KIM D, KIM E, LEE J, et al. Direct synthesis of polymer nanocapsules: self-assembly of polymer hollow spheres through irreversible covalent bond formation[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(28): 9908-9919.
- [33] YUN G, HASSAN Z, LEE J, et al. Highly stable, water-dispersible metal-nanoparticle-decorated polymer nanocapsules and their catalytic applications[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53(25): 6414-6418.
- [34] PARK K M, SUH K, JUNG H, et al. Cucurbituril-based nanoparticles: a new efficient vehicle for targeted intracellular delivery of hydrophobic drugs[J]. *Chem Commun*, 2009(1): 71-73.
- [35] AYHAN M M, KAROUH H, HARDY M, et al. Comprehensive synthesis of monohydroxy-cucurbit[n]urils ($n=5,6,7,8$): high purity and high conversions[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(32): 10238-10245.
- [36] STEVENS T K, RAMIREZ R M, PINES A. Nanoemulsion contrast agents with sub-picomolar sensitivity for xenon NMR[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(26): 9576-9579.