

Enzymatische Reaktionsnetzwerke

Photoaktivierbares enzymatisches Reaktionsnetzwerk ermöglicht zeitliche und räumliche Programmierung von Thiol/Disulfid-Redoxsystemen

Aritra Sarkar, Piet J. M. Swinkels, Lea Duttenhofer, Pol Besenius, und Andreas Walther*

Kurzzusammenfassung: Die Implementierung von Photoaktivierung in chemische Reaktionsnetze (CRN) bietet Möglichkeiten für die Fernaktivierung nach Bedarf, die Speicherung von Kraftstoffen und die Schaffung autonomer Materialien und Systeme mit präziser räumlicher Aktivierung. Es gibt jedoch nur wenige Beispiele in diesem Bereich. Hier stellen wir ein kaskadenförmiges, redox-basiertes enzymatisches Reaktionsnetzwerk (ERN) auf Basis einer dissipativen Bildung aromatischer Disulfidbindungen vor, das zur Photoinitiation fähig ist und erneut betankt werden kann. Um die Photoinitiation zu erreichen, integrieren wir ein vorgeschaltetes enzymatisches Modul (EM) in das ERN, in dem das Substrat des EM durch Bestrahlung mit blauem Licht freigesetzt wird. Ein nachgeschaltetes Regenerationssystem erhöht die Robustheit der reduzierenden Umgebung für die erneute Initiierung. Dieses kaskadierte ERN arbeitet in Lösung und ermöglicht eine kontrollierte dissipative Disulfidbildung, während Kurzschlussreaktionen (SCR) zwischen der oxidativen und der reduktiven Hälfte des Reaktionszyklus vermieden werden. Um den Nutzen dieses photoaktivierten ERN zu demonstrieren, koppeln wir es mit sternförmigen Polymeren, die mit aromatischen Thiolen endfunktionalisiert sind (sPEG-ArSH), um eine räumlich und zeitlich kontrollierte dissipative Hydrogelbildung mithilfe lithografischer Masken zu erreichen.

Einleitung

Treibstoffgesteuerte chemische Reaktionsnetzwerke (CRN) sind das Herzstück biologischer Systeme und ermöglichen

raumzeitliche Kontrolle sowie adaptive Verhaltensweisen.^[1–6] Auf molekularer Ebene sind diese CRN z.B. im Zusammenhang mit Phosphorylierungs-/Dephosphorylierungszyklen gut erforscht.^[7–9] Inspiriert durch diese natürlichen Prozesse wurde eine Vielzahl künstlicher, kraftstoffgetriebener CRN entwickelt, die auf dem Gebiet der Systemchemie autonome und programmierbare molekulare Systeme^[10–29] erschaffen sollen.^[30–37] Die Entwicklung von Photoaktivierung oder Photobetankung von CRN ist wichtig für die nicht-invasive und präzise Kraftstoffzufuhr, die Fähigkeit zur bedarfsgerechten Speicherung und Freisetzung von Kraftstoff und die raumzeitliche Aktivierung von Systemen.^[38–43] Zu den bisherigen Strategien gehören die Kopplung von photoschaltbaren Molekülen mit Nanopartikeln,^[44–49] die Verwendung von lichtschaltbaren Schutzgruppen zur Photofreisetzung von ATP in ATP-getriebenen DNA-basierten enzymatischen Reaktionsnetzwerken (ERN),^[50] die Photofreisetzung geschützter Thiolmoleküle zum vorübergehenden Erweichen eines Polymernetzwerks^[51] und die Verwendung von Photosäuren zur Initiierung pH-gesteuerter DNA-basierter CRN.^[52] Die Weiterentwicklung der Photokontrolle über redox-basierte CRN^[53–56] könnte ihre Anwendbarkeit in Materialsystemen erheblich erweitern, doch gibt es in diesem Bereich nur sehr wenige Beispiele. Bisherige Arbeiten umfassen beispielsweise die photokatalytische Reduktion und Oxidation selbstorganisierender Moleküle zur Initiierung von CRN durch Licht.^[57]

Reversible dynamisch kovalente Bindungen auf Thiol-Disulfid-Basis sind eines der bedeutendsten redox-responsiven Systeme mit Anwendungen in Bereichen wie Hydrogelen,^[58] Selbstassemblierung^[59] und synthetischen Selbstreplikatoren.^[60,61] Diese Systeme wurden jedoch hauptsächlich im responsiven Bereich untersucht und ihre Integration in kraftstoffbetriebene CRN bleibt aufgrund der direkten Vernichtung des oxidierenden Kraftstoffs in einer reduzierenden Umgebung – was zu Kurzschlussreaktionen (SCR) führt – eine Herausforderung.^[62–66] Vor kurzem haben wir ein ERN vorgestellt, das die Thiol-Disulfid-Chemie in kraftstoffbetriebene CRN außerhalb des Gleichgewichts integriert, und wir haben gezeigt, wie SCR überwunden werden können.^[67] Trotz dieser Fortschritte steht ein photoinitiiertes dissipatives Redoxzyklus auf Thiol-Disulfid-Basis noch aus – ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu einer raumzeitlichen Kontrolle über Thiol-Disulfid-Systeme. In dieser Arbeit erweitern wir unser bisheriges ERN durch die Einführung spezieller vor- und nachgeschalteter enzymatischer Module (EM), um Photobetankung (pERN) vorzuschalten und die Robustheit

[*] A. Sarkar, P. J. M. Swinkels, L. Duttenhofer, P. Besenius, A. Walther
Department Chemie, Universität Mainz, Duesbergweg 10–14, 55128
Mainz, Germany
E-mail: andreas.walther@uni-mainz.de

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section

© 2025 Die Autoren. Angewandte Chemie veröffentlicht von Wiley-VCH GmbH. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der [Creative Commons Attribution License](#), die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

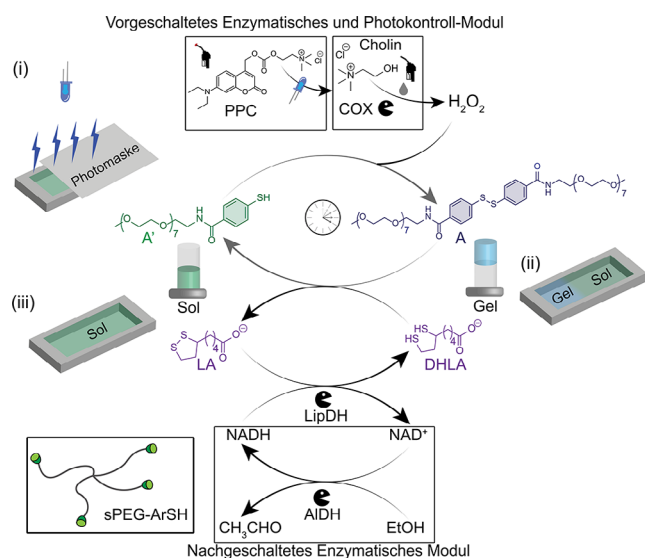


Abbildung 1. Kraftstoffgetriebenes Redox-ERN mit vor- und nachgeschalteten enzymatischen Modulen zur Photoinitiation und mehrfachen Initiierung von Thiol-Disulfid-Systemen. Das Schema zeigt die räumliche Bestrahlung einer sPEG-ArSH-Lösung zur räumlichen Aktivierung des ERN (i) für die Bildung dissipativer Hydrogel-Muster (ii und iii).

für mehrere Betankungszyklen mit einem nachgeschalteten Regenerationssystem zu verbessern.

Unser Ansatz für das pERN, das an die dissipative Bildung eines Thiol-Disulfid-Netzwerks mit einem quasi-stabilen Zustand (QSS) gekoppelt ist, ist in **Abbildung 1** dargestellt. Vorgeschaltet zum zentralen ERN bauen wir Cholin-Oxidase (COX) ein, um enzymatisch H₂O₂ aus photogeschütztem Cholin^[68] zu produzieren, das durch blaues Licht freigesetzt werden kann. Darüber hinaus zeigen wir die nachgeschaltete Integration von Alkoholdehydrogenase (AldH), um auf Kosten von Ethanol NADH aus dem oxidierten NAD⁺ zu regenerieren. Dieses nachgeschaltete EM verbessert die Robustheit des ERN und ermöglicht mehrere Betankungszyklen mit weniger [Cholin], was für die bekannten redox-basierten CRN oder ERN eine Herausforderung darstellt.^[53–57] Wir verwenden ein aromatisches thiolhaltiges Molekül (**A** / **A'**) mit polaren Endgruppen für die molekulare Löslichkeit und mit aromatischen Einheiten für die Charakterisierung mittels HPLC, um das ERN in Lösung zu standardisieren. Schlussendlich werden wir zeigen, wie dieses photoinitierte redox-basierte Netzwerk genutzt werden kann, um raumzeitliche und transiente Hydrogele^[28,69] zu erzeugen, indem Lösungen photochemisch betankt werden, die sternförmige PEG-Polymere endfunktionalisiert mit aromatischen Thiolen (sPEG-ArSH) enthalten. Wir geben Einblicke in die Prozesse an dem Sol/Gel-Übergang und deren autonome Reversion mittels Partikel-Bildungs-Geschwindigkeitsmessung.

Ergebnisse und Diskussion

Wir betonen zunächst unsere Wahl einer Oxidase, die orthogonal zum reduzierenden Teil unseres ERN ist, das

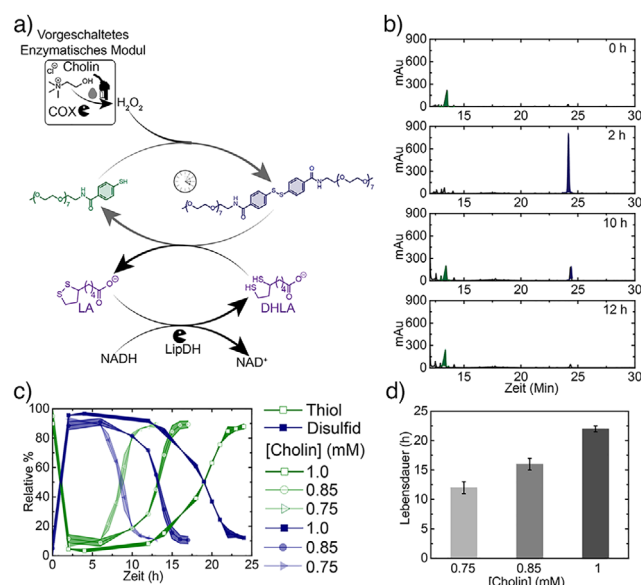


Abbildung 2. Cholin-angetriebene dissipative aromatische Disulfidbildung unter Verwendung eines ERN mit vorgeschaltetem EM. a) Schema des Redox-ERN mit vorgeschaltetem EM. b) Zeitabhängige HPLC-Chromatogramme, die dissipative aromatische Disulfidbildung angetrieben durch Cholin zeigen. c–d) Programmierbare Lebensdauer von aromatischem Disulfid bei verschiedenen [Cholin]. Der schattierte Bereich in c) und die Fehlerbalken in d) entsprechen der Standardabweichung von Duplikaten. [A] = 0.1 mM, [NADH] = 6 mM, [DHLA] = 0.5 mM, [LipDH] = 5 mU/μL, [COX] = 1.33 mU/μL.

aus Lipoamid-Dehydrogenase (LipDH) und Dihydroliponsäure (DHLA) besteht. Es wurde festgestellt, dass weiterhin untersuchte Oxidasen, wie Glukoseoxidase (GOX), in Gegenwart von DHLA gehemmt werden (**Abbildung S1a**). Zu Alkoholoxidase (AOX) wurde herausgefunden, dass es die reduzierende Hälfte des ERN hemmt (**Abbildung S1b**). Um vorgeschaltet eine funktionelle Oxidase in das Netzwerk einzubinden, wählten wir schließlich COX, die Cholin durch elektrostatische Wechselwirkungen^[70] erkennt und in Gegenwart von DHLA aktiv bleibt (**Abbildung S1c**).

Auf diese Weise bauten wir unseren ersten ERN-Ansatz zusammen, der das vorgeschaltete EM enthält (**Abbildung 2a**). Um die Ausgangsbedingungen zu schaffen, reduzierten wir mit 0.5 mM DHLA Disulfid **A** zu Thiol **A'**. Anschließend fügten wir 6 mM NADH, 5 mU/μL LipDH und 1.33 mU/μL COX hinzu und starteten das ERN mit 0.75 mM Cholin als Kraftstoff. Die Beobachtung des ERN-Fortschritts mittels HPLC (**Abbildung 2b**) zeigt, dass der Peak für **A'** (12 Minuten) innerhalb von 2 h fast vollständig verschwindet und ein Peak auftritt, der dem Disulfid **A** zugeordnet werden kann (24 Minuten). **A** verbleibt für 12 h in einem quasi-stationären Zustand (QSS), bevor die Intensität des Peaks abnimmt und der Peak für **A'** wieder ansteigt. Dies entspricht dem Kraftstoffverbrauch und der Überhandnahme der Deaktivierungsreaktion. Die Lebensdauer des QSS kann durch die Veränderung von [Cholin] angepasst werden. Die Erhöhung von [Cholin] von 0.75 auf 1 mM verlängert die Lebensdauer von 12 auf 32 h, was die zeitliche Programmierbarkeit des Systems demonstriert (**Abbildung 2c,d**; HPLC in

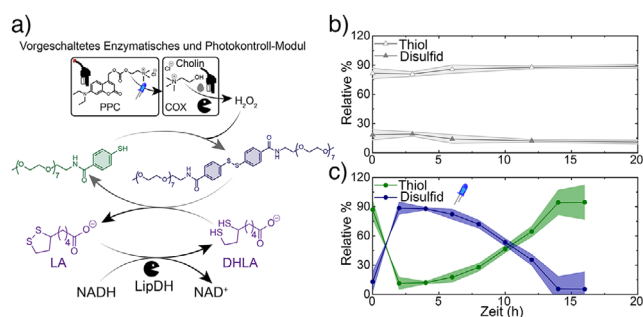


Abbildung 3. a) Schema zur photochemisch angetriebenen dissipativen aromatischen Disulfidbildung. Relative % von Thiol und Disulfid von b) einer nicht-bestrahlten Lösung, c) einer bestrahlten Lösung mit PPC. Der schattierte Bereich in b), c) entspricht der Standardabweichung von Duplikaten. [A] = 0.1 mM, [NADH] = 6 mM, [DHLA] = 0.5 mM, [LipDH] = 5 mU/μL, [COX] = 1.33 mU/μL, [PPC] = 0.5 mM.

Abbildung S2). Wir bestimmten die Lebensdauer des Systems anhand des Punktes, an dem die Abnahme der Intensität des Peaks für A nahezu konstant wurde.

Um ein durch Licht ausgelöstes Verhalten und letztlich eine räumliche Kontrolle zu ermöglichen, führten wir ein Cumarin-geschütztes Cholin ein, das bei 420 nm lichtinduziert entschützt wird, was sich spektral von der NADH-Absorption unterscheidet. Unser ERN, das dieses geschützte Cumarin enthält, ist in Abwesenheit von Licht vollständig inaktiv (Abbildung 3b; HPLC in Abbildung S3). Um das geschützte Cholin freizusetzen, bestrahlten wir es mit einer LED bei 420 nm, wobei eine LED-Intensität von 10 mW/cm² ausreicht, um 9 mM photogeschütztes Cholin (PPC) freizusetzen (Abbildung S4). Ein wesentlicher synthetischer Schritt ist der Ersatz des Iodid-Gegenions durch Chlorid, da Iodid durch H₂O₂ zu Iod oxidiert werden kann, was das ERN durch Oxidation von NADH oder des Enzyms stören könnte (HPLC in Abbildung S5a,b). Mit der PPC-Einheit versuchten wir als Nächstes, das ERN durch Licht zu initiieren (Abbildung 3a).

Dazu wurde A zunächst mit 0.5 mM DHLA zur Thiolform A' reduziert. Anschließend wurde das System mit 5 mU/μL LipDH, 1.33 mU/μL COX, 6 mM NADH und 0.5 mM PPC ergänzt. Dann bestrahlten wir die Lösung für 30 Minuten mit einer 420 nm-LED bei einer Leistung von 5 mW/cm², um 0.5 mM Cholin freizusetzen. Tatsächlich erscheint 2 h nach der Bestrahlung der Peak, der dem Disulfid A entspricht, was mit der Abnahme der Peakintensität von Thiol A' einhergeht (Abbildung 3c; HPLC in Abbildung S5c). Dieser Zustand bleibt für 2 h in einem QSS stabil, bis das System seinen Kraftstoff verbraucht hat, sodass die Peakintensität von A abnimmt und die Peakintensität von A' zunimmt. Die ursprünglichen Bedingungen des ERN hinsichtlich des Gleichgewichts zwischen A und A' sind nach etwa 14 h wiederhergestellt, was zeigt, dass das System photoinitiert werden kann.

Eine der faszinierenden Aussichten für die Photobetankung von ERN ist die Möglichkeit zur Speicherung und bedarfsgerechten Aktivierung von photogeschützten Kraftstoffen. Dies ist jedoch bei diesem speziellen photogeschützten Cholin nicht möglich, da die Carbonatbindung unter unseren Pufferbedingungen mit einer Halbwertszeit

von 10.5 h hydrolysiert (Abbildung S6). Ein möglicher Ansatz zur Verhinderung der Hydrolyse in wässrigem Medium ist die Schätzung von Cholin mit einer photospaltbaren Gruppe auf Nitrobenzol- oder Cumarinbasis über eine Etherbindung.^[71,72] Um jedoch die Robustheit des Systems zu verstehen, untersuchten wir zunächst die Wiederbetankung mit reinem Cholin. Allerdings stellten wir fest, dass ein zweiter Betankungszyklus (0.7 mM Cholin) keine transiente Reaktion hervorruft (Abbildung 4a,b). Obwohl A' zu A durch das produzierte H₂O₂ erfolgreich oxidiert wird, kehrt das System innerhalb von 100 h nicht in den Ursprungszustand zurück. Möglicherweise liegt das in der begrenzten Kapazität des Enzyms, das zusätzlich generierte H₂O₂ zu puffern, begründet. Um dieses Problem zu beheben, betankten wir das System mit weniger [Cholin] (0.2 mM; Abbildung 4c). Dieser Ansatz führt jedoch zu keiner Disulfidbildung, da wahrscheinlich die Deaktivierungsrate die Aktivierungsrate übersteigt.

Um dieses Problem auf konzeptioneller Ebene zu lösen, installierten wir ein nachgeschaltetes Modul basierend auf AIDH zur Regeneration von NADH aus NAD⁺ mithilfe von Ethanol (Abbildungen 4a, S7). Außerdem senkten wir die [NADH] im ERN von 4 auf 0.25 mM, was durch AIDH langsam wieder regeneriert wird. Dies bietet eine zusätzliche kinetische Kontrolle und hilft bei der Verlangsamung der Deaktivierungsreaktion, indem anstelle der hohen NADH-Konzentration, die in den ERN-Bedingungen in Abbildung 4b,c eingesetzt wird, langsam NADH freigesetzt wird. Nach diesem Prinzip bauten wir das modifizierte ERN unter Verwendung von 0.25 mM DHLA, 0.25 mM NADH, 6 mU/μL AIDH und 100 mM Ethanol auf und betankten das System anschließend mit 0.2 mM Cholin. Zeitabhängige HPLC-Chromatogramme des ERN zeigen eine erfolgreiche wiederholbare Betankung für mindestens drei Zyklen mit 0.2 mM Cholin (Abbildung 4d). In den nachfolgenden Zyklen kommt es zu einer verlängerten Lebensdauer (Abbildung S8). Da es keinen nennenswerten Verlust an enzymatischer Aktivität über die Zeit gibt, weder in Gegenwart, noch in Abwesenheit von Cumarin (Abbildung S9), vermuten wir, dass die verlängerte Lebensdauer der nachfolgenden Zyklen auf die Ansammlung von Abfallprodukten zurückzuführen ist. Insgesamt zeigt dies jedoch eine sehr vorteilhafte wiederholte Aktivierung. Mit diesem erweiterten ERN sind durch die erneute Zugabe des photogeschützten Cumarins auch mehrere Photoaktivierungszyklen möglich, sodass das Hydrolyse-Problem umgangen werden kann (0.3 mM PPC; Abbildung 4e).

Um die räumliche Aktivierung des ERN innerhalb eines Materialsystems zu untersuchen, demonstrieren wir als Nächstes die raumzeitlich kontrollierte Hydrogelbildung mit sPEG-ArSH, das Hydrogele durch Vernetzung aufgrund der Bildung von Disulfidbindungen bildet (Abbildung S10, Rheologie). Zunächst untersuchten wir die dissipative Hydrogelbildung unter Verwendung von Cholin als Kraftstoff. Für dieses System wurden 2.5 mM sPEG-ArSH zusammen mit 60 mM NADH, 2.5 mM DHLA, 0.03 U/μL COX und unterschiedlichen Konzentrationen von LipDH gegeben und das System wurde durch Zugabe von 9 mM Cholin betankt. Die Konzentrationen wurden unter Berücksichtigung des

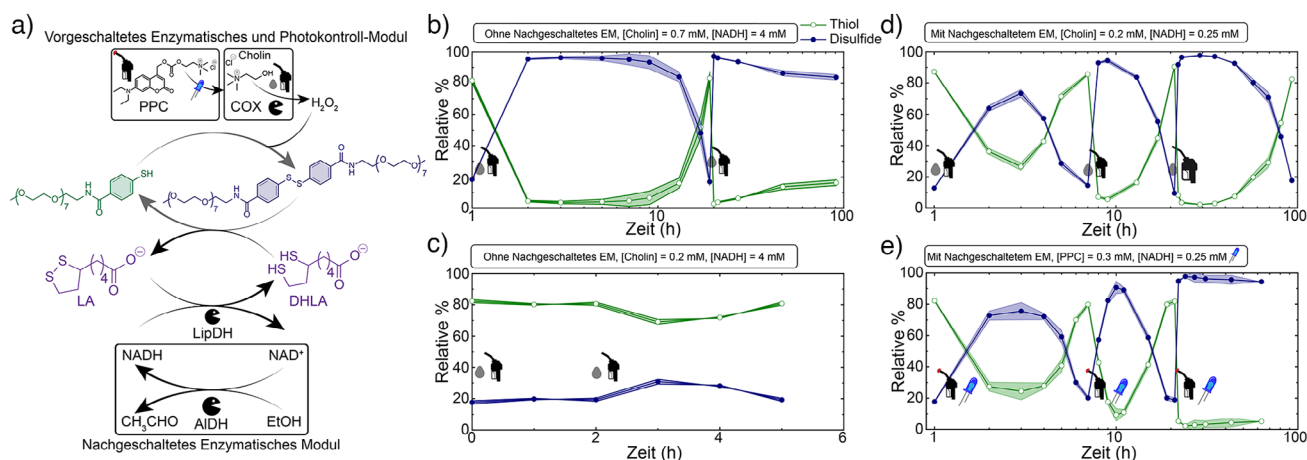


Abbildung 4. a) Schema des Redox-ERN mit nachgeschaltetem EM für mehrfaches Betanken und dissipative aromatische Disulfidbildung. Relative % von aromatischem Thiol und Disulfid während mehrfachem Betanken mit b) 0.7 mM, c) 0.2 mM Cholin ohne nachgeschaltetes EM und mit d) 0.2 mM Cholin, e) 0.3 mM PPC mit nachgeschaltetem EM. Der schattierte Bereich entspricht der Standardabweichung von Duplikaten. Bedingungen für b), c) sind [A] = 0.1 mM, [NADH] = 4 mM, [DHLLA] = 0.25 mM, [LipDH] = 5 mU/μL, [COX] = 1.33 mU/μL. Bedingungen für d), e) sind [A] = 0.1 mM, [NADH] = 0.25 mM, [DHLLA] = 0.25 mM, [EtOH] = 100 mM, [LipDH] = 5 mU/μL, [COX] = 1.33 mU/μL, [AOX] = 6 mU/μL.

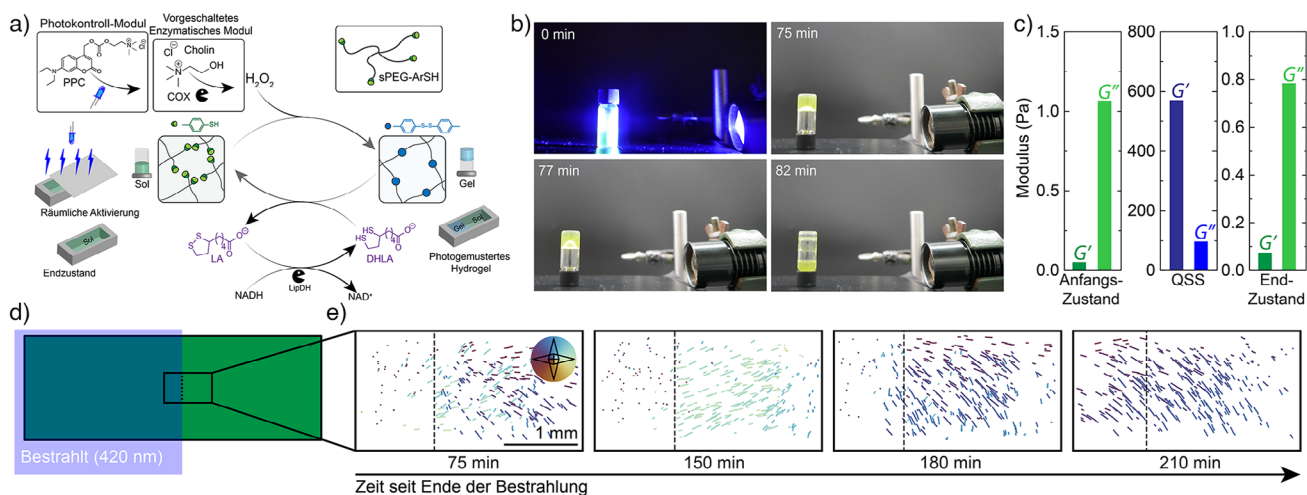


Abbildung 5. a) Das Schema zeigt die Integration und Photoaktivierung des Redox-ERN mit vorgeschaltetem EM in sPEG-ArSH für die raumzeitlich kontrollierte dissipative Hydrogelbildung. b) Die Schnappschuss-Serie der photoaktivierten dissipativen Hydrogele demonstriert das Schmelzen der gebildeten Hydrogele durch Photoaktivierung nach 82 Minuten. c) Entsprechende Moduli im Sol-Zustand (ohne Licht), QSS ($t = 75$ Minuten) und am Ende des Zyklus ($t = 12$ h), gemessen mittels Rheologie bei einer Frequenz von 1 Hz und Amplitude = 1 %. d) Skizze einer Probenkammer, die den Bereich der Mikroskopieaufnahmen anzeigt. e) Partikelspuren von 40 s-Intervallen bei 0.5 fps bei verschiedenen Zeitpunkten nach Bestrahlung. Jede farbige Linie entspricht einem individuellen Partikel. ([sPEG-ArSH] = 2.5 mM, [DHLLA] = 2.5 mM, [NADH] = 60 mM, [LipDH] = 0.025 U/μL, [COX] = 0.03 U/μL, [PPC] = 9 mM).

erhöhten Gehalts an aromatischen Thiol-Endgruppen im Vergleich zu den Studien in Lösung angepasst. Der Fläschchen-Inversionstest (Abbildung S11, Video S1) zeigt vor der Zugabe von Cholin eine niedrigviskose Lösung, die durch die enzymatische Produktion von H_2O_2 in ein Gel überführt wird. Aufgrund der unvermeidbaren Probleme durch limitierte Sauerstoffdiffusion in das System während der rheologischen in situ-Messung (stöchiometrisches O_2 wird von COX benötigt, eine Versiegelung ist jedoch erforderlich, um ein Austrocknen des Hydrogels zu verhindern) werteten wir den Sol-Gel-Sol-Übergang durch Beobachtung der Videos an dem Punkt aus, an dem das Gel zum Boden des Fläschchens

fließt. Die Systeme zeigen nur eine geringe Abhängigkeit der Lebensdauer von [LipDH]. *Ex situ*-Rheologie bestätigt außerdem den Übergang von Sol (Anfangszustand) zu Gel (QSS) zu Sol (Endzustand), der durch den Verbrauch von Cholin angetrieben wird (Rheologie in Abbildung S11c-e).

Um photoaktivierte dissipative Hydrogele mit sPEG-ArSH zu erhalten, ersetzen wir Cholin durch PPC (9 mM) und bestrahlen zur Freisetzung von Cholin 30 Minuten mit 10 mW/cm^2 Licht bei 420 nm (Studien zur Photoentschüttung in Abbildung S4). Zeitabhängige Bildgebung bestätigt die Bildung des Hydrogels nach 75 Minuten, wie im Fläschchen-Inversionstest beobachtet werden kann (Abbildung 5a,b,

Video S2). Das Gel bleibt etwa 80 Minuten in einem QSS, bevor es auf den Boden des Fläschchens fließt. *Ex situ*-Rheologie bestätigt die Bildung des Hydrogels im QSS und zeigt einen höheren Speichermodul (G') als Verlustmodul (G'') (Rheologie in Abbildung S12). Bemerkenswerterweise ist der Speichermodul (G'), der durch die Photofreisetzung von Cholin erhalten wird, niedriger als der, der durch die direkte Zugabe von Cholin erhalten wird. Dies ist auf die langsame Freisetzung von Cholin während der Photoentschüttung im Vergleich zur direkten Zugabe von Cholin als Kraftstoff zurückzuführen.

Um die räumliche Kontrolle in photoaktivierten dissipativen Hydrogelen zu demonstrieren, füllten wir einen maßgeschneiderten PDMS-basierten Reaktor mit einer sPEG-ArSH-Lösung, die 2.5 mM DHLA, 60 mM NADH, 0.025 U/ μ L LipDH, 0.03 U/ μ L COX und 9 mM PPC enthielt und nur auf einem Teil bestrahlt werden kann. Zusätzlich haben wir fluoreszierende Partikel (1-5 μ m Durchmesser) in die Lösung dispergiert, um die Partikelverfolgung zu ermöglichen und die raumzeitliche Bildung des Hydrogels zu untersuchen. Mit diesem Aufbau bestrahlten wir die Lösung, die zur Hälfte mit einer Fotomaske bedeckt war (Abbildung 5a), mit einer 420 nm-LED bei einer Intensität von 10 mW/cm² für 30 Minuten. Anschließend verfolgten wir die Bewegung der dispergierten Partikel nach 75 Minuten an der Grenzfläche zwischen dem bestrahlten und dem nicht-bestrahlten Bereich (Abbildung 5d,e, Video S3) in 15 Minuten-Intervallen. Die Partikelspuren zeigen, dass die Partikel im nicht-bestrahlten Bereich sehr dynamisch sind, während die Partikel im bestrahlten Bereich statisch sind und durch das umgebende Hydrogel-Netzwerk eingeschlossen werden. Dies bestätigt die räumliche Aktivierung des ERN und die Bildung von Hydrogelen (Abbildung S13).

Interessanterweise zeigt die Partikelverfolgung, dass sich das räumlich aktivierte Gel an der Grenzfläche zwischen dem gelierten und dem nicht-gelierten Bereich auflöst, wobei der Prozess graduell nach innen (nach links) fortschreitet. Nach etwa 3 h sind alle Partikel dynamisch, was einem vollständigen Übergang vom Gel zum Sol entspricht und die raumzeitliche Natur der Hydrogelbildung hervorhebt. Auf mikroskopischer Ebene stellen wir fest, dass sich die Partikel während des Schmelzvorgangs überwiegend in Richtung der hydrogelierten Region in der Nähe der gelierten und nicht-gelierten Domänen bewegen. Wir vermuten, dass dies auf einen Gradienten von DHLA zurückzuführen ist, der in der nicht-bestrahlten Region höher ist als im bestrahlten Bereich. Eine diffusophoretische Nettowanderung der Partikel in Richtung des hydrogelierten Bereichs könnte diese Bewegung erklären.

Zusammenfassung

Zusammenfassend stellten wir ein vielseitiges, chemisch angetriebenes kaskadiertes Redox-ERN vor, das neue und wichtige vor- und nachgeschaltete EM enthält und eine robuste Photoaktivierung und Wiederbetankung ermöglicht, um die dissipative aromatische Disulfidbildung anzutreiben. Wir zeigten, wie COX vorgeschaltet in das ERN integriert werden

kann, um das System mit Cholin als Kraftstoff zu aktivieren und eine [Cholin]-abhängige Lebensdauer zu ermöglichen. Um eine Photoinitiation des ERN zu erreichen, führten wir ein photogeschütztes Cholin in Form eines Cumarinderivats ein, sodass das Cholin photofreigesetzt und das ERN durch blaues Licht aktiviert werden kann. Außerdem bauten wir nachgeschaltet AIDH zur Regeneration von NADH aus NAD⁺ unter Verwendung von Ethanol ein, wodurch die reduzierende Hälfte des Reaktionszyklus verlangsamt wird und das System mit niedrigeren Kraftstoffkonzentrationen aufgetankt werden kann. Im Gegensatz zu unserem früheren Redox-CRN^[67] verfügt dieses hierarchische ERN-System nun über zwei zusätzliche Module, die vor- und nachgeschaltet sind, um eine robuste Photoaktivierung zu ermöglichen und das Wiederbetanken des Systems zu erleichtern.

Um den Nutzen dieses photoaktivierten ERN zu demonstrieren, koppelten wir es zum Erzielen einer photoinitierten dissipativen Hydrogelbildung mit sPEG-ArSH. Auf der Materialebene zeigten wir eine photoinduzierte räumlich und zeitlich kontrollierte Hydrogelbildung. Partikelverfolgung ermöglichte tiefe Einblicke in den Auflösungsprozess und entstehende Konvektion im System. Dieses redoxbasierte ERN bildet die Grundlage für die raumzeitliche und dissipative Aktivierung von Materialien und Systemen auf Thiol-Disulfid-Basis. In Zukunft können die vor- und nachgeschalteten EM mit verschiedenen Licht-Wellenlängen photokontrolliert werden, was komplexe raumzeitliche Reaktionen oder eine räumliche Regulierung (Hoch- oder Herunterregulierung) des Systemverhaltens bei der Integration in Materialsysteme ermöglicht.

Hintergrundinformationen

Die Autoren haben zusätzliche Referenzen in den Hintergrundinformationen angegeben.^[73]

Danksagung

A.S. dankt für die Förderung durch die Alexander von Humboldt-Stiftung. A.W. dankt für die Finanzierung einer Gutenberg-Forschungsprofessur, die seine Forschung an lebensähnlichen Materialien unterstützt. Diese Arbeit wurde von der DFG im Rahmen des SFB 1552 „Defects and Defect Engineering in Soft Matter“, Projektnummer 465145163, gefördert.

Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Erklärung zur Datenverfügbarkeit

The data that support the findings of this study are available in the supplementary material of this article.

Schlüsselwörter: Chemisches Reaktionsnetzwerk • Hydrogele • Raumzeitliche Kontrolle • Systemchemie • Thiol-Disulfid System

- [1] A. Walther, *Adv. Mater.* **2020**, 32, 1905111.
- [2] R. Merindol, A. Walther, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 5588–5619.
- [3] B. A. Grzybowski, W. T. S. Huck, *Nat. Nanotechnol.* **2016**, 11, 585–592.
- [4] R. D. Vale, *Cell* **2003**, 112, 467–480.
- [5] M. Salazar-Roa, M. Malumbres, *Trends Cell Biol.* **2017**, 27, 69–81.
- [6] T. D. Pollard, *Nature* **2003**, 422, 741–745.
- [7] H. Ge, H. Qian, *Phys. Rev. E* **2013**, 87, 062125.
- [8] H. Qian, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, 58, 113–142.
- [9] H. Qian, S. Roy, *IEEE Trans. on Nanobioscience* **2012**, 11, 289–295.
- [10] S. Bal, K. Das, S. Ahmed, D. Das, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 131, 250–253.
- [11] D. Del Giudice, F. Fratello, C. Sappino, S. Di Stefano, *Eur. J. Org. Chem.* **2022**, 2022, e202200407.
- [12] D. Del Giudice, S. Di Stefano, *Acc. Chem. Res.* **2023**, 56, 889–899.
- [13] J. Heckel, S. Loescher, R. T. Mathers, A. Walther, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 7117–7125.
- [14] S. Debnath, S. Roy, R. V. Ulijn, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 16789–16792.
- [15] L. Heinen, A. Walther, *Sci. Adv.* **2019**, 5, eaaw0590.
- [16] C. Sharma, A. Walther, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2022**, 61, e202201573.
- [17] C. Sharma, I. Maity, A. Walther, *Chem. Commun.* **2023**, 59, 1125–1144.
- [18] A. Sorrenti, J. Leira-Iglesias, A. Sato, T. M. Hermans, *Nat. Commun.* **2017**, 8, 15899.
- [19] K. Dai, J. R. Fores, C. Wanzke, B. Winkeljann, A. M. Bergmann, O. Lieleg, J. Boekhoven, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 14142–14149.
- [20] M. P. Van Der Helm, C. Wang, B. Fan, M. Macchione, E. Mendes, R. Eelkema, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 20604–20611.
- [21] J. Boekhoven, W. E. Hendriksen, G. J. M. Koper, R. Eelkema, J. H. Van Esch, *Science* **2015**, 349, 1075–1079.
- [22] J. Boekhoven, A. M. Brizard, K. N. K. Kowgi, G. J. M. Koper, R. Eelkema, J. H. van Esch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 4825–4828.
- [23] D. Spitzer, L. L. Rodrigues, D. Straßburger, M. Mezger, P. Besenius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 15461–15465.
- [24] J. P. Wojciechowski, A. D. Martin, P. Thordarson, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 2869–2874.
- [25] S. Amano, T. M. Hermans, *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, 146, 23289–23296.
- [26] B. Klemm, R. W. Lewis, I. Piergentili, R. Eelkema, *Nat. Commun.* **2022**, 13, 6242.
- [27] B. A. K. Kriebisch, C. M. E. Kriebisch, H. W. A. Swanson, D. Bublitz, M. Kube, A. M. Bergmann, A. Van Teijlingen, Z. MacPherson, A. Kartouzian, H. Dietz, M. Rief, T. Tuttle, J. Boekhoven, *Chem* **2024**, S2451929424004315.
- [28] J. Zhang, J. Liu, H. Li, X. Li, Y. Zhao, P. Zhao, J. Cui, B. Yang, Y. Song, Y. Zheng, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2022**, 14, 20073–20082.
- [29] P. Das, T. Das, S. Koley, M. Kumar Baroi, S. Das, J. Mohanty, D. Das, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2025**, 64, e202414239.
- [30] A. Chatterjee, A. Reja, S. Pal, D. Das, *Chem. Soc. Rev.* **2022**, 51, 3047–3070.
- [31] R. F. Ludlow, S. Otto, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 101–108.
- [32] G. Ashkenasy, T. M. Hermans, S. Otto, A. F. Taylor, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 2543–2554.
- [33] H. W. H. Van Roekel, B. J. H. M. Rosier, L. H. H. Meijer, P. A. J. Hilbers, A. J. Markvoort, W. T. S. Huck, T. F. A. De Greef, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, 44, 7465–7483.
- [34] J. H. Van Esch, R. Klajn, S. Otto, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 5474–5475.
- [35] A. Singh, P. Parvin, B. Saha, D. Das, *Nat. Rev. Chem.* **2024**, 8, 723–740.
- [36] F. Sheehan, D. Sementa, A. Jain, M. Kumar, M. Tayarani-Najjaran, D. Kroiss, R. V. Ulijn, *Chem. Rev.* **2021**, 121, 13869–13914.
- [37] S. Ghosh, M. G. Baltussen, N. M. Ivanov, R. Haije, M. Jakštaitė, T. Zhou, W. T. S. Huck, *Chem. Rev.* **2024**, 124, 2553–2582.
- [38] M. Weißenfels, J. Gemen, R. Klajn, *Chem* **2021**, 7, 23–37.
- [39] M. Teders, A. A. Pogodaev, G. Bojanov, W. T. S. Huck, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, 143, 5709–5716.
- [40] A. A. Pogodaev, A. S. Y. Wong, W. T. S. Huck, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 15296–15299.
- [41] M. Teders, N. R. Murray, W. T. S. Huck, *ChemSystemsChem* **2021**, 3, e2100020.
- [42] A. Reja, S. Pal, K. Mahato, B. Saha, M. Delle Piane, G. M. Pavan, D. Das, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, 145, 21114–21121.
- [43] N. M. Ivanov, A. I. Slivkov, W. T. S. Huck, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2025**, 137, e202415614.
- [44] R. Klajn, P. J. Wesson, K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 7035–7039.
- [45] P. K. Kundu, S. Das, J. Ahrens, R. Klajn, *Nanoscale* **2016**, 8, 19280–19286.
- [46] R. Klajn, K. J. M. Bishop, B. A. Grzybowski, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2007**, 104, 10305–10309.
- [47] T. Bian, Z. Chu, R. Klajn, *Adv. Mater.* **2020**, 32, 1905866.
- [48] D. Samanta, R. Klajn, *Adv. Opt. Mater.* **2016**, 4, 1373–1377.
- [49] D. Manna, T. Udayabhaskararao, H. Zhao, R. Klajn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, 54, 12394–12397.
- [50] J. Deng, D. Bezold, H. J. Jessen, A. Walther, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, 59, 12084–12092.
- [51] M. Jain, G. Trapani, B. Trappmann, B. J. Ravoo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2024**, 63, e202403760.
- [52] L. Wimberger, F. J. Rizzuto, J. E. Beves, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, 145, 2088–2092.
- [53] J. Leira-Iglesias, A. Tassoni, T. Adachi, M. Stich, T. M. Hermans, *Nat. Nanotechnol.* **2018**, 13, 1021–1027.
- [54] I. Hwang, R. D. Mukhopadhyay, P. Dhasaiyan, S. Choi, S.-Y. Kim, Y. H. Ko, K. Baek, K. Kim, *Nat. Chem.* **2020**, 12, 808–813.
- [55] X. Lang, Y. Huang, L. He, Y. Wang, U. Thumu, Z. Chu, W. T. S. Huck, H. Zhao, *Nat. Commun.* **2023**, 14, 3084.
- [56] M. Jain, B. J. Ravoo, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 21062–21068.
- [57] J. S. Valera, Á. López-Acosta, T. M. Hermans, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2024**, 63, e202406931.
- [58] D. M. Beaupre, R. G. Weiss, *Molecules* **2021**, 26, 3332.
- [59] C. J. Bowerman, B. L. Nilsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 9526–9527.
- [60] P. Adamski, M. Eleveld, A. Sood, Á. Kun, A. Szilágyi, T. Czárán, E. Szathmáry, S. Otto, *Nat. Rev. Chem.* **2020**, 4, 386–403.
- [61] J. M. A. Carnall, C. A. Waudby, A. M. Belenguer, M. C. A. Stuart, J. J.-P. Peyralans, S. Otto, *Science* **2010**, 327, 1502–1506.
- [62] W. A. Ogden, Z. Guan, *ChemSystemsChem* **2020**, 2, e1900030.
- [63] P. J. Hurst, J. T. Mulvey, R. A. Bone, S. Selmani, R. F. Hudson, Z. Guan, J. R. Green, J. P. Patterson, *Chem. Sci.* **2024**, 15, 1106–1116.
- [64] D. Barpuzary, P. J. Hurst, J. P. Patterson, Z. Guan, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, 145, 3727–3735.

- [65] S. Yang, G. Schaeffer, E. Mattia, O. Markovitch, K. Liu, A. S. Hussain, J. Ottel , A. Sood, S. Otto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 11344–11349.
- [66] S. M. Morrow, I. Colomer, S. P. Fletcher, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1011.
- [67] A. Sarkar, B. D zs, A. Walther, *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 10281–10285.
- [68] M. J. Hansen, W. A. Velema, M. M. Lerch, W. Szymanski, B. L. Feringa, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 3358–3377.
- [69] C. W. H. Rajawasam, C. Tran, M. Weeks, K. S. McCoy, R. Ross-Shannon, O. J. Dodo, J. L. Sparks, C. S. Hartley, D. Konkolewicz, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 5553–5560.
- [70] O. Quaye, G. T. Lountos, A. M. O. Fan, G. Gadda, *Biochemistry* **2008**, *47*, 243–256.
- [71] Z. Ming, J. Fan, C. Bao, Y. Xue, Q. Lin, L. Zhu, *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1706918.
- [72] S. Arumugam, V. V. Popik, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 518–521.
- [73] D. B. Allan, T. Caswell, N. C. Keim, C. M. van der Wel, R. W. Verweij, *soft-matter/trackpy: v0.6.4 (v0.6.4)*, *Zenodo*, **2024**, <https://doi.org/10.5281/ZENODO.12708864>.

Manuskript erhalten: 15. Februar 2025

 berarbeitetes Manuskript erhalten: 21. März 2025

Akzeptierte Fassung online: 27. März 2025

Endgültige Fassung online: 05. Mai 2025