基于有机小分子的焦磷酸根荧光探针研究进展

徐勤超 金 灿 朱雪慧 邢国文*

(北京师范大学化学学院 北京 100875)

摘要 焦磷酸根(PPI)作为一种重要的生物功能阴离子在生命科学、环境科学、药物领域和化学过程等方面起着非常重要的作用。鉴于荧光分析具有操作简便、灵敏度高、突出优点,设计合成高效的 PPI 荧光探针成为近年来超分子化学研究的热点之一。综述了近年来 PPI 荧光识别与传感的多种设计策略与原理,主要包括基于荧光增强或淬灭型识别、激基缔合物识别、荧光指示剂置换、静电或氢键作用识别等。DPA-金属离子络合物,尤其是 DPA-Zn²⁺络合物,作为识别基团对 PPI 有着显著的亲和性和选择性识别能力。DPA-Zn²⁺络合物与多种荧光团或者荧光指示剂组合而形成的化学传感体系已经被广泛应用于 PPI 荧光识别与传感。

关键词 荧光探针;焦磷酸根;金属离子络合物;激基缔合物;指示剂置换

Recent Progress in Fluorescent Probes for Pyrophosphate Based on Small Organic Molecules

Xu, Qinchao Jin, Can Zhu, Xuehui Xing, Guowen*

(College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875)

Abstract Pyrophosphate (PPI), a kind of important biological functional anion, plays crucial roles in life science, environmental science, medicine and chemical process. It has attracted extensive interests in supramolecular chemistry to design efficient fluorescent PPI sensors due to the simplicity and high sensitivity of fluorometric analysis. In this review, several kinds of strategies and theories of PPI fluorescent recognition and sensing are summarized, including off-on/on-off fluorescent response, excimer formation, hydrogen-bonding or electrostatic interactions and fluorescent indicator displacement assay. DPA-metal ion complexes, especially DPA-Zn²⁺ complex, have remarkable binding affinity and high selectivity for PPI. The chemosensing ensembles, consisting of DPA-Zn²⁺ complex and various fluorophores or fluorescent indicators, have been widely applied to the PPI fluorescent recognition and sensing.

Keywords fluorescent sensor; pyrophosphate; metal ion complex; excimer; indicator displacement

阴离子广泛存在于生物体内和周围环境中,在生命科学、环境科学、药物领域和化学过程等方面起着非常重要的作用。焦磷酸根(pyrophosphate, PPI)是一种具有重要生物功能的阴离子,参与生物体中诸多能量转化和新陈代谢过程。PPI 是活细胞中三磷酸腺苷水解的产物,其稳定的代谢过程保证了生物体功能的正常运转。在 DNA 聚合酶催化下, PPI 与 DNA 的复制、遗传信息的处理等过程密切相关^[1]。以此为基础, PPI 的检测已经发展成为一种实时 DNA 测序的方法^[2]。另外,由于端粒酶在合成碱基重复序列时伴随有 PPI 的释放,与 PPI 相关的生物发光分析也应用于肿瘤诊断^[3]。鉴于上述焦磷酸根

的重要研究价值,其选择性检测已经成为近年来超分子化学领域的研究热点之一^[4]。

荧光是一种广泛应用并且发展迅速的传感检测手段,以其灵敏度高、可实时原位检测(荧光成像技术)、可视亚纳米空间分辨能力和亚毫秒时间分辨能力以及光纤远程检测等突出优点而备受关注。荧光探针是一类能将分子识别事件通过荧光信号有效表达的分子或复合物。一般包括两部分:受体(识别基团)和信号单元(荧光团或发色团)。前者用来识别特定的被分析物,而后者则承担将识别过程转化为荧光响应信号的功能。这两个部分可通过共价键或者非共价键连接。从荧光信号响

* E-mail: gwxing@bnu.edu.cn

Received November 26, 2013; revised December 12, 2013; published online December 23, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21272027), the Beijing Natural Science Foundation (No. 2122031), and the Beijing Municipal Commission of Education.

国家自然科学基金(No. 21272027)、北京市自然科学基金(No. 2122031)和北京市教育委员会共建项目专项资助项目。

应类型来看, 荧光探针大体可以分为增强型(Off-on)荧光探针、淬灭型(On-off)荧光探针和比率型荧光探针. 增强型荧光探针在一定程度上提高了信噪比, 较淬灭型荧光探针在灵敏度方面有明显提高. 而比率荧光信号则优于荧光强度响应信号, 不仅提高了灵敏度, 还易引入自动校准功能, 从而实现被分析物的定量检测.

理想的荧光探针具有以下基本特征: 首先, 受体与待分析物具有很好的选择性识别作用; 其次, 在高选择性识别的基础上, 通过合适的荧光团呈现良好的荧光信号变化, 并且检测过程不易受 pH 值和温度等环境因素的干扰. 一般而言, 识别基团的选择性优劣对荧光探针的性能有决定性影响.

1994 年, Czarnik 研究组^[5]首次报道了基于静电相互作用以萘为荧光团, 多胺为识别基团的水溶性 PPI 荧光探针. 在此之后的十几年中, 有关 PPI 的荧光检测研究取得了较大的进展. 总的来说, 有关 PPI 检测的荧光探针根据识别方式的不同主要分为以下几类: 荧光增强或淬灭型识别、激基缔合物识别、基于静电或氢键作用识别等. 值得注意的是, 近年来基于荧光指示剂置换法设计策略的 PPI 荧光探针也发展迅速, 已经成为 PPI 荧光识别与传感的重要研究内容. 下面对近年来 PPI 荧光检测的研究进展进行总结和评述.

一般而言, 由于金属离子不仅可以与含氮多齿配体配位, 同时也可以与 PPI 结合形成复合物, 因此最为常见的 PPI 识别基团是 DPA-金属离子络合物[DPA: N,N' -二(2-吡啶甲基)胺]. 迄今为止, 已经发现多种 $DPA-M^{2+}$ (M : Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} 等)络合物对磷酸根具有较强的亲和性, 发展出一系列以 $DPA-M^{2+}$ 为识别基团的 PPI 荧光探针.

1 基于荧光增强或淬灭型识别

2003 年, Hong 研究组^[6]首次报道了含有双 $DPA-Zn^{2+}$ 络合单元, 以偶氮酚为发色团的 PPI 比色探针 **1**. 该探针对于 PPI 具有较高的亲和性($K_a = 6.6 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$), 远高于其他重要的生物阴离子, 如柠檬酸根, CH_3COO^- , HSO_4^- , H_2PO_4^- , F^- 等. 在 PPI 存在下, 探针水溶液颜色由黄色变为红色, 而其他阴离子则不能引起溶液颜色的变化. 探针 **1** 与 PPI 的 1:1 的络合模式由 X 射线单晶衍射实验证实. 单晶结构显示 PPI 中四个 P—O 单键上的氧原子同时与两个锌离子配位, 从而将两个金属离子桥连起来, 所形成的两个六配位锌离子配合物形似“三明治”结构, PPI 位于两个 $DPA-Zn^{2+}$ 络合单元之间. 由于 P—O 键与锌离子配位后削弱了锌离子与发色团上酚氧原子之间的相互作用, 导致探针的最大吸收波长红移了 46 nm. 该探针的设计策略为此后基于 $DPA-M^{2+}$ 受

体的 PPI 荧光探针的发展奠定了良好的基础.

荧光素作为一种重要的荧光标记染料, 具有较大的摩尔消光系数、较高的荧光量子产率以及良好的光稳定性. 另外, 使用可见光激发使得荧光素应用于细胞标记成为可能. 因此, 荧光素作为一种性质优良的信号报告基团见于各种荧光探针的设计中. Yoon 等^[7]报道了以荧光素为荧光团, $DPA-Zn^{2+}$ 络合单元为识别基团的 PPI 荧光探针 **2**. 该探针在水溶液中对 PPI 具有较高的选择性, 其他常见阴离子如 HSO_4^- , CH_3COO^- , I^- , Br^- , Cl^- , F^- , H_2PO_4^- 对其荧光性质几乎没有影响, 可以作为一个较好的比率型荧光探针. 以 517 nm 为激发波长, 随着 PPI 的加入, 探针 **2** 最大荧光发射峰由 523 nm 红移至 534 nm, 呈现出明显的整合荧光增强效应(150%). 该探针的显著优势在于其较大的荧光激发波长和发射波长使其具有较好的生物应用潜力. 此外, 探针 **2** 的比率型荧光响应也使其易于实现 PPI 的定量检测.

2007 年, Yoon 等^[8]报道了一个以吡啶为荧光团, $DPA-Zn^{2+}$ 为受体的 PPI 荧光探针 **3**. 在 100% 的水溶液中, 该探针对 PPI 呈现出较强的整合荧光淬灭效应(CHEQ), 并伴随有 20 nm 的红移; 而对 $\text{Pi}(\text{HPO}_4^{2-})$ 却表现出有效的整合荧光增强效应(CHEF); 加入一些常见的阴离子(HSO_4^- , CH_3COO^- , I^- , Br^- , Cl^- , F^-)均不会引起探针 **3** 荧光信号的变化. 与 PPI 相关的 CHEQ 效应推测由 PET(光电子诱导转移)荧光机制导致, 当 PPI 与 Zn^{2+} 结合时, 减弱了 Zn^{2+} 与探针分子中苯胺氮原子的配位作用, 从而诱导了从苯胺氮原子到吡啶荧光团的 PET 过程, 导致荧光淬灭. 而对 Pi 的 CHEF 效应则是吡啶上的氮原子与 Pi 之间形成的氢键所致. 探针 **3** 与 PPI 和 Pi 的结合常数分别为 4.85×10^7 和 $9.36 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 对

PPi 的检测限可达纳摩尔浓度级。

Pang 及其合作者^[9]设计合成了以苯并噻唑为荧光团、DPA- Zn^{2+} 络合单元为识别基团的 PPi 荧光探针 **4**。该探针通过激发态分子内质子转移(ESIPT)荧光机制实现了对 PPi 的高效检测。在 PPi 存在下, 通过其桥连两个 DPA- Zn^{2+} 单元, 引发了激发态质子向酚氧原子的转移, 在苯并噻唑荧光团部分形成分子内氢键 **4-PPi**, 荧光辐射由蓝色变为绿色, 最大发射波长从之前的 420 nm 红移至 518 nm, 红移了约 100 nm。相比之下, 其他阴离子如 ATP(三磷酸腺苷)等不能诱导 ESIPT 红移。因此, 以化合物 **4** 为荧光探针实现了 PPi 的高选择性识别。

香豆素因其高的量子产率、较大的 Stokes 位移、结构简单、易于引入推拉电子基团等优点, 被广泛用于各类荧光探针的设计。2009 年, Yoon 等^[10]以 7-羟基香豆素为荧光团, 分别在其 8 位和 4 位引入 DPA- Cu^{2+} 识别基团合成了 PPi 探针 **5a** 和 **5b**。单晶结构证实 **5a** 分子中, 硝酸根离子桥连两个 DPA- Cu^{2+} 络合单元, 酚氧原子和水分子参与配合物的形成; 而 **5b** 中 DPA 螯合铜离子仅形成单核的络合物。在 **5a** 和 **5b** 的水溶液中分别加入 PPi, ATP, ADP(二磷酸腺苷), AMP(一磷酸腺苷), Pi, F^- , Br^- , I^- , Cl^- , CH_3CO_2^- , HSO_4^- , 只有 PPi 可引起较大的荧光增强效应, 表明该类探针对于 PPi 有较好的选择性。与 **5a** 相比, **5b** 在加入 PPi 后荧光增强的倍数相对较高(20 倍)。另外, 如果将 DPA- Cu^{2+} 络合单元换成 DPA- Zn^{2+} 络合单元, 则探针分子对阴离子均没有响应。由此可见, DPA- M^{2+} 络合中心金属离子的种类对探针的荧光

性质有很大的影响。

随后, 2011 年 Das 研究组^[11]报道了两个基于 DPA- Zn^{2+} 和 DPA- Cd^{2+} 受体, 硝基香豆素为荧光团的 PPi 荧光探针 **6a** 和 **6b**。这两个探针均可以在纯水中对 PPi 有较高的选择性, 不同的是探针 **6a** 对 PPi 呈现出整合荧光增强效应, 而 **6b** 对 PPi 表现出整合荧光淬灭效应。基于碱性磷酸酶可以催化焦磷酸根的水解, 该类探针被成功地应用于实时监测碱性磷酸酶的活性。

2011 年 Hong 等^[12]将两个香豆素荧光团和两个 DPA- Zn^{2+} 单元通过苯环连接起来形成一个水溶性较好的 PPi 荧光探针 **7**。该探针的荧光在水溶液中可以被 PPi 和 ATP 有效淬灭, 但 PPi 的淬灭能力是 ATP 的 2 倍, 其他阴离子如 ADP, AMP, Pi 等均不能诱导荧光发生明显变化。该探针对 PPi 检测限较低($49 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。

萘酰亚胺以萘环为荧光母体, 光谱呈现萘的光谱特征, 具有光化学性质稳定、激发及发射波长较长、Stokes 位移大以及对 pH 不敏感等优点, 已被广泛用于设计各种金属离子荧光传感器。Kim 等^[13]发展了基于 1,8-萘酰亚胺荧光团的荧光探针 **8**。该探针属于 On-off 型荧光探针, PPi 和 ATP 的加入都能导致不同程度的荧光淬灭。但是, PPi 可诱导其最大发射波长发生较大的蓝移(23 nm), 而 ATP 对其最大发射波长没有影响。因此, 基于以上实验结果可以实现探针 **8** 对 PPi 的选择性检测。相

比大多数此类 PPi 探针中两个锌离子均参与络合 PPi, 在该探针络合模型中推测 PPi 仅与其中一个锌离子络合. 探针 **8** 可用于 C2C12 细胞对外源性 PPi 浓度响应的荧光成像.

除 DPA 外, BPEA [*N,N*-二(2-吡啶甲基)乙二胺]^[14] 也是常用的锌离子螯合配体之一. Guo 等^[15]报道了使用苯并噁二唑为发色团, 分别以 BPEA-Zn²⁺和 DPA-Zn²⁺为识别基团的荧光传感器 **9a** 和 **9b**. 该类探针在水溶液中具有较好的溶解性, 不足之处是对 pH 值变化较为敏感. 探针 **9a** 在 pH 7.2 的水溶液中本身荧光不明显, 加入 PPi 后荧光强度明显增加, 其他常见阴离子均对其荧光性质没有影响, 表现出对 PPi 具有较好的选择性和较高的灵敏度. 探针 **9b** 在相同条件下对 PPi 没有响应. 由此可见, 识别基团的微小差异对传感器的性能起着举足轻重的作用.

2012 年 Feng 等^[16]报道了以硝基取代的苯并噁二唑 (NBD)^[17]为荧光团, 双 DPA-Zn²⁺络合单元为识别基团的 PPi 比色探针 **10**. 在其水溶液中加入 PPi 后溶液颜色由红色变成紫色, 除了过量的 ATP 使其颜色有轻微变化外, 其他过量的 AMP, ADP, ATP, H₂PO₄⁻, F⁻, Cl⁻, Br⁻, CH₃CO₂⁻, NO₃⁻, HCO₃⁻, ClO₄⁻ 等离子均不能使其颜色发生变化. 探针 **10** 不仅对 PPi 具有较高的亲和性及较好的选择性, 而且在较宽的 pH 范围都表现出稳定的荧光性质, 是一个具有较好实际应用前景的 PPi 荧光和比色探针.

Hong 等^[18]设计合成了以 2-萘为荧光团, 酚氧基团桥连双 DPA-Zn²⁺识别基团的 PPi 荧光探针 **11**. 该探针

在较宽的 pH 范围内对 PPi 具有高的选择性. 在 pH 7.4 的纯水中, 探针 **11** 对 PPi 的选择性为 ATP 的 40 倍, 即使在 100 当量其他常见阴离子存在的情况下, 也不影响其对 PPi 的定量检测. 此外, 在多种阴离子存在时, 只有 PPi 可以诱导探针 **11** 最大荧光发射波长出现 20 nm 的红移.

Aha 等^[19]报道了一系列结构相似且含有 DPA 基团的萘甲腈衍生物荧光探针 **12a**, **12b** 和 **12c**. 探针 **12a** 在水溶液中对 PPi 表现出较强的荧光增强效应(17 倍), ATP 仅使荧光有微弱增强, 其他阴离子如 ADP, H₂PO₄⁻, HSO₄⁻, CH₃COO⁻, F⁻, Cl⁻ 等几乎不会引起荧光信号的变化. 通过荧光滴定测得探针 **12a** 与 PPi 的结合常数为 1.0 × 10⁵ L·mol⁻¹. 与 **12a** 相比, 探针 **12b** 对 PPi 的选择性更好, ATP 及其他阴离子都几乎不影响其荧光性质. 探针 **12c** 与前两个探针相比对 PPi 的选择性和灵敏度均有所下降. 有趣的是探针 **12a** 和探针 **12b** 都表现出时间依赖的荧光增强效应, 这可能是因为酚氧原子与金属离子的配位键缓慢断裂造成的; 而探针 **12c** 没有酚氧基团, 因而并不表现出时间依赖的荧光增强性质.

Tuck 等^[20]将 1-萘和 9-蒽作为荧光团引入经典酚氧骨架的双核 DPA-Zn²⁺络合物中, 设计合成了 PPI 荧光探针 **13a** 和 **13b**. 探针 **13a** 与 Hong 组的探针 **11** 类似, PPI 可使其荧光强度显著增强; 而探针 **13b** 却在 PPI 的存在下荧光几乎完全淬灭. 这种差别可能是因为探针 **13b** 与 PPI 络合后, 蒽较大的芳香环平面采取与苯环相垂直的取向, 破坏了其与酚氧骨架的共轭, 增强了 DPA 上氮原子孤对电子到蒽荧光团的 PET 效应, 从而导致其荧光淬灭.

Hong 等^[21]设计并合成了以苯并氮硫杂茂为荧光团, DPA-Zn²⁺为识别基团的 PPI 荧光传感器 **14**. 该探针具有吸收波长较长, 发射波长位于可见光区, 无毒, 细胞渗透性好等优点. 在纯水中, PPI 存在下其荧光辐射显著提高, 同时伴随着颜色由黄色变为褐色的过程, 可以实现 PPI 的荧光和比色检测. 该探针可以应用于活细胞的荧光显像, 不足之处是 ATP 的存在对 PPI 的检测有一定的干扰.

Tian 等^[22]将 DPA 连接到与苯并吡喃腈衍生物相共

轭的苯环上, 与铜离子配位后形成了一个灵敏度较高、选择性较好的 PPI 荧光传感器 **15**. 在该传感器中, DPA-Cu²⁺单元充当电子给体, 苯并吡喃腈做为电子受体, 当探针分子以合适的波长激发时, 会发生从 DPA-Cu²⁺到苯并吡喃腈的分子内电荷转移(ICT)过程. 将 F⁻, Cl⁻, Br⁻, I⁻, H₂PO₄⁻, HCO₃⁻, HSO₄⁻, CH₃COO⁻, NO₃⁻, HPO₄²⁻, SO₄²⁻, CO₃²⁻, PO₄³⁻, PPI 等分别加入探针 **15** 的溶液中, 仅 PPI 与其形成稳定的 1:1 络合物. 由于 PPI 的配位作用削弱了 DPA-Cu²⁺络合单元中心铜离子的拉电子能力, 相应地, DPA 的供电子能力增强, 使得探针的 ICT 过程明显增强, 导致其吸收波长红移, 650 nm 处的荧光发射强度大为增加. 做为一种潜在的荧光增强型近红外荧光传感器, 探针 **15** 被成功地应用于活细胞中 PPI 的荧光成像.

Yang 等^[23]将 DPA 连接在含有半菁结构单元的螺苯并吡喃环上, 在锌离子的诱导下, 螺吡喃开环, 酚氧原子参与锌离子的配位, 得到了一个比率型 PPI 荧光传感器 **16** (Scheme 1). 当向探针 **16** 的乙醇-水(V:V=1:1)溶液中加入 PPI 时, 620 nm 的荧光发射强度降低, 而 560 nm 的荧光发射增强, 且两波长处的荧光强度之比与 PPI 浓度成正比, 从而实现了探针 **16** 对 PPI 的比率型荧光检测. 该探针对 PPI 的选择性高, 生物相关的含磷阴离子的干扰较小, 对 PPI 的检测限为 4.0×10⁻⁷ mol/L. 另外, 探针 **16** 还实现于尿样中 PPI 的测定, 作为一种简便易行的方法, 具有一定的实际应用潜力.

我们研究组^[24]最近报道了基于 2-氨基苯甲酰胺骨架, 以吡唑为荧光团、BPEA-Zn²⁺络合单元为识别基团的荧光探针 **17**. 利用氢键和金属络合协同作用实现了探针 **17** 与 PPI 的高效结合, 结合常数约为 2.5×10¹⁰ (mol/L)⁻². 加入 0.5 equiv. 的 PPI 可使其荧光强度大为增加(43~48 倍); 其他阴离子除 ATP 和 ADP 可以诱导 6-12 倍荧光增强外, F⁻, Br⁻, I⁻, Cl⁻, HCO₃⁻, CH₃CO₂⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, C₂O₄²⁻, H₂PO₄⁻, CO₃²⁻, HPO₄²⁻ 等均不引起荧光信号的变化. 通过氢键和金属络合协同作用, 探针 **17** 实现了水溶液中 PPI 的高选择性和高灵敏度检测.

另外, Hong 研究组^[25]报道了以四苯基乙烯为荧光团, DPA-Zn²⁺为受体的 PPI 荧光探针 **18**. 在水-DMSO (V:V=10:1)溶液中, 等物质的量的 PPI 可引起探针

Scheme 1

18 的荧光信号增强约 11 倍. 其荧光机制可能是由于 PPi 与 DPA-Zn^{2+} 的络合限制了荧光团中苯环的自由旋转, 从而抑制了 PET 效应导致荧光发射的增强. 值得注意的

是, 相同当量的 ATP, AMP 也可使探针 **18** 的荧光强度增加 3~5 倍. 因此, 探针 **18** 对含磷阴离子的选择性较弱, 限制了其进一步的应用.

如上所述, 基于 DPA-M^{2+} , 尤其是 DPA-Zn^{2+} 作为 PPi 识别基团近几年来发展迅速. 一些基于 DPA-M^{2+} 识别基团的荧光探针已成功应用于纯水或生物体系中 PPi 的检测. 除了以 DPA-M^{2+} 作为识别单元以外, 一些其他多齿配体与金属离子配位形成的络合单元对 PPi 也有较好的识别效果, 下面对近来报道的部分代表性探针作简要介绍.

Ghosh 等^[26]最近报道了一个基于喹啉荧光团的 PPi 荧光探针 **19**, 其中喹啉既是荧光团又可以与锌离子配位. 该探针以环己二胺为骨架通过两个相邻的氨基分别连接一个喹啉基团组成一个四氮杂原子螯合中心, 与锌离子配位. 该探针具有良好的水溶性, 与 PPi 结合后荧光淬灭. 除 ATP 会使其荧光略微减弱外, F^- , Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} , HCOO^- , CH_3CO_2^- , ClO_4^- , H_2PO_4^- , HSO_4^- , AMP 等均不会诱导其荧光发生任何变化. 晶体结构表明, 硝酸根的两个氧原子参与锌离子配位, 探针与 PPi 以 2:1 的模式配位形成一个以 PPi 为中心的夹心结构.

Qian 等^[27]报道了一个以多酰胺-镉离子为识别基团, 氟硼酸为荧光团的 PPi 荧光探针 **20**. 该探针具有吸收和发射光谱位于近红外区、光稳定性好、量子产率高和对体系 pH 值不敏感等优点. 探针 **20** 本身荧光较强, 络合 PPi 后荧光几乎完全淬灭; 相同条件下其他阴离子如 AMP, ADP, ATP, HCO_3^- , F^- , I^- , Br^- , SO_4^{2-} ,

CF_3SO_3^- , NO_3^- , CH_3CO_2^- , H_2PO_4^- , HSO_4^- , Cl^- 等均不会使其荧光强度发生变化, 从而实现了 PPI 的选择性识别。

总的来说, 近十几年来以 DPA-Zn^{2+} (包括 BPEA-Zn^{2+}) 作为受体的 PPI 探针发展最为迅速, 表 1 总结了使用不同荧光团设计合成该类荧光探针的光谱数据。

2 基于激基缔合物识别

当两个荧光团(如芘、萘酰亚胺和萘等)的空间距离较近(一般 $< 35 \text{ nm}$) 时, 会存在 π - π 堆积等弱的相互作用。此时, 其中的一个荧光团受到激发后会与另外一个处于基态的荧光团形成激基缔合物, 从而在荧光发射光谱上同时呈现短波长区的单体发射峰和长波区的激基缔合物发射峰。

Hong 等^[28]将芘荧光团与 DPA-Zn^{2+} 识别单元相连接得到荧光探针 **21**。该探针在 0.3 equiv. PPI 的诱导下呈现出一个较强的芘激基缔合物荧光发射峰, 探针和 PPI 的络合比 2 : 1。继续滴加 PPI 荧光强度有所减弱, 可能存在探针和 PPI 络合比 1 : 1 络合平衡的竞争。0.3 equiv.

ATP 诱导探针 **21** 产生一个较弱的激基缔合物荧光发射峰, 过量的 ATP 存在下该发射峰消失。因此, 探针 **21** 可以在过量 ATP 存在下高效检测 PPI。而其他阴离子 AMP, F^- , NO_3^- , AcO^- , HPO_4^{2-} , HSO_4^- , Cl^- 等不能诱导探针 **21** 产生任何荧光性质的变化。对于 PPI 较之于 ATP 的高选择性可能是因为 ATP 分子中参与络合的四个磷氧原子的总电荷密度比 PPI 低。

21

在此基础上, Hong 等^[29]又设计合成了酚氧桥连双 DPA-Zn^{2+} 络合单元为受体的 PPI 荧光探针 **22**。该探针同样以芘为荧光团, 对 PPI 和 ATP 均具有较高的灵敏度, 仅 0.24 equiv. 的 PPI 或 ATP 即可诱导激基缔合物荧光发射峰出现 92% 的淬灭, 而其他阴离子如 ADP, H_2PO_4^- 等对其荧光性质均没有响应。探针 **22** 与 PPI 及 ATP 的络合常数未见报道, 对 ATP 和 PPI 的选择性较差。

表 1 采用 DPA-Zn^{2+} 作为识别基团的 PPI 探针
Table 1 The PPI probe with DPA-Zn^{2+} as receptors

化合物	荧光团	探针类型	$\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{max,abs}}/\text{nm}$	$\lambda_{\text{max,em}}/\text{nm}$	K_d	检测体系	测定 pH 值
1	偶氮酚	比色	465	—	$1.5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
2	荧光素	比率	517	523, 534	$10.2 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
3	吡啶	On-off	359	462, 442	$21 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
4	苯并噁唑	比率	365	420, 518	$10.9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
5b	香豆素	Off-on	393	475	$76 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
6a	香豆素	On-off	328	425	$3.1 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
7	香豆素	On-off	—	520	—	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
8	萘酰亚胺	On-off	360	505, 481	—	$20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES $5\% \text{ CH}_3\text{CN}$	7.4
9a	苯并噁二唑	Off-on	468	591	$3.6 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES, $3\% \text{ DMSO}$	7.2
10	苯并噁二唑	比色	526	—	$3.3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
11	2-萘	Off-on	305	436, 456	$3.4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
12a	萘甲腈	Off-on	310	435	$10 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
13a	1-萘	Off-on	310	464	$1.4 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris	7.5
13b	9-萘	On-off	370	484	$0.83 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris	7.5
14	苯并氮硫杂茂	Off-on	500	560	$22 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
15	苯并吡喃腈	Off-on	447	650	$2.2 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	ethanol/water ($V:V=6:4$)	7.0
16	螺吡喃	比率	522	560, 620	$4.2 \text{ n}(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})^2$	ethanol/water ($V:V=3:7$)	7.4
17	吡啶	Off-on	350	428	$0.04 \text{ n}(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})^2$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
18	四苯乙烯	Off-on	320	472	—	$\text{H}_2\text{O}/\text{DMSO}$ ($V:V=10:1$)	—
19	喹啉	On-off	315	376	$2.1 \text{ }\mu(\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})^2$	$10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES	7.4
20	氟硼荧	On-off	620	637	—	$\text{CH}_3\text{CN}/\text{water}$ ($V:V=1:20$)	—

2007 年, Yoon 等^[30]报道了以萘酰亚胺衍生物为荧光团, DPA-Zn²⁺络合单元为识别基团的 PPI 荧光传感器 **23**. 通过两个 PPI 分子与四个锌离子络合以及萘环间的 π - π 堆积作用, 探针 **23** 与 PPI 组装成结构独特的 2+2 型复合物 **23-PPI**, 在 490 nm 处出现特征的激基缔合物荧光发射峰. 探针 **23** 对 PPI 具有较好的识别能力, 其他阴离子包括 ADP 等均不能导致上述荧光信号的变化, 实现了在纯水溶液中对 PPI 的高效识别.

2011 年, Wang 等^[31]报道了一个以萘为荧光团, 大环多胺-Zn²⁺络合单元为识别基团的 PPI 荧光传感器 **24**. 该探针对 PPI 具有较高的亲和性和选择识别能力. 在 PPI 配位与萘环 π - π 堆积的共同作用下, 探针 **24** 与 PPI 组装形成以一分子 PPI 为中心两分子探针化合物为夹层的三明治结构 **24-PPI**, 探针 **24** 与 PPI 的络合比为 2 : 1, 经测得其结合常数为 $2.1 \times 10^8 \text{ (mol/L)}^{-2}$. 其他含磷阴离子如 ATP, ADP, AMP 等均不能诱导其形成激基缔合物, 从而实现了 PPI 的高选择性识别. 随着 PPI 的加入, 在 415 nm 处特征激基缔合物荧光发射峰逐渐升高, 同时

337 nm 处萘环特征单体峰降低. 通过 I_{415}/I_{337} 的荧光强度比值可以实现 PPI 的比率检测. 探针 **24** 也成功地被应用于无机焦磷酸酶活性的实时监测.

3 基于荧光指示剂置换

一些金属络合物缺乏有效的荧光团作为信号报告单元, 荧光指示剂竞争置换成为其有效检测被分析物而广泛使用的传感策略. 荧光竞争置换模式也包含受体和信号单元, 受体为金属络合物, 信号单元为荧光指示剂, 二者之间为非共价键合, 即二者通过配位作用形成“化学传感体系(chemosensing ensemble)”. 当被分析物介入这种化学传感体系并通过竞争置换方式与受体结合后, 信号单元被重新游离到溶液中, 恢复了未配位时的波谱特征. 若信号单元在化学传感体系中和游离状态下的波谱性质不同, 则被分析物(如阴离子)与受体结合后将伴随有荧光信号的变化. 如果受体和信号单元之间的络合常数比其与被分析物之间的络合常数小, 就能够实现基于荧光指示剂置换的高效荧光识别与传感.

2002 年 Kim 等^[32]首次报道了基于荧光指示剂置换策略, DPA-Zn²⁺络合物 **25** 担当受体的化学传感体系. 该化合物与荧光指示剂 PV 组成 1 : 1 的配合物实现了水溶液中荧光及比色检测磷酸根. 之后该组又发现, 该传感体系在 cAMP 存在下对 AMP 具有较高的选择性和灵敏度, 已经被成功用于研究 cAMP 的水解反应^[33]. Smith 等^[34]在此研究基础上发现该化合物 **25** 与香豆素甲基磺酸荧光染料(CS)组成新的传感体系, 可以对 PPI 进行有效的识别, 选择性为 HPO_4^{2-} 的 60 倍. 另外, 他们^[34]还发现比化合物 **25** 结构更为简单的化合物 **26** 也可与 CS 组成有效的传感体系实现对 PPI 的选择性检测.

另外, Smith 等^[35]还筛选了 11 种荧光指示剂与化合物 25 的相互作用, 研究表明它们的解离常数分布在 2.8×10^{-4} 到 2.7×10^{-6} mol/L 之间. 横跨两个数量级的亲和性差别可能是由于指示剂的立体构型和所带电荷不同所致. 最终研究表明 BPR, MB9, ZC 作为指示剂可以实现对 PPi 的选择性检测.

作为化合物 25 的拓展, Hong 等^[36]在其 DPA 单元上引入了四个乙酰胺基作为氢键的给体设计合成了 PPi 探针 27. 通过紫外滴定测得该探针在 HEPES 缓冲溶液中与 PV 和 PPi 的结合常数分别为 1.4×10^5 和 5.39×10^{10} L·mol⁻¹. 该探针与 PPi 高的亲和性归功于金属络合效应和氢键络合效应的协同作用, X 射线单晶衍射结果很好地证实了这一推测. 但是该探针与其他磷酸腺苷的结合

数据并没有报道, 其选择性仍有待于进一步证实.

近来, Feng 等^[37]设计合成了烷氧桥连双 DPA 锌离子络合中心, DPA 上四个吡啶环上分别为无取代, 氨基取代, 乙酰氨基取代的络合物 28a~28c. 该络合物均可与 PV 形成 1:1 的化学传感体系. 作为对照, 无氢键给体的络合物 28a 检测 PPi 时, 受到柠檬酸根的干扰; 而化合物 28b, 28c 由于存在多重氢键和锌离子对 PPi 的协同作用, 克服了上述干扰. 上述研究再次证实氢键和金属离子络合协同效应对 PPi 高选择性识别具有促进作用.

Vilar 等^[38]报道了一个以稀土金属钆螯合物为母体, 两个 DPA-Zn²⁺单元为受体臂的化合物 29. 该化合物可与 PV 组成 PPi 化学传感体系. 生理条件下, 当 PPi 加入该体系, 溶液颜色由蓝色变为黄色, 实现了 PPi 的比色置换检测. 研究还发现, 该传感体系与 PPi 强的络合作用能增强钆螯合物的弛豫效能. 因此, 通过与 PPi 的有效络合能显著提高化合物 29 的核磁共振显像性能. 不足之处是该传感器对 PPi 和 ATP 的区分性不好, 因此其实际应用受到一定限制.

Kubo 及其合作者^[39]成功设计了以 BPEA-Zn²⁺ 苯硼酸化合物 30 为受体, 茜素红指示剂(ARS)为报告基团的 PPi 化学传感器. 首先, 体系中不含 PPi 时, 指示剂 ARS 通过与受体化合物中的 BPEA-Zn²⁺ 单元络合而发射弱

的荧光. 加入 PPI 后, 茜素红被置换出来继而与受体中的硼酸基团成酯, 同时荧光辐射增强. 受体化合物 **30** 与 PPI, ATP, ADP 的络合常数分别为 1.6×10^6 , 1.6×10^5 , $1.9 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 作者推测, 该传感体系对 PPI 的选择性识别可能是由于受体与不同的含磷阴离子成键时磷氧原子的总电荷密度不同所导致.

Jolliffe 及其合作者^[40~42]报道了一系列结构相似的 PPI 受体 **31~36**. 它们均以噁唑修饰的大环酰胺为骨架, DPA- Zn^{2+} 单元为受体臂. 刚性的大环酰胺骨架可以有效束缚两个锌离子络合中心之间的空间距离, 更有利于其与 PPI 匹配络合. 实际上, 在 HEPES 缓冲液中, 探针 **31** 与 PPI 之间的络合常数高达 $1.0 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 是其他磷酸腺苷如 ATP 和 ADP 的 100 倍. 通过 CS 与探针 **31** 形成的化学传感体系实现了对 PPI 的高选择性识别. 改变 DPA- Zn^{2+} 受体臂的位置, 使其彼此接近, 探针 **34**, **35** 对 PPI 的选择性明显增加. 但是, 以二酮哌嗪为骨架的探针 **36** 对 PPI 选择性显著降低, 这表明较大的环酰胺骨架更有利于 PPI 的识别.

Hong 等^[43]报道了一个基于“淬灭剂-受体”(Q-R)和“荧光指示剂-特定分析物(F-A)”通过特定分析物 A 与受体 R 之间的弱相互作用力组合而成的“荧光化学传感体系”(Q-R/F-A, Eq. 1, Q 为偶氮化合物; A 为含有酚氧骨架和双 DPA- Zn^{2+} 单元的化合物; F 为荧光素; A 为 Pi 或 PPI). 水溶液中由于淬灭剂偶氮化合物的存在, Q-R/F-Pi 络合物荧光较弱. 加入相对于 F-Pi 浓度 3 个当量的 PPI, 即可将发射较强荧光的 F-Pi 完全置换出来, 检测体系的荧光强度增加 45 倍. 实验测得 PPI 和 ATP 与 Q-R 之间的络合常数分别为 $\approx 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $< 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. 3 equiv. 的 ATP 和 ADP 可使传感体系的荧光强度增加 11~18 倍, 60 倍过量的 Pi 和 AMP 仅仅诱导体系微弱的荧光改变(5 倍荧光增强). 因此, 该传感体系对被分析物的选择识别能力顺序为 $\text{PPI} > \text{ATP} > \text{ADP} >$

He 等^[44]设计了分别基于双核 DPA- Zn^{2+} 的络合物 **37** 和基于双核 DPA- Cu^{2+} 络合物 **38**. 它们均可以与 PV 组成化学传感体系, 对 PPI 具有较好的识别能力. 在 HEPES 缓冲液中, 通过紫外吸收滴定实验测得化合物 **37** 与 PPI 的络合常数为 $7.9 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 与其他阴离子如 ATP, ADP, AMP, Pi 等均表现出较弱的结合能力. 相比之下, 化合物 **38** 与 PPI 的络合能力较弱 ($K_a = 862 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$), 与其他阴离子几乎没有作用.

Lee 及其合作者^[45]最近报道了一个基于吡咯的大环化合物 **39** 与香豆素衍生物荧光指示剂 **40** 组成的化学传感体系, 该体系对 PPI 具有较好的选择性. 在乙腈溶液中, 由于存在吡咯氮原子的孤对电子与荧光指示剂 **40** 之间的 PET 作用, **[39·40]** 络合物的荧光几乎完全淬灭. 虽然化合物 **39** 与指示剂 **40** 之间存在静电和 π - π 相互作用

用, 所形成的[39•40]络合物具有一定的稳定性; 但是 PPI 加入体系后, 可将指示剂 40 完全置换出来, 导致体系的荧光辐射恢复(Scheme 2). 化合物 1 对阴离子的亲和性顺序大致为 $\text{HP}_2\text{O}_7^{3-} > \text{F}^- \approx \text{H}_2\text{PO}_4^-$, $\text{CH}_3\text{COO}^- \approx \text{Cl}^- > \text{HSO}_4^-$, Br^- . 该检测体系对 PPI 较高的选择性可以归结为多种因素相互协同作用的结果: 首先, 化合物 39 与 PPI 之间存在较强的静电相互作用; 其次, PPI 合适的空间结构有效分散电荷分布, 且稳定阴离子- π 相互作用; 另外, 多重氢键的存在有效促进络合物的形成及其稳定性.

Hong 等^[46]将两个 DPA- Cu^{2+} 络合单元连接在苯环的间位设计合成了一个简单的螯合物 41, 将其分别与 PV 及荧光素组成化学传感体系, 均实现了水溶液中 PPI 的有效识别. 前者中, PV 溶液本身为黄色, 加入化合物后溶液变为蓝色, 2 equiv. 的 PPI 使其重新变为黄色, 实

现了 PPI 的高效比色检测. ATP, ADP, AMP, Pi, CH_3COO^- , NO_3^- , F^- , Cl^- , I^- 等均不会引起任何颜色变化. 后者中,

化合物 **41** 将荧光素荧光淬灭, 加入 1.2 当量的 PPI 后, 体系的荧光发射增强 5.7 倍, 并达到饱和; 而 ATP, ADP, AMP, Pi 等分别使其荧光增强 3.6, 3.2, 2.0, 1.9 倍, 其他阴离子则对传感体系的荧光性质几乎没有影响。

4 基于静电或氢键作用识别

基于静电或氢键作用的 PPI 荧光探针通常使用的识别基团有酰胺、脲、吡咯等中性分子以及铵盐、胍盐、咪唑鎓盐等, 与金属络合物识别相比, 该类荧光探针在水溶液中对 PPI 的选择性较差, F^- , CH_3COO^- , CO_3^{2-} 等阴离子通常会干扰其检测。但是, 从分子识别角度来看, 此类荧光探针在早期的 PPI 检测体系研究中具有十分重要的地位, 对后来 PPI 荧光探针的发展具有重要的参考价值。下面对基于静电或氢键作用的 PPI 荧光探针做简要介绍。

Teramae 等^[47]报道了一个基于苕单胍盐为识别基团的 PPI 荧光探针 **42**, 在甲醇溶液中实现了对 PPI 的选择性识别。0.5 equiv. PPI 存在时, 探针 **42** 与 PPI 自组装形成络合比为 2 : 1 的三明治结构复合物, 继续加入 PPI 则出现 2 : 1 和 1 : 1 的络合模式的平衡, 相应的结合常数分别为 1.2×10^8 和 $1.0 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

Yong 及其合作者^[48]报道了四个基于蒽荧光团的咪唑盐 PPI 荧光传感器 **43**~**46**, 在乙腈中, 仅有 PPI 诱导其荧光淬灭, 为典型的 PET 过程。相比其他阴离子, 如 HSO_4^- , $CH_3CO_2^-$, I^- , Br^- , F^- , $H_2PO_4^-$, 探针 **43**~**46** 均对 PPI 表现出较强的络合作用, 络合常数分别为 5.43×10^6 , 1.01×10^8 , 3.58×10^6 , $6.76 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。其中探针 **44** 表现出对 PPI 最强的络合能力, 这可能是因为探针 **44** 具有双蒽荧光团构成的刚性环状结构, 对络合 PPI 起到很好的促进作用。

Sessler 等^[49]报道了基于氢键相互作用, 以荧光素为荧光团、杯[4]吡咯为受体的 PPI 荧光探针 **47**, 该探针在乙腈-水 ($V:V=96:4$) 体系中对 PPI 具有较好的选择性, 分别是 F^- 的 10 倍, Cl^- 的 200 倍, $H_2PO_4^-$ 的 3 倍。作为

对比的探针 **48** 和 **49** 对 PPI 的选择性较差, 主要是因为探针 **47** 中存在的硫脲基团提供了更多的氢键位点与 PPI 的负电中心相结合。

值得注意的是近年来单纯基于静电或氢键作用的 PPI 荧光探针已经报道很少。如前面提到的, 最新的设计策略是发展 $DPA-M^{2+}$ 络合、静电或氢键协同作用的 PPI 荧光探针^[24,36,37,45]。

5 其他类型识别与传感

Hong 研究组^[50]近来报道了酚氧桥连的双核锌离子

络合物与硼酸衍生物组成的化学传感体系 **50**, 成功地将其用于水相或生物体系中 PPi 和三磷酸核苷(NTP)的选择性识别(Scheme 3). 该高效的选择性识别归因于传感体系对不同分析物的检测基于不同的络合机制. 在未加入待分析物前, 硼酸衍生物的存在使得传感体系的荧

光大部分淬灭. PPi 加入后, 由于 PPi 与双核锌离子络合物具有更强的结合能力, 硼酸衍生物被置换出来, 导致检测体系的荧光大为增强. 如果检测体系中加入的是 NTP , 尽管 NTP 中的三磷酸残基可以与双核锌离子络合物受体结合, 但是与此同时, 硼酸衍生物与 NTP 中五碳糖单元中的邻位羟基成酯而有效结合, 使得传感体系 **50** 与 NTP 组成了一个三分子的复合物, 最终导致检测体系的荧光信号进一步降低. 虽然该传感体系可以有效区分检测 PPi 和 NTP , 但是该体系组成较为复杂, 这无疑限制了其在实际生物检测中的应用范围.

近年来, 水溶性共轭聚合物作为一类新型荧光传感器得到广泛关注. 共轭聚合物独特的“分子导线”功能, 实现了荧光信号的放大, 可用于多种生物物种(如生物大分子、生物小分子、离子等)的检测^[51]. Schanze 等^[52]设计合成了一个连有多胺基团的聚苯乙炔荧光探针 **51**, 该探针在 pH 6.5 的 MES 缓冲溶液中具有较高的

Scheme 3

量子产率. 随着 PPI 浓度的增加, 吸收光谱 400 nm 处的峰强度逐渐降低, 而 430 nm 处出现一个新的吸收峰. 这表明聚苯乙炔高聚物 **51** 实现了由“自由链态”到“聚集链态”的转换. 与此同时, 聚合物 **51** 的最大荧光发射谱带也发生了从 433 到 520 nm 的红移, 这主要是因为高聚物链充分接近时, 产生有效的“分子内激子耦合”现象, 导致低能量的“聚集链态”出现. Pi , HSO_4^- , CH_3CO_2^- , I^- , Br^- , F^- 等无机离子都不能诱导荧光和吸收光谱的变化. 不足之处是生物体系中重要的阴离子 ATP、ADP 等会对 PPI 的检测造成干扰.

5 结论和展望

DPA-金属离子络合物, 尤其是 DPA- Zn^{2+} 络合物, 作为识别基团对 PPI 有着显著的亲和性和选择性识别能力. DPA- Zn^{2+} 络合物与多种荧光团或者荧光指示剂组合而成的化学传感体系已经被广泛用于 PPI 荧光识别与传感. 但是目前报道的 PPI 荧光探针仍有许多不足之处. 在水溶性方面, 生物体系都是水环境, 发展具有生物应用前景的荧光探针首先需要其有着良好的水溶性, 但是目前纯水体系的荧光探针仍占少数; 在选择性方面, 生物体系组成复杂, 电荷相同结构相似的含磷生物阴离子往往同时存在, 从多种磷酸衍生物中专一性地识别 PPI, 迄今为止这类荧光探针依然较少.

因此, 该领域在未来研究中面临的主要挑战仍然是发展新型荧光识别与传感体系, 包括设计合成新型近红外荧光探针, 能够专一性地识别 PPI, 避免一些相似含磷阴离子的干扰. 在提高检测灵敏度方面, 除使用荧光传感机制中最为常见的 PET, ICT 和激基缔合物机理之外, 联合使用一些其他的荧光识别机理, 如荧光共振能量转移(FRET)、跨键能量转移(TBET)等近年来发展迅速的检测策略, 将是解决这一问题的有效途径之一.

总的来说, 近年来各种类型的 PPI 荧光传感器发展迅速. 一些基于 DPA- Zn^{2+} 识别基团的 PPI 荧光传感器已经在化学、生物和医学等领域显示出极为重要的研究价值和应用前景. 我们有理由相信, 在不久的将来, 通过化学家和生物学家的共同努力, 新一代高选择性和高灵敏度的 PPI 荧光探针必将在荧光识别与传感领域广泛应用.

References

- [1] Heinonen, J. K. *Biological Role of Inorganic Pyrophosphate*, Kluwer Academic Publishers, Norwell, **2001**.
- [2] Ronaghi, M.; Karamohamed, S.; Pettersson, B.; Uhlén, M.; Nyrén, P. *Anal. Biochem.* **1996**, *242*, 84.
- [3] Xu, S.; He, M.; Yu, H.; Cai, X.; Tan, X.; Lu, B.; Shu, B. *Anal. Biochem.* **2001**, *299*, 188.
- [4] (a) Kim, S. K.; Lee, D. H.; Hong, J.-I.; Yoon, J. *Acc. Chem. Res.*

- 2009**, *42*, 23.
- (b) Hargrove, A. E.; Nieto, S.; Zhang, T.; Sessler, J. L.; Anslyn, E. V. *Chem. Rev.*, **2011**, *111*, 6603.
- (c) Ngo, H. T.; Liu, X.; Jolliffe, K. A. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 4928.
- [5] Vance, D. H.; Czarnik, A. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9397.
- [6] Lee, D. H.; Im, J. H.; Son, S. U.; Chung, Y. K.; Hong, J.-I. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7752.
- [7] Jang, Y. J.; Jun, E. J.; Lee, Y. J.; Kim, Y. S.; Kim, J. S.; Yoon, J. J. *Org. Chem.* **2005**, *70*, 9603.
- [8] Lee, H. N.; Swamy, K. M. K.; Kim, S. K.; Kwon, J.-Y.; Kim, Y.; Kim, S.-J.; Yoon, Y. J.; Yoon, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 243.
- [9] Chen, W.-H.; Xing, Y.; Pang, Y. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1362.
- [10] Kim, M. J.; Swamy, M. K. K.; Lee, K. M.; Jagdale, A. R.; Kim, Y.; Kim, S.-J.; Yoo, K. H.; Yoon, J. *Chem. Commun.* **2009**, 7215.
- [11] Das, P.; Bhattacharya, S.; Mishra, S.; Das, A. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 8118.
- [12] Kim, H. J.; Lee, J. H.; Hong, J.-I. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4944.
- [13] Zhang, J. F.; Kim, S.; Han, J. H.; Lee, S.-J.; Pradhan, T.; Cao, Q. Y.; Lee, S. J.; Kang, C.; Kim, J. S. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5294.
- [14] Jia, J.; Tang, X.; He, Y. F.; Zhang, M. Y.; Xing, G. W. *Chin. J. Org. Chem.* **2012**, *32*, 1803 (in Chinese).
(郑佳, 唐茜, 何颖芳, 张梦雨, 邢国文, 有机化学, **2012**, *32*, 1803.)
- [15] Su, G.; Liu, Z.; Xie, Z.; Qian, F.; He, W.; Guo, Z. *Dalton Trans.* **2009**, 7888.
- [16] Yang, S.; Feng, G.; Williams, N. H. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5606.
- [17] Gu, Z. Y.; Xu, Q. C.; Xing, G. W. *Prog. Chem.* **2013**, *25*, 1302 (in Chinese).
(古振远, 徐勤超, 邢国文, 化学进展, **2013**, *25*, 1302.)
- [18] Lee, D. H.; Kim, S. Y.; Hong, J.-I. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 4777.
- [19] Roy, B.; Rao, A. S.; Ahn, K. H. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7774.
- [20] Pathberiya, L. G.; Barlow, N.; Nguyen, T.; Graham, B.; Tuck, K. L. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 9435.
- [21] Lee, D.-N.; Jo, A.; Park, S. B.; Hong, J.-I. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 5528.
- [22] Huang, X.; Guo, Z.; Zhu, W.; Xie, Y.; Tian, H. *Chem. Commun.* **2008**, 5143.
- [23] Shao, N.; Wang, H.; Gao, X.; Yang, R.; Chan, W. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4628.
- [24] Xu, Q. C.; Wang, X. F.; Xing, G. W.; Zhang, Y. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 15834.
- [25] Park, C.; Hong, J.-I. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1960.
- [26] Ravikumar, I.; Ghosh, P. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 4229.
- [27] Cheng, T.; Wang, T.; Zhu, W.; Chen, X.; Yang, Y.; Xu, Y.; Qian, X. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3656.
- [28] Cho, H. K.; Lee, D. H.; Hong, J.-I. *Chem. Commun.* **2005**, 1690.
- [29] Kim, S. Y.; Hong, J.-I. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 716.
- [30] Lee, H. N.; Xu, Z.; Kim, S. K.; Swamy, K. M. K.; Kim, Y.; Kim, S.-J.; Yoon, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3828.
- [31] Wen, J.; Geng, Z.; Yin, Y.; Zhang, Z.; Wang, Z. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 1984.
- [32] Han, M. S.; Kim, D. H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 3809.
- [33] Han, M. S.; Kim, D. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1079.
- [34] Hanshaw, R. G.; Hilkert, S. M.; Jiang, H.; Smith, B. D. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 8721.
- [35] Morgan, B. P.; He, S.; Smith, R. C. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 9262.
- [36] Lee, J. H.; Park, J.; Lah, M. S.; Chin, J.; Hong, J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3729.
- [37] Huang, F.; Cheng, C.; Feng, G. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 11405.

- [38] Surman, A. J.; Bonnet, C. S.; Lowe, M. P.; Kenny, G. D.; Bell, J. D.; Toth, E.; Vilar, R. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 223.
- [39] Nonaka, A.; Horie, S.; James, T. D.; Kubo, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3621.
- [40] McDonough, M. J.; Reynolds, A. J.; Lee, W. Y. G.; Jolliffe, K. A. *Chem. Commun.* **2006**, 2971.
- [41] Butler, S. J.; Jolliffe, K. A. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3471.
- [42] Carolan, J. V.; Butler, S. J.; Jolliffe, K. A. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2992.
- [43] Lee, D. H.; Kim, S. Y.; Hong, J.-I. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 4477.
- [44] Chen, Z.; Lu, Y.; He, Y.; Huang, X. *Sens. Actuators, B: Chem.* **2010**, *149*, 407.
- [45] Sokkalingam, P.; Kim, D. S.; Hwang, H.; Sessler, J. L.; Lee, C.-H. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 1819.
- [46] Kim, S. Y.; Hong, J.-I. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1951.
- [47] Nishizawa, S.; Kato, Y.; Teramae, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9463.
- [48] Kim, S. K.; Singh, N. J.; Kwon, J.; Hwang, I.-C.; Park, S. J.; Kim, K. S.; Yoon, J. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6065.
- [49] Anzenbacher, P. Jr.; Jursiková, K.; Sessler, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9350.
- [50] Lee, J. H.; Jeong, A. R.; Jung, J.-H.; Park, C.-M.; Hong, J.-I. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 417.
- [51] (a) Zhu, C.; Liu, L.; Yang, Q.; Lv, F.; Wang, S. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4687.
(b) Wang, Y.-J.; Gu, Z.-Y.; Xing, G. W. *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 489.
(c) Wang, Y.-J.; Xin, B.-J.; Duan, X.-R.; Xing, G.-W.; Wang, S. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1473.
- [52] Zhao, X.; Schanze, K. S. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6075.

(Zhao, X.)