

Poli-B-Alanin Ve Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi

Efkan ÇATIKER^{1*} Elif ÇİL² Tahsin FİLİK¹

¹ Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Ordu

² Ordu Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü, Ordu

Özet

Yakın zamanda naylon-3 (poli-β-alanin) kopolimerleri ve türevlerinin biyoaktivite özellikleri ile ilgili çalışmalar artmıştır. Bu çalışmalarda birçok naylon-3 kopolimeri ve türevlerinin antibakteriyel, antifungal hatta hücre tutma aktivitesi gösterdiği saptanmıştır. Mevcut çalışmada, poli-β-alanin, poli(α-metil-β-alanin) ve poli(β-metil-β-alanin) polimerleri sentezlenerek yapısal karakterizasyonu ortaya konmuş ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Sentezlenen üç polimerin, üç Gram pozitif (*Bacillus subtilis* NRRL B-209, *Micrococcus luteus* NRRL B-1018, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) üç Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NRRL B-123, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) toplam altı patojen bakteriye karşı antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. 100 mg poli(α-metil-β-alanin)'den yapılan 10 mm çaplı diskin 24,89 mm'lik inhibisyon zon çapı ile *Staphylococcus aureus* bakterisi üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Staphylococcus aureus, poli-β-alanin, antibakteriyel aktivite

Synthesis, Characterization And Antibacterial Properties Of The Poly-B-Alanine And Its Derivatives

Abstract

Recently, the studies on bioactivity characteristics of nylon-3 (poly-β-alanine) copolymers and derivatives have increased. In this studies, many nylon-3 copolymers and derivatives have been found to be antibacterial, antifungal effect, and also, cell adhesion activities. In the present study, poly-β-alanine, poly(α-methyl-β-alanine) and poly(β-methyl-β-alanine) were synthesized, characterized structurally and examined for antibacterial activity. Antibacterial activity of synthesized polymers was determined against to total six pathogens, three Gram positive (*Bacillus subtilis* NRRL B-209, *Micrococcus luteus* NRRL B-1018, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), three Gram negative (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NRRL B-123, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). 10 mm diameter disc made from 100 mg of poly(α-methyl-β-alanine) exhibited antibacterial activity against to *Staphylococcus aureus* with 24,89 mm diameter inhibition zone.

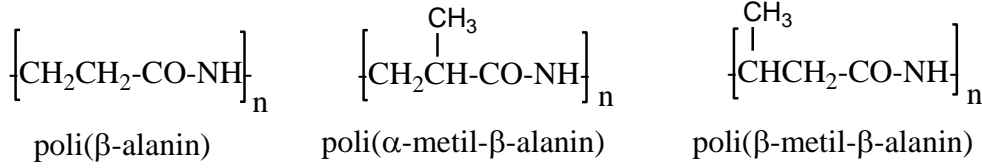
Key Words: Staphylococcus aureus, poly-β-alanin, antibacterial activity

Bu çalışma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (TF-1431) tarafından desteklenmiştir.

* ecatiker@gmail.com

1. GİRİŞ

Naylon-3 (poliamit3 veya poli-β-alanin) tekrarlanan birimlerinde peptit bağı (amit bağı) içeren kristalin bir polimerdir (Şekil 1). Poli-β-alanin yüksek amit grubu içeriği nedeniyle kristal derecesi yüksek, alifatik naylonlar içerisinde termal ve mekanik direnci en yüksek (hatta ipek ile yarışabilen) poliamittir. Poli-β-alanin zincirleri yapısındaki amit grubu (CONH) nedeniyle protein moleküllerine benzemektedir.



Şekil 1. Poli-β-alanin, poli(α-metil-β-alanin) ve poli(β-metil-β-alanin)'in kimyasal yapıları

Son zamanlarda, bir poli(aminoasit) olan naylon-3 (poli-β-alanin)'ün kopolimer ve türevlerinin hücre tutma ve hücre ile etkileşimi (Lee et al 2009; Liu et al 2012a; Liu et al. 2012b), antibakteriyel (Zhang et al. 2012; Mowery et al. 2009) ve antifungal (Dohm et al. 2010) özellikleri üzerine çalışmalar ortaya konmuştur. Lee et al. (2009), naylon-3 kopolimerlerinin bazılarının hücre yapışmasını desteklediği, polistiren ve kollajen kaplı cam gibi pozitif doku kültürü substratlarına göre benzer hatta bazen daha üstün morfolojiler sergilediklerini vurgulamışlardır. Başka bir çalışmada Mowery et al. (2009), bazı rastgele naylon-3 kopolimerlerin host-defense peptitlerin favori özelliklerini taklit ettiği ve bu kopolimerlerdeki yapı-aktivite ilişkisini belirlemişlerdi. Bu kopolimerlerin yapı-aktivite ilişkilerinin metabolizmayı koruyucu (host-defense) polipeptitler ve benzer sentetik peptitlerin davranışlarıyla karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada Dohm et al. (2010), bazı rastgele naylon-3 kopolimerlerinin akciğer yüzey aktif proteinlerini taklit ettiği ve bu amaçla kullanılan spesifik oligomerlere göre daha avantajlı olabileceklerini öne sürmüşlerdir. Liu et al. (2012b), daha uzun zincirli naylon-3'lerin daha iyi fibroblast tutunması sağladığını optimal zincir uzunluğunda daha az hidrofobik naylon-3 altbirimlerin en üstün sonuç verdiğini ve yine bazı naylon-3 kopolimerlerinin *Candida albicans* mayası (Liu et al. 2013) için etkili antifungal aktiviteye sahip olduğunu bazılarının ise antibakteriyel (Chakraborty et al.2013) özellik sergilediğini göstermişlerdir.

Günlük hayatta antibakteriyel malzemelerin kullanımının artması ile bu malzemelerin belirlenmesi ve geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar da hızla artmaktadır. Polimerik malzemelerin

ucuz, hafif, geri dönüştürülebilir ve nispeten dayanıklı olmaları nedeniyle günümüzde birçok alanda kullanıldığı bilinmektedir. Günlük yaşantımızda hemen hemen her yerde karşılaştığımız plastikler dışında biyopolimerler de her geçen gün biyoteknoloji, tıp, doku mühendisliği gibi birçok disiplinde biyomalzemeler olarak yer almaktadır. Bu disiplinlerde biyopolimerler ilaç salınım sistemleri, doku iskeleleri, yapay organlar, ameliyat iplikleri gibi çok yaygın kullanıma sahiptirler. Bu amaçla görev yapan polimerlerin çoğu poliester, polianhidrit, poliüretan, poliamit ve bazı doğal polimerler grubuna girmektedir.

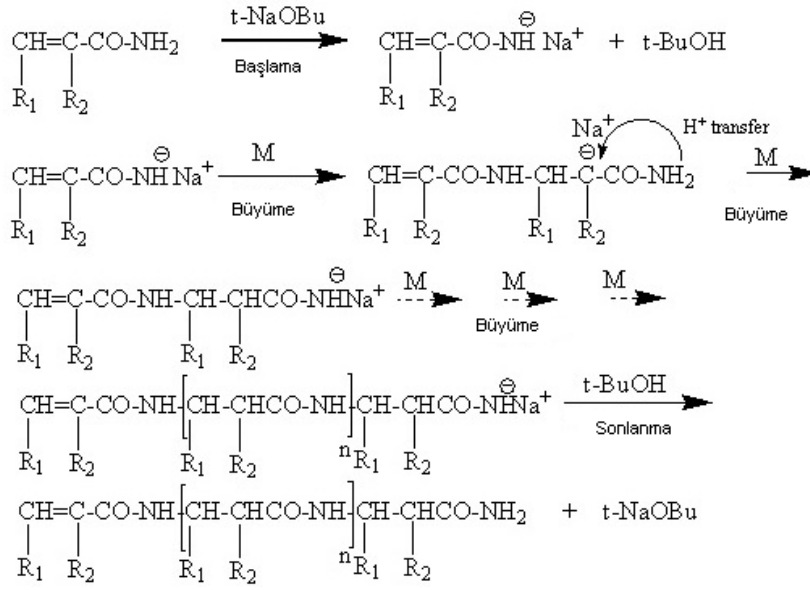
Çalışma kapsamında sentezlenen poli- β -alanin, poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin)'in kimyasal yapıları (yoğun peptit bağları içermesi) ve literatür bilgileri göz önüne alındığında antibakteriyel özellik gösterme potansiyeline sahiptirler. Antibakteriyel polimerik malzemeler, tek başlarına veya başka polimerik malzemelerle kompozit veya karışım oluşturduklarında bu özelliklerini korurlar ve işlendiklerinde elde edilen malzemeler hijyenin önemli olduğu alanlarda kullanımı ile avantaj sağlarlar. Literatürde bu polimerlerin antibakteriyel özellikleri üzerine çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, poli- β -alanin, poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin) sentezlenerek spektroskopik yöntemlerle karakterizasyonu yapılmış ve antibakteriyel özellikleri incelenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Polimerlerin sentezi

Poli- β -alanin, poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin) sırasıyla akrilamit, metakrilamit ve krotonamitin monomer olarak kullanıldığı baz katalizli hidrojen transfer polimerizasyonu (Breslow et al. 1957; Masamoto et al. 1970; Ogata 1960; Tani et al. 1963; Camino et al. 1970; Glickson & Applequist 1969; Morgenstein & Berger 1992; Ree & Minoura 1976) yöntemi ile elde edilmiştir. Şekil 2.'de polimerizasyon tepkimesi poli- β -alanin ($R_1:H$ ve $R_2:H$), poli(α -metil- β -alanin) ($R_1:H$ ve $R_2:CH_3$) ve poli(β -metil- β -alanin) ($R_1:CH_3$ ve $R_2:H$) için özetlenmiştir. Şekil.2'de başlatıcı olarak en sık kullanılan tNaOBU rastgele seçilmiştir. Neme ve oksijene duyarlı olan polimerizasyon susuz o-diklorobenzen, piridin ve ksilen gibi aprotik solventler içerisinde inört atmosferde yaklaşık 100°C de 24-48 saat yürütülmüştür. N-fenil-beta-naftilamin serbest radikal polimerizasyon inhibitörü olarak (% 0.01) kullanılmıştır.



Şekil 2. Hidrojen-transfer polimerizasyonunun mekanizması.

2.2. Polimerlerin İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Polimerizasyon sonrasında ortama asetik asit eklenerek ortam nötrleştirilmiş, böylece aktif anyonik zincir uçları protonlanarak polimerizasyon sonlandırılmıştır. Uygun gözenek numaralı (2 ve 3) Gooch krozeleri ile vakum pompası yardımıyla süzülerek ayrılan polimerler soğuk su ve metanol ile yıkanarak inhibitör, baz ve çözücü kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Islak polimer örnekleri vakum etüvünde 50°C de 48 saat bekletilerek mevcut solvent ve nem kalıntıları tamamen uzaklaştırılmıştır. Polimer örnekleri tartılarak polimerizasyon verimi hesaplanmıştır. Elde edilen bu polimerlerin yüksek mol kütlelerine sahip kısımları suda çözünmediğinden (Masamoto et al. 1970) suda çözünen kısımlarının eldesi için polimer örneklerinin saf su ile süspansiyonları hazırlanmış ve reflux edilerek suda çözünebilir kısımları çözelti fazına alınmıştır. Oda sıcaklığına soğutulan süspansiyon uygun por numaralı (2-3) Gooch krozeleri ve vakum pompası yardımı ile süzülerek suda çözünmeyen ve çözünen kısımlar elde edilmiştir. Polimerlerin yapısal karakterizasyonu FTIR, $^1\text{H-NMR}$, MALDI-TOF kütle spektroskopisi ve elementel analiz ile gerçekleştirilmiştir.

İzole edilerek kurutulan her üç polimer örneğinin ilk karakterizasyonu FTIR spektrumlarının ATR tekniği ile $700\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında kaydedilmesiyle yapılmıştır. Ardından her üç polimerin elementel analizleri yapılarak karbon, azot ve hidrojen içeriği belirlenmiştir. Her polimer türünden hazırlanan 10 mg polimer/0,2 mL formik asit çözeltilerinin içerisine bir damla DMSO-d_6 damlatılarak Bruker AVANCE III 400 MHz NMR Spektrometresi ile $^1\text{H-NMR}$ spektrumları kaydedilmiştir. Polimerlerin ortalama mol kütlelerinin belirlenmesi için, polimer çözeltileri (10 mg polimer/mL LiCl sulu çözeltisi) ile 10 katı hacimdeki matriks çözeltisi (2,5-dihidroksi benzoik asit (DHB) (20 mg/mL asetonitrilde) karıştırılmıştır. 1 μL

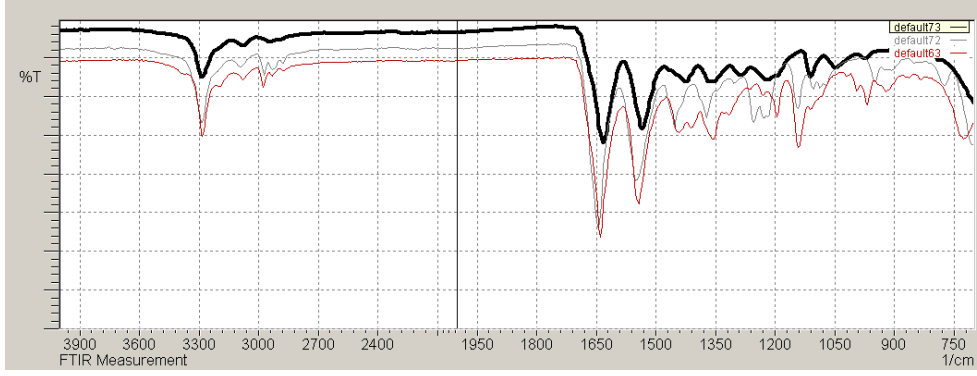
MALDI örneği alınarak örnek haznesine yerleştirilmiş, kurutulmuş ve analiz edilmiştir. Azot UV-lazer ile 337 nm de çalışan Voyager-DETM PRO MALDI-TOF kütle spektrometresi (Applied Biosystems, USA) ile analiz gerçekleştirilmiştir.

2.3. Polimerlerin Antibakteriyel Özelliğinin Araştırılması

Her bir polimer türünün antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi için polimerlerin suda çözünmeyen kısımlarından FTIR spektroskopisi pelet hazırlama tekniği ile peletler hazırlanmıştır. Bu amaçla Kirby-Bauer disk difüzyon metodu modifiye edilerek uygulanmıştır (Wiegand et al. 2008; Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2016). Toz formundaki polimerler 10 mm'lik diskler haline getirilmiştir. Tüm test suşları bir gün önce BHI agarda (Merck, Millipore) 37°C'de aktifleştirilmiştir. İnkübasyon periyodu sonunda herbir bakteri aseptik koşullarda BHI broth içeren steril deney tüplerine aktarılıp tüpün içerisindeki bakteri yoğunluğu McFarland densitometrisi kullanılarak 0.5 McFarlanda ayarlanmıştır. Bu işlem sırasında bakterilerin homojen dağılımından emin olmak amacıyla ara ara kısa süreli vorteksleme yapılmış sonra turbidite miktarı kontrol edilmiştir. Her bir suş süspansiyonundan otomatik pipetle 100 µL alınıp, bir gün önce hazırlanan 20 mL'lik steril katyon ayarlı MHA (Merck Millipore) besiyeri içeren 90 mm'lik steril petrilere aktarılmıştır. Steril eküvyon çubuk ile bakterinin tüm besi yeri yüzeyine aşılması yayma plaka yöntemiyle sağlandıktan sonra polimer diskleri petrilere tam ortasına aseptik şekilde yerleştirilmiştir. Petrilere ters çevrilmeden 35-37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Yirmidört saat sonunda inhibisyon zon çapları dijital kumpasla ölçülüp kaydedilmiştir.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Poli-β-alanin, %14 suda çözünen kısım, %86 suda çözünmeyen kısım olacak şekilde %85 verimle elde edilmiştir. Poli(α-metil-β-alanin), %8 suda çözünen kısım % 92 suda çözünmeyen kısımdan oluşarak %43 verimle üretilmiştir. Poli(β-metil-β-alanin), %12 suda çözünen %88 suda çözünmeyen kısımla %55 verimle elde edilmiştir. Sentezlenen polimerlerin suda çözünmeyen kısımları için kaydedilen FTIR spektrumları Şekil 3. de verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde her üç polimer için de karakteristik amit pikleri gözlemlenmiştir. 3290 cm⁻¹ de keskin N-H gerilme, 1640 cm⁻¹ de C=O asimetrik gerilme, 1540 cm⁻¹ civarında N-H eğilme pikleri her üç polimerde gözlenirken 2980 cm⁻¹ de gözlenen C-H gerilme pikleri beklendiği gibi poli-β-alanin de zayıf ve tek tip iken türevlerinde ilave metil grubundan kaynaklı olarak daha şiddetli ve çeşitlidir.



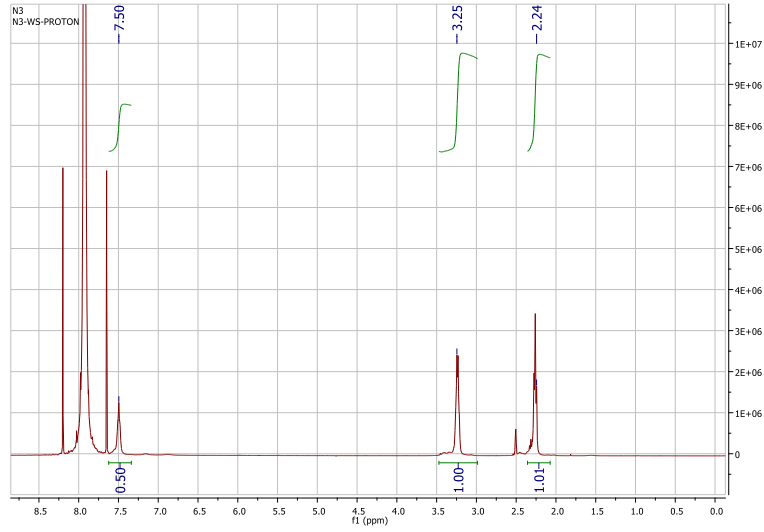
Şekil 3. Sentezlenen polimerlerin FTIR Spektrumları yukarıdan aşağıya sırasıyla poli-β-alanin) (kalın ve siyah), poli(α-metil-β-alanin) (mavi) ve poli(β-metil-β-alanin) (kırmızı)

Polimerlerin elementel analiz sonuçları Çizelge 1.'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre her üç polimerin deneysel ve teorik elementel bileşimi uyumlu olup ihmal edilebilecek farkların iyi nem çekici olmalarından kaynaklı kristal sudan kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Çizelge 1. Elementel Analiz Sonuçları

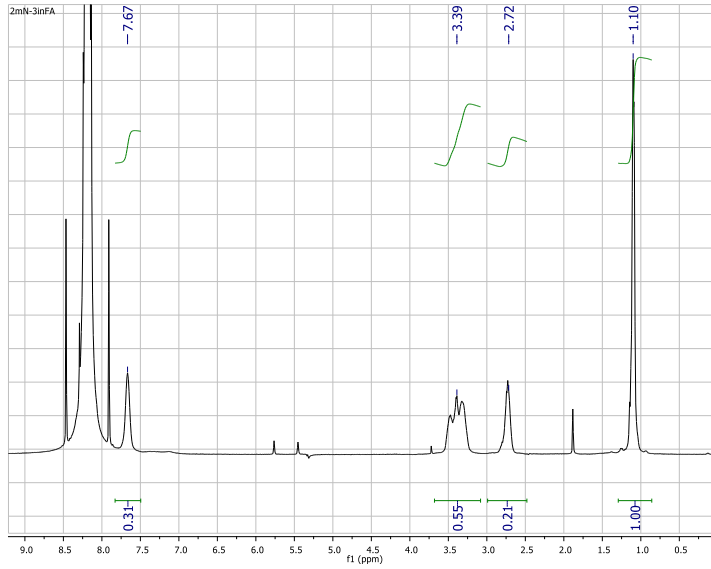
	Poli-β-alanin, %	poli(α-metil-β-alanin), %	poli(β-metil-β-alanin), %
Teorik	C: 50.8 N: 19.7 H: 7.1	C: 56.4 N: 16.5 H: 8.3	C: 56.4 N: 16.5 H: 8.3
Deneysel	C:50.4 N:19.3 H:7.3	C:56.1 N:16.3 H:8.4	C: 56.2 N: 16.4 H:8.5

Şekil 4. de poli(β-alanin)'in ¹H-NMR spektrumu gösterilmiştir. 2.24 ve 3.25 ppm de eşit şiddete sahip pikler sırasıyla karbonil ve amit grubuna komşu metilen hidrojenlerini belirtmektedir. 7.50 ppm de görülen ve şiddeti metilen protonlarının yarısı olan tekli pik NH protonudur. Spektrum formik asitte alındığından 8.0 ppm civarında çözücü pikleri gözlenmiştir.



Şekil 4. Poli- β -alanin'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

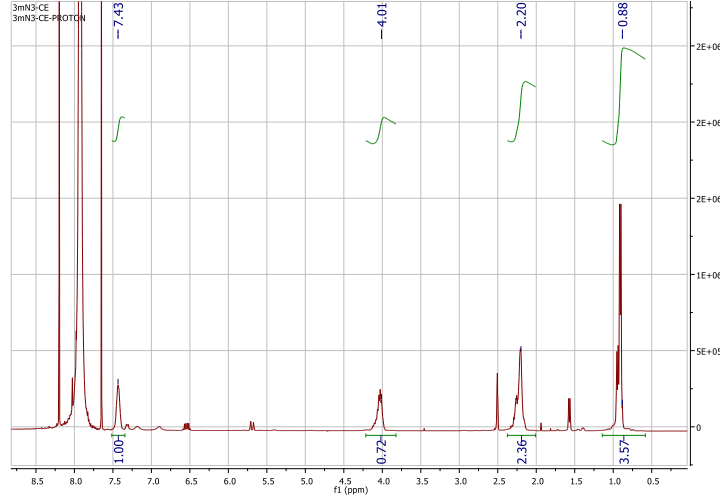
Şekil 5.'de poli(α -metil- β -alanin)'in $^1\text{H-NMR}$ spektrumu gösterilmiştir. 1.10, 2.72 ve 3.39 ppm de sırasıyla 3:1:2 şiddetindeki pikler sırasıyla CH_3 , CH ve CH_2 hidrojenlerini göstermektedir. 7.67 ppm de görülen tekli pik NH protonudur. Spektrum formik asitte alındığından 8.0 ppm civarında çözücü pikleri gözlenmiştir.



Şekil 5. Poli(α -metil- β -alanin)'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

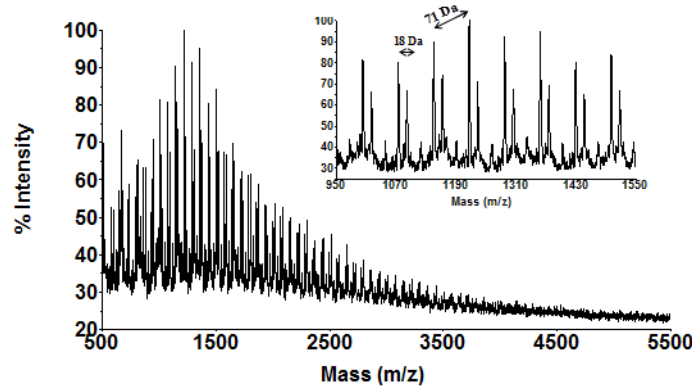
Şekil 6.' de poli(β -metil- β -alanin)'in $^1\text{H-NMR}$ spektrumu verilmiştir. 0.88, 2.20 ve 4.01 ppm de sırasıyla 3:2:1 şiddetindeki pikler sırasıyla CH_3 , CH_2 ve CH hidrojenlerini belirtmektedir. 7.43

ppm de görülen tekli pik NH protonudur. Spektrum formik asitte alındığından 8.0 ppm civarında çözücü pikleri gözlenmiştir.

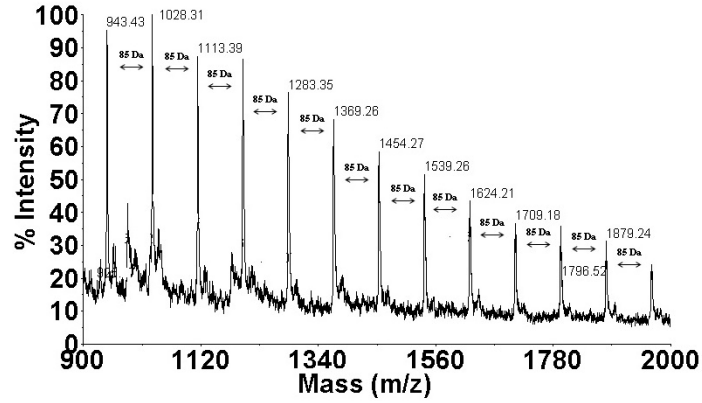


Şekil 6. Poli(β -metil- β -alanin)'in $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu

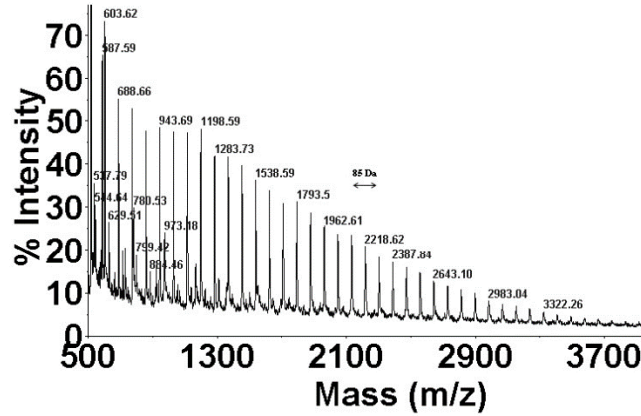
Poli(β -alanin)'in MALDI spektrumu dithranol matrisi kullanılarak elde edilmiş ve Şekil 7.'de verilmiştir. Spektrumun 950-1550 Da arasında genişletilmiş hali de verilmiştir. Pikler arasındaki 71 Da tekrarlanan birimin kütlelerine karşılık gelmektedir. Mol kütleleri (M_n , M_w , M_z) ve heterojenlik indeksi (HI) sırasıyla 2002, 2619, 3087, ve 1.31 olarak hesaplanmıştır. Ana piklere ek olarak 18 Da daha büyük pikler katyonize zincirlerdeki su pikleridir. Poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin)'e ait MALDI spektrumları sırasıyla Şekil 8. ve Şekil 9.'da verilmiştir. Bu iki polimerde DHB matrisi kullanılmıştır. Poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin)'in mol kütleleri ve heterojenlik indeksleri (\bar{M}_n) sırasıyla ($M_n=1875$, $M_w=2460$, $M_z=2929$ ve $\bar{M}_n=1.31$) ve ($M_n=1538$, $M_w=2128$, $M_z=2674$ ve $\bar{M}_n=1.38$) olarak bulunmuştur. Her iki polimer için pikler arasındaki 85 Da tekrarlayan birim kütlelerine denktir.



Şekil 7. Poli(β -alanin)'in MALDI-MS Spektrumu



Şekil 8. Poli(α -metil- β -alanin)'in MALDİ-MS Spektrumu



Şekil 9. Poli(β -metil- β -alanin)'in MALDİ-MS Spektrumu

Sentezlenen poli- β -alanin, poli(α -metil- β -alanin) ve poli(β -metil- β -alanin) polimerlerinin antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında, sadece poli(α -metil- β -alanin) polimerinden elde edilen diskin test bakterilerinden *S. aureus* bakterisi üzerinde 24.89 mm zon çapı ile antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür (Şekil 10). Diğer test mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir etki gözlenmemiştir (Şekil 11).



Şekil 10. 10 mm 100 mg Poli(α -metil- β -alanin) diskinin *S. aureus* bakterisi üzerindeki antibakteriyel etkisi ve oluşan inhibisyon zon çapı



Şekil 11. 10 mm 100 mg Poli(α -metil- β -alanin) diskinin *E. coli* bakterisi ile etkileşimi sonucu antibakteriyel etki gözlenmemiştir

Kimyasal yapılar ve mol kütlelerindeki benzerliğe rağmen sadece poli(α -metil- β -alanin) polimerinin antibakteriyel etki göstermesi ilgi çekicidir. Ayrıca, antibakteriyel etki gösteren polimerlerin genellikle katyonik karakter taşıması göz önüne alındığında nötral karakterdeki bir polimerin bu etkisi gelecekteki çalışmalar için ilgi çekicidir.

KAYNAKLAR

- Breslow D S, Hulse G E & Matlack A S (1957). Synthesis of Poly- β -alanine from Acrylamide. A Novel Synthesis of β -Alanine *Journal of the American Chemical Society* 79:3760-3763.
- Camino G, Guaita M & Trossarelli L (1970). Chain growth in the base catalyzed hydrogen transfer polymerization of acrylamide to poly- β -alanine *Makromolekular Chemistry* 136(1): 155-159.
- Chakraborty S, Liu R, Lemke J J, Hayouka Z, Welch R A, Weisblum B, Masters K S & Gellman S H (2013). Effects of Cyclic vs. Acyclic Hydrophobic Subunits on the Chemical Structure and Biological Properties of Nylon-3 Co-Polymers *American Chemical Society Macro Letters* 2(8): 753-756.
- Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI) (2016). <http://www.clsi.org> (Erişim tarihi: 07.06.2016)
- Dohm M T, Mowery B P, Czyzewski A M, Stahl S S, Gellman S H & Barron A E (2010). Biophysical mimicry of lung surfactant protein B by random nylon-3 copolymers. *Journal of the American Chemical Society* 132(23):7957-7967.
- Glickson J D & Applequist J (1969). Chain branching in poly- β -alanine *Macromolecules* 2(6): 628-634).
- Lee M R, Stahl S S, Gellman S H & Masters K S (2009). Nylon-3 copolymers that generate cell-adhesive surfaces identified by library screening *Journal of the American Chemical Society* 131 (46):16779 -16789.
- Liu R, Masters K S & Gellman S H (2012). Polymer chain length effects on fibroblast attachment on nylon-3-modified surfaces. *Biomacromolecules* 13 (4): 1100-1105.
- Liu R, Vang K Z, Kreeger P K, Gellman S H & Masters K S (2012). Experimental and computational analysis of cellular interactions with nylon-3-bearing substrates *Journal of Biomedical Materials Research* 100 (10):2750-2759.

- Liu R, Chen X, Hayouka Z, Chakraborty S, Falk S P, Weisblum B, Masters K S & Gellman S H (2013). Nylon-3 Polymers with Selective Antifungal Activity *Journal of the American Chemical Society* 135(14):5270-5273.
- Masamoto J, Sasguri K, Ohizumi C & Kobayashi H (1970). Polymeric forms of nylon3 *Journal of Polymer Science* 8(10):1703-1711.
- Morgenstein U & Berger W (1992). Studies on polyamide 3 — synthesis, characterization and properties *Makromolekular Chemistry* 193(10): 2561-2569.
- Ree K & Minoura Y (1976). Polymerization of β -aminopropionitrile *Makromolekular Chemistry* 177(10):2897-2909.
- Mowery B P, Lindner A H, Weisblum B, Stahl S S & Gellman S H (2009). Structure-Activity Relationships Among Random Nylon-3 Copolymers That Mimic Antibacterial Host-Defense Peptides *Journal of the American Chemical Society* 131(28):9735-9745.
- Ogata N (1960). The transition polymerization of acrylamide in the presence of Grignard reagents *Journal of Polymer Science* 46(147):271-272.
- Tani H, Oguni N & Araki T (1969). Initiation reaction in the strong base catalyzed polymerization of acrylamide *Makromolekular Chemistry* 76(1): 82-88.
- Wiegand I, Hilpert K & Hancock R E W (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances *Nature protocols* 3(2):163-175.
- Zhang J, Markiewicz M J, Mowery B P, Weisblum B, Stahl S S & Gellman S H (2012). C-terminal functionalization of nylon-3 polymers: effects of C-terminal groups on antibacterial and hemolytic activities. *Biomacromolecules* 13(2):323-331.