



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103172611 A

(43) 申请公布日 2013.06.26

(21) 申请号 201110439522.8

G01N 33/53 (2006.01)

(22) 申请日 2011.12.26

H01L 51/54 (2006.01)

C09D 7/12 (2006.01)

(71) 申请人 苏州新波生物技术有限公司

地址 215400 江苏省苏州市太仓市太平北路
115 号

(72) 发明人 吴俊清 任媛媛 杨挥

(74) 专利代理机构 上海浦一知识产权代理有限
公司 31211

代理人 高月红

(51) Int. Cl.

C07D 333/22 (2006.01)

C07F 19/00 (2006.01)

C07F 5/00 (2006.01)

C09K 11/06 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

权利要求书2页 说明书7页 附图6页

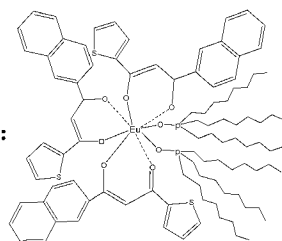
(54) 发明名称

荧光材料及其制备方法和应用

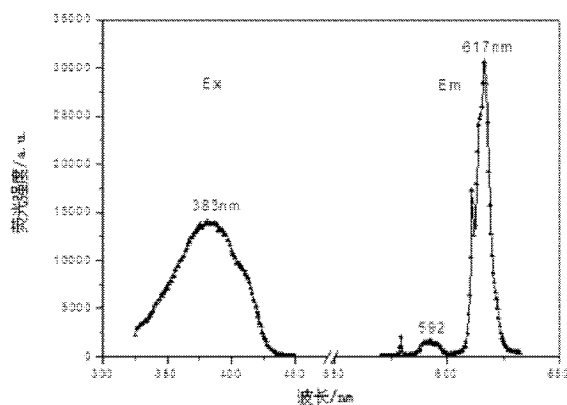
(57) 摘要

本发明公开了一种荧光材料及其制备方法和

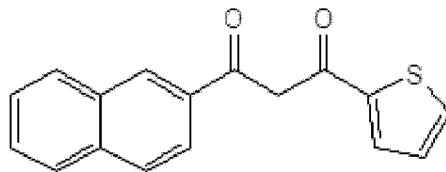
应用,该材料结构式如下:



该材料是由有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮和三正辛基氧磷共同与 EuCl_3 在有机介质中经配位反应制得。该材料制备工艺简单、所用原料成本低且设备投资少,而且具有很强的荧光强度、高的发光效率、良好的有机溶剂溶解性及稳定性等优点,可应用于有机电致发光领域、发光油墨涂料领域以及标记免疫分析领域等。



1. 一种 β -二酮类有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮, 其特征在于, 所述结构式为:



2. 如权利要求 1 所述的 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮的制备方法, 其特征在于, 包括步骤:

- (1) 在 N_2 保护下, 混匀 $NaNH_2$ 和甲苯, 其中, $NaNH_2$ 在甲苯中的质量分数为 40 ~ 55% ;
- (2) 加入 2-乙酰噻吩、2-萘甲酸甲酯, 以无水乙醚为溶剂, 经 45 ~ 60°C 加热回流, 反应 3 ~ 5h, 其中, $NaNH_2$: 2-乙酰噻吩 : 2-萘甲酸甲酯的摩尔比控制在 1 : 1 : 1 ~ 4 : 1 : 1 之间 ;

(3) 冷却至室温后, 倒入冰碴, 混匀, 用浓盐酸调节 $pH = 7 \sim 8$, 收集乙醚层, 并将水层用无水乙醚提取至无色, 合并乙醚后, 脱水, 过滤乙醚, 浓缩, 结晶, 即得。

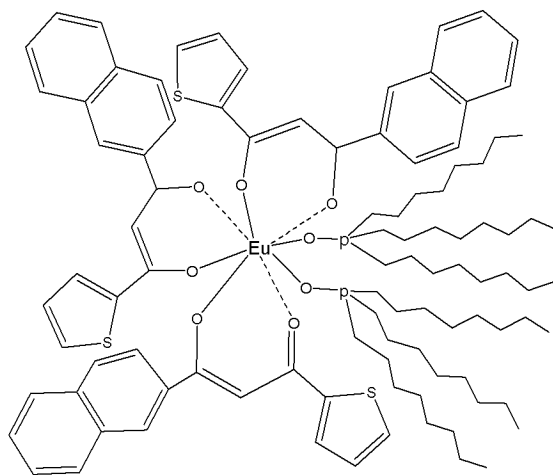
3. 如权利要求 2 所述的方法, 其特征在于: 还包括: (4) 经硅胶层析柱提纯后, 再次结晶, 得纯产物。

4. 如权利要求 3 所述的方法, 其特征在于: 所述经硅胶层析柱提纯中, 洗脱液为乙酸乙酯和石油醚, 其体积比 1 : 30 ~ 1 : 50。

5. 如权利要求 2 所述的方法, 其特征在于: 所述步骤 (2) 中, 无水乙醚的用量为: 使得 2-萘甲酸甲酯的浓度保持在 5 ~ 15mg/mL 之间。

6. 如权利要求 1 所述的 β -二酮类有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮的应用, 其特征在于: 应用于荧光材料的制备。

7. 一种三 (1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮) 二 (三正辛基氧膦) 合铕 (III) 三元配合物荧光材料, 其特征在于, 所述结构式为:



8. 如权利要求 4 所述的三 (1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮) 二 (三正辛基氧膦) 合铕 (III) 三元配合物荧光材料的制备方法, 其特征在于, 包括步骤:

- (1) 将摩尔比 3 : 1.5 ~ 3 : 2.5 的 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮和三正辛基氧膦, 用丙酮溶解;

- (2) 滴加 $EuCl_3$ 水溶液到上述溶液中, 其中, $EuCl_3$ 与 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮的摩

尔比为 1 : 2.5 ~ 1 : 3.5, 调节溶液 pH 至 6 ~ 7, 室温下搅拌 2 ~ 3 小时, 过滤, 室温下静置待其析出后, 洗涤, 干燥, 得产物。

9. 如权利要求 8 所述的方法, 其特征在于: 所述步骤 (1) 中, 丙酮的用量为: 使得 1- 萘 -3- 噻吩 -1,3- 丙二酮的浓度保持在 0.02 ~ 0.15g/mL 之间。

10. 如权利要求 7 所述的三 (1- 萘 -3- 噻吩 -1,3- 丙二酮) 二 (三正辛基氧磷) 合铈 (III) 三元配合物荧光材料的应用, 其特征在于: 所述荧光材料应用于有机电致发光领域、发光油墨涂料领域以及标记免疫分析领域。

荧光材料及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种荧光材料及其制备方法和应用,特别是涉及一种未曾有文献报道过的新的 β -二酮类有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮(简称“NTPD”)和由这种配基经配位反应制得的一种新型铈(III)有机配合物红色发光材料及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 21 世纪是信息、能源和材料的时代,配位化学在信息材料、光电技术、激光能源、生物技术和分子光电功能材料等方面的应用越来越受到科技工作者的高度青睐。自 1893 年 Werner 创立配位化学以来,已经有 20 多位从事配位化学有关研究的科学家获得诺贝尔化学奖,配合化学的研究当之无愧的成为无机化学学科研究中最活跃的领域之一,合成新颖的金属有机功能配合物受到当今化学家们的普遍关注。其中, β -二酮功能配合物在光、电、磁、分子载体和催化性质等方面显示出优良的品质,已成为配合化学研究领域的一个热门课题。

[0003] 稀土离子本身具有独特的结构和性质,这使得稀土离子的特征发射峰半宽度小,色纯度高,能够克服纯有机发光材料色纯度不够的缺点。稀土离子与有机配体配合后,所发出的荧光兼有稀土离子发光强度高、颜色纯正和有机化合物所需激发能量低、荧光效率高、易溶于有机溶剂的优点。因此,合成新颖的稀土有机配合物成为科学研究领域的一大热点,尤其是稀土的 β -二酮配合物,早在 60 年代就曾作为激光材料引起了人们极大的关注。其中,稀土铈离子与 β -二酮形成的配合物,其本身就是具有发射窄带红色光谱的优良发光材料,而且其发光波长还具有不因配体被修饰而改变的优点。这些优点为人们探索新的发光能源、发光材料提供了新的思路。

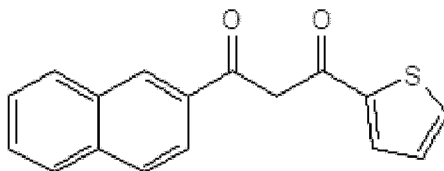
[0004] 如今,为了提高配合物的发光强度等性能,科学家们仍在努力寻求新的高效传能 β -二酮配体,使其能与铈离子稳定配位,并使配体能将能量高效传递给铈离子,从而使得铈离子发出其特征红色光。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是提供一种新型荧光材料及其制备方法和应用。通过新的、制备工艺简单、易操作的 β -二酮类有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮(简称“NTPD”),并由这种配基经配位反应制得的一种新型的铈(III)有机配合物荧光材料。该材料是一种经济、高效的稀土荧光材料,而且具有广泛的应用价值。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明的 β -二酮类有机配体 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮(简称“NTPD”),其结构式为:

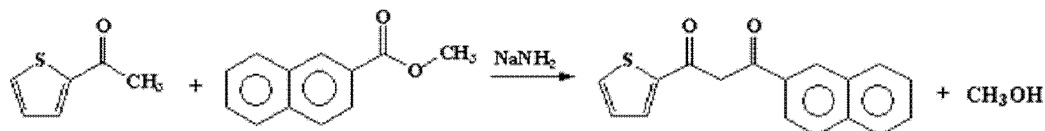
[0007]



[0008] 该 NTPD 为黄色粉末,易溶于丙酮等有机溶剂。

[0009] NTPD 的制备反应式如下:

[0010]



[0011] 上述 NTPD 的制备方法,是以 2-乙酰噻吩和 2-萘甲酸甲酯为母体,无水乙醚为溶剂,在氨基钠的作用下制得,具体包括步骤:

[0012] (1) 在 N_2 保护下,混匀 $NaNH_2$ 和甲苯,其中, $NaNH_2$ 在甲苯中的质量分数为 40 ~ 55% ;

[0013] (2) 加入 2-乙酰噻吩、2-萘甲酸甲酯,以无水乙醚为溶剂,经 45 ~ 60℃ 加热回流,反应 3 ~ 5h,其中, $NaNH_2$: 2-乙酰噻吩 : 2-萘甲酸甲酯的摩尔比控制在 1 : 1 : 1 ~ 4 : 1 : 1 之间;

[0014] 无水乙醚的用量为:使得 2-萘甲酸甲酯的浓度保持在 5 ~ 15mg/mL 之间;

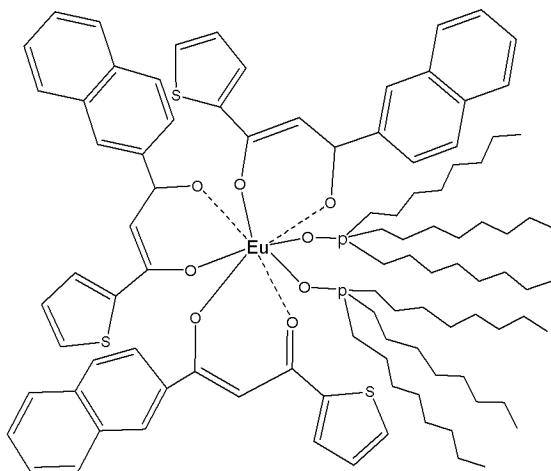
[0015] (3) 冷却至室温后,倒入冰碴,混匀,用浓盐酸调节至 $pH = 7 \sim 8$,收集乙醚层,并将水层用无水乙醚提取至无色,合并乙醚后,脱水,过滤乙醚,浓缩,结晶,即得。

[0016] 该 NTPD 的制备方法,还可包括:(4) 经硅胶层析柱提纯后(洗脱液为乙酸乙酯和石油醚,其中体积比 1 : 30 ~ 1 : 50),再次结晶,得纯产物,纯度可在 95% 以上。

[0017] 本发明的 NTPD,可应用于荧光材料的制备。

[0018] 另外,根据上述制备的 NTPD,本发明还公开了一种新型的铕(III)有机配合物红色荧光材料——三(1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮)二(三正辛基氧膦)合铕(III)三元配合物,即 $Eu[(NTPD)_3(TOPO)_2]$,其结构式为:

[0019]



[0020] 该 $Eu[(NTPD)_3(TOPO)_2]$ 的制备方法,是由有机配体 NTPD 和三正辛基氧膦(TOPO)共同与 $EuCl_3$ 在有机介质中经配位反应制得,具体包括步骤:

[0021] (1) 将摩尔比 3 : 1.5 ~ 3 : 2.5 的 NTPD 和 TOPO, 用丙酮溶解 ; 其中, 丙酮的用量为 : 使得 NTPD 的浓度保持在 0.02 ~ 0.15g/mL 之间 ;

[0022] (2) 滴加 EuCl_3 水溶液到上述溶液中, 其中, EuCl_3 与 NTPD 的摩尔比为 1 : 2.5 ~ 1 : 3.5, 调节溶液至 pH 6 ~ 7, 室温下搅拌 2 ~ 3 小时, 过滤, 室温下静置待其析出后, 洗涤, 真空干燥, 得黄色产物 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 。

[0023] 本发明所制备的荧光材料 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 的特点为 :

[0024] a) 具有很强的荧光强度和较大的荧光量子产率 ;

[0025] b) 荧光寿命长, 能够应用于时间分辨荧光分析领域 ;

[0026] c) 自身具有良好的有机溶剂溶解性、稳定性 ;

[0027] d) 制备工艺简单, 原料成本低且设备投资少 ;

[0028] e) 操作安全性高, 可操作性强, 对环境污染较小等。

[0029] 由于该荧光材料制备工艺简单、所用原料成本低且设备投资少, 因此, 在拓展其应用范围方面具有实际意义。

[0030] 经研究发现, 本发明的荧光材料 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 可应用于有机电致发光领域、发光油墨涂料领域以及标记免疫分析领域。

[0031] 综上所述, 本发明制备的荧光材料, 具有很强的荧光强度、高的发光效率、良好的有机溶剂溶解性及稳定性、制备工艺简单、易操作等优点, 因此, 具有广泛的应用范围。

附图说明

[0032] 下面结合附图与具体实施方式对本发明作进一步详细的说明 :

[0033] 图 1 是 NTPD 配体的紫外 - 可见吸收光谱图 (Unico UV-4802 型, 测试溶剂为无水甲醇) ;

[0034] 图 2 是 NTPD 配体的 $^1\text{H-NMR}$ 测试谱图 (Bruker AV500MHz 型, 测试溶剂为 CDCl_3) ;

[0035] 图 3 是 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 在固体状态下的激发光谱和发射光谱 (英国 Edinburgh Instruments 公司 FLS920 型, 激发和发射狭缝均为 1.0nm) ;

[0036] 图 4 是 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 在固体状态下的荧光寿命谱图 (英国 Edinburgh Instruments 公司 FLS920 型, 以激发波长为 385nm, 发射波长为 617nm 测得) ;

[0037] 图 5 是纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球的粒径分布图 (美国 Microtrac 公司 Nanotracs150 型) ;

[0038] 图 6 是 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 浸染的纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球的粒径分布图 (美国 Microtrac 公司 Nanotracs 150 型) ;

[0039] 图 7 是标记抗人 -TSH α - 亚单元单克隆抗体的荧光微球粒径分布图 (美国 Microtrac 公司 Nanotracs 150 型) ;

[0040] 图 8 是使用 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 浸染纳米微球的时间分辨荧光免疫检测法测定促甲状腺素 (TSH) 的工作曲线 (上海新波生物技术有限公司 ANYTEST-2000 型时间分辨荧光检测仪)。

具体实施方式

[0041] 实施例 1 : 有机配体 NTPD 的制备

[0042] 具体制备方法如下：

[0043] 1) 在 50mL 的三口烧瓶中加入 0.702g 的 NaNH_2 ，并加入 0.81mL 的甲苯 (NaNH_2 在甲苯中的质量分数为 50%)，在 N_2 保护下捣碎片状的 NaNH_2 ，使其成糊状。

[0044] 2) 然后，加入 80mL 的无水乙醚，搅拌分散，接着加入 0.49mL 2-乙酰噻吩，继续搅拌分散，再加入 0.838g 2-萘甲酸甲酯，装上冷凝管，45~60℃开始油浴加热回流，反应 3h，停止反应，待反应液变凉后（冷却至室温后），倒入 20g 冰碴中混匀，立即在搅拌下用浓盐酸调节 $\text{pH} = 7$ ，用分液漏斗分离，收集乙醚层，下面水层用无水乙醚提取至无色，合并乙醚，用少量无水硫酸钙脱水，过滤乙醚，用旋转蒸发仪浓缩，结晶得粗产品。

[0045] 3) 经硅胶层析柱提纯后（洗脱液为乙酸乙酯和石油醚，体积比 1 : 35 配制），再次结晶，得纯产物 1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮 (NTPD)。该产物为黄色粉末，易溶于丙酮等有机溶剂。

[0046] 对于上述制备的 NTPD，采用 Unico UV-4802 型紫外分光检测仪，以无水甲醇为测试溶剂，得到 NTPD 配体的紫外-可见吸收光谱图，从该图中可看出，目标产物 NTPD 在 368nm 处出现了强吸收峰，说明该物质具有较大的共轭结构（见图 1）。

[0047] 经 $^1\text{H-NMR}$ 测试谱图验证，该制备工艺可得到了纯的目标产物 NTPD；经计算，产物主要以烯醇式结构为主，约占 98% 左右，而酮式结构约占 2% 左右（见图 2）。

[0048] 实施例 2：有机配体 NTPD 的制备

[0049] 按照实施例 1 的方法进行操作，但将其中的部分反应原料和反应条件，改成如下要求，其余按照实施例 1 进行，得到产物 NTPD，纯度在 95% 以上：

[0050] 1) NaNH_2 在甲苯中的质量分数改为 40%；

[0051] 2) 50℃开始油浴加热回流，反应 5h，其中，乙醚的用量改为：使得 2-萘甲酸甲酯的浓度保持在 5mg/mL； NaNH_2 : 2-乙酰噻吩 : 2-萘甲酸甲酯的摩尔比为 1 : 1 : 1；

[0052] 3) 用浓盐酸调节 $\text{pH} = 8$ ；

[0053] 4) 经硅胶层析柱提纯中，洗脱液为乙酸乙酯和石油醚，体积比 1 : 30。

[0054] 实施例 3：有机配体 NTPD 的制备

[0055] 按照实施例 1 的方法进行操作，但将其中的部分反应原料和反应条件，改成如下要求，其余按照实施例 1 进行，得到产物 NTPD，纯度在 95% 以上：

[0056] 1) NaNH_2 在甲苯中的质量分数改为 55%；

[0057] 2) 60℃开始油浴加热回流，反应 4h，其中，乙醚的用量改为：使得 2-萘甲酸甲酯的浓度保持在 15mg/mL； NaNH_2 : 2-乙酰噻吩 : 2-萘甲酸甲酯的摩尔比为 2 : 1 : 1；

[0058] 3) 用浓盐酸调节 $\text{pH} = 7.5$ ；

[0059] 4) 经硅胶层析柱提纯中，洗脱液为乙酸乙酯和石油醚，体积比 1 : 50。

[0060] 实施例 4： $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 的制备

[0061] 三(1-萘-3-噻吩-1,3-丙二酮)二(三正辛基氧磷)合铕(III)三元配合物，即 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ ，其具体制备方法如下：

[0062] 称取 440mg NTPD（实施例 1 制备）和 420mg TOPO，称好后加入到 4mL 丙酮中搅拌溶解；待固体全部溶解后，保持搅拌，缓慢滴加 1mL 0.5M 的 EuCl_3 水溶液到上述溶液中；调节溶液 pH 至 6~7，室温下搅拌 2 小时，过滤，室温下静置；待其析出后，丙酮洗涤，真空干燥，得黄色产物 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 。

[0063] 图 3 为 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 在固体状态下的激发光谱和发射光谱,从谱图中可知 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 激发波长为 383nm,发射波长为 617nm,且该物质具有很强的荧光强度。

[0064] 图 4 为 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 在固体状态下的荧光寿命谱图,经计算得知 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 的荧光寿命长为 $0.6410\text{ms} \pm 0.0017$,能够应用于时间分辨荧光分析领域。

[0065] 实施例 5 : $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 的制备

[0066] 按照实施例 4 的方法进行操作,但将其中的部分反应原料和反应条件,改成如下要求,其余按照实施例 4 进行,得到产物 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$:

[0067] 1) 摩尔比 3 : 1.5 的 NTPD 和 TOPO,丙酮的用量改为 :使得 NTPD 的浓度保持在 0.02g/mL ;

[0068] 2) EuCl_3 与 NTPD 的摩尔比为 1 : 2.5 ;

[0069] 3) 调节溶液 pH 至 6.5,室温下搅拌 3 小时。

[0070] 实施例 6 : $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 的制备

[0071] 按照实施例 4 的方法进行操作,但将其中的部分反应原料和反应条件,改成如下要求,其余按照实施例 4 进行,得到产物 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$:

[0072] 1) 摩尔比 3 : 2.5 的 NTPD 和 TOPO,丙酮的用量改为 :使得 NTPD 的浓度保持在 0.15g/mL ;

[0073] 2) EuCl_3 与 NTPD 的摩尔比为 1 : 3.5 ;

[0074] 3) 调节溶液 pH 至 7,室温下搅拌 2.5 小时。

[0075] 实施例 7 : $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 浸染的纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球的制备及荧光性质

[0076] 1、取 60mL 水至三口烧瓶中, N_2 保护下,缓慢搅拌半小时 ;加入 0.200 克 SDS(十二烷基磺酸钠),6 毫升苯乙烯,320 微升丙烯酸,0.047 克的碳酸氢钠,搅拌半小时后,缓慢升温到 70°C ,加入 0.15 克的 KPS(过硫酸钾),反应 16 ~ 20 小时,停止反应,然后用 0.8 微米针头过滤器过滤。取 80mL 水加入到另一三口烧瓶中,通氮气搅拌半小时后,取 9mL 上述过滤好的溶液加入到该三口烧瓶中 ;取 990 微升丙烯酸、8.25 毫升苯乙烯和 123.75 毫克碳酸氢钠,均加入到该三口瓶内,搅拌二十个小时后,缓慢升温到 70°C ,加入 0.20 克的 KPS,反应 7 小时左右 ;反应结束后,用 0.8 微米针头过滤器过滤,过滤后检测所制得聚苯乙烯微球粒径为 82.9nm(见图 5),固含量为 7.74%。

[0077] 2、将 390 微升上述所得羧基功能化聚苯乙烯微球乳液加入到 2 毫升 50mM pH8.2 的硼酸缓冲溶液中,搅拌均匀后,加入 5 毫升丙酮,调节 pH 值约 7,微球溶胀 1 小时后,加 3 毫升 50mM pH8.2 的硼酸缓冲溶液 ;将 6 毫升 1.0mM $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ (实施例 4 制备) 丙酮溶液,分批加入到微球溶液中,控制体系 pH 值 7 ~ 8, $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 丙酮溶液完全加完后搅拌过夜 ;反应结束后,溶液转移到圆底烧瓶中,旋转蒸发仪蒸除丙酮 ;除去丙酮的溶液 15000rpm 离心 50 分钟,去掉上清液,用 MES 缓冲液 (pH7.4) 稀释为 2.5 毫升,加入 500 微升浓度为 1mg/mL SDS 水溶液,超声粉碎 6 次,得到 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 浸染的纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球——荧光微球,该荧光微球粒径经纳米粒度仪检测得知为 122.7nm(见图 6),该荧光微球乳液浓度为 15mg/mL 。

[0078] 制备好的荧光微球,采用 ANYTEST-2000 型时间分辨荧光检测仪 (上海新波生物

技术有限公司生产)检测时间分辨荧光强度(具体数值见表1),测定条件为:激发波长385nm;接收波长615nm;迟延时间0.4ms;窗口时间0.4ms;循环时间1.0ms。由表1可知,该荧光微球具有很强的荧光强度。

[0079] 表1 时间分辨荧光强度的测定

[0080]	Eu[(NTPD) ₃ (TOPO) ₂]浸染的微球溶液		荧光强度
	稀释十万倍		567478
			590678
	稀释一万倍		5047768
			5331207
	稀释一千倍		9271146
			9271218

[0081] 实施例8:使用Eu[(NTPD)₃(TOPO)₂]浸染的纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球的时间分辨荧光免疫检测法测定促甲状腺素

[0082] 具体工艺方法如下:

[0083] 1、用实施例7制备的Eu[(NTPD)₃(TOPO)₂]浸染的纳米级羧基功能化聚苯乙烯微球标记抗人-TSH α-亚单元单克隆抗体的制备

[0084] 1.4毫升的25mM MES缓冲液(pH7.4)中加入200微升实施例7制备好的Eu[(NTPD)₃(TOPO)₂]浸染微球溶液(浓度为15mg/mL),混合均匀后加入4毫克NHS(N-羟基琥珀酰亚胺)活化剂和1~2毫克EDC(碳二亚胺)活化剂,并充分搅拌30分钟;活化后的微球溶液转移到离心管中,加入2毫升硼酸缓冲液(pH8.2),25000rpm离心15分钟,弃去上清液,再加入2毫升50mM硼酸缓冲液(pH8.2)溶解微球沉淀,并超声分散6次。

[0085] 分散后的微球溶液中,添加0.33毫克促甲状腺素(TSH)(购于Mitsubishi chem. Co.),并充分混合24小时,将微球溶液25000rpm离心20分钟;利用3毫升5%(g/100ml浓度)BSA封闭液封闭6小时;封闭后的微球微粒转移到离心管中,25000rpm离心20分钟,弃去上清液,利用3.0mL微粒溶解液【含0.5%(质量浓度)酪蛋白的50mM pH8.5的Tris缓冲液】进行分散,最终粒径经纳米粒度仪检测得知为134.3nm(见图7)。

[0086] 2、微孔板的包被及封闭

[0087] 在96微孔板中,每孔加入100微升的抗人TSH β-亚单元单克隆抗体(5微克/毫升,购于Mitsubishi chem. Co.)的pH9.6的0.05M碳酸氢钠溶液,室温下放置24小时后,弃去溶液,洗板机洗板2次并吸干;每孔注入150微升1%BSA封闭液,室温下放置12小时后,弃去溶液,洗板机洗板2次并吸干备用。

[0088] 3、TSH的测定

[0089] 在包被好的微孔板中每孔分别加入50微升的TSH标准溶液(TSH标准溶液具体浓度分别是0、0.09、0.84、4.4、22.5、115mIU/L)和50微升本实施例步骤1制备的荧光微球标记抗人-TSH α-亚单元单克隆抗体(抗体浓度为0.11mg/mL),震荡反应1.5小时,洗板6次并拍干,采用ANYTEST-2000型时间分辨荧光检测仪(上海新波生物技术有限公司生产)

检测时间分辨荧光强度（具体数值见表2），测定条件为：激发波长385nm；接收波长615nm；迟延时间0.4ms；窗口时间0.4ms；循环时间1.0ms。

[0090] 使用 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 浸染纳米微球的时间分辨荧光免疫检测法测定 TSH 的工作曲线见图8，该工作曲线具有较好的线性，结合表2数值可得知，该检测方法具有较好的灵敏度。

[0091] 因此，本发明的 $\text{Eu}[(\text{NTPD})_3(\text{TOPO})_2]$ 可应用于免疫分析领域。

[0092] 表2 时间分辨荧光免疫检测法测定促甲状腺素

[0093]

浓度	荧光强度
115mIU/L	4515271
	4231347
22.5mIU/L	1091950
	1086319
4.4mIU/L	150786
	155914
0.84mIU/L	41200
	41520
0.09mIU/L	5469
	5299
0mIU/L	1932

[0094]

	1993
--	------

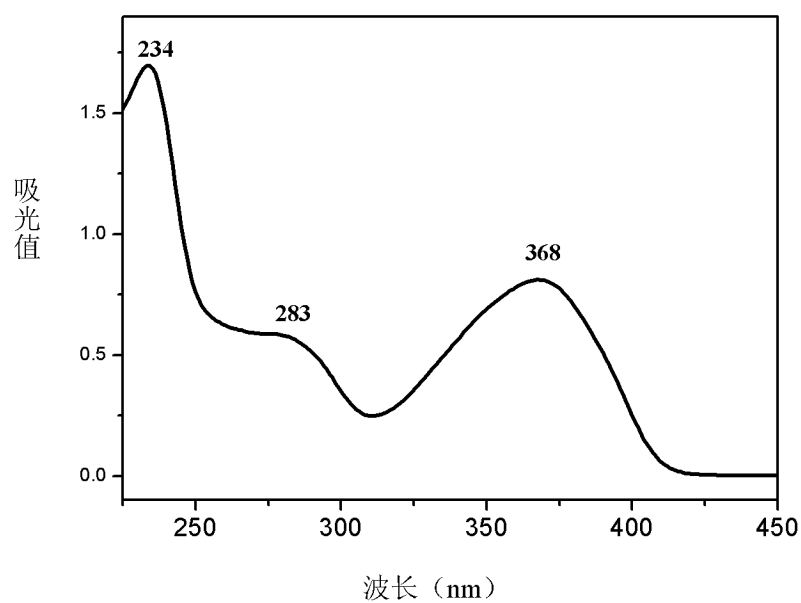


图 1

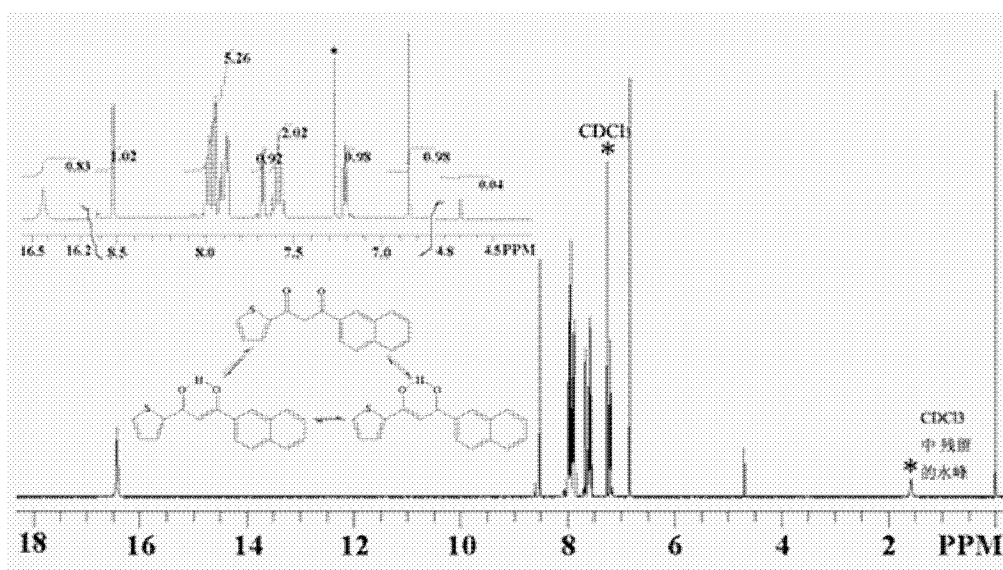


图 2

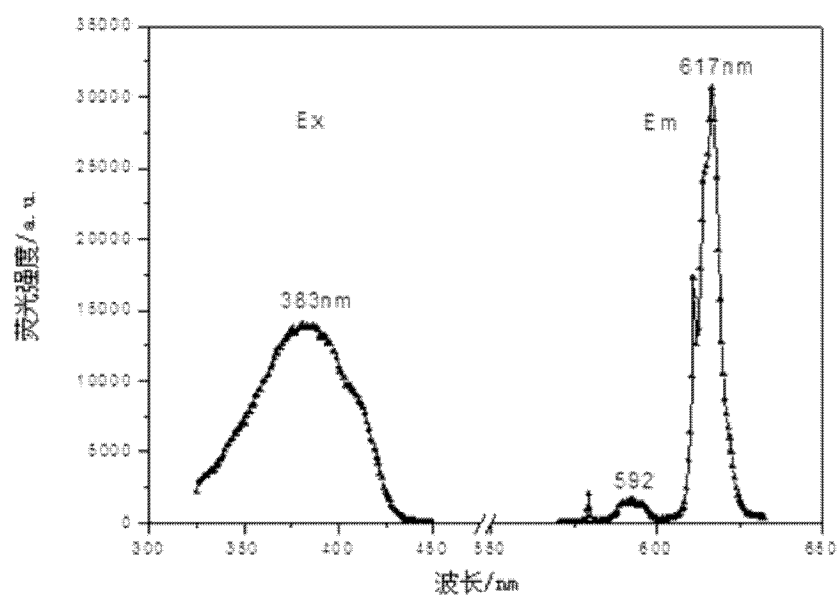


图 3

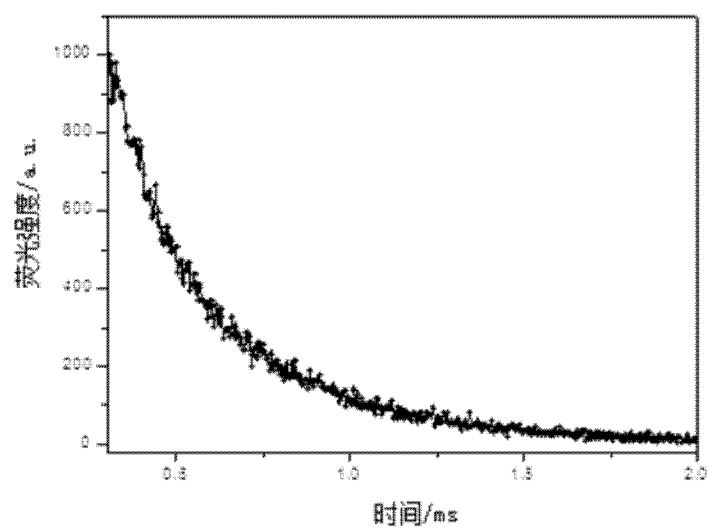


图 4

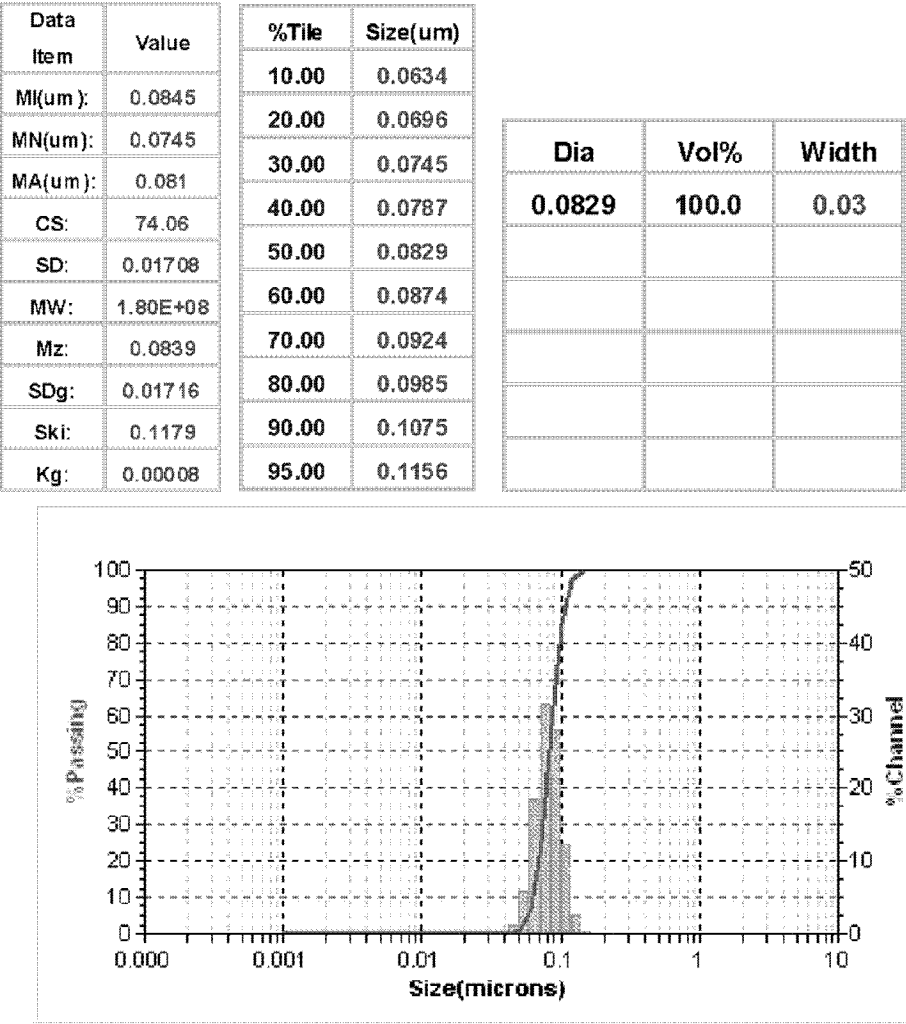


图 5

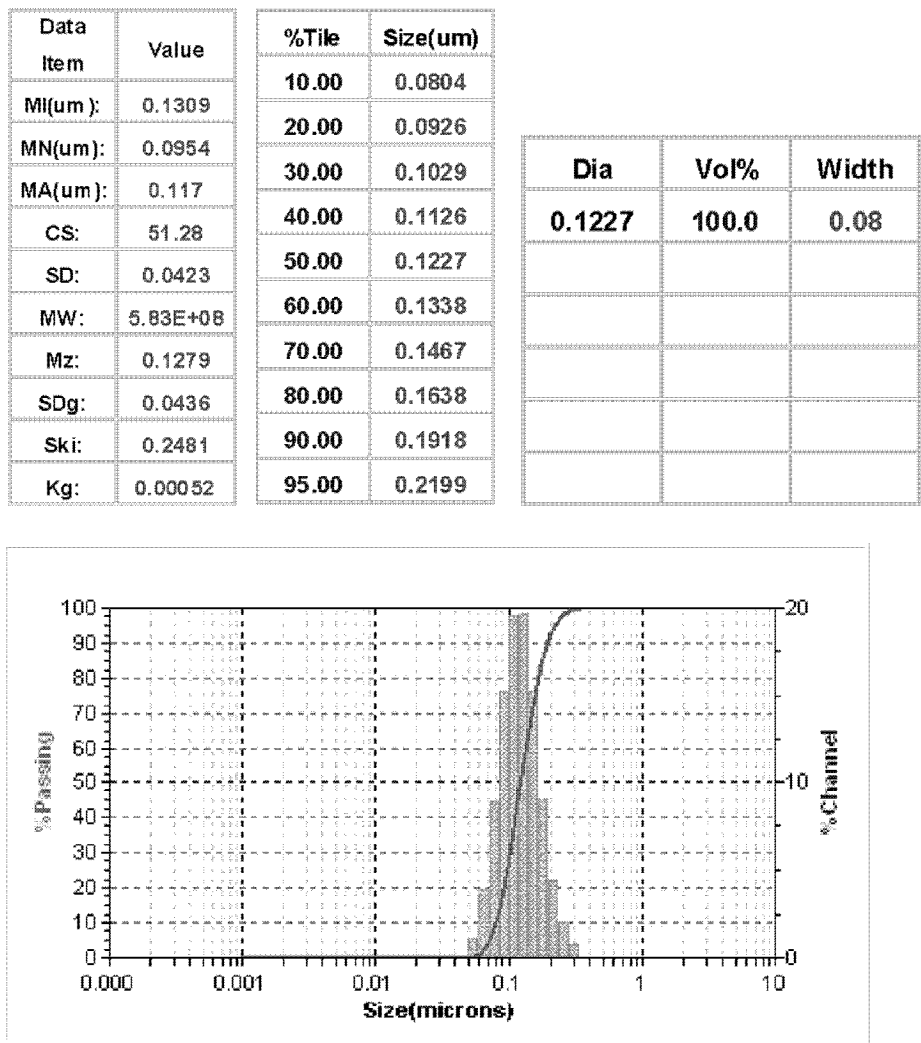


图 6

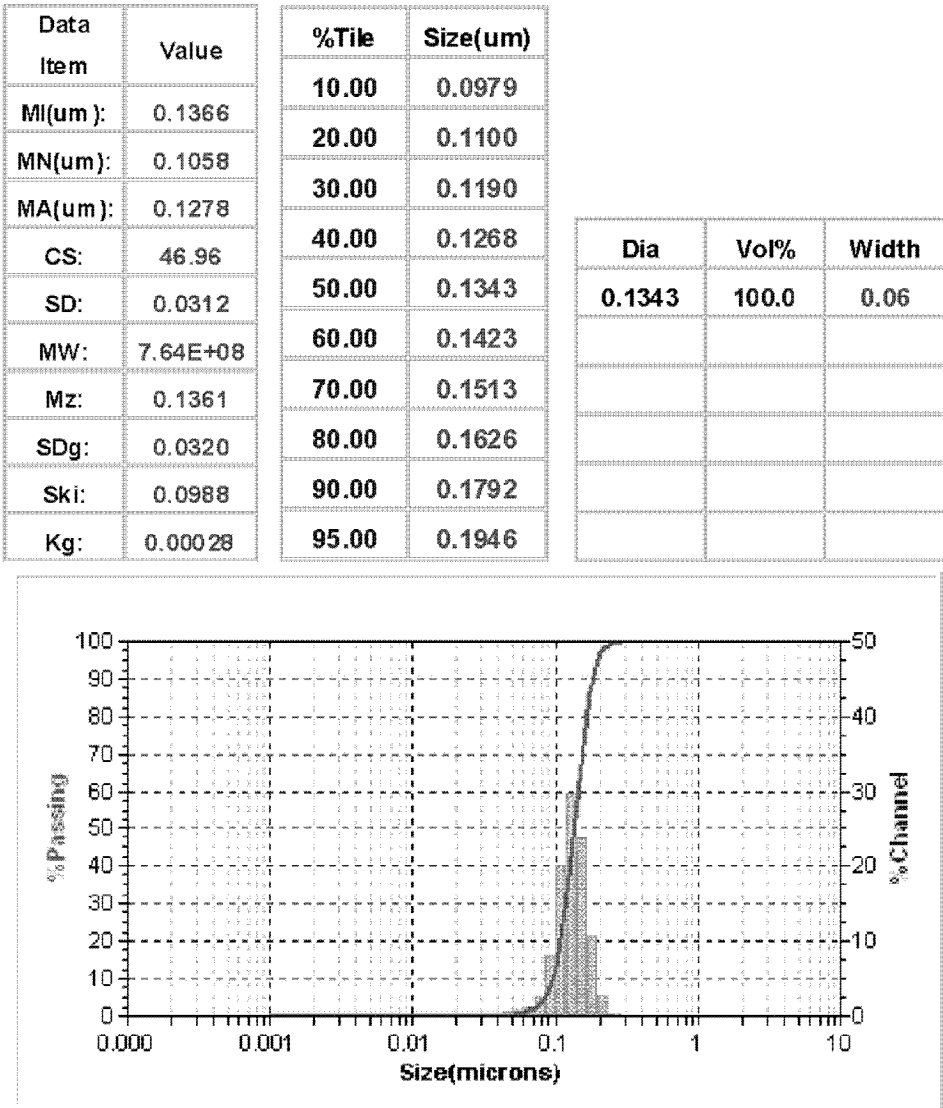


图 7

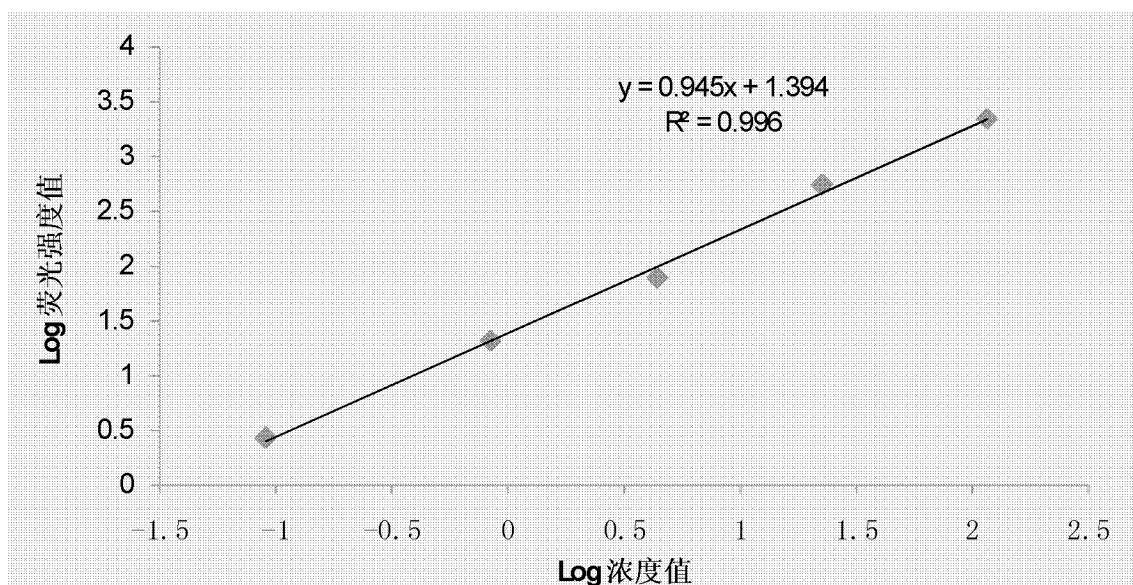


图 8

专利名称(译)	荧光材料及其制备方法和应用		
公开(公告)号	CN103172611A	公开(公告)日	2013-06-26
申请号	CN201110439522.8	申请日	2011-12-26
[标]申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州新波生物技术有限公司		
[标]发明人	吴俊清 任媛媛 杨挥		
发明人	吴俊清 任媛媛 杨挥		
IPC分类号	C07D333/22 C07F19/00 C07F5/00 C09K11/06 G01N21/64 G01N33/53 H01L51/54 C09D7/12		
代理人(译)	高月红		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种荧光材料及其制备方法和应用，该材料结构式如下：
该材料是由有机配体1-萘-3-噻吩-1，3-丙二酮和三正辛基氧膦共同与EuCl₃在有机介质中经配位反应制得。该材料制备工艺简单、所用原料成本低且设备投资少，而且具有很强的荧光强度、高的发光效率、良好的有机溶剂溶解性及稳定性等优点，可应用于有机电致发光领域、发光油墨涂料领域以及标记免疫分析领域等。

