



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

AVALIAÇÃO FARMACOCINÉTICA E FARMACOLOGIA *IN SILICO* DE 3-SELENO FLAVONOIDES IDEALIZADOS

¹Angelica Ribeiro Claus and ^{2*}Daniela Aline Barancelli

¹Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá; ²Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná- Campus Campo Mourão

ARTICLE INFO

Article History:

Received 19th August, 2022

Received in revised form

11th August, 2022

Accepted 29th September, 2022

Published online 30th September, 2022

Key Words:

Câncer de mama,
Daidzeína, Receptor de estrogênio beta,
3-selênio flavonoides.

*Corresponding author:

Daniela Aline Barancelli

ABSTRACT

O câncer de mama é o que mais acomete mulheres em todo o mundo e com resultados clínicos satisfatórios em apenas 30-40% dos casos, há urgência por novos alvos moleculares e terapias. Os estrógenos, ligantes naturais dos receptores de estrogênio alfa e beta (RE α e RE β), ao se ligarem ao RE α podem desencadear este tipo de câncer. Ao contrário do RE α , o RE β demonstrou ser capaz de reduzir a proliferação celular e conduzir a apoptose, principalmente quando ligado a moduladores seletivos, como o fitoestrógeno daidzeína. Já conhecidos como quimioprotetores, os fitoestrógenos têm sido avaliados frente ao RE β , com potencial para atuar no tratamento do câncer de mama. Buscando potencializar os efeitos benéficos e aumentar a seletividade de flavonoides como a daidzeína, foram idealizados onze compostos contendo diferentes substituintes e com um átomo de selênio na posição 3 do anel base. Como descrito na literatura, este calcogênio pode ser capaz de aumentar a efetividade antineoplásica quando presente. Os compostos idealizados foram submetidos a um estudo *in silico* com o objetivo de avaliar suas propriedades farmacocinéticas e de ancoragem molecular. Os resultados demonstram que quatro compostos foram capazes de modular o RE β , além de apresentarem propriedades farmacocinéticas condizentes para candidatos a fármacos.

Copyright © 2022, Angelica Ribeiro Claus et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Angelica Ribeiro Claus and Daniela Aline Barancelli. "Avaliação farmacocinética e farmacologia in silico de 3-selênio flavonoides idealizados", International Journal of Development Research, 12, (09), 59228-59233.

INTRODUCTION

O câncer de mama é o mais diagnosticado em mulheres, e em números gerais, mantém-se atrás apenas do câncer de pulmão. Em 2018, aproximadamente dois milhões de novos casos foram descritos em todo o mundo (Sahayarayan *et al.*, 2020). Como todo câncer, trata-se de uma doença multifatorial, a depender da combinação entre: dieta, idade, estilo de vida e genética. Os estrógenos, que incluem a estrona, o estriol e o 17 β -estradiol, desempenham diversos processos fisiológicos como o crescimento, a diferenciação e a função do sistema reprodutivo feminino (Mal *et al.*, 2020) (Omoto & Iwase, 2015). Contudo, estão envolvidos numa série de doenças, especialmente o câncer de mama (Duffy, 2006) (Bai & Gust, 2009). De fato, cerca de dois terços das neoplasias mamárias estão associadas à ação destes hormônios sexuais esteróides, especialmente do 17 β -estradiol, tornando-o conhecido como um câncer hormônio-dependente (Omoto & Iwase, 2015). Para mediar muitas de suas ações, os estrógenos necessitam ligar-se às proteínas denominadas de receptores de estrogênio alfa e beta (RE α e RE β). Ao serem ativados pelo ligante, estes receptores ligam-se a sequências específicas do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) em seus genes-alvo, diretamente, ou através de outros fatores transcripcionais,

ativando ou reprimindo a transcrição de diversos genes (Mal *et al.*, 2020) (Omoto & Iwase, 2015). No caso do RE α , essa ativação estimula e inicia o ciclo celular, podendo desencadear o câncer de mama (Frasor *et al.* 2003). A descoberta do RE α representou um grande avanço, possibilitando a terapia antiestrogênica, ainda hoje prescrita adjuvante a quimio e a radioterapia (Damodaran & Hortobagyi, 2021) (Bai & Gust, 2009). Porém, apesar dos avanços na elucidação dos mecanismos, nas terapias e na utilização de alvos específicos, ainda há problemas como a resistência, efeitos colaterais e resultados clínicos satisfatórios em apenas de 30-40% dos casos (Thakor *et al.*, 2016). Isto inclui os casos em que há ou não marcadores específicos, portanto, torna-se necessária a busca por novos tratamentos, especialmente com outros alvos moleculares (Mal *et al.*, 2020). Assim como ocorreu com o RE α , desde que o RE β foi clonado, intensa investigação tem sido feita tendo-o como alvo molecular para a utilização farmacológica. Ao contrário do RE α , a presença do RE β está relacionada à redução da proliferação celular. Testes realizados com este receptor *in vitro* e em ratos, e *in vivo* com agonistas altamente seletivos, demonstraram que a expressão do RE β a ligação com tais ligantes foi capaz de levar ao aumento na apoptose (Mal *et al.*, 2020) (Omoto & Iwase, 2015) e à inibição da proliferação celular (Helguero *et al.*, 2005) (Covaleda *et al.*, 2008). Os flavonoides, conhecidos como fitoestrógenos, são compostos naturais

encontrados em plantas, capazes de atuar diretamente na apoptose celular, através da interação com enzimas, fatores transcricionais e receptores. São capazes de desempenhar efeitos tanto estrogênicos quanto antiestrogênicos, ativando ou bloqueando a ação dos estrógenos (Turner, Agatonovic-Kustrin & Glass, 2007) (Sudhakaran, Sardesai & Doseff, 2019). Flavonoides, como a genisteína e daidzeína, têm sido estudados como moduladores do RE β , assim como os seus derivados sintéticos, não apenas contra o câncer de mama, mas contra neoplasias em outros tecidos nos quais os RE são expressos (Ranjithkumar *et al.*, 2021) (Thakor *et al.*, 2016) (Mal *et al.*, 2020). Especialmente adaidzeína, que possui alta seletividade pelo RE β , é uma inspiração para o desenvolvimento de compostos ainda mais seletivos e promissores. Tendo isto em vista, foram idealizados 11 compostos (1-11) (Figura 1) inspirados na estrutura deste fitoestrógeno, com a finalidade de potencializar seus efeitos de modulação ao RE β . Estes compostos contendo diferentes substituintes, bem como, a presença do átomo de selênio na posição 3 do anel base do flavonoide, foram avaliados frente a ferramentas computacionais que englobaram o estudo de suas propriedades farmacocinéticas e de ancoragem molecular. Conforme descrito na literatura, compostos orgânicos contendo selênio, atenuaram os efeitos tóxicos da radio e quimioterapia, aumentando a sua efetividade (Chen *et al.*, 2020) (Handa *et al.*, 2020) (Sinha & Baioumy, 2004) (Soriano-Garcia, 2004), além de estarem envolvidos em processos como a angiogênese, indução a apoptose, entre outros (Gandin *et al.*, 2018) (Sanmartin *et al.*, 2012). Metodologias para a síntese de flavonoides, especificamente de cromonas contendo um grupo Se-Ph na posição 3 do anel já são descritas na literatura (Godoi *et al.*, 2011) (Ai *et al.*, 2020). Porém, até o momento nenhum composto similar aos que serão aqui discutidos, teve seu potencial farmacológico explorado como modulador do RE β . Desta forma, utilizando-se da farmacologia computacional, uma ferramenta ascendente à disposição dos pesquisadores, que otimiza tempo e custos de uma P&D de fármacos convencional, estes compostos foram avaliados através de seis ferramentas. Estas, atuando principalmente no descarte de candidatos inadequados em etapas iniciais, baseiam-se em dados biológicos acumulados, e através de modelos e simulações computacionais, permitiram a identificação e seleção de moléculas com alto potencial farmacológico. Foram avaliadas tanto as propriedades farmacocinéticas de absorção (A), distribuição (D), metabolismo (M), excreção (E) e toxicidade (T) (ADMET), quanto a predição de alvos moleculares, para o qual foi apontado o RE β .

METODOLOGIA

A ação terapêutica esperada de um fármaco, baseia-se tanto em sua potência e seletividade, denominadas por farmacodinâmica, quanto em suas propriedades farmacocinéticas ADMET, implicadas por sua administração oral. Para a realização do estudo computacional, foram utilizadas ferramentas que contemplassem a avaliação das propriedades ADMET, a predição de um potencial alvo molecular, e a ancoragem dos compostos frente a este alvo. Os softwares utilizados que estão disponíveis online são: Molinspiration; admetSAR e Swiss Target Prediction, devendo os demais programas serem instalados. Todas as ferramentas utilizadas são livres. Os 11 compostos avaliados (1-11) (Figura 1) são inspirados na estrutura da daidzeína. Nestes, há a presença de um grupo Se-Ph na posição 3 do anel base cromona, e as combinações entre padrão de posição, tipos de substituintes e sua influência na bioatividade, foram idealizados baseadas na literatura, a fim de que fossem alcançadas as melhores combinações entre propriedades ADMET e de ancoragem molecular. A influência de grupos alquila (butila) e arila (fenila) na posição 2 da cromona foi analisada, bem como, a presença do grupo hidroxila (OH) na posição 7 do anel da cromona. Também foi avaliada a presença de diferentes substituintes no anel aromático ligados ao átomo de selênio (Se-Ph), como o cloro, a hidroxila e um grupo estericamente impedido (mesitila).

Chem Sketch: Software através do qual foram criadas as estruturas moleculares e gerados os códigos *smiles*.

Molinspiration (<https://www.molinspiration.com>): Permite a análise da biodisponibilidade oral baseada na regra dos cinco de Lipinski, cinco parâmetros que permitem estimar a solubilidade e permeabilidade de compostos em estudo. Segundo a regra, para que haja uma boa absorção ou permeação, são necessários: coeficiente de partição octanol-água LogP menor ou igual a 5; massa molar (MM) menor ou igual a 500 g/mol; área de superfície topológica polar (TPSA) menor ou igual a 140 Å²; número de grupos receptores de ligação de hidrogênio (nALH) menor ou igual a 10; e número de grupos doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5 (Lipinski *et al.*, 2001). A mesma ferramenta ainda permite o cálculo dos valores sobre a potencial ligação dos compostos aos GPCR, do inglês *G protein-coupled receptor* (receptores acoplados a proteína G), moduladores do canal iônico, inibidores da proteína quinase, ligantes de receptor nuclear, inibidores de protease e de outras enzimas. admet SAR2.0 (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2/>): Ferramenta utilizada para prever sobre as propriedades ADMET dos compostos em estudo (Yanget *et al.*, 2019).

Swiss Target Prediction: Utilizado para prever os possíveis alvos farmacológicos dos compostos avaliados, baseando-se em similaridades 2D e 3D de ligantes já conhecidos, em uma base de mais de 12 mil alvos e 5 organismos diferentes, o qual foi filtrado para a espécie *homo sapiens* (Daina, Michielin & Zoete, 2019).

iGEMDOCK: Após ter sido selecionada a estrutura cristalina do RE β complexada com o ligante genisteína (PDB: 1X7J), como alvo molecular apontado pela ferramenta Swiss Target Prediction, foi realizado o estudo de ancoragem molecular. Nele, foram elucidadas as interações dos compostos em estudo com os resíduos de aminoácidos da proteína, permitindo a discussão teórica se determinado composto possui potencial para desencadear ou não uma resposta biológica (Hsu *et al.*, 2011).

UCSF Chimera 1.16: A partir dos resultados de interação quantitativa dos resíduos de aminoácidos, foi possível analisar visualmente as posições de interação dos compostos com o RE β (Pettersen *et al.*, 2004).

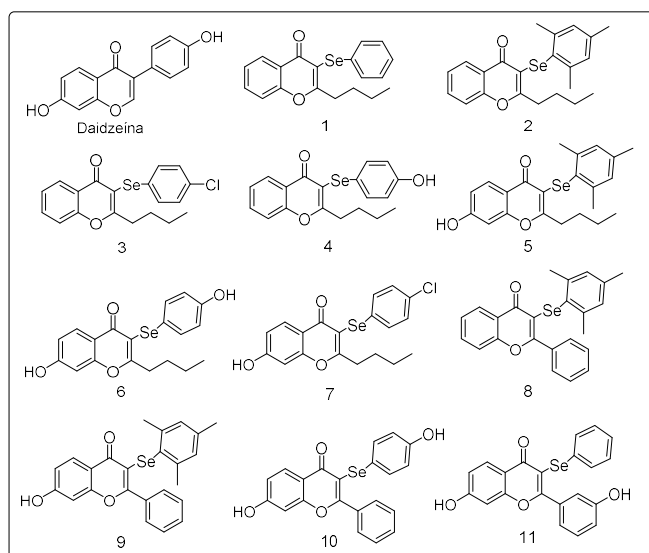


Figura 1. Estrutura molecular de 3-selenoflavonoides idealizados (1-11)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação das propriedades moleculares e da bioatividade: Os cálculos referentes as propriedades moleculares dos compostos idealizados (1-11) foram realizados através da ferramenta Molinspiration e são mostrados na Tabela 1. Os valores obtidos demonstram que em todos os compostos houve a violação de apenas uma das cinco regras estabelecidas por Lipinski *et al.* (2001), o coeficiente de partição octanol-água LogP>5, que representa a

A avaliação da toxicidade oral aguda dos compostos 1-9 compreende a categoria III, com DL₅₀ entre 500-5000 mg/kg apresentando baixa toxicidade, enquanto os compostos 10 e 11 foram categorizados em II, com DL₅₀ entre 50-500mg/kg, apresentando toxicidade moderada (Zhu *et al.*, 2009).

Tabela 4. Energias de interação enzima-ligante, em kcal.mol⁻¹ calculadas pelo software iGEMDOCK

Composto	Energia	van der Waals	Ligação de Hidrogênio
1	-109,1	-104,77	-4,33
2	-97,04	-92,80	-4,24
3	-94,84	-87,95	-6,89
4	-107,68	-100,03	-7,66
5	-102,76	-96,76	-6,00
6	-108,82	-99,32	-9,5
7	-110,31	-101,81	-8,5
8	-104,73	-104,73	0
9	-112,76	-99,75	-13,01
10	-116,28	-106,35	-9,94
11	-117,65	-114,15	-3,5

Estudo de ancoragem molecular dos compostos de 1-11 frente ao REβ: Os RE são enzimas que pertencem a super família dos receptores nucleares. Os dados dos softwares Molinspiration (Tabela 2) e Swiss Target Prediction ampararam a potencial atuação dos compostos de 1-11 como moduladores do REβ. Para verificar e analisar se os dados das interações com este receptor seriam de fato favoráveis, foi utilizado o software iGEMDOCK. Este software realiza o estudo de ancoragem molecular e para a avaliação da interação dos compostos com o receptor, foi escolhida a estrutura cristalina do REβ complexado com o fitoestrógeno genisteína (PDB: 1X7J). Os valores totais da interação de cada composto com o receptor são demonstrados na Tabela 4, onde pode-se verificar que todos foram promissores e como não houve nenhum composto que interagisse eletrostaticamente com o receptor esta categoria foi omitida. As interações de cada um dos 11 compostos com os resíduos de aminoácidos do REβ estão ordenadas hierarquicamente na Figura 2, ou seja, dos que apresentaram maior para os de menor interação. A interação com o ligante natural 17β-estradiol no REβ ocorre num bolsão hidrofóbico, com os resíduos de aminoácidos: Glu305, Arg346 e His475, e que são os mesmos com o fitoestrógeno genisteína (Brzozowski *et al.*, 1997). Apenas os compostos 2, 6 e 8 não interagiram com nenhum dos resíduos de aminoácidos o qual é esperado de um composto capaz de modular o REβ. Através da ferramenta UCSF Chimera foi possível visualizar as interações obtidas pelo software iGEMDOCK. É possível observar na Figura 3 que em destaque está a entrada do sítio ativo do receptor e alguns dos ligantes estão ancorados na entrada e outros se posicionaram distantes do sítio ativo.

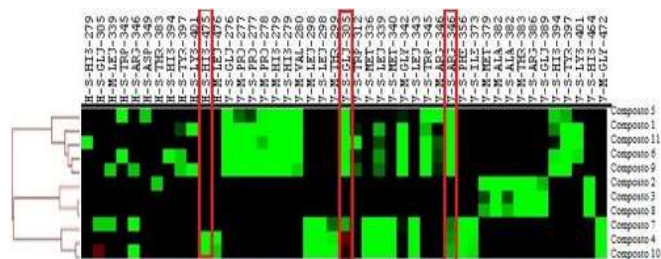


Figura 2. Dendrograma das interações ordenadas de forma crescente dos compostos 1-11 com os resíduos de aminoácidos do REβ

A Figura 4 proporciona uma visão geral do posicionamento do ligante cristalográfico genisteína (em preto), e as posições de cada um dos compostos em estudo, enquanto a figura 5 demonstra um corte da superfície hidrofóbica da enzima. Os compostos 4, 5, 8, 9 e 11, posicionaram-se na entrada do sítio ativo, enquanto os compostos 3, 6 e 10 ancoraram dentro do sítio ativo e 1, 2 e 7 ancoraram distante da fenda de entrada e do sítio ativo. Desta forma, apenas os compostos 1,

2 e 7 não são passíveis de serem considerados moduladores do REβ. Os compostos 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 11, por interagirem dentro do bolsão de ligação ao ligante ou na entrada da cavidade, podem tanto atuar como agonistas, levando a resposta biológica, quanto antagonistas, desativando este receptor.

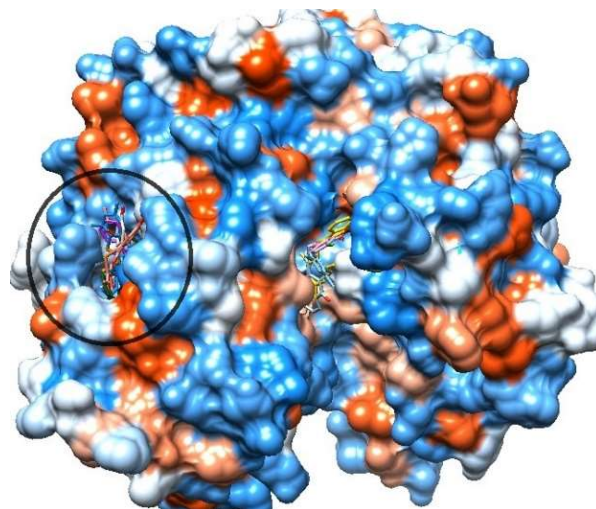


Figura 3. Em destaque a entrada do sítio ativo do REβ com os compostos ancorados, e no centro do dímero os compostos que se posicionaram fora da entrada e do sítio ativo

A forma de ação destes compostos irá depender tanto do posicionamento da hélice 12 do REβ quando os mesmos estiverem ligados ao receptor, quanto do tecido em que o receptor está expresso e das proteínas co-regulatórias do ambiente celular. Ou seja, a resposta biológica irá depender principalmente do reposicionamento adequado da hélice 12, que depende do ligante, do tipo de tecido em que o REβ está expresso e dos sistemas efetores envolvidos.

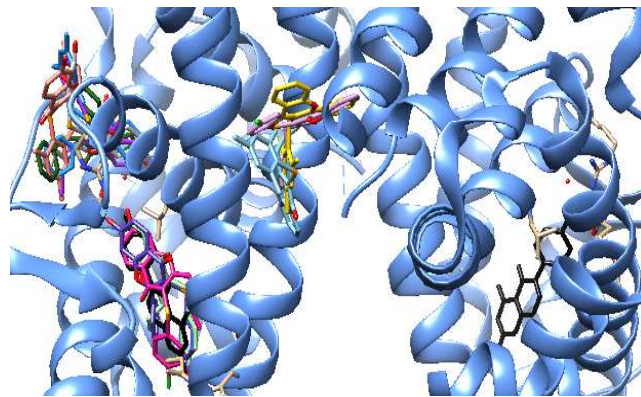


Figura 4. Dímico do REβ com o ligante cristalográfico genisteína e com os ligantes (1-11)

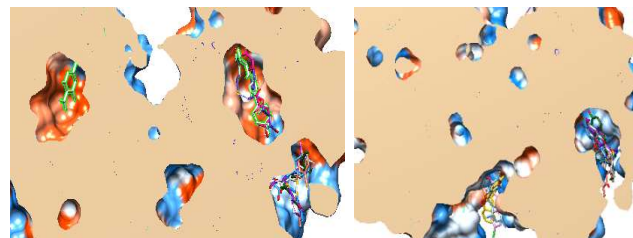


Figura 5. Posicionamento dos compostos no REβ (1-11) no sítio ativo, na entrada e distante da cavidade do sítio ativo

CONCLUSÃO

Os compostos 3, 4, 5 e 8 apresentaram tanto propriedades ADMET quanto de interação com o REβ favoráveis, condizentes com a de candidatos a fármacos. Logo, a seleção destes quatro compostos entre

os avaliados, aponta sua potencialidade de seres avaliados *in vitro* e *in vivo*, para determinar se sua ação ocorre como agonistas ou antagonistas, quais são as concentrações necessárias para o efeito biológico esperado, entre outros fatores determinantes para seu avanço como um potencial fármaco. Já os compostos 1, 2 e 7, apesar de bons resultados na avaliação da farmacocinética, não interagiram com os resíduos de aminoácidos necessários para modular o receptor. Apesar disto, dada a conhecida ação antioxidante de diversos compostos contendo selênio, e como células cancerígenas exibem um status redox anormal, continua viável sua avaliação como agentes terapêuticos, tendo em vista outros mecanismos de ação. De fato, há inúmeras vias pelas quais os compostos aqui discutidos poderiam atuar, de forma a prevenir e tratar diferentes tipos de câncer através de sua ação no microambiente tumoral, tanto pela interação direta com o RE β , quanto por outros mecanismos. Com as propriedades ADMET favoráveis, mesmo para os compostos que não são capazes de modular o RE β , existe grande potencial na continuação de sua avaliação para aplicação farmacológica.

REFERÊNCIAS

- Ai, Z., Xiao, J., Li, Y., Guo, B., Du, Y., Zhao, K., (2020). Metal-free synthesis of 3-chalcogenyl chromones from alkynyl aryl ketones and diorganyl diselenides/disulfides mediated by PIFA. *Organic Chemistry Frontiers*, 7, 3935-3940. <http://dx.doi.org/10.1039/D0QO01175D>.
- Bai, Z., Gust, R. (2009) Breast Cancer, Estrogen Receptor and Ligands. *Journal of Computational Chemistry*, 342, 133-149. <https://doi.org/10.1002/ardp.200800174>.
- Brzozowski, A. M., Pike A. C., Dauter, Z., Hubbard, R. E., Bonn, T., Engstrom, O., Ohman, L., Greene, G. L., Gustafsson J. A., Carlquist M. 1997. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 389, 753-758. <https://doi.org/10.1038/39645>.
- Chen, Z., Lai, H., Hou, L., Chen, T. 2020. Rational design and action mechanisms of chemically innovative organoselenium in cancer therapy. *Chemical Communications*, 56, 179-196. <http://dx.doi.org/10.1039/C9CC07683B>.
- Covaleda, A. M. S., Van den Berg, H., Vervoort, J., Van der Saag, P., Ström, A., Gustafsson, J. Å., Rietjens, I., & Murk, A. J. (2008) Influence of cellular ER α /ER β ratio on the ER α -agonist induced proliferation of human T47D breast cancer cells. *Toxicological Sciences*, 105, 303-311. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn141>.
- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. (2019) SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47, 357-364. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>.
- Damodaran, S., Hortobagyi G. N. (2021) Estrogen Receptor: A Paradigm for Targeted Therapy. *Cancer Research*, 81, 5396-5398. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-3200>.
- Duffy, M. J. (2006) Estrogen Receptors: Role in Breast Cancer. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 43, 325-347. <https://doi.org/10.1080/10408360600739218>.
- Frasor, J., Danes, J. M., Komm B., Chang K. C. N., C. Lyttle R., Katzenellenbogen B. S. (2003) Profiling of Estrogen Up- and Down-Regulated Gene Expression in Human Breast Cancer Cells: Insights into Gene Networks and Pathways Underlying Estrogenic Control of Proliferation and Cell Phenotype. *Endocrinology*, 144, 4562-4574. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0567>.
- Gandin, V., Khalkar, P., Braude, J., Fernandes, A. P. (2018) Organic selenium compounds as potential chemotherapeutic agents for improved cancer treatment. *Free Radical Biology and Medicine*, 127, 80-97. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.05.001>.
- Godoi, B., Sperança, A., Bruning, C. A., Back, D.F., Menezes, P. H., Nogueira, C. W. and Zeni, G. (2011), Iron(III) Chloride/Diorganyl Diselenides-Promoted Regioselective Cyclization of Alkynyl Aryl Ketones: Synthesis of 3-Organoselenyl Chromenones under Ambient Atmosphere. *Advanced Synthesis Catalysis*, 353: 2042-2050. <https://doi.org/10.1002/adsc.201100189>.
- Handa, E. Puspitasari I. M., Abdulah R., Yamazaki C., Kameo S., Nakano T., Koyama H. (2020) Recent advances in clinical studies of selenium supplementation in radiotherapy. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 62, 126653. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126653>.
- Helguero, L., Faulds, M., Gustafsson, JA., Haldosén, LA. (2005) Estrogen receptors alfa (ER α) and beta (ER β) differentially regulate proliferation and apoptosis of the normal murine mammary epithelial cell line HC11. *Oncogene*, 24, 6605-6616. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208807>.
- Hsu, KC., Chen, YF., Lin, SR., Yang, JM. (2011) iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis. *BMC Bioinformatics*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S1-S33>.
- Kale, A., Gawande, S., Kotwal, S., (2008) Cancer phytotherapeutics: role for flavonoids at the cellular level. *Phytotherapy Research*, 22, 567-577. <https://doi.org/10.1002/ptr.2283>.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, P. J. (2001) Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46, 3-26. doi:10.1016/S0169-409X(00)00129-0.
- Mal, R., Magner, A., David, J., Datta, J., Vallabhaneni, M., Kassem, M., Manouchehri, J., Stover, D., Vandeusen, J., Sardesai, S., Williams, N., Wesolowski, R., Lustberg, M., Ganju, R., Ramaswamy, B., Cherian, M., A. (2020) Estrogen Receptor Beta (ER β): A Ligand Activated Tumor Suppressor. *Frontiers in Oncology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.587386>.
- Omoto, Y., Iwase, H. (2015) Clinical significance of estrogen receptor β in breast and prostate cancer from biological aspects. *Cancer Science*, 4 1347-9032. <https://doi.org/10.1111/cas.12613>.
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25, 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>.
- Ranjithkumar, R., Saravanan, K., Balaji, B., Hima S., Sreeja S., Timani R. S., Ram Pravin Kumar M., Kabilan S., Ramanathan (2021). Novel daidzein molecules exhibited anti-prostate cancer activity through nuclear receptor ER β modulation, *in vitro* and *in vivo* studies, *Journal of Chemotherapy*, 8, 582-594. <https://doi.org/10.1080/1120009X.2021.1924935>.
- Sahayarayan, J. J., Rajan, K. S., Vidhyavathi, R., Nachiappan, M., Prabhu, D., Alfarraj, S., Arokiyaraj, S., Daniel, A. N. (2021) *In-silico* protein-ligand docking studies against the estrogen protein of breast cancer using pharmacophore based virtual screening approaches. *Saudi Journal of Biological Science*, 28, 400-407. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.023>.
- Sanmartín, C., Plano, D., Sharma, A. K., Palop, J. A. (2012) Selenium Compounds, Apoptosis and Other Types of Cell Death: An Overview for Cancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 9649-9672. <https://doi.org/10.3390/ijms13089649>.
- Sinha, R., El-Bayoumy, K. (2004) Apoptosis is a critical cellular event in cancer chemoprevention and chemotherapy by selenium compounds. *Current Cancer Drug Targets*. 4, 13-28. <https://dx.doi.org/10.2174/1568009043481614>.
- Soriano-Garcia, M. (2004) Organoselenium compounds as potential therapeutic and chemopreventive agents: A review. *Current Medicinal Chemistry*, 11, 165-1669. <https://dx.doi.org/10.2174/0929867043365053>.
- Sudhakaran, M., Sardesai, S., Doseff, AI. (2019) Flavonoids: New Frontier for Immuno-Regulation and Breast Cancer Control. *Antioxidants*. 8, 103. <https://doi.org/10.3390/antiox8040103>.
- Thakor V., Poddar M., Dey S., Manjula S. N., Madhunapantula S. V., Pawara R, Patel H. M., Noolvi, M. N. (2016). Exploring the anti-breast cancer potential of flavonoid analogs. *RSC Advances*. 6, 79166-79179. <http://dx.doi.org/10.1039/C6RA14428D>.
- Turner, J. V., Agatonovic-Kustrin, S., Glass, B.D. (2007) Molecular aspects of phytoestrogen selective binding at estrogen receptors. *J. Pharm. Sci.* 96 1879-1885. <https://doi.org/10.1002/jps.20987>.

Yang, H., Lou C., Sun L., Li J., Cai Y., Wang, Z., Li W., Liu G., Tang Y. 2019. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*. 351067-1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>.

Zhu, H., Martin, T. M., Ye, L., Sedykh, A., Young, D. M., Tropsha, A. 2009. Quantitative structure-activity relationship modeling of rat acute toxicity by oral exposure. *Chemical Research in Toxicology*. 22, 1913-1921. <https://doi.org/10.1021/tx900189p>.
