

Ricardo M. Oliveira Filho (**)
Olívia A. Uehara (**)
Luiz B. S. Valle (**)
Conceição A. S. A. Minetti (**)
Eva M. A. Boeckh (**)

RESUMO

Os efeitos de princípios ativos de *S. rebaudiana* sobre parâmetros endócrinos de ratos foram estudados após administração crônica (60 dias) de extrato aquoso bruto (decocto) concentrado nas folhas dessa planta, começando em idade pré-púbere (25 a 30 dias de idade). Foram feitas as seguintes determinações: glicemia, níveis séricos de T_3 , T_4 e T_3R , união de [3H]R1881 à fração citosólica de próstata, teor de zinco em próstata, testículo, glândula salivar submandibular e pâncreas, e conteúdo hídrico em testículo e próstata. Estudou-se também a curva de ganho de peso corporal e os pesos terminais de testículo, próstata, vesícula seminal, glândula submandibular e adrenal. Os resultados deixaram patente que o grupo experimental não diferiu do controle significativamente em nenhum dos parâmetros analisados, exceto quanto ao peso de vesícula seminal, que diminuiu em 60%, tanto em termos absolutos como em relação ao peso corporal. Conclui-se que os parâmetros endócrinos estudados no rato não são fundamentalmente alterados por doses farmacológicas de princípios ativos de *S. rebaudiana*.

INTRODUÇÃO

Entre os princípios ativos das folhas de *Stevia rebaudiana*, planta nativa da América do Sul, encontra-se o esteviosídeo, cujo poder adoçante - cerca de 300 vezes superior ao da sacarose - tem despertado interesse comercial como substituto do ciclamato. Nas regiões onde a planta é nativa, observações empíricas atribuem ao chá preparado com suas folhas propriedades tônicas e digestivas.

A molécula do esteviosídeo apresenta núcleo diterpênico tetracíclico (esteviol) e

(*) Financiado pela FINEP.

(**) USP/Instituto de Ciências Biomédicas - Departamento de Farmacologia.

3 moléculas de glicose; sua semelhança estrutural com hormônios esteroidais chama a atenção para uma possível ação a nível de receptores em órgãos-alvo de hormônios sexuais. De fato, em 1968 Planas e Kuč relataram média de 57 a 79% de redução da fertilidade em ratos tratados com decocto a 5% das folhas de *S. rebaudiana*, porém observações posteriores não confirmaram este achado (Sakaguchi & Kan, 1982).

Nosso laboratório demonstrou *in vitro* que o esteviosídeo purificado tem a capacidade de deslocar a 5 α -dihidrotestosterona (DHT) especificamente unida a sítios receptores androgênicos em próstata (Uehara *et al.*, 1982). Este resultado foi confirmado posteriormente usando o composto sintético não metabolizável metiltrienolona (R1881), marcador específico para receptores androgênicos (Uehara *et al.*, 1983). Todavia, a alta concentração de esteviosídeo usada nestes ensaios (pelo menos 500 vezes superior ao valor da K_d da interação DHT-receptor) pode dificultar a interpretação de efeito "anti-androgênico" que o composto pudesse exercer se administrado *in vivo*. Assim, o presente trabalho introduz a modificação de verificar se os andrógenos apresentariam alguma modificação em sua capacidade de união a órgão-alvo de ratos cronicamente tratados com doses elevadas de extrato de *S. rebaudiana*. Paralelamente, uma série de outros parâmetros endócrinos foram também estudados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 50 ratos Wistar machos de 25 a 30 dias de idade (50 a 60g) mantidos em condições usuais de laboratório, com livre acesso a água e ração balanceada (ração "ProBiotério G", Anderson Clayton, S. Paulo), em ciclo claro-escuro de 12 horas. Trinta animais foram tratados com decocto de folhas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni (Viveiro Guarany, S. Paulo) correspondendo a 60g de folhas/90ml de solução (preparado pela Dr^a Neila Quege (Instituto de Pesquisas Tecnológicas, S. Paulo). A solução era administrada 2 vezes/dia através de sonda gástrica (2 ml/rato) durante 60 dias; os animais foram mantidos sem alimento ou água 1 h antes e 30 min após a administração da solução. Vinte animais mantidos nas mesmas condições e tratados apenas com solução fisiológica (NaCl 0,85%) constituíram o grupo controle. Para ensaios de união (v. abaixo), 3 animais de cada grupo foram castrados 3 dias antes de utilizados. A evolução do crescimento foi acompanhada pelo ganho de peso corporal, medido a cada 2 a 3 dias durante todo o período experimental. Após o sacrifício, por decapitação, foram coletados sangue e amostras de tecidos para a determinação de glicemia, níveis séricos de T_3 , T_4 e T_3R , união de [3H]R1881 à fração citosólica de próstata, teor de Zn em próstata, testículo, glândula salivar submandibular e pâncreas, e conteúdo hídrico em testículo e próstata.

Para ensaios de união hormônio-receptor, as próstatas foram rapidamente dissecadas pesadas com precisão de 0,1 mg e homogeneizadas a 0-2 $^{\circ}$ C na proporção 1:16 (p/v) em tampão Tris-EDTA-mercaptoetanol 50 mM pH 7,4 (tampão TEM), com homogeneizador Polytron (Brinkmann). Os homogeneizados foram centrifugados a 105.000 g durante 1 h a 2 - 4 $^{\circ}$ C (centrífuga Beckman L5-50B), e os sobrenadantes resultantes (citosóis) usados para ensaio

em condições descritas anteriormente (Bara \tilde{n} ao *et al.*, 1982). Em resumo, al \tilde{q} uotas dos citos \tilde{o} is contendo cerca de 500 μ g de prote \tilde{i} na foram incubadas durante 18h a 8 $^{\circ}$ C com concentra \tilde{c} oes crescentes (2 a 10 nM) de 17 α -metiltri \tilde{e} nolona radioativa ([17 α -metil- 3 H]-1,4,11-estratri \tilde{e} n-3-ona; [3 H]R1881 com atividade espec \tilde{i} fica 87,0 Ci/mmol (New England Nuclear) na presen \tilde{c} a ou aus \tilde{e} ncia de horm \tilde{o} nio radioinerte, em concentra \tilde{c} ao 500 a 1000 vezes superior ao valor da K $_d$ da uni \tilde{a} o andr \tilde{o} geno-receptor neste tecido. As incubac \tilde{o} es foram interrompidas por adic \tilde{a} o de mistura carv \tilde{a} o-dextrano (0,1-0,01%) em tamp \tilde{a} o TEM e subsequ \tilde{e} nte centrifugac \tilde{a} o (2.000 g, 4 $^{\circ}$ C, 10 min, centr \tilde{i} fuga Sorvall RC-5B) para separac \tilde{a} o de horm \tilde{o} nios livres e ligados. Aos sobrenadantes foi adicionada mistura de cintilac \tilde{a} o (PPO POPOP em tolueno) e a radiatividade presente determinada em espectr \tilde{o} metro Beckman de cintilac \tilde{a} o l \tilde{i} quida. A diferen \tilde{c} a entre as contagens obtidas nos tubos onde foi utilizado horm \tilde{o} nio radiativo unicamente (= "uni \tilde{a} o total") e as contagens nos tubos onde foram incubados horm \tilde{o} nio radiativo + horm \tilde{o} nio radioinerte (= "uni \tilde{a} o inespec \tilde{i} fica") \tilde{e} tomada como medida da uni \tilde{a} o espec \tilde{i} fica.

A glicemia foi determinada pelo m \tilde{e} todo da glicose oxidase (Glucostat $^{\circ}$ Worthington Biochem. Co.). Os n \tilde{i} veis s \tilde{e} ricos de T $_3$ e T $_4$ e os valores de "T $_3$ -resina" (T $_3$ R) foram determinados com emprego de "kits" espec \tilde{i} ficos (Diagnostic).

Para as determina \tilde{c} oes de zinco, amostras apropriadas de tecidos foram levadas \tilde{a} secura (determinando-se concomitantemente o cont \tilde{e} udo h \tilde{i} drico) e a seguir calcinadas a 800 $^{\circ}$ C durante 30 min. As cinzas resultantes foram dissolvidas em HCl 2 N. Dilu \tilde{i} c \tilde{o} es apropriadas (1:25) desta solu \tilde{c} ao foram feitas com \tilde{a} gua desionizada e analisadas em espectrofot \tilde{o} metro de absor \tilde{c} ao at \tilde{o} mica (Varian Techtron AA-120) contra curva-padr \tilde{a} o de Zn. O limite de detec \tilde{c} ao do m \tilde{e} todo \tilde{e} de 0,002 ppm de Zn; a faixa de trabalho situou-se entre 0,4 e 1,6 ppm do \tilde{i} on.

Proteinas foram determinadas pelo m \tilde{e} todo de (Lowry *et al.*, 1951), usando-se albumina bovina (fra \tilde{c} ao V, Sigma) como padr \tilde{a} o. Empregou-se o teste "t" de Student nas compara \tilde{c} oes estat \tilde{i} sticas.

RESULTADOS

A Fig. 1 mostra a evolu \tilde{c} ao do ganho de peso corporal nos dois grupos de ratos; o inserto mostra a transforma \tilde{c} ao semi-logar \tilde{i} tmica dos mesmos dados e a reta de regress \tilde{a} o resultante, tomando dados a partir do 7 $^{\circ}$ dia de experimentac \tilde{a} o. Nota-se excelente retilinearidade (coeficiente de correlac \tilde{a} o 0,99). As retas calculadas para grupo controle ($y = 0,007x + 0,469$) e grupo experimento ($y = 0,007x + 0,486$) s \tilde{a} o indistingu \tilde{i} veis ($P > 0,20$).

A Tabela 1 lista dados ponderais, corporais e de diversos \tilde{o} rg \tilde{a} os, no momento do sacrific \tilde{i} o dos animais. N \tilde{a} o se observam diferen \tilde{c} as significativas dos pesos (absolutos ou relativos) entre os grupos, exce \tilde{c} ao \tilde{a} ves \tilde{i} cula seminal, que apresentou redu \tilde{c} ao de 60% no grupo tratado com **Stevia**, tanto em termos de peso absoluto como em rela \tilde{c} ao ao peso corporal.

Na Tabela 2 aparecem os dados de glicemia, hormonais (T_3 , T_4 e T_3R séricos), iônico (teor de Zn em vários tecidos) e conteúdo hídrico em testículo e próstata. Em nenhum caso constatou-se diferença significativa entre os grupos.

A Fig. 2 resume os ensaios de união do andrógeno sintético [3H]R1881 ao citosol de próstata de ratos controle e tratados com **Stevia**. A castração dos animais 3 dias antes do experimento (v. Métodos) foi feita para que a concentração de andrógenos circulantes baixasse e houvesse desocupação dos receptores androgênicos prostáticos. As medidas de número de sítios de união refletem portanto o número de sítios disponíveis em condição de baixas taxas circulantes de hormônios endógenos (o que se aproxima muito da determinação de sítios receptores totais pela técnica de intercâmbio; (Baraño et al., 1982). A análise de Wilkison dos dados mostrou certa diferença na variável Q ($C = 113,8 \pm 21,5$ e $E = 143,7 \pm 23,6$ nM), que entretanto desaparece ao se expressarem os valores em relação ao teor de proteínas da fração citosólica ($C = 31,0 \pm 2,1$ e $E = 30,9 \pm 1,8$ fmol/mg de proteína). A constante de afinidade aparente da união hormônio-receptor não variou entre os grupos ($C = 0,22 \pm 0,07$ e $E = 0,24 \pm 0,07$ nM $^{-1}$).

DISCUSSÃO

Esta linha de investigação tem sido centrada na observação de semelhanças estruturais entre a molécula do esteviosídeo ou sua aglicona (esteviol) e a molécula de hormônios sexuais, o que poderia explicar eventual afinidade por sítios receptores para estes hormônios em órgãos-alvo e plausivelmente justificar uma "ação anti-androgênica" (Planas e Kuč, 1968). De fato, foi observado que o esteviosídeo purificado pode competir com a [3H]5 α -dihidrotestosterona pelos seus receptores específicos em próstata de camundongos adultos, em proporção até mesmo superior à competição exercida pelo hormônio radioinerte (Uehara et al. 1982). O mesmo não ocorreu a nível de glândula submandibular, órgão alvo de andrógenos cujos receptores têm mecanismos aparentemente distintos de regulação (Oliveira-Filho et al., 1981). A marcação de receptores com hormônios de ocorrência natural (testosterona, dihidrotestosterona) pode eventualmente subestimar o número de sítios de união devido a que esses compostos são metabolizáveis, e isto levou-nos ao uso do andrógeno sintético não metabolizável R1881, que marca receptores androgênicos com alta especificidade e reprodutibilidade (Bonne & Raynaud, 1976). Assim, confirmou-se a ação do esteviosídeo de deslocar o andrógeno especificamente unido a seus receptores, não só a nível de próstata, como também de glândula submandibular de animais após 1 ano de castração (Uehara et al., 1983; Minetti et al., 1983, 1984). Em qualquer dos relatos, entretanto, cabia a crítica de que dificilmente a concentração de esteviosídeo usada (7 a 15 μ M) seria alcançada *in vivo* por administração convencional; o presente trabalho examina diretamente esta questão.

Elegeram-se animais pré-púberes para iniciar o tratamento considerando que o sistema endócrino, se afetado, mostraria alterações mais conspícuas que no animal sexualmente maduro, devido à bem conhecida vulnerabilidade do equilíbrio endócrino no período

pré-púbere (Negro-Vilar *et al.*, 1973; Baraño *et al.*, 1982).

Como se observa na Fig. 1, a evolução do ganho de peso corporal não sofreu qualquer alteração pelo tratamento; a transformação semi-log dos dados mostra praticamente uma única reta de regressão para os dois grupos. Outros dados ponderais (Tabela 1) evidenciam que o tratamento crônico com altas doses de extrato de *S. rebaudiana* não afetou significativamente qualquer dos órgãos estudados, com exceção da vesícula seminal. Observou-se que o conteúdo líquido intravesicular teve papel fundamental nesta diferença; entretanto, não se sabe ainda o mecanismo de tal efeito.

Não houve influência do tratamento sobre o teor de glicose sanguínea. A ligeira queda do nível glicêmico (1,5%) não foi significativa, porém pode refletir a tendência hipoglicemiante que o esteviosídeo demonstra (Oviedo *et al.*, 1971), potencialmente útil no estado diabético. Experimentos usando ratos tornados diabéticos com estreptozotocina podem auxiliar a esclarecer melhor este ponto.

A avaliação da função tireoidiana (pela medida dos níveis circulantes de T_3 e T_4) e dos sítios ligantes disponíveis em proteínas transportadoras de hormônios tireoidianos (pelo índice T_3R) mostrou que o esquema de tratamento com *Stevia* aqui empregado não interferiu neste parâmetro endócrino (Tabela 2). Esta avaliação é importante pelas conhecidas correlações que a função da tireoide mantém com o crescimento corporal, com a função endócrina do pâncreas, e com o eixo hipotálamo-hipofise-testicular (Kalland *et al.*, 1978).

Neste trabalho empregamos a determinação da concentração tecidual de zinco (Tabela 2) como mais um indicador fisiológico da atividade androgênica, uma vez que este íon regula negativamente a atividade da Δ^4 -3-oxoesteróide-5 α -redutase, enzima que converte testosterona em dihidrotestosterona, além da regulação androgênica da concentração de Zn em testículo e tecidos alvo de andrógenos (Monsalve & Blaquier, 1977). Ademais, estudos preliminares deste laboratório mostraram que o teor de Zn em glândula salivar submandibular também depende da atividade androgênica, uma vez que a castração leva a queda da concentração glandular do íon e a reposição hormonal a restaura (resultados não publicados). O tratamento com *Stevia* não modificou o teor de Zn em testículo e órgãos-alvo de andrógenos, nem a nível de pâncreas, onde tem papel importante no armazenamento de moléculas de insulina nas células β (Bowman & Rand, 1980).

Este trabalho mostra que a administração crônica de altas doses de extrato total concentrado de folhas de *S. rebaudiana* a ratos não alterou o número de sítios ligantes (Q) específicos para andrógenos na próstata, nem a constante de afinidade aparente da interação hormônio-receptor a este nível (Fig. 2). Em vista dos resultados anteriores, em que a variável Q era afetada pelo esteviosídeo (Uehara *et al.*, 1983), é plausível que o presente resultado seja devido à pequena concentração de princípios ativos que atingem a biofase. Visto que a questão da absorção do esteviosídeo e outros componentes não está ainda totalmente resolvida (Wingard *et al.*, 1980), a biodisponibilidade dos princípios da *Stevia* deve desempenhar papel limitante nesse particular.

Se bem os resultados aqui discutidos falem a favor de inocuidade do extrato aquoso total das folhas de *S. rebaudiana* sobre a função endócrina do sistema reprodutor do rato.

a explicação para a redução da fertilidade encontrada por Planas & Kuć (1968) pode envolver ações sobre a fêmea ou eventualmente ao nível mais complexo de comportamento. São aspectos cujo estudo vem merecendo atenção em nosso laboratório.

AGRADECIMENTOS

A valiosa colaboração do Dr. João H. Romaldini (Diretor do Serviço de Endocrinologia do H.S.P.E., S. Paulo) na avaliação da função tireoídiana é aqui reconhecidamente registrada. C.A.S.A. Minetti é pós-graduanda em Farmacologia do I.C.B./USP e bolsista da FAPESP (Proc. 82.0495-0). Parte do programa de pesquisas sobre a *S. rebaudiana* neste laboratório se beneficiou do auxílio 43.82.0149 concedido pela FINEP.

SUMMARY

The effects of active principles of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonii on some endocrine functions in rats were studied after chronic administration (60 days) of a concentrated aqueous extract of the leaves, starting at pre-pubertal age (25-30 days). The following measurements have been carried out: glicemia, T_3 and T_4 serum levels, available T_3 binding sites in plasma (T_3R), [3H]R1881 binding to prostate cytosol, Zn content in prostate, testis, submaxillary gland and pancreas, and hydric content in testis and prostate. Also, it has been studied the curve of body weight gain and the final weight of testis, prostate, seminal vesicle, submaxillary gland and adrenal. Any significant difference between experimental and control groups were seen, except for the weight of seminal vesicle which decreased by 60% both in terms of absolute weight and relatively to the body weight. It was concluded that pharmacological doses of active principles of *S. rebaudiana* chronically administered to rats did not elicit any fundamental alteration of the endocrine functions studied.

Tabela 1 - Pesos corporais e de diversos órgãos de ratos controle e tratados com dose farmacológica de *S. rebaudiana* durante 60 dias (médias \pm E.P.M.)

PESOS †	CONTROLE		TRATADOS	
	Absoluto	Relativo (mg/100g)	Absoluto	Relativo (mg/100g)
Corporal	194,0 \pm 9,7	—	183,0 \pm 14,6	—
Testículo	1118,7 \pm 50,0	0,59 \pm 0,0	1044,0 \pm 40,2	0,58 \pm 0,02
Próstata	187,2 \pm 63,3	88,7 \pm 18,4	132,7 \pm 19,6	64,0 \pm 13,5
Vesícula seminal	648,3 \pm 31,5	3,47 \pm 0,16	388,4 \pm 69,1*	2,14 \pm 0,25*
Gl. submandibular	140,5 \pm 6,4	73,96 \pm 2,72	143,5 \pm 8,5	79,98 \pm 3,60
Adrenal	13,2 \pm 1,5	6,92 \pm 0,94	16,6 \pm 0,8	9,34 \pm 0,59

† 0 peso corporal é dado em g; os demais pesos absolutos em mg.

* P < 0,05 em relação ao grupo controle.

Tabela 2 - Efeitos do tratamento crônico de ratos com dose farmacológica de extrato de *S. rebaudiana* (*)

	CONTROLE	TRATADOS
Glicemia (mg/100ml)	132,0 \pm 4,9	130,0 \pm 11,2
T ₃ (mg/100ml)	37,3 \pm 17,7	58,0 \pm 24,5
T ₄ (µg/100ml)	2,07 \pm 0,15	3,13 \pm 0,36
T ₃ R (%)	1,03 \pm 0,04	1,37 \pm 0,18
Zn (mg/g tec. seco) - próstata	0,16 \pm 0,02	0,20 \pm 0,02
- testículo	0,19 \pm 0,06	0,14 \pm 0,02
- gl. submandibular	0,11 \pm 0,1	0,18 \pm 0,07
- pâncreas	0,93 \pm 0,70	0,58 \pm 0,21
Conteúdo hídrico (%) - testículo	85,4 \pm 2,1	83,3 \pm 1,4
- próstata		

(*) Não se constatarem diferenças significativas entre os grupos.

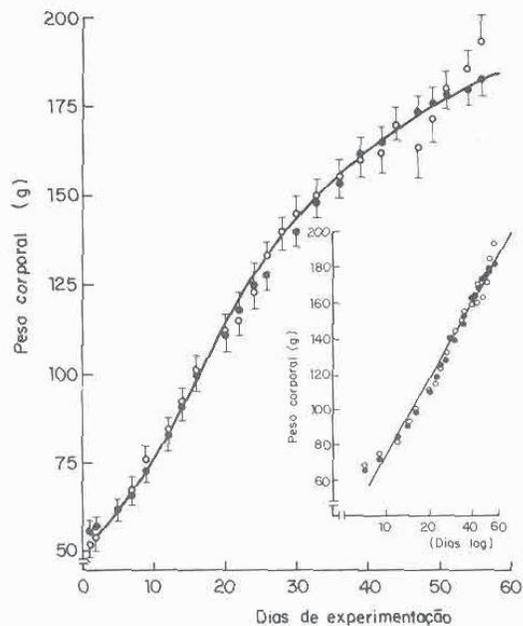


FIG. 1 - Evolução do ganho de peso corporal de ratos controle (o—o) e tratados cronicamente com dose farmacológica de extrato de *S. rebaudiana* (o—o). O inserto mostra a transformação semi-log dos mesmos dados e a análise de regressão correspondente. Não há diferença estatística entre os grupos.

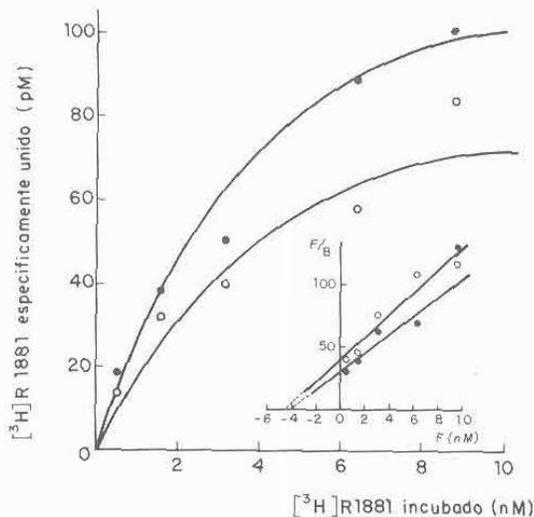


FIG. 2 - Curva de saturação do andrôgeno sintético $[^3\text{H}]\text{R1881}$ especificamente unido à fração citosólica de homogeneizados de próstatas de ratos controle (o—o) e tratados com dose farmacológica de extrato de *S. rebaudiana*. O inserto mostra o gráfico de Eadie-Hofstee ("inversão de Wilkinson") para determinação da quantidade total de sítios receptores (Q) e da constante de afinidade aparente (K_a) do complexo H-R, segundo a equação $F/B = F/Q + Q/K_a$ (Rodbard & Feldman, 1975). Abreviaturas: F (free = hormônio livre; B (bound) = hormônio unido.

Referências bibliográficas

- Baraño, J. L. S.; Tesone, M.; Oliveira-Filho, R. M.; Chiauuzzi, V. A.; Calvo, J. C.; Charreau, E. H. & Calandra, R. S. - 1982. Effects of prolactin on prostate androgen receptors in male rats. **Journal of Andrology**, 3: 281-288.
- Bonne C. & Raynaud, J. P. - 1976. Assay of androgen binding sites by exchange with methyltrienolone (R1881). **Steroids**, 27: 497-507.
- Bowman, W. C. & Rand, M. J. - 1980. **Textbook of Pharmacology**. 2a. Ed. Blackwell, Oxford p. 19.45.
- Kalland, G. A.; Vera, A.; Peterson, M & Swerdloff, R. S. - 1978. Reproductive hormonal axis of the male rat in experimental hypothyroidism. **Endocrinology**, 102: 476-484.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L. & Randall, R. J. - 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, 193: 265-275.
- Minetti, C. A. S. A.; Valle, L. B. S.; Oliveira-Filho, R. M. & Uehara, O. A. - 1983. Regulation of androgenic receptors in mice submandibular gland. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 16: 505
- Minetti, C. A. S. A.; Oliveira-Filho, R. M. & Valle, L. B. S. - 1984. Correlação entre atividade hipertrófica e hiperplásica de andrógenos com a capacidade ligante androgênica na glândula submandibular do camundongo. **Anais da 1ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisas Odontológicas**, p. 26.
- Monsalve, A. & Blaquier, J. A. - 1977. Partial characterization of epididymal 5 α -reductase in the rat. **Steroids**, 30: 41-51.
- Negro-Vilar, A.; Krulich, L. & McCann, S. M. - 1973. Changes in serum prolactin and gonadotrophins during sexual development of the male rat. **Endocrinology**, 93:660-664.
- Oliveira-Filho, R. M.; Valle, L. B. S.; Alonso, C. C.; Petenusci, S. O. & Minetti, C. A. S. A. 1981. Receptor para 5 α -dihidrotestosterona em glândula submandibular do rato. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo**, 19: 78-79.
- Oviedo, C. A.; Fronciani, G.; Moreno, R. & Máas, L. C. - 1971. Acción hipogluceante de la *Stevia rebaudiana* Bertoni (kaá-hê-ê). **Excerpta Medica** (International Congress Series), 209: 208.
- Planas, G. M. & Kuč, J. - 1968. Contraceptive properties of *Stevia rebaudiana*. **Science**. 162: 1007.
- Rodbard, E. & Feldman, W. - 1975. Theory of protein-ligand interaction. **Methods in Enzymology**, 37: 3-22.
- Sakaguchi, M. & Kan, T. - 1982. As pesquisas japonesas com *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni e o esteviosídeo. **Ciência e Cultura**, 34: 235-248.
- Uehara, O. A.; Utino, V. H.; Miyata, I.; Valle, L. B. S. & Oliveira-Filho, R. M. - 1982. Stevioside-androgen interactions. **Anais do VII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, p. 74.
- Uehara, O. A.; Minetti, C. A. S. A.; Souza, V. A.; Valle, L. B. S. & Oliveira-Filho, R. M. - 1983. Stevioside inhibition of R1881 binding on androgen-target organs. **Anais do 2º Simpósio Nacional de Produtos Naturais e Farmacologia (SINPRONAT)**, p. 420.
- Wingard, R. E. Jr.; Brown, J. P.; Enderlin, F. E.; Dale, J. A.; Hale, R. L. & Seitz, C. T. 1980. Intestinal degradation and absorption of the glycosidic sweeteners stevioside and rebaudioside A. **Experientia**, 36: 519-520.