

doi: 10.30827/ars.v64i4.28863

Artículos de revisión

## Ecdiesteroides y su actividad farmacológica sobre el músculo esquelético

### Ecdysteroids and their pharmacological activity on skeletal muscle

Vicente Otero Egocheaga<sup>1</sup>  0009-0003-2831-5960

<sup>1</sup>Farmacéutico

---

#### Correspondencia

Vicente Otero Egocheaga  
egocheagavoe@gmail.com

---

**Recibido:** 10.08.2023

**Aceptado:** 19.09.2023

**Publicado:** 20.09.2023

---

#### Agradecimientos

A la Dra. Isabel Egocheaga por ser guía del presente Trabajo.

---

#### Financiación

El autor declara que no ha existido ningún tipo de financiación en la realización del presente trabajo.

---

#### Conflicto de intereses

El autor declara que no hay conflicto de intereses.

## Resumen

**Introducción:** Los ecdiesteroides presentan cualidades únicas dentro del reino vegetal y animal. Su similitud a esteroides endógenos de mamíferos les otorga actividad biológica sobre el tejido muscular esquelético. Sin embargo, su mecanismo de acción está por definirse en su totalidad.

**Método:** Se realizó una revisión narrativa utilizando la evidencia científica más relevante. Se consultaron de las bases de datos Medline, Google Scholar, Scielo y Wiley, incluyéndose y excluyéndose trabajos acordes a los criterios del autor.

**Resultados:** La actividad de los ecdiesteroides, principalmente de la Ecdisterona (Ec), podría deberse a la interacción con Mas, receptor acoplado a proteína-G transmembrana (GPCR), y la posterior activación del receptor de estrógenos  $\beta$  (ER  $\beta$ ) no nuclear. Dicho mecanismo de acción induce la activación de la ruta *alternativa* del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAA) aboliendo los mecanismos de degradación muscular y, mediante la activación indirecta de Er $\beta$ , se suprime la expresión del gen de la miostatina. Esta actividad biológica pudiera conferir a los ecdiesteroides propiedades farmacológicas óptimas para impedir la degradación proteico-muscular, tales como la regeneración y reparación del tejido.

**Conclusiones:** Ec ha demostrado poseer propiedades farmacológicas interesantes para el abordaje alternativo de patologías musculodegenerativas por sus efectos anticatabólicos. Aunque prosigue la investigación para su implementación en la clínica, esta siendo utilizada en la industria deportiva y en ensayos para el tratamiento de diferentes patologías.

---

**Palabras clave:** Ecdiesteroides; ecdisterona; músculo esquelético; receptor de estrógenos, receptor acoplado a proteína-G; Receptor de Angiotensina (1-7) Mas.

## Abstract

**Introduction:** Ecdysteroids present unique qualities within the plant and animal kingdoms. Their similarity to endogenous mammalian steroids allows them to present biological activity on skeletal muscle tissue. However, this molecule's action mechanism remains to be fully understood.

**Method:** A narrative review was carried out using the most relevant scientific evidence. Different databases such as Medline, Google Scholar, Scielo and Wiley were consulted. Works were included or excluded according to the author's criterium.

**Results:** Ecdysteroids' activity, mostly that of ecdysterone, might be due to the interaction with Mas receptor, a transmembrane G-Protein Coupled Receptor (GPCR), and the subsequent indirect activation of  $\beta$ -Estrogen Receptor's ( $\beta$ -ER) non-nuclear form. Said action mechanism induces the *alternative* pathway activation of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS), abolishing muscular degradation mechanism. Finally, through  $\beta$ -ER activation, the myostatin gene is suppressed. This biological activity could provide ecdysteroids optimal pharmacological properties to prevent muscular protein degradation. These include tissue regeneration and repair.

**Conclusions:** Due to its anticatabolic effects, Ec has shown great pharmacological properties that could make it work as an alternative treatment for degenerative muscle pathologies. Although investigations regarding Ec are still in progress, it has already been used by the sports' industry and in several clinical trials that focus on the treatment of other diseases.

---

**Keywords:** Skeletal muscle; Ecdysteroids; Ecdysterone; Angiotensin (1-7) Receptor Mas; Estrogen Receptor; G Protein Coupled Receptors.

## Puntos clave

Actualmente los ecdiesteroides son sujeto de estudio para el abordaje de gran variedad de patologías. Desde el inicio de la investigación de nuevos fármacos, el reino vegetal y animal ha protagonizado numerosos avances en el descubrimiento de nuevas moléculas biológicamente activas. En el caso de los ecdiesteroides, moléculas comunes en plantas y artrópodos, se han evidenciado posibles aplicaciones farmacológicas para el tratamiento de patologías degenerativas musculares (como sarcopenia o caquexia), metabólicas y respiratorias. Hoy en día, aunque se sigue indagando acerca de su mecanismo de acción, estas moléculas están atrayendo atención en la industria de la suplementación deportiva, pudiendo tener aplicabilidad en la clínica.

En esta revisión se recopila la evidencia científica más esclarecedora y novedosa acerca del mecanismo de acción de los ecdiesteroides, principalmente la ecdisterona, sobre el tejido muscular esquelético.

La degradación de la musculatura esquelética es prevalente en la sociedad anciana, entre otras, provocando numerosos episodios de traumatismos por caída. Aunque el abordaje nutricional es el indicado en estos casos, nuevas terapias farmacológicas que involucren los ecdiesteroides pudieran suponer un aumento de la calidad de vida de estos pacientes.

## Introducción

Los ecdiesteroides son hormonas de naturaleza esteroídica propias de invertebrados, principalmente artrópodos. Actúan como reguladores directos de los periodos de muda y metamorfosis<sup>(1,2)</sup>. Sin embargo, existen niveles basales en el organismo de estos animales durante toda la vida. Participando en diferentes etapas, regulan procesos fisiológicos tanto directa como indirectamente, interviniendo indirectamente en el ciclo de ovoposición, desarrollo embrionario y postembrionario<sup>(3)</sup>.

Los ecdiesteroides son una familia muy amplia de moléculas presente en todas las especies de artrópodos conocidas. Dicha ubicuidad supuso la base de investigación para la búsqueda de moléculas similares fuera del metaboloma de artrópodos. Análogos a ecdiesteroides han sido descubiertos en diferentes géneros de plantas, denominándose fitoecdisteroides (PE, de sus siglas en inglés, *Phytoecdysteroids*)<sup>(4,5)</sup>. Su función principal permanece aún refutable. Sin embargo, la presencia de esta molécula ha demostrado otorgar cierto grado de protección frente a plagas de nematodos e insectos fitófagos<sup>(6)</sup>.

En comparación con los seres humanos, estas moléculas, pese a que parten de una estructura similar, poseen características diferenciadoras claras<sup>(6)</sup>. Los ecdiesteroides varían en polaridad, tamaño y forma frente a las hormonas esteroídicas de mamíferos. Dicha diferencia provoca que no exista una evidencia convincente acerca de la unión directa de estos compuestos con los receptores nucleares de esteroides<sup>(7,8)</sup>. Sin embargo, tal y como se comentará en este artículo, sí tendrían actividad biológica en células de mamífero.

El inicio del estudio de los ecdiesteroides se remonta a varias décadas atrás. En 1954, gracias al trabajo de los científicos Butenandt y Karlson<sup>(9)</sup>, se consiguió aislar la primera molécula de esta gran familia, la Ecdisona<sup>(10)</sup>. Esta molécula fue extraída en la fase de pupa de los insectos que se estaban desarrollando. Sin embargo, era desconocida su estructura molecular. La configuración espacial de la molécula se comprobó en 1965, cuando el grupo de investigación de Huber y Hope<sup>(11)</sup> la estableció mediante cristalografía de difracción de rayos-X. La Ecdisona es considerada una pro-hormona por muchos científicos pues parece ser el inicio sintético del resto de ecdiesteroides<sup>(12,13)</sup>.

Derivada de la Ecdisona, la Ecdisterona (Ec),  $\beta$ -Ecdisona o 20-Hidroxiecdisona (BE) fue catalogada como la molécula *estándar* de esta familia de compuestos cíclicos perhidrogenados. Ec es el ecdiesteroide con mayor actividad biológica en insectos<sup>(14,15,16)</sup>. Del mismo modo, es el PE más común, pudiendo ser aislado de los extractos de diversas especies de plantas con una relación coste/beneficio aceptable<sup>(13)</sup>. Sin embargo, aunque la actividad de Ec en mamíferos es la más evidenciada, se han llegado a identificar 571 análogos<sup>(17)</sup>, de los cuales algunos también están siendo objeto de estudio. Muchos de estos compuestos vienen siendo utilizados en medicina tradicional desde hace milenios, utilizando extractos de diferentes secciones de plantas<sup>(5,14,18)</sup>.

Los efectos farmacológicos evidenciados de Ec son variados, desde actividad hipolipemiente hasta cierto efecto anabólico y mioprotectivo<sup>(6,19,20)</sup>. Gracias a ello, Ec ha sido propuesta como molécula de ensayo, siendo protagonista en diversos campos de investigación. En casos de síndrome de distrés respiratorio agudo, como la CoVID-19, Ec (denominada: BIO101) está siendo evaluada para mejorar la supervivencia del paciente de riesgo<sup>(21)</sup>. Aunque existen numerosas áreas de estudio que involucran la actividad de Ec como eje de investigación, la presente revisión recopila la evidencia existente acerca de su acción farmacológica sobre el tejido muscular esquelético.

## Métodos

Para la realización de esta revisión bibliográfica narrativa se han utilizado las bases de datos Medline, Google Scholar, Scielo y Wiley. La elección de la evidencia científica se ha realizado en base a criterios de exclusión e inclusión propuestos por el autor. Se han incluido aquellos trabajos que mostrasen datos evidenciados, robustos y reproducibles. Del mismo modo, se han incluido evidencias históricas, en cuanto al tema, que supusieran un inicio o avance en la investigación. Se incluyen aquellos trabajos más actuales que enriquecen conclusiones sobre evidencias previas. Del mismo modo, se excluyen trabajos con resultados irreproducibles, duplicados o refutados.

Para la búsqueda bibliográfica se ha utilizado la siguiente combinación de operadores booleanos: *Ecdysteroids AND Skeletal muscle*; *Ecdysteroids AND Anabolic response*; *Ecdysterone NOR Anabolic steroids*; *Estrogen receptor AND Mas*; *Estrogen recetor AND Anabolic response*. Aunque se recopilaron 98 títulos, este trabajo incluye las 41 referencias resultantes tras la aplicación de los criterios de inclusión.

## Resultados

### Hipertrofia muscular

Los ecdiesteroides han demostrado inducir hipertrofia muscular estimulando la síntesis proteica muscular. Su relación con receptores nucleares, en particular con los receptores de estrógenos (RE) tipo B, mejora el rendimiento físico, así como el aumento en tamaño de las fibras musculoesqueléticas<sup>(22)</sup>.

Numerosos estudios farmacológicos describen la respuesta del tejido muscular frente a la presencia de ecdiesteroides<sup>(22,23)</sup>. La actividad de estas moléculas se refleja en el metabolismo lipídico, sistema inmune y metabolismo proteico. Como consecuencias se dan un aumento en la oxidación de ácidos grasos, cierta estimulación de la respuesta inmune y aumento de la potencia física, respectivamente<sup>(5,7,8,20)</sup>. Debido a esto, la industria de suplementación deportiva se ha interesado en promover y desarrollar formulaciones aptas para consumo humano. Una de las principales ventajas que, hasta la fecha, parece diferenciar a los ecdiesteroides de los anabólicos esteroides comunes es la ausencia de efectos secundarios como la virilización.

La relación estructura actividad de los ecdiesteroides en artrópodos está todavía siendo estudiada. Existen diversos mecanismos moleculares que involucran a los ecdiesteroides, los cuales parecen ser responsables de su actividad biológica en esta familia de insectos. La investigación acerca de la expresión de genes codificantes para receptores de ecdiesteroides se lleva realizando desde el siglo pasado. Partiendo como base de la expresión del receptor en las glándulas salivales de la *Drosophila melanogaster*, así como en *Drosophila Kc*, un estudio de 1981 de la Universidad de Bochum<sup>(24)</sup> identificó una proteína de 130000 kDa como responsable de la actividad hormonal de la Ec en artrópodos. La unión del ligando receptor regula procesos de muda y metamorfosis de insectos. Mediante la translocación del complejo hormona (Ec)-receptor al núcleo celular y posteriormente uniéndose al material genético, modifica la expresión de genes<sup>(25)</sup>. Sin embargo, la Ec no parecía modificar la síntesis o disponibilidad del receptor en la célula y, mediante estudios cuantitativos *in vitro*, el complejo hormona-receptor permanecía en el núcleo pese a la disponibilidad de Ec en el medio<sup>(22,26)</sup>. Posteriormente, con el paso del tiempo, se identificó que el complejo del receptor nuclear estaba constituido por dos subunidades, el receptor de la Ec y la proteína ultraspiracle (USP, por sus siglas en inglés). También consta la posible actividad de una proteína de membrana de la familia GPCR (*G-Protein Coupled Receptor*) la cual activa diferentes cascadas de señalización. Este complejo no se expresa en células de mamíferos, lo que da lugar a la nula actividad de la Ec sobre receptores humanos de esteroides, a diferencia de lo que ocurre con los esteroides anabólico-androgénicos (AAS, por sus siglas en inglés)<sup>(16)</sup>.

La Ec ha demostrado no tener afinidad por receptores androgénicos, receptores de glucocorticoides o receptores de estrógenos tipo  $\alpha$ . Sin embargo, su presencia produce una respuesta biológica sobre receptores de estrógenos tipo  $\beta$ <sup>(2)</sup>. Dicha actividad ha podido visualizarse en ensayos *in vitro* e *in silico*<sup>(22,27,28)</sup>. En ensayos *in vitro* que comparaban la actividad de la Ec con otros AAS, como la metandienona, se observó que, en ausencia de estímulo físico, al contrario que los AAS, esta molécula sí tenía efec-

to<sup>(28)</sup>. De mismo modo, la respuesta celular es dosis dependiente ya que con una posología inferior a 5ug/Kg de peso corporal no mostraban actividad significativa<sup>(27)</sup>. En modelos animales, principalmente ratas y ratones, la suplementación de la dieta con Ec durante periodos de 20 a 30 días y, en combinación con pruebas de natación, mostró que aquellos individuos suplementados eran capaces de nadar tramos más largos<sup>(14,15,25)</sup>. Estas conclusiones llevaron a la Ec a ser propuesta como molécula de estudio en humanos y dilucidar si realmente ejerce un poder anabólico y de mejora del rendimiento físico.

Para comprender la actividad de la Ec sobre tejido muscular esquelético humano se debía indagar acerca del mecanismo principal de acción. Las primeras hipótesis que se formularon fueron planteaban que la unión directa del ecdiesteroides sobre el receptor de estrógenos era la responsable<sup>(14,22)</sup>. Utilizando activadores e inhibidores de receptores de estrógenos, siendo el primero capaz de mimetizar los efectos de la Ec y el segundo de inhibirlos, sobre osteoblastos y mioblastos y comparando las respuestas fisiológicas con la producida por la Ec, no se pudo evidenciar una acción directa sobre los receptores por parte de la Ec<sup>(22,29)</sup>. Las diferencias en la respuesta biológica por parte de los ligandos conocidos del receptor no eran idénticas a las producidas en presencia de Ec. Estos resultados concluyeron en que no existía una prueba fehaciente de que la unión directa Ec-receptor fuese la causante de la actividad<sup>(13,22)</sup>.

Por otro lado, la actividad de la Ec parece estar relacionada con una activación indirecta del receptor de estrógenos<sup>(12,13)</sup>. Una posible interacción con receptores de membrana que desemboquen en una cascada de señalización se postula como la principal vía de actuación<sup>(13,30)</sup>. La evidencia de este mecanismo de acción es respaldada por la numerosa cantidad de mensajeros secundarios presentes tras la exposición de las células diana a Ec<sup>(31,32)</sup>. Del mismo modo, la unión de nanopartículas metálicas a la Ec, con el fin de evitar la entrada del ecdiesteroides al interior celular, no impedía la actividad de Ec<sup>(31,33)</sup>. En un estudio del año 2021 llevado a cabo por Lafont et al.<sup>(13)</sup> mediante el empleo de mioblastos de ratón (C2C12) y la monitorización de la expresión del gen de la miostatina (proteína responsable de la degradación proteica) se observó y verificó la actividad biológica de la Ec. Los resultados mostraron que su actividad se debía fundamentalmente a la interacción con un receptor de membrana, en concreto con el receptor Mas<sup>(6,13,16)</sup>.

### Actividad de Ec sobre el receptor

El receptor Mas es un receptor clave en la regulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA). La activación *clásica* del eje RAA, el cual involucra la conversión de angiotensina I en angiotensina II (Ang II) mediante la enzima convertidora de angiotensina (ECA), está estrechamente relacionado con una pérdida cuantitativa y cualitativa de masa muscular esquelética<sup>(34,35)</sup>. Niveles supra fisiológicos de angiotensina II en circulación sanguínea están relacionados con condiciones de atrofia y degradación proteico-muscular<sup>(35,36)</sup>. Sin embargo, respetando el principio de homeostasis del organismo, existe un eje de activación alternativo. El eje alternativo del sistema RAA involucra la actividad de ECII, angiotensina 1-7 (Ang1-7) y el receptor Mas. La interacción de Ang1-7 con el receptor Mas de siete dominios transmembrana acoplado a proteína G reduce la atrofia muscular ocasionada por niveles elevados de Ang II reduciendo la degradación celular<sup>(34,35,36)</sup>.

La Ec ha demostrado comportarse de manera similar a Ang1-7<sup>(13)</sup>. El complejo del receptor Mas, tal y como muestra Sobrino et al.<sup>(23)</sup>, parece estar ligado a la actividad de los receptores de estrógenos no nucleares. El estradiol tiene un papel importante en la regulación de la vasodilatación al igual que el receptor Mas<sup>(37,38)</sup>. Esta relación es primordial en los capilares sanguíneos donde el endotelio está constituido por células altamente dependientes de vasodilatadores, en particular óxido nítrico (NO) en tejido muscular esquelético<sup>(37)</sup>. La ruta Akt/NOS/NO es regulada por la activación de Mas. Debido a esta relación, los dos receptores tienen tendencia a formar un heterodímero regulando su actividad en conjunto. En 2016, Omanakuttan et al.<sup>(38)</sup> observaron la activación de la migración y la proliferación celular mediada por la actividad de la Ec en cicatrización de heridas. En este tipo de afecciones la actividad de NO es fundamental, incrementándose los niveles en presencia de Ec<sup>(12,13)</sup>.

La dimerización del receptor acoplado a proteína-G (GPCR, por sus siglas en inglés) con el receptor de estrógenos en humanos es similar a la determinada en *Drosophila*<sup>(8)</sup>. En insectos, el receptor específico para dopamina y ecdiesteroides, DopEcR, es responsable de la liberación de Ca<sup>2+</sup> del retículo endoplas-

mático, del aumento de la fosforilación proteica y de la translocación celular. Estos procesos se dan a consecuencia de la activación de los ejes de señalización GPCR/Ca<sup>2+</sup>/PKC y GPCR/AMPC/PKA<sup>(8,23,35,38)</sup>. Dichos ejes regulan la transcripción de genes específicos para la muda y la metamorfosis. Del mismo modo, en mamíferos, pudiera darse una inducción genética parecida vía Mas/receptor de estrógenos, resultando en el aumento de la síntesis proteica e inhibición de la degradación celular, vía inhibición de la expresión de la miostatina<sup>(6)</sup>.

### Activación indirecta de ERβ no nuclear por acción de Ec

La activación indirecta de los receptores de estrógenos tipo β no nucleares parece ser responsable de los efectos anabólicos de Ec<sup>(22,23,30)</sup>. Años de estudio atrás, la evidencia científica situaba a los andrógenos e IGF-1 como responsables principales de los procesos anabólicos del tejido músculo esquelético<sup>(14,39)</sup>. Sin embargo, con los avances en la investigación, los receptores de estrógenos se han coronado como responsables también de la activación de la transcripción genes involucrados en el desarrollo muscular. Existen dos subtipos de receptores de estrógenos, el receptor α (ERα) y el receptor β (ERβ)<sup>(6,40)</sup>. En la actividad que concierne a la Ec, el receptor β es el responsable y protagonista. La principal diferencia entre ambos subtipos es su distribución entre los diferentes tejidos. ERα tiene mayor relación con aquellos tejidos con función reproductiva o relacionados, como el tejido uterino o tejido mamario, mientras que ERβ se expresa sobre todo en tejido endotelial vascular, próstata y tejido gastrointestinal<sup>(5,22)</sup>. Sin embargo, en otros tejidos como el músculo esquelético se expresan en conjunto. Es precisamente en este último donde la activación de ERβ induce la regeneración del tejido, reparando las fibras musculares dañadas. Incluso pese a que el receptor de estrógenos se encuentra mayormente vinculado a la homeostasis femenina, los efectos anabólicos de la activación de ERβ son observables en ambos sexos<sup>(22,41)</sup>.

Por otro lado, pese a que estos receptores pertenecen a la familia de receptores nucleares, también se conocen sus formas no nucleares. Estos últimos son los principales responsables de la regulación de la expresión de los genes de miostatina y metabolismo proteico muscular. Lafont et al., en 2021<sup>(13)</sup>, utilizando un análogo específico de ERβ no nuclear derivado del estradiol (17β-Estradiol) observaron la supresión de la expresión de miostatina. Simultáneamente, adicionando antagonistas de la Ang1-7, los resultados mostraron que no se abolía la actividad de ERβ. Mencionado anteriormente, ERβ no nuclear es activado en presencia de Ec. Aunque no se activa por unión directa, se propone que la interacción de Ec con Mas y la posterior activación de ERβ no nuclear, a consecuencia de la cascada de señalización producida, como el mecanismo de acción para la actividad anticatabólica vía receptor de estrógenos<sup>(2,6,13)</sup>.

La posible similitud con el mecanismo natural evidenciado en insectos<sup>(8)</sup>, los efectos fisiológicos visualizados en la interacción de Ec con Mas<sup>(22,23)</sup>, la interacción con los receptores extranucleares de estrógenos<sup>(23)</sup> y la inhibición de la miostatina<sup>(13)</sup>, han llevado a muchos científicos a proponer la interacción de Mas con el receptor de estrógenos no nuclear como principal mecanismo de acción de la Ec.

## Conclusión

La evidencia científica revisada en este trabajo muestra la posible aplicación de los ecdiesteroides en la clínica de patologías musculodegenerativas. Patologías como la sarcopenia o la caquexia podrían disponer de un aboraje terapéutico alternativo en los próximos años si se esclarece la posible utilidad de los ecdiesteroides. Su mecanismo de acción, basado en la interacción con el complejo del receptor transmembrana Mas y Erβ no nuclear, es una alternativa para potenciar la preservación de la masa magra muscular. Inclusive, otras patologías metabólicas pudieran beneficiarse de los efectos de Ec.

Por otro lado, pese a que la activada de Ec no está confirmada para su empeño en la clínica, su comercialización para la potenciación de la actividad deportiva está presente. Por este motivo, la Agencia Mundial Anti-Dopaje (AMA) ha incluido a este ecdiesteroides en la en la clase S1.2 *Other anabolic agents* de la lista de sustancias prohibidas, por considerarse un anabólico de origen natural.

## Bibliografía

1. Lenaerts C, Van Wielendaele P, Peeters P, Vanden Broeck J, Marchal E. Ecdysteroid signalling components in metamorphosis and development of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2016;75:10–23. doi: 10.1016/J.IBMB.2016.05.003.
2. Lafont R, Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: And update. *J Insect Sci*. 2003;3. doi: 10.1093/jis/3.1.7.
3. Dinan L. Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry* [Internet]. 2001;57:325–339. doi: 10.1016/S0031-9422(01)00078-4.
4. Wang Y chen, Zhao J jia, Chi D fu.  $\beta$ -Ecdysterone accumulation and regulation in *Ajuga multiflora* Bunge suspension culture. *3 Biotech* [Internet]. 2018;8. doi: 10.1007/S13205-018-1117-2.
5. Zhao P, Soukup ST, Hegevooss J, Ngueu S, Kulling SE, Diel P. Anabolic effect of the traditional chinese medicine compound tanshinone iia on myotube hypertrophy is mediated by estrogen receptor. *Planta Med*. 2015;81:578–585. doi: 10.1055/s-0035-1545883.
6. Dinan L, Dioh W, Veillet S, Lafont R. 20-Hydroxyecdysone, from Plant Extracts to Clinical Use: Therapeutic Potential for the Treatment of Neuromuscular, Cardio-Metabolic and Respiratory Diseases. *Biomedicines*. 2021;9(5):492. doi: 10.3390/biomedicines9050492.
7. Xia X, Zhang Q, Liu R, Wang Z, Tang N, Liu F, Huang G, Jiang X, Gui G, Wang L, et al. Effects of 20-hydroxyecdysone on improving memory deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rat. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:45–52. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.06.026.
8. Zhao XF. G protein-coupled receptors function as cell membrane receptors for the steroid hormone 20-hydroxyecdysone. *Cell Commun Signal* [Internet]. 2020;18. doi: 10.1186/S12964-020-00620-Y.
9. Karlson P. Chemistry and Biochemistry of Insect Hormones. *Angewandte Chemie International Edition in English* [Internet]. 1963;2:175–182. doi: 10.1002/ANIE.196301751.
10. Cherbas P. The IVth Karlson Lecture: Ecdysone-responsive genes. *Insect Biochem Mol Biol*. 1993;23:3–11. doi: 10.1016/0965-1748(93)90076-5.
11. Huber R, Hoppe W. [On the chemistry of ecdysone. VII. Analysis of the crystal and molecular structure of the molting hormone in insects, ecdysone, using the automatized folding molecule method. *Chem Ber* [Internet]. 1965 ; 98:2403–2424. doi: 10.1002/CBER.19650980744.
12. Csábi J, Rafai T, Hunyadi A, Zádor E. Poststerone increases muscle fibre size partly similar to its metabolically parent compound, 20-hydroxyecdysone. *Fitoterapia* [Internet]. 2019;134:459–464. doi: 10.1016/J.FITOTE.2019.03.017.
13. Lafont R, Serova M, Didry-Barca B, Raynal S, Guibout L, Dinan L, Veillet S, Latil M, Dioh W, Dilda PJ. 20-Hydroxyecdysone activates the protective arm of the RAAS via the MAS receptor. *J Mol Endocrinol* [Internet]. 2021;68:77–87. doi: 10.1530/JME-21-0033.
14. Bathori M, Toth N, Hunyadi A, Marki A, Zador E. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids--structure and effects on humans. *Curr Med Chem* [Internet]. 2008;15:75–91. doi: 10.2174/092986708783330674.
15. Wilborn CD, Taylor LW, Campbell BI, Kerksick C, Rasmussen CJ, Greenwood M, Kreider RB. Effects of methoxyisoflavone, ecdysterone, and sulfo-polysaccharide supplementation on training adaptations in resistance-trained males. *J Int Soc Sports Nutr* [Internet]. 2006;3. doi: 10.1186/1550-2783-3-2-19.
16. Gorelick-Feldman J, MacLean D, Ilic N, Poulev A, Lila MA, Cheng D, Raskin I. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2008;56:3532–3537. doi: 10.1021/JF073059Z.
17. Ecdybase (The Ecdysone Handbook) - a free online ecdysteroids database [Internet]. Ecdybase.org. Disponible en: <https://ecdystate.org/>

18. Jung K, Kim IH, Han D. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J Ethnopharmacol.* 2004;93:75–81. doi: 10.1016/j.jep.2004.03.022.
19. Liu JJ, Zhang HY, Chen X, Zhang GB, Lin JK, Feng H, Chu WH. 20-Hydroxyecdysone Improves Neuronal Differentiation of Adult Hippocampal Neural Stem Cells in High Power Microwave Radiation-Exposed Rats. *Biomed Environ Sci.* 2022;35:504–517. doi: 10.3967/bes2022.068.
20. Jian CX, Liu XF, Hu J, Li CJ, Zhang G, Li Y, Zhu JW, Tan YH. 20-hydroxyecdysone-induced bone morphogenetic protein-2-dependent osteogenic differentiation through the ERK pathway in human periodontal ligament stem cells. *Eur J Pharmacol.* 2013;698:48–56. doi: 10.1016/J.EJPHAR.2012.07.044.
21. Testing the efficacy and safety of BIO101, for the prevention of respiratory deterioration, in patients with COVID-19 pneumonia (COVA study): a structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial - PMC [Internet]. doi: 10.1186/s13063-020-04998-5
22. Parr MK, Zhao P, Haupt O, Ngueu ST, Hengevoss J, Fritzemeier KH, Piechotta M, Schlörer N, Muhn P, Zheng WY, et al. Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone. *Mol Nutr Food Res [Internet].* 2014;58:1861–1872. doi: 10.1002/MNFR.201300806.
23. Sobrino A, Vallejo S, Novella S, Lázaro-Franco M, Mompeón A, Bueno-Betí C, Walther T, Sánchez-Ferrer C, Peiró C, Hermenegildo C. Mas receptor is involved in the estrogen-receptor induced nitric oxide-dependent vasorelaxation. *Biochem Pharmacol.* 2017;129:67–72. doi: 10.1016/J.BCP.2017.01.012.
24. Schaltmann K, Pongs O. Identification and characterization of the ecdysterone receptor in *Drosophila melanogaster* by photoaffinity labeling. *Proceedings of the National Academy of Sciences [Internet].* 1982 ;79:6–10. doi: 10.1073/PNAS.79.1.6.
25. Isenmann E, Ambrosio G, Joseph JF, Mazarino M, de la Torre X, Zimmer P, Kazlauskas R, Goebel C, Botrè F, Diel P, et al. Ecdysteroids as non-conventional anabolic agent: performance enhancement by ecdysterone supplementation in humans. *Arch Toxicol.* 2019;93:1807–1816. doi: 10.1007/s00204-019-02490-x.
26. Bathori M. Phytoecdysteroids Effects on Mammalians, Isolation and Analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2005;2:285–293. doi: 10.2174/1389557023406269.
27. Azizov AP, Seifulla RD, Chubarova AV, et al. Effects of leuzea tincture and leveton on humoral immunity of athletes. *Eksp Klin Farmakol.* 1997 Nov-Dec;60(6):47-8. Russian. PMID: 9460599.
28. Chermnykh NS, Shimanovskii NL, Shutko GV, et al. The action of methandrostenolone and ecdysterone on the physical endurance of animals and on protein metabolism in the skeletal muscles. *Farmakol Toksikol.* 1988;51(6):57-60. Russian. PMID: 3234543.
29. Gao L, Cai G, Shi X.  $\beta$ -Ecdysterone Induces Osteogenic Differentiation in Mouse Mesenchymal Stem Cells and Relieves Osteoporosis. *Biol Pharm Bull.* 2008;31:2245–2249. doi: 10.1248/BPB.31.2245.
30. Seidlova-Wuttke D, Christel D, Kapur P, Nguyen BT, Jarry H, Wuttke W.  $\beta$ -Ecdysone has bone protective but no estrogenic effects in ovariectomized rats. *Phytomedicine.* 2010;17:884–889. doi: 10.1016/J.PHYMED.2010.03.021.
31. Mykhaylyk OM, Kotzuruba AV., Buchanevich OM, Korduban AM, Meged EF, Gulaya NM. Signal transduction of erythrocytes after specific binding of ecdysterone and cholesterol immobilized on nanodispersed magnetite. *J Magn Magn Mater.* 2001;225:226–234. doi: 10.1016/S0304-8853(00)01262-2.
32. Kotsiuruba AB, Tuhanova AV, Bukhanevich OM, Tarakanov SS. Mechanisms of the early effect of biologically active hydroxysterols: calcitriol and ecdysterone. Identification of sphingomyelin as the effector mechanism of the early effect. *Ukr Biokhim Zh (1978).* 1995;67(2):53-8. Ukrainian. PMID: 8592786.
33. Gorelick-Feldman J, Cohick W, Raskin I. Ecdysteroids elicit a rapid  $\text{Ca}^{2+}$  flux leading to Akt activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells. *Steroids.* 2010;75:632–637. doi: 10.1016/J.STEROIDS.2010.03.008.

- 34.** Murphy KT, Hossain MI, Swiderski K, Chee A, Naim T, Trieu J, Haynes V, Read SJ, Stapleton DI, Judge SM, et al. Mas Receptor Activation Slows Tumor Growth and Attenuates Muscle Wasting in Cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2019;79:706–719. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1207.
- 35.** Rupert JE, Koniaris LG, Zimmers TA. Multimodal action of MAS activation for systemic cancer cachexia therapy. *Cancer Res*. 2019;79:699–700. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3910.
- 36.** Yamamoto K, Takeshita H, Rakugi H. ACE2, angiotensin 1-7 and skeletal muscle: review in the era of COVID-19. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2020;134:3047–3062. doi: 10.1042/CS20200486.
- 37.** Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M, Campagnole-Santo MJ. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiol Rev* [Internet]. 2018;98:505–553. doi: 10.1152/PHYSREV.00023.2016.
- 38.** Omanakuttan A, Bose C, Pandurangan N, Kumar GB, Banerji A, Nair BG. Nitric Oxide and ERK mediates regulation of cellular processes by Ecdysterone. *Exp Cell Res*. 2016;346:167–175. doi: 10.1016/J.YEXCR.2016.07.019.
- 39.** Arif Y, Singh P, Bajguz A, Hayat S. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones. *Int J Mol Sci*. 2022;23. doi: 10.3390/ijms23158664.
- 40.** Dreier SI, Towers GHN. Activity of Ecdysterone in Selected Plant Growth Bioassays. *J Plant Physiol*. 1988;132:509–512. doi: 10.1016/S0176-1617(88)80073-7.
- 41.** Gholipour P, Komaki A, Parsa H, Ramezani M. Therapeutic Effects of High-Intensity Interval Training Exercise Alone and Its Combination with Ecdysterone Against Amyloid Beta-Induced Rat Model of Alzheimer’s Disease: A Behavioral, Biochemical, and Histological Study. *Neurochem Res* [Internet]. 2022;47:2090–2108. doi: 10.1007/S11064-022-03603-2.