

Artículo

Influencia del sustrato sobre la actividad enzimática en *Cordyceps militaris* para aplicaciones sanitarias

Nguyen Quang Trung ¹ , Nguyen Tien Dat ², Ho Ngoc Anh ³ , Quach Ngoc ³, Vu Thi Hanh Nguyen ³,
Ho Ngoc Bich Van ⁴, Nguyen Minh Nhat Van ⁵ Tung 5 y Truong Ngoc Minh ^{2,6,*} 

- ¹ Instituto de Ciencias Ambientales y Salud Pública, Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam, 18 Hoang Quoc Viet Street, Cau Giay, Hanoi 100000, Vietnam; nqtrung79@gmail.com
- ² Centro de Investigación y Desarrollo de Alta Tecnología, Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam, 18 Hoang Quoc Viet Street, Cau Giay, Hanoi 100000, Vietnam; ntat@cretech.vast.vn
- ³ Instituto de Biotecnología, Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam, 18 Hoang Quoc Viet Street, Cau Giay, Hanoi 100000, Vietnam; hongocanh1612@gmail.com (HNA); qn.tung@ibt.ac.vn (QNT); vhnghuyen@ibt.ac.vn (VTHN)
- ⁴ Escuela Arquímedes, Área Urbana 23B, Dong Anh, Hanoi 100000, Vietnam; samikiki1194@gmail.com
- ⁵ Universidad Nacional de Educación de Hanoi, 136 Xuan Thuy Street, Cau Giay, Hanoi 100000, Vietnam; vannguyen18012008@gmail.com
- ⁶ Vicomi Tam An Investment and Commercial Company Limited, 140 Nghia Dung Street, Phuc Xa Ward, Ba Dinh District, Hanoi 111000, Vietnam * Correspondencia: minhntn689@gmail.com

Resumen: *Cordyceps militaris*, bien conocido por su potencial terapéutico en el control de la diabetes tipo 2 mediante la inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, fue el foco central de esta investigación, que investigó la influencia de varios sustratos de cultivo en su propiedades inhibidoras enzimáticas y contenido de compuestos bioactivos. Estudios anteriores se han centrado principalmente en los beneficios farmacológicos generales de *C. militaris*, pero no han explorado a fondo cómo los diferentes sustratos afectan su perfil bioactivo y sus actividades inhibidoras de enzimas. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el impacto de la selección de sustrato en las actividades de inhibición de enzimas y los niveles de compuestos bioactivos como cordicepina y adenosina en *C. militaris*, demostrando que la selección de sustrato afecta notablemente tanto las actividades de inhibición de estas enzimas como los niveles de compuestos bioactivos. En particular, los cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *Brihaspa atrostigmella* mostraron las concentraciones más altas de cordicepina (2,932 mg/g) y adenosina (1,062 mg/g). Este sustrato también exhibió la inhibición de α -glucosidasa más potente con un valor de IC₅₀ de $336,4 \pm 16,0$ μ g/ml y la inhibición de α -amilasa más eficaz con un valor de IC₅₀ de $504,6 \pm 4,2$ μ g/ml. Por el contrario, *C. militaris* cultivada en residuos sólidos de *Gryllus bimaculatus* mostró la inhibición más fuerte de la xantina oxidasa (XOD), con el valor de IC₅₀ más bajo de $415,7 \pm 11,2$ μ g/ml. Estos hallazgos resaltan el papel fundamental de la elección del sustrato para mejorar las propiedades medicinales de *C. militaris*, lo que sugiere que el cultivo optimizado puede mejorar las propiedades bioactivas para terapias naturales más efectivas para la diabetes y otros trastornos metabólicos. Este estudio no sólo amplía la comprensión del potencial farmacológico de *C. militaris* sino que también ilustra su aplicabilidad en el desarrollo de opciones de tratamiento personalizadas.

Palabras clave: adenosina; cordicepina; *Cordyceps militaris*; diabetes; selección de sustrato



Cita: Trung, NQ; Dat, Nuevo Testamento; Anh, HN; Tung, QN; Nguyen, VTH; Furgoneta, HNB; Van, NMN; Minh, Tennessee
Influencia del sustrato sobre la actividad enzimática en *Cordyceps militaris* para aplicaciones sanitarias. Química 2024, 6, 517–530.
<https://doi.org/10.3390/química6040030>

Editor académico: George Grant

Recibido: 11 de junio de 2024

Revisado: 23 de junio de 2024

Aceptado: 24 de junio de 2024

Publicado: 28 de junio de 2024



Copyright: © 2024 por los autores.
Licenciario MDPI, Basilea, Suiza.

Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y

condiciones de los Creative Commons

Licencia de atribución (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introducción

El género *Cordyceps* es estimado por su considerable valor terapéutico y nutricional y desempeña un papel importante tanto en la medicina tradicional asiática como en las prácticas sanitarias occidentales [1]. Entre sus especies, *C. militaris* se distingue por sus potentes efectos farmacológicos, como inmunomodulación y propiedades anticancerígenas [2–4]. El uso de *Cordyceps* para el tratamiento de enfermedades como el cáncer, las inmunodeficiencias y las enfermedades relacionadas con la edad está respaldado por una extensa investigación que demuestra sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y

propiedades inmunomoduladoras [5–7]. Estas características enfatizan la capacidad del hongo para regular las funciones corporales y contrarrestar eficazmente estados patológicos [8]. *C. militaris* parasita varios insectos para producir cuerpos fructíferos, que son ricos en fitoquímicos esenciales, incluidos cordicepina, polisacáridos y compuestos fenólicos que mejoran sus atributos promotores de la salud [9]. Con una creciente demanda de productos naturales para la salud, el mercado de extractos de *Cordyceps* se ha expandido significativamente, valorado en más de 473 millones de dólares en 2018, con predicciones de crecimiento continuo [10]. Esta creciente demanda ha impulsado innovaciones en el cultivo artificial de *C. militaris*, diseñadas para mejorar el rendimiento y la producción de compuestos bioactivos. Los métodos de cultivo actuales utilizan diversos sustratos, como granos de cereales y cuerpos de insectos, que no sólo imitan las condiciones naturales de crecimiento del hongo sino que también estimulan componentes bioactivos específicos conocidos por sus notables efectos antitumorales e inmunomoduladores [4].

A pesar de estas ventajas, el cultivo de *Cordyceps* enfrenta desafíos, especialmente en lo que respecta a la sostenibilidad y los impactos ambientales [11]. La biomasa sobrante del cultivo de *Cordyceps* presenta importantes desafíos en la gestión de residuos, lo que requiere soluciones innovadoras, como técnicas de extracción cromatográfica en columna para recuperar compuestos valiosos de los sustratos residuales [12]. La elección de los huéspedes de cultivo es crucial, ya que no sólo afecta el rendimiento y la calidad de los compuestos bioactivos sino también la sostenibilidad de las prácticas de producción. Cada huésped ofrece un entorno fisiológico único que influye en las vías metabólicas de *C. militaris*, afectando la síntesis de compuestos esenciales como la cordicepina y los polisacáridos [13]. Por ejemplo, las investigaciones han demostrado que las larvas de gusanos de seda producen niveles más altos de cordicepina que otros huéspedes, lo que destaca la importancia de una cuidadosa selección del huésped para mejorar las propiedades medicinales del hongo [14,15]. La adaptación de una amplia gama de huéspedes, desde artrópodos naturales a medios sintéticos, ayuda a reducir los impactos ecológicos y brinda oportunidades económicas para una producción sostenible a gran escala [16–18]. La diversidad genética entre las cepas de *C. militaris* también desempeña un papel fundamental, ya que influye en la compatibilidad con diversos huéspedes y en la eficacia de la síntesis de compuestos bioactivos [19]. Los avances en biología molecular han profundizado nuestra comprensión de cómo *C. militaris* ajusta sus vías metabólicas para maximizar la utilización de recursos, optimizando así la eficiencia del cultivo [20].

Este estudio aprovecha esta amplia experiencia para explorar el impacto de varios insectos comestibles como sustratos en la producción de cordicepina y otros componentes bioactivos. Al utilizar cinco insectos diferentes aprobados para el consumo en Vietnam: *Bombyx mori* Pupa (pupas de gusanos de seda), *Brihaspa atrostigmella* (gusano), *Halyomorpha halys* (chincheapestosa marrón), *Oxya chinensis* (saltamontes) y *Gryllus bimaculatus* (grillo), nuestro objetivo es dilucidar la influencia de la elección del sustrato en las propiedades medicinales de *C. militaris*. Se suministró arroz integral a todos los medios como sustrato basal para proporcionar los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento y desarrollo inicial de *C. militaris* [21–23]. Cada mezcla de insectos sirvió como sustrato suplementario para mejorar la producción de compuestos bioactivos como adenosina, cordicepina, fenoles y flavonoides [24]. Este enfoque de sustrato dual fue diseñado para investigar los efectos sinérgicos sobre el crecimiento de hongos y sus propiedades farmacológicas. La inclusión de mezclas de insectos es particularmente significativa ya que proporcionan nutrientes específicos y compuestos bioactivos, como proteínas, grasas, vitaminas y minerales, que son esenciales para optimizar los procesos metabólicos en *C. militaris* [25–27]. Estos nutrientes mejoran potencialmente las actividades biológicas del hongo, lo que lleva a una mayor producción de compuestos bioactivos con fuertes actividades antioxidantes e inhibidoras de enzimas. Este enfoque no sólo ofrece información sobre cómo optimizar las prácticas de cultivo, sino que también destaca el potencial para desarrollar terapias naturales para los trastornos metabólicos, contribuyendo así a las aplicaciones farmacológicas más amplias de *C. militaris*. Esta investigación incluye un análisis de las actividades de inhibición de la xantina oxidasa y antioxidante, así como de las actividades de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa tanto de los cuerpos fructíferos como de los residuos sólidos. A través de esta investigación, esperamos contribuir a la comprensión farmacológica de *Cordyceps* y brindar información sobre prácticas de cultivo sostenibles que podrían mejorar la eficacia terapéutica de este valioso hongo medicinal. Por lo tanto, nos hemos embarcado en un desarrollo

2. Materiales y métodos

2.1.2 Materiales y Métodos

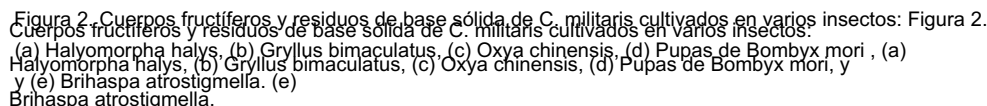
2.1211.0 Materiales

[illegible]

Figura 1. Insectos comestibles utilizados en el estudio.

2.122.1 Cultivo de O. militaris VGC4M34117

[illegible]



Cuadro 1. Características nutricionales y contribuciones de insectos comestibles seleccionados a *Cordyceps militaris* cultivo.

Insecto	Características nutricionales	Contribución a Culti- Cultivo de c. militares	Parte	Parte	Peso (g)	Código	Código
Pupas de Bombyx mori	Proteínas (51-55%) Grasas (25-30%) Aminoácidos esenciales	Proporciona nutrientes robustos para crecimiento fúngico y bioactivo	Cuerpo fructífero	fructificación	1,32 ± 0,08	FBMP	FBMP
Pupas de Bombyx mori	Vitaminas (B) Minerales (K, Ca, Mg, Fe)	Proporciona nutrientes robustos para crecimiento fúngico y bioactivo	Residuo de base sólida	Cuerpo	4,28 ± 0,12	SBMP	SBMP
(Pupas de gusanos de seda)	Vitaminas (B) Alto en proteínas	Crecimiento de hongos y síntesis de compuestos bioactivos.	Residuo	De base sólida	4,28 ± 0,12	SBMP	SBMP
Brihaspa atrostrigmella (Gusano Chit)	Minerales (K, Ca, Mg, Fe) Alto en micronutrientes	Apoya la producción de cordicepina y adenosina	Residuo de base sólida	fructificación	4,50 ± 0,15	SBA	SBA
Brihaspa atrostrigmella	Compuestos antioxidantes bioactivos.				1,50 ± 0,10	Logística de Amazon	
Brihaspa atrostrigmella	Proteínas (hasta 70%) Grasas saludables esenciales	Apoya la producción de	Cuerpo fructífero		1,24 ± 0,06	FHH	FHH
Halyomorpha halys (Gusano Chit)	Vitaminas (Micro nutrientes)	Contribuye a la actividad antioxidante y actividades enzimáticas de cordicepina y adenosina	Residuo de base sólida	De base sólida	4,50 ± 0,15	SBA	shh
Halyomorpha halys	Minerales (Fe, Mg, Zn)			Residuo			
oxi ya chinensis (Saltamontes)	Compuestos antioxidantes bioactivos	Proteínas (80-70%) Grasas no saturadas	Cuerpo fructífero		1,15 ± 0,05	FOC	FOC
Halyomorpha halys	Proteínas (hasta 70%) Vitaminas (B12, E)	Promueve la síntesis de fenoles. y flavonoides	Residuo de base sólida	fructificación	1,24 ± 0,06	FHH	SOC
(chincheapestosa marrón)	Minerales (Fe, Zn, Mg)	Contribuye al antioxidante.			4,50 ± 0,15		
Gryllus bimaculatus (Grillo)	Vitaminas (riboflavina, niacina)	Actividades corporales y enzimáticas	Cuerpo fructífero	De base sólida	1,20 ± 0,07	SHH	SHH
Gryllus bimaculatus	Grasas no saturadas	Mejora la xantina oxidasa.	Residuo		4,25 ± 0,13	SGB	SGB
(Grillo)	Minerales (Fe, Mg, Zn) Vitaminas (B12, riboflavina)	actividad inhibitora	Residuo de base sólida	Minerales	1,15 ± 0,05	FOC	FOC
oxi ya chinensis (Saltamontes)	Grasas insaturadas	Promueve la síntesis de phe-Vitaminas corporales (B12, E) noles y flavonoides	Base sólida	4,50 ± 0,15	SOC	Después de la preparación de la muestra, incluido el secado y la molienda, el	
Gryllus bimaculatus	Proteínas (65-70%) Grasas insaturadas	Mejora la xantina oxidasa	Fruct	4,30 ± 0,07	GBF	Las muestras de residuos de ceps militares se sometieron a un procedimiento de extracción. Las muestras de terreno fueron extraídas usando una solución de metanol-agua (80:20, v/v) en una proporción de 1:20 (p/v). La mezcla se sonicó durante 30 minutos a 25 °C, seguido de una centrifugación a 5000 rpm durante 15 minutos.	
(Grillo)	Proteínas (55-60%) Minerales (Fe, Cu, Mg)	Actividad inhibitora de xantinas (B12, riboflavina)	Residuo de base sólida	Se recogió el sobrenadante y el	4,25 ± 0,13	SGB	
		Los extractos secos se almacenaron a 20 °C para su posterior análisis	Condiciones	No. 1 y			
		Después de la preparación de la muestra, incluido el secado y la molienda, las muestras de Cordyceps militares liofilizadas se sometieron a un procedimiento de extracción. Las muestras molidas se extrajeron utilizando una solución de metanol y agua (80:20, v/v) en una proporción de 1:20 (p/v). La mezcla se sonicó durante 30 min a 25 °C, seguido de centrifugación a 5000 rpm durante 15					

2.2. reactivos

Los reactivos utilizados para todos los experimentos se obtuvieron de Sigma-Aldrich Pte Ltd., Singapur, e incluyeron ácido 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), 2,2'- azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico). (ABTS), dimetilsulfóxido (DMSO), fosfato monopotásico, fosfato dipotásico, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, xantina, xantina oxidasa microbiana y alopurinol. Además, tampón acetato (250 mM, pH 5,0), tampón fosfato (50 mM, pH 7,4), tampón fosfato de sodio (0,02 M, pH 6,9 con NaCl 6 mM), almidón de trigo, α -amilasa, enzimas α -glucosidasas, acarbose. También se utilizaron reactivo de Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, cloruro de aluminio, nitrito de sodio, hidróxido de sodio y catequina. Todos los reactivos eran de grado analítico.

2.3. Contenido de adenosina y cordicepina en *C. militaris* La

cuantificación de adenosina y cordicepina se realizó mediante un sistema HPLC, siguiendo el método descrito por Li et al. [21]. Inicialmente, se filtraron 5 ml de extracto de residuo sólido (SBR) (en MeOH) a través de un filtro hidrófilo (0,2 μ m) antes de la inyección en el sistema HPLC (Thermo Ulti-Mate 3000, columna Hypersil Gold 250 $\times$ 4,6 mm – 5 μ m, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE. UU.). La separación se logró utilizando dos sistemas de disolventes: (A) agua con acetato de amonio 10 mM y ácido acético al 0,1%, y (B) MeOH al 90% con acetato de amonio 10 mM y ácido acético al 0,1%, en un programa de gradiente. El programa comenzó con una fase de 20 minutos en la que la concentración del disolvente B aumentó del 5% al 95%, luego aumentó al 100% durante los siguientes 5 minutos y finalmente se redujo nuevamente al 5% en los 5 minutos finales. Los parámetros de HPLC incluyeron una longitud de onda de detección de 260 nm, un caudal de 1,6 ml/min, una temperatura de columna de 40 °C y una temperatura de muestra de 15 °C.

2.4. Contenido fenólico total y evaluación del contenido total de flavonoides EI

contenido fenólico en todas las muestras se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu [22]. Los resultados se expresaron en miligramos de equivalente de ácido gálico (GAE) por gramo de peso seco (PS) después de establecer una curva de calibración. Para la cuantificación de flavonoides, se utilizó el método colorimétrico de cloruro de aluminio (AlCl₃) y el contenido total de flavonoides se midió utilizando una curva de calibración, expresando los resultados en miligramos de equivalente de rutina por gramo de peso seco (PS) [23].

2.5. Actividades antioxidantes y de inhibición de la xantina oxidasa (XOD)

La actividad antioxidante se determinó utilizando la eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'- azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) ensayos de decoloración de cationes radicales [24]. Se realizaron modificaciones a las técnicas espectrofotométricas establecidas para medir el efecto inhibidor sobre la xantina oxidasa (XO) para todas las muestras [25].

2.6. Ensayo de inhibición de α -amilasa (AAI) y ensayo de inhibición de α -glucosidasa (AGI)

El efecto inhibidor de todas las muestras sobre la α -amilasa se evaluó utilizando un método de almidón y yodo, con mediciones espectrofotométricas basadas en un método previamente informado, incorporando modificaciones menores [25]. Se empleó acarbose, un inhibidor comercial de la diabetes, como referencia positiva. Se prepararon y utilizaron soluciones de α -amilasa y almidón soluble el día del experimento. Además, la actividad anti- α -glucosidasa de todas las muestras se evaluó utilizando un método descrito anteriormente [25], también con algunas modifi

2.7. Los resultados del

análisis estadístico se expresan como media $\pm$ desviación estándar (DE). La significancia estadística se evaluó mediante la prueba de Duncan con un nivel de significancia del 5%. Además, las diferencias debidas al sistema disolvente se analizaron mediante análisis de varianza unidireccional (ANOVA) utilizando el software estadístico Minitab, Minitab® 21.2, con sede en Filadelfia, PA, EE. UU.

3. Resultados

3.1. Análisis de concentraciones de adenosina y cordicepina en cultivares de *C. militaris*

El análisis del contenido de adenosina y cordicepina en diferentes cultivares de *C. militaris*, cultivado en varios insectos proporciona información importante sobre la influencia de los sustratos en la biosíntesis de estos compuestos (Tabla 2, Figura S1-S13 y Tabla S1 (Suplementaria Materiales)).

Tabla 2. Análisis comparativo de compuestos bioactivos en *C. militaris*.

Código	Adenosina (mg/g)		Cordicepina (mg/g)	
FHH	0,984 ± 0,015	b	1,818 ± 0,012	b
FGB	0,810 ± 0,009	c	2,658 ± 0,006 b	a
FOC	0,774 ± 0,007	c	1,242 ± 0,004	
FBMP	0,572 ± 0,011	d	2,554 ± 0,010	a
Logística de Amazon	1,062 ± 0,014		2,932 ± 0,011	a
shh	mi 0,164 ± 0,015		0,303 ± 0,012	c
SGB	mi 0,135 ± 0,006		0,443 ± 0,007	c
SOC	mi 0,129 ± 0,008		0,207 ± 0,005	c
SBMP	f 0,053 ± 0,004		0,238 ± 0,006	c
SBA	0,130 ± 0,010	mi	0,338 ± 0,011	c
HPLC	Estándares			
Tiempo de retención (min)	10,828 ± 0,108		11,236 ± 0,122	
LOD (µg/mL)	0,274		0,366	
LOQ (µg/mL)	0,831		1,11	

Los valores se expresan como media ± desviación estándar. Los agrupamientos estadísticos se indican con las letras (a–f) al lado a cada valor medio, que representa grupos que no son significativamente diferentes entre sí en el nivel 0,05, como determinado mediante una prueba post hoc.

La concentración de adenosina oscila entre 0,053 mg/g en SBMP y 1,062 mg/g en Logística de Amazon, lo que demuestra una variabilidad sustancial que depende del material huésped. Notablemente, el La muestra FBA, que implica el cultivo de *B. atrostromella*, muestra la concentración más alta de adenosina, lo que indica una optimización potencial de las condiciones de crecimiento o metabolismo metabólico inherente. capacidades del hongo cuando se cultiva en este huésped en particular. Por otro lado, el más bajo Se encuentran concentraciones de adenosina en residuos sólidos de *C. militaris* de pupas de *B. mori*. y *B. atrostromella* (SBMP y SBA), lo que sugiere que la composición o estructura de nutrientes de estos residuos podría ser menos propicio para la producción de adenosina. El contenido de cordicepina. muestra una tendencia similar de variabilidad, con concentraciones que oscilan entre 0,207 mg/g en COS a 2,932 mg/g en FBA. Esta amplia gama resalta el impacto significativo de la elección del anfitrión en acumulación de cordicepina, con FBA nuevamente mostrando los niveles más altos. El marcado aumento en cordicepina en muestras asociadas a *B. atrostromella* (tanto cuerpos fructíferos como residuos) en comparación con otros sustratos sugiere que componentes específicos o la naturaleza física de el sustrato del huésped podría mejorar la biosíntesis de cordicepina. La agrupación estadística indicado por la prueba post hoc subraya estas observaciones, ya que muestras de similares Los tipos de huéspedes no muestran diferencias significativas en las concentraciones de compuestos, enfatizando respuestas metabólicas consistentes a condiciones de cultivo similares.

3.2. Variaciones en el contenido de fenólicos y flavonoides entre diferentes huéspedes de *C. militaris*

El análisis cuantitativo del contenido fenólico total (TPC) y el contenido total de flavonoides (TFC) en diferentes huéspedes de *C. militaris* se presenta en la Figura 3. Los resultados demuestran una variación sustancial en las concentraciones de estos compuestos bioactivos, críticos para su actividades antioxidantes, que contribuyen a las propiedades medicinales del hongo. El El mayor contenido fenólico se observó en la FBA, alcanzando 92,77 mg GAE/g PS, lo que también mostró un contenido de flavonoides relativamente alto con 29,32 mg RE/g DW. Por el contrario, el SHH exhibió el contenido fenólico más bajo con 15,63 mg GAE/g DW y un correspondientemente bajo contenido de flavonoides de 12,12 mg RE/g PS. Cabe destacar que la FGB destacó con una actitud particularmente

una variación sustancial en las concentraciones de estos compuestos bioactivos, críticos por sus actividades antioxidantes, que contribuyen a las propiedades medicinales del hongo. El mayor contenido fenólico se observó en la FBA, alcanzando 92,77 mg GAE/g PS, que también mostró un contenido de flavonoides relativamente alto con 29,32 mg RE/g PS. Por el contrario, el SHH exhibió el contenido fenólico más bajo con 15,63 mg GAE/g DW y un contenido de flavonoides correspondientemente bajo de 12,12 mg RE/g DW. Cabe destacar que el FGB destacó con un contenido particularmente alto en flavonoides de 53,16 mg RE/g PS, a pesar de tener un contenido fenólico moderado alto en flavonoides de 53,16 mg RE/g PS, a pesar de tener un contenido fenólico moderado contenido de 68,59 mg GAE/g PS. Estos datos sugieren que los sustratos específicos del huésped pueden diferir de 68,59 mg GAE/g DW. Estos datos sugieren que sustratos específicos del huésped pueden diferenciarse influyen preferentemente en las vías de biosíntesis de compuestos fenólicos y flavonoides en *C. militaris*. *C. militaris*.

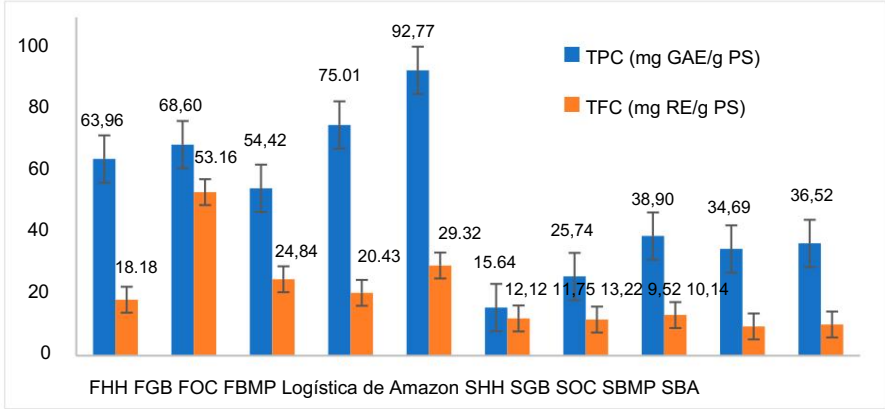


Figura 3. Contenido total de fenólicos y flavonoides de *C. militaris* cultivada en varios huéspedes.

3.3. Actividades antioxidantes e inhibidoras de la xantina oxidasa de cultivos de *Cordyceps militaris* La evaluación de las capacidades de inhibición enzimática de *C. militaris*, cultivada en diversos sustratos, subraya su potencial en aplicaciones terapéuticas, particularmente en el manejo del estrés oxidativo y el control glucémico. Los datos presentados revelan un espectro de efectos contra las enzimas DPPH, ABTS, xantina oxidasa (XOD), HRP, AAT y xantina oxidasa (XOD), y cada una produce resultados distintos (Tabla 3).

Tabla 3. Concentraciones inhibitorias de *C. militaris* en DPPH, ABTS, XOD, HRP, AAT y XOD.

Codigo	C150 (µg/ml)		C150 (µg/ml)	
	DPPH	ABTS	XOD	
FHH	128,1 ± 9,2 de 119,4	1219,9 ± 20,8 de 128,1	755,0 ± 12,9 f	
FGB	de 119,4 ± 8,5	21,6 b 1264, ± 21,6	415,7 ± 11,2 g	gramos
FOC	150,6 ± 10,8 días	421,7 ± 30,3 f	727,9 ± 12,4 f	
FBMP	109,2 ± 7,8 de 88,34 ± 6,3 e	305,9 ± 22,0 g 247,3 ± 17,7 g	932,1 ± 15,9 e	mi
Logística de Amazon		1429,8 ± 40,5 a 961,7 ± 27,3 a	427,0 ± 7,3 gramos	
shh	513,9 ± 20,2 a 318,3 ± 22,9	961,7 ± 27,3 c 526,6 ± 37,8 d	1522,9 ± 26,1 b	a
SGB	22,9 ± 1,6	37,8 d ± 21,9	1703,6 ± 29,2	
SOC	b 210,6 ± 15,1	47,9 ± 1,6 17,4	909,18 ± 16,5 a	mi
SBMP	230,6 ± 16,9 c	612,3 ± 17,4	1909,1 ± 15,5 c	
SBA	224,4 ± 16,1 c		1084,8 ± 18,6 h	días
BHT *	-	-	21,0 ± 0,3	
Alopujol *	18,78 ± 1,3 f	40,4 ± 0,6 horas		

Las letras (a – h) junto a cada valor medio indican agrupaciones estadísticas. Los valores seguidos de la misma letra son no significativamente diferentes entre sí al nivel de 0,05, según lo determinado mediante una prueba post hoc. * BHT (butilado hidroxitolueno) y alopujol son compuestos antioxidantes. Los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes entre sí en el nivel de 0,05, según lo

determinado por Los valores IC50 , que indican la concentración necesaria para inhibir el 50% del radical o actividad enzimática, sirven como punto de referencia para comparar la potencia de diferentes muestras. Los valores más bajos de IC50 indican una mayor potencia. Para el ensayo DPPH, FBA (*C. militaris* fructificación cuerpos cultivados en *Brihaspa atrostigmella*) muestra la actividad más potente con una IC50 de 88,34 ± 6,3 µg/mL, lo que sugiere una fuerte capacidad antioxidante. Esto es seguido de cerca por FBMP y FGB, lo que indica que estas cepas o condiciones de cultivo también fomentan importantes producción de antioxidantes.

En el ensayo ABTS, FBA nuevamente muestra un resultado sólido con una IC50 de 247,3 ± 17,7 µg/mL, subrayando su potencial para eliminar diferentes tipos de radicales libres. Esta potente actividad en

Tanto los ensayos DPPH como ABTS resaltan la solidez de FBA en la neutralización de moléculas oxidativas, lo cual es beneficioso para prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Los resultados del ensayo de inhibición de XOD son cruciales para aplicaciones en el tratamiento de la hiperuricemia y gota, donde la inhibición de la xantina oxidasa es beneficiosa. La muestra de la FGB muestra la inhibición más potente con una IC50 de $415,7 \pm 11,2 \mu\text{g/ml}$. Este resultado es significativo porque sugiere que el sustrato o las condiciones bajo las cuales se cultiva FGB son particularmente eficaz para mejorar la producción de compuestos bioactivos que inhiben xantina oxidasa.

3.4. Análisis de la inhibición enzimática por cultivos de *C. militaris* en el tratamiento de la diabetes tipo 2

Los resultados de los ensayos de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa revelan una variación notable en las capacidades inhibitoras de diferentes cultivos de *C. militaris*, que potencialmente pueden ser aprovechado para aplicaciones terapéuticas, particularmente en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Estos ensayos son esenciales para comprender cómo funcionan los diferentes sustratos utilizados en el cultivo.

de *C. militaris* puede influir en la producción de compuestos bioactivos con inhibición enzimática propiedades. Para la inhibición de la α -amilasa, los valores de IC50 indican que *C. militaris* fructifica Los cuerpos y los residuos de base sólida cultivados en diversos sustratos exhiben una amplia gama de actividades de inhibición enzimática (Tabla 4). Los resultados más notables se observaron en *Cordyceps* cultivado en *B. atrostigmella* y *B. mori* Pupae, mostrando valores de IC50 significativamente altos ($3924,3 \pm 11,3 \mu\text{g/mL}$ y $3867,4 \pm 15,2 \mu\text{g/mL}$, respectivamente), lo que indica una concentración inferior de enzimas. eficiencia de inhibición. Por el contrario, el cultivo sobre cuerpos fructíferos de *O. chinensis* mostró inhibición más potente ($504,6 \pm 4,2 \mu\text{g/mL}$).

Tabla 4. Actividades inhibitoras de los huéspedes de *C. militaris* contra la α -amilasa y la α -glucosidasa.

Código	CI50 ($\mu\text{g/ml}$)	
	Inhibición de α -amilasa	Inhibición de la α -glucosidasa
FHH	$631,1 \pm 6,1$ b	$450,7 \pm 18,4$ c
FGB	$895,4 \pm 5,7$ b	$746,2 \pm 21,0$ c
FOC	$887,9 \pm 7,2$	$591,9 \pm 14,5$ c
FBMP	$979,1 \pm 5,2$ b	$815,9 \pm 28,9$ c
<i>Logánica de Arroz</i>	$504,6 \pm 4,2$ c	$336,4 \pm 16,0$ d
shh	$3538,7 \pm 25,1$ a	$2722,1 \pm 27,8$ b
SGB	$3867,4 \pm 15,2$ a	$2578,3 \pm 34,3$ b
SOC	$3808,8 \pm 10,0$ a	$2539,2 \pm 29,1$
SBMP	$3924,3 \pm 11,3$	$3018,7 \pm 11,6$ b
SBA	$3614,8 \pm 10,7$ d	$2780,6 \pm 44,9$
Acarbosa *	$90,7 \pm 0,6$	$143,2 \pm 2,1$ m

Las letras (a – e) al lado de cada valor medio indican agrupaciones estadísticas. Los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes entre sí al nivel de 0,05, según lo determinado mediante una prueba post hoc. * Acarbosa como referencia estándar para ensayos de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa.

De manera similar, en el ensayo de inhibición de la α -glucosidasa, las variaciones son igualmente significativas. La inhibición más fuerte se observó nuevamente en *Cordyceps* cultivado en *B. atrostigmella* cuerpos fructíferos ($3018,7 \pm 11,6 \mu\text{g/mL}$), lo que sugiere que el sustrato puede enriquecer compuestos favorables para inhibir esta enzima específica. Por el contrario, los cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivado en *B. atrostigmella* (FBA) mostró el valor de IC50 más bajo ($336,4 \pm 16,0 \mu\text{g/mL}$), destacando su potencial como inhibidor natural eficaz de la α -glucosidasa. Estos hallazgos sugieren una correlación directa entre el tipo de sustrato utilizado para el cultivo y la propiedades de inhibición enzimática de la *C. militaris* resultante, lo que apunta a la posibilidad de Adaptar los procesos de cultivo para mejorar propiedades bioactivas específicas.

4. Discusión

En el campo de la investigación micológica se ha enfatizado repetidamente la selección de sustratos. como un factor crítico que influye en la biosíntesis de compuestos bioactivos en hongos, especialmente en especies como *C. militaris*, conocida por sus propiedades medicinales [26-28]. Este estudio corrobora

Hallazgos anteriores al demostrar que diferentes sustratos de cultivo afectan significativamente tanto las capacidades de inhibición enzimática como los niveles de compuestos bioactivos como la cordicepina y la adenosina en *C. militaris*. En particular, los cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *B. atrostromella* mostraron las concentraciones más altas de cordicepina con 2,932 mg/g y adenosina con 1,062 mg/g, además de exhibir una potente inhibición de la α -glucosidasa y la α -amilasa. Esto se alinea con los hallazgos de Li et al. (2019) quienes señalaron que las propiedades físicas y químicas de los sustratos influyen en el metabolismo de los hongos al afectar condiciones como la oxigenación y el contenido de humedad [29]. Además, el trabajo de Yu et al. (2023) destaca variaciones similares en la producción de compuestos bioactivos entre diferentes cepas de *Cordyceps*, lo que respalda aún más nuestras observaciones sobre el impacto de la elección del sustrato [30]. Por el contrario, se informó que *C. militaris* cultivada en medios sólidos sin agregar insectos comestibles produce cantidades muy bajas de cordicepina y adenosina [31]. Por lo tanto, es importante utilizar insectos comestibles para la producción comercial de *C. militaris* y sus metabolitos bioactivos. Este estudio no sólo amplía la comprensión del potencial farmacológico de *C. militaris*, sino que también ilustra el papel fundamental de la selección optimizada de sustratos para mejorar la eficacia terapéutica de los compuestos bioactivos fúngicos, ofreciendo así información valiosa para el desarrollo de terapias naturales más efectivas para la diabetes y otras enfermedades. desórdenes metabólicos.

La inclusión de varios insectos como sustratos suplementarios en el cultivo de *C. militaris* aprovecha sus ricos perfiles nutricionales para mejorar la producción de compuestos bioactivos [32]. Cada insecto proporciona una combinación única de proteínas, grasas, vitaminas y minerales que influyen significativamente en las vías metabólicas de *C. militaris*, lo que podría conducir a una mayor producción de adenosina, cordicepina, fenoles y flavonoides [24]. Este enfoque de sustrato dual explora los efectos sinérgicos sobre el crecimiento de hongos y las propiedades farmacológicas, optimizando las prácticas de cultivo para mejorar los beneficios medicinales. Por ejemplo, las pupas de *B. mori* son ricas en proteínas, aminoácidos esenciales, grasas, vitaminas y minerales [14]. *B. atrostromella*, aunque menos documentada, aporta proteínas, grasas y compuestos bioactivos antioxidantes [27]. *H. halys* ofrece un alto contenido de proteínas, grasas saludables y vitaminas y minerales esenciales [33]. *O. chinensis* contiene altos niveles de proteínas, grasas insaturadas y vitaminas y minerales vitales [R]. *G. bimaculatus*, rica en proteínas y grasas, también aporta vitaminas y minerales esenciales [34]. Estos perfiles apoyan la producción mejorada de compuestos bioactivos en *C. militaris*, contribuyendo a su potencial medicinal.

Nuestros resultados muestran que *C. militaris* cultivada a partir de diferentes insectos exhibe diferentes propiedades farmacológicas [35,36]. Por ejemplo, los residuos sólidos de *B. mori* Pu-pae y *G. bimaculatus* mostraron valores de IC₅₀ significativamente altos, lo que indica una menor eficiencia de inhibición enzimática. Por el contrario, los cuerpos fructíferos cultivados en *B. atrostromella* (FBA) exhibieron el valor IC₅₀ más bajo de $336,4 \pm 16,0$ μ g/mL, lo que refleja la actividad inhibidora enzimática más alta. Esto sugiere que el sustrato proporcionado por *B. atrostromella* mejora significativamente la producción de compuestos bioactivos con potentes propiedades inhibidoras de enzimas. El rico perfil de nutrientes de *B. atrostromella* probablemente proporciona un ambiente óptimo para la biosíntesis de estos compuestos, maximizando el potencial medicinal de *C. militaris*. Los menores contenidos de adenosina y cordicepina en los residuos sólidos en comparación con los cuerpos fructíferos podrían atribuirse a las diferentes vías metabólicas activadas durante el crecimiento fúngico en los residuos sólidos frente a los cuerpos fructíferos [9,37]. Los residuos de base sólida pueden carecer de ciertos nutrientes o condiciones que son cruciales para la síntesis óptima de estos compuestos bioactivos [38].

Los contenidos de fenólicos y flavonoides también variaron significativamente entre los diferentes sustratos. El alto contenido de fenólicos y flavonoides en FBA sugiere que las condiciones de cultivo de este insecto podrían optimizar la síntesis de estos compuestos, posiblemente debido a un rico perfil de nutrientes o factores de estrés ambiental específicos que inducen una mayor actividad metabólica. Los fenoles y flavonoides, conocidos por sus propiedades antioxidantes, son indicativos de los posibles beneficios para la salud de *C. militaris* [39]. Específicamente, los compuestos fenólicos como el ácido gálico, la catequina y la epicatequina contribuyen a sus potentes actividades antioxidantes, mientras que los flavonoides como la quercetina, el kaempferol y la rutina mejoran su perfil terapéutico [38]. Por el contrario, los valores más bajos registrados para SHH (residuos de base sólida) indican niveles subóptimos.

condiciones para la síntesis de estas moléculas bioactivas. El caso único de la FGB, donde la producción de flavonoides aumenta significativamente en relación con el contenido fenólico, lo que indica que vías metabólicas específicas se activan preferentemente en respuesta a las propiedades únicas de los insectos utilizados. Esta activación preferencial podría estar influenciada por el nutriente específico, disponibilidad y factores ambientales proporcionados por el sustrato del huésped, lo que lleva a una expresión diferencial de enzimas metabólicas involucradas en la biosíntesis de estos compuestos. Comprender la variabilidad en los contenidos de fenólicos y flavonoides según el sustrato puede proporcionar información más profunda sobre la optimización de las condiciones de cultivo para mejorar el efecto medicinal. Propiedades de *C. militaris*. Los estudios futuros deberían centrarse en identificar y cuantificar compuestos fenólicos y flavonoides individuales utilizando técnicas analíticas avanzadas como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masas (MS) para dilucidar aún más los perfiles bioactivos específicos de *C. militaris* cultivados en diferentes sustratos. Esta caracterización detallada ayudará a desarrollar estrategias de cultivo específicas que maximizar el potencial terapéutico de *C. militaris*. Además, explorar las moléculas mecanismos subyacentes a la biosíntesis diferencial de estos compuestos en respuesta a Varios sustratos proporcionarán información valiosa para optimizar el cultivo de hongos para Aplicaciones farmacéuticas.

Estos hallazgos no sólo mejoran nuestra comprensión del metabolismo fúngico sino también resaltar el potencial de manipular las condiciones de cultivo para mejorar el rendimiento de valiosos compuestos bioactivos. Este enfoque podría afectar significativamente el cultivo comercial. estrategias, que ofrecen una ruta para maximizar las propiedades promotoras de la salud de los productos de *C. militaris*. La comparación con estudios anteriores revela que nuestros resultados son consistentes con la Conocimiento establecido sobre la influencia de los sustratos en la producción de compuestos bioactivos. Por ejemplo, estudios previos han demostrado que los sustratos ricos en complejos Los carbohidratos y las proteínas, como *B. atrostromella*, proporcionan una rica fuente de precursores de la síntesis de análogos de nucleósidos y otros metabolitos secundarios, lo que lleva a una mayor rendimientos de estos compuestos [30,40]. Además, la estructura física y la composición. del sustrato puede afectar la disponibilidad de oxígeno y nutrientes, lo que influye en la Vías metabólicas de los hongos y actividades enzimáticas implicadas en la degradación del sustrato. materiales en formas más simples que el hongo puede asimilar fácilmente [41].

Investigación sobre los perfiles de expresión genética de *C. militaris* cuando se cultiva en diferentes sustratos revela la regulación positiva de genes implicados en el metabolismo secundario, que son crucial para la síntesis de compuestos bioactivos [20]. Por ejemplo, la mayor producción de cordicepina en sustratos específicos se correlaciona con el aumento de la actividad de las enzimas. como el fosforamidato de cordicepina, que desempeña un papel directo en la vía de biosíntesis de este compuesto [42]. Además, los factores estresantes ambientales asociados con diferentes Los sustratos, como los niveles variables de pH o las deficiencias de nutrientes, pueden inducir respuestas de estrés. en hongos, lo que lleva a la activación de vías de supervivencia que incluyen la regulación positiva de producción de metabolitos secundarios como mecanismo protector [43]. Los sustratos que pueden inducir estrés oxidativo leve, como aquellos que contienen tipos específicos de compuestos fenólicos, pueden mejorar la producción fúngica de antioxidantes como contramedida, lo que a su vez aumenta el rendimiento global de moléculas bioactivas con propiedades antioxidantes [44]. Este adaptativo La respuesta al estrés inducido por el sustrato es un factor clave en los niveles elevados de bioactivos. compuestos observados en ciertos cultivos, como se ve en nuestros experimentos con *O. chinensis* sustratos que condujeron a potentes actividades de inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa [42,45]. La interacción entre *C. militaris* y su sustrato de cultivo encarna una interacción compleja de disponibilidad de nutrientes, regulación genética y estrés ambiental, todos los cuales convergen para influir en el perfil metabólico de los hongos. Esta comprensión holística permite la manipulación estratégica de las condiciones de cultivo para maximizar la producción de lo deseado compuestos bioactivos, que potencialmente revolucionarán el uso de *C. militaris* en productos farmacéuticos. y aplicaciones terapéuticas. Las investigaciones futuras deberían apuntar a profundizar en el análisis molecular mecanismos en juego, utilizando tecnologías genómicas, proteómicas y metabolómicas avanzadas desentrañar la intrincada dinámica que gobierna la interacción entre el metabolismo fúngico y características del sustrato [44].

Las implicaciones del cultivo de *C. militaris* en diversos sustratos para el control de la diabetes tipo 2 son profundas y ofrecen un enfoque novedoso para mejorar la eficacia terapéutica de las intervenciones naturales. Las propiedades de inhibición enzimática de *Cordyceps*, particularmente sus efectos sobre la α -amilasa y la α -glucosidasa, enzimas fundamentales en el metabolismo de los carbohidratos, sugieren su potencial como tratamiento complementario para controlar los niveles de glucosa en s. Nuestra investigación demuestra que la selección de sustrato afecta significativamente la capacidad del hongo para producir compuestos bioactivos como cordicepina y adenosina, que son fundamentales para modular la actividad enzimática. Específicamente, la potente inhibición observada con sustratos como *B. atrostromella*, que produjo los niveles más altos de estos compuestos, indica un enfoque dirigido a mejorar estas bioactividades. Estos hallazgos se alinean con estudios recientes que destacan la importancia de los productos naturales en el control de la diabetes, donde los compuestos que exhiben una acción inhibitoria contra las enzimas que hidrolizan los carbohidratos pueden reducir significativamente los picos posprandiales de glucosa en sangre, un factor clave en el control de los síntomas y complicaciones de la diabetes [45,46]. Además, la variabilidad en la inhibición enzimática y la producción de compuestos bioactivos entre diferentes sustratos apunta a la posibilidad de personalizar las técnicas de cultivo de *C. militaris* para producir compuestos específicos que puedan aprovecharse con fines terapéuticos [47]. Además, los beneficios farmacológicos de *Cordyceps* se extienden más allá de la simple inhibición enzimática. Las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de sus componentes bioactivos contribuyen a mejorar la inflamación crónica y el estrés oxidativo, que son parte integral de la fisiopatología de la diabetes [48]. Al modular estos procesos subyacentes, *C. militaris* puede proporcionar un enfoque multifacético para el cuidado de la diabetes, abordando tanto el control glucémico como las alteraciones sistémicas más amplias que acompañan a la enfermedad [49].

El efecto holístico de *Cordyceps* sobre la salud metabólica, como lo demuestra nuestra investigación, subraya su posible integración en los protocolos de tratamiento de la diabetes, ofreciendo una estrategia complementaria junto con los productos farmacéuticos convencionales. Este enfoque es particularmente valioso dado el creciente interés y la necesidad de tratamientos que tengan menos efectos secundarios y se deriven de fuentes naturales. Con este fin, se necesitan más estudios y ensayos clínicos para cuantificar el impacto exacto de estos hallazgos en entornos clínicos, confirmando así la eficacia de *C. militaris* como tratamiento de apoyo para la diabetes y potencialmente otros trastornos metabólicos.

Los hallazgos de este estudio representan un avance significativo en nuestra comprensión de cómo la selección de sustratos puede optimizar la producción de compuestos bioactivos en *C. militaris*. La inclusión de diversos insectos como sustratos proporciona una rica fuente de nutrientes que potencian las propiedades medicinales de este hongo. Al unir las disciplinas de la micología, la química nutricional y la farmacología, esta investigación ofrece nuevos conocimientos sobre prácticas de cultivo sostenibles y efectivas que pueden maximizar el potencial terapéutico de *C. militaris*. Estos hallazgos no sólo contribuyen al campo más amplio de la química medicinal, sino que también resaltan las aplicaciones prácticas de esta investigación en el desarrollo de terapias naturales para trastornos metabólicos como la diabetes tipo 2.

5. Conclusiones

Este estudio aclara el papel importante de los sustratos de cultivo en la modulación de la eficacia inhibitoria enzimática y la síntesis de compuestos bioactivos de *C. militaris*, que tiene aplicaciones potenciales en el control de la diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos. Nuestros hallazgos revelan que la selección de sustrato influye de manera crucial en los niveles de compuestos fundamentales como la cordicepina y la adenosina, observándose las concentraciones más altas en *Cordyceps* cultivado en *B. atrostromella*. Este sustrato no solo produjo las mayores cantidades de compuestos bioactivos sino que también exhibió la actividad inhibitoria más fuerte contra la α -glucosidasa y la α -amilasa, destacando la composición del sustrato como un factor clave para mejorar las propiedades medicinales. Por el contrario, *Cordyceps* cultivado en residuos sólidos de *G. bimaculatus* mostró una inhibición notable de la xantina oxidasa, lo que sugiere que se pueden optimizar diferentes sustratos para lograr resultados terapéuticos específicos. Estos conocimientos mejoran nuestra comprensión del potencial farmacológico de *C. militaris* y sugieren un marco para futuras aplicaciones biotecnológicas destinadas a desarrollar terapias naturales efectivas. Est

estrategias de cultivo personalizadas para maximizar los beneficios para la salud de *C. militaris*, prometiendo opciones terapéuticas mejoradas para el manejo de enfermedades crónicas.

Materiales complementarios: la siguiente información de respaldo se puede descargar en <https://www.mdpi.com/article/10.3390/chemistry6040030/s1>, Figura S1 (Curva de calibración para cuantificación de adenosina); Figura S2 (Curva de calibración para la cuantificación de cordicepina); Figura S3 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en residuos sólidos de *C. militaris* de *Halyomorpha halys*); Figura S4 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en residuos sólidos de *C. militaris* de *Oxya chinensis*); Figura S5 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en residuos sólidos de *C. militaris* de *Gryllus bimaculatus*); Figura S6 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en residuos sólidos de *C. militaris* de pupas de *Bombyx mori*); Figura S7 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en residuos sólidos de *C. militaris* de *Brihaspa atrostromella*); Figura S8 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *Halyomorpha halys*); Figura S9 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *Oxya chinensis*); Figura S10 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *Gryllus bimaculatus*); Figura S11 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en pupas de *Bombyx mori*); Figura S12 (Cromatograma HPLC de adenosina y cordicepina en cuerpos fructíferos de *C. militaris* cultivados en *Brihaspa atrostromella*); Figura S13 (Espectroscopia UV-Vis y Cromatograma HPLC de *C. militaris*) y Tabla S1 (Tiempos de retención y áreas máximas de adenosina y cordicepina en *C. militaris*).

Contribuciones de los autores: Conceptualización, NQT y TNM; metodología, TNM, VTHN, QNT, HNBV, NMNV y HNA; validación, VTHN, NTD, HNA y QNT; análisis formal, TNM; investigación, QNT y HNA; recursos, QNT; curación de datos, HNBV, NMNV y TNM; redacción: preparación del borrador original, TNM y HNBV; redacción: revisión y edición, TNM, NMNV, NTD y NQT; supervisión, NQT; adquisición de financiación, TNM. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Esta investigación fue financiada por la Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam con el número de subvención THTEXS.02/21-24.

Declaración de la Junta de Revisión Institucional: No aplicable.

Declaración de Consentimiento Informado: No aplicable.

Declaración de disponibilidad de datos: los datos están contenidos en el artículo y en los materiales complementarios.

Agradecimientos: En este estudio se utilizó la cepa de hongo *C. militaris* VCCM 34117, proporcionada por la Colección de cultivos de microorganismos VAST (VCCM) de la Academia de Ciencia y Tecnología de Vietnam (VAST). Además, se reconoce al Centro de Investigación y Desarrollo de Alta Tecnología, también dependiente de VAST, por su apoyo parcial al proporcionar el equipo necesario para esta investigación.

Conflictos de intereses: el autor Truong Ngoc Minh trabajaba en la empresa Vicomi Tam An Investment and Commercial Company Limited. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- Shrestha, S.; Shrestha, B.; Parque, JH; Lee, DY; Cho, JG; Baek, NI Componentes químicos de *Yarsagumba* (*Ophiocordyceps sinensis* Berk.), una valiosa medicina tradicional del Himalaya. *Nep. J. Ciencias. Tecnología.* 2012, 13, 43–58. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Jeong, MH; Lee, CM; Lee, SW; Seo, SY; Seo, MJ; Kang, BW; Jo, WS *Cordyceps militaris* enriquecido con cordicepina induce inmunomodulación y retraso en el crecimiento tumoral en el cáncer de mama derivado de ratones. *Oncol. Rep.* 2013, 30, 1996–2002. [\[Referencia cruzada\]](#)
- Liu, JY; Feng, CP; Li, X.; Chang, MC; Meng, JL; Xu, LJ Actividad inmunomoduladora y antioxidante de los polisacáridos de *Cordyceps militaris* en ratones. *En t. J. Biol. Macromol.* 2016, 86, 594–598. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Lee, CT; Huang, KS; Shaw, JF; Chen, JR; Kuo, WS; Shen, G.; Yang, CH Tendencias en los efectos inmunomoduladores de *Cordyceps militaris*: extractos totales, polisacáridos y cordicepina. *Frente. Farmacéutico.* 2020, 11, 575704. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Wolfe, D. *Superalimentos: los alimentos y medicinas del futuro*; Libros del Atlántico Norte: Berkeley, CA, EE. UU., 2009.
- Hanser, M.; Hudson, SL Terapias alternativas: opciones crecientes en la práctica de enfermería; Centro Nacional de Educación Continua, Inc.: Lakeway, Texas, EE. UU., 2006.
- Munch, Mecanismos neuroprotectores AHABG: estrés oxidativo como objetivo de terapias neuroprotectoras en la enfermedad de Alzheimer y Parkinson. *Mano. Neuroquímica. Mol. Neurobiol. Degenerar. Dis. Nervio. Sistema.* 2007, 84, 77–102.

8. Baños, A.; Chawla, P.; Kaur, S.; Najda, A.; Fogarasi, M.; Fogarasi, S. Bioactivos de los hongos: atributos de salud y alimentos. *Aplicaciones industriales. Materiales* 2021, 14, 7640. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Jedrejko, K.; Kała, K.; Sułkowska-Ziaja, K.; Cracovia, A.; Zieba, P.; Marzec, K.; Sekara, A.; Muszynska, B. Cordyceps militaris: cuerpos fructíferos, micelio y suplementos: un componente valioso de la dieta diaria. *Antioxidantes* 2022, 11, 1861. [\[CrossRef\]](#)
10. Niego, AG; Rapior, S.; Thongklang, N.; Raspé, O.; Jaidee, W.; Lumyong, S.; Hyde, KD Macrofungi como fuente nutracéutica: compuestos bioactivos prometedores y valor de mercado. *J. Hongos*. 2021, 7, 397. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
11. Chang, ST; Wasser, SP Tendencias de investigación actuales y futuras en aplicaciones agrícolas y biomédicas de hongos medicinales y productos de hongos. En t. J. Med. Hongos 2018, 20, 12. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Phungthong, K.; Aiphuk, W.; Maneerat, T.; Suwunwong, T.; Choto, P.; Chomnunti, P. Utilización de biocarbón de mazorca de maíz en cultivo. *Medios para la producción de cordicepina y biomasa de C. militaris. Sostenibilidad* 2022, 14, 9362.
13. Zeng, Z.; Mou, D.; Luo, L.; Zhong, W.; Duan, L.; Zou, X. Los diferentes entornos de cultivo afectan el rendimiento, la comunidad bacteriana y los metabolitos de Cordyceps cicadae. *Frente. Microbiol.* 2021, 12, 669785. [\[Referencia cruzada\]](#)
14. Aramwit, P.; Bang, N.; Ratanavaraporn, J.; Nakpheng, T.; Srichana, T. Una cordicepina anticancerígena producida por Cordyceps militaris creciendo sobre la larva muerta del gusano de seda Bombyx mori. *J. Agrícola. Ciencia*. 2014, 6, 41.
15. Li, YT; Yao, HT; Huang, ZL; Gong, LC; Herman, RA; Wu, FA; Wang, J. La globulina de pupa de gusano de seda promueve la fermentación de Cordyceps militaris: la regulación de las vías metabólicas mejora la síntesis de cordicepina y extiende la fase de síntesis. *Biociencia alimentaria* . 2024, 59, 103971. [\[Referencia cruzada\]](#)
16. Kaewkam, A.; Sornchai, P.; Chanprame, S.; Iamtham, S. Utilización de Spirulina maxima para mejorar el rendimiento y el contenido de cordicepina en cultivo artificial de Cordyceps militaris. *Antioxidantes* 2021, 11, 1861.
17. Li, X.; Liu, Q.; Li, W.; Li, Q.; Qian, Z.; Liu, X.; Dong, C. Un gran avance en el cultivo artificial de cordyceps chino a gran escala y su impacto en la ciencia, la economía y la industria. *Crítico. Rev. Biotecnología*. 2019, 39, 181–191. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Dong, C.; Guo, S.; Wang, W.; Liu, X. Industria Cordyceps en China. *Micología* 2015, 6, 121–129. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Liang, HH; Cheng, Z.; Yang, XL; Li, S.; Ding, ZQ; Zhou, TS; Chen, JK Diversidad genética y estructura de poblaciones de Cordyceps sinensis de extensas regiones geográficas de China, según lo revelan los marcadores de repetición de secuencias entre simples. *J. Microbiol.* 2008, 46, 549–556. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
20. Thananusak, R.; Laoteng, K.; Raethong, N.; Koffas, M.; Vongsangnak, W. Disección de la regulación metabólica en el crecimiento del micelio y las etapas de desarrollo del cuerpo fructífero de Cordyceps militaris mediante análisis integrativo del transcriptoma. *Biotecnología. Ing. Bioprocesos*. 2023, 28, 406–418. [\[Referencia cruzada\]](#)
21. Li, SP; Li, P.; Dong, TT; Tsim, KW Determinación de nucleósidos en Cordyceps sinensis natural y micelio de Cordyceps cultivado mediante electroforesis capilar. *Electroforesis* 2001, 22, 144–150. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Blainski, A.; Lopes, GC; De Mello, JCP Aplicación y análisis del método Folin Ciocalteu para la determinación del contenido fenólico total de Limonium brasiliense L. *Molecules* 2013, 18, 6852–6865. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Matić, P.; Sabljic, M.; Jakobek, L. Validación de métodos espectrofotométricos para la determinación de polifenoles totales y totales. *Contenido de flavonoides. J. AOAC Int.* 2017, 100, 1795–1803. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Fukuta, M.; Xuan, TD; Deba, F.; Tawata, S.; Khanh, TD; Chung, IM Eficacias comparativas in vitro de las actividades antibacterianas, fungicidas, antioxidantes y herbicidas de Momilatonas A y BJ *Plant Interact.* 2007, 2, 245–251. [\[Referencia cruzada\]](#)
25. Minh, TN; Van, TM; Andriana, Y.; Hau, DV; Duyen, DH; Guzman-Gelani, CD Antioxidante, Xantina oxidasa, α -Amilasa y α -Glucosidasa Actividades inhibitoras de compuestos bioactivos de Rumex crispus L. Root. *Moléculas* 2019, 24, 3899. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Liang, ZC; Liang, CH; Wu, CY Varios sustratos de cereales para la producción de cuerpos fructíferos y compuestos bioactivos del hongo oruga medicinal Cordyceps militaris (Ascomycetes). En t. J. Med. Hongos 2014, 16, 6. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Tao, SX; Xue, D.; Lu, ZH; Huang, HL Efectos de los sustratos en la producción de cuerpos fructíferos y componentes bioactivos por diferentes cepas de Cordyceps militaris (ascomycetes). En t. J. Med. Hongos 2020, 22, 1. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Cleaver, PD; Loomis-Powers, M.; Patel, D. Análisis de calidad y técnicas de hibridación del hongo medicinal Cordyceps. sinensis (Berk.) Sacc. (Ascomycetes). En t. J. Med. Hongos 2004, 6, 2.
29. Li, Y.; Yang, H.; Yang, H.; Wang, J.; Chen, H. Evaluación de métodos de secado sobre las propiedades fisicoquímicas y la actividad antioxidante de Cordyceps militaris. *J. Medidas alimentarias. Carácter*. 2019, 13, 513–520. [\[Referencia cruzada\]](#)
30. Yu, J.; Sol, M.; Wang, X.; Qi, D.; Han, C. Metabolómica de polivías para cordicepina de alto rendimiento de Cordyceps militaris. *Biomédica. Cromatografía*. 2023, 37, e5551. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Turco, A.; Abdelhamid, MA; Yeon, suroeste; Ryu, SH; Lee, S.; Ko, SM; Kim, BS; Paquete, SP; Hwang, POR; Lee, MK Hongo Cordyceps con mayor contenido de cordicepina mediante el cultivo en insectos comestibles. *Frente. Microbiol.* 2022, 13, 1017576. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Krishna, KV; Balasubramanian, B.; Parque, S.; Bhattacharya, S.; Kadanthottu Sebastián, J.; Liu, WC; Malaviya, A. Conservación de Cordyceps sinensis en peligro de extinción mediante estrategias de cultivo artificial de Cordyceps militaris, una alternativa. *Mol. Biotecnología*. 2024. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Nefale, LE; Moyo, NA; Rapatsa, MM Efectos de la comida de la chinche apestosa (Encosternum delegorguei) dietética sobre el rendimiento del crecimiento, la química sanguínea y la histología hepática e intestinal de la tilapia juvenil de Mozambique (Oreochromis mossambicus). *Agricultura alimentaria convincente*. 2023, 9, 2253717. [\[Referencia cruzada\]](#)

34. Murugu, DK; Onyango, AN; Ndiritu, Alaska; Osuga, IM; Javier, C.; Nakimbugwe, D.; Tanga, CM De la granja a la mesa: los grillos como fuente alternativa de proteínas, minerales y vitaminas. *Frente. Nutrición*. 2021, 8, 704002. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Woolley, VC; Teca, GR; Príncipe, G.; de Moor, CH; Chandler, D. Cordycepin, un metabolito de *Cordyceps militaris*, reduce Expresión de genes relacionados con el sistema inmunológico en insectos. *J. Invertebr. Patol.* 2020, 177, 107480. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Phull, AR; Ahmed, M.; Park, HJ *Cordyceps militaris* como fuente de alimento biofuncional: potencial farmacológico, acciones antiinflamatorias y mecanismos moleculares relacionados. *Microorganismos* 2022, 10, 405. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Minh, TN; Anh, LV; Trung, Nueva Jersey; Minh, BQ; Xuan, TD Eficacia de los disolventes de extracción verdes sobre los potenciales inhibidores de antioxidantes, xantina oxidasa y plantas de residuos de base sólida (SBR) de *Cordyceps militaris*. *Destaca* 2023, 3, 11-21. [\[Referencia cruzada\]](#)
38. Osemwegie, OO; Adetunji, CO; Ayeni, EA; Adejobi, OI; Levántate, RO; Nwonuma, CO; Oghenekaro, AO Exopolisacáridos de bacterias y hongos: situación actual y perspectivas en África. *Helio* 2020, 6, 6. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Wen, TC; Kang, C.; Meng, ZB; Qi, YB; Hyde, KD; Kang, JC Producción mejorada de cordicepina mediante fermentación en estado sólido de *Cordyceps militaris* utilizando aditivos. *Chiang Mai J. Ciencias*. 2016, 43, 972–984.
40. Sripilai, K.; Chaicharoenaudomrung, N.; Phonchai, R.; Chueaphromsri, P.; Kunhorm, P.; Noisa, P. Desarrollo de una fuente de nitrógeno libre de animales para el cultivo superficial líquido de *Cordyceps militaris*. *Letón. Aplica. Microbiol.* 2023, 76, ovad053. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Zu, Z.; Wang, S.; Zhao, Y.; Fan, W.; Li, T. La actividad de las enzimas integradas y el transcriptoma revelan el efecto de la melatonina exógena en la degeneración de la cepa de *Cordyceps militaris*. *Frente. Microbiol.* 2023, 14, 1112035. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Qu, S.; Wang, Q.; Wang, Y.; Pequeño.; Zhu, L.; Kuang, X.; Dai, H. Diseño, síntesis, actividad antibacteriana/antitumoral y estabilidad in vitro de nuevos derivados de cordicepina con cadena de ácidos grasos insaturados. *EUR. J. Farmacéutica. Ciencia*. 2023, 187, 106466. [\[Referencia cruzada\]](#)
43. Hoang, CQ; Duong, GH; Tran, MH; Vu, Texas; Tran, tuberculosis; Pham, HT Mecanismos moleculares subyacentes a la degeneración fenotípica *Cordyceps militaris*: conocimientos del reanálisis del transcriptoma y estudios de estrés osmótico. *Ciencia. Rep.* 2024, 14, 2231. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Soraksa, N.; Heebkaew, N.; Promjantuek, W.; Kunhorm, P.; Kaokean, P.; Chaicharoenaudomung, N.; Noisa, P. Cordycepin, un compuesto bioactivo de *Cordyceps* spp., modera la patología asociada a la enfermedad de Alzheimer mediante estrés antioxidante y activación de autofagia. *J. Asiático Nat. Pinchar. Res.* 2024, 26, 583–603. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Qiao, L.; Liu, J.; Zhou, Z.; Li, Z.; Zhou, Y.; Xu, S.; Zou, X. Efectos positivos de la colonización de *Cordyceps catenianulata* en el tabaco: promoción del crecimiento y resistencia al estrés abiótico. *Frente. Microbiol.* 2023, 14, 1131184. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Liu, JS; Huang, RY; Wei, YJ; Tsai, GJ; Huang, CH Influencia de los extractos de sustrato de granos fermentados con *C. militaris* en el alivio de la alergia alimentaria en ratones. *Helio* 2023, 9, 12. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Pereira, L.; Valado, A. Productos naturales derivados de algas en la diabetes y sus complicaciones: avances actuales y futuros Perspectivas. *Vida* 2023, 13, 1831. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. Soltani, M.; Malek, RA; Elmarzugli, NA; Mahomoodally, MF; Uy, D.; Leng, OM; El-Enshasy, HA Cordycepin: Una molécula bioterapéutica de hongos medicinales. En *Biología de Macrohongos*; Springer: Berlín/Heidelberg, Alemania, 2018; págs. 319–349. [\[Referencia cruzada\]](#)
49. Zhang, Y.; Liu, SJ *Cordyceps* como posibles agentes terapéuticos para la aterosclerosis. *J. Integral. Medicina*. 2024, 22, 102–114. [\[Referencia cruzada\]](#) [\[PubMed\]](#)

Descargo de responsabilidad/Nota del editor: Las declaraciones, opiniones y datos contenidos en todas las publicaciones son únicamente de los autores y contribuyentes individuales y no de MDPI ni de los editores. MDPI y/o los editores renuncian a toda responsabilidad por cualquier daño a personas o propiedad que resulte de cualquier idea, método, instrucción o producto mencionado en el contenido.