

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580050209.8

[51] Int. Cl.

G01N 33/58 (2006.01)
G01N 33/533 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01)
C07C 323/25 (2006.01)
B82B 1/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 6 月 25 日

[11] 公开号 CN 101208605A

[22] 申请日 2005.5.4

[21] 申请号 200580050209.8

[86] 国际申请 PCT/SG2005/000138 2005.5.4

[87] 国际公布 WO2006/118543 英 2006.11.9

[85] 进入国家阶段日期 2007.12.20

[71] 申请人 新加坡科技研究局

地址 新加坡新加坡市

[72] 发明人 韩明勇 王夫轲

[74] 专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司
代理人 周建秋 王凤桐

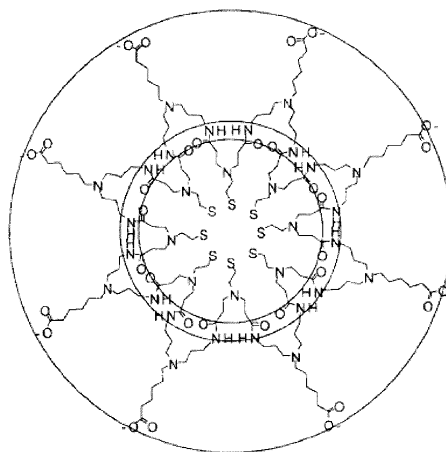
权利要求书 17 页 说明书 30 页 附图 6 页

[54] 发明名称

含有低分子量涂布剂的新型水溶性纳米晶及其制备方法

[57] 摘要

本发明涉及一种水溶性纳米晶，该水溶性纳米晶具有纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系 (PSE) 的第 II 主族、VIIA 主族、VIIA 副族、IB 副族、IIB 副族、III 主族或 IV 主族元素中的至少一种金属 M1，选自 PSE 的第 V 主族或 VI 主族中的至少一种元素 A；附着到纳米晶核表面的封闭剂，所述封闭剂具有至少两个偶合基团；以及含有具有至少两个与涂布剂共价偶合的偶合部分和至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团的低分子量涂布剂的第二层。



1、一种水溶性纳米晶，该纳米晶包括：

纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系的第 Ib 副族、IIb 副族、IVb 副族、Vb 副族、VIb 副族、VIIb 副族、VIIIb 副族、II 主族、III 主族或 IV 主族元素中的至少一种金属 M1，并且所述纳米晶还包括

第一层，该第一层含有附着到纳米晶核表面的封闭剂，所述封闭剂具有至少两个偶合基团，

和第二层，该第二层含有低分子量涂布剂，该涂布剂具有至少两个与该涂布剂共价偶合的偶合基团，和至少一个使该第二层具有水溶性的水溶性基团。

2、一种水溶性纳米晶，该纳米晶包括：

纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系的第 II 主族、VIIA 副族、VIII A 副族、IB 副族、IIB 副族、III 主族或 IV 主族元素中的至少一种金属 M1，以及选自元素周期系的第 V 主族或 VI 主族元素中的至少一种元素 A，并且所述纳米晶还包括

第一层，该第一层含有附着到纳米晶核表面的封闭剂，所述封闭剂具有至少两个偶合基团，

和第二层，该第二层含有低分子量涂布剂，该涂布剂具有至少两个与该涂布剂共价偶合的偶合部分，和至少一个使该第二层具有水溶性的水溶性基团。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的纳米晶，其中，所述封闭剂含有对纳米晶核表面具有亲合性的端基。

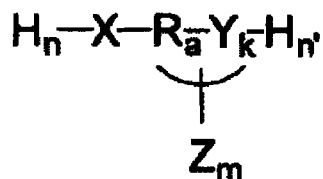
4、根据权利要求 3 所述的纳米晶，其中，所述端基选自巯基、氨基、

氧化胺和膦基组成的组中。

5、根据权利要求 1-3 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂的至少两个偶合基团通过疏水区域与端基隔开。

6、根据权利要求4所述的纳米晶，其中，所述至少两个偶合基团中的每一个均含有独立地选自氨基、羟基、羰基、羧基、腈、硝基、异氰酸酯、环氧化物、酸酐和卤素基团中的官能团。

7、根据权利要求 1-6 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂为具有式 (I) 的分子：



其中，

X 为选自 S、N、P 或 O=P 的端基，

R_n 为含有至少 2 个主链碳原子的部分,

Y 选自 N、C、-COO-或-CH₂O-,

Z 为含有极性官能团的部分,

k 为 0 或 1,

m 为 1-3 的整数,

n 为 0-3 的整数, 且

n' 为 0-2 的整数, 其中, 选择 n' 是为了满足 Y 的化合价的需要。

8、根据权利要求7所述的纳米晶，其中，所述R_a部分含有2-50个主链碳原子。

9、根据权利要求 7 或 8 所述的纳米晶，其中，所述 R_a 选自由烷基、烯基、烷氧基和芳基部分组成的组中。

10、根据权利要求 9 所述的纳米晶，其中，各所述 R_a 为独立地选自由乙基、丙基、丁基、戊基、环戊基、环己基、环辛基、乙氧基和苯甲基组成的组中的部分。

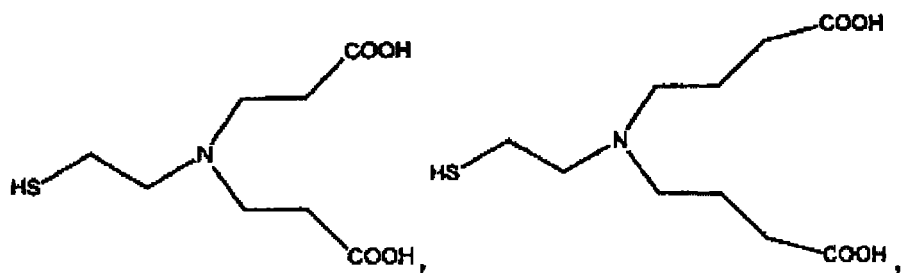
11、根据权利要求 7-10 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述 Z 为选自由氨基、羟基、巯基、羧基、腈、硝基、异氰酸酯和卤素基团组成的组中的官能团。

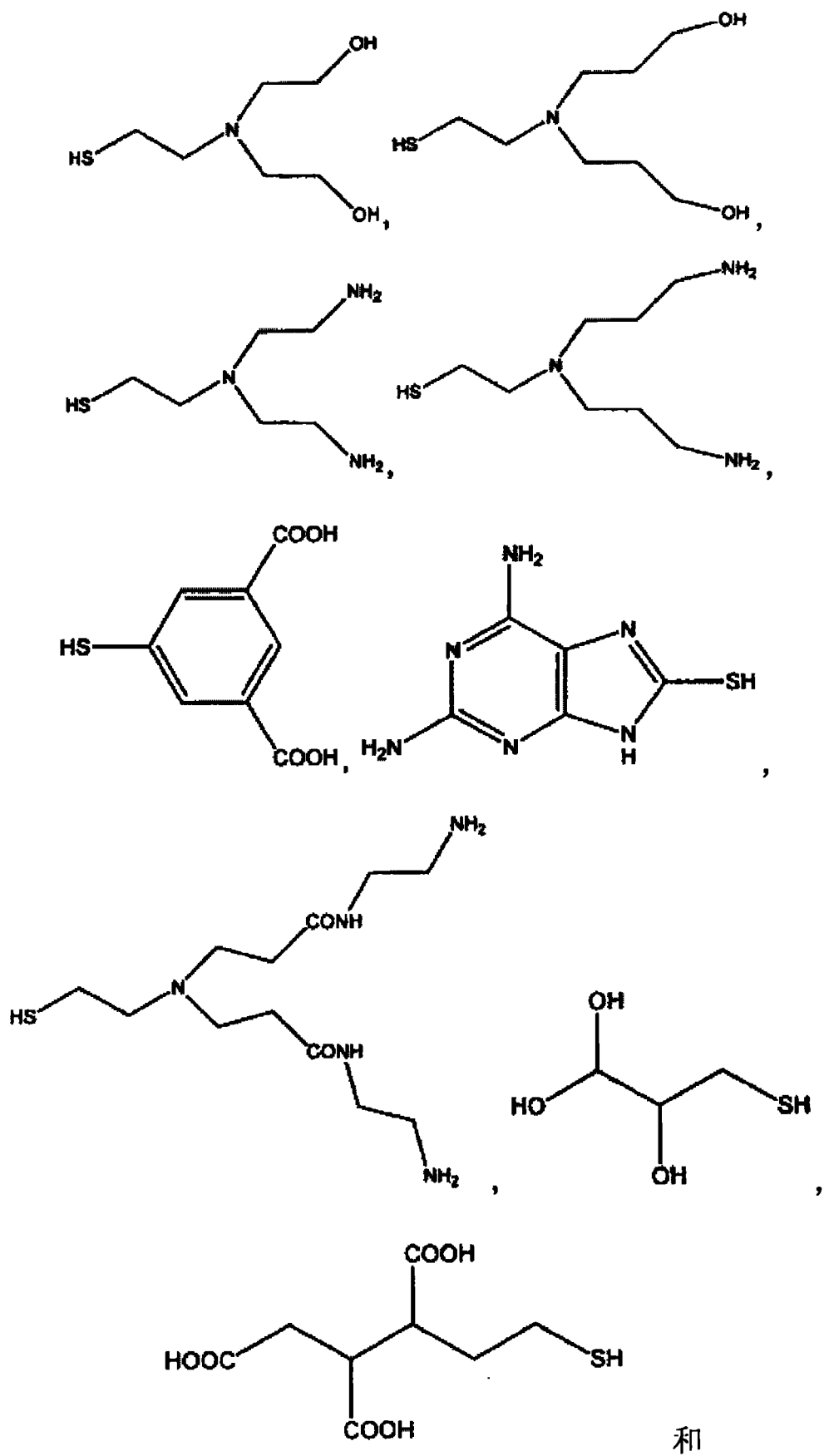
12、根据权利要求 11 所述的纳米晶，其中，所述 Z 含有 2-50 个主链原子。

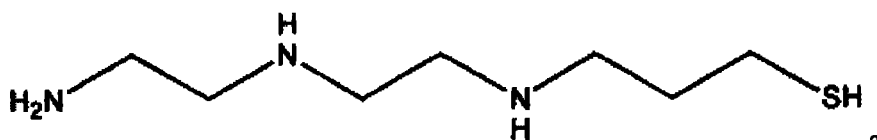
13、根据权利要求 12 所述的纳米晶，其中，所述 Z 还含有酰胺或酯键。

14、根据权利要求 1-13 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂含有两个相同的偶合基团。

15、根据权利要求 1-14 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂为选自由以下化合物组成的组中的化合物：

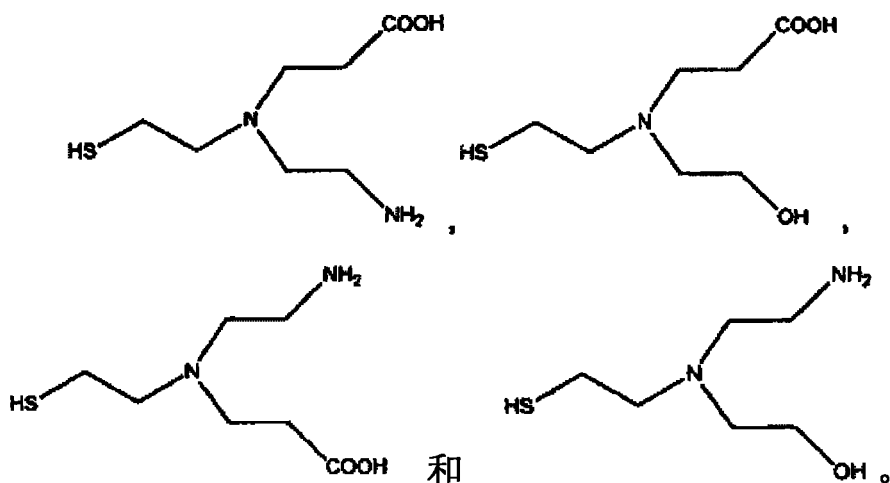






16、根据权利要求 1-13 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂含有两个不同的偶合基团。

17、根据权利要求 16 所述的纳米晶，其中，所述封闭剂选自由以下化合物组成的组中：

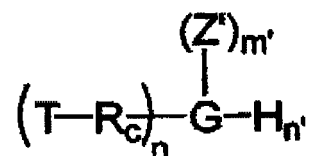


18、根据权利要求 1-5 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述封闭剂的偶合基团含有可聚合的不饱和碳-碳键。

19、根据权利要求 18 所述的纳米晶，其中，所述封闭剂选自由 ω -硫羟基封端的甲基丙烯酸甲酯、2-丁烯硫醇、(E)-2-丁烯-1-硫醇、硫代醋酸 S-(E)-2-丁烯酯、硫代醋酸 S-3-甲基丁烯酯、2-喹啉甲硫醇和硫代醋酸 S-2-喹啉甲酯组成的组中。

20、根据前述权利要求中任意一项所述的纳米晶，其中，所述第二层中

所含的所述涂布剂含有具有通式 (II) 的水溶性分子：



其中，

T 为亲水性部分，

R_c 为含有至少 2 个主链碳原子的部分，

G 选自 N、P 或 C，或 Si，

Z' 为偶合部分，

m' 为 2 或 3，

n 为 1 或 2，且

n' 为 0 或 1，其中选择 n' 是为了满足 G 的化合价的需要。

21、根据权利要求 20 所述的纳米晶，其中，T 含有选自由羧基、氨基、硝基、羟基、羰基、以及它们的衍生物组成的组中的官能团。

22、根据权利要求 20 或 21 所述的纳米晶，其中，R_c 含有 3-6 个主链碳原子。

23、根据权利要求 20-22 中任意一项所述的纳米晶，其中，Z' 含有至少 6 个主链碳原子。

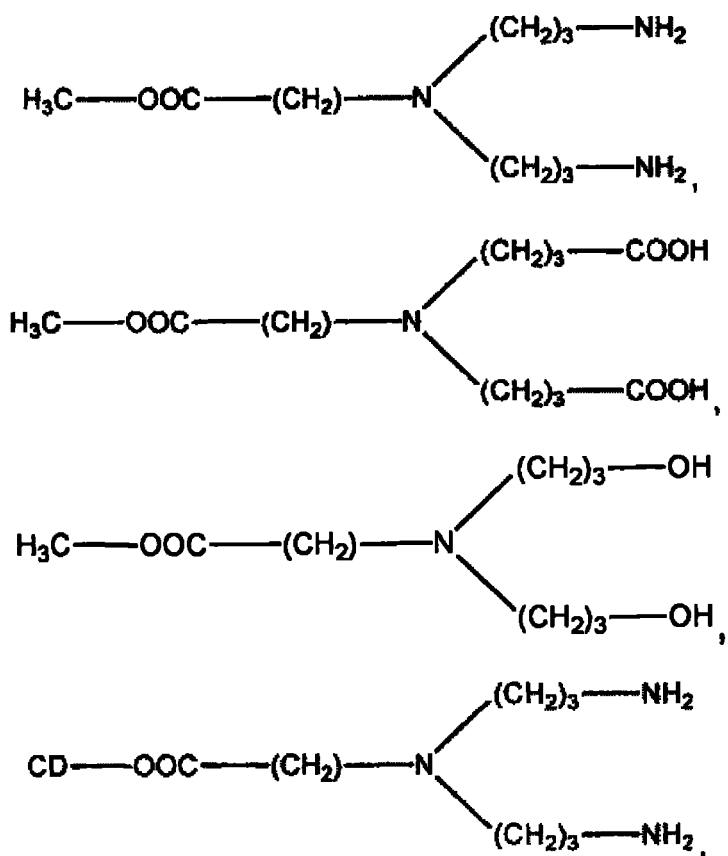
24、根据权利要求 23 所述的纳米晶，其中，Z' 还含有选自由氨基、羟基、羰基、羧基、腈、硝基、异氰酸酯、环氧化物、酸酐和卤素基团组成的组中的至少一个官能团。

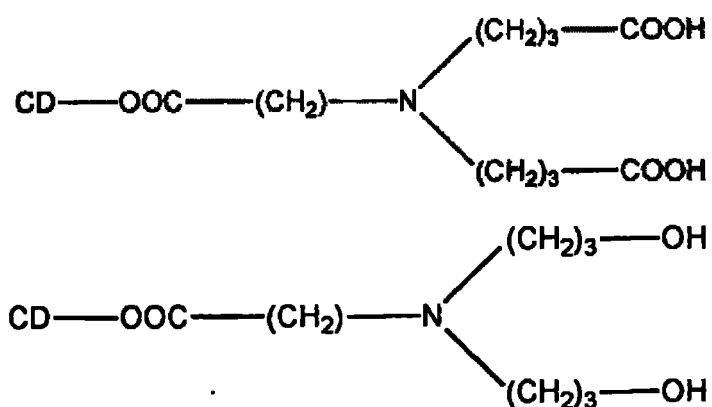
25、根据权利要求 24 所述的纳米晶，其中，各所述偶合部分 Z'是相同的。

26、根据权利要求 25 所述的纳米晶，其中，所述涂布剂选自由二胺、二羧酸和二醇组成的组中。

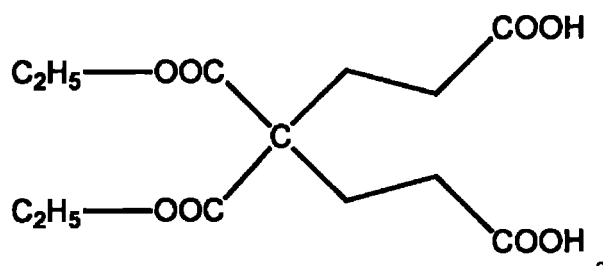
27、根据权利要求 26 所述的纳米晶，其中，所述二胺选自 2,4-二氨基丁酸或 2,3-二氨基丙酸。

28、根据权利要求 1-26 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述涂布剂选自由以下化合物组成的组中：



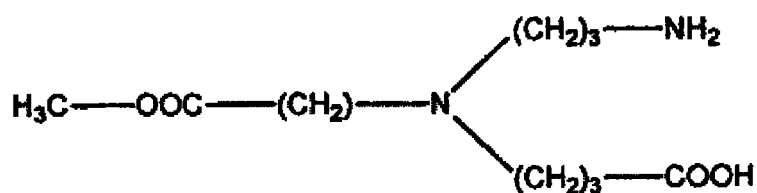


其中，CD 为环糊精，以及

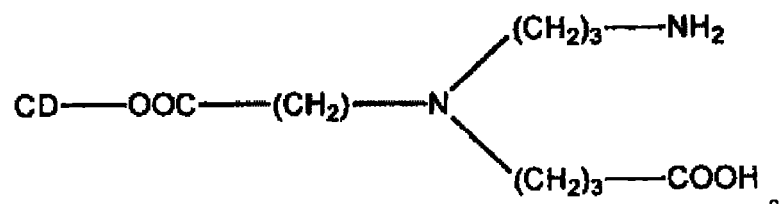


29、根据权利要求 24 所述的纳米晶，其中，各所述偶合部分 Z'是不同的。

30、根据权利要求 29 所述的纳米晶，其中，所述涂布剂选自由以下化合物组成的组中：



和



31、根据权利要求 18 或 19 所述的纳米晶，其中，所述涂布剂含有二烯。

32、根据权利要求 31 所述的纳米晶，其中，所述二烯选自由 1,4-丁二烯、1,5-戊二烯和 1,6-己二烯组成的组中。

33、根据权利要求 2-32 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述纳米晶是核-壳纳米晶。

34、根据权利要求 33 所述的纳米晶，其中，所述金属选自由 Zn、Cd、Hg、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Ag 和 Au 组成的组中。

35、根据权利要求 33 或 34 所述的纳米晶，其中，所述元素 A 选自由 S、Se 和 Te 组成的组中。

36、根据权利要求 35 所述的纳米晶，其中，所述纳米晶为选自由 CdS、CdSe、MgTe、CdTe、ZnS、ZnSe、ZnTe、HgS、HgSe 和 HgTe 组成的组中的核壳纳米晶。

37、根据权利要求 2-36 中任意一项所述的纳米晶，其中，所述纳米晶含有具有 $M1_{1-x}M2_xA$ 组成的均质三元合金，其中，

a) 当 A 表示元素周期系的第 VI 主族的元素时，M1 和 M2 独立地选自元素周期系的第 IIb-VIB 副族、IIIB-VB 副族、IVB 副族、II 主族或 III 主族的元素，或者

b) 当 A 表示元素周期系的第 V 主族的元素时，M1 和 M2 都选自元素周期系的第 III 主族的元素，

所述均质三元合金通过包括以下步骤的方法获得：

i)通过以适合于产生纳米晶的形式将含有元素 M1 的反应混合物加热至合适的温度 T1, 在此温度下以适合产生纳米晶的形式添加元素 A, 在适合形成二元纳米晶 M1A 的温度下将反应混合物加热足够的时间, 然后使反应混合物冷却, 来形成所述二元纳米晶 M1A, 以及

ii) 不沉淀或分离所形成的二元纳米晶 M1A, 再加热该反应混合物至合适的温度 T2, 在此温度下以适合于产生纳米晶的形式向反应混合物中添加足够量的元素 M2, 然后在适合于形成所述三元纳米晶 $M1_{1-x}M2_xA$ 的温度下将反应混合物加热足够的时间, 接着使反应混合物冷却至室温并分离该三元纳米晶 $M1_{1-x}M2_xA$ 。

38、根据权利要求 37 所述的纳米晶, 其中, $0.001 < x < 0.999$ 。

39、根据权利要求 37 或 38 所述的纳米晶, 其中, $0.01 < x < 0.99$ 。

40、根据权利要求 37-39 中任意一项所述的纳米晶, 其中, $0.5 < x < 0.95$ 。

41、根据权利要求 37-40 中任意一项所述的纳米晶, 其中, 所述元素 M1 和 M2 独立地选自由 Zn、Cd、Hg、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Ag 和 Au 组成的组中。

42、根据权利要求 37-41 中任意一项所述的纳米晶, 其中, 所述元素 A 选自由 S、Se 和 Te 组成的组中。

43、根据权利要求 42 所述的纳米晶, 其中, 所述纳米晶具有 $Zn_xCd_{1-x}Se$ 或 $Zn_xCd_{1-x}S$ 的组成。

44、根据前述权利要求中任意一项所述的纳米晶，其中，该纳米晶还含有对被共轭到聚合物壳的第二层的给定分析物具有结合亲合性的分子。

45、根据权利要求 44 所述的纳米晶，其中，对分析物具有结合亲合性的分子是蛋白质、肽、具有免疫半抗原特征的化合物、核酸、碳水化合物或有机分子。

46、根据权利要求 44 或 45 所述的纳米晶，其中，所述纳米晶通过共价链接剂被共轭到对分析物具有结合亲合性的分子上。

47、前述权利要求中任意一项所述的纳米晶用于检测分析物的用途。

48、一种制备水溶性纳米晶的方法，该方法包括：

提供纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系的第 Ib 副族、IIb 副族、IVb 副族、Vb 副族、VIb 副族、VIIb 副族、VIIIb 副族、II 主族、III 主族或 IV 主族元素中的至少一种金属 M1，

使所述纳米晶核与封闭剂反应，由此将所述封闭剂附着到纳米晶核的表面并形成包围所述纳米晶核的第一层，

以及，

将所述封闭剂与低分子量涂布剂偶合，由此形成共价偶合到所述第一层的第二层并完成包围所述纳米晶核的水溶性壳的形成，所述低分子量涂布剂具有至少两个对所述封闭剂的至少两个偶合基团具有反应性的偶合部分，和至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团。

49、一种制备水溶性纳米晶的方法，该方法包括：

提供纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系的第 IIB-VIB 副族、

IIIB-VB 副族、IVB 副族、II 主族或 III 主族元素组成的组中的至少一种金属 M1, 以及选自元素周期系的第 V 主族或 VI 主族的元素中的至少一种元素 A,

使所述纳米晶核与封闭剂反应, 由此将所述封闭剂附着到纳米晶核的表面并形成包围所述纳米晶核的第一层,

以及,

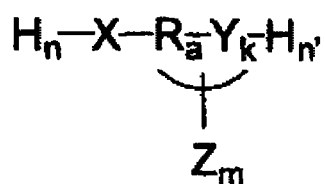
将所述封闭剂与低分子量涂布剂偶合, 由此形成共价偶合到所述第一层的第二层并完成包围所述纳米晶核的水溶性壳的形成, 所述低分子量涂布剂具有至少两个对所述封闭剂的至少两个偶合基团具有反应性的偶合部分, 和至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团。

50、根据权利要求 48 或 49 所述的纳米晶, 其中, 所述封闭剂为亲水性的。

51、根据权利要求 48 或 49 所述的方法, 其中, 所述封闭剂为疏水性的。

52、根据权利要求 48-51 中任意一项所述的方法, 其中, 存在于所述封闭剂中的各偶合基团包括选自氨基、羟基、羰基、羧基、腈、硝基、异氰酸酯、环氧化物、酸酐和卤素基团的官能团。

53、根据权利要求 48-52 中任意一项所述的方法, 其中, 所述封闭剂具有式 (I):



其中,

X 为选自 S、N、P 或 O=P 的端基,

R_a 为含有至少 2 个主链碳原子的部分,

Y 选自 N、C、-COO-或-CH₂O-,

Z 为含有极性官能团的部分,

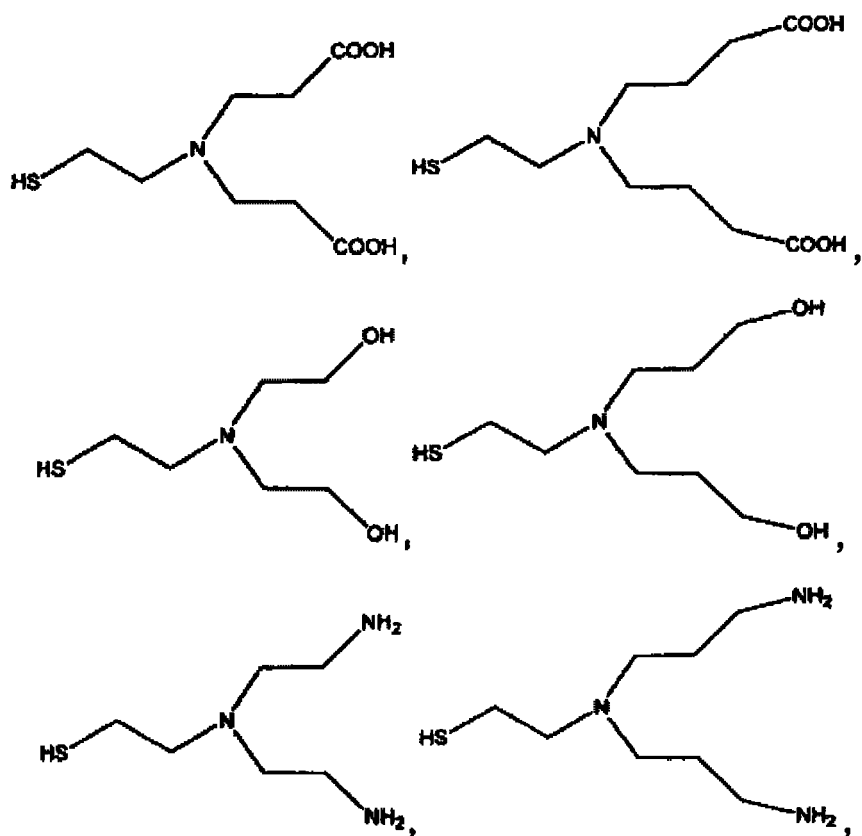
k 为 0 或 1,

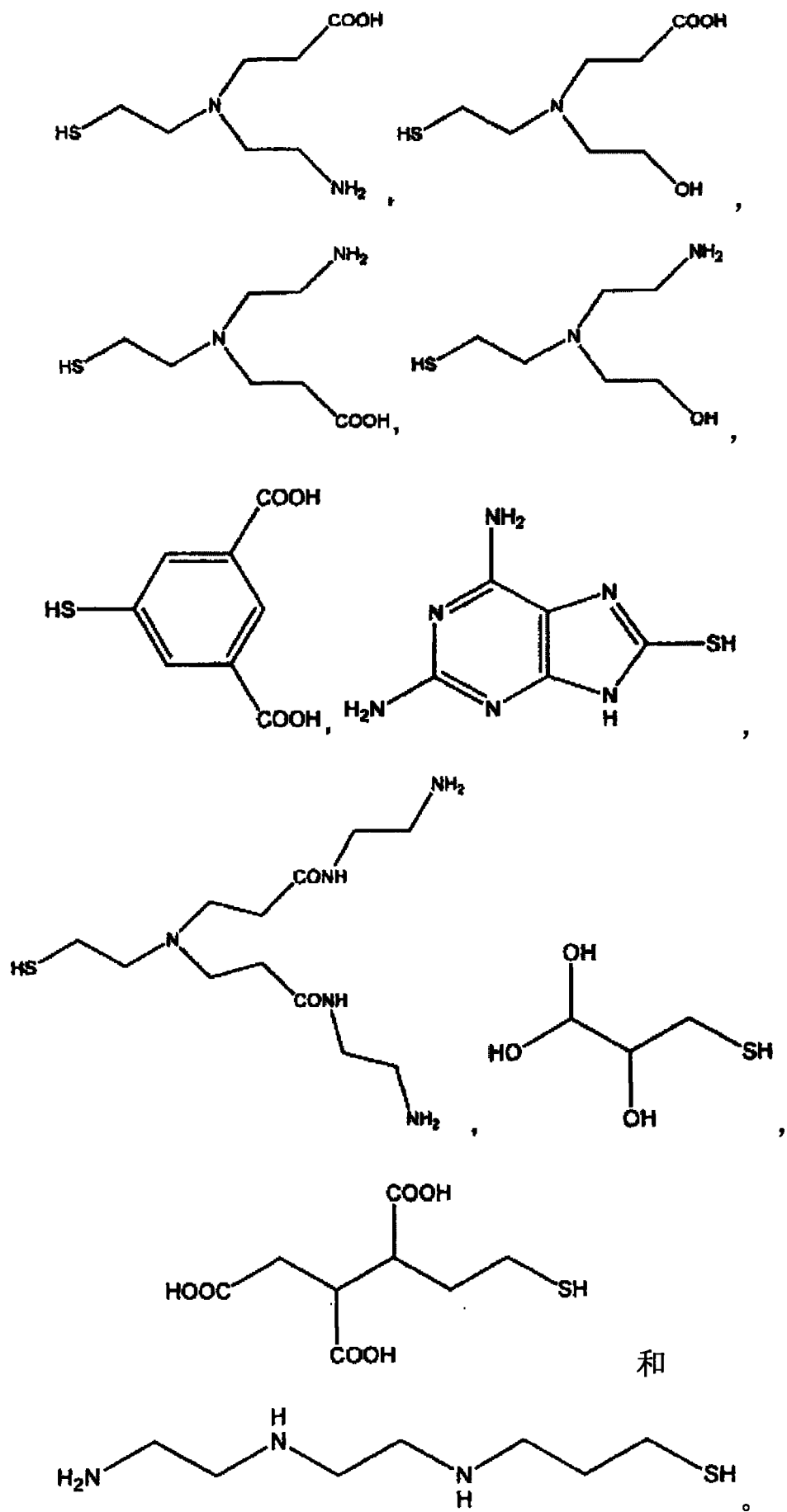
n 为 0-3 的整数,

n' 为 0-2 的整数, 其中, 选择 n' 是为了满足 Y 的化合价的需要, 以及

m 为 1-3 的整数。

54、根据权利要求 53 所述的纳米晶, 其中, 所述封闭剂为选自由以下化合物组成的组中的化合物:





55、根据权利要求 48-54 中任意一项所述的方法，其中，该方法还包括在将所述涂布剂偶合到所述封闭剂前，将所述封闭剂的偶合基团活化的步骤。

56、根据权利要求 55 所述的方法，其中，所述活化步骤包括将包括封闭剂第一层的所述纳米晶与偶合剂反应。

57、根据权利要求 56 所述的方法，其中，所述偶合剂选自由 1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺、磺基-N-羟基琥珀酰亚胺、N,N'-二环己基碳二亚胺、N,N'-二环己基碳二亚胺、N-(3-二甲基氨丙基)-N'-乙基碳二亚胺和 N-羟基琥珀酰亚胺组成的组中。

58、根据权利要求 48-57 中任意一项所述的方法，其中，将所述封闭剂与涂布剂偶合包括将所述涂布剂和偶合剂一起添加到含有具有所述第一层的纳米晶的溶液中。

59、根据权利要求 48-58 中任意一项所述的方法，其中，所述偶合是在水性缓冲溶液中进行的。

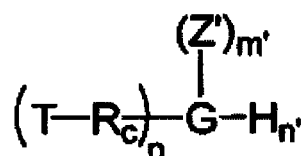
60、根据权利要求 59 所述的方法，其中，所述水性缓冲溶液包括磷酸盐或铵缓冲溶液。

61、根据权利要求 48-60 中任意一项所述的方法，其中，所述偶合是在极性有机溶剂中进行的。

62、根据权利要求 61 所述的方法，其中，所述有机溶剂选自吡啶、

DMF 和氯仿组成的组中。

63、根据权利要求 48-62 中任意一项所述的方法，其中，所述第二层中所含的所述涂布剂含有具有式 (II) 的水溶性分子：



其中，

T 为亲水性部分，

R_c 为含有至少 2 个主链碳原子的部分，

G 选自 N、P 或 C，或 Si，

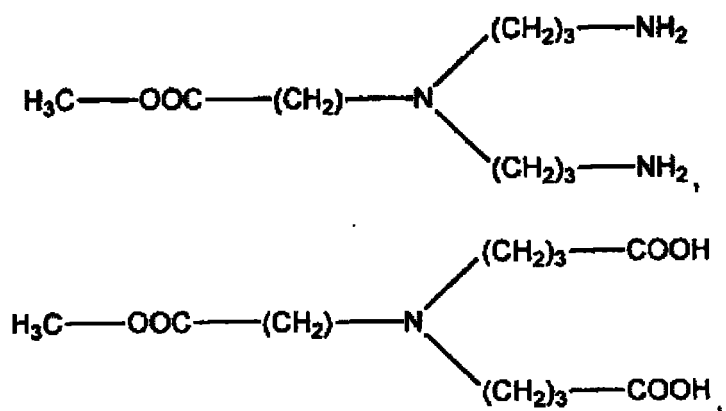
Z' 为偶合部分，

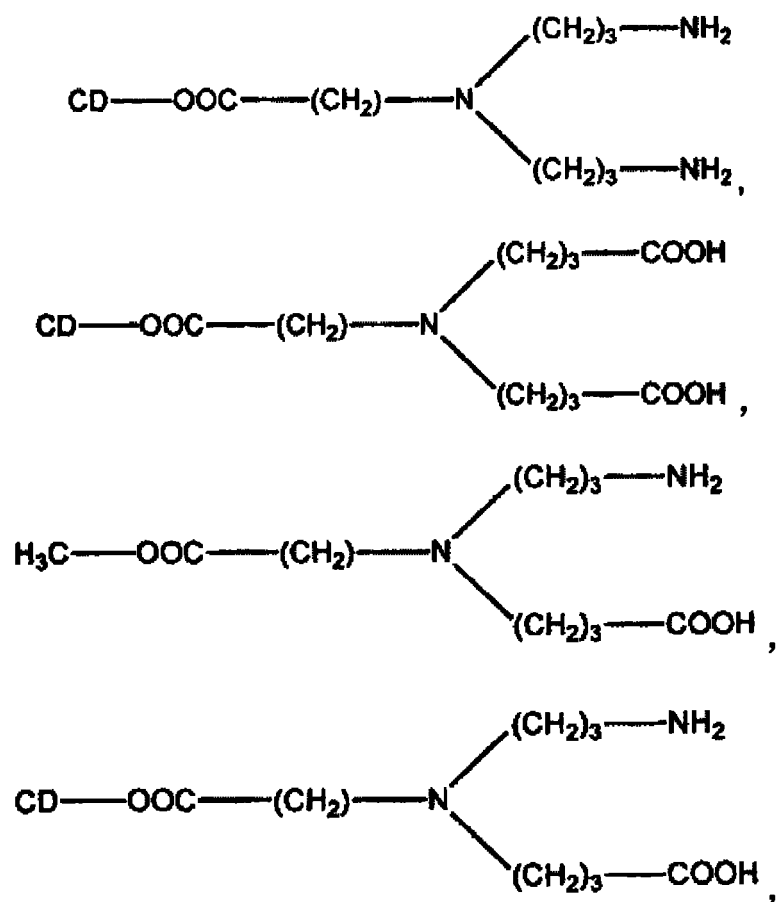
m' 为 2 或 3，

n 为 1 或 2，且

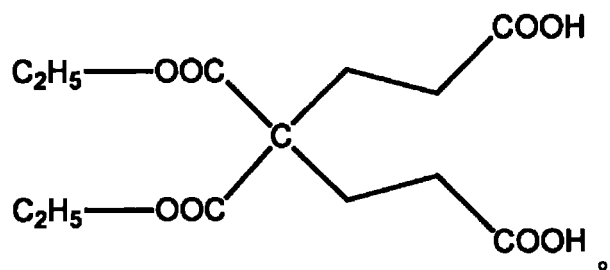
n' 为 0 或 1，其中选择 n' 是为了满足 G 的化合价的需要。

64、根据权利要求 63 所述的方法，其中，所述涂布剂选自由以下化合物组成的组中：





其中，CD 为环糊精，以及



65、根据权利要求 48-64 中任意一项所述的方法，其中，该方法还包括将第二层中所含的所述聚合物与适合于使存在于所述第二层中的水溶性基团暴露的试剂反应。

含有低分子量涂布剂的新型水溶性纳米晶及其制备方法

技术领域

本发明涉及新型的水溶性纳米晶及其制备方法。本发明还涉及这种纳米晶的用途，该用途包括但不限于各种分析和生物医学的应用，例如在生物体外或生物体内的生物物质或生物过程的检验和/或显像，如在组织或细胞成像中。本发明还涉及含有能用于检验诸如核酸、蛋白质或其它生物分子的分析物的这种纳米晶的组合物和试验盒。

背景技术

由于半导体纳米晶（量子点（quantum dots））用于诸如发光装置（Colvin 等人, *Nature* 370, 354-357, 1994; Tessler 等人, *Science* 295, 1506-1508, 2002）、激光器（Klimov 等人, *Science* 290, 314-317, 2000）、太阳能电池（Huynh 等人, *Science* 295, 2425-2427, 2002）、或者在如细胞生物学的生物化学研究领域中的荧光生物标记物的许多技术中，因此引起大量基础理论和技术兴趣。例如，见 Bruchez 等人, *Science*, Vol. 281, 2013-2015, 2001; Chan & Nie, *Science*, Vol. 281, 2016-2018, 2001; 美国专利 6207392, summarized in Klarreich, *Nature*, Vol. 43, 450-452, 2001; 还见 Mitchell, *Nature Biotechnology*, 1013-1017, 2001 以及美国专利 6423551、6306610 和 6326144。

开发用于生物学试验的灵敏非同位素检测系统已经很大地影响了许多研究和诊断领域，例如 DNA 序列分析、临床诊断化验以及基本细胞和分子生物学实验指南。当前的非同位素检测方法主要基于经过变色，或者是荧光的、发光的有机报道分子。分子的荧光标记是生物学中的标准技术。标记物通常是引起广谱特征、短寿命、光致漂白和对细胞潜在毒性的通常问题的有机染料。最近出现的量子点技术对于使用无机复合物或颗粒开发荧光标记物

孕育了新的时代。这些材料提供了超过有机染料的实质的优点，包括 Stocks 偏移、更长的发射半衰期、窄的发射峰和最小的光致漂白（参见上述引用的参考文献）。

过去的十年，在多种半导体纳米晶的合成和表征上已有很多的进步。最近的进展导致大规模地制备相关的单分散量子点。(Murray 等人, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 8706-15, 1993; Bowen Katari 等人, *J. Phys. Chem.* 98, 4109-17, 1994; Hines 等人, *J. Phys. Chem.* 100, 468-71, 1996; Dabbousi 等人, *J. Phys. Chem.* 101, 9463-9475, 1997。)

在发光量子点技术中的进一步进展使得量子点荧光效率和稳定性的增强。量子点的不同寻常的发光性质由量子的尺寸限制而产生，当金属和半导体核颗粒比它们的激发 Bohr 半径更小，约 1-5nm 时，产生量子的尺寸限制。(Alivisatos, *Science*, 271, 933-37, 1996; Alivisatos, *J. Phys. Chem.* 100, 13226-39, 1996; Brus, *Appl Phys.*, A53, 465-74, 1991; Wilson 等人, *Science*, 262, 1242-46, 1993。)最近的工作显示，通过用较高能带隙的无机材料外壳封闭尺寸可调的较低能带隙的核颗粒可以获得改进的发光。例如，用 ZnS 层钝化的 CdSe 量子点在室温下发出强光，并且通过改变它们的颗粒尺寸可以调整它们的发射波长从蓝光至红光。另外，ZnS 封闭层钝化了表面非辐射重组位置并导致了量子点更大的稳定性。(Dabbousi 等人, *J. Phys. Chem. B* 101, 9463-75, 1997; Kortan 等人, *J. Am. Chem. Soc.* 112, 1327-1332, 1990。)

尽管在发光量子点技术中有进步，但由于常规的封闭发光量子点不溶于水因此不适合于生物应用。

为了克服这个问题，使用水溶性部分来代替量子点的有机钝化层。然而，所得到的量子点发光不强(Zhong 等人, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 8589, 2003)。短链的硫醇如 2-巯基乙醇和 1-硫甘油也已用于制备水溶性 CdTe 纳米晶的稳定剂(Rogach 等人, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 100, 1772, 1996; Rajh 等人, *J.*

Phys. Chem. 97, 11999, 1993)。在另一种方法中, Coffer 等人描述了脱氧核糖核酸 (DNA) 作为水溶性封闭化合物 (capping compound) 的用途 (Coffer 等人, Nanotechnology 3, 69, 1992)。在所有这些系统中, 涂覆的纳米晶不稳定并且光致发光性质随时间而下降。

在进一步的研究中, Spanhel 等人公开了一种 $\text{Cd}(\text{OH})_2$ 封端的 CdS 溶胶 (Spanhel 等人, J. Am. Chem. Soc. 109, 5649, 1987)。然而, 胶体纳米晶仅可以在很窄的 pH 范围 (pH 8-10) 制备, 并在 pH 大于 10 时显示出很窄的荧光带。这种 pH 依赖性大大地限制了材料的有用性, 特别是, 它不适合用于生物系统。

PCT 公开 WO 00/17656 公开了为了使纳米晶可溶于水分别用羧酸或式 $\text{SH}(\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$ 和 $\text{SH}(\text{CH}_2)_n\text{H-SO}_3\text{H}$ 的磺酸化合物封端的核-壳纳米晶。同样, PCT 公开 WO 00/29617 和英国专利申请 GB 2342651 描述了将诸如巯基乙酸或巯基十一烷酸的有机酸附着到纳米晶的表面使它们可溶于水, 并适合于诸如蛋白质或核酸的生物分子的结合。GB 2342651 还描述了三辛基磷作为封端材料的用途, 设想该封端材料使纳米晶具有水溶性。

PCT 公开 WO 00/27365 教导了另一种方法, 它报导了二氨基羧酸作为水溶化剂的用途。在此 PCT 公开中, 通过一价的封端化合物将二氨基酸链接到纳米晶核上。

PCT 公开 WO 00/17655 公开了通过使用具有亲水部分和疏水部分的溶化剂而具有水溶性的纳米晶。溶化剂通过疏水基团附着到纳米晶上, 由此诸如羧酸或甲基丙烯酸的亲水基团提供了水溶性。

此外, PCT 公开 (WO 02/073155) 描述了水溶性半导体纳米晶, 其中, 将诸如三辛基氧化膦羟肟酸盐 (hydroxamate)、羟肟酸的衍生物或者如乙二胺的多齿络合物的各种分子直接附着到纳米晶的表面使纳米晶具有水溶性。然后这些纳米晶可以通过 EDC 链接到蛋白质。在另一种方法中, PCT 公开 WO

00/58731 公开了用于化验血细胞群的纳米晶，其中将分子量为约 3000 至 3000000 的氨衍生的多糖链接到纳米晶上。

美国专利 US 6699723 公开了硅烷基化合物作为链接剂的用途，以促进诸如生物素和抗生蛋白链菌素的生物分子附着到发光的纳米晶探针的用途。美国专利申请 No.2004/0072373A1 描述了一种使用硅烷基化合物的生化标记的方法。将硅烷链接的纳米颗粒通过分子印记结合到模板分子上，然后被聚合形成基质。其后，将该模板分子从基质中除去。由于除去了模板分子而在基质中产生的孔洞具有可用于标记的性质。

最近，报导了合成聚合物稳定水溶性纳米晶的用途。美国专利申请 No.2004/0115817A1 描述了两性的、二嵌段的聚合物通过疏水作用可以被非共价地结合到纳米晶上，该纳米晶的表面用诸如三辛基磷或三辛基氧化磷的试剂包覆。同样，Gao 等人(Nature Biotechnology, Vol. 22, 969-976, August 2004) 公开了水溶性半导体纳米晶，该纳米晶通过非共价疏水作用使用两性的、三嵌段共聚物封装。

尽管有这些发展，但仍遗留下对能用于生物化验检测目的的纳米晶的需要。在此方面，希望有能以保持生物分子生物反应性的方式附着到生物分子上的纳米晶。另外，希望有能在水性介质中作为稳定的浓的悬浮液或溶液被制备并储存的水溶性半导体纳米晶。最终，这些水溶性纳米晶量子点应该能具有高量子效率的能量发射，并应该具有窄的颗粒尺寸。

发明内容

因此，本发明的目的是提供满足上述需要的纳米晶。

通过纳米晶和制备具有各独立权利要求特征的纳米晶的方法来解决该目的。

在一个方面，本发明指向一种水溶性纳米晶，该纳米晶包括：

纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系（PSE）的第 Ib 副族、IIb 副族、IVb 副族、Vb 副族、VIb 副族、VIIb 副族、VIIIb 副族、II 主族、III 主族或 IV 主族元素中的至少一种金属 M1，并且该纳米晶还包括

第一层，该第一层含有附着到纳米晶核表面上的封闭剂（capping reagent），所述封闭剂具有至少两个偶合基团，

和第二层，该第二层含有低分子量涂布剂，所述涂布剂具有至少两个共价偶合到所述封闭剂的偶合基团，以及至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团。

采用包括以下的方法获得水溶性纳米晶：

将上述定义的纳米晶核与封闭剂反应，由此将该封闭剂附着到纳米晶核的表面并形成包围该纳米晶核的第一层，

和

将所述封闭剂与具有至少两个偶合部分和至少一个水溶性基团的低分子量涂布剂偶合，由此形成共价偶合到所述第一层的第二层并完成包围纳米晶核的水溶性壳的形成，所述至少两个偶合部分对所述封闭剂的至少两个偶合基团具有反应性，并且所述至少一个水溶性基团使所述第二层具有水溶性。

在另一方面，本发明指向一种水溶性纳米晶，该纳米晶包括：

纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系（PSE）的第 II 主族、VIIA 副族、VIII A 副族、IB 副族、IIB 副族、III 主族或 IV 主族中的至少一种金属 M1，以及选自 PSE 的第 V 主族或 VI 主族中的至少一个元素 A，并且该纳米晶还包括

第一层，该第一层含有附着到纳米晶核表面的封闭剂，所述封闭剂具有至少两个偶合基团，

和第二层，该第二层含有低分子量涂布剂，所述涂布剂具有至少两个与

所述涂布剂共价偶合的偶合部分以及至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团。

所述水溶性纳米晶通过包括以下的方法获得：

将上述定义的纳米晶核与封闭剂反应，由此将该封闭剂附着到纳米晶核的表面并形成包围纳米晶核的第一层，

和

将所述封闭剂与具有至少两个偶合部分和至少一个水溶性基团的低分子量涂布剂偶合，由此形成共价偶合到所述第一层的第二层并完成包围纳米晶核的水溶性壳的形成，所述至少两个偶合部分对所述封闭剂的至少两个偶合基团具有反应性，并且所述至少一个水溶性基团使所述第二层具有水溶性。

传统的涂覆纳米晶的方法通常不包括覆盖纳米晶核的水溶性壳间界面的共价结合。在本发明中，含有小的单体或低分子量低聚物分子的两种封闭剂都首先被用于封端纳米晶表面（例如，形成金属-硫或金属-氮键）以形成封闭剂层，也称作第一层。该第一层共价结合到纳米晶核。该步骤之后将具有水溶性基团的低分子量涂布剂在偶合剂存在下偶合到所述封闭剂。该偶合导致在纳米晶核上形成水溶性壳。该壳被附着并固定到纳米晶核的表面（也见图1）。由于低分子量涂布剂形成包围纳米晶核的共价交联层，因此有助于确保所述壳保持原样并附着到纳米晶核，由此降低了所述水溶性壳与纳米晶分开的可能性。

在另一方面，本发明指向制备具有上述定义的核的水溶性纳米晶的方法，该方法包括：

提供上述定义的纳米晶核，

将所述纳米晶核与封闭剂反应，由此将该封闭剂附着到纳米晶核的表面并形成包围纳米晶核的第一层，

和

将所述封闭剂与具有至少两个偶合部分和至少一个水溶性基团的低分子量涂布剂偶合，由此形成共价偶合到所述第一层的第二层并完成包围纳米晶核的水溶性壳的形成，所述至少两个偶合部分对所述封闭剂的至少两个偶合基团具有反应性，并且所述至少一个水溶性基团使第二层具有水溶性。

本发明基于发现水溶性纳米晶可以通过包围纳米晶的水溶性壳的形成而有效地被稳定。该壳包括共价结合到纳米晶核表面的第一层（含有封闭剂），以及含有共价偶合或共价交联到第一层的低分子量涂布剂的第二层。发现以此方式合成的水溶性壳使纳米晶停留在水性环境中相当长的时间而没有任何实质上的发光损失。不希望被理论束缚，相信纳米晶改进的稳定性可能归因于水溶性壳的保护功能。该壳起到降低纳米晶核与诸如可能存在的离子、自由基或分子的反应性水溶性种类间接触的密封盒或保护屏障的作用。这有利于防止纳米晶在水性环境中的聚集。考虑到以这样的做法，纳米晶保持互相电分离，由此也延长了它的光致发光。通过使用低分子量化合物作为涂布剂，很容易控制第一层与第二层间的反应。另外，使用低分子量化合物作为涂布剂产生了尺寸很小并具有光滑表面形态的纳米晶。另一个优点是，由此形成的壳还可以通过附着合适的生物分子或分析物被有利地官能化，所述生物分子或分析物可以促进识别非常多的诸如组织和有机靶点的生物材料。通过实现封闭剂与低分子量涂布剂的不同组合以形成水溶性壳，本发明展现了通向具有有利于广泛使用的改进的化学和物理性质的新种类的水溶性纳米晶的绝好途径。

根据本发明，可以使任何合适种类的纳米晶（量子点）有水溶性，只要纳米晶表面可以用封闭剂来附着即可。在此上下文中，术语“纳米晶”和“量子点”可以互换使用。

在一个实施方式中，合适的纳米晶具有仅含有金属的纳米晶核。为此目

的, M1 可以选自由元素周期系 (PSE) 的第 II 主族、VIIA 副族、IIIA 副族、IB 副族、IIB 副族、III 主族或者 IV 主族元素组成的组中。因此, 纳米晶核可以仅由金属元素 M1 组成; 以下所定义的非金属 A 或 B 不存在。在此实施方式中, 纳米晶仅由上述 PSE 的任何族的纯金属组成, 例如金、银、铜 (第 Ib 副族)、钛 (第 IVb 副族)、铽 (第 IIIb 副族)、钴、铂、铑、钌 (第 VIIIb 副族)、铅 (第 IV 主族) 或者它们的合金。当在下文中仅参考含有计数元素 (counter element) A 的纳米晶来说明本发明时, 可以理解由纯金属或纯金属的混合物组成的纳米晶也可以用于本发明。

在另一种实施方式中, 用于本发明的纳米晶核可以含有两种元素。因此, 纳米晶核可以为含有两种金属元素例如 M1 和 M2 的二元纳米晶合金, 例如由诸如 Zn、Cd、Hg、Mg、Mn、Ga、In、Al、Fe、Co、Ni、Cu、Ag、Au 和 Au 的金属形成的任何公知的核-壳纳米晶。另一种适合于本发明的二元纳米晶可以含有一种金属元素 M1, 和选自 PSE 的第 V 主族或 VI 主族的至少一种元素 A。因此, 目前适合使用的一种纳米晶具有式 M_1A 。这种纳米晶的例子可以为第 II-VI 族的半导体纳米晶 (即, 含有第 II 主族或 IIB 副族中的金属和第 VI 主族中的元素的纳米晶), 其中, 核和/或壳 (在此所使用的“壳”不同于由封装纳米晶的有机分子制成的水溶性“壳”并与该水溶性“壳”相区分) 包括 CdS、CdSe、CdTe、MgTe、ZnS、ZnSe、ZnTe、HgS、HgSe 或者 HgTe。纳米晶核也可以为任何第 III-V 族的半导体纳米晶 (即, 含有第 III 主族中的金属和第 V 主族中的元素的纳米晶)。该核和/或壳包括 GaN、GaP、GaAs、GaSb、InN、InP、InAs、InSb、AlN、AlP、AlAs、AlSb。可以用于本发明的核壳纳米晶的具体例子包括但不限于, 具有 ZnS 壳的(CdSe)-纳米晶, 以及具有 ZnS 壳的(CdS)-纳米晶。

本发明并不限于上述核-壳纳米晶的使用。在另一个实施方式中, 本发明的纳米晶可以具有由具有 $M_{1-x}M_xA$ 组成的均质三元合金组成的核, 其

中,

a) 当 A 表示 PSE 的第 VI 主族的元素时, M1 和 M2 独立地选自元素周期系 (PSE) 的第 IIb 副族、VIIa 副族、VIIIa 副族、Ib 副族或 II 主族的元素, 或者

b) 当 A 表示 PSE 的第 V 主族的元素时, M1 和 M2 都选自 PSE 的第 III 主族的元素。

在另一个实施方式中, 可以使用由均质四元合金组成的纳米晶。这种四元合金具有 $M1_{1-x}M2_xA_yB_{1-y}$ 的组成, 其中,

a) 当 A 和 B 都表示 PSE 的第 VI 主族的元素时, M1 和 M2 独立地选自元素周期系 (PSE) 的第 IIb 副族、VIIa 副族、VIIIa 副族、Ib 副族或 II 主族的元素, 或者

b) 当 A 和 B 都表示 PSE 的第 V 主族的元素时, M1 和 M2 独立地选自 PSE 的第 III 主族的元素。

这种关于均质三元或四元纳米晶的例子已经有描述, 例如在 Zhong 等人, J. Am. Chem. Soc, 2003 125, 8598-8594; Zhong 等人, J. Am. Chem. Soc, 2003 125, 13559-13553, 或者国际专利申请 WO 2004/054923 中。

作为用于上述式子中的标号 M1 和 M2 在说明书全文中可以互换使用。例如, 含有 Cd 和 Hg 的合金可以各自分别表示成 M1 或 M2 也可以 M2 和 M1。同样, PSE 的第 V 或第 VI 族元素的标号 A 和 B 可以互换使用; 因此在本发明的四元合金中, Se 或 Te 都可以被称为元素 A 或 B。

通过包括以下形成二元纳米晶 M1A 的方法来获得这样的三元纳米晶,

i) 以适合于产生纳米晶的形式将含有元素 M1 的反应混合物加热至合适的温度 T1, 在此温度下以适合产生纳米晶的形式添加元素 A, 在适合形成二元纳米晶 M1A 的温度下将反应混合物加热足够的时间, 然后使反应混合物冷却, 并且

ii) 不沉淀或分离所形成的二元纳米晶 M_1A ，再加热该反应混合物至合适的温度 T_2 ，在此温度下以适合于产生纳米晶的形式将足够量的元素 M_2 添加到反应混合物中，然后在适合于形成所述三元纳米晶 $M_{1-x}M_2_xA$ 的温度下将反应混合物加热足够的时间，接着使反应混合物冷却至室温并分离该三元纳米晶 $M_{1-x}M_2_xA$ 。

在这些三元纳米晶中，指数 x 的值为 $0.001 < x < 0.999$ ，优选 $0.01 < x < 0.99$ 、 $0.1 < x < 0.9$ ，或更优选 $0.5 < x < 0.95$ 。在更优选的实施方式中， x 的值可以为约 0.2 或约 0.3 至约 0.8 或约 0.9 之间。在本文使用的四元纳米晶中， y 的值为 $0.001 < y < 0.999$ ，优选为 $0.01 < y < 0.99$ ，或更优选为 $0.1 < y < 0.95$ ，或者为约 0.2 至约 0.8 之间。

在 II-VI 三元纳米晶中，其中所含有的元素 M_1 和 M_2 优选独立地选自 Zn 、 Cd 和 Hg 组成的组中。在这些三元合金中 PSE 的第 VI 族的元素 A 优选选自 S 、 Se 和 Te 组成的组中。因此，这些元素 M_1 、 M_2 和 A 的所有组合都在本发明的范围内。在优选的实施方式中，所使用的纳米晶具有 $Zn_xCd_{1-x}Se$ 、 $Zn_xCd_{1-x}S$ 、 $Zn_xCd_{1-x}Te$ 、 $Hg_xCd_{1-x}Se$ 、 $Hg_xCd_{1-x}Te$ 、 $Hg_xCd_{1-x}S$ 、 $Zn_xHg_{1-x}Se$ 、 $Zn_xHg_{1-x}Te$ 和 $Zn_xHg_{1-x}S$ 的组成。

在这些优选的实施方式中，上述化学式中使用的 x 的值为 $0.10 < x < 0.90$ 或 $0.15 < x < 0.85$ ，更优选 $0.2 < x < 0.8$ 。在特别优选的实施方式中，纳米晶具有 $Zn_xCd_{1-x}S$ 和 $Zn_xCd_{1-x}Se$ 的组成。优选 x 的值为 $0.10 < x < 0.95$ 、更优选 $0.2 < x < 0.8$ 的这种纳米晶。

在纳米晶核由本发明的 III-V 纳米晶制成的某个实施方式中，各元素 M_1 和 M_2 独立地选自 Ga 和 In 。元素 A 优选选自 P 、 As 和 Sb 。这些元素 M_1 、 M_2 和 A 的所有可能的组合都在本发明的范围内。在一些当前优选的实施方式中，纳米晶具有 $Ga_xIn_{1-x}P$ 、 $Ga_xIn_{1-x}As$ 和 $Ga_xIn_{1-x}Sb$ 的组成。

在本发明中，纳米晶核被包裹在含有 2 种主要成分的水溶性壳中。水溶

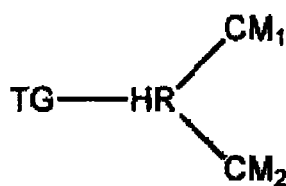
性壳的第一种成分是对纳米晶表面具有亲合性并形成水溶性壳的第一层的封闭剂。第二种成分是与封闭剂偶合并形成水溶性壳的第二层的低分子量涂布剂。

对纳米晶表面具有结合亲合性的所有小分子或低聚物都可以用作形成第一层的封闭剂。在一个实施方式中，仅一种化合物用作封闭剂。在另一个实施方式中，2、3、4或更多种（至少2种）不同的化合物的混合物用作封闭剂。优选的封闭剂为有机分子，并且所述有机分子具有，第一，能附着或共价结合以固定在纳米晶核的表面的至少一部分，和第二，提供随后与涂布剂偶合的至少两个偶合基团。为了进行偶合反应，该偶合基团可以与存在于涂布剂中的偶合部分直接反应，或者它可以例如通过偶合剂需要激活而间接反应。这些部分的每部分都可以存在于封闭剂的分子的末端位置，或者沿着分子主链的非末端位置。

在一个实施方式中，封闭剂含有对纳米晶核的表面具有亲合性的一个部分，所述部分位于封闭剂分子的末端位置。纳米晶核与该部分间的作用可以由疏水作用或静电作用，或者由共价结合或配位结合而产生。合适的端基包括具有自由（未结合的）电子对的部分，由此使封闭剂能被结合到纳米晶核的表面。示例的端基包括含有S、N、P原子或P=O基团的部分。这些部分的具体例子包括例如胺、硫醇、氧化胺和膦。

在另一个实施方式中，封闭剂还含有至少一个通过疏水区域隔开端基的偶合基团。各偶合基团可以含有任意合适数量的主链碳原子，以及能与涂布剂上补充的偶合部分反应的任意合适的官能团，所述涂布剂用于形成水溶性壳的第二层。示例的偶合部分可以选自由羟基（-OH）、氨基（-NH₂）、羧基（-COOH）、羰基（-CHO）、氰基（-CN）组成的组中。

在优选的实施方式中，封闭剂含有通过疏水区域与端基隔开的两个偶合基团，由下面的通式（G1）表示：



其中，

TG-端基

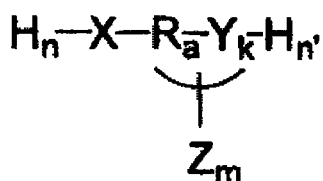
HR—疏水区域

CM₁ 和 CM₂—偶合基团

在上述式 G1 中，偶合基团 CM1 和 CM2 可以为亲水性的。亲水性偶合基团的例子包括-NH₂、-COOH 或 OH 官能团。其它的例子包括腈、硝基、异氰酸酯、酸酐、环氧化物化物和卤素基团。偶合基团可以是疏水性的。可以使用疏水基团与亲水基团组合的封闭剂。疏水基团的一些例子包括烷基部分、芳环或者甲氧基。各偶合基团可以独立地选择，并且亲水性封闭剂和疏水性封闭剂可以同时使用。

不希望被理论束缚，相信在由式 (G1) 定义的封闭剂中的疏水区域能防护纳米晶核不受存在于水性环境中的带电物质的影响。由水性环境迁移到纳米晶核表面的电荷通过疏水区域变得受阻碍，由此在合成时使中间体纳米晶（即用封闭剂封端的纳米晶）的提前淬灭（premature quenching）最小化。因此，在封闭剂中疏水区域的存在可以有助于提高纳米晶的最终量子产率。适合于此目的的疏水部分的例子包括烃部分，该烃部分包括所有脂肪族直链的、环状的或芳香的烃部分。

在一个实施方式中，用于本发明的纳米晶的封闭剂具有通式 (I)：



在该式中，X表示对纳米晶核的表面具有亲合性的端基。X可以选自S、

N、P、或 O=P。H_n-X-部分的具体例子可以包括下面任何一种：例如 H-S-、O=P-和 H₂N-。R_a 是含有至少 2 个主链碳原子的部分，并因此具有疏水特性。如果 R_a 在特性上具有显著的疏水性例如烃，那么它提供了将 Z 部分与纳米晶核分隔开的疏水区域。Y 部分选自 N、C、-COO-或-CH₂O-。Z 是含有至少一个用于随后聚合的偶合部分的部分，并因此使亲水封闭剂的部分具有显著的疏水特性。实例的极性官能团包括但不限于-OH、-COOH、-NH₂、-CHO、-CONHR、-CN、-NCO、-COR 和卤素。式中的数字由符号 k、n、n'和 m 表示。k 是 0 或 1。数字 n 是 0-3 的整数，n'是 0-2 的整数；为了满足 X 和 Y 各自化合价的需要，两个都选择。数字 m 是 1-3 的整数。数字 k 是 0 或 1。在 k 是 0 的条件下，Z 将结合到 R_a。k=0 的值满足偶合部分 Z 直接结合到 R_a 的情况，例如，R_a 为环状部分，例如脂肪族环烷烃、芳烃或杂环。然而，当 k=1 时，R_a 为环状部分，如结合到苯环或环烃上的叔氨基。在当前的式子中，Z 是选自由氨基、羟基、羰基、羧基、腈、硝基、异氰酸酯、环氧化物化物、酸酐和卤素基团组成的组中的官能团。Y 或者 Z 可以起到偶合基团的作用。如果 Z 作为偶合基团存在，那么 Y 可以起到用于附着偶合基团 Z 的结构成分的作用。如果 Z 不存在，那么 Y 可以形成偶合基团的部分。

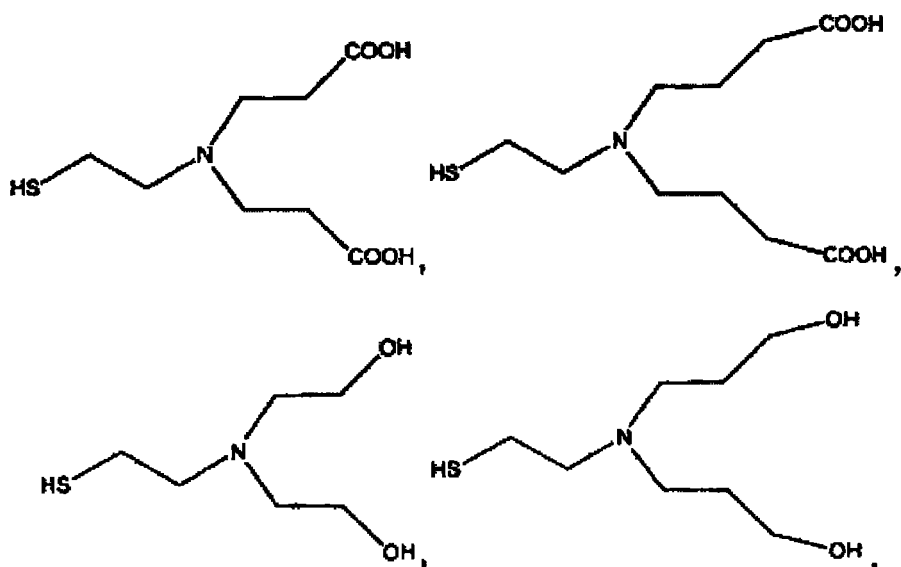
在上述式中的 R_a 部分可以含有几十至几百个主链碳原子。在一个特别的实施方式中，R_a 和 Z 各自独立地含有 2-50 个主链碳原子。Z 可以含有一个或多个酰胺或酯键。能用于 R_a 的合适部分的例子包括烷基、烯基、烷氧基和芳基部分。

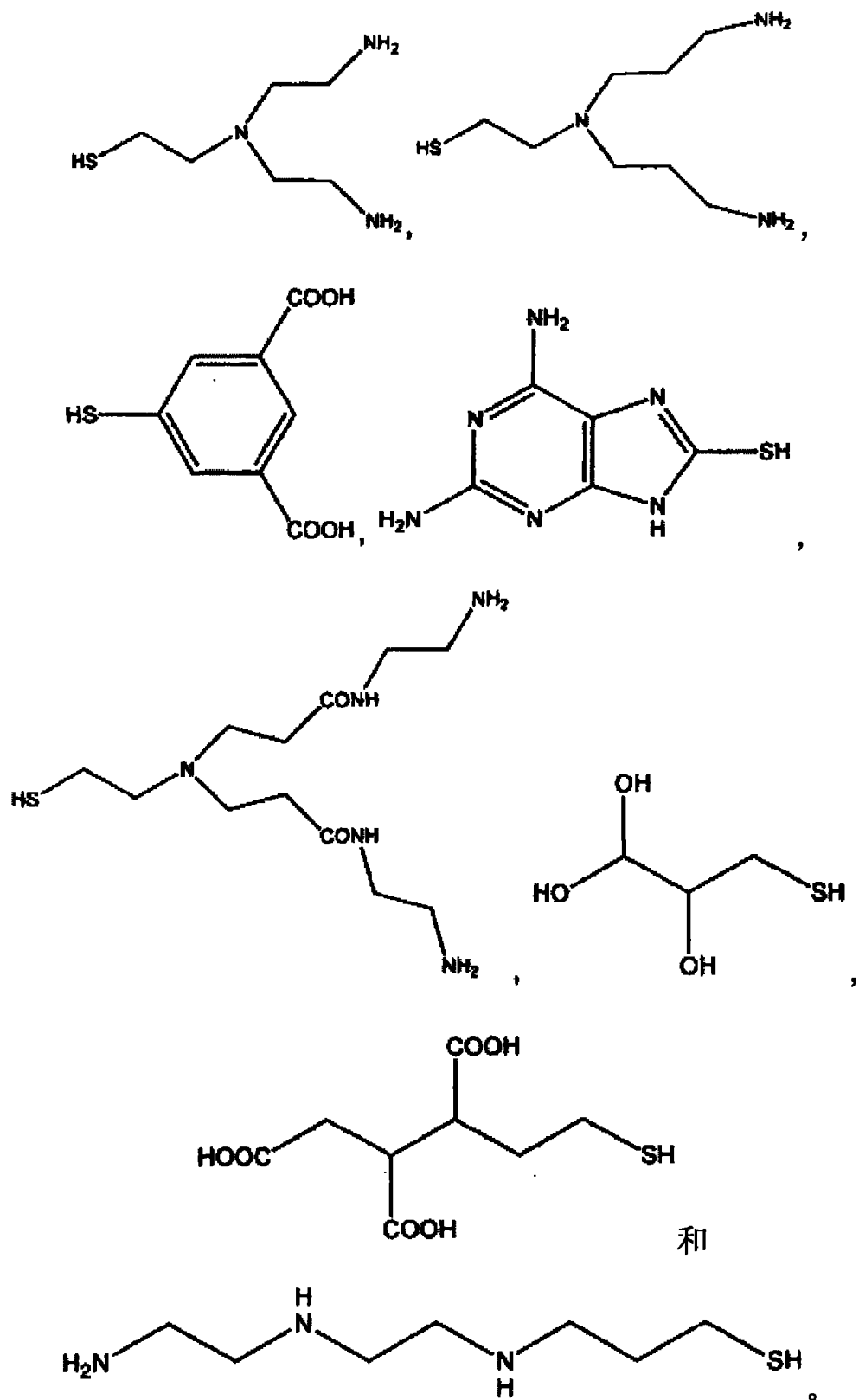
文本使用的术语“烷基”表示支链或非支链的、直链或环状的饱和烃基，通常含有 2-50 个碳原子，例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、辛基、癸基、十四烷基、十六烷基、二十烷基、二十四烷基，以及环烷基如环戊基、环己基。本文使用的术语“烯基”表示支链或非支链的烃基，通常含有 2-50 个碳原子并含有至少一个双键，代表性地含有 1-6 个

双键，更代表性地一个或两个双键，例如乙烯基、正丙烯基、正丁烯基、辛烯基、癸烯基，以及环烯基如环丙烯基、环己烯基。本文使用的术语“烷氧基”表示取代基-O-R，其中 R 为上述定义的烷基。本文使用的术语“芳基”，除非另外指定，表示含有一个或多个芳环的芳族部分。芳基任选地由一个或多个芳环上的惰性的、非氢取代基所取代，并且合适的取代基包括，例如卤素、卤烷基（优选卤素取代的较低级烷基）、烷基（优选较低级烷基）、烯基（优选较低级烯基）、炔基（优选较低级炔基）、烷氧基（优选较低级烷氧基）、烷氧羰基（优选较低级烷氧羰基）、羧基、硝基、氰基和磺酰基。在所有的实施方式中， R_a 可以包括杂芳族部分，该部分通常含有诸如氮、氧或硫的杂原子。

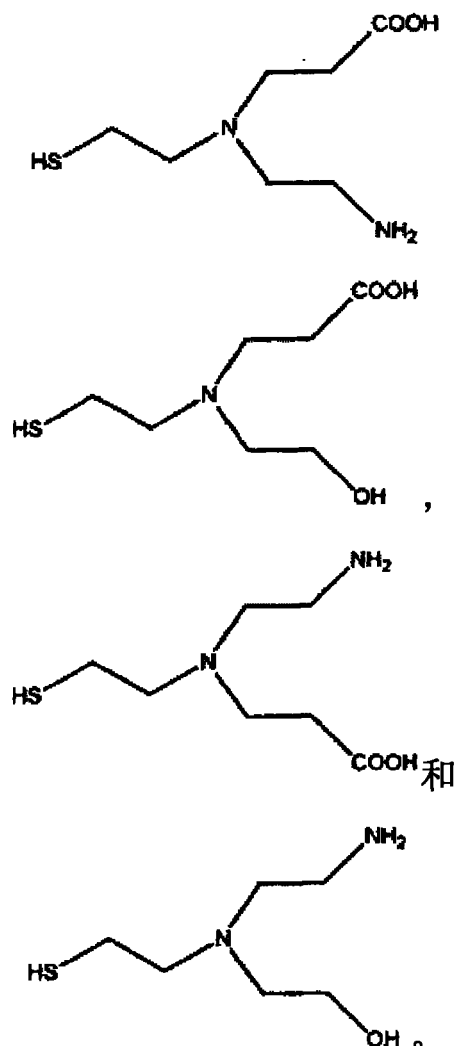
在优选的实施方式中， R_a 选自由乙基、丙基、丁基和戊基、环戊基、环己基、环辛基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、苯甲基、嘌呤、吡啶、咪唑部分组成的组中。

在另一个实施方式中，封闭剂的至少两个偶合基团可以为均二官能或杂二官能的 (hetero-bifunctional)，表示它们各可以含有至少两个相同的偶合基团或两个不同的偶合基团。具有两个或三个偶合基团的一些合适的封闭剂的说明性的例子各具有以下结构：





涂布剂为杂二官能的，即存在 2 个不同偶合基团的示例的封闭剂包括但不限于，



在另一个实施方式中，通过任何自由基聚合机理，封闭剂通过可聚合的不饱和基团，例如 C=C 双键与涂布剂偶合。这样的封闭剂的具体例子包括但不限于， ω -巯羟基封端的甲基丙烯酸甲酯、2-丁烯硫醇、(E)-2-丁烯-1-硫醇、硫代醋酸 S-(E)-2-丁烯酯、硫代醋酸 S-3-甲基丁烯酯、2-噻啉甲硫醇和硫代醋酸 S-2-噻啉甲酯。

通过将具有水溶性基团的低分子量涂布剂偶合到封闭剂来形成包围纳米晶核的水溶性壳的第二组分。可以将偶合剂任选地用于活化存在于封闭剂中的偶合基团。可以依次添加偶合剂和具有偶合部分的涂布剂，即进行活化后添加涂布剂；可选择地，涂布剂可以与偶合剂一起同时添加。

原则上，可以使用任何可活化封闭剂中的偶合基团的偶合剂，只要该偶

合剂与用于形成第一层的封闭剂和用于形成第二层的涂布剂化学相容即可，意味着偶合剂不与它们反应而改变它们的结构。理想地，由于偶合剂分子应该完全被涂布剂分子替代，因此未反应的偶合剂应该存在于纳米晶中。然而，实际上，有可能未反应的残留的偶合剂仍然存在于最终的纳米晶中。

确定适当的偶合剂是在本领域的普通技术人员的常识内的。合适的偶合剂的一个例子是与磺基-N-羟基琥珀酰亚胺（NHS）组合使用的 1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺（EDC）。可以使用的其它类型的偶合剂包括但不限于酰亚胺和吡咯。可以使用的酰亚胺的一些例子为碳二亚胺、琥珀酰亚胺和邻苯二甲酰亚胺（phthalimides）。酰亚胺的一些明确的例子包括 1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺（EDC）、磺基-N-羟基琥珀酰亚胺、N,N'-二环己基碳二亚胺（DCC）、N,N'-二环己基碳二亚胺、N-(3-二甲基氨丙基)-N'-乙基碳二亚胺，连同 N-羟基琥珀酰亚胺或任何其它的活化分子一起使用。

在偶合基团包括不饱和的 C=C 键的偶合剂的情况下，该偶合剂含有诸如过氧乙酸叔丁酯（tert-butyl peracetate）、过氧乙酸叔丁酯、过氧化苯甲酰、过硫酸钾和过乙酸（peracetic acid）的引发剂。为了致使偶合，光引发作用也可以用于活化偶合基团中的不饱和键。

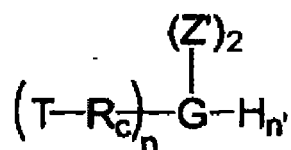
用于形成水溶性壳的第二层的涂布剂可以含有一个或多个合适的偶合部分，该偶合部分具有与封闭剂上活化的偶合基团反应的偶合部分。通常，合适的涂布剂具有至少 2 个对封闭剂的活化的偶合基团具有反应性的偶合部分，即，在一些实施方式中，例如有 2、3 或 4 个官能团。如图 2 所示，当涂布剂的至少 2 个偶合部分与封闭剂反应时，该涂布剂通过例如形成酯或酰胺键共价偶合（“交联”）到封闭剂，由此形成包围纳米晶核的水溶性壳。

涂布剂与封闭剂的偶合可以通过任何合适的偶合反应方案来实现。合适的反应方案的例子包括自由基偶合、酰胺偶合或者酯偶合反应。在一个实施方式中，偶合到封闭剂上的涂布剂通过碳二亚胺媒介的偶合反应被偶合到封

闭剂上暴露的偶合部分。一个优选的偶合反应是由 1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺提供且由磺基-N-羟基琥珀酰亚胺促进的碳二亚胺偶合反应，其中，在封闭剂的偶合基团中的羧基官能团和氨基官能团与封闭剂上的偶合部分反应形成共价键。

在本发明的上下文中，作为用于形成水溶性壳的第二层的术语“低分子量涂布剂”包括非聚合的（‘小’）分子。涂布剂的分子量可以低或高，取决于存在于涂布剂分子中基团的种类。如果涂布剂例如具有很小的侧链，那么该涂布剂的分子量会很低。在涂布剂中存在很大的侧链的情况时，那么这种涂布剂的分子量会更高。因此，在一些实施方式中，涂布剂的分子量的上限可以为约 200、约 400、约 600 道尔顿或者 1000。在另一些实施方式中，使用高分子量或大空间体积的封闭剂，上限可以更高，例如约 1200、或约 1500、或约 2000 道尔顿。根据此定义，术语“低分子量涂布剂”还包括分子量达到例如约 2000 道尔顿的低聚物化合物。术语“偶合”和“共价偶合”通常表示将两种分子结合在一起形成一个单独的、更大的整体的任何种类的反应，例如酸与醇形成酯的偶合，或者酸与胺形成酰胺的偶合。因此，任何可以将存在于封闭剂中的偶合基团和偶合部分与涂布剂偶合的反应均在该术语含义的范围内。“偶合”还包括在封闭剂中以偶合基团存在的一个或多个不饱和基团（例如-C=C-双键）与在涂布剂中相应的偶合部分通过自由基偶合来反应，以将涂布剂共价结合到封闭剂层。

封闭剂和涂布剂可以各自具有为了进行聚合反应而具有相互反应性的官能团。在一个实施方式中，涂布剂是含有至少 2 个偶合部分的水溶性分子，该偶合部分具有能与封闭剂上的偶合基团反应的至少一个可共聚的官能团。在一个特定的实施方式中，涂布剂可以是具有式（II）的水溶性分子：



其中,

T 调节水溶性的部分,

R_c 为含有至少 3 个主链碳原子的部分,

G 选自 N 或 C,

Z' 为可共聚的部分,

n 为 1 或 2 的整数, 且

n' 为 0 或 1, 其中选择 n' 是为了满足 G 的化合价的需要。

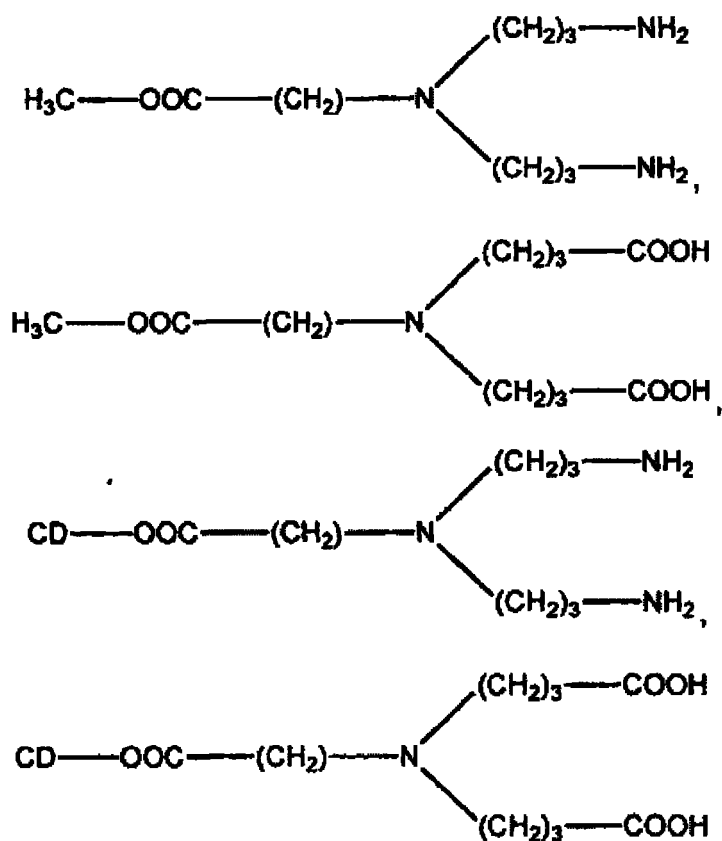
可以用封闭剂获得具有所需性能的水溶性壳, 在封闭剂中, R_c 部分具有少于 30 个、优选少于 20 个、或者更优选少于 12 个主链碳原子。在优选的实施方式, R_c 含有 3-12 个主链碳原子。在特定的实验条件下, 在合成纳米晶的过程中, 此范围提供了很高的偶合效率。T 部分可以为用于调节放置在其环境中的纳米晶的水溶性的极性/亲水官能团。因此, 它可以使壳具有亲水性或疏水性能, 因此使纳米晶可溶于水性环境中, 也可以溶于非水环境中。T 可以选自极性基团, 例如羟基、羧基、羰基、磺酸盐基、磷酸盐基、氨基、酰胺基 (carboxamide group)。为了获得不溶于水性环境中的纳米晶, T 部分还可以为疏水性的, 例如任何脂肪族或芳香族烃 (例如脂肪酸或苯的衍生物), 或任何其它不溶于水的有机部分。当 T 为疏水性的时, 它还可以在涂布剂已经与封闭剂共聚后通过结合亲水性部分而改性。 Z' 部分为具有能与封闭剂上的偶合部分共聚的官能团的可共聚部分。合适的官能团包括但不限于例如, $-NH_2$ 、 $-COOH$ 或 $-OH$ 、 $-Br$ 、 $-C=C-$ 。 Z' 另外还可以含有脂肪族或环状碳链, 优选具有至少 2 个主链碳原子。

在一个实施方式中, T 可以由环糊精分子衍生。环糊精分子具有改进产

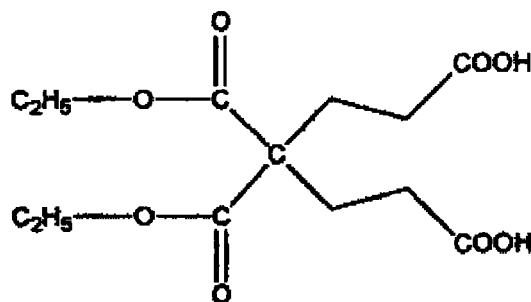
生的聚合物的水溶性的大量羟基，并还能容易地辄合到用于生物标记目的的生物分子上。合适的环糊精的例子包括 α -环糊精、 β -环糊精、 γ -环糊精、二甲基- α -环糊精、三甲基- α -环糊精、二甲基- β -环糊精、三甲基- β -环糊精、二甲基- γ -环糊精和三甲基- γ -环糊精。

在另一个实施方式中，涂布剂是选自氨基酸，优选二氨基酸或二羧基氨基酸的水溶性分子。当前考虑的二氨基酸的具体例子包括 2,4-二氨基丁酸、2,3-二氨基丙酸或 2,5-二氨基戊酸，仅举几个例子。在本发明中考虑的二羧酸包括但不限于天冬氨酸和谷氨酸。

在其它实施方式中，涂布剂为选自由以下化合物组成的组中的水溶性分子：



其中，CD 为环糊精，以及



在另一个封闭剂含有不饱和基团（例如 $\text{C}=\text{C}$ 双键）的实施方式中，合适的可以用于耦合的涂布剂包括二烯或三烯，如 1,4-丁二烯、1,5-戊二烯和 1,6-己二烯。

通过将纳米晶官能化，可能将本发明的纳米晶用于多种应用。在另一个实施方式中，通过将亲合性的配位体附着到水溶性壳将水溶性壳官能化。这种纳米晶可以检测是否存在亲合性配位体具有结合特异性的基质。如果存在于样品中，官能化的纳米晶和靶向的基质之间的接触和随后的结合可以用于各种目的。例如，它可以导致形成含有官能化的纳米晶基质的复合物，该官能化的纳米晶基质可以发射用于量子化、可视化或其它检测形式的可检测的信号。设想的亲合性配位体包括单克隆抗体，包括嵌合体的（chimeric）或遗传学修饰的单克隆抗体、肽、适体、核酸分子、抗生蛋白链菌素、抗生物素蛋白、凝集素等。

根据上述公开，本发明的另一个方面是关于制备水溶性纳米晶的方法。

水溶性壳的合成可以通过首先将封闭剂与纳米晶核接触并反应来实现。该接触可以是直接接触也可以是间接接触。直接接触指将纳米晶核浸入含有封闭剂的溶液中而不使用任何配价配位体（coordinating ligand）。间接接触指与封闭剂接触前，使用配价配位体来准备（prime）纳米晶核。间接接触通常包括两个步骤。在本发明中两种方法都是可行的。然而，间接接触的后面的方法是优选的，由于配价配位体有助于加快封闭剂附着到纳米晶核的表面。

下面将详细说明间接接触。在间接接触的第一个步骤中，通过溶解在有机溶剂中来制备配价配位体。然后，将纳米晶核浸入有机溶剂中预定的时间，使得在纳米晶（下文称作“钝化的纳米晶”）的核的表面形成足够稳定的钝化层。该钝化层用于排斥任何可以接触纳米晶核的亲水种类，由此防止纳米晶的任何降解。如果需要，钝化的纳米晶可以在含有配价配位体的有机溶剂中被分离并储存任何希望的时间。如果需要，可以添加合适的中性有机溶剂，例如氯仿、二氯甲烷或者四氢呋喃。

在间接接触的第二个步骤中，可以在有机溶剂的存在下或在水溶液中实施配位体交换。通过向钝化的纳米晶添加过量的封闭剂来实施配位体交换（取代），以促进钝化的纳米晶与封闭剂的接触。可以通过搅拌或声波处理反应混合物需要的时间来缩短获得高程度取代需要的接触时间。在足够的时间段后，封闭剂取代了钝化层并自己附着到纳米晶上，因此封端纳米晶核的表面，随后偶合涂布剂。

用于直接接触的配价配位体可以是含有对纳米晶核的表面具有亲合性的部分的任何分子。这种亲合性可以用例如静电作用、共价结合或配位结合的形式来证明。合适的配价配位体包括但不限于疏水分子或者含有附着到亲水部分的疏水链的两性分子，例如极性官能团。这种分子的例子包括三辛基磷、三辛基氧化磷或者巯基十一烷酸。可以使用的其它种类的配价配位体包括硫醇、胺或硅烷。

通过间接接触途径实现封闭剂与涂布剂偶合的图示于图 4 中。第一，纳米晶核可以在诸如三辛基氧化磷（TOPO）的配位溶剂（coordination solvents）中制备，导致在纳米晶核的表面形成钝化层。接着，TOPO 层被封闭剂替换。通过将 TOPO 分层的纳米晶分散在含有高浓度封闭剂的介质中来产生替换。这个步骤通常在有机溶剂或者在水溶液中实现。优选的有机溶剂包括极性有机溶剂，如吡啶、二甲基甲酰胺（DMF）、DMSO、二氯甲烷、乙醚、氯仿

或者四氢呋喃。此后，偶合到封闭剂的封闭剂可以被制备并添加到封端的纳米晶核。

本发明的方法包括，水溶性壳的第一层一旦形成，下一步骤是将用封闭剂封端的纳米晶与具有水溶性基团的涂布剂偶合。如果需要，偶合可以在偶合剂存在下进行。偶合剂可以用于准备封闭剂致使偶合剂对涂布剂具有反应性，或者偶合剂可以用于准备涂布剂的偶合部分致使它们对封闭剂具有反应性。在优选的实施方式中，EDC（1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺）可以用作偶合剂，任选由磺基 NHS（磺基-N-羟基琥珀酰亚胺）辅助。也可以使用其它种类的偶合剂，包括交联剂。例子包括但不限于碳二亚胺，如二异丙基碳二亚胺、碳二环己酰亚胺、N,N'-二环己基碳二亚胺（DCC；Pierce）、N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基-硫代乙酸酯（SATA）、N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯（SPDP）、邻亚苯基二马来酰亚胺（o-PDM）和磺基琥珀酰亚胺基 4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1-羧酸酯（磺基-SMCC）和吡咯。偶合剂通过活化羧基催化了羧酸和胺之间酰胺键的形成，形成了 O-脎衍生物。这种衍生物容易与亲核的胺基反应，由此加速了偶合反应。

为了说明，假定具有 x 摩尔偶合基团的 x 摩尔的封闭剂可以附着到每 1 摩尔的纳米晶核上。如果 y 摩尔涂布剂含有 x 摩尔的偶合部分完全与 1 摩尔的纳米晶核反应（用 x 摩尔封闭剂附着），则涂布剂与纳米晶的混合比为每 1 摩尔纳米晶核至少 y 摩尔涂布剂。实际上，通常以过量的封闭剂反应，以确保完全封端在纳米晶上。未反应的封闭剂可以通过例如离心分离来除去。为了与封端的纳米晶偶合所添加的涂布剂的量也可以过量，通常为每摩尔封端的纳米晶约 10、或约 20 或约 30 至 1000 摩尔涂布剂。

为了将涂布剂偶合到封端到纳米晶核表面的封闭剂上，在偶合剂的存在下将涂布剂与封闭剂混合。可以将偶合剂与涂布剂同时加入到含有包括第一层的纳米晶的溶液中（参见实施例 1 和 2），或者可以依次添加它们，在偶合

剂之后添加涂布剂。偶合剂用作引发剂以分别活化存在于封闭剂和涂布剂中的偶合基团和偶合部分。此后，涂布剂与封闭剂偶合以形成包围纳米晶核的第二层。

偶合反应可以在水溶液中或者有机溶剂中进行。例如，偶合反应可以在水溶液，例如具有合适的添加剂的水中进行以改进聚合动力学，所述添加剂包括引发剂、稳定剂或者相转移剂。偶合反应还可以在缓冲溶液中进行，例如磷酸盐或铵缓冲溶液。另外，聚合反应可以在具有合适的添加剂的无水有机溶剂中进行，所述合适的添加剂例如偶合剂和催化剂。通常使用的有机溶剂包括 DMF、DMSO、氯仿、二氯甲烷和 THF。

最后，一旦将水溶性壳的涂布剂层偶合到封闭剂，最后的步骤可以包括将第二层中所含的涂布剂与适合于使存在于第二层中的水溶性基团暴露的试剂反应。例如，如果使用的涂布剂含有酯键（以保护羧基，否则可能干扰第二层的形成），那么该酯可以通过添加碱溶液（例如氢氧化钠）来水解成纳米晶。这样做也能使在第二层中的羧基暴露到溶液中，由此使纳米晶具有水溶性。

如本文所述，本发明还提到纳米晶，该纳米晶键合到对给定的分析物具有结合亲和性的分子上。通过将纳米晶键合到对给定的分析物具有结合亲和性的分子上，形成标记化合物或探针。在这种探针中，本发明的纳米晶用作发出辐射的标记物或标签，可以用于检测给定的分析物，所述辐射例如在电磁光谱的可见光或近红外光范围内。

理论上，对于存在特定结合配偶体的每个分析物都可以检测，至少能有些特定地键合到分析物上。该分析物可以是化学的化合物，如药品（例如 Aspirin® 或者 Ribavirin），或者生物化学分子，如蛋白质（例如特定用于肌钙蛋白或细胞表面蛋白的特定抗体）或核酸分子。当偶合到相应分析物的具有结合亲和性的合适分子（也指作分析物结合配偶体）上，例如 Ribavirin 时，

所得到的探针可以用于例如监测患者血浆内药物浓度的荧光免疫测定。在肌钙蛋白情况下，该肌钙蛋白是用于破坏心肌并由此通常用于心脏病发作的标记蛋白质，含有抗肌钙蛋白抗体和本发明的纳米晶的结合物可以用于诊断心脏病发作。在本发明的纳米晶与特定用于联合细胞表面蛋白肿瘤的抗体的结合物的情况下，该结合物可以用于肿瘤的诊断或成像。另一个例子是纳米晶与抗生蛋白链菌素的结合物。

分析物也可以是包括但不限于病毒颗粒、染色体或全细胞（whole cell）的复合生物结构。例如，如果分析物结合配偶体是附着到细胞膜类脂的，那么含有链接到这样的类脂的本发明的纳米晶的结合物可以用于检测并显像全细胞。为了诸如细胞染色或细胞成像的目的，优选使用发射可见光的纳米晶。根据此公开，通过使用含有耦合到分析物结合配偶体的本发明的纳米晶的标记化合物来检测的分析物优选为生物分子。

因此，在进一步优选的实施方式中，对分析物具有结合亲和性的分子为蛋白质、肽、具有免疫半抗原特征的化合物、核酸、碳水化合物或有机分子。用作分析物结合配偶体的蛋白质可以为，例如抗体、抗体片段、配位体、抗生物素蛋白、抗生蛋白链菌素或酶。有机分子的例子是诸如生物素、异羟基洋地黄毒苷配基、5-羟色胺（serotonine）、叶酸盐衍生物、抗原、肽、蛋白质、核酸和酶等的化合物。核酸可以选自但不限于 DNA、RNA 或 PNA 分子、具有 10-50bp 的短寡核苷酸以及较长核酸。

当用于检测生物分子时，本发明的纳米晶可以通过宿主分子的表面暴露基团耦合到具有结合反应性的分子上。为了此目的，涂布剂上的表面暴露官能团诸如氨基、羟基或羧酸酯基可以与链接剂反应。本文所使用的链接剂表示能将本发明的纳米晶链接到对任何生物靶具有结合亲和性的分子的任何化合物。可以用于将纳米晶耦合到分析物结合配偶体上的链接剂种类的例子为诸如本领域技术人员公知的乙基-3-二甲氨基碳二亚胺或其它合适的偶合

化合物的（双官能的）链接剂。合适的链接剂的例子为 N-(3-氨基丙基)3-巯基-苯甲酰胺、3-氨基丙基-三甲氧基硅烷、3-巯基丙基-三甲氧基硅烷、3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基-马来酰亚胺和 3-(三甲氧基甲硅烷基)丙基-酰肼。涂布剂也可以与合适的链接剂耦合，该链接剂被偶合到具有需要的结合亲合性或分析物结合配偶体的选择的分子上。例如，如果涂布剂含有环糊精部分，那么可以使用的合适的链接剂可以包括但不限于都具有合适的反应活性基团以与相应分子形成共价键的二茂铁衍生物、金刚烷化合物、聚氧乙烯化合物、芳香化合物。

另外，本发明还指向含有至少一种本文定义的纳米晶的组合物。可以将纳米晶加入塑料球、磁性微球（magnetic bead）或橡胶球中。此外，含有本文定义的纳米晶的检测试剂盒也是本发明的部分。

附图说明

通过下列非限制的实施例和附图进一步详细地说明本发明，其中：

图 1 示出了本发明的水溶性纳米晶的概括图（图 1a），其中图 1b 显示了封闭剂庚烷-(4-N-乙硫基)-1,7-二羧酸（用于形成第一层）与用于形成第二层（还参见图 2）的用作涂布剂的二-(3-氨基丙基)-6-N-己酸甲基酯间形成的交联界面的放大图。从图 1b 可以看到，纳米晶含有由封闭剂的至少两个（邻近）分子与涂布剂的一个分子间的共价结合所形成的界面区域，使得涂布剂分子用作将封闭剂分子链接在一起的桥接。

图 2 显示了合成封装在聚酰胺壳中的水溶性纳米晶的方法的示意图，，所述聚酰胺壳是使用二胺羧基酯（二-(3-氨基丙基)-6-N-己酸甲基酯）作为涂布剂，以及庚烷-(4-N-乙硫基)-1,7-二羧酸作为封闭剂通过交联形成的。在此实施例中，所形成的第二层含有暴露的羧酸基团。

图 3 显示了合成封装在聚酰胺水溶性壳中的水溶性纳米晶的方法的示意

图,, 所述聚酰胺水溶性壳是使用庚烷-(3-N-乙硫基)-1,5-二胺作为用于形成第一层的封闭剂, 以及庚烷-3,3-二乙基-羧酸酯-1,5-二羧酸作为用于形成第二层的涂布剂通过交联形成的。

图 4 显示了与仅用巯基丙酸 (MCA) 或氨基乙硫醇 (AET) 封端的一个 (CdSe)-ZnS 核壳纳米晶相比, 本发明的聚合物封壳的纳米晶抵抗化学氧化的稳定性。

具体实施方式

实施例 1: 在水溶液中用交联的壳制备水溶性纳米晶

根据下列步骤先制备 TOPO 封端的纳米晶。

将三辛基氧化膦 (TOPO) (30 g) 放入烧瓶中, 并在真空 (~ 1 托) 下在 180°C 下干燥 1 小时。然后在烧瓶中充入氮气并加热至 350°C 。在惰性气氛的干燥箱中, 制备下列注射溶液: CdMe_2 (0.35 ml)、1M 三辛基膦-Se (TOPSe) 溶液 (4.0 ml) 和三辛基膦 (TOP) (16 ml)。将该注射溶液充分混合, 装入注射器, 并从干燥箱中取出。

将该反应停止加热, 将反应混合物随着单独连续注射移入剧烈搅拌的 TOPO 中。对反应的烧瓶进行加热, 温度逐渐升至 $260\text{--}280^{\circ}\text{C}$ 。反应后, 使反应烧瓶冷却至约 60°C , 并加入 20 ml 丁醇防止 TOPO 固化。加入大量过量的甲醇使颗粒絮凝。通过离心分离将絮凝物与上清液分离; 所得到的粉末可以分散到各种有机溶剂中以产生光学清液。

在真空下将容纳 5 g TOPO 的烧瓶加热至 190°C 几小时, 然后冷却至 60°C , 在其后加入 0.5 ml 的三辛基膦 (TOP)。用注射器将分散在己烷中的大致 $0.1\text{--}0.4\ \mu\text{mol}$ 的 CdSe 点移入反应器中, 并将溶剂抽出。二乙基锌 (ZnEt_2) 和六甲基二硅硫烷 ($(\text{TMS})_2\text{S}$) 分别用作 Zn 和 S 的前驱体。在惰性气体手套箱中, 将等摩尔量的前驱体溶解在 2-4 ml TOP 中。将前驱体溶液装入注射器

中并移入固定在反应烧瓶上的附加的漏斗中。添加完之后，将混合物冷却至 90℃，并搅拌几小时。将丁醇加到混合物中防止 TOPO 在冷却至室温时固化。

将由此形成的(CdSe)-ZnS 核壳纳米晶溶解在具有几滴吡啶的大量过量 3-巯基丙酸的氯仿中。将混合物进行超声处理约 2 小时，然后在室温下搅拌过夜。通过离心分离收集所形成的沉淀，并用乙酮洗涤除去过量的酸。用氩气流简单干燥残留物。然后将所得到的用形成覆盖/包围纳米晶核的第一层的羧酸分子涂覆的纳米晶溶解在水中或缓冲溶液中（参见图 2，步骤 1）。再次将水溶液中的纳米晶离心分离，通过 0.2 μm 的过滤器过滤，用氩气脱气，并在使用前在 25℃下储存。

为了形成交联界面并接着与第二层中所含的涂布剂聚合，将羧酸封端的纳米晶溶解在水性缓冲溶液系统中。将 EDC（1-乙基-3-[3-二甲基氨丙基]碳二亚胺）和磺基 NHS（磺基-N-羟基琥珀酰亚胺）作为交联剂以过量 500-1000 倍添加到纳米晶溶液中。将得到的溶液在室温下搅拌 30 分钟以活化在形成交联界面中含有的官能团（参见图 2，步骤 2）。在相同的缓冲溶液中，将含有羧酸封端的纳米晶、EDC 和磺基 NHS 的混合物在搅拌下逐滴加入到二氨基-羧基甲酯（diamino-carboxyl methyl ester）的溶液中。将混合物在室温下搅拌 2 小时并在 4℃下放置过夜，以形成交联界面并将第二层中所含的涂布剂共价偶合到第一层（参见图 2，步骤 3）。为了释放二氨基羧基酯的水溶性羧基（即甲基酯键的水解）并由此形成第二水溶性层，接着添加 0.1 N NaOH 和乙醇并将该溶液在室温下再搅拌 6 小时（参见图 2，步骤 4）。离心分离该溶液除去任何固体并在 4℃下以水溶液储存作为储备溶液。

所得到的量子点还可以通过有机溶剂萃取来提纯。反应（形成交联界面并将第二层中所含的涂布剂共价偶合到第一层）完成后，用乙酸乙酯萃取该溶液，从有机溶剂中萃取出具有酯表面的聚合物封壳的量子点。合并由此得到的有机溶剂并干燥，然后通过旋转式蒸发器除去，并溶解在乙醇和 0.1 N

NaOH 中以水解酯键并形成水溶性纳米晶。在室温下不停搅拌该溶液 4 小时，然后中和。离心分离所得到的清液，以除去任何痕量的固体并在脱气后在室温下储存在水溶液中。

将本发明所得到的交联水溶性封壳的纳米晶的物理化学性质与仅用巯基丙酸（MCA）或氨基乙硫醇（AET）封端的(CdSe)-ZnS 核壳纳米晶的相比如下：向纳米晶的水溶液中以 0.15 mol/l 的最终浓度和随着光致光谱的（photospectroscopically）化学状态加入 H_2O_2 。对于仅用 MCA 或 AET 涂覆的纳米晶，立刻检测出纳米晶的氧化并在 30 分钟内纳米晶沉淀。相反，本发明封壳的纳米晶对仅仅缓慢发生的化学氧化明显更稳定。

在另一个试验（未显示数据）中，当将 0.1 M $CdSO_4$ 溶液加到仅用 MCA 封端的(CdSe)-ZnS 核壳纳米晶或者本发明的封壳的纳米晶时，MCA 封端的纳米晶迅速从溶液中沉淀。相反，本发明的纳米晶在溶液中保持稳定，表明添加镉离子并不明显影响它们的稳定性。

同样，与 MCA 封端的纳米晶（数据未显示）相比，封壳的纳米晶的光化学稳定性也明显改进。当暴露到波长为 254 nm 的 UV 光时，发现 MCA 封端的纳米晶在 48 小时内从溶液中沉淀，而本发明的封壳的纳米晶稳定了 4 天。还发现荧光强度长期稳定。

实施例 2：在有机溶液中制备具有交联的壳的水溶性纳米晶

根据实施例 1 制备 TOPO 封端的纳米晶，并与过量的戊烷-(3-N-乙硫基)-1,5-二胺一起溶解在氯仿中以形成第一层（参见图 3，步骤 1）。将混合物在室温下放置过夜。通过离心分离收集形成的沉淀，并用甲醇洗涤，用氩气简单干燥。将得到的纳米晶溶解在无水 DMF（50 ml）中。

在另一个烧瓶中，将戊烷-3,3-二乙基-羧酸酯-1,5-二羧酸（作为第二层中所含的涂布剂）溶解在具有 5 当量 EDC 和 NHS 的 DMF 中，并在氮气保护

下在室温搅拌 20 分钟（参见图 3，步骤 2）。将该溶液缓慢地加入纳米晶溶液中与涂布剂共价偶合（参见图 3，步骤 3）。在室温下搅拌所得到的溶液 2 小时，使用旋转式蒸发系统在减压下蒸发 DMF 溶剂。将得到的浆液溶解于 5 ml 水中，然后加入 5 ml 1 M EtONa/EtOH 溶液，并在室温下再搅拌 2 小时，形成第二层中溶剂暴露的水溶性键。用醚洗涤得到的溶液 2 次（5 ml×2）以除去任何痕量的添加剂或者未反应的起始物料。然后用 0.1 N HCl 水溶液中和用于储存。通过离心分离酸性溶液中聚合物涂覆的纳米晶，并通过调节溶液的 pH 值将纳米晶再溶解在水中进行进一步的提纯。

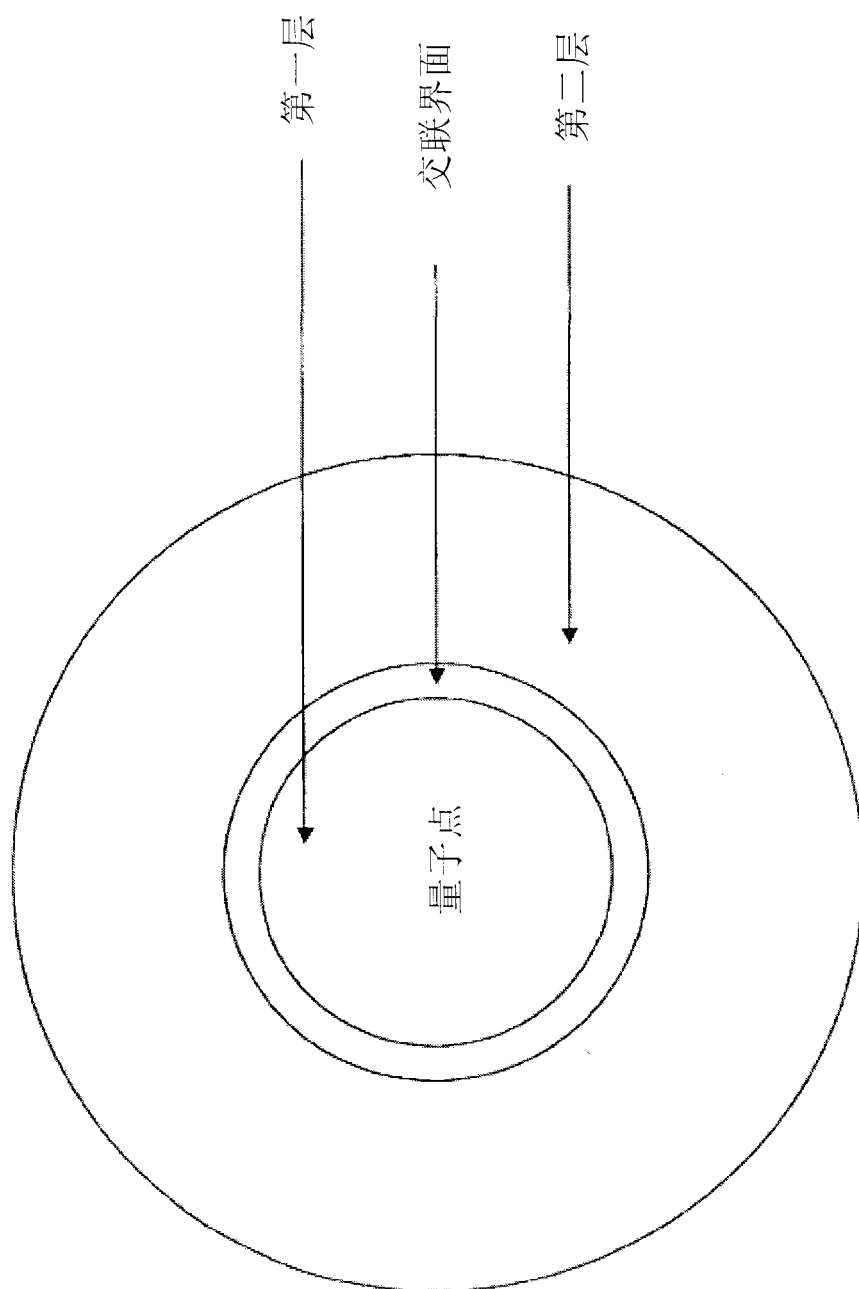


图 1A

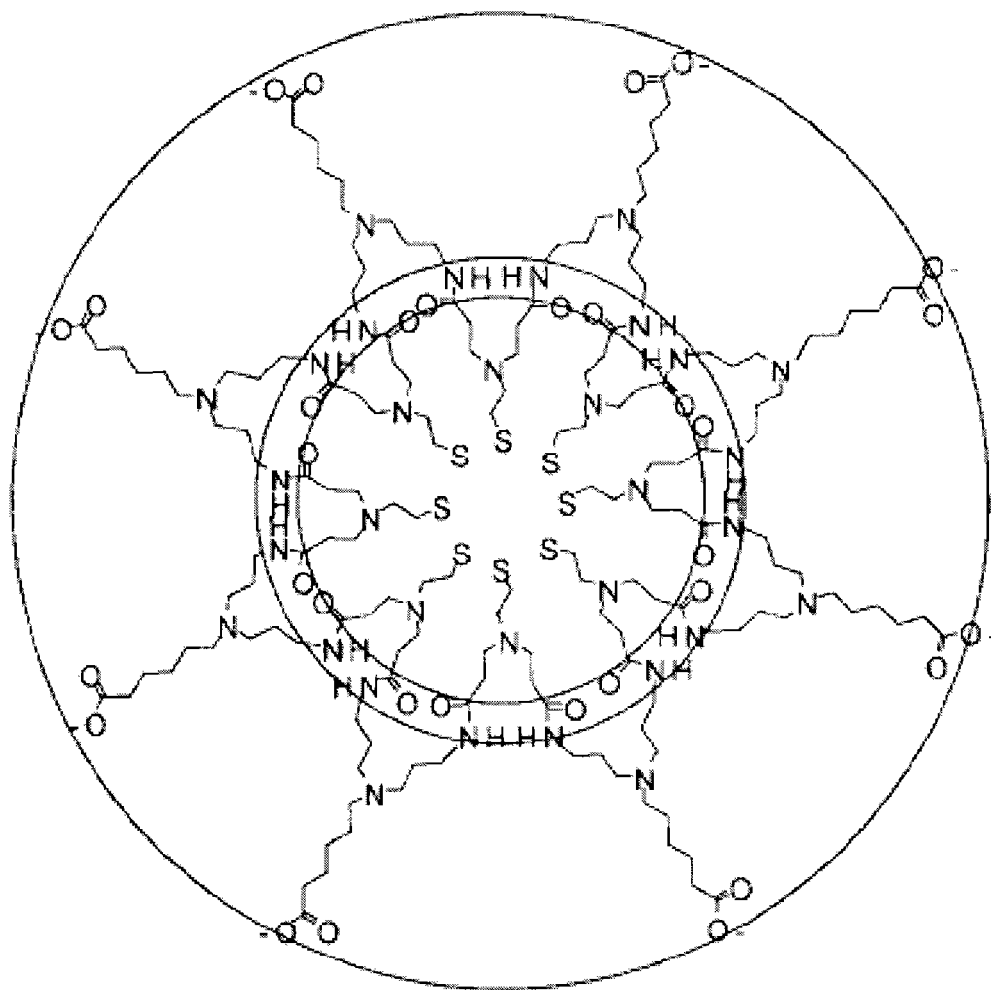


图 1B

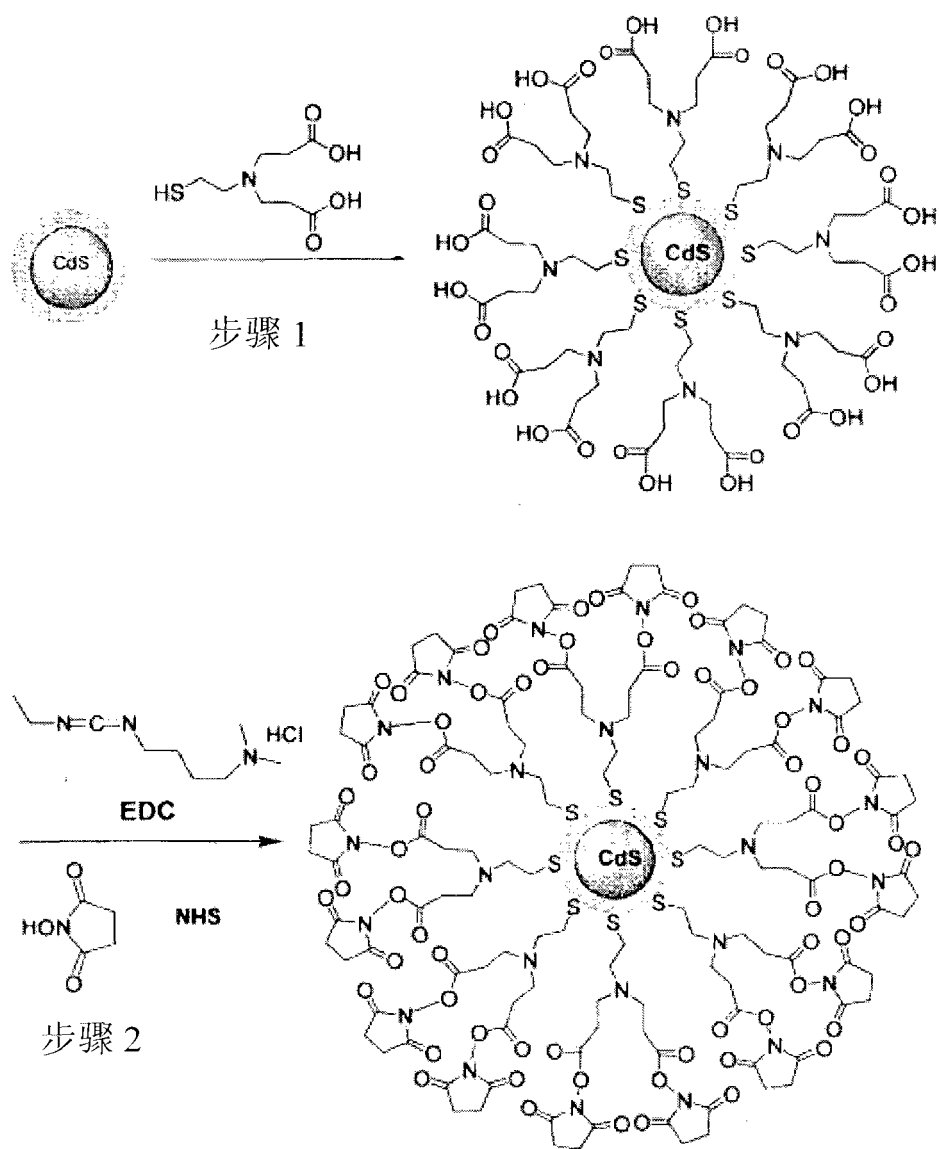
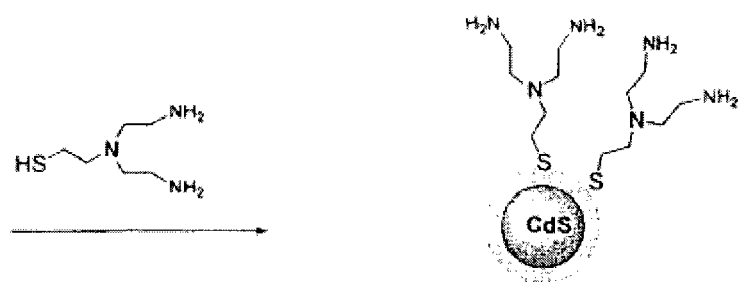
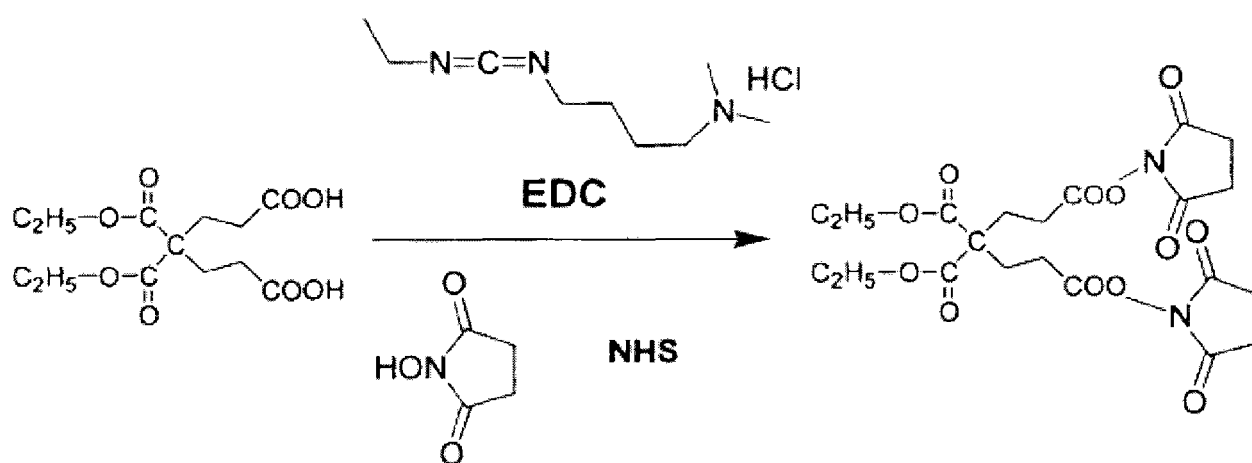


图 2

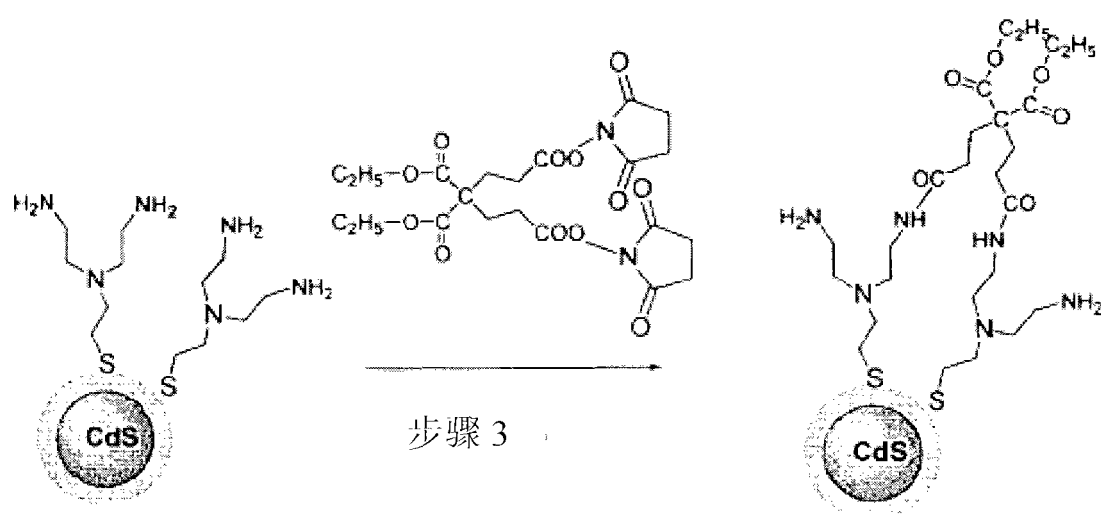
(续接下一页)



步骤 1

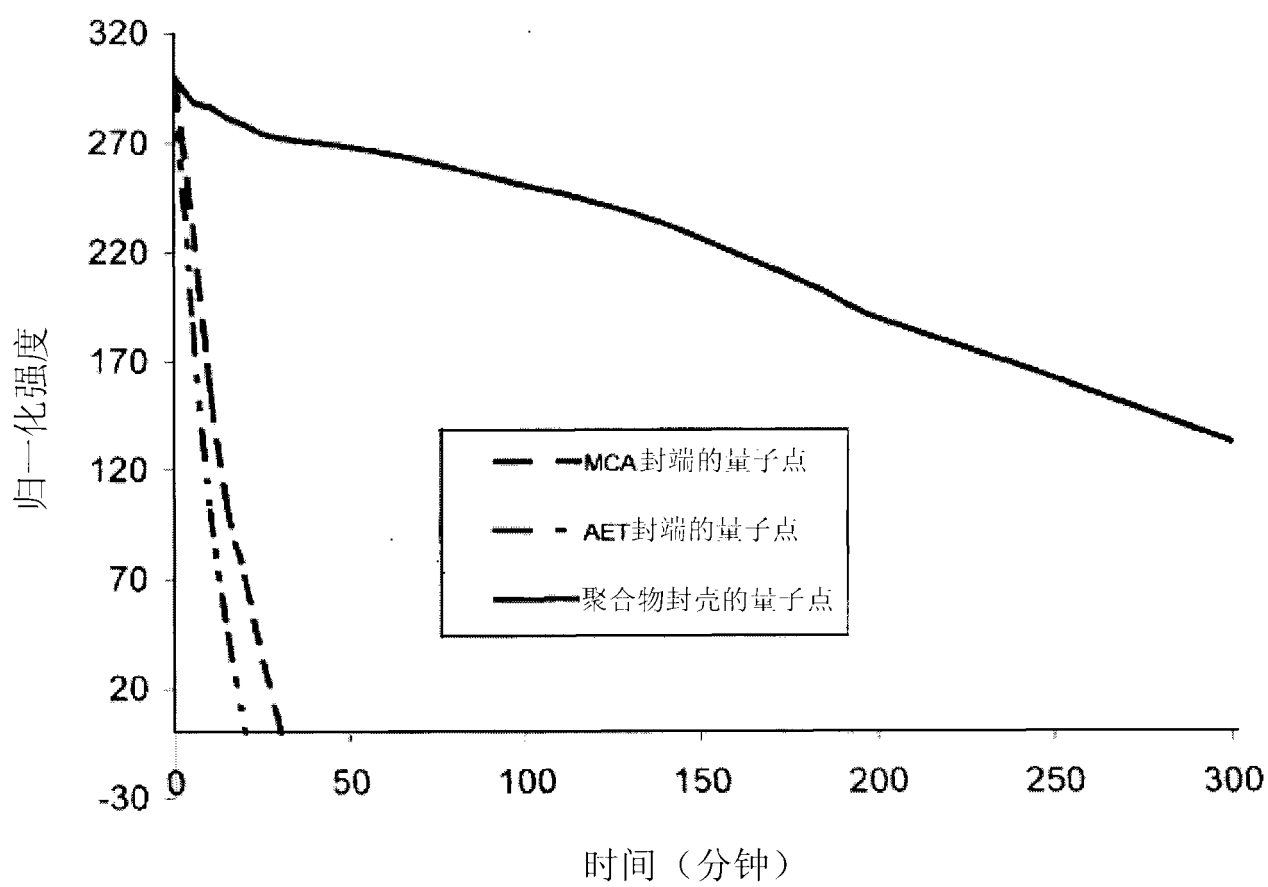


步骤 2



步骤 3

图 3



专利名称(译)	含有低分子量涂布剂的新型水溶性纳米晶及其制备方法		
公开(公告)号	CN101208605A	公开(公告)日	2008-06-25
申请号	CN200580050209.8	申请日	2005-05-04
[标]申请(专利权)人(译)	新加坡科技研究局		
申请(专利权)人(译)	新加坡科技研究局		
当前申请(专利权)人(译)	新加坡科技研究局		
[标]发明人	韩明勇 王夫轲		
发明人	韩明勇 王夫轲		
IPC分类号	G01N33/58 G01N33/533 G01N21/64 C07C323/25 B82B1/00		
CPC分类号	C01P2004/64 B82Y30/00 C01P2004/80 C09K11/565 C09K11/02 C01B19/007 Y10T428/2982 B82Y15/00 C09K11/883 G01N33/588 C09K11/025		
代理人(译)	周建秋 王凤桐		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种水溶性纳米晶，该水溶性纳米晶具有纳米晶核，该纳米晶核含有选自元素周期系(PSE)的第II主族、VIIA主族、VIIA副族、IB副族、IIB副族、III主族或IV主族元素中的至少一种金属M1，选自PSE的第V主族或VI主族中的至少一种元素A；附着到纳米晶核表面的封闭剂，所述封闭剂具有至少两个偶合基团；以及含有具有至少两个与涂布剂共价偶合的偶合部分和至少一个使所述第二层具有水溶性的水溶性基团的低分子量涂布剂的第二层。

