

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.<sup>7</sup>  
C09K 11/06  
G01N 33/533



## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01128075.1

[43] 公开日 2003 年 4 月 2 日

[11] 公开号 CN 1407052A

[22] 申请日 2001.8.22 [21] 申请号 01128075.1

[71] 申请人 中国科学院大连化学物理研究所  
地址 116023 辽宁省大连市中山路 457 号

[72] 发明人 袁景利 谭明乾 王桂兰

[74] 专利代理机构 沈阳科苑专利代理有限责任公  
司  
代理人 许宗富 周秀梅

权利要求书 3 页 说明书 23 页 附图 2 页

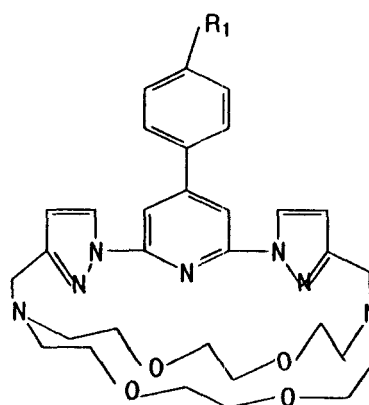
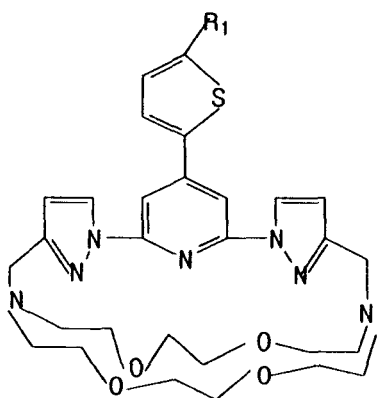
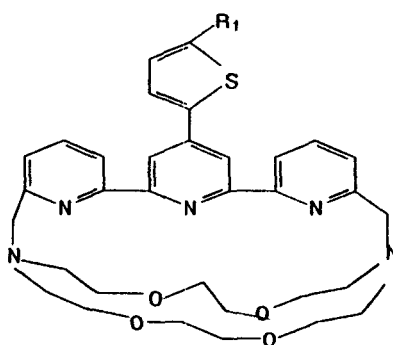
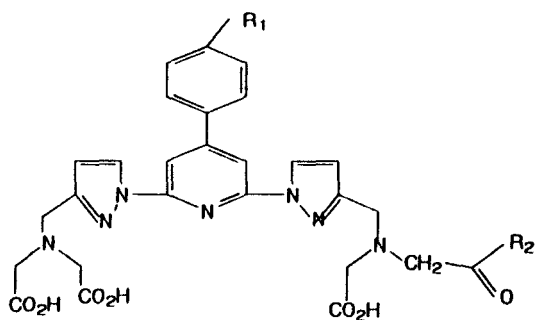
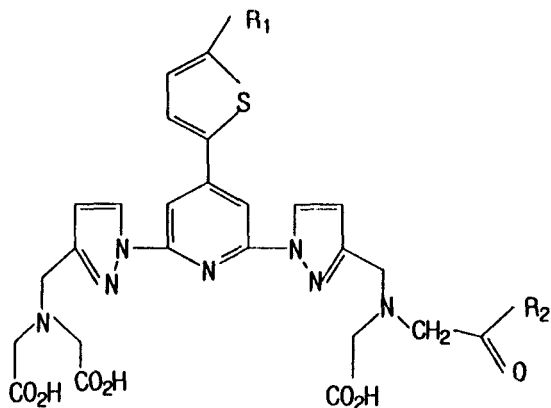
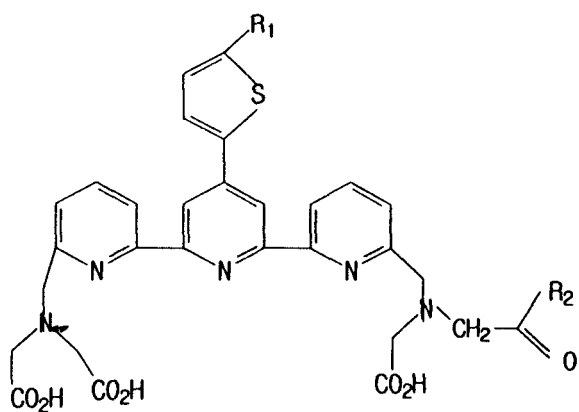
[54] 发明名称 新型稀土荧光标记物及其应用

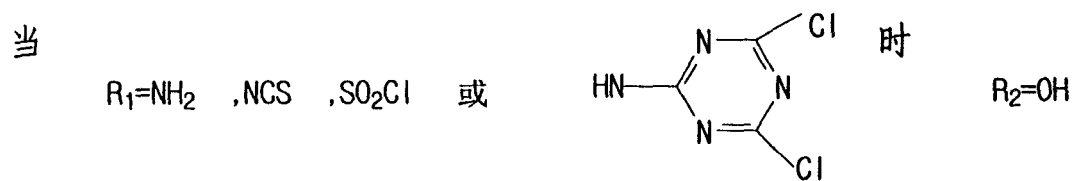
[57] 摘要

本发明涉及一种新型稀土荧光标记物及其应用。新型稀土荧光标记物是稀土离子  $\text{Eu}^{3+}$ 、 $\text{Sm}^{3+}$ 、 $\text{Gd}^{3+}$ 、 $\text{Tb}^{3+}$ 、 $\text{Dy}^{3+}$  与含有 2, 2' : 6', 2'' - 联三吡啶骨架结构或 2, 6 - 二吡啶基吡啶骨架结构类配位体的荧光配合物。该类配合物可通过其含有的功能性基团与蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、核苷酸、有机化合物等物质共价结合而标记这些物质, 进而用于这些物质的荧光测定。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1 一种新型稀土荧光标记物,其特征在于:是以稀土离子 $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Sm}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}$ ,  $\text{Tb}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$ 与含有 2, 2': 6', 2''-联三吡啶骨架结构或 2, 6-二吡唑基吡啶骨架结构类配位体形成的荧光配合物; 其中所述配位体结构式为:





当  $R_1 = \text{H}$  时



当骨架结构下部为冠醚结构时,



2. 一种根据权利要求 1 所述新型稀土荧光标记物的应用, 其特征在于: 利用所述新型稀土荧光标记物制备标记蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、核苷酸及其它标记有机化合物, 具体制备方法如下:

1) 将待标记物溶于 pH 值 9.1 的 0.1mol/L 碳酸氢钠缓冲溶液中后, 加入荧光标记物的配位体, 室温下搅拌反应 3 小时后;

2) 通过透析或柱层析方法除去反应液中的未反应的标记物;

3) 收集已标记的溶液, 加入稀土离子溶液后即制得所需的标记产物, 其标记物: 稀土离子=1: 1~1.5。

3. 一种根据权利要求 1 所述新型稀土荧光标记物的应用, 其特征在于: 首先利用所述新型稀土荧光标记物标记一种反应原料, 在标记反应原料与待测物反应之后, 分离除去未反应的标记反应原料, 然后通过时间分辨荧光测定法测

定反应生成物的荧光强度来测定待测物的浓度；或首先利用所述新型稀土荧光标记物标记样品中的待测物，将标记待测物与未反应的稀土荧光标记物分离后，通过时间分辨荧光测定法测定标记待测物的荧光强度来测定待测物的浓度。

4. 根据权利要求3所述的标记物的应用，其特征在于：其中所述的时间分辨荧光测定法为时间分辨荧光免疫测定法、时间分辨荧光免疫组织化学测定法、时间分辨荧光显微镜测定法、时间分辨荧光细胞活性测定法、时间分辨荧光液相色谱测定法或时间分辨荧光毛细管电泳测定法。

5. 一种根据权利要求1所述新型稀土荧光标记物的应用，其特征在于：利用所述新型稀土荧光标记物标记核酸，在标记核酸与待测核酸反应之后，分离除去未反应的标记核酸，然后通过时间分辨荧光测定法测定反应生成物的荧光强度来测定待测核酸的浓度。

6. 根据权利要求5所述的标记物的应用，其特征在于：其中所述的核酸荧光测定法为核酸杂交测定法、荧光PCR测定法、基因芯片测定法或分子信标测定法。

## 新型稀土荧光标记物及其应用

### 技术领域

本发明涉及微量生理活性物质的测定技术，具体地说是一种新型稀土荧光标记物及其应用。

### 背景技术

作为生体试料（细胞组织、血液、尿等）中微量生理活性物质的测定方法，免疫测定法、DNA 杂交测定法等已广泛应用于各种临床测定中。在这些测定中均需使用某种标记物来标记抗体、抗原、核苷酸、核酸等物质。目前作为标记物使用的物质包括放射性元素、酶、荧光化合物、化学发光化合物等。它们的不足之处在于：1）使用放射性标记物的方法，放射性标记物及其标记产品在储藏、运输、使用、废液处理等方面存在许多的不便和麻烦，并可导致环境污染，而且放射性标记物的自身衰减问题，导致其可保存时间较短。2）使用酶标记物的方法，酶标记物的分子量太大，其活性极易受到温度、保存条件、酸度、杂离子、防腐剂等的影响，导致该方法再现性较差。3）使用有机荧光标记物的测定方法在用于生体组织、血清等样品测定时，由于激发光的散乱光和样品产生的强本底荧光的影响，使该方法的灵敏度较低，只适用于高浓度物质的测定。

近年来稀土荧光配合物作为标记物的时间分辨荧光测定法已广泛应用于各种测定中。稀土荧光配合物具有荧光寿命极长、Stokes 位移大、荧光发光峰尖锐等特点，通过使用时间分辨荧光测定法，可非常有效地消除激发光的散乱光

和样品产生的本底荧光对荧光测定的影响，从而极大地提高测定灵敏度。目前的稀土荧光标记物及时间分辨荧光测定法包括：

(1) 芬兰 Wallac 公司开发的溶解增强时间分辨荧光测定法（简称 DELFIA 测定法），文献 1: E. Soini and T. Lovgren, *CRC. Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1987, 18, 105-154. 文献 2: E. P. Diamandis and T. K. Christopoulos, *Anal. Chem.*, 1990, 62, 1149A-1157A. 文献 3: I. Hemmila, *J. Alloys Compd.*, 1995, 225, 480-485. DELFIA 测定法使用三价铈与 N<sup>1</sup>-(p-异硫脲基苯基)-二乙基三胺四乙酸的配合物作为标记物来标识抗体、抗原等物质，当免疫反应结束后，由于该标记物是非荧光性铈配合物，所以在进行时间分辨荧光测定之前，必须要在反应体系中加入弱酸性的含有 β-二酮类配位体、三辛基氧化磷及表面活性剂的所谓荧光增强溶液，使铈离子转化为强荧光性配合物后才能进行测定。DELFLIA 测定法的灵敏度较高，其不足之处在于：该法的荧光测定的溶液中含有大过量的 β-二酮类配位体及三辛基氧化磷，极易受到测定环境、测定样品及测定用溶液等中的金属离子的污染，对测定操作环境及所用试剂要求极其严格；而且该体系只能进行液相荧光测定，其应用范围受到很大限制。

(2) 加拿大的 Diamandis 等人开发的 FIAGEN 测定法，文献 4: E. P. Diamandis, *Clin. Biochem.*, 1988, 21, 139-150. 文献 5: E. F. G. Dickson, A. Pollak and E. P. Diamandis, *Pharmacol. Ther.*, 1995, 66, 207-235. 该测定法使用荧光性铈配合物 4,7-二(氯磺酰基苯基)-1,10-啡罗啉-2,9-二羧酸（简称 BCPDA）与 Eu<sup>3+</sup>的配合物作为标记物来标识抗体、抗原等物质，当免疫反应结束后不需加入荧光增强溶液即可直接对免疫复合物进行时间分辨荧光测定。该法

的缺点是 BCPDA 的铕配合物荧光较弱，测定灵敏度较低。

(3) 法国的 Mathis 等人开发的 TRACE 测定法，文献 6: G. Mathis, Clin. Chem., 1995, 41, 1391-1397. ;文献 7: G. Mathis, J. Clin. Ligand Assay, 1997, 20, 141-147. 该法的同时使用三(联二吡啶)窝穴体(简称 TBP)与  $\text{Eu}^{3+}$  的荧光配合物和蓝藻蛋白(allophycocyanin)作为荧光标记物的均相时间分辨荧光测定法。其缺点是测定灵敏度较低并且试剂价格昂贵。

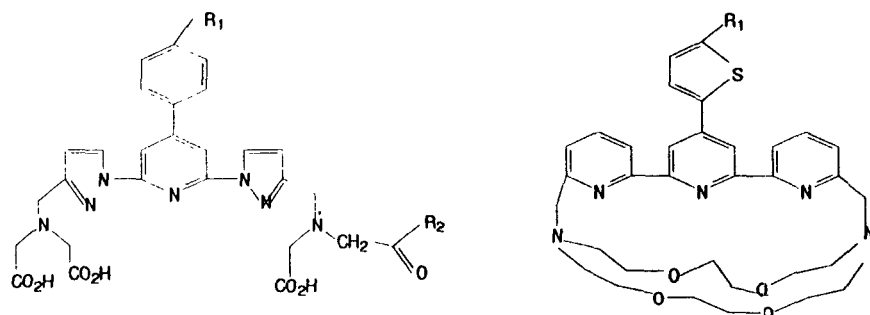
(4) 用氯磺化  $\beta$ -二酮与铕的配合物作为标记物的时间分辨荧光测定法，文献 8: J. Yuan, K. Matsumoto and H. Kimura, Anal. Chem., 1998, 70, 596-601. 文献 9: 松本和子, 袁景利, 日本公开特许公报, 1997, 特开平 9-241233. 文献 10: K. Matsumoto and J. Yuan, United States Patent, 1999, Patent number 5859297. 文献 11: J. Yuan and K. Matsumoto, Bunseki Kagaku, 1999, 48, 1077-1083. 该法的测定灵敏度高、不需使用荧光增强溶液，其缺点是标记物水溶性差，不适用于小分子物质的标记。

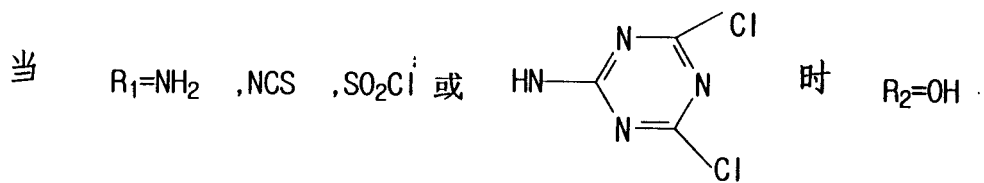
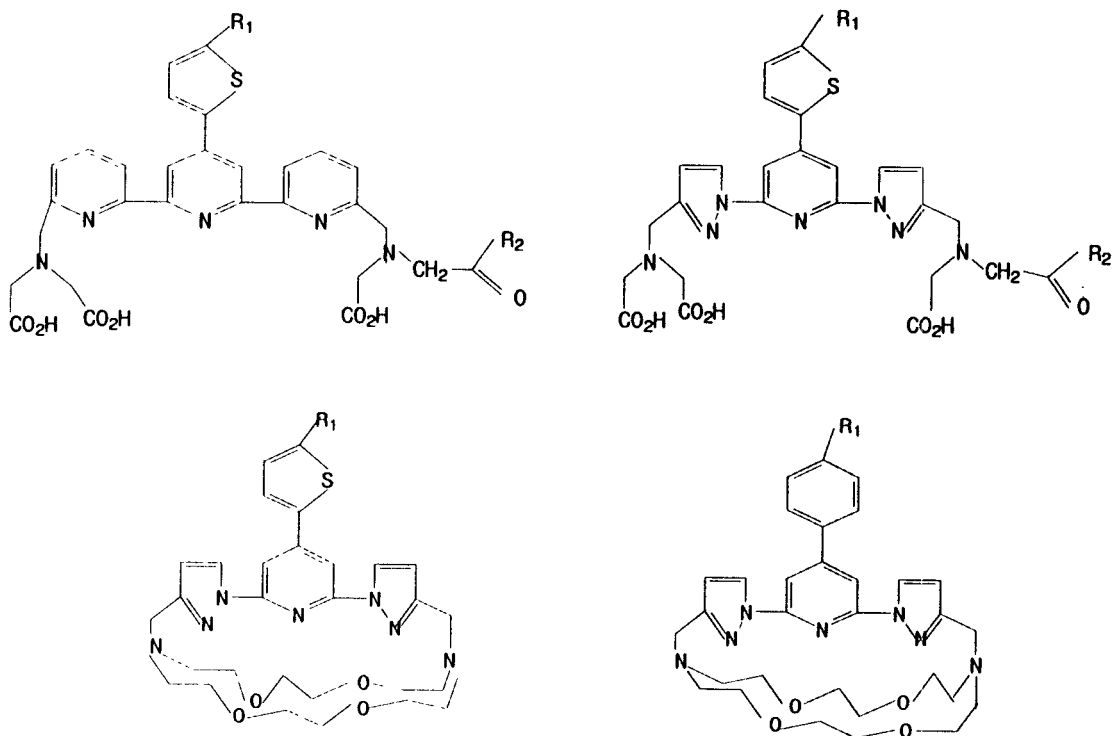
## 发明内容

本发明的目的是提供一种灵敏度高、适用范围广的新型稀土荧光标记物及其应用。

本发明技术方案是：是以稀土离子与含有 2, 2': 6', 2''-联三吡啶骨架结构或 2, 6-二吡啶基吡啶骨架结构类配位体形成的荧光配合物，其所述配位体结构式

为：

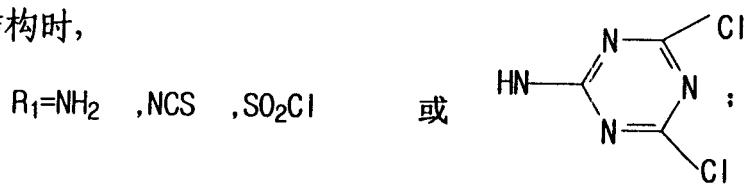




当  $R_1 = \text{H}$  时



当骨架结构下部为冠醚结构时,



本发明的荧光配合物能广泛用于制备标记蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、

核苷酸及其它标记有机化合物；具体制备方法如下：

- 1) 将待标记物溶于 pH 值 9.1 的 0.1mol/L 碳酸氢钠缓冲溶液中后，加入荧光标记物的配位体，室温下搅拌反应 3 小时后；
- 2) 通过透析或柱层析方法除去反应液中的未反应的标记物；
- 3) 收集已标记的溶液，加入稀土离子溶液（标记物：稀土离子=1: 1~1.5）后即制得所需的标记产物；

制得的标记产物低温下保存；当标记产物是标记抗体等蛋白质时，应在溶液中加入防腐剂（如  $\text{NaN}_3$ ），和蛋白质活性稳定剂（如 BSA），然后低温下保存；

本发明的荧光配合物可在时间分辨荧光测定法中广为应用；即利用所述新型稀土荧光标记物在时间分辨荧光测定法中标记待测物，通过测定荧光标记物的荧光强度或相对荧光强度比值来测定待测物的浓度；首先利用所述新型稀土荧光标记物标记一种反应原料（如抗体或抗原），在标记反应原料与待测物反应之后，分离除去未反应的标记反应原料，然后通过时间分辨荧光测定法测定反应生成物的荧光强度来测定待测物的浓度，或首先利用所述新型稀土荧光标记物标记样品中的待测物（如氨基酸，多肽，药物等），（利用某种分离方法如液相色谱，电泳等）将标记待测物与未反应的稀土荧光标记物分离后，通过时间分辨荧光测定法测定标记待测物的荧光强度来测定待测物的浓度；

其中所述的时间分辨荧光测定法包括时间分辨荧光免疫测定法、时间分辨荧光免疫组织化学测定法、时间分辨荧光显微镜测定法、时间分辨荧光细胞活性测定法、时间分辨荧光液相色谱测定法和时间分辨荧光毛细管电泳测定法；

本发明的荧光配合物也可在核酸（DNA 和 RNA）荧光测定法中应用；即利用

所述新型稀土荧光标记物在核酸（DNA 和 RNA）荧光测定法中标记待测物，用时间分辨荧光仪测定其浓度；即利用所述新型稀土荧光标记物标记核酸包括核酸探针，核苷酸，寡核苷酸，在标记核酸与待测核酸（包括 DNA 和 RNA）反应之后，分离除去未反应的标记核酸，然后通过时间分辨荧光测定法测定反应生成物的荧光强度来测定待测核酸的浓度；

其中所述的核酸（DNA 和 RNA）荧光测定法为核酸杂交测定法、荧光 PCR 测定法、基因芯片测定法或分子信标测定法。

本发明具有如下优点：

1. 本发明的新型稀土荧光标记物适用范围广。水溶性好；该类配合物可通过其含有的功能性基团与蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、核苷酸、有机化合物等物质形成共价键结合而标记这些物质，进而用于这些物质的时间分辨荧光测定；并且该类配合物还可于核酸（DNA 和 RNA）荧光测定法中。

2. 本发明的新型稀土荧光标记物使用简便。制得的新型配位体标记物不用进一步精制，可直接用于蛋白质等的标识。

3. 本发明的新型稀土荧光标记物在固态或水溶态中均十分稳定。其荧光性质不受缓冲溶液组成等因素的影响。

4. 本发明的新型稀土荧光标记物的荧光量子收率大。配合物的最大激发光波长在紫外区，其发光峰形状均为稀土离子配合物特征的尖锐形发光峰。

### 附图说明

图 1 是 TTTA-Eu<sup>3+</sup>在 pH 值 9.1 的 0.05mol/L 硼酸缓冲溶液中的荧光光谱，其浓度是  $1.0 \times 10^{-6}$  mol/L。

图 2 是 BT TA-Eu<sup>3+</sup>在 pH 值 9.1 的 0.05mol/L 硼酸缓冲溶液中的荧光光谱, 其浓度是 1.0 x 10<sup>-6</sup> mol/L。

图 3 是 TTTA-Eu<sup>3+</sup>和 BT TA-Eu<sup>3+</sup>溶液的时间分辨荧光测定结果。其中溶剂为 pH 值 7.8 的 0.05mol/L Tris-HCl 缓冲溶液。

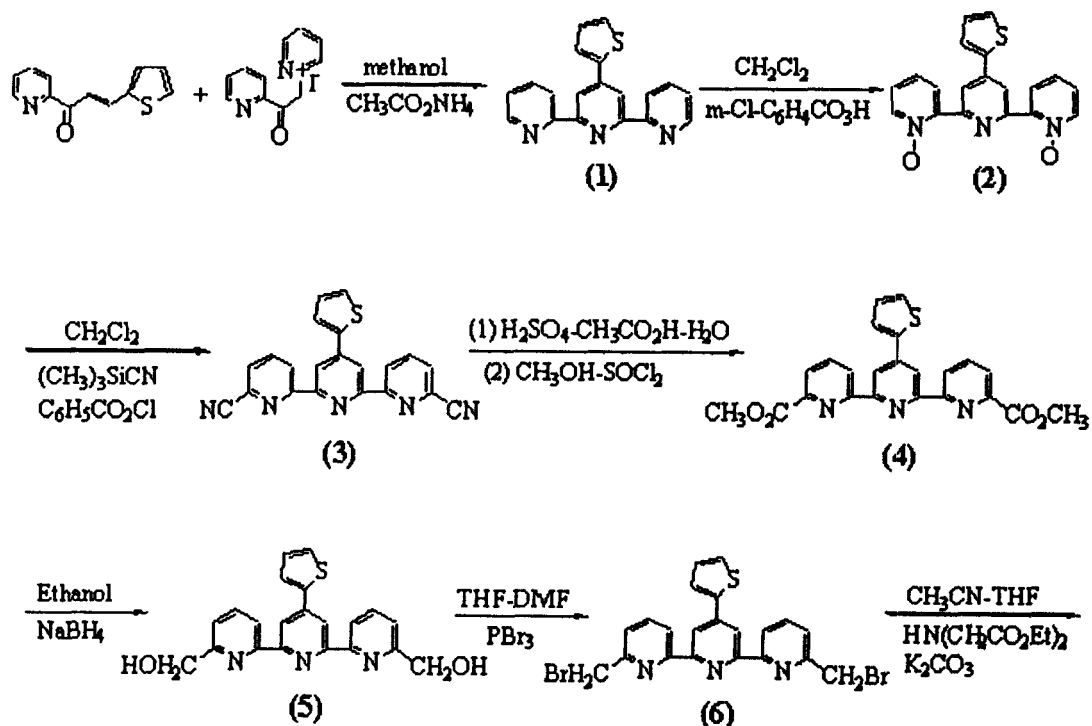
图 4 是使用 TTTA-Eu<sup>3+</sup>标记链亲和素的时间分辨荧光免疫测定法测定人血清中 TSH 的工作曲线。

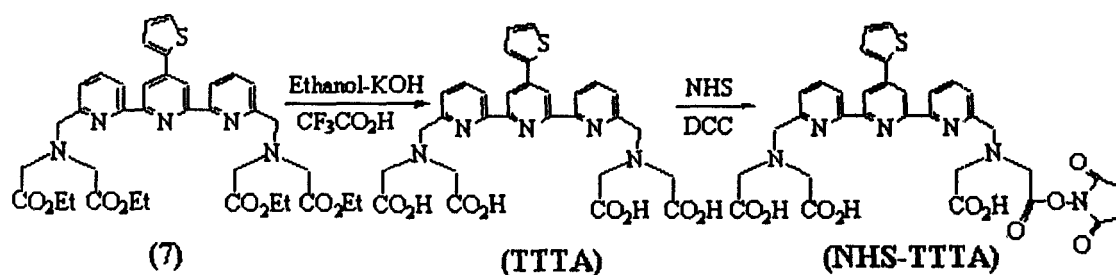
### 具体实施方式

下面通过实施例对本发明作进一步说明。

#### 实施例 1

标记物 4'-(2'''-噻吩基)-2, 2': 6', 2''-联三吡啶-6, 6''-二甲胺四乙酸单 N-羧基琥珀酰胺酯 (简称 NHS-TTTA) 的合成。标记物 NHS-TTTA 由下面所示合成路线合成,





具体操作过程如下:

(1) 4'-(2'''-噻吩基)-2, 2': 6', 2''-联三吡啶 (化合物 1) 的合成

在 500ml 干燥甲醇中加入 23.1 克醋酸铵, 16.3 克 N-[2-(pyrid-2'-yl)-2-oxoethyl] pyridinium iodide (N-[2-(2'-吡啶基)-2-氧代乙基]吡啶碘化物, 50 mmol), 和 10.76 克 (E)-3-(2''-thenyl)-1-(pyrid-2'-yl)prop-2-enone ((E)-3-(2''-噻吩基)-1-(2'-吡啶基)-2-丙烯酮, 50 mmol), 溶液搅拌下回馏 24 小时。反应液冷至室温后, 在-15℃放置 1 小时, 过滤收集沉淀, 用冷甲醇 (-15℃左右) 充分洗涤后, 产品用乙腈重结晶。得目标化合物 6.91 克 (43.8% 收率)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 即氘代氯仿) 测定结果: 8.74 (d, J, 7.9 Hz, 2H), 8.69 (s, 2H), 8.64 (d, J, 7.9 Hz, 2H), 7.87 (t, J, 7.9 Hz, 2H), 7.78 (d, J, 3.6Hz, 1H), 7.44 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.38-7.32 (m, 2H), 7.19-7.15 (m, 1H)。

(2) 4'-(2'''-噻吩基)-2, 2': 6', 2''-联三吡啶-1, 1''-二氧化物 (化合物 2) 的合成

500 ml 二氯甲烷中加入 12.61 克化合物 1 (40mmol) 和 40 克间氯过氧化苯甲酸, 室温下搅拌反应 20 小时后, 反应液用 200ml 的 10%碳酸钠洗涤 4 次。有机相用无水硫酸钠干燥后, 蒸馏除去二氯甲烷。将产物溶于 300ml 甲醇中, 过滤除去微量的不溶物, 滤液减压蒸馏除去甲醇后, 产品用乙腈充分洗涤并真空干燥。得目标化合物 8.53 克 (61.4%收率)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 测定结果: 9.23 (s,

2H), 8.35 (d, J, 6.6Hz, 2H), 8.23 (d, J, 7.9 Hz, 2H), 7.70 (d, J, 3.6Hz, 1H), 7.45–7.28 (m, 5H), 7.16–7.13 (m, 1H)。

(3) 6,6''-二腈基-4'-(2'''-噻吩基)-2,2':6',2''-联三吡啶 (化合物 3) 的合成

在 300 ml 二氯甲烷中加入 8.69 克化合物 2 (25 mmol) 和 24.80 克  $(\text{CH}_3)_3\text{SiCN}$  (250 mmol), 室温搅拌 20 分钟后, 搅拌下缓慢 (约 20 分钟) 滴入 14.05 克苯甲酰氯 (100 mmol)。反应液室温下搅拌 20 小时后, 减压蒸发溶剂至溶液体积为 150ml, 加入 10% 碳酸钾水溶液 600ml, 继续室温下搅拌 1 小时。过滤收集沉淀, 用水充分洗涤后, 再用冷二氯甲烷 ( $-15^\circ\text{C}$  左右) 洗涤, 然后真空干燥。得目标化合物 9.0 克 (98.5% 收率)。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ ) 测定结果: 8.95 (d, J, 7.9 Hz, 2H), 8.62 (s, 2H), 8.32–8.26 (m, 2H), 8.19 (d, J, 7.6 Hz, 2H), 8.07 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.86 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.28–7.31 (m, 1H)。

(4) 4'-(2'''-噻吩基)-2,2':6',2''-联三吡啶-6,6''-二羧酸甲酯 (化合物 4) 的合成

将 4.40 克化合物 3 加入到 45ml 硫酸-45ml 醋酸-12ml 水的溶液中。75–80  $^\circ\text{C}$  下搅拌反应 48 小时后, 反应液加入到 300ml 冰水中, 过滤收集沉淀, 用水充分洗涤后, 再用无水乙醇洗涤, 真空干燥 (得 4.85 克水解产物)。

在 400ml 干燥甲醇中, 外部用冰水冷却下加入 8 克氯化亚砷, 搅拌 15 分钟后, 加入 4.85 克上述水解产物, 反应液搅拌回馏 8 小时后, 室温下继续搅拌 16 小时。蒸去溶剂后, 生成物用氯仿反复抽提。氯仿溶液用饱和碳酸氢钠溶液洗涤后, 用无水硫酸钠干燥。蒸去溶剂后, 生成物用硅胶柱层析分离, 用二氯甲

烷-甲醇(w/w, 99:1)展开, 收集最先洗出的第一个组分。蒸去溶剂后, 产品用甲苯重结晶, 真空干燥, 得目标化合物 2.50 克(48.1%收率)。元素分析结果(%), 按  $C_{23}H_{17}N_3O_4S$  计算值: C = 64.03, H = 3.97, N = 9.74; 实测值: C = 63.76, H = 3.83, N = 9.52。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) 测定结果: 8.16 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 8.78 (s, 2H), 8.20 (d, J, 7.6 Hz, 2H), 8.03 (t, J, 7.8 Hz, 2H), 7.82 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.49 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.22-7.19 (m, 1H), 4.08 (s, 6H)。

(5) 6,6''-二羟甲基-4'-(2'''-噻吩基)-2,2':6',2''-联三吡啶(化合物 5)的合成

在 200ml 干燥乙醇中加入 2.89 克化合物 4 (6.7 mmol) 和 1.05 克  $NaBH_4$ , 室温下搅拌 3 小时后, 搅拌回馏 1 小时。减压蒸去乙醇, 产物中加入 100ml 饱和碳酸氢钠水溶液, 搅拌下加热至沸腾。冷却后过滤收集不溶物, 用水洗涤后真空干燥。将产品加热溶于 200ml 四氢呋喃中, 过滤除去不溶物, 减压蒸去四氢呋喃后, 产品用乙腈充分洗涤, 真空干燥。得目标化合物 1.82 克(72.2%收率)。 $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ ) 测定结果: 8.63 (s, 2H), 8.50 (d, J, 7.3 Hz, 2H), 8.03 (t, J, 7.3 Hz, 2H), 7.93 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.82 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.61 (d, J, 7.1 Hz, 2H), 7.28-7.31 (m, 1H), 4.74 (s, 4H)。

(6) 6,6''-二溴甲基-4'-(2'''-噻吩基)-2,2':6',2''-联三吡啶(化合物 6)的合成

在 200 ml 干燥四氢呋喃-30ml 干燥 N,N-二甲基甲酰胺中加入 2.17 克化合物 5 和 4.75 克三溴化磷, 反应液搅拌回馏 5 小时后, 减压蒸去溶剂。将生成物溶于 300ml 氯仿, 氯仿溶液用 4 x 100 ml(即四次每次使用 100 毫升)的 10%  $Na_2CO_3$

水溶液洗涤 4 次后, 用无水硫酸钠干燥。过滤除去硫酸钠, 减压蒸去氯仿溶液, 产品用正己烷充分洗涤, 真空干燥, 得目标化合物 2.02 克 (69.7%收率)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 测定结果: 8.71 (s, 2H), 8.54 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 7.87 (t, J, 7.8 Hz, 2H), 7.78 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.52 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 7.48 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.21-7.19 (m, 1H), 4.70 (s, 4H)。

(7) 4'-(2'''-噻吩基)-2, 2': 6', 2''-联三吡啶-6, 6''-二甲胺四乙酸四乙酯 (化合物 7) 的合成

在 200 ml 干燥乙腈-50 ml 干燥四氢呋喃中加入 2.04 克化合物 6 (4 mmol), 1.53 克二乙酸乙酯基胺 (8.1 mmol) 溶于 30 ml 干燥乙腈的溶液和 5.52 克 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (40 mmol), 反应液搅拌回馏 24 小时后, 过滤除去不溶物。减压蒸去溶剂后, 将生成物溶于 200ml 氯仿中, 氯仿溶液用 4 x 100 ml 饱和硫酸钠水溶液洗涤后, 用无水硫酸钠干燥。过滤后溶液减压蒸去溶剂, 用石油醚洗涤后真空干燥。所得油状物用硅胶柱层析分离, 用乙酸乙酯-甲醇-四氢呋喃 (w/w/w, 10: 3: 2) 展开, 收集最先洗出的第一个组分。蒸去溶剂后, 真空干燥。得目标化合物 1.95 克 (67.9%收率)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 测定结果: 8.67 (s, 2H), 8.51 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 7.86 (t, J, 7.8 Hz, 2H), 7.78 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.63 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 7.45 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.20-7.17 (m, 1H), 4.19 (q, J, 7.3 Hz, 8H), 3.72 (s, 8H), 3.46 (s, 4H), 1.26 (t, J, 7.3 Hz, 12H)。

(8) 4'-(2'''-噻吩基)-2, 2': 6', 2''-联三吡啶-6, 6''-二甲胺四乙酸 (简称 TTTA) 的合成

将 1.94 克化合物 7 (2.7 mmol) 加入到 120ml 乙醇中, 然后加入 4 克氢氧

化钾和 10ml 水，反应液搅拌回馏 3 小时。减压蒸去溶剂，将生成物溶于 150 ml 水中，过滤除去微量不溶物，向搅拌下的溶液中漫漫滴入的三氟乙酸水溶液至溶液的 pH 值约为 1 为止。溶液室温下搅拌 3 小时后，过滤收集沉淀，用 1% 的三氟乙酸水溶液充分洗涤，真空干燥。将生成物加入到 200ml 乙腈中，搅拌回馏 2 小时，过滤收集沉淀，真空干燥。得目标化合物 0.89 克 (51.4% 收率)。元素分析结果 (%), 按  $C_{29}H_{31}N_5O_9S$  (TTTA·2H<sub>2</sub>O) 计算值: C = 54.29, H = 4.87, N = 10.91; 实测值: C = 54.09, H = 4.57, N = 10.41。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) 测定结果: 8.75 (s, 2H), 8.59 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 8.18 (t, J, 7.8 Hz, 2H), 8.10 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.87 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.75 (d, J, 7.8 Hz, 2H), 7.34–7.31 (m, 1H), 4.72 (s, 4H), 4.28 (s, 8H)。

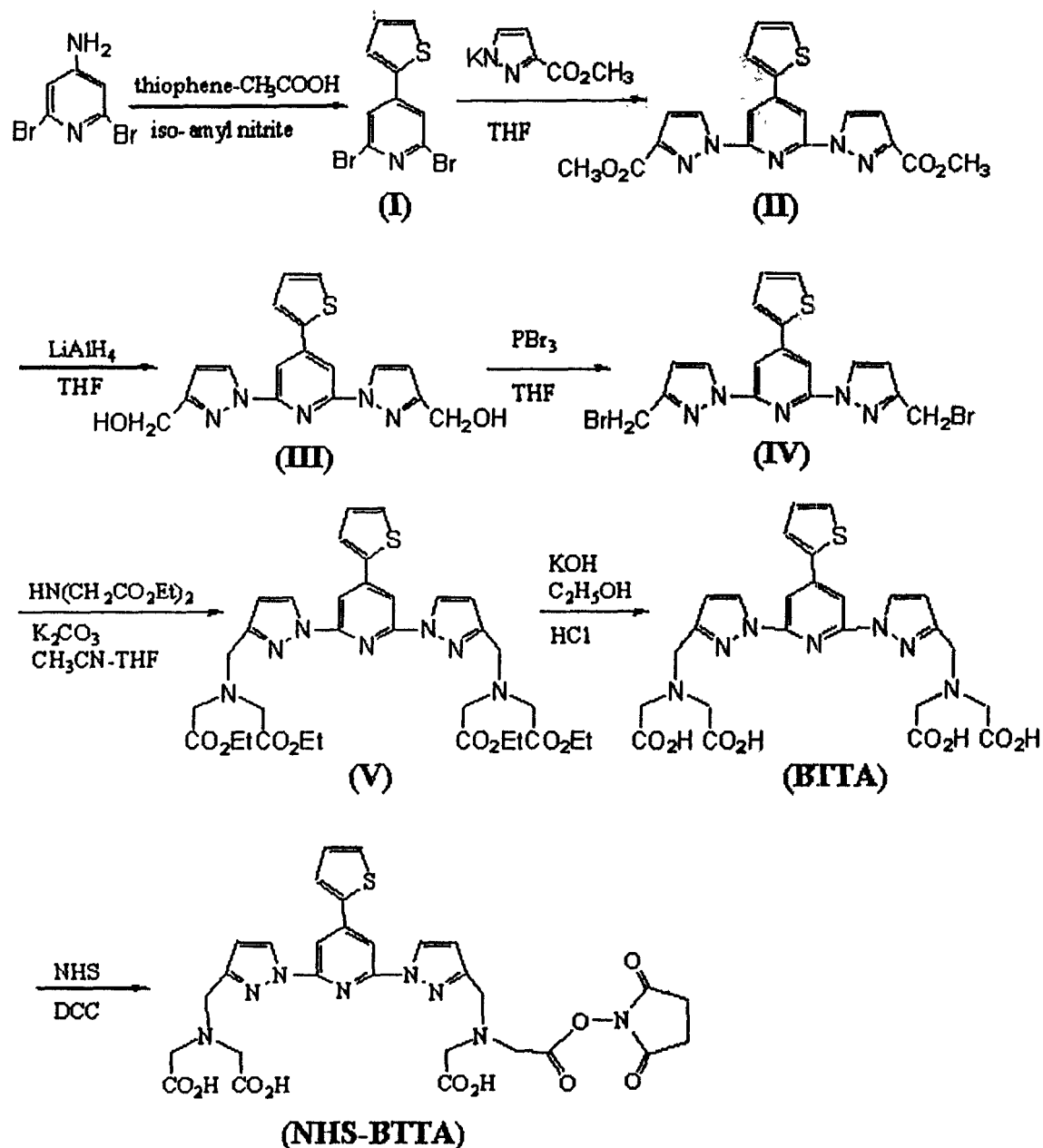
#### (9) NHS-TTTA 的合成

将 TTTA·2H<sub>2</sub>O 在 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 真空干燥器中充分干燥后，取 181.7 mg (0.3 mmol) 溶于 5ml 干燥 N,N-二甲基甲酰胺中，搅拌下加入 34.5 mg (0.3 mmol) 的 N-羟基琥珀酰胺 (NHS) 和 61.9 mg (0.3 mmol) 的 N,N'-二环己基炭化二亚胺 (DCC)，室温下搅拌 24 小时后，过滤除去不溶物。滤液减压浓缩除去溶剂后，生成物用少量异丙醇洗涤，真空干燥。得目标化合物 180 mg (85.4% 收率)。制得的 NHS-TTTA 不用进一步精制，可直接用于蛋白质等的标识。

#### 实施例 2

标记物 N,N,N<sup>1</sup>,N<sup>1</sup>-[2,6-二(3'-胺甲基-1'-吡唑基)-4-(2''-噻吩基)吡啶]四乙酸单 N-羟基琥珀酰胺酯 (简称 NHS-BTTA) 的合成:

标记物 NHS-BTTA 由下面所示合成路线合成,



具体操作过程如下:

(1) 2,6-二溴-4-(2'-噻吩基)吡啶 (化合物 I) 的合成

在 250ml 乙酸中加入 3.25 克 4-氨基-2,6-二溴吡啶 (12.9 mmol) 和 12.9 克噻吩, 搅拌溶解后, 搅拌下滴加入 1.93 克亚硝酰异戊酯溶于 13ml 乙酸中的溶液。反应液室温下搅拌 24 小时后, 50℃ 下继续搅拌反应 3 小时。减压蒸去溶

剂, 生成物用 40ml 的 10%碳酸钾中和, 用 4 x 60 ml 的氯仿抽出生成物。氯仿溶液用无水硫酸钠干燥后, 减压蒸去溶剂。生成物用硅胶柱层析分离, 用二氯甲烷-甲醇 (w/w, 99:1) 展开, 收集最先洗出的第一个组分。蒸去溶剂后, 产品用甲醇重结晶两次, 真空干燥。得目标化合物 1.97 克 (47.9%收率)。元素分析结果 (%), 按  $C_9H_5NBr_2S$  计算值: C = 33.88, H = 1.58, N = 4.39; 实测值: C = 33.46, H = 1.46, N = 4.23。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) 测定结果: 7.60 (s, 2H), 7.50-7.48 (m, 2H), 7.16-7.13 (m, 1H)。

(2) 2,6-二(3'-羧酸甲酯-1'-吡唑基)-4-(2'-噻吩基)吡啶 (化合物 II) 的合成

在 150ml 干燥四氢呋喃中加入 10.1 克 3-羧酸甲酯基吡唑 (80 mmol), 搅拌溶解后加入 3.12 克小块的金属钾, 溶液在 60°C 下搅拌反应至金属钾全部反应完后, 加入 6.38 克的化合物 I (20 mmol)。反应液连续搅拌回馏 7 天后, 减压蒸去溶剂, 生成物用 6 x 150 ml 氯仿抽提可溶物。减压蒸去溶剂, 产品用硅胶柱层析分离, 用二氯甲烷-甲醇 (w/w, 99:1) 展开, 收集最先洗出的第一个组分。蒸去溶剂后, 产品用苯重结晶, 真空干燥。得目标化合物 3.0 克 (36.7%收率)。元素分析结果 (%), 按  $C_{19}H_{15}N_5O_4S$  计算值: C = 55.74, H = 3.69, N = 17.10; 实测值: C = 55.47, H = 3.62, N = 16.82。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) 测定结果: 8.60 (d, J, 2.7 Hz, 2H), 8.22 (s, 2H), 7.79 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.53 (d, J, 5.0 Hz, 1H), 7.20-7.18 (m, 1H), 7.03 (d, J, 2.7Hz, 2H), 4.01 (s, 6H)。

(3) 2,6-二(3'-羟甲基-1'-吡唑基)-4-(2'-噻吩基)吡啶 (化合物 III) 的合成

在 300 ml 干燥四氢呋喃中加入 1.30 克  $\text{LiAlH}_4$ ，然后加入 2.72 克化合物 II (6.64 mmol)，反应液室温下搅拌 4 小时后，慢慢滴入 1.1ml 水，1.1ml 的 15% 氢氧化钠及 4.5 ml 水。室温下搅拌 30 分钟后，过滤除去沉淀，用 3 x 100 ml 四氢呋喃抽提沉淀中的可溶物，合并四氢呋喃溶液。减压蒸去溶剂后，产品用乙腈充分洗涤，真空干燥，得目标化合物 1.60 克 (68.2%收率)。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ ) 测定结果: 8.88 (d, J, 2.6 Hz, 2H), 7.96 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.85 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.29-7.26 (m, 1H), 6.60 (d, J, 2.5 Hz, 2H), 4.58 (s, 4H)。

(4) 2,6-二(3'-溴甲基-1'-吡唑基)-4-(2''-噻吩基)吡啶 (化合物 IV) 的合成

在 200 ml 干燥四氢呋喃中加入 1.59 克化合物 III (4.50 mmol)，搅拌溶解后加入 3.65 克  $\text{PBr}_3$ ，反应液搅拌回馏 4 小时后，减压蒸去溶剂。生成物中加入 100 ml 的 10%碳酸钠溶液，充分搅拌后用氯仿抽出生成物。氯仿溶液中再加入 6 克固体的碳酸氢钠，室温下搅拌 1 小时后，加入无水硫酸钠干燥。过滤后减压蒸馏除去溶剂，产品用正己烷充分洗涤，真空干燥，得目标化合物 2.03 克 (94.1%收率)。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 测定结果: 8.50 (d, J, 2.7 Hz, 2H), 8.02 (s, 2H), 7.72 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.50 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 6.56 (d, J, 2.7 Hz, 2H), 4.59 (s, 4H)。

(5) N,N,N',N'-[2,6-二(3'-胺甲基-1'-吡唑基)-4-(2''-噻吩基)吡啶] 四乙酸四乙酯 (化合物 V) 的合成

在 100 ml 干燥乙腈-30 ml 干燥四氢呋喃中加入 1.20 克化合物 IV (2.50

mmol), 984 mg 的二乙酸乙酯基胺 (5.2 mmol) 溶于 30 ml 干燥乙腈的溶液和 3.45 克  $K_2CO_3$  (25 mmol), 反应液搅拌回馏 24 小时后, 过滤除去不溶物。减压蒸去溶剂, 将生成物溶于 200ml 氯仿中, 氯仿溶液用 2 x 100 ml 水洗涤后, 用无水硫酸钠干燥。过滤后溶液减压蒸去溶剂, 真空干燥。所得油状物用硅胶柱层析分离, 用乙酸乙酯-二氯甲烷 (w/w, 100:10) 展开, 收集最先洗出的第一个组分。蒸去溶剂后, 真空干燥。得目标化合物 0.87 克 (50.0%收率)。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ) 测定结果: 8.51 (d, J, 2.7 Hz, 2H), 8.00 (s, 2H), 7.72 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.49 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.19-7.16 (m, 1H), 6.56 (d, J, 2.7 Hz, 2H), 4.20 (q, J, 7.2 Hz, 8H), 4.09 (s, 4H), 3.66 (s, 8H), 1.28 (t, J, 7.2Hz, 12H)。

(6) N,N,N',N'-[2,6-二(3'-胺甲基-1'-吡唑基)-4-(2''-噻吩基)吡啶]四乙酸(简称 BTTA)的合成

将 850 mg 的化合物 V (1.22 mmol) 加入到 60ml 乙醇中, 然后加入 1.8 克氢氧化钾和 7ml 水, 反应液搅拌回馏 3 小时。减压蒸去溶剂, 将生成物溶于 50 ml 水中, 过滤除去微量不溶物, 向搅拌下的溶液中慢慢滴入的盐酸水溶液至溶液的 pH 值约为 1 为止。溶液室温下搅拌 3 小时后, 过滤收集沉淀, 用 100 倍稀释的浓度 37% 的盐酸水溶液充分洗涤, 真空干燥。得目标化合物 660 mg (92.6%收率)。元素分析结果(%), 按  $C_{25}H_{27}N_7O_9S$  (BTTA· $H_2O$ ) 计算值: C = 49.92, H = 4.52, N = 16.29; 实测值: C = 50.08, H = 4.38, N = 16.09。 $^1H$  NMR ( $DMSO-d_6$ ) 测定结果: 8.90 (d, J, 2.5 Hz, 2H), 7.98 (d, J, 3.6 Hz, 1H), 7.90 (s, 2H), 7.86 (d, J, 5.1 Hz, 1H), 7.30-7.27 (m, 1H), 6.59 (d, J, 2.5 Hz, 2H), 4.00 (s, 4H), 3.52 (s, 8H)。

### (7) NHS-BTTA 的合成

将 BTTA·H<sub>2</sub>O 在 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 真空干燥器中充分干燥后, 取 175.0 mg (0.3 mmol) 溶于 5ml 干燥 N,N-二甲基甲酰胺中, 搅拌下加入 34.5 mg (0.3 mmol) 的 N-羟基琥珀酰胺(NHS)和 61.9 mg (0.3 mmol) 的 N,N'-二环己基炭化二亚胺(DCC), 室温下搅拌 24 小时后, 过滤除去不溶物。滤液减压浓缩除去溶剂后, 生成物用少量异丙醇洗涤, 真空干燥。得目标化合物 172 mg (84.2%收率)。制得的 NHS-BTTA 不用进一步精制, 可直接用于蛋白质等的标识。

### 实施例 3

#### TTTA 和 BTTA 与稀土离子(Eu<sup>3+</sup>和 Tb<sup>3+</sup>)配合物荧光性质测定

##### 1. 荧光光谱、荧光强度及荧光寿命

在水溶液中 TTTA 及 BTTA 与稀土离子混合后可迅速形成稳定的配合物。用 pH 值 9.1 的 0.05mol/L 硼酸缓冲溶液为溶剂测定了 TTTA-Eu<sup>3+</sup>、TTTA-Tb<sup>3+</sup>及 BTTA-Eu<sup>3+</sup>、BTTA-Tb<sup>3+</sup>在该溶剂中的紫外可见光谱、荧光光谱、摩尔吸光系数( $\epsilon$ )、荧光量子收率( $\phi$ )及荧光寿命( $\tau$ )。紫外可见光谱测定用仪器为天美 UV 7500 分光光度计。荧光测定用仪器为 Perkin Elmer LS 50B 荧光分光光度计。量子收率测定使用 4'-苯基-2,2':6',2''-联三吡啶-6,6''-二甲胺四乙酸与 Eu<sup>3+</sup>和 Tb<sup>3+</sup>的配合物作为标准物测得(其 Eu<sup>3+</sup>配合物的 $\epsilon_{335\text{ nm}} = 14300$ ,  $\phi = 0.160$ , Tb<sup>3+</sup>配合物的 $\epsilon_{337\text{ nm}} = 14000$ ,  $\phi = 0.100$ )文献 12: M. Latva, H. Takalo, V.-M. Mikkala, C. Matachescu, J. C. Rodriguez-Ubis and J. Kankare, J. Lumin., 1997, 75, 149-169, 计算式为 $\phi_1 = I_1\epsilon_2C_2\phi_2/I_2\epsilon_1C_1$ , 式中  $I_2$ 、 $\epsilon_2$ 、 $\phi_2$ 、 $C_2$  为标准物的荧光强度、摩尔吸光系数、量子收率和浓度,  $I_1$ 、 $\epsilon_1$ 、 $\phi_1$ 、 $C_1$  为待测物的荧光强度、摩

尔吸光系数、量子收率和浓度。表 1 所示为两种配位体及其配合物在 pH 值 9.1 的 0.05mol/L 硼酸缓冲溶液中的吸收及荧光性质。

表 1. 几种化合物在 pH 值 9.1 的 0.05mol/L 硼酸缓冲溶液中的吸收及荧光性质

化合物	最大吸收波长 (nm)	摩尔吸光系数 ( $\text{mol}^{-1}\text{Lcm}^{-1}$ )	最大荧光发光波长 (nm)	荧光量子收率	荧光寿命 (ms)
TTTA	291	31200			
TTTA-Eu <sup>3+</sup>	296, 336	26700, 24600	615	0.150	1.284
TTTA-Tb <sup>3+</sup>	296, 336	26700, 24300	545	0.002	
BTTA	271, 307	33900, 34100			
BTTA-Eu <sup>3+</sup>	275, 319	33600, 25200	620	0.114	1.352
BTTA-Tb <sup>3+</sup>	275, 319	33600, 25000	545	0.001	

由表 1 可看出, TTTA-Eu<sup>3+</sup>和 BTTA-Eu<sup>3+</sup>均为强荧光性化合物, 并且具有非常长的荧光寿命, 而 TTTA-Tb<sup>3+</sup>和 BTTA-Tb<sup>3+</sup>仅为弱荧光性化合物。

如图 1、2 所示, 两种配合物的最大激发光波长均在紫外区, 其最大荧光发光波长分别在 615nm 和 620 nm, 其发光峰形状均为 Eu<sup>3+</sup>配合物特征的尖锐形发光峰。

## 2. 缓冲溶液 pH 值对配合物荧光性质的影响

用不同 pH 值的 0.05 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲溶液为溶剂, 测定了不同 pH 值下 TTTA-Eu<sup>3+</sup>的荧光强度和荧光寿命, 其结果见表 2。测定结果表明, 在 pH 值为 9-5.8 的变化范围内, TTTA-Eu<sup>3+</sup>的荧光强度和荧光寿命受 pH 值的影响不大。另外在 Tris-HCl 和硼酸盐缓冲溶液中测得的 TTTA-Eu<sup>3+</sup>的荧光强度和荧光寿命几乎相同, 说明 TTTA-Eu<sup>3+</sup>在这些缓冲溶液中有很高的稳定性, 其荧光性质不受缓冲溶液组成的影响。

表2 pH值变化对TTTA-Eu<sup>3+</sup>荧光性质的影响

pH 值	10.0	9.0	8.5	8.0	7.5	6.8	5.8	5.4
荧光强度 (arb. unit)	37.63	43.61	46.16	46.61	45.90	43.55	41.97	40.64
荧光寿命 (ms)	1.103	1.072	1.163	1.217	1.229	1.209	1.182	1.157

### 3. 使用TTTA-Eu<sup>3+</sup>和BTТА-Eu<sup>3+</sup>进行时间分辨荧光测定的灵敏度

用pH值8.0的0.05 mol/L Tris-HCl缓冲溶液为溶剂,配制系列浓度的TTTA-Eu<sup>3+</sup>和BTТА-Eu<sup>3+</sup>溶液,通过时间分辨荧光测定确定了使用TTTA-Eu<sup>3+</sup>和BTТА-Eu<sup>3+</sup>进行时间分辨荧光测定的灵敏度。测定用仪器为WALLAC VICTOR 1420多标记计数仪(PerkinElmer Life Sciences公司产),测定条件为:激发波长,340 nm;检测波长,615 nm;迟延时间(delay time),0.2 ms;窗口时间(window time),0.4 ms;循环时间(cycling time):1.0 ms。

如图3所示,用本底信号标准偏差的2倍计算最低检出下限,得TTTA-Eu<sup>3+</sup>和BTТА-Eu<sup>3+</sup>溶液的时间分辨荧光测定最低检出下限分别为:TTTA-Eu<sup>3+</sup>,  $1.3 \times 10^{-12}$  mol/L, BTТА-Eu<sup>3+</sup>,  $1.4 \times 10^{-12}$  mol/L。说明使用两者的时间分辨荧光测定均具有非常高的灵敏度。

### 实施例4

#### 使用NHS-TTTA-Eu<sup>3+</sup>标记链亲和素

将5mg的链亲和素溶于10ml的pH值9.1的0.1mol/L碳酸氢钠缓冲溶液中后,加入10mg的NHS-TTTA,室温下搅拌反应3小时后。溶液在4℃下对3升的含有0.25克NaN<sub>3</sub>(叠氮钠)的0.1mol/L碳酸氢钠溶液进行三次透析,每次24小时,除去未反应的标记物;透析后取少量溶液用标准EuCl<sub>3</sub>溶液(浓度为 $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L)进行荧光滴定确定溶液中TTTA的浓度,然后计算标记率(TTTA

浓度与链亲和素浓度的比值)。该法制得的标记链亲和素的标记率为 20。所得溶液中加入  $\text{EuCl}_3$  溶液 ( $\text{Eu}^{3+} : \text{TTTA} = 1.5 : 1$ ) 后, 即得到  $\text{TTTA-Eu}^{3+}$  标记链亲和素溶液。该溶液中加入 20mg 的牛血清白蛋白 (BSA) 和 25mg 的  $\text{NaN}_3$  后,  $-20^\circ\text{C}$  下冷冻保存。

在上述溶液用于时间分辨荧光免疫分析时, 用含有 0.2%BSA、0.9%NaCl 和 0.1% $\text{NaN}_3$  的 pH 值 7.8 的 0.05mol/L Tris-HCl 缓冲溶液稀释 1000 倍后使用。

### 实施例 5

使用 NHS-BTTA- $\text{Eu}^{3+}$  标记链亲和素

将 5mg 的链亲和素溶于 10ml 的 pH 值 9.1 的 0.1mol/L 碳酸氢钠缓冲溶液中后, 加入 10mg 的 NHS-BTTA, 室温下搅拌反应 3 小时后。用 Sephadex G-50 柱分离已标记的链亲和素和未反应的标记物, 用 0.05mol/L 的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  溶液作为洗出溶液, 每 1.5ml 分收, 测定各分收溶液在 280 nm 的吸光度, 合并洗出的标记蛋白质溶液。取少量标记蛋白质溶液用标准  $\text{EuCl}_3$  溶液 (浓度为  $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L) 进行荧光滴定确定溶液中 BTTA 的浓度, 然后计算标记率。该法制得的标记链亲和素的标记率为 18。所得溶液中加入  $\text{EuCl}_3$  溶液 ( $\text{Eu}^{3+} : \text{BTTA} = 1.5 : 1$ ) 后, 即得到  $\text{BTTA-Eu}^{3+}$  标记链亲和素溶液。该溶液中加入 20mg 的 BSA 和 25mg 的  $\text{NaN}_3$  后,  $-20^\circ\text{C}$  下冷冻保存。

### 实施例 6

使用  $\text{TTTA-Eu}^{3+}$  标记链亲和素的时间分辨荧光免疫测定法测定人血清中的促甲状腺素 (TSH)

#### 1. 生物素标记抗人 TSH $\alpha$ -亚单元单克隆抗体的制备

按文献 13: J. Yuan, G. Wang, H. Kimura and K. Matsumoto, Anal. Sci., 1998, 14, 421-423 中方法制备。在用于时间分辨荧光免疫分析时, 用含有 0.2%BSA、0.9%NaCl 和 0.1%NaN<sub>3</sub> 的 pH 值 7.8 的 0.05mol/LTris-HCl 缓冲溶液稀释到所需浓度后使用。

## 2. 96 微孔板的包被

在 96 微孔板 (Fluoro Nunc 微孔板) 的各孔中加入 60 微升的抗人 TSH  $\beta$ -亚单元单克隆抗体 (10 微克/毫升, Mitsubishi Chem. Co. 产品) 的 pH 值 9.6 的 0.1mol/L 碳酸氢钠溶液后, 4℃ 下放置 24 小时。弃去溶液后, 各孔用含有 0.05% 吐温 20 的 pH 值 7.8 的 0.05mol/LTris-HCl 溶液洗涤两次, 再用 pH 值 7.8 的 0.05mol/LTris-HCl 溶液洗涤一次, 即得到抗人 TSH  $\beta$ -亚单元单克隆抗体包被的 96 微孔板。

## 3. 人血清 TSH 的测定

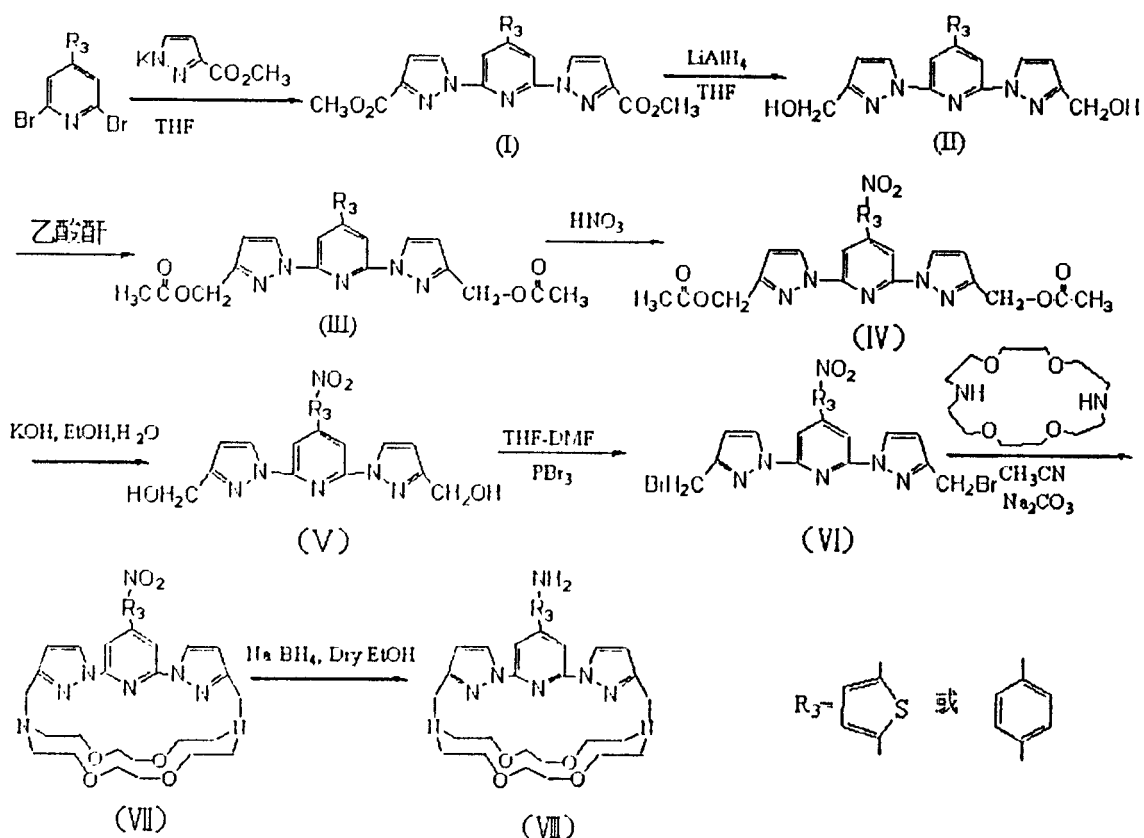
在上述包被后孔板的孔中, 加入 50 微升的 TSH 标准溶液 (TSH 标准溶液具体浓度是, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.00 mIU/L) 系列和人血清样品, 37℃ 下放置 1 小时后, 弃去溶液, 各孔用含有 0.05% 吐温 20 的 pH 值 7.8 的 0.05mol/L Tris-HCl 溶液洗涤两次, 再用 pH 值 7.8 的 0.05mol/LTris-HCl 溶液洗涤一次。向各孔中加入 50 微升的生物素标记抗人 TSH  $\alpha$ -亚单元单克隆抗体溶液 (溶液浓度参照文献 13 配制即可), 37℃ 下放置 1 小时后, 弃去溶液, 各孔用含有 0.05% 吐温 20 的 pH 值 7.8 的 0.05mol/L Tris-HCl 溶液洗涤两次, 再用 pH 值 7.8 的 0.05mol/LTris-HCl 溶液洗涤一次。向各孔中加入 50 微升的 TTTA-Eu<sup>3+</sup> 标记链亲和素溶液, 37℃ 下放置 1 小时后, 弃去溶液, 各孔用含有 0.05% 吐温 20 的 pH

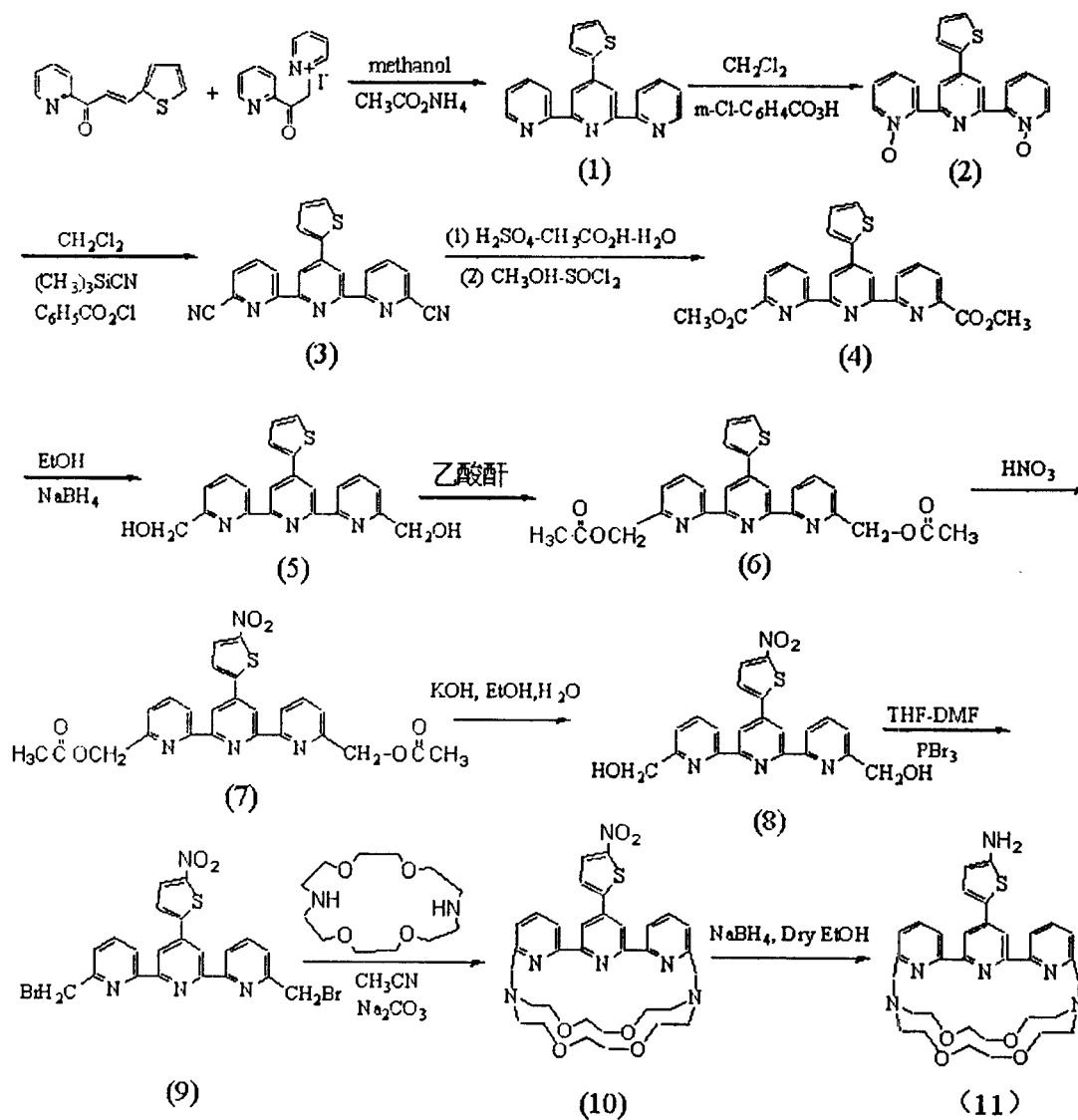
值 7.8 的 0.05mol/L Tris-HCl 溶液洗涤 4 次后, 进行固相时间分辨荧光测定。

测定用仪器为 WALLAC VICTOR 1420 多标记计数仪, 测定条件为: 激发波长, 340 nm; 检测波长, 615 nm; 迟延时间(delay time), 0.2 ms; 窗口时间(window time), 0.4 ms; 循环时间(cycling time): 1.0 ms。

如图 4 所示, 用零浓度时的荧光信号(本底)的标准偏差的 2 倍计算 TSH 测定的最低检出下限, 得本法的最低检出下限为 0.09mIU/L。

2, 2': 6', 2''-联三吡啶骨架结构和 2, 6-二吡啶基吡啶骨架结构与冠醚形成配位体的合成路线如下:





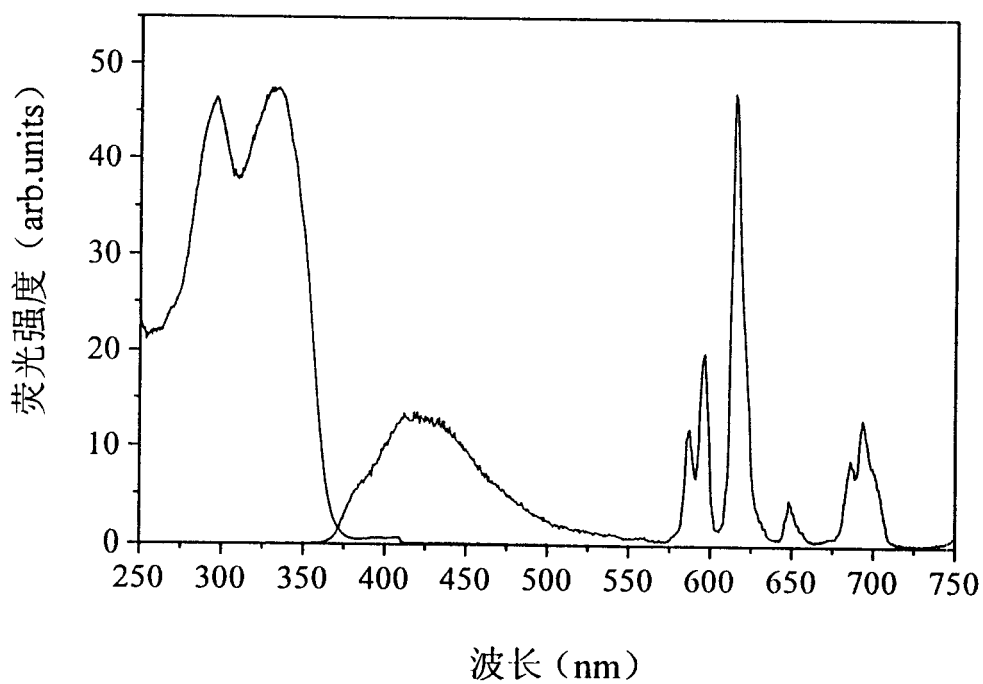


图 1

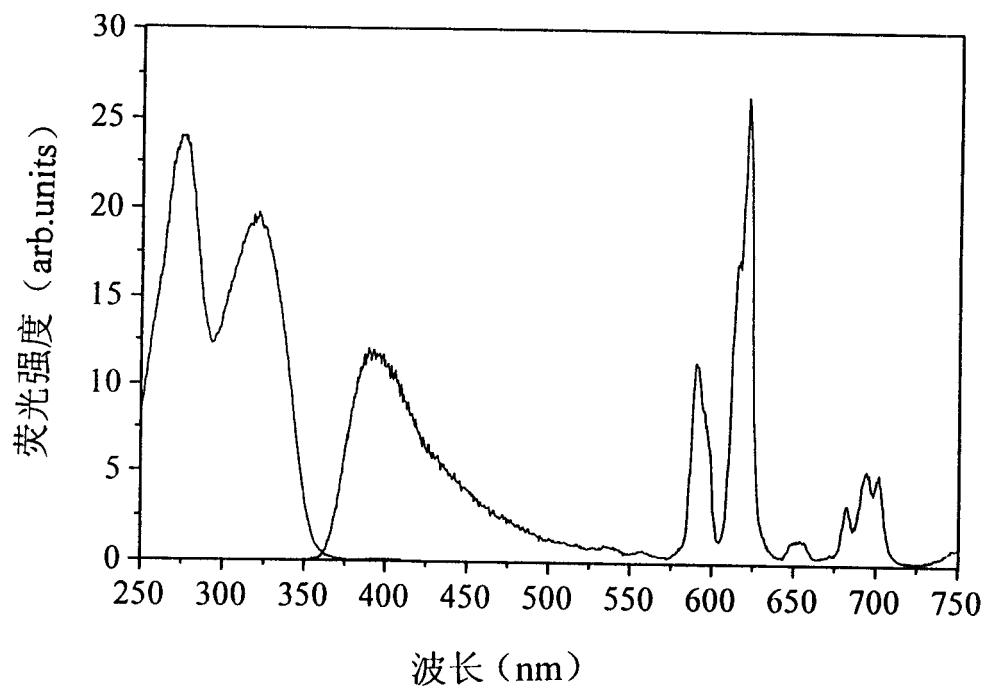


图 2

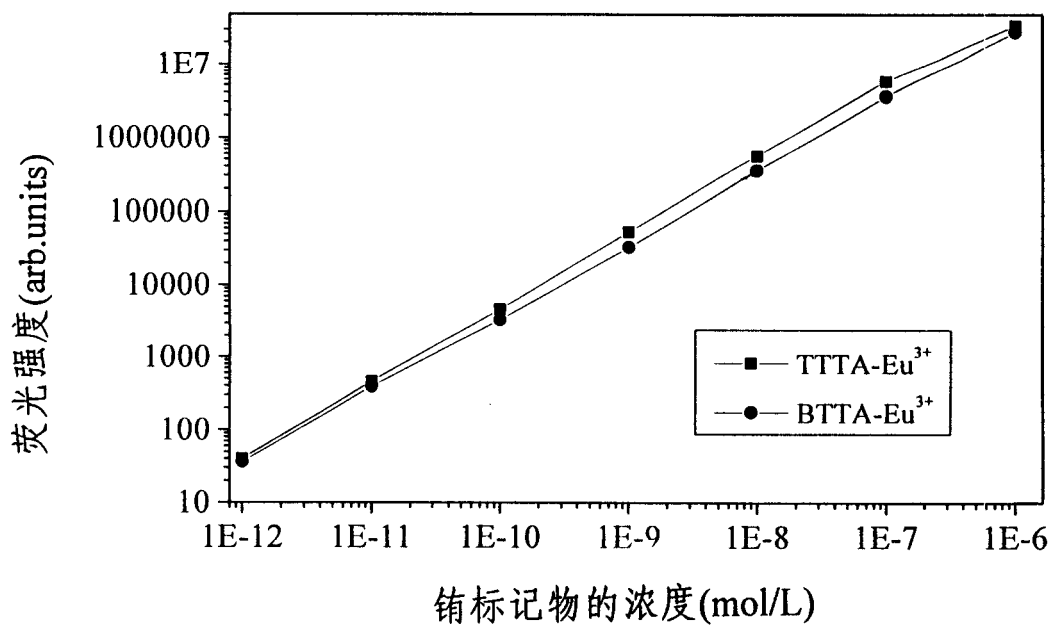


图 3

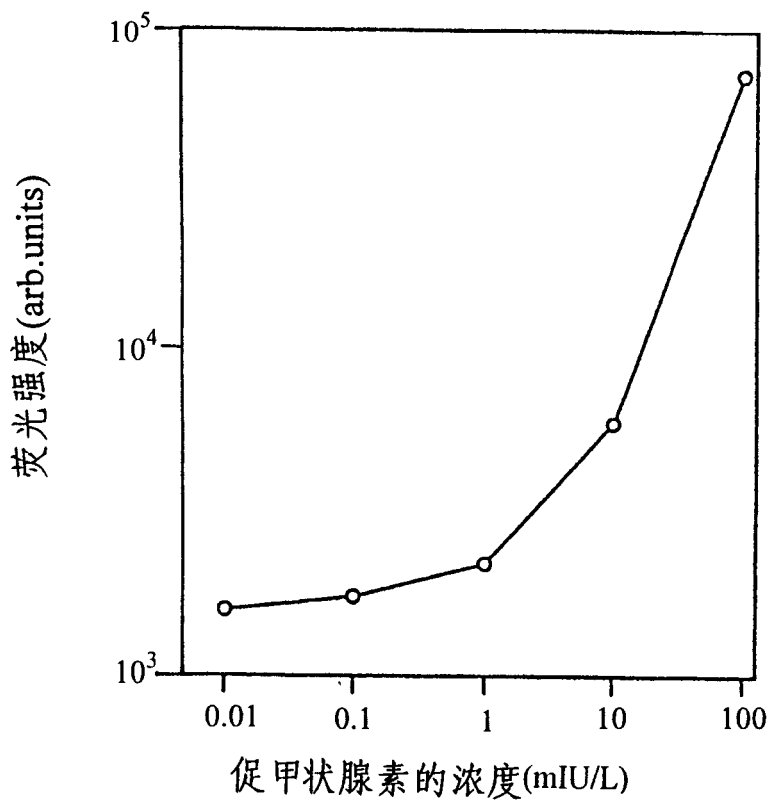


图 4

专利名称(译)	新型稀土荧光标记物及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN1407052A</a>	公开(公告)日	2003-04-02
申请号	CN01128075.1	申请日	2001-08-22
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院大连化学物理研究所		
[标]发明人	袁景利 谭明乾 王桂兰		
发明人	袁景利 谭明乾 王桂兰		
IPC分类号	C09K11/06 G01N33/533		
代理人(译)	许宗富 周秀梅		
其他公开文献	CN1181156C		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种新型稀土荧光标记物及其应用。新型稀土荧光标记物是稀土离子Eu<sup>3+</sup>、Sm<sup>3+</sup>、Gd<sup>3+</sup>、Tb<sup>3+</sup>、Dy<sup>3+</sup>与含有2, 2': 6', 2'' - 联三吡啶骨架结构或2, 6 - 二吡啶基吡啶骨架结构类配位体的荧光配合物。该类配合物可通过其含有的功能性基团与蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、核苷酸、有机化合物等物质共价结合而标记这些物质, 进而用于这些物质的荧光测定。

