



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101701151 A

(43) 申请公布日 2010.05.05

(21) 申请号 200910203407.3 *C08L 33/08* (2006.01)
(22) 申请日 2009.05.18 *C08L 25/06* (2006.01)
(66) 本国优先权数据 *C08L 25/14* (2006.01)
200810112219.5 2008.05.21 CN *C08L 35/02* (2006.01)
(71) 申请人 北京大学 *C08L 83/04* (2006.01)
地址 100871 北京市海淀区颐和园路 5 号北 *C08J 3/07* (2006.01)
京大学 *G01N 33/533* (2006.01)
(72) 发明人 王远 符小艺 邵光胜
(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限
公司 11245
代理人 关畅 任风华
(51) Int. Cl.
C09K 11/02 (2006.01)
C09K 11/06 (2006.01)
C08L 33/10 (2006.01)

权利要求书 3 页 说明书 22 页 附图 3 页

(54) 发明名称

荧光纳米粒子及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一类荧光纳米粒子及其制备方法和应用。该荧光纳米粒子包括基质材料和分散在所述基质材料中的荧光染料；所述基质材料为主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物；所述荧光染料为具有光致发光性能的稀土配合物。该荧光纳米粒子的制备方法是将稀土配合物、疏水聚合物与化合物 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 溶解于能与水混溶的有机溶剂，将其加入含表面活性剂的水溶液中，利用沉淀及水解缩合反应，形成纳米粒子。本发明的荧光纳米粒子具有优异的发光性能、稳定性能好、可具有氧化硅壳层和表面官能团，可用于生物分子的键合，基于此类荧光纳米粒子的生物探针，在高灵敏荧光免疫分析以及成像等方面具有广阔应用前景。

1. 荧光纳米粒子,包括基质材料和分散在所述基质材料中的荧光染料;所述基质材料为由主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物;所述荧光染料为具有光致发光性能的稀土配合物。

2. 根据权利要求1所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述主链为碳氢链的疏水聚合物为聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚苯乙烯、甲基丙烯酸酯苯乙烯共聚物、丙烯酸酯苯乙烯共聚物、聚马来酸二烷基酯、马来酸二烷基酯苯乙烯共聚物和甲基丙烯酸甲酯-丁二烯-苯乙烯共聚物中的一种或一种以上的任意组合的混和物。

3. 根据权利要求1所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述的有机硅氧烷为 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$,其中R为C碳原子数为3~18的烷基、烯基、苯基或氟取代的烷基,R'为C碳原子数为1~2的烷基;所述的有机硅聚合物为所述有机硅氧烷化合物 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 水解并通过硅羟基缩合形成的网状有机硅聚合物。

4. 根据权利要求1所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述荧光纳米粒子中主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷、稀土配合物的摩尔比为0.1~10:0.005~3:1,所述荧光纳米粒子中有机硅聚合物的质量百分含量为0.5%~40%。

5. 根据权利要求1所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述纳米粒子表面还含有具有可供接枝反应的活性基团。

6. 根据权利要求4所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述可供接枝反应的活性官能团为羟基、氨基、羧基或巯基。

7. 根据权利要求1或2或3或4或5所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述纳米粒子的外层还包裹有氧化硅壳层。

8. 根据权利要求7所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述氧化硅壳层的厚度为1~20nm。

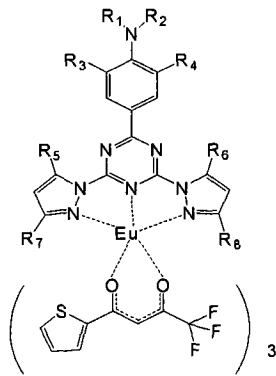
9. 根据权利要求7或8所述的荧光纳米粒子,所述纳米粒子氧化硅壳的表面还含有具有可供接枝反应的活性基团,所述可供接枝反应的活性官能团为羟基、氨基、羧基或巯基。

10. 根据权利要求1-9中所述任意的荧光纳米粒子,其特征在于:所述纳米粒子的粒径10~200nm。

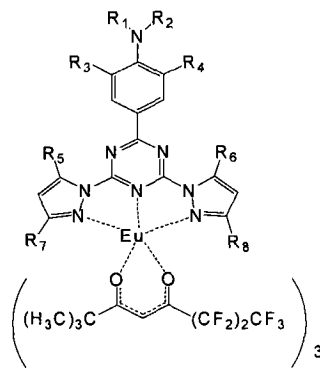
11. 根据权利要求1-9中所述任意的荧光纳米粒子,其特征在于:所述分散于纳米粒子基质材料中的稀土配合物为具有在可见光和/或近红外光和/或紫外光激发下发射可见光或近红外光性能的稀土配合物。

12. 根据权利要求11所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述稀土配合物包括镧配合物和/或铈配合物和/或镨配合物和/或钕配合物和/或钷配合物。

13. 根据权利要求12所述的荧光纳米粒子,其特征在于:所述稀土配合物为镧配合物;所述镧配合物为结构式为式I或式II所示的配合物;式I和式II中, R_1 、 R_2 是碳原子数为1至4的烷基, R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 为甲基或H, R_7 、 R_8 为甲基、三氟代甲基或H;



式 I



式 II。

14. 权利要求 1 所述荧光纳米粒子的制备方法,包括下述步骤:

1) 将稀土配合物、主链为碳氢链的疏水聚合物以及化合物 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 溶解于能与水混溶的有机溶剂中,制成含有浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的权利要求 11 或 12 或 13 所述的稀土配合物,浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的主链为碳氢链的疏水聚合物;浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的化合物 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 的溶液;

2) 在搅拌或超声条件下,将步骤 1) 得到的溶液加入到体积为其 1 ~ 100 倍的分散剂水溶液中,得到以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子的溶胶;

所述的能与水混溶的有机溶剂为甲醇、乙醇、丙酮和四氢呋喃中的一种或一种以上任意混合;所述的分散剂为表面活性剂、水溶性高分子或水溶性蛋白质;所述的表面活性剂为阳离子型、阴离子型、非离子型或两性表面活性剂或它们的混合物;所述蛋白质包括血清白蛋白或卵清蛋白;所述的水溶性高分子包括 PVP 或 PVA;所述主链为碳氢链的疏水聚合物为聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚苯乙烯、甲基丙烯酸酯苯乙烯共聚物、丙烯酸酯苯乙烯共聚物、聚马来酸二烷基酯、马来酸二烷基酯苯乙烯共聚物和甲基丙烯酸甲酯-丁二烯-苯乙烯共聚物中的一种或一种以上的任意组合的混和物;所述的有机硅氧烷为 $\text{RSi}(\text{OR}'')_3$, R 为 C 碳原子数为 3 ~ 18 的烷基、烯基、苯基或氟取代的烷基, R' 为 C 碳原子数为 1 ~ 2 的烷基。

当分散剂为表面活性剂时或水溶性有机高分子时,其水溶液浓度 $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$;当分散剂为蛋白质时,其水溶液浓度为 $0.1 \sim 5.0 \text{mg/mL}$ 。

15. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于:所述步骤 2) 中,所述分散剂水溶液为浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的表面活性剂水溶液,所述表面活性剂水溶液与所述步骤 1) 得到的溶液的体积比为 1-50 : 1。

16. 根据权利要求 14 或 15 所述的方法,其特征在于:所述方法中还包括将浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 $\text{XRSi}(\text{OR}'')_3$ 的醇或水溶液加入到所述步骤 2) 得到的荧光纳米粒子的溶胶中,使所述 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 与所述 $\text{XRSi}(\text{OR}'')_3$ 的使用量摩尔比为 1-200 : 1,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 1 ~ 24hr,制得所述的表面含有可用于与其它化合物共价键合的活性官能团的,以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配位化合物的荧光纳米粒子的溶胶;所述化合物 $\text{XRSi}(\text{OR}'')_3$ 中, X 为氨基、 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 基、羧基或巯基, XR 是碳原子数为 2 ~ 5 的含 X 取代基的烷基, OR'' 为甲氧基、乙氧基、OH 或 ONa。

17. 根据权利要求 16 所述的方法,其特征在于:所述方法还包括在步骤 1) 所述的溶液中加入终浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 $\text{XRSi(OR}'')_3$,并于步骤 2) 所述的该溶液加入所述表面活性剂水溶液之后,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 $1 \sim 24\text{hr}$,制得所述的表面含有可用于与其它化合物共价键合的活性官能团的,以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配合物的荧光纳米粒子的溶胶;所述化合物 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 中,X 为氨基或巯基,XR 是碳原子数为 $2 \sim 5$ 的含 X 取代基的烷基,OR'' 为甲氧基、乙氧基。

18. 根据权利要求 14-17 中任意一项所述的方法,其特征在于:所述方法中还包括将浓度为 $5.0 \times 10^{-3} \text{mol/L} \sim 5.0 \times 10^{-1} \text{mol/L}$ 的正硅酸酯醇溶液按照 $1 : 5 \sim 100$ 的体积比加入到权利要求 14-17 中任意一项得到的荧光纳米粒子的溶胶中,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 $1 \sim 24\text{hr}$,离心分离,将沉淀分散于水中,制得具有壳-核结构的荧光纳米粒子的溶胶;然后,加入 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 的醇或水溶液,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 $1 \sim 24\text{hr}$,制得具有壳-核结构、表面含有可用于与其他化合物共价键合的活性官能团的荧光纳米粒子的溶胶;其中,所述的正硅酸酯的醇溶液为正硅酸甲酯或正硅酸乙酯的甲醇或乙醇溶液;所述化合物 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 中,X 为氨基、 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 基、羧基或巯基,XR 是碳原子数为 $2 \sim 5$ 的含 X 取代基的烷基,OR'' 为甲氧基、乙氧基、OH 或 ONa。

19. 根据权利要求 14-18 中任意所述的方法,其特征在于:所述主链为碳氢链的疏水聚合物以及化合物 $\text{RSi(OR}')$ 与稀土配合物的摩尔比为 $0.1 \sim 10 : 0.1 \sim 10 : 1$ 。

20. 根据权利要求 19 中所述的方法,其特征在于:所述方法中,还包括对获得的荧光纳米粒子进行纯化,所述纯化的方法为将得到的荧光纳米粒子的溶胶离心并收集沉淀,然后将沉淀在水中分散,或者用色谱分离法对所制备的溶胶进行纯化。

21. 权利要求 1-13 中任意所述的荧光纳米粒子在合成纳米荧光生物探针和荧光免疫分析中的应用。

荧光纳米粒子及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明荧光纳米粒子及其制备方法和应用,特别涉及一类基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 基于发光稀土配合物的荧光探针在生物传感、细胞及组织成像等方面具有重要应用前景。其主要原因是稀土离子在可见或近红外区的锐线发射及较长的发光态寿命可以减少生物材料本身产生的荧光干扰,可望使检测具有很高的灵敏度和效率,同时避免了使用放射性元素带来的一系列问题。

[0003] 由于稀土离子的 f-f 跃迁受电偶极选率的限制,稀土离子本身的光吸收能力很弱,摩尔消光系数很小,因此要获得较大的光致发光效率,需要对其进行敏化,即通过配体(或电荷转移态)吸光,并使能量转移至稀土离子发光态以实现稀土离子的高效发光。许多稀土配合物能被紫外光激发,获得较好的发光强度。然而,紫外激发光对生物体损伤及干扰较大,紫外光穿透深度小,同时会产生较强的背景荧光,使紫外激发荧光探针的应用受到很多限制。因此,向长波方向扩展稀土配合物的激发窗口,获得具有优良可见光或近红外光激发发光能力的稀土配合物荧光探针成为稀土配合物荧光生物探针的重要发展方向之一。具有优良可见光和近红外光激发发光性能的稀土配合物非常有限。

[0004] 近年来,本发明的发明人设计、合成了铕配合物 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ ($\text{dpbt} = 2-(\text{N}, \text{N}-\text{二乙基苯胺}-4\text{-基})-4,6\text{-二}(3,5\text{-二甲基吡唑}-1\text{-基})-1,3,5\text{-三嗪}$, tta 为噻吩甲酰三氟丙酮负离子)(Y. Wang, et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 5010)。在此基础上,我们设计、合成了一系列新型稀土配合物,它们均具有优良的可见光和近红外光激发发光性能(Y. Wang, et al., Adv. Funct. Mater. 2007, 17, 3663;王远,郝锐,具有可见光激发发光性能的铕配合物及其合成方法, CN 101066974A)。若以此类稀土配合物为基础制备生物荧光探针应用于生物分析,采用长波光激发,将使得生物分析具有高灵敏度、高信噪比、穿透深度大、对生物体损伤与干扰小、分析成本低等优点。然而,已知的具有可见与近红外光高效激发发光性能的稀土配合物为疏水性分子,且其在水溶液中的稳定性不高,因而难以在水溶液中直接使用这些配合物分子作为生物荧光探针。此外,即使是能被紫外光激发高效发光的以多齿羧基为配体的稀土配合物,由于稀土配合物与生物大分子之间可能存在的配体交换反应,也使其在生物检测及成像方面的应用受到很大限制。

[0005] 解决此类问题的一个较可行方案是将稀土配合物包埋于聚合物树脂或无机纳米粒子中。西鹏(西鹏、顾晓华、黄象安、何玉鲜,无机-有机核壳式稀土聚合物材料及其制备方法, CN1966534;)等采用乳液聚合法以及溶胀包埋法将具有紫外光激发发光性能的疏水稀土配合物包埋于聚合物树脂中,制备了具有紫外光激发发光性能的纳米粒子;陈扬和袁景利等(陈扬,基于荧光能量转移原理发光的稀土纳米粒子及制备方法, CN 1304523C;袁景利,谭明乾,叶志强,王桂兰,一种功能性纳米稀土微粒及其制备和应用, CN1298807C)分别采用微乳液法或Stöber法将亲水性的稀土配合物包埋于二氧化硅为基质的纳米粒子中,

制备了具有紫外光激发发光性能的稀土配合物基纳米材料。通常疏水高分子为基质的纳米粒子在水溶液中的分散性不理想,易发生团聚,而在许多有机溶剂中因高分子溶胀,易导致纳米粒子内荧光分子泄漏。二氧化硅基质与非水溶性稀土配合物的浸润性较差,以水解反应形成的氧化硅包裹非水溶性稀土配合物合成纳米粒子时,由于难以形成致密包裹层常常导致形成的荧光纳米粒子的稳定性不高。此外,当以水解反应形成的氧化硅或其衍生物包裹稀土配合物时, Si-OH 与荧光分子之间往往存在相互作用,从而降低稀土配合物的荧光量子产率,使发光强度减弱。袁景利等 (Jingli Yuan, et. al., Chem. Comm. 2008, 365-367) 对本发明人设计、合成的稀土配合物 $[Eu(tta)_3dpbt]$ 进行了结构调变,以含有 $-Si(OR')_3$ 基团的 CDHH 代替 $[Eu(tta)_3dpbt]$ 中的辅助配体 tta,利用微乳法制备了一种能被可见光激发发光的稀土配合物基荧光纳米粒子,虽然其激发窗口尾部扩展至可见光区,但其激发峰兰移至紫外区,可见区的消光系数小,荧光量子产率约 0.2 (激发波长为 335nm),表明其可见光激发发光能力较弱。

[0006] 理想的稀土配合物基纳米荧光探针应具有以下特征:1) 在水溶液中具有良好的分散性和稳定性;2) 纳米粒子中的稀土配合物或其聚集体具有强的光致发光能力,特别是可见光及近红外光激发发光能力;3) 纳米粒子表面具有可供与生物分子键合的活性基团。

[0007] 本发明发明人曾采用已见诸报道的稀土配合物基荧光纳米粒子合成方法包裹所设计、合成的具有优异可见光和近红外光激发发光性能的稀土配合物以合成新型稀土配合物基荧光纳米粒子,例如微乳聚合法、 $RSi(OR')_3$ 水解包埋法等,但均难以获得令人满意的结果。其主要原因之一是具有优良可见光与近红外激发发光性能的稀土配合物的配体与稀土金属离子的配位作用较弱,通常的配合物包埋方法容易导致其发生配体交换反应,失去原有的激发发光特性。

发明内容

[0008] 本发明的目的是提供新的基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子及其制备方法与应用。

[0009] 本发明所提供的荧光纳米粒子,包括基质材料和分散在所述基质材料中的荧光染料;所述基质材料为由主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物;所述荧光染料为具有光致发光性能的稀土配合物。所述荧光纳米粒子中主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷、稀土配合物的摩尔比为 0.1 ~ 10 : 0.005 ~ 3 : 1,所述荧光纳米粒子中有机硅聚合物的质量百分含量为 0.5% ~ 40%。

[0010] 上述主链为碳氢链的疏水聚合物可为聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚苯乙烯、甲基丙烯酸酯苯乙烯共聚物、丙烯酸酯苯乙烯共聚物、聚马来酸二烷基酯、马来酸二烷基酯苯乙烯共聚物和甲基丙烯酸甲酯-丁二烯-苯乙烯共聚物中的一种或一种以上的任意组合的混和物。

[0011] 上述有机硅氧烷为 $RSi(OR')_3$;其中 R 为 C 碳原子数为 3 ~ 18 的烷基、烯基、苯基或氟取代的烷基, R' 为 C 碳原子数为 1 ~ 2 的烷基。上述有机硅聚合物为所述有机硅氧烷化合物 $RSi(OR')_3$ 水解并通过硅羟基缩合形成的网状有机硅聚合物。

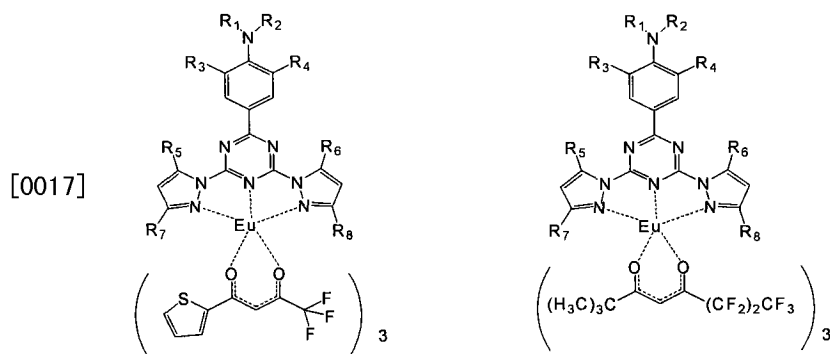
[0012] 上述纳米粒子表面还含有具有可供接枝反应的活性基团。所述可供接枝反应的活性官能团为羟基、氨基、羧基或巯基。

[0013] 上述纳米粒子的外层还可包裹有氧化硅壳层。所述氧化硅壳层厚度为 1 ~ 20nm。

[0014] 上述具有氧化硅壳的荧光纳米粒子的表面还可含有具有可供接枝反应的活性基团,所述可供接枝反应的活性官能团为羟基、氨基、羧基或巯基。

[0015] 上述纳米粒子的粒径为 10-200nm。

[0016] 上述分散于纳米粒子基质材料中的稀土配合物为具有在可见光和 / 或近红外光和 / 或紫外光激发下发射可见光或近红外光性能的稀土配合物;所述稀土配合物包括铈配合物和 / 或铽配合物和 / 或镱配合物和 / 或铒配合物和 / 或钆配合物。所述铈配合物可为结构如式 I 或式 II 所示的化合物。



[0018] 式 I

式 II

[0019] 上述式 I 和式 II 中, R_1 、 R_2 是碳原子数为 1 至 4 的烷基, R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 为甲基或 H, R_7 、 R_8 为 H、甲基或三氟代甲基;

[0020] 本发明所提供的上述荧光纳米粒子的制备方法,包括下述步骤:

[0021] 1) 将稀土配合物、主链为碳氢链的疏水聚合物以及化合物 $RSi(OR')_3$ 溶解于能与水混溶的有机溶剂中,制成含有浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的上述的稀土配合物,浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的主链为碳氢链的疏水聚合物;浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的化合物 $RSi(OR')_3$ 的溶液;

[0022] 2) 在搅拌或超声条件下,将步骤 1) 得到的溶液加入到体积为其 1 ~ 100 倍的含有分散剂的水溶液中,得到以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配合物的荧光纳米粒子的溶胶,将其记为溶胶 C。当分散剂为表面活性剂时或水溶性有机高分子时,其水溶液浓度 $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$;当分散剂为蛋白质时,其水溶液浓度为 0.1 ~ 5.0mg/mL。

[0023] 所述的能与水混溶的有机溶剂为甲醇、乙醇、丙酮、乙腈、二甲基甲酰胺和四氢呋喃中的一种或一种以上任意混合;所述的分散剂包括表面活性剂、水溶性蛋白质或水溶性有机高分子;所述的表面活性剂包括阳离子型、阴离子型、非离子型或两性表面活性剂或它们的混合物;所述蛋白质包括血清白蛋白或卵清蛋白等;所述水溶性有机高分子包括聚乙烯吡咯烷酮 (PVP), 聚乙烯醇 (PVA) 等;所述主链为碳氢链的疏水聚合物为聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚苯乙烯、甲基丙烯酸酯苯乙烯共聚物、丙烯酸酯苯乙烯共聚物、聚马来酸二烷基酯、马来酸二烷基酯苯乙烯共聚物和甲基丙烯酸甲酯 - 丁二烯 - 苯乙烯共聚物中的一种或一种以上的任意组合的混和物, $RSi(OR'')_3$ 中 R 为 C 碳原子数为 3 ~ 18 的烷基、烯基、苯基或氟取代的烷基, R'' 为 C 碳原子数为 1 ~ 2 的烷基。

[0024] 上述步骤 2) 中,所述分散剂水溶液可为浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的表面活性剂水溶液,所述表面活性剂水溶液与所述步骤 1) 得到的溶液的体积比可为

1-50 : 1。

[0025] 所述方法中,还可包括将浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L 的 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 的醇溶液加入到所述步骤 2) 得到的荧光纳米粒子的溶胶 (溶胶 C) 中,使所述 $\text{RSi(OR}'')_3$ 与所述 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 的使用量摩尔比为 1-200 : 1,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 1 ~ 24hr,制得所述的表面含有可用于与其它化合物共价键合的活性官能团的,以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子的溶胶,将其记为溶胶 E;所述化合物 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 中, X 为氨基、 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 基、羧基或巯基, XR 是碳原子数为 2 ~ 5 的含 X 取代基的烷基, OR'' 为甲氧基、乙氧基、OH 或 ONa。

[0026] 上述方法还可包括在步骤 1) 所述的溶液中加入终浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L 的 $\text{XRSi(OR}'')_3$,并于步骤 2) 将所述的该溶液加入所述分散剂水溶液之后,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 1 ~ 24hr,制得所述的表面含有可用于与其它化合物共价键合的活性官能团的,以主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物为基质材料的,基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子的溶胶,将其记为溶胶 G;所述化合物 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 中, X 为氨基或巯基, XR 是碳原子数为 2 ~ 5 的含 X 取代基的烷基, OR'' 为甲氧基、乙氧基。

[0027] 所述方法中,还包括将浓度为 5.0×10^{-3} mol/L ~ 5.0×10^{-1} mol/L 的正硅酸酯醇溶液按照 1 : 5 ~ 100 的体积比加入到上述荧光纳米粒子的溶胶 (溶胶 C、溶胶 E 或溶胶 G) 中,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 1 ~ 24hr,离心分离,将沉淀分散于水中,制得具有壳-核结构的荧光纳米粒子的溶胶;然后,加入 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ mol/L 的 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 的醇溶液,于 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ 反应 1 ~ 24hr,制得具有壳-核结构、表面含有可用于与其它化合物共价键合的活性官能团的荧光纳米粒子的溶胶;其中,所述的正硅酸酯的醇溶液为正硅酸甲酯或正硅酸乙酯的甲醇或乙醇溶液。所述化合物 $\text{XRSi(OR}'')_3$ 中, X 为氨基、 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-$ 基、羧基或巯基, XR 是碳原子数为 2 ~ 5 的含 X 取代基的烷基, OR'' 为甲氧基、乙氧基、OH 或 ONa。

[0028] 上述方法中,所述主链为碳氢链的、化合物 $\text{RSi(OR}'')_3$ 以及稀土配合物使用量之摩尔比为 0.1 ~ 10 : 0.1 ~ 10 : 1。

[0029] 所述方法中,还包括对获得的荧光纳米粒子进行纯化,所述纯化的方法为将得到的荧光纳米粒子的溶胶离心并收集沉淀,然后将沉淀在水中分散,或者用色谱分离法进行纯化。

[0030] 本发明的荧光纳米粒子具有如下优点:

[0031] 1、具有优异的发光性能。基于稀土配合物的荧光纳米粒子具有发射峰窄、强度大、Stocks 位移大的优点。当采用本发明所述具有可见与近红外激发发光的稀土配合物为荧光染料时,所制得的荧光纳米粒子在可见光和近红外光激发下具有非常高的稀土荧光量子产率,例如本发明的许多基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 和 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子在可见光激发下的荧光量子产率大于 0.3,其可见光激发发光亮度远高于其它文献与专利报道的稀土配合物基纳米粒子在相同条件下的发光亮度。本发明的一些稀土配合物基荧光纳米粒子较溶解于溶剂中的同种稀土配合物具有更好的长波可见光激发发光性能,例如,与溶于甲苯中的 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 相比,本发明的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的可见光区激发峰及激发窗口红边发生显著红移,这种由稀土配合物聚集体导致的激发峰和激发窗口红边显著红移的现象尚未见报道。上述荧光纳米粒子同时具有优异的双光子激发发光性能,在

近红外激光激发下,可发出明亮的红光。具有优异的双光子激发发光性能并能满足合成纳米荧光生物探针需要的,基于稀土配合物荧光染料的荧光纳米粒子尚未见报道。此外,本发明解决了具有近红外光发射性能的疏水稀土配合物的纳米包埋问题,所合成的包有此类稀土配合物荧光染料的纳米粒子具有优良的近红外光发射性能。上述优异光致发光性能使本发明的稀土配合物基荧光纳米粒子非常适用于合成灵敏度高、穿透深度大、对生物样品损伤小的纳米荧光生物探针。

[0032] 2、稳定性性能好。在本发明的荧光纳米粒子中,稀土配合物分散于主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物基质材料中,由于聚合物良好的疏水性能,水分子以及水溶液中的离子难以透过聚合物层与配合物作用,基质材料中的稀土配合物也难以泄漏出去。上述特殊结构使本发明的发光纳米粒子具有优良的发光性能稳定性。另一方面,本发明的荧光纳米粒子外层的硅羟基具有良好的亲水性,使得本发明的荧光纳米粒子在水溶液中具有良好的分散性,其胶体溶液具有良好的分散稳定性。而表面活性剂的使用进一步提高了其分散稳定性,胶体溶液经长期放置不会产生沉淀。

[0033] 3、本发明的制备方法可控性强,荧光纳米粒子表面的官能团可用于生物分子的键合。

[0034] 本发明的荧光纳米粒子的制备方法为共沉淀包裹法,即将稀土配合物、主链为碳氢链的与化合物 $\text{RSi}(\text{OR}')_3$ 溶解于能与水混溶的有机溶剂,将其加入含所述分散剂的水溶液中,利用沉淀及水解缩合反应,形成包有稀土配合物荧光染料的所述基质的纳米粒子;本发明同时提供了具有氧化硅外壳且表面具有活性基团的所述荧光纳米粒子及其合成方法。将本发明中的稀土配合物换成其它荧光染料,也可通过本发明提供的方法制备其它荧光染料的荧光纳米粒子。通过调变稀土配合物、带疏水链的硅氧烷、主链为碳氢链的三者比例以及有机溶剂和分散剂类型可以很方便对荧光纳米粒子中稀土配合物含量、颗粒尺寸等参数进行调控。而荧光纳米粒子表面活性官能团的种类与含量可以通过选择硅氧烷种类及其加入量来控制。

[0035] 本发明的荧光纳米粒子在水溶液中分散稳定性良好,且表面具有可用于与生物分子共价键合的活性官能团,因此可以直接用于生物分子的标记。各种蛋白,如免疫球蛋白 IgG 以及抗 IgG,均可采用本发明所提供的荧光纳米粒子进行标记。标记后获得的纳米荧光生物探针可以用于高灵敏荧光免疫分析,生物荧光成像以及生物芯片等领域。

附图说明

[0036] 图 1 为基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 配合物的荧光纳米粒子的透射电镜照片;图 1 中 a 为实施例 11 制备的荧光纳米粒子的透射电镜照片(纳米粒子尺寸范围 10 ~ 50nm,平均粒径 27nm);b 为实施例 1 制备的荧光纳米粒子的透射电镜照片(尺寸范围 50 ~ 90nm,平均粒径 74nm)。

[0037] 图 2 为实施例 1 制备的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的激发谱($\lambda_{\text{em}} = 614\text{nm}$)。

[0038] 图 3 为实施例 1 制备的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的发射谱($\lambda_{\text{ex}} = 412\text{nm}$)。

[0039] 图 4 为荧光纳米粒子与经有机荧光染料 FITC 标记的山羊抗人 IgG 共价键合后获

得的纳米粒子胶体中 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的激发谱 (A) ($\lambda_{\text{em}} = 614\text{nm}$) 与发射谱 (B) ($\lambda_{\text{ex}} = 412\text{nm}$) 以及 FITC 的激发谱 (A) ($\lambda_{\text{em}} = 530\text{nm}$) 与发射谱 (B) ($\lambda_{\text{ex}} = 470\text{nm}$)。

[0040] 图 5 为实施例 29 中荧光强度随人 IgG 浓度变化图。

具体实施方式

[0041] 为了更具体地说明本发明, 现给出若干实施例, 但本发明所涉及的内容并不仅仅局限于这些实施例。下述实施例中所用方法如无特别说明均为常规方法。

[0042] 下述实施例中, tta 为噻吩甲酰三氟丙酮负离子, fod 为 6,6,7,7,8,8,8-七氟-2,2-二甲基辛烷-3,5-二酮负离子。

[0043] 实施例 1: 以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0044] 将辛基三甲氧基硅烷 (OTS)、聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 以及 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ (其结构式如式 III 所示; Y. Wang, et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 5010) 溶解于丙酮中, 配制成 OTS 浓度为 $7.6 \times 10^{-4}\text{mol/L}$, PMMA 浓度为 $1.6 \times 10^{-5}\text{mol/L}$, $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 浓度为 $1.6 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 的丙酮溶液, 记为溶液 A1。在室温及搅拌条件下, 将 25mL 溶液 A1 滴加入 75mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的十六烷基三甲氧基溴化铵 (CTAB) 的水溶液 (记为溶液 B1) 中 (溶液 A1 与溶液 B1 体积比为 1 : 3), 搅拌 10min, 得到以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的复合物为基质的, 包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶 (记为溶胶 C1)。

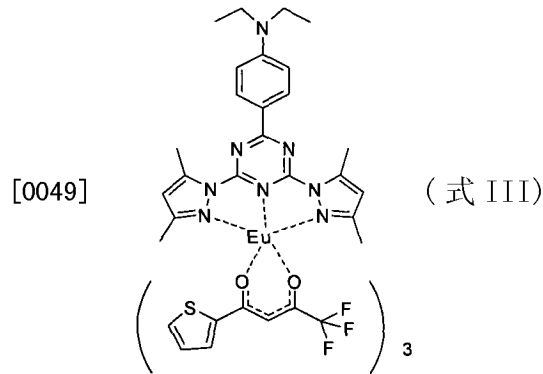
[0045] 将 1mL 浓度为 $3.7 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 的 3-氨基丙基三甲氧基硅烷 (APS) 甲醇溶液 D1 加入 100mL 溶胶 C1 中, 于 60°C 反应 1 小时, 离心分离, 将所得沉淀重新分散于纯水中, 制得表面接有可供接枝反应的氨基基团的荧光纳米粒子的溶胶 (记为溶胶 E1)。

[0046] 透射电子显微镜 (TEM) 测试结果表明, 上述制备的溶胶 C1 中荧光纳米粒子的平均粒径为 74nm。上述制备的溶胶 E1 中的荧光纳米粒子的透射电镜照片如图 1 中 b 所示, 所制得荧光纳米粒子的尺寸分布范围在 50 ~ 90nm, 平均粒径 74nm。由于 APS 的加入量远小溶胶 C1 中荧光纳米粒子的总质量, 因此电镜表征实验测得的 C1 溶胶和 E1 溶胶中纳米粒子的尺寸非常接近。

[0047] 将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 摩尔比为 0.5, 荧光纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 0.1, 有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的质量百分含量为 32%。

[0048] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 C1 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 412nm, 尾部延展到 480nm。上述制备的荧光纳米粒子溶胶 E1 的荧光激发谱 ($\lambda_{\text{em}} = 614\text{nm}$) 如图 2 所示, 上述制备的荧光纳米粒子溶胶 E1 的荧光发射谱 ($\lambda_{\text{em}} = 412\text{nm}$) 如图 3 所示。结果表明, 上述荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 412nm, 尾部延展到 480nm。以 4-dicyanomethylene-2-methyl-6-p-dimethylaminostyryl-4H-pyran (DCM) 的丙醇溶液为参考物 ($\Phi = 0.57$), 在波长为 410nm 激发光照射下, 测得此荧光纳米粒子的镱离子荧光量子产率为 0.30。在波长为 832 纳米的近红外激光激发下, 上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光, 以 Rhodamine B

为参考物测得其双光子激发作用截面为 40GM ($1\text{GM} = 10^{-50}\text{cm}^4 \text{s photo}^{-1}\text{molecule}^{-1}$)。



[0050] 实施例 2 : 以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0051] 按照实施例 1 中的方法, 用甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物 (P(St-co-MMA)) 替代 PMMA 配制 A2, 该溶液中各溶质浓度为: OTS, $7.6 \times 10^{-4}\text{mol/L}$; P(St-co-MMA), $1.6 \times 10^{-4}\text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$, $1.6 \times 10^{-4}\text{mol/L}$; 在室温及搅拌条件下, 将 30mL 溶液 A2 滴加入 70mL 浓度为 $1.4 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的 CTAB 的水溶液 (记为溶液 B2) 中搅拌 10min, 得到以 P(St-co-MMA)、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的复合物为基质的, 包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶 (记为溶胶 C2)。

[0052] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 C1 中荧光纳米粒子的尺寸分布范围在 22 ~ 85nm, 平均粒径为 45nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 1.1, 纳米粒子中疏水高分子 P(St-co-MMA) 与 Eu 离子的摩尔比为 1, 有机硅聚合物的质量百分数含量为 32%。

[0053] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 C 1 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 415nm, 尾部延展到 475nm。以 DCM 的丙醇溶液为参考物 ($\Phi = 0.57$), 在波长为 415nm 激发光照射下, 测得此荧光纳米粒子的铕离子荧光量子产率为 0.31。在波长为 830 纳米的近红外激光激发下, 上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光, 以 Rhodamine B 为参考物测得其双光子激发作用截面为 50GM ($1\text{GM} = 10^{-50}\text{cm}^4 \text{s photo}^{-1}\text{molecule}^{-1}$)。

[0054] 实施例 3 : 以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0055] 按照实施例 2 中的方法, 用 PMMA 替代 P(St-co-MMA), 乙腈替代丙酮配制 A3; 以牛血清白蛋白替代 CTAB 配制溶液 B3, 牛血清白蛋白的浓度为 3.0mg/mL。按照实施例 2 中的制备方法与条件, 制备得到以 PMMA、OTS 和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质材料的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 C3。

[0056] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 C3 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 10 ~ 40nm, 平均粒径为 25nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.1, 纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 1, 有机硅聚合物的质量百分数含量为 5%。

[0057] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 C3 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 412nm,尾部延展到 475nm。在波长为 830 纳米的近红外激光激发下,上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0058] 实施例 4:以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0059] 按照实施例 2 中的方法,用 P(St-co-MMA) 替代 PMMA,四氢呋喃替代丙酮配制 A4;人血清白蛋白替代 CTAB 配制溶液 B4,人血清白蛋白的浓度为 5.0mg/ml。按照实施例 1 中的制备方法与条件,制备得到以 P(St-co-MMA)、OTS 和有机硅聚合物(OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质材料的,基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C4。

[0060] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 C4 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 40 ~ 100nm,平均粒径为 60nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 OTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 1.0,纳米粒子中疏水高分子 P(St-co-MMA) 与 Eu 离子的摩尔比为 1,有机硅聚合物的质量百分数含量为 30%。

[0061] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 C4 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 412nm,尾部延展到 475nm。在波长为 830 纳米的近红外激光激发下,上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0062] 实施例 5:以聚苯乙烯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0063] 按照实施例 2 中的方法,用聚苯乙烯(PST)替代 PMMA,二甲基甲酰胺替代丙酮配制 A5;以鸡卵清蛋白替代 CTAB 配制溶液 B5,鸡卵清蛋白的浓度为 0.5mg/mL。按照实施例 1 中的制备方法与条件,制备得到以 PST、OTS 和有机硅聚合物(OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质材料的,基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C5。

[0064] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 C5 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 100 ~ 200nm,平均粒径为 160nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 OTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.6,纳米粒子中疏水高分子 PST 与 Eu 离子的摩尔比为 0.1,有机硅聚合物的质量百分数含量为 25%。

[0065] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 C5 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 412nm,尾部延展到 475nm。在波长为 830 纳米的近红外激光激发下,上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0066] 实施例 6:以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0067] 按照实施例 2 中的方法,用十八烷基三乙氧基硅烷替代 OTS 配制 A2,该溶液中各溶质浓度为:十八烷基三乙氧基硅烷, $1.6 \times 10^{-3} \text{mol/L}$; P(St-co-MMA), $1.6 \times 10^{-3} \text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$, $1.6 \times 10^{-4} \text{mol/L}$;在室温及搅拌条件下,将 30mL 溶液 A2 滴加入 70mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的水溶性高分子 PVP 水溶液(记为溶液 B2)中搅拌 10min,得到以 P(St-co-MMA)、有机硅氧烷和有机硅聚合物(水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物)

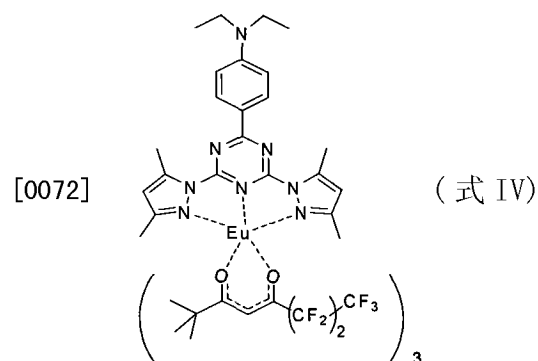
的复合物为基质的, 包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶 (记为溶胶 C2)。

[0068] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 C1 中荧光纳米粒子的尺寸分布范围在 60 ~ 150nm, 平均粒径为 100nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的十八烷基三乙氧基硅烷, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中十八烷基三乙氧基硅烷与 Eu 的摩尔比为 3, 纳米粒子中疏水高分子 P(St-co-MMA) 与 Eu 离子的摩尔比为 10, 有机硅聚合物 (十八烷基三乙氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的质量百分含量为 35%。

[0069] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 C1 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 415nm, 尾部延展到 475nm。以 DCM 的丙醇溶液为参考物 ($\Phi = 0.57$), 在波长为 415nm 激发光照射下, 测得此荧光纳米粒子的铕离子荧光量子产率为 0.31。在波长为 830 纳米的近红外激光激发下, 上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0070] 实施例 7: 以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0071] 以 $\text{Eu}(\text{fod})_3$ 替代 $\text{Eu}(\text{tta})_3$, 按文献 (Y. Wang, et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 5010) 介绍的方法合成得到结构式如式 IV 所示的化合物, 将其命名为 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 。



[0073] 按照实施例 1 中的方法, 用上述制备的 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 替代 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 配制溶液 A7, 该溶液中各溶质浓度为: OTS, $2.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$; PMMA, $5.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$, $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$; 以十二烷基三甲氧基溴化铵 (DTAB) 替代 CTAB 配制溶液 B7。按照实施例 1 中的制备方法与条件, 制备得到以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质材料的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 C7。

[0074] 按照实施例 1 的方法, 以溶胶 C7 替代实施例 1 所述的溶胶 C1, 制得表面具有可供接枝反应的氨基活性基团的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 E7。

[0075] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 E2 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 30 ~ 80nm, 平均粒径为 65nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.3, 纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 0.5, 有机硅聚合物的质量百分含量为 15%。

[0076] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 E7 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 402nm, 尾部延展到 450nm。在波长为 832 纳米的

近红外激光激发下,上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0077] 实施例 8:以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 [Eu(fod)₃dpbt] 的荧光纳米粒子的制备

[0078] 按照实施例 1 中的方法,用 [Eu(fod)₃dpbt] 替代 [Eu(tta)₃dpbt] 配制溶液 A8,该溶液中各溶质浓度为:OTS, 5.0×10^{-5} mol/L; PMMA, 2.0×10^{-4} mol/L; [Eu(fod)₃dpbt], 1.0×10^{-4} mol/L;以水溶性高分子 PVP 替代 CTAB 配制溶液 B8, PVP 的浓度为 1×10^{-4} mol/L。按照实施例 1 中的制备方法与条件,制备得到以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物(OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质材料的,基于 [Eu(fod)₃dpbt] 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C8。

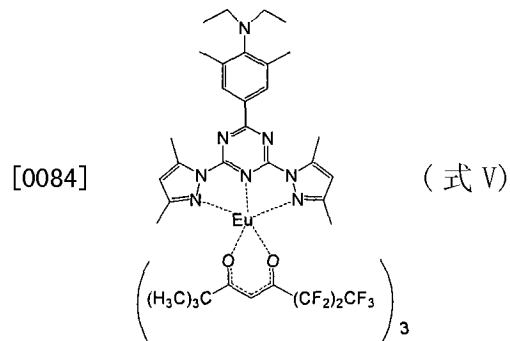
[0079] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 C8 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 50 ~ 120nm,平均粒径为 80nm。

[0080] 将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 OTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.5,纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 2,有机硅聚合物的质量百分含量为 4%。

[0081] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 E7 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 402nm,尾部延展到 450nm。

[0082] 实施例 9:以聚丙烯酸乙酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 [Eu(fod)₃dmpbt] 的荧光纳米粒子的制备

[0083] 按照公开号为 CN101066975A 的专利的实施例 7 的方法制备得到结构式如式 V 所示的配合物,将其命名为 [Eu(fod)₃dmpbt]。



[0085] 以四氢呋喃为溶剂配制溶液 A9,使溶液 A9 中各溶质浓度为:3-(甲基丙烯酰基)丙基三甲氧基硅烷, 1.0×10^{-5} mol/L;聚丙烯酸乙酯, 1.0×10^{-5} mol/L; [Eu(fod)₃dmpbt], 1.0×10^{-6} mol/L。以水溶性高分子 PVA 替代 CTAB,按照实施例 1 中的方法配制溶液 B1。在室温和搅拌的条件下,将溶液 A9 加入溶液 B1 中,使溶液 A9 与溶液 B1 的体积比为 1 : 5,制备得到以聚丙烯酸乙酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物(3-(甲基丙烯酰基)丙基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的,基于 [Eu(fod)₃dmpbt] 的荧光纳米粒子溶胶,记为溶胶 C9。

[0086] 将 0.1mL 浓度为 2.5×10^{-4} mol/L 的 3-(2-氨基乙基氨基)丙基三甲氧基硅烷的甲醇溶液 D9 加入 10mL 溶胶 C9 中,于 40℃ 反应 2 小时,离心分离,将所得沉淀重新分散于纯水中,制得表面接有可供接枝反应的氨基基团的荧光纳米粒子的溶胶(记为溶胶 E9)。

[0087] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 E7 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 20 ~ 50nm,平均粒径为 35nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质

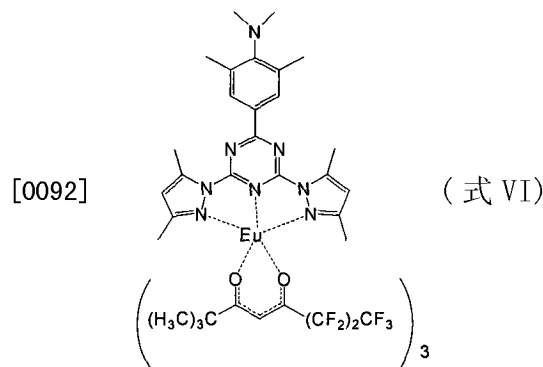
中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 3-(甲基丙烯酰基) 丙基三甲氧基硅烷与 Eu 的摩尔比为 0.05, 纳米粒子中疏水高分子 P(St-co-MMA) 与 Eu 离子的摩尔比为 0.1, 有机硅聚合物 (3-(甲基丙烯酰基) 丙基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的质量百分含量为 3%。

[0088] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 E9 中荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 409nm, 尾部延展到 460nm。以 DCM 的丙醇溶液为参考物 ($\Phi = 0.57$), 在波长为 410nm 的激发光照射下, 测得上述制备的溶胶 E6 中荧光纳米粒子的稀土离子荧光量子产率约为 0.45。在波长为 800 纳米的近红外激光激发下, 上述制备的溶胶 E9 中荧光纳米粒子可发出明亮的红光, 以 RhodamineB 为参考物测得其双光子激发作用截面约为 50GM ($1\text{GM} = 10^{-50}\text{cm}^4 \text{s photo}^{-1}\text{molecule}^{-1}$)。

[0089] 实施例 10: 以聚苯乙烯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于结构如式 III 铕配合物的荧光纳米粒子的制备

[0090] 按照公开号为 CN101066975A 的专利的实施例 6 的方法合成得到结构式如式 VI 所示的配合物。

[0091] 以丙酮为溶剂, 配制溶液 A10, 使溶液 A10 中各溶质浓度为: 十二烷基三甲氧基硅烷 (DTS), $5.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$; 聚苯乙烯, $5.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$; 结构如式 VI 铕配合物, $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$; 配制浓度为 $1.0 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的两性离子型表面活性剂十八烷基三甲基甜菜碱的水溶液 B10。在室温及搅拌条件下, 将溶液 A10 加入溶液 B10 中, 使溶液 A10 与溶液 B10 的体积比为 1 : 5, 制备得到以聚苯乙烯、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (DTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的, 基于配合物 VI 的荧光纳米粒子溶胶, 记为溶胶 C10。



[0093] 将 0.1mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 的 APS 甲醇溶液 D10 加入 10mL 溶胶 C10 中, 于 60°C 反应 1 小时, 离心分离, 将所得沉淀重新分散于纯水中, 制得表面接有可供接枝反应的氨基基团的荧光纳米粒子的溶胶 (记为溶胶 E10)。

[0094] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 E8 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 60 ~ 100nm, 平均粒径为 85nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 DTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 DTS 与 Eu 离子的摩尔比为 0.005, 纳米粒子中 PST 与 Eu 的摩尔比为 0.5。有机硅聚合物 (DTS 水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物) 的质量百分含量为 0.5%。

[0095] 上述制备的溶胶 E8 中的纳米粒子在可见光及近红外激光激发下可发出明亮的红光。

[0096] 实施例 11:以聚马来酸二丁基酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{bpt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0097] 按照公开号为 CN101066975A 的专利的实施例 7 的方法制备得到结构式如式 VII 所示的配合物,将其命名为 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{bpt}]$ 。

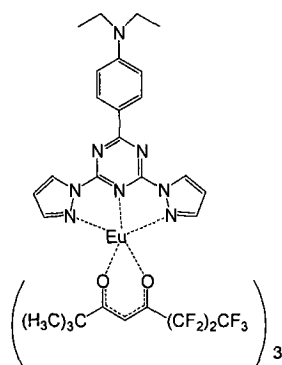
[0098] 以甲醇为溶剂配制溶液 A11,使溶液 A11 中各溶质浓度为:1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷, $1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$;聚马来酸二丁基酯, $1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{bpt}]$, $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$;配制浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的阴离子表面活性剂十二烷基苯磺酸钠的水溶液 B11。在 0°C 及搅拌条件下,将 A11 溶液加入 B11 溶液中,使两者体积比为 1 : 9,制备得到以聚马来酸二丁基酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物(1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的,基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{bpt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C11。

[0099] 将 0.1mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 的巯丙基三甲氧基硅烷的甲醇溶液 D11 加入 10mL 溶胶 C11 中,于 20°C 反应 12 小时,离心分离,将所得沉淀重新分散于纯水中,制得表面接有可供接枝反应的巯基基团的荧光纳米粒子的溶胶(记为溶胶 E11)。

[0100] TEM 结果表明,上述制备的溶胶 C11 中的荧光纳米粒子的平均粒径为 180nm。上述制备的溶胶 E11 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 130 ~ 200nm,平均粒径为 180nm。由于 APS 的加入量远小于溶胶 C11 中荧光纳米粒子的总质量,因此电镜表征实验测得的 C11 溶胶和 E11 溶胶中纳米粒子的尺寸非常接近。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷与 Eu 离子的摩尔比为 2,纳米粒子中聚马来酸二丁基酯与 Eu 的摩尔比为 0.1。有机硅聚合物(1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物)的质量百分含量为 40%。

[0101] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 C11 和 E11 中的荧光纳米粒子均具有良好的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 410nm,尾部延展到 460nm。在波长为 800nm 的近红外激光激发下,上述荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0102]



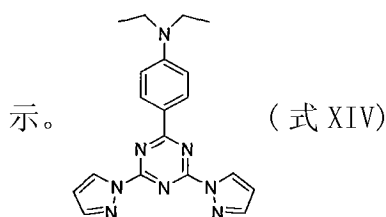
(式 VII)

[0103] 实施例 12:以甲基内烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 的荧光纳米粒子的制备

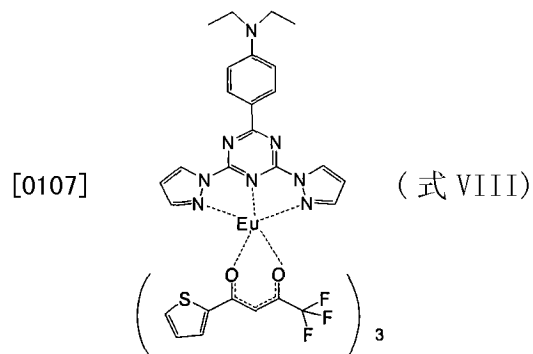
[0104] 取 N,N-二乙基对溴苯胺(4mmol),溶解在干燥过的四氢呋喃中,通氩气除氧,置于 -78°C 的干冰丙酮浴中,在氩气保护下,加入 4mL n-BuLi(1.6M),缓慢升温至室温后,继续搅拌 30min,将其加入冷冻于 -78°C 下的三聚氯嗪(5.4mmol)中,缓慢升温至室温后,继续搅拌 60min。除去溶剂后,产物用硅胶柱色谱分离,洗脱剂为二氯甲烷。将所得粗产品在石油醚

中重结晶,得到 2-(N,N-二乙基苯胺-4-基)-4,6-二氯-1,3,5-三嗪黄色针状晶体 0.60g。在氩气保护下,将新切的金属钾(1.25mmol)加入无水四氢呋喃中;加入吡啶(1.75mmol),加热回流 3h 生成吡啶负离子;将反应混合物置于冰浴中,向其中加入 2-(N,N-二乙基苯胺-4-基)-4,6-二氯-1,3,5-三嗪(0.5mmol),室温搅拌 1h,然后在 80-85℃的油浴中回流反应 8-9h。冷却、浓缩,用二氯甲烷和乙酸乙酯的混合液(二氯甲烷与乙酸乙酯的体积比为 3:1)作洗脱剂,通过硅胶柱色谱分离。所得粗产物用石油醚和二氯甲烷的混合液(石油醚与二氯甲烷的体积比为 1:1)重结晶,得式 XIV 所示化合物的黄色针状晶体 81mg。

[0105] 质谱(EI MS)表征测得上述黄色针状晶体产物分子离子峰 $M/Z = 360$;元素分析值(质量百分含量):C,63.23%(63.32%);H,5.58%(5.59%);N,31.04%(31.09%),括号中为理论值。X-射线分析及核磁共振谱,证明上述黄色针状晶体产物结构如式 XIV 所



[0106] 在氩气保护下,将 10mL $\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ($24.9 \times 10^{-3} \text{mmol}$) 的四氢呋喃溶液滴加到 10mL 所制备的式 XIV 所示的化合物 ($24.9 \times 10^{-3} \text{mmol}$) 的四氢呋喃溶液中,常温下搅拌 30min。除去溶剂,用少量乙醚溶解、过滤,用正己烷作沉淀剂析出固体并洗涤、干燥,得到式 VIII 所示配合物的黄色粉末 31mg。



[0108] 质谱(MALDI-TOF MS)表征测得上述黄色粉末产物分子离子峰 $M/Z = 1176$;元素分析(质量百分含量):C,43.80%(43.92%);H,2.56%(2.74%);N,9.41%(9.53%),括号中为理论值;证明上述黄色粉末产物结构如式 VIII 所示。将式 VIII 所示配合物命名为 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 。

[0109] 以丙酮为溶剂配制溶液 A12,使溶液 A12 中各溶质浓度为:苯基三甲氧基硅烷(PTS), $5.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$;甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物, $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$, $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$;配制浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 Tween 20 水溶液 B12。在室温及搅拌条件下,将溶液 A12 加入溶液 B12 中,使两者体积比为 1:4,制得以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物(PTS 水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的,基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C12。

[0110] 将 0.1mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$ 的巯丙基三甲氧基硅烷的甲醇溶液 D12 加入 10mL 溶胶 C12 中,于 25℃ 反应 12 小时,离心分离,将所得沉淀重新分散于纯水中,制得表面接有可供接枝反应的巯基基团的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 E12。

[0111] TEM 结果表明,上述制备的溶胶 C12 中的荧光纳米粒子的平均粒径为 10nm。上述制备的溶胶 E12 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 8 ~ 25nm,平均粒径为 10nm。由于 APS 的加入量远小于溶胶 C12 中荧光纳米粒子的总质量,因此电镜表征实验测得的 C10 溶胶和 E10 溶胶中纳米粒子的尺寸非常接近。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 PTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 PTS 与 Eu 的摩尔比为 1.0,纳米粒子中疏水高分子甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物与 Eu 离子的摩尔比为 1.0,有机硅聚合物的质量百分数含量为 20%。

[0112] 荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 C12 和 E12 中的荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 422nm,尾部延展到 475nm。

[0113] 实施例 13:以 PS、PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 [Tb(dppc)₃] 的荧光纳米粒子的制备

[0114] 按文献 (H. Härmä, et al., Anal. Chem., 2005, 77, 2643) 介绍方法合成得到 [Tb(dppc)₃] (dppc = 4-(2,4,6-三癸氧基苯基)吡啶-2,6-二羧酸)。

[0115] 以四氢呋喃为溶剂配制溶液 A13,使溶液 A13 中各溶质浓度为:1H,1H,2H,2H-氟代十二烷基三乙氧基硅, 1.0×10^{-4} mol/L; PS, 2.0×10^{-5} mol/L; PMMA, 2.0×10^{-5} mol/L; [Tb(dppc)₃], 5.0×10^{-5} mol/L。用溶液 A13 替代实施例 1 的溶液 A1,其他条件同实施例 1,制得以 PS、PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (1H,1H,2H,2H-氟代十二烷基三乙氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的,基于 [Tb(dppc)₃] 的荧光纳米粒子的溶胶 C13。

[0116] 将 0.1mL 浓度为 1.0×10^{-6} mol/L 的羧乙基硅三醇钠 (carboxyethylsilanetriolsodium) 的甲醇溶液 D13 加入 10mL 溶胶 C13 中,于 0℃ 反应 24 小时,离心分离,将所得沉淀重新分散于纯水中,制得表面接有可供接枝反应的羧基基团的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 E13。

[0117] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 E13 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 60 ~ 120nm,平均粒径为 90nm。荧光光谱测试结果表明,上述制备的溶胶 E13 中荧光纳米粒子具有良好的紫外光激发发光性能,其激发峰位于 320nm,发射主峰位于 544nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 1H,1H,2H,2H-氟代十二烷基三乙氧基硅,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷与 Eu 的摩尔比为 0.2,纳米粒子中疏水高分子 PS、PMMA 与 Eu 离子的摩尔比均为 1.0,有机硅聚合物的质量百分数含量为 10%。

[0118] 实施例 14:以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 [Er(tta)₃terpy] 的荧光纳米粒子的制备

[0119] 按文献 (Y. H. Kim, et al., J. Luminescence 2007, 127, 707) 介绍方法合成得到 [Er(tta)₃terpy] (terpy = 三联吡啶)。

[0120] 以丙酮为溶剂配制溶液 A14,溶液 A14 中各溶质浓度为:OTS, 1.0×10^{-2} mol/L; PMMA, 1.0×10^{-2} mol/L; [Er(tta)₃terpy], 1.0×10^{-3} mol/L; 配制浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的非离子表面活性剂 Triton X-100 的水溶液 B14。在 10℃ 及搅拌条件下,将溶液 A14 加入溶液 B14 中,使两者体积比 1 : 1,制得以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的,基于 [Er(tta)₃terpy] 的荧光纳米粒子的溶胶,记为

溶胶 C14。

[0121] 按照实施例 1 的方法,以溶胶 C14 替代实施例 1 所述的溶胶 C1,制得表面具有可供接枝反应的氨基活性基团的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 E14。

[0122] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 E14 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 50 ~ 100nm,平均粒径为 70nm。荧光光谱测试结果表明,在波长为 355nm 的光激发下,上述制备的荧光纳米粒子具有良好近红外发光性能,其近红外发射主峰位于 1530nm。

[0123] 实施例 15:以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Yb}(\text{hfac})_3\text{PBA}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0124] 按文献 (J. A. Weinstein, et al., Dalton Trans., 2007, 1484-1491 ;Y. Hasegawa, J. Phys. Chem. 1996, 100, 10201) 介绍方法合成得到 $[\text{Yb}(\text{hfac})_3\text{PBA}]$ ($\text{hfac} = 1, 1, 1, 5, 5, 5$ -六氟-戊烷-2,4-二酮负离子, $\text{PBA} = 1$ -(9-亚甲基-蒎)-2-(2-吡啶)苯并咪唑)。

[0125] 以丙酮为溶剂配制溶液 A15,溶液 A15 中各溶质浓度为:OTS, $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$;甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物, $5.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$; $[\text{Yb}(\text{hfac})_3\text{PBA}]$, $2.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 。以溶液 A15 替代实施例 1 的溶液 A1,其他条件同实施例 1,制得以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的,基于 $[\text{Yb}(\text{hfac})_3\text{PBA}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C15。

[0126] 按照实施例 1 的方法,以溶胶 C15 替代实施例 1 所述的溶胶 C1,制得表面表面具有可供接枝反应的氨基活性基团的所述荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 E15。

[0127] TEM 结果表明,上述制备的溶胶 E15 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 60 ~ 120nm,平均粒径为 80nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 OTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Yb 的摩尔比为 0.5,纳米粒子中疏水高分子甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物与 Yb 离子的摩尔比为 0.1,有机硅聚合物的质量百分数含量为 40%。该荧光光谱测试结果表明,在波长为 380nm 的光激发下,上述制备的溶胶 E15 中的荧光纳米粒子具有良好的近红外光发光性质,其近红外发射主峰位于 980nm。

[0128] 实施例 16:以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Nd}(\text{tta})_3\text{BPTZ}]$ 的荧光纳米粒子的制备

[0129] 按文献 (M. Ward, et al., Dalton Trans., 2003, 808-814) 介绍方法合成得到 $[\text{Nd}(\text{tta})_3\text{BPTZ}]$ ($\text{BPTZ} = 3, 6$ -双(2-吡啶基)四嗪)。

[0130] 以丙酮为溶剂配制溶液 A16,溶液 A16 中各溶质浓度为:OTS, $1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$; PMMA, $1.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$; $[\text{Nd}(\text{tta})_3\text{BPTZ}]$, $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$; 配制浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的水溶性高分子 PVA 水溶液 B16。在 20°C 及搅拌条件下,将溶液 A16 加入溶液 B16 中,使两者体积比为 1 : 50;制得以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的,基于 $[\text{Nd}(\text{tta})_3\text{BPTZ}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 C16。

[0131] 按照实施例 1 的方法,以溶胶 C16 替代实施例 1 所述的溶胶 C1,制得表面可供接枝反应的活性基团为氨基的所述荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 E16。

[0132] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 E16 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 40 ~ 80nm,平均粒径为 65nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 OTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Nd 的摩尔比

为 0.3, 纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Nd 离子的摩尔比为 0.1, 有机硅聚合物的质量百分含量为 28%。荧光光谱测试结果表明, 在波长为 337nm 的光激发下, 上述制备的溶胶中的荧光纳米粒子在 1060nm 附近具有良好近红外发光性能。

[0133] 实施例 17: 以甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 荧光纳米粒子的制备

[0134] 将 OTS、APS、甲基丙烯酸甲酯-苯乙烯共聚物以及 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 溶解于丙酮中, 配制成 OTS 浓度为 $2.3 \times 10^{-3} \text{mol/L}$, APS 浓度为 $4.6 \times 10^{-5} \text{mol/L}$, 甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物浓度为 $2.9 \times 10^{-6} \text{mol/L}$, $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 浓度为 $2.3 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的丙酮溶液, 记为溶液 F17。在室温及搅拌条件下, 将 1.5mL 溶液 F17 注射加入 7.5mL 的浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的非离子表面活性剂 Triton X-100 (记为溶液 B17) 中 (溶液 F17 与溶液 B17 体积比为 1 : 5), 搅拌 0.5hr, 将反应得到的溶胶过 Sephadex G-25 色谱柱除去丙酮与多余的表面活性剂 (以水为洗脱液), 最终得到分散在水中的稳定溶胶, 即制得表面具有可供接枝反应的氨基活性基团的, 甲基丙烯酸甲酯-苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 与 APS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 G17。

[0135] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 G17 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 10 ~ 50nm, 平均粒径为 27nm (图 1 中 a 所示)。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.6, 纳米粒子中疏水高分子甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物与 Eu 离子的摩尔比为 0.01, 有机硅聚合物的质量百分含量为 25%。荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 G17 中的荧光纳米粒子具有优良的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 412nm, 尾部延展到 470nm。

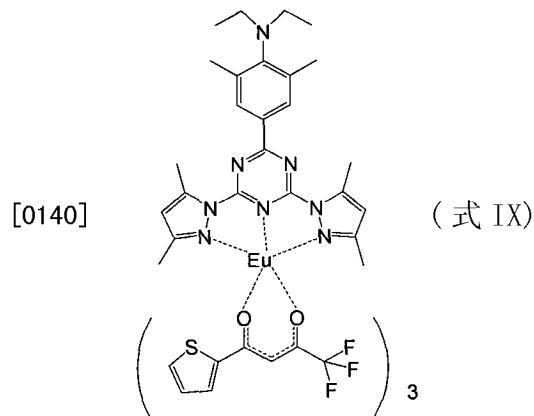
[0136] 实施例 18: 以丙烯酸酯-苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dmpbt}]$ 荧光纳米粒子的制备

[0137] 按照公开号为 CN101070318A 的专利的实施例 1 和实施例 2 的方法制备得到式 IX 所示的化合物 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dmpbt}]$ 。

[0138] 以丙酮为溶剂配制溶液 F18, 溶液 F18 中各溶质浓度为: DTS, $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$; APS 浓度为 $4.6 \times 10^{-5} \text{mol/L}$; 丙烯酸甲酯-苯乙烯共聚物, $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$; $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dmpbt}]$, $1.0 \times 10^{-6} \text{mol/L}$; 配制浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的 Tween 20 水溶液 B18。将溶液 F18 加入 B18 中, 使两者体积比为 1 : 3; 在 0°C 及搅拌条件下反应 24hr, 制得表面具有可供接枝反应的氨基活性基团的, 以丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (OTS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dmpbt}]$ 的荧光纳米粒子溶胶 G18。

[0139] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 G18 中的荧光纳米粒子尺寸分布为 20 ~ 50nm, 平均粒径为 31nm。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 DTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 DTS 与 Eu 的摩尔比为 0.5, 纳米粒子中疏水高分子丙烯酸酯-苯乙烯共聚物与 Eu 离子的摩尔比为 1, 有机硅聚合物的质量百分含量为 40%。荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 G18 中的荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 409nm, 尾部延展到

458nm。

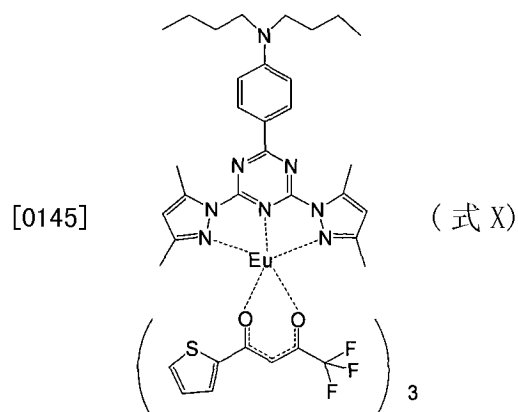


[0141] 实施例 19 :以马来酸二丁基酯 - 苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于结构如式 IV 配合物的荧光纳米粒子的制备

[0142] 按照公开号为 CN101066975A 的专利的实施例 10 的方法制备得到结构式如式 X 所示的配合物。

[0143] 以四氢呋喃为溶剂配制 F19, 溶液 F19 中各溶质浓度为 :PTS, $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$;APS, $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$;马来酸二丁基酯 - 苯乙烯共聚物, $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$;结构如式 X 的铕配合物, $2.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$;配制浓度为 $1.0 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的 Tween 40 水溶液 B19。将溶液 F19 加入 B19 中,使两者体积比为 1 : 50 ;在 80°C 及搅拌条件下反应 0.5hr, 制得表面可供接枝反应的活性基团为氨基的,马来酸二丁基酯 - 苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物 (PTS 与 APS 水解并通过硅羟基缩合形成的) 的复合物为基质的,基于结构如式 IV 的配合物的荧光纳米粒子溶胶,记为溶胶 G19。

[0144] TEM 结果表明,上述制备的溶胶 G19 中的荧光纳米粒子的尺寸分布为 $60 \sim 110 \text{nm}$, 平均粒径为 85nm 。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 PTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有机硅氧烷 PTS 与 Eu 的摩尔比为 0.2, 纳米粒子中疏水高分子马来酸二丁基酯 - 苯乙烯共聚物与 Eu 离子的摩尔比为 0.5,有机硅聚合物的质量百分数含量为 15%。上述制备的溶胶 G19 中的纳米粒子在可见光及近红外激光激发下可发出红光。



[0146] 实施例 20 :以 PMMA、有机硅氧烷、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 配合物荧光纳米粒子的制备

[0147] 以丙酮为溶剂配制溶液 F20, 溶液 F20 中各溶质浓度为 :异丁基三甲氧基硅

烷, 1.0×10^{-5} mol/L; 3-(2-氨基氨基)丙基三甲氧基硅烷, 1.0×10^{-6} mol/L; PMMA, 1.0×10^{-5} mol/L; $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$, 2.0×10^{-4} mol/L; 配制浓度为 1.0×10^{-3} mol/L 的两性离子型表面活性剂十二烷基氨基丙酸钠水溶液 B20。将溶液 F20 加入 B20 中, 使两者体积比为 1 : 1; 在 40°C 及搅拌条件下反应 6hr, 制得得表面可供接枝反应的活性基团为氨基的, PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物(异丁基三甲氧基硅烷和 3-(2-氨基氨基)丙基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的)的复合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的荧光纳米粒子溶胶, 记为溶胶 G20。

[0148] TEM 结果表明, 上述制备的溶胶 G20 中荧光纳米粒子的尺寸分布为 $40 \sim 90\text{nm}$, 平均粒径为 65nm 。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的异丁基三甲氧基硅烷, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷异丁基三甲氧基硅烷与 Eu 的摩尔比为 0.1, 纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 0.05, 有机硅聚合物的质量百分数含量为 8%。荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 G20 中的荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 402nm , 尾部延展到 450nm 。

[0149] 实施例 21: 以二氧化硅为壳层, 以包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的 PMMA-有机硅聚合物复合物的粒子为内核的壳-核结构纳米粒子的制备

[0150] 按照实施例 1 的方法制备 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的纳米粒子的溶胶 C1。

[0151] 将 0.2mL 浓度为 0.5mol/L 的四甲氧基硅烷 (TMOS) 甲醇溶液 H14 加入 10mL 上述溶胶 C1 中, 60°C 反应 2 小时, 离心分离, 将所得沉淀分散于 10mL 水中, 制得外壳为二氧化硅层, 内核为包有配合物 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物的粒子的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 J21。

[0152] 将 0.1mL 浓度为 $3.7 \times 10^{-5}\text{mol/L}$ 的 APS 甲醇溶液 D21 加入到 10mL 上述制备的溶胶 J21 中, 于 60°C 反应 1 小时, 离心分离, 将所得沉淀重新分散于水中, 制得表面具有氨基基团的, PMMA 及有机硅聚合物为内核基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的核-壳结构荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 K21。

[0153] TEM 测试结果表明, 上述制备溶胶 J21 中壳-核结构荧光纳米粒子的平均粒径为 84nm 。上述制备的溶胶 K21 中壳-核结构荧光纳米粒子的尺寸分布为 $50 \sim 100\text{nm}$, 平均粒径为 85nm 。电镜和 EDX 分析表明, 所制备纳米粒子具有厚度为 5 纳米的氧化硅壳层。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中有机硅氧烷 OTS 与 Eu 摩尔比为 0.4, 荧光纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 0.1, 有机硅聚合物的质量百分含量为 40%。

[0154] 荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 J21 和 K21 中荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 412nm , 尾部延展到 480nm 。在波长为 832nm 的近红外激光激发下, 此荧光纳米粒子可发出明亮的红光。

[0155] 实施例 22: 以二氧化硅为壳层, 以包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的 PMMA-有机硅聚合物复合物的粒子为内核的壳-核结构纳米粒子的制备

[0156] 按照实施例 8 的方法制备以 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的纳米粒子的溶胶 C8。

[0157] 将 1.0mL 浓度为 $5.0 \times 10^{-1} \text{mol/L}$ 的四乙氧基硅烷 (TEOS) 乙醇溶液 H20 加入 10mL 上述溶胶 C8 中, 80°C 反应 1 小时, 离心分离, 将沉淀重新分散于 10mL 水中, 制得外壳为二氧化硅层, 内核为包有配合物 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的 PMMA、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物的粒子的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 J22。

[0158] 将 0.1mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 的巯基丙基三甲氧基硅烷甲醇溶液 (记为溶液 D22) 加入 10mL 上述制备的溶胶 J22 中, 20°C 反应 24 小时, 离心分离, 将沉淀分散于水中, 制得表面具有巯基基团的, 以二氧化硅为壳层, PMMA 及有机硅聚合物为内核基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的核-壳结构荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 K22。

[0159] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 K22 中的壳-核结构荧光纳米粒子的尺寸分布为 $50 \sim 90 \text{nm}$, 平均粒径为 60nm 。电镜和 EDX 分析表明, 上述制备的溶胶 K22 中的纳米粒子具有平均厚度约为 20 纳米的氧化硅壳层。荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 K22 中的荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 402nm , 尾部延展到 450nm 。

[0160] 实施例 23: 以二氧化硅为壳层, 以包有 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dmpbt}]$ 的丙烯酸酯苯乙烯共聚物-有机硅聚合物复合物的粒子为内核的壳-核结构纳米粒子的制备

[0161] 按照实施例 9 的方法制备以聚丙烯酸乙酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dmpbt}]$ 的纳米粒子的溶胶 C9。

[0162] 将 1.0mL 浓度为 $5.0 \times 10^{-1} \text{mol/L}$ 的 TEOS 乙醇溶液 H20 加入上述 10mL 溶胶 C9 中, 40°C 反应 6 小时, 离心分离, 将所得沉淀分散于 10mL 水中, 制得外壳为二氧化硅层, 内核为包有配合物 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的聚丙烯酸乙酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物的粒子的荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 J23。

[0163] 将 0.1mL 浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{mol/L}$ 的 3-(2-氨基乙基氨基)丙基三甲氧基硅烷甲醇溶液 D23 加入 10mL 溶胶 J23 中, 40°C 反应 6 小时, 离心分离, 将所得沉淀分散于水中, 制得表面具有氨基基团的, 以二氧化硅为壳层, 聚丙烯酸乙酯-有机硅聚合物复合物为内核基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{fod})_3\text{dpbt}]$ 的核-壳结构荧光纳米粒子的溶胶, 记为溶胶 K23。

[0164] TEM 测试结果表明, 上述制备的溶胶 K23 中的壳-核结构荧光纳米粒子的尺寸分布为 $35 \sim 65 \text{nm}$, 平均粒径为 50nm 。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥, 以丙酮萃取其介质中的 OTS, 气相色谱及 ICP 分析结果表明, 纳米粒子中 OTS 与 Eu 的摩尔比为 0.3, 纳米粒子中疏水高分子 PMMA 与 Eu 离子的摩尔比为 2, 有机硅聚合物的质量百分含量为 10%。电镜和 EDX 分析表明, 上述制备的溶胶 K21 中的纳米粒子具有平均厚度约为 7 纳米的氧化硅壳层。荧光光谱测试结果表明, 上述制备的溶胶 K23 中的荧光纳米粒子具有良好的可见光激发发光性能, 其在可见区的激发峰位于 409nm , 尾部延展到 460nm 。

[0165] 实施例 24: 以二氧化硅为壳层, 以包有 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 的甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物-有机硅聚合物复合物的粒子为内核的壳-核结构纳米粒子的制备

[0166] 按照实施例 12 的方法制备甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的, 基于 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 的荧光纳米粒子的溶胶 C12。

[0167] 将 0.1mL 浓度为 $5.0 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的 TMOS 乙醇溶液 H24 加入 10mL 上述溶胶 C12 中, 0°C 下反应 24 小时, 离心分离, 将所得沉淀重新分散于 10mL 纯水中, 制得外壳为二氧化硅层, 内核为包有配合物 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{bpt}]$ 的甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物、有机硅氧烷和有

机硅聚合物的复合物的粒子的荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 J24。

[0168] 将 0.1mL 浓度为 1.0×10^{-4} mol/L 的羧乙基硅三醇纳的水溶液 D24 加入 10mL 溶胶 J24 中,0°C 反应 24 小时,离心分离,将所得沉淀分散于水中,制得表面具有羧基基团的,以二氧化硅为壳层,甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物-有机硅聚合物为内核基质的,基于 [Eu(tta)₃bpt] 的核-壳结构荧光纳米粒子的溶胶记为溶胶 K24。

[0169] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 J24 中荧光纳米粒子平均粒径为 12nm。上述制备的溶胶 K24 中荧光纳米粒子尺寸分布为 10 ~ 27nm,平均粒径为 12nm。由于羧乙基硅三醇纳的加入量远小于溶胶 J24 中荧光纳米粒子的总质量,因此电镜表征实验测得的 J24 溶胶和 K24 溶胶中纳米粒子的尺寸非常接近。电镜和 EDS 分析表明,上述制备的溶胶 K24 中的纳米粒子具有平均厚度约为 1 纳米的氧化硅壳层。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 PTS,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有有机硅氧烷 PTS 与 Eu 的摩尔比为 0.5,纳米粒子中疏水高分子甲基丙烯酸甲酯苯乙烯共聚物与 Eu 离子的摩尔比为 1.0,有机硅聚合物的质量百分含量为 25%。

[0170] 荧光光谱测试表明,上述制备的溶胶 J24 和 K24 中的荧光纳米粒子具有优异的可见光激发发光性能,其在可见区的激发峰位于 422nm,尾部延展到 475nm。

[0171] 实施例 25:以二氧化硅为壳层,以包有 [Eu(fod)₃bpt] 的聚马来酸二丁基酯-有机硅聚合物复合物的粒子为内核的壳-核结构纳米粒子的制备

[0172] 按照实施例 11 的方法制备以聚马来酸二丁基酯、有机硅氧烷和有机硅聚合物的复合物为基质的,基于 [Eu(fod)₃bpt] 的荧光纳米粒子溶胶 C11。

[0173] 将 1.0mL 浓度为 5.0×10^{-1} mol/L 的 TMOS 乙醇溶液 H25 加入 10mL 上述溶胶 C11 中,80°C 反应 1 小时,离心分离,将所得沉淀重新分散于 10mL 纯水中,制得表面具有羟基基团的,以二氧化硅为壳层,聚马来酸二丁基酯-有机硅聚合物为内核基质的,基于 [Eu(fod)₃bpt] 的核-壳结构荧光纳米粒子的溶胶,记为溶胶 J25。

[0174] TEM 测试结果表明,上述制备的溶胶 J25 中荧光纳米粒子尺寸分布为 150 ~ 220nm,平均粒径为 200nm。电镜和 EDX 分析表明,上述制备的溶胶 J25 中的纳米粒子具有平均厚度约为 10 纳米的氧化硅壳层。将所制备的荧光纳米粒子离心分离、以水洗涤、干燥,以丙酮萃取其介质中的 1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷,气相色谱及 ICP 分析结果表明,纳米粒子中有有机硅氧烷 1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷与 Eu 离子的摩尔比为 1,纳米粒子中聚马来酸二丁基酯与 Eu 的摩尔比为 0.1。有机硅聚合物(1H,1H,2H,2H-氟代辛基三甲氧基硅烷水解并通过硅羟基缩合形成的网状聚合物)的质量百分含量为 40%。荧光测试表明,上述制备的溶胶 J25 中的荧光纳米粒子具有优良的可见光激发发光性能,在可见光激发下可发出明亮的红光。

[0175] 实施例 26:纳米荧光生物探针(荧光纳米粒子标记山羊抗人 IgG)的合成及其效果验证

[0176] 以实施例 1 所制备的荧光纳米粒子为标记粒子标记山羊抗人 IgG。具体方法如下所述:

[0177] 将 0.1mL 质量百分浓度为 1%的戊二醛水溶液加入 2mL 实施例 1 制备的荧光纳米粒子溶胶 E1 中,室温搅拌 1hr,离心分离,将沉淀用 Tris 缓冲溶液(pH = 7.5,50mM)洗涤两次后分散于 2mL 的 Tris 缓冲溶液中,制得经戊二醛活化的荧光纳米粒子的溶胶。向此溶胶

中加入 20 μ L 浓度为 70 ~ 80 μ g/mL 的由 FITC 标记的山羊抗人 IgG (记为 IgG-FITC, 室温反应 2hr, 再加入 2mg 牛血清蛋白 (BSA) 并继续反应 2h, 然后加入 1mg NaBH_4 反应 1hr。将得到的反应液离心分离, 沉淀用 Tris 缓冲溶液洗涤 2 次后分散于含有牛血清蛋白 (质量百分含量为 0.1%) 和 NaN_3 (质量百分含量为 0.01%) 的 Tris 缓冲溶液中, 即得到纳米荧光生物探针 (荧光纳米粒子标记山羊抗人 IgG) 胶体。

[0178] 荧光光谱测试结果表明, 接于纳米粒子表面的 IgG-FITC 中的 FITC 的荧光可被检测到, 其激发谱 ($\lambda_{em} = 530\text{nm}$) 和发射谱 ($\lambda_{ex} = 470\text{nm}$) 如图 4 所示。该实验结果表明山羊抗人 IgG 已被共价键合于所述的荧光纳米粒子表面, 构成了荧光免疫分析纳米探针。纳米探针中 FITC 与 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的激发谱与发射谱如图 4 所示, Eu 离子荧光发射峰尖锐且具有很大的斯托克斯位移, 而 FITC 荧光发射峰很宽且激发谱与发射谱重叠较大, Eu 离子荧光峰高约为 FITC 荧光峰高的 80 倍, 说明在发光性能上, 本发明的荧光纳米粒子探针远优于传统有机染料探针。图 4 中, 左图为荧光纳米粒子与经有机荧光染料 FITC 标记的山羊抗人 IgG 结合后获得的纳米粒子探针中 $[\text{Eu}(\text{tta})_3\text{dpbt}]$ 的激发谱 (图中 A) ($\lambda_{em} = 614\text{nm}$) 与发射谱 (图中 B) ($\lambda_{ex} = 412\text{nm}$); 右图为 FITC 的激发谱 (图中 A) ($\lambda_{em} = 530\text{nm}$) 与发射谱 (图中 B) ($\lambda_{ex} = 470\text{nm}$)。

[0179] 实施例 27: 纳米荧光生物探针 (荧光纳米粒子标记山羊抗人 IgG) 的合成

[0180] 以实施例 2 所制备的荧光纳米粒子为标记物标记山羊抗人 IgG。具体方法如下所述:

[0181] 将实施例 2 制备的荧光纳米粒子溶胶 C1 中在 40,000g 下离心, 所得沉淀重新分散于水中。此过程重复两次以除去过量的表面活性剂 CTAB; 将荧光纳米颗粒沉淀分散于 8mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液中 ($\text{pH} = 7.8, 10\text{mmol L}^{-1}$), 然后与 0.1mL 浓度为 10mg/mL 的山羊抗人 IgG 溶液混合, 并于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温摇动 2 小时, 使得山羊抗人 IgG 吸附于荧光纳米粒子表面形成山羊抗人 IgG 与荧光纳米粒子的复合物 (记为抗 IgG \odot LNP)。离心分离, 沉淀用 Tris-HCl 缓冲溶液洗涤两次, 将所得到的抗 IgG \odot LNP 分散于 8mL Tris-HCl 缓冲溶液中待用。该生物探针的胶体溶液在 420nm 的光激发下可发出 Eu 离子的特征辐射, 最强发射波长为 614nm。

[0182] 实施例 28: 荧光纳米粒子标记山羊抗人 IgG 的用于人 IgG 的免疫检测的效果验证

[0183] 将玻璃片放入浓硫酸中浸泡 1 天, 去离子水冲洗后放入饱和氢氧化钠水溶液中浸泡 1 天, 再次用去离子水冲洗干净, 依次放入丙酮和乙醇中超声处理 15min, 用乙醇冲洗后氮气吹干, 获得清洁的玻璃基片。将此清洁基片放入浓度为 10mmol/L 的 APS 甲醇溶液中浸泡 12h, 取出后用乙醇冲洗、氮气吹干, 得到表面氨基硅烷化的基片。将此表面氨基硅烷化的基片放入质量百分浓度为 5% 的戊二醛水溶液中, 室温反应 12h, 取出后用 PBST 缓冲溶液 (50mM, $\text{pH} = 7.4, \text{tween } 20.05\%$) 反复冲洗, 用去离子水冲洗干净, 氮气吹干, 制得表面醛基化的基片。将含有 1.0mg/mL 人 IgG 的 PBS 缓冲溶液 (50mM, $\text{pH} = 7.4$) 点样在上述制备的表面醛基化的基片上, 放入湿盒中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2h。然后, 用 PBS 缓冲溶液 (50mM, $\text{pH} = 7.4$) 冲洗该基片三次后, 再将其放入含质量百分浓度为 1% 的 BSA 的 PBS 缓冲溶液 (50mM, $\text{pH} = 7.4$) 中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2h。用 PBS 缓冲溶液 (50mM, $\text{pH} = 7.4$) 冲洗基片三次后, 将其放入实施例 26 所制备的荧光免疫分析纳米探针的胶体溶液中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1h。将纳米探针识别后的样品取出后用 Tris-Tween20 缓冲溶液 (含质量百分含量为 0.05% 的 Tween20, pH 为 7.5, 50mM 的 Tris 溶液) 冲洗三次, 用去离子水反复冲洗, 氮气吹干。

[0184] 将上述反应后的基片在荧光显微镜下观察,结果表明,在波长为 406nm 的光激发下,可以看到经人 IgG 点样后的位置上发出的明亮的红光,表明所合成的荧光免疫分析纳米探针对人 IgG 有很好的特异性识别功能。

[0185] 实施例 29:采用抗 IgG@LNP 作为荧光探针,以固相夹层荧光免疫分析法检测人 IgG。

[0186] 将山羊抗人 IgG 分散于 pH = 9.16 的碳酸盐缓冲溶液中,使其浓度为 $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ 。将此山羊抗人 IgG 溶液加入酶标板中,每孔加入量为 $100 \mu\text{L}$ 。让此酶标板在 4°C 保温过夜。倒出山羊抗人 IgG 溶液后,用 Tris-HCl-Tween 缓冲溶液 ($\text{pH} = 7.8, 10\text{mmolL}^{-1}$, 含 0.5% Tween-20) 清洗酶标板 3 次。之后,将 BSA (1.0%) 的 Tris-HCl-Tween 缓冲溶液加入上述酶标板孔中,每孔加入量为 $150 \mu\text{L}$,将此酶标板放在恒温混匀仪中于 25°C 保温 1.5h。倒出 BSA 溶液,用 Tris-HCl-Tween 缓冲溶液清洗酶标板 3 次,在不同的孔中分别加入浓度为 0.1ng/mL 至 $10 \mu\text{g/mL}$ 的人 IgG 溶液,并于 37°C 温育 1.5h。倒出人 IgG 溶液,用 Tris-HCl-Tween 缓冲溶液清洗酶标板 3 次。加入例 27 制备的荧光探针抗 IgG@LNP,并于 37°C 温育 1.5h。最后将过量的荧光探针溶液倒出,并用 Tris-HCl-Tween 缓冲溶液清洗酶标板 3 次。

[0187] 以波长为 415nm 的光为激发光,采用多功能酶标仪测量酶标板各孔的荧光强度,结果表明,当人 IgG 浓度在 $5\text{ng/mL} \sim 5 \mu\text{g/mL}$ 范围内时,所测得荧光强度随人 IgG 浓度线性增加 (图 5)。此荧光免疫荧光分析的检测限为 15ng/mL 。

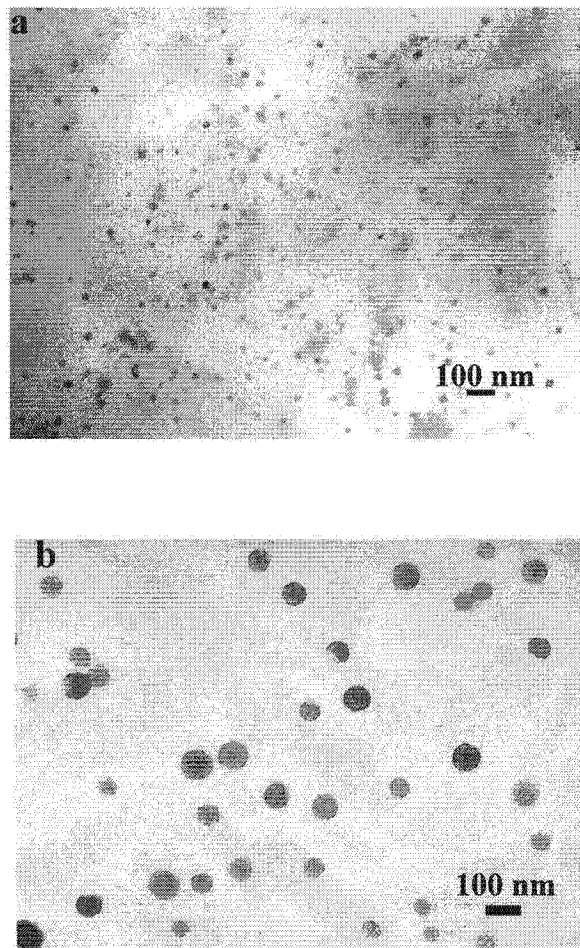


图 1

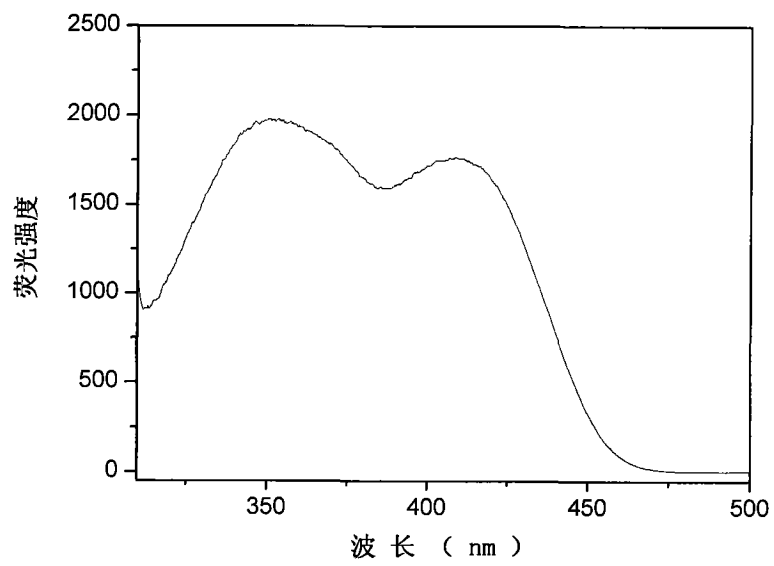


图 2

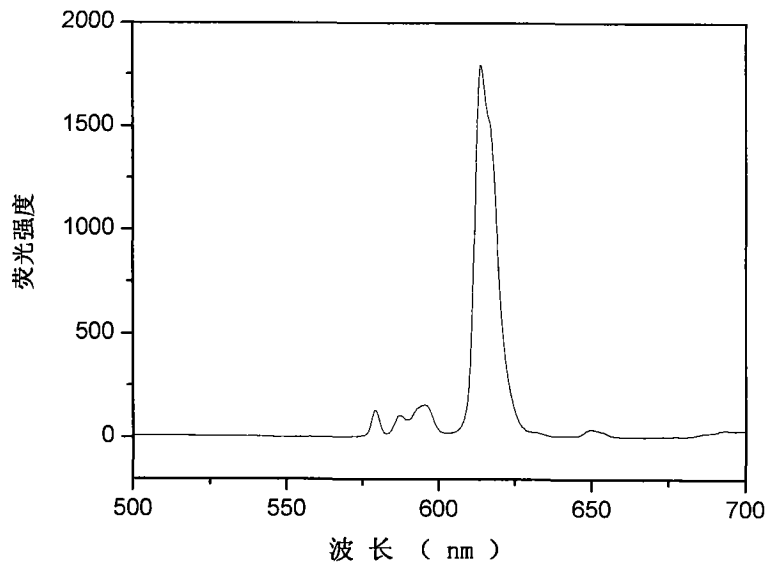


图 3

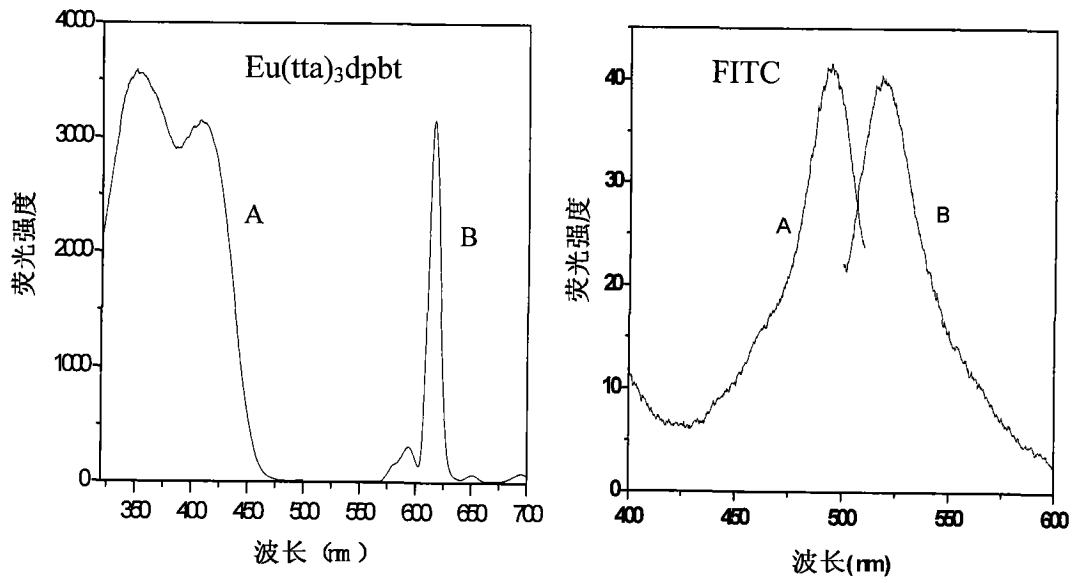


图 4

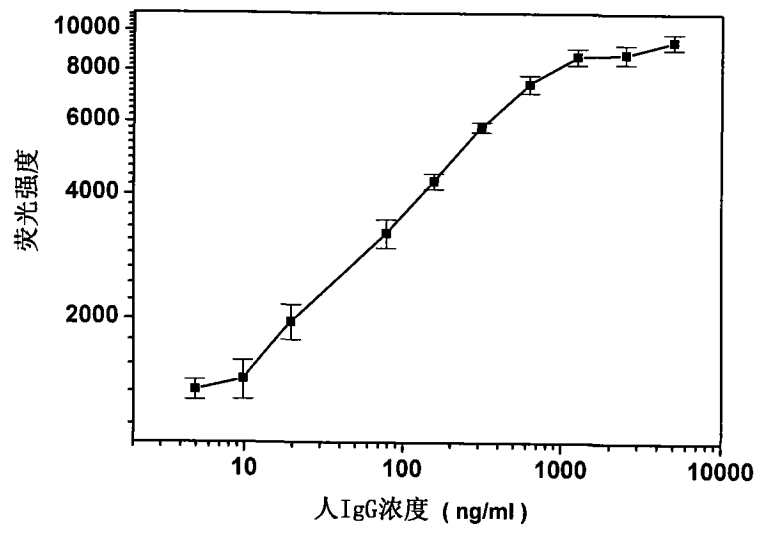


图 5

专利名称(译)	荧光纳米粒子及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN101701151A	公开(公告)日	2010-05-05
申请号	CN200910203407.3	申请日	2009-05-18
[标]申请(专利权)人(译)	北京大学		
申请(专利权)人(译)	北京大学		
当前申请(专利权)人(译)	北京大学		
[标]发明人	王远 符小艺 邵光胜		
发明人	王远 符小艺 邵光胜		
IPC分类号	C09K11/02 C09K11/06 C08L33/10 C08L33/08 C08L25/06 C08L25/14 C08L35/02 C08L83/04 C08J3/07 G01N33/533		
代理人(译)	关畅		
优先权	200810112219.5 2008-05-21 CN		
其他公开文献	CN101701151B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一类荧光纳米粒子及其制备方法和应用。该荧光纳米粒子包括基质材料和分散在所述基质材料中的荧光染料；所述基质材料为主链为碳氢链的疏水聚合物、有机硅氧烷和有机硅聚合物形成的复合物；所述荧光染料为具有光致发光性能的稀土配合物。该荧光纳米粒子的制备方法是将稀土配合物、疏水聚合物与化合物RSi(OR')₃溶解于能与水混溶的有机溶剂，将其加入含表面活性剂的水溶液中，利用沉淀及水解缩合反应，形成纳米粒子。本发明的荧光纳米粒子具有优异的发光性能、稳定性好、可具有氧化硅壳层和表面官能团，可用于生物分子的键合，基于此类荧光纳米粒子的生物探针，在高灵敏荧光免疫分析以及成像等方面具有广阔应用前景。

