

Рис. S1. ¹H-ЯМР-спектр (9-флуоренил)-метоксикарбонилазида (FmocN₃) (80 МГц, CDCl₃).

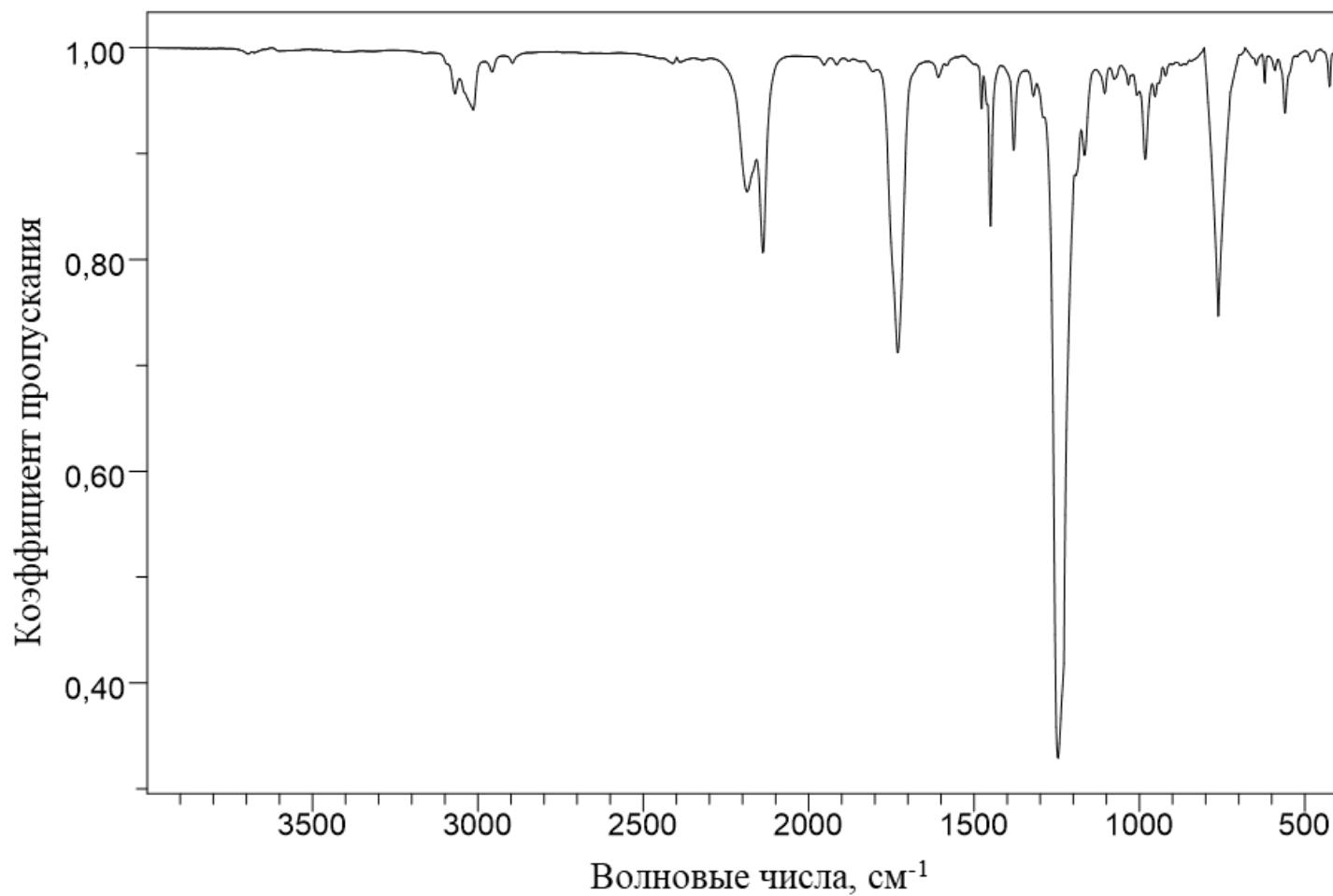


Рис. S2. Результат ИК-спектроскопического анализа 1%-ного раствора (9-флуоренил)-метокси carbонилазида (FmocN_3) в CHCl_3 в кювете диаметром 0,28 мм и диапазоне 4000–400 cm^{-1} .

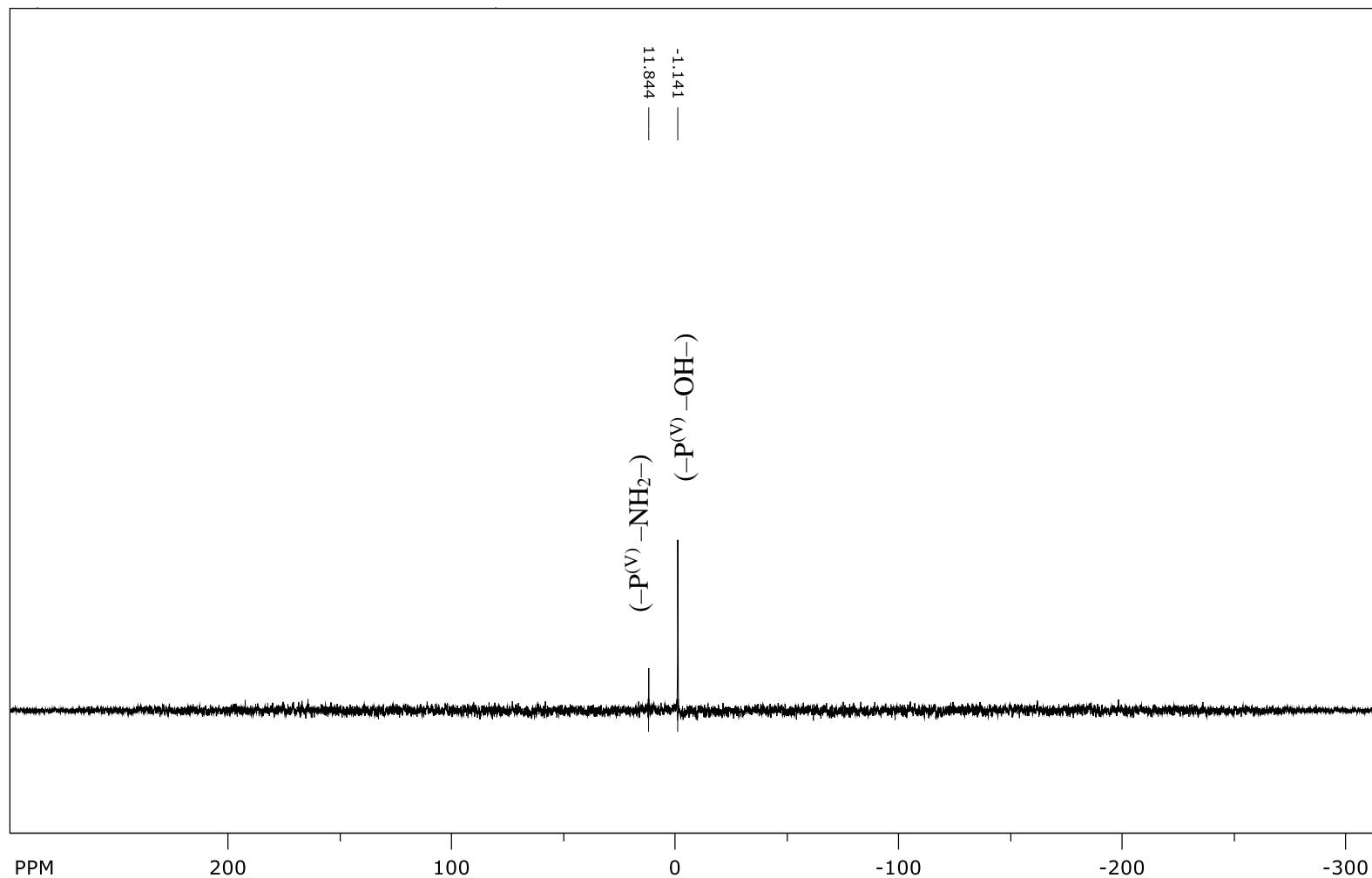
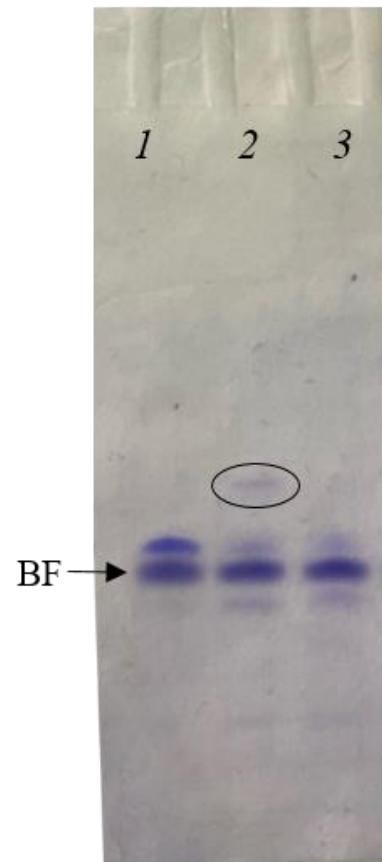


Рис. S3. ^{31}P -ЯМР-спектр гексатимида $\text{T}_5(-\text{P}^{(\text{V})}-\text{NH}_2-)\text{T}$ (30 МГц, H_2O).

(*a*)



(*b*)

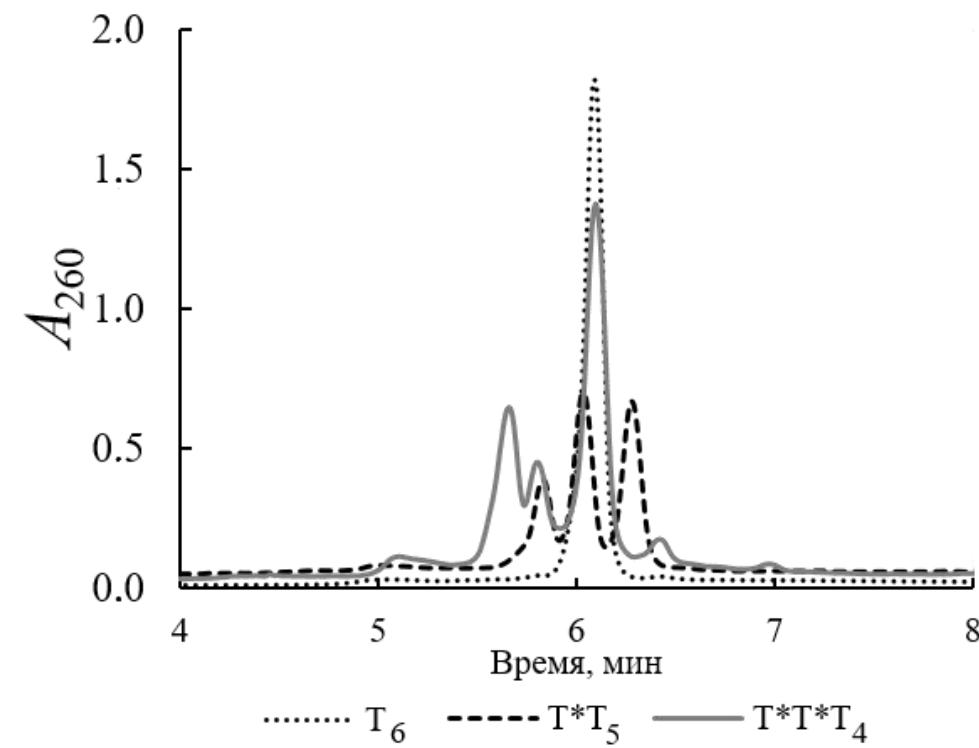


Рис. S3. (*a*) ПААГ-электрофорез в денатурирующих условиях (8 М мочевина, 89 мМ Трис-боратный буфер, pH 8.3) реакционных смесей амидофосфатных ON, полученных по протоколу для синтеза фосфорилгиданиновых олигонуклеотидов (табл. 1): 1 – T_6 , 2 – T^*T_5 , 3 – $T^*T^*T_4$ (овалом выделен мономодифицированный амидофосфат гексатимидалата); (*б*) профиль элюции в градиенте концентрации ацетонитрила 0–30% за 15 мин.

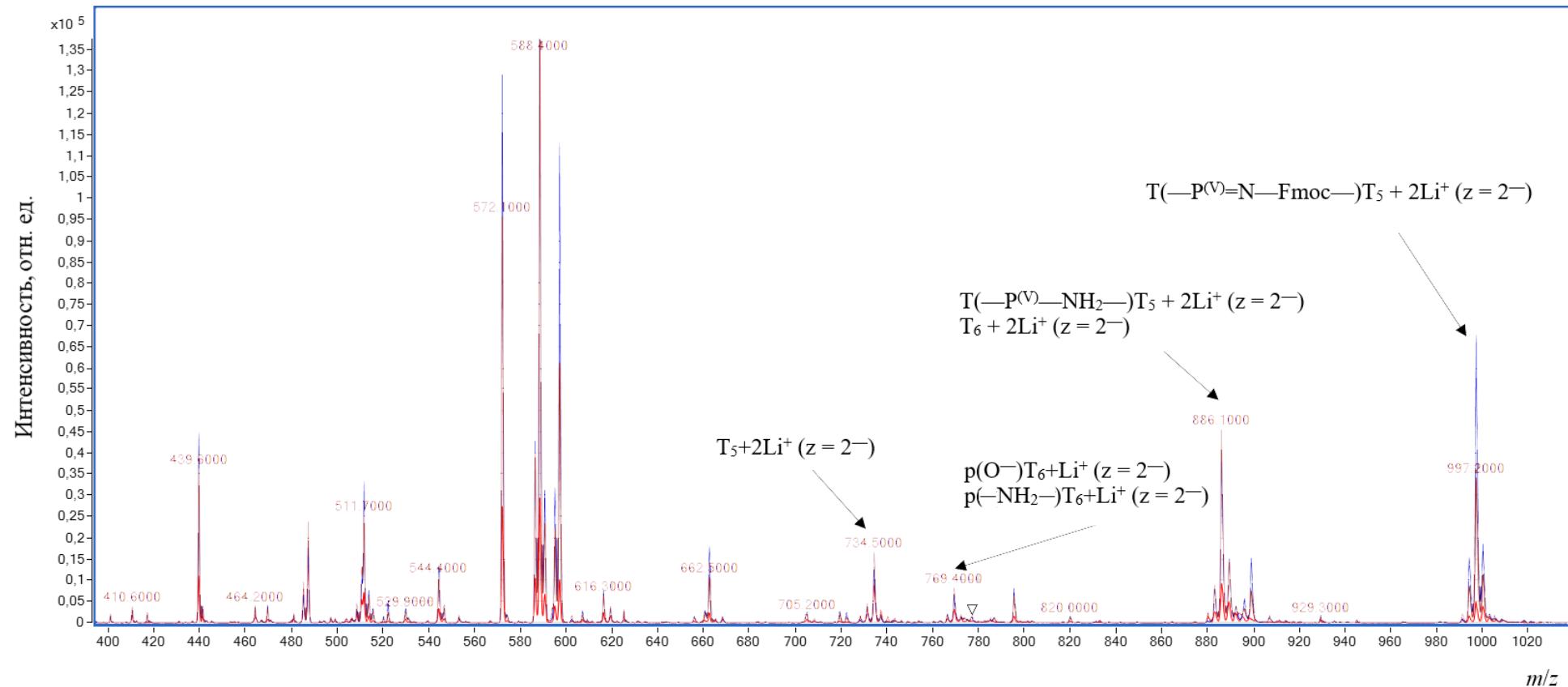


Рис. S4. Результат ESI-MS-анализа в режиме регистрации отрицательных ионов для реакционных смесей гексатимидилатов с одной межнуклеозидной P-NH₂-модификацией, полученных с использованием 0.25 М концентрации FmocN₃ и трех временных точек (15, 30, 45 мин) в процессе окисления по реакции Штаудингера.

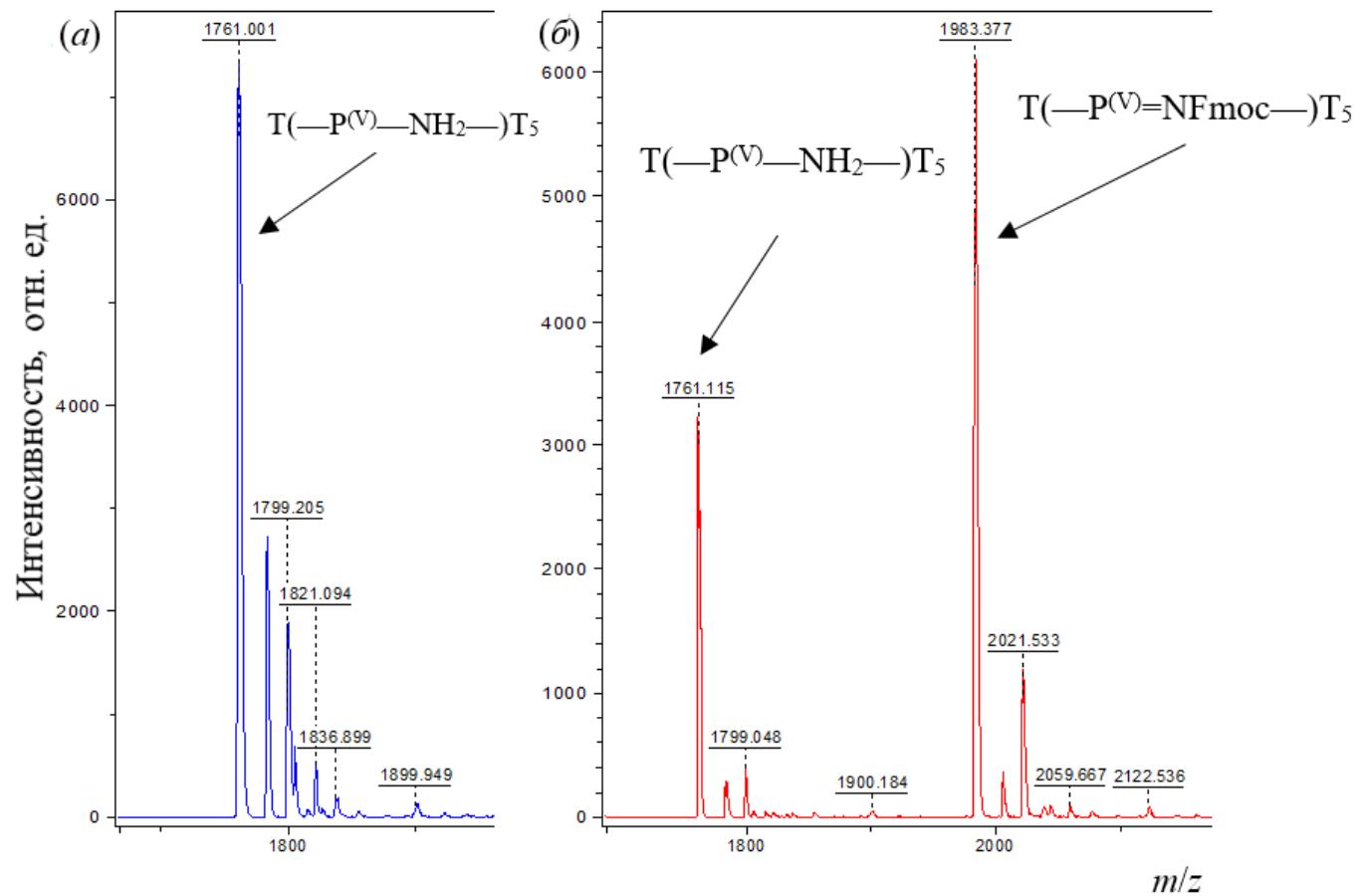


Рис. S5. Результат MALDI-TOF-MS-анализа (а) – хроматографического пика 3 (рис. 2 основной статьи), m/z (теор) = 1761.3, (б) – хроматографического пика 4 (рис. 2 основной статьи), m/z (теор) = 1761.3 и 1983.4.

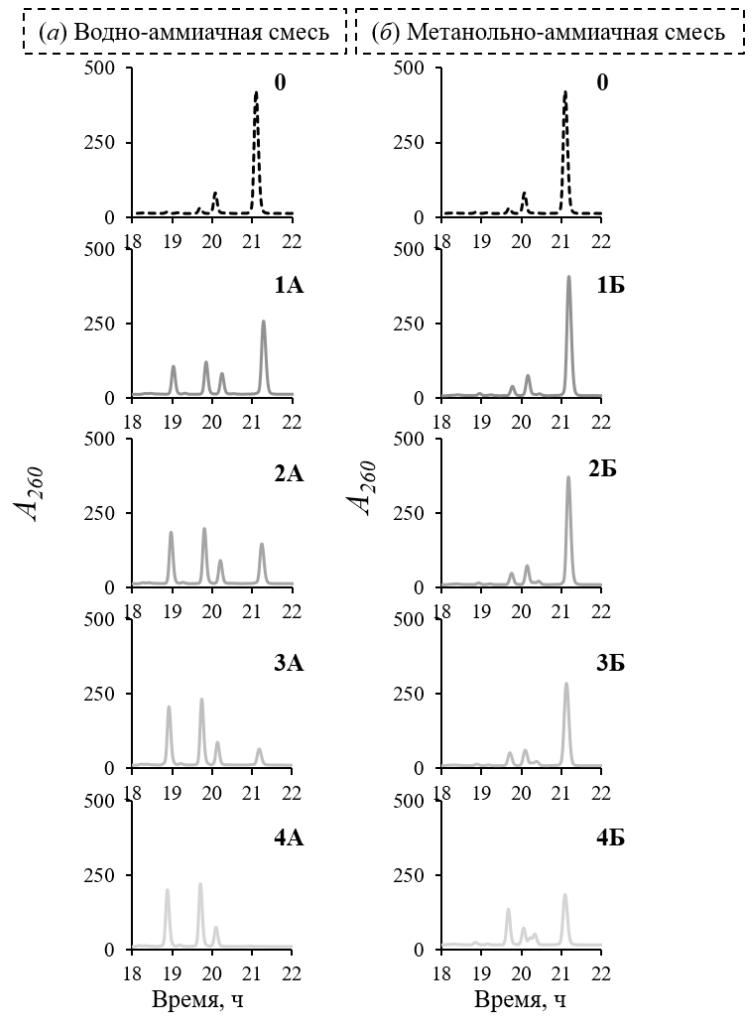


Рис. S6. Результаты хроматографического анализа с помощью оффВЭЖХ реакционных смесей гексатимилилатов (T^*T_5), полученных по разработанному протоколу (табл. 2 основной статьи) и подвергшиеся дополнительному щелочному деблокированию при нагревании до 56 °С водно-аммиачной смесью (а) и метанольно-аммиачной смесью (б) в течение 1 ч (1А и 1Б), 3 ч (2А и 2Б), 5 ч (3А и 3Б), 23 ч (4А и 4Б) для оценки устойчивости $(-\text{P}^{(\text{V})}-\text{NH}_2-)$ -связи к деблокирующим смесям. Градиент концентрации ацетонитрила 0–30% за 30 мин. Нулевой точкой выступает состав реакционной смеси после двух часов деблокирования метанольно-аммиачной смесью при 25°С.

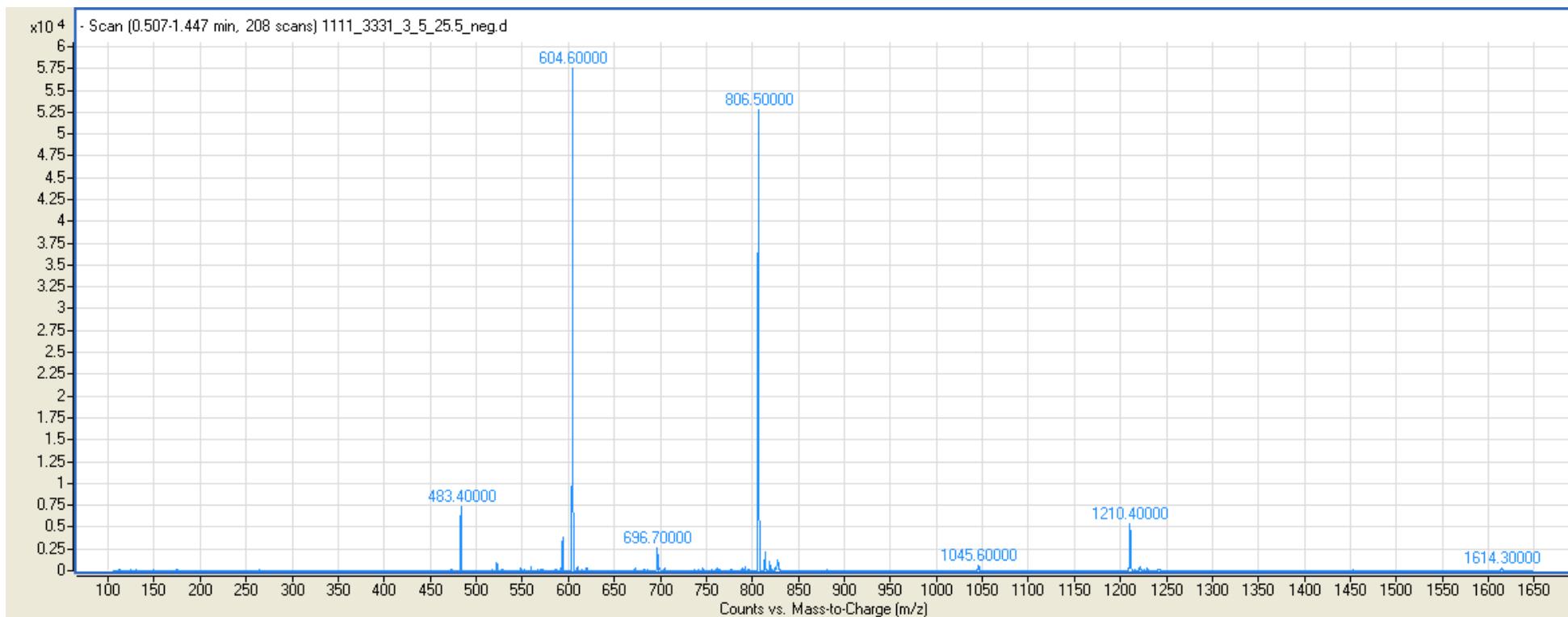


Рис. S7. Типичный результат ESI-MS-анализа в режиме регистрации отрицательных ионов для олигодезоксирибонуклеотида CGGTAGCT с двумя ($-P^{(V)}-NH_2-$)-группами, полученного после деблокирования метанольно-аммиачной смесью (18 ч, 25°C) и очистки ПААГ-электрофорезом. $m(\text{теор}) = 2423.7$ г/моль, $m(\text{эксп}) = 2422.8$ г/моль.

CPG с $T(-P(V)=N-Fmoc-T_5)$,
полученный по
разработанному протоколу

Обработка 2% DBU
в CH_3CN

- 1) детритилирование
- 2) кэпирование и детритилирование
- 3) окисление и детритилирование
- 4) кэпирование, окисление и детритилирование
- 5) окисление, кэпирование и детритилирование

Обработка 9% H_2O
в ТГФ

- 1) детритилирование
- 2) кэпирование и детритилирование
- 3) окисление и детритилирование
- 4) кэпирование, окисление и детритилирование
- 5) окисление, кэпирование и детритилирование

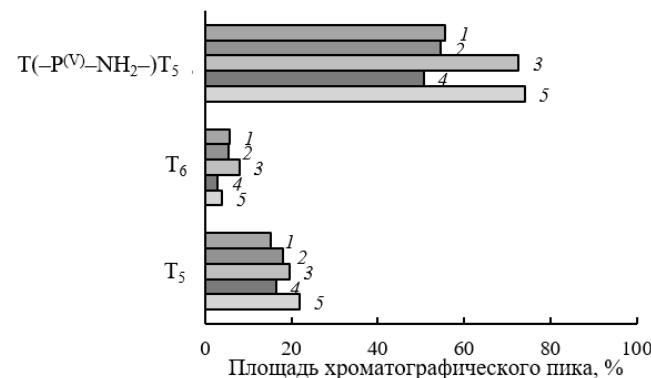
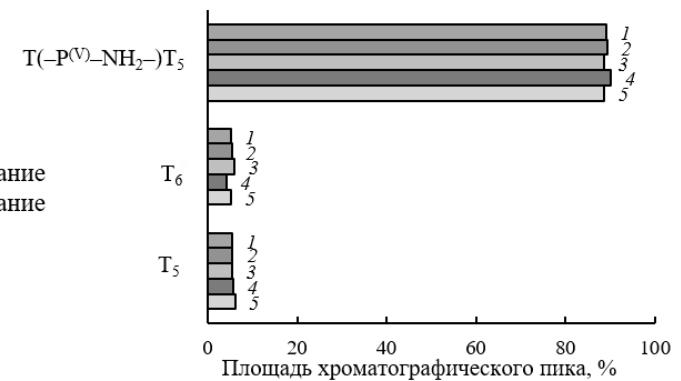


Рис. S8. Схема эксперимента по оценке влияния отдельных стадий стандартного амидофосфитного синтеза олигодезоксирибонуклеотидов на устойчивость $(-P(V)-NH_2)-$ -связи. Оценку влияния проводили по данным оффВЭЖХ.

Таблица S1. Результаты термодинамического анализа бисмодифицированных олигонуклеотидов в составе комплементарного комплекса M₈/N₈ при разных значениях ионной силы раствора

Шифр ON	1 M NaCl				0.1 M NaCl				0.01 M NaCl			
	ΔH°, ккал/моль	ΔG° ₃₇ , ккал/моль	T _{пл} , °C	ΔT, °C	ΔH°, ккал/моль	ΔG° ₃₇ , ккал/моль	T _{пл} , °C	ΔT, °C	ΔH°, ккал/моль	ΔG° ₃₇ , ккал/моль	T _{пл} , °C	ΔT, °C
N ₈	-50.5 ± 0.3	-7.4 ± 0.1	39.0 ± 0.3		-51.6 ± 0.3	-6.5 ± 0.1	33.6 ± 0.2		-43.8 ± 1.4	-5.1 ± 0.1	23.2 ± 0.1	
(1) N _(1*6*1)	-52.4 ± 0.9	-7.3 ± 0.1	37.9 ± 0.2	-1	-47.8 ± 0.2	-6.6 ± 0.1	34.0 ± 0.2	0	-44.6 ± 0.9	-5.3 ± 0.1	22.5 ± 0.1	-1
(2) N _(1*6*1)	-52.1 ± 0.9	-7.1 ± 0.1	37.1 ± 0.2	-2	-50.8 ± 1.9	-6.3 ± 0.1	31.9 ± 0.2	-2	-37.6 ± 1.1	-4.9 ± 0.1	22.3 ± 0.1	-1
N _(6*1*1)	-48.3 ± 0.9	-7.1 ± 0.1	36.9 ± 0.2	-2	-47.3 ± 1.4	-6.5 ± 0.1	33.4 ± 0.2	0	-43.5 ± 1.1	-5.0 ± 0.1	23.9 ± 0.1	1
N _(4*1*3)	-48.3 ± 1.9	-6.8 ± 0.1	35.3 ± 0.5	-4	-54.6 ± 0.5	-6.2 ± 0.1	31.0 ± 0.2	-3	-48.1 ± 0.2	-5.1 ± 0.1	23.8 ± 0.0	1