

モルヒナン型 オレキシン受容体拮抗薬の発見

Discovery of OX₁R specific antagonists bearing morphinan skeleton

齊藤 毅
Tsuyoshi Saitoh

筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 助教
International Institute for Integrative Sleep Medicine (WPI-IIS), University of Tsukuba (Assistant Professor)

KEYWORD ▶ モルヒナン オレキシン受容体 拮抗薬

はじめに

01

オレキシンは、1998年に柳沢、櫻井らにより内因性リガンドが不明なGタンパク質共役型受容体 (orphan G-protein coupled receptor, orphan GPCR) の内因性リガンドとして同定された神経ペプチドである¹⁾。オレキシンには、オレキシンAとBの2種類のイソペプチドが存在し、2つのGPCR (OX₁R、OX₂R) に結合する。OX_{1/2}Rは共にGタンパク質のサブクラスのうち主にGqタンパク質に共役し、オレキシンA (33アミノ酸) はOX₁RとOX₂Rの双方を活性化し (EC₅₀ = 30 nM for OX₁R, 34

nM for OX₂R, OX₁R/OX₂R = 0.88)、オレキシンBはOX₂Rを選択的に活性化する (EC₅₀ = 2,500 nM for OX₁R, 60 nM for OX₂R, OX₁R/OX₂R = 41.7)。オレキシンを産生する神経細胞 (オレキシン神経) は、脳内の視床下部外側野に局在しており、オレキシンの脳室内投与は摂食量を有意に増加させたことから、発見当初は摂食行動を制御する神経ペプチドであると考えられていた。しかしその後、オレキシン産生能を遺伝学的に欠損させたマウスが過眠症の一種であるナルコレプシーの症状を呈することが明らかとなり、オレキシン系は睡眠覚醒の制御にも重要な役割を果たしていることが明らかになった²⁾。また、OX₁R欠損マウスではナルコレプシー症状は見られないのに対し、OX₂R欠損

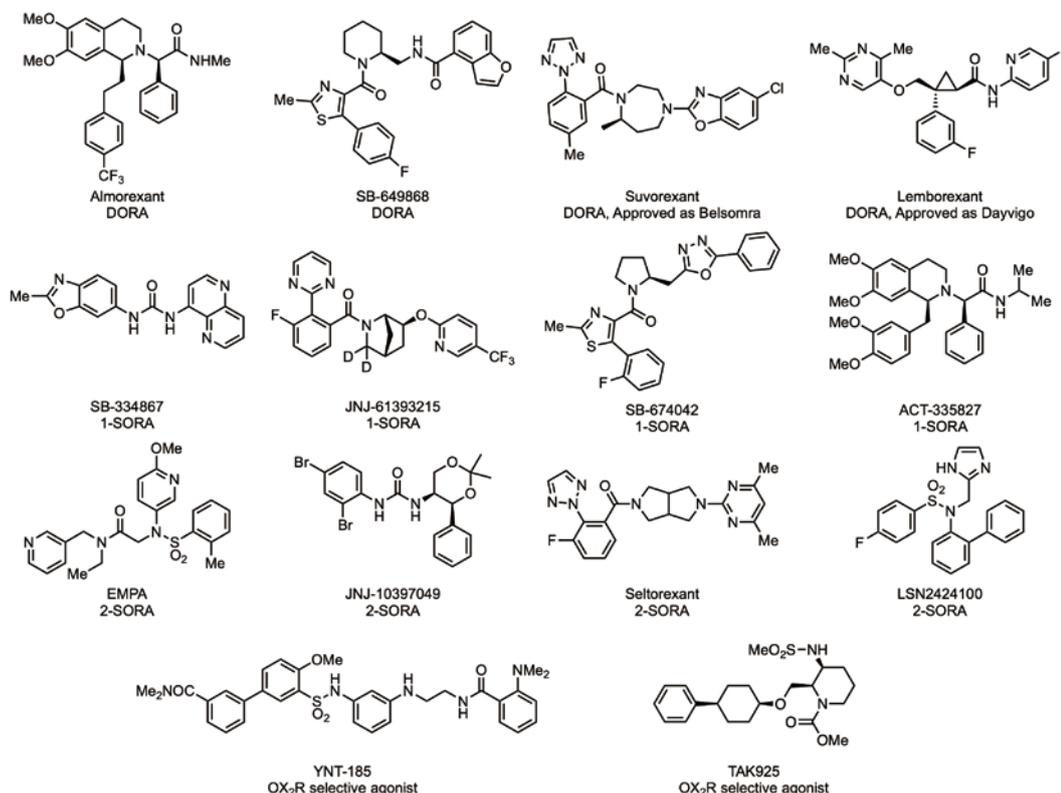


図1. オレキシン受容体リガンドの一例

マウスではその症状を呈することから、覚醒の維持にはOX₂Rが介するシグナルが重要であることが示唆されている。

オレキシンの発見以降、その生理的役割の重要性からオレキシン受容体を標的とする創薬研究が一気に加速した。特にオレキシン系が覚醒の維持を担っていることから、オレキシン受容体を拮抗阻害する拮抗薬が睡眠導入薬として注目を集め、これまでに様々な構造を有する受容体非選択的拮抗薬 (DORAs)、OX₁R選択的拮抗薬 (1-SORAs)、OX₂R選択的拮抗薬 (2-SORAs) が報告されてきた (図1)³⁾。2014年には米国メルク社が開発した Suvorexant (商品名:ベルソムラ[®]) が、2020年にはエーザイ社が開発した Lemborexant (商品名:デエビゴ[®]) が不眠症治療薬として日本にて承認され、販売に至っている (図1)。また、オレキシンの欠損がヒトにおけるナルコレプシー1型 (情動脱力発作 (カタプレキシー) を伴うナルコレプシー) の発症原因であることが明らかになり⁴⁾、またカタプレキシーがOX₂Rの活性化により改善される⁵⁾ことからOX₂Rを活性化する作動薬がナルコレプシー治療薬として期待されている。OX₂R作動薬の研究開発は、我々のグループが世界に先駆けて創製したOX₂R選択的作動薬 YNT-185⁶⁾を皮切りにTAK-925⁷⁾など低分子作動薬が続々と報告され、にわかに活気づいてきた。

最近、オレキシン系は睡眠覚醒の調節だけでなく、痛みや情動機能、報酬系においても重要な役割を果たしていることが報告されている。オレキシン神経は、不安、恐怖、嫌悪、報酬などに関連する神経回路に投射し、OX₁Rの活性化を介して不安や恐怖行動の惹起やアルコール、コカイン、モルヒネなどの薬物に対する依存の形成を調節しており、OX₁R拮抗薬は不安障害やPTSD、薬物依存症の治療薬としても期待が持たれている。しかしながら、現在使用されているオレキシン受容体拮抗薬はいずれもOX₁R/OX₂Rの双方に結合するため、OX₂Rを拮抗阻害することによる覚醒の抑制、つまり薬物投与による鎮静作用が問題となっている。そのため、OX₂Rに対して結合親和性を示さずOX₁Rに選択的に結合する拮抗薬は、上述の疾患の新たな治療薬開発において重要な研究課題である。

本稿では、我々が見出したモルヒネ様骨格 (モルヒナン骨格) を有するOX₁R特異的オレキシン受容体拮抗薬の開発研究について紹介する。

ナルフラフィンのオレキシン受容体拮抗活性の発見

02

2000年代初頭から2015年にかけてオレキシン神経に含まれる神経伝達因子に関する研究が行われ、オレキシン神経において興奮性の刺激を惹起するオレキシンと抑制性の刺激を惹起するκオピオイド受容体 (KOR) の内因性リガンドであるダイノルフィンが共発見し、同じシナプス小胞に共包されていることが報告された。興味深いことに、これら2つの神経ペプチドは、報酬系や不安に関連する脳領域に含まれるOX₁RとKORの両方を発現する神経細胞において受容され、互いの機能を調節し合っていることも明らかとなった⁸⁾。また、OX₁RとKORが細胞膜上でヘテロ二量体を形成することでシグナル伝達を変化させることも報告され、これら2つの受容体の間には密接な関係が存在していることが示唆されている。一方で、我々のグループが長年取り組んできたKORの研究分野に注目すると、U-50488H⁹⁾に代表されるKOR作動薬は薬物に対する強い嫌悪感と不快感を誘発する¹⁰⁾ために臨床試験早期に撤退され、KOR作動薬の中でナルフラフィン⁽¹⁾¹¹⁾のみが薬物嫌悪作用を示さずに腎臓透析患者用鎮痒薬として上市に至っていた。我々は、KOR作動薬間の作用の違いがOX₁R-KOR系に由来するのではないかと仮説を立て、U-50488Hやナルフラフィンを含む独自に構築したオピオイドライブラリーを用いてオレキシン受容体拮抗活性を評価した。その結果、ナルフラフィン⁽¹⁾のみがOX₁Rに対して中程度の拮抗活性 (K_i = 250 nM for OX₁R) を示し、KOR作動薬であるU-50488H⁽²⁾やKOR拮抗薬nor-BNI、その他のモルヒナン誘導体はオレキシン受容体にほとんど結合しないことを見出した (図2)¹²⁾。

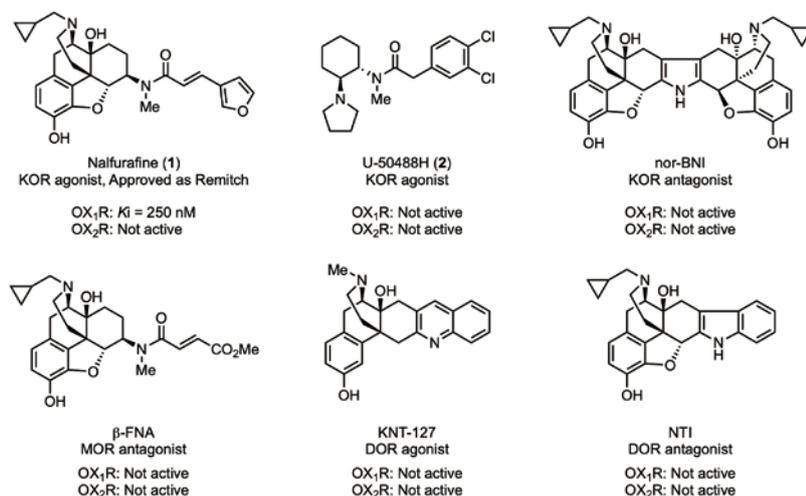


図2 オピオイドリガンドの構造とOX₁R拮抗作用

OX₁Rに対する結合親和性においてナルフラフィン (1) とU-50488H (2) で違いが見られたことから、マウスにおける行動の変化にこれらの違いが反映されるかについて調べることとした¹³⁾。マウスは不快感が惹起されることで逃避行動から滑車運動を有意に増加することが知られる。U-50488H (2) は野生型マウスおよびOX₁R欠損マウスともに非活動期における滑車走行量を有意に増加させた (図3a)。一方、ナルフラフィン (1) は野生型マウスでは滑車走行量に有意な変化は見られなかったのに対し、OX₁R欠損マウスでは滑車走行量の有意な増加が観察された。続いて、薬物に対する嫌悪作用を評価するために条件付け場所嫌悪 (CPA) 試験についても検討したところ、U-50488H (2) は野生型マウスおよびOX_{1/2}R二重欠損マウスにおいて用量依存性的かつ有意に嫌悪作用を誘導した一方で、ナルフラフィン (1) はOX_{1/2}R二重欠損マウスにおいてのみ有意な場所嫌悪作用を誘導した (図3b, c)。また、ナルフラフィン (1) による条件付け場所嫌悪はOX₁R欠損マウスで選択的に誘導され、野生型およびOX₂R欠損マウスでは誘導されなかった (図3d)。これらの結果は、ナルフラフィン (1) の有するOX₁R親和性がKOR作動薬に由来する嫌悪作用を抑制していることを示唆しており、これが「ナルフラフィン (1) がU-50488H (2) など他のKOR作動薬とは異なり嫌悪作用を示さない」という長年の謎を解く手がかりとなると考えている。

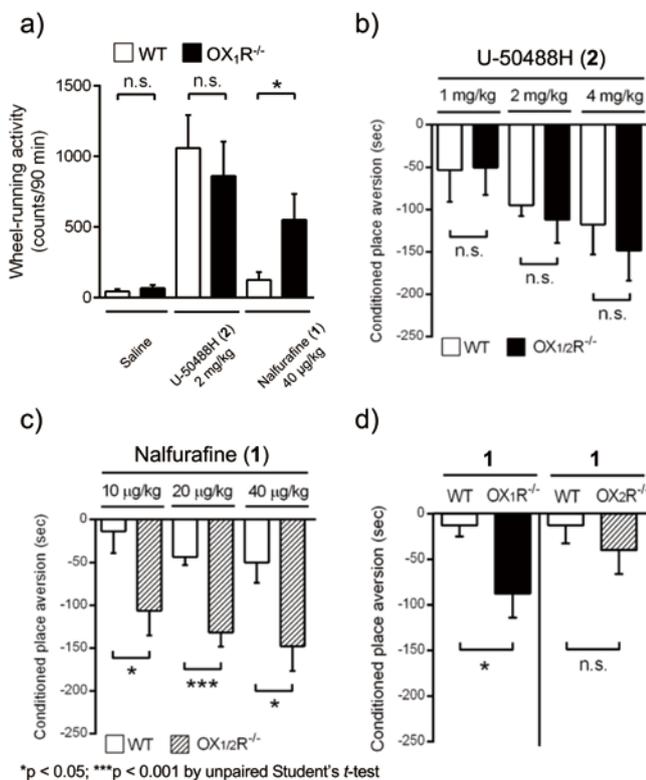


図3 ナルフラフィン (1) とU-50488H (2) を用いた行動薬理学評価の結果

モルヒナン骨格 (A) はコデインやモルヒネに代表されるオピオイド鎮痛薬に共通する骨格であり、上市薬の多くでモルヒナン骨格ならびにその類縁構造を目にすることが出来る (図4)。μオピオイド受容体 (MOR) に由来する依存症や便秘などの深刻な副作用を除けば、モルヒナン骨格は中枢移行性の高いドラッグライクな骨格である。しかし、この骨格の創薬現場での利用は、いくつかの例外¹⁴⁾を除いてはオピオイド受容体に限定されていた。上述のように、我々は臨床使用されているKOR作動薬 ナルフラフィン (1) がOX₁R拮抗活性を示すことを見出したことから、新たなモルヒナン骨格の活用としてオレキシン受容体特異的なモルヒナン型拮抗薬の開発に着手した¹²⁾。

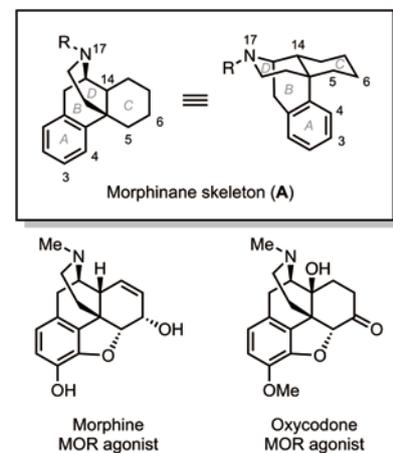


図4 モルヒナン骨格 (A) とその類縁医薬品の構造

オレキシン受容体特異的なモルヒナン型拮抗薬の開発には、まずはナルフラフィンの有する強力なオピオイド受容体作動薬活性を分離する必要があった。そこで、長年のオピオイド研究の構造活性相関情報から、オピオイド受容体親和性が減弱する構造変換を取り入れた誘導体を設計、合成し、オレキシン受容体拮抗活性を評価することとした。モルヒナン骨格上3位フェノール性水酸基はオピオイド受容体への結合に重要な役割を果たすことから、まずは3位メチルエーテル体3のオレキシン受容体拮抗活性を評価したところ、1よりも11倍強いOX₁R拮抗作用を有することがわかった (図5)。一方で、フェノール性水酸基を還元除去した3位水素体4ではオレキシン受容体拮抗活性は大きく減弱した。

続いて、3位メチルエーテル体3を基盤として、17位窒素置換基について検討した。モルヒナン骨格の17位塩基性窒素は生理的条件下でプロトン化され、オピオイド受容体の酸性アミノ酸残基とイオン性相互作用を形成することが知られる。そこで、アルキルアミノ基をアミド基やスルホンアミド基に変換したところ、アセチル基を導入した誘導体5では活性の減弱が見られたものの、芳香環や*t*-Bu基のような嵩高い置換基を有するアミド、スルホンアミド誘導体6-12はいずれも強いOX₁R拮抗活性を示した (表1)。この結果は、カチオン性アミノ基を認識するオピオイド受

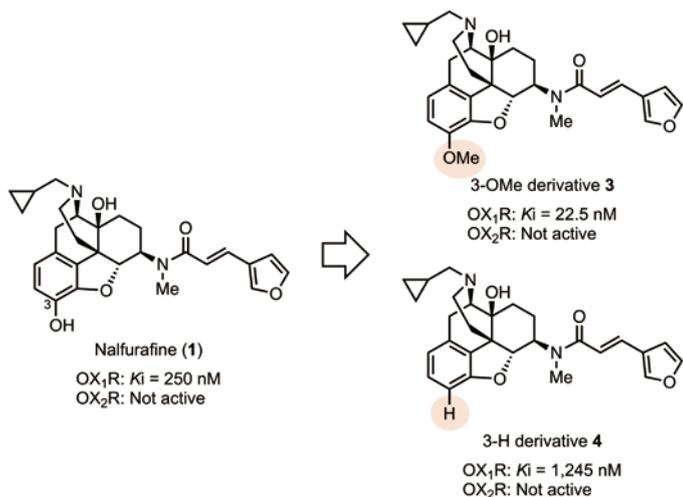


図5 ナルフラフィン3位誘導体のオレキシン受容体拮抗活性

容体とは異なり、オレキシン受容体は嵩高いアミド、スルホンアミド基を認識していることを示唆していた。ここで、良好なOX₁R拮抗活性を示したベンゼンスルホンアミド誘導体 YNT-707 (**12**) について、芳香環上の置換基の検討を行ったところ、オルト位に置換基を有する誘導体において強力なOX₁R拮抗活性が見られ、特にオルト位にメチル基 (**13**)、クロロ基 (**14**)、ニトリル基 (**15**)、ニトロ基 (**16**)、ジメチルアミノ基 (**17**) を有する誘導体でK_i < 2.0 nMの結合親和性を示すことが明らかとなった。ここで、我々のオピオイド受容体とオレキシン受容体の活性分離に関する分子設計の正当性を確認するために、誘導体**6**, **7**, **9**, **12**のオピオイド受容体結合親和性を評価したところ、Boc基を有する誘導体**7**で弱いKOR親和性が見られたものの、その他の誘導体では全くオピオイド受容体には結合しない結果であった。このことから、3位フェノール性水酸基と17位窒素を適切に官能基化すること

表1 17位窒素上置換基を変換した誘導体のオレキシン受容体拮抗活性

R	Compd	Activity	R	Compd	Activity
	5	OX ₁ R: K _i = 541 nM OX ₂ R: Not active		10	OX ₁ R: K _i = 12.1 nM OX ₂ R: Not active
	6	OX ₁ R: K _i = 12.0 nM OX ₂ R: Not active		11	OX ₁ R: K _i = 5.94 nM OX ₂ R: Not active
	7	OX ₁ R: K _i = 4.15 nM OX ₂ R: Not active	12 (YNT-707) (R' = H)	OX ₁ R: K _i = 8.14 nM OX ₂ R: Not active	
	8	OX ₁ R: K _i = 14.0 nM OX ₂ R: K _i = 725 nM	13 (R' = Me)	OX ₁ R: K _i = 4.15 nM OX ₂ R: Not active	
	9	OX ₁ R: K _i = 541 nM OX ₂ R: Not active	14 (R' = Cl)	OX ₁ R: K _i = 1.70 nM OX ₂ R: Not active	
			15 (R' = CN)	OX ₁ R: K _i = 1.96 nM OX ₂ R: Not active	
			16 (R' = NO ₂)	OX ₁ R: K _i = 1.81 nM OX ₂ R: Not active	
			17 (R' = NMe ₂)	OX ₁ R: K _i = 1.92 nM OX ₂ R: Not active	

で、オピオイド受容体とオレキシン受容体の活性を有意に分離することが出来ることが示された。

一連の強力なOX₁R拮抗薬を見出すことができたため、*in vivo*での薬理評価を試みたところ、いずれの化合物も水への溶解性が低く、*o*-ジメチルアミノ体**17**を塩化しても十分な水溶性の改善が見られなかった。そこで、二価の塩とすべく**17**の6位アミド基上のフラン環を塩化可能なピリジン環へと変換した誘導体を合成し、活性を調査した (表2)。その結果、3-ピリジン誘導体**19**では活性が低下し、4-ピリジン誘導体**20**では拮抗活性が見られなかった一方で、2-ピリジン誘導体 YNT-1310 (**18**) が最も強力なOX₁R拮抗活性を有することを見出した。また、**18**はOX₂Rおよびオピオイド受容体に対しては全く結合親和性を示さなかったことから、YNT-1310 (**18**) はOX₁R特異的拮抗薬であることがわかった。

YNT-1310 (**18**) を用いた塩種の検討により二硫酸塩が高い水溶性を示したことから、**18**・2H₂SO₄を用いて*in vivo*薬理評価を実施した。前述のようにOX₁Rは薬物依存ならびにそれにより引き起こされる離脱症状に関与することから、モルヒネ依存症マウスをモデルとしてOX₁R特異的拮抗薬の効果を検証した。MOR作動薬であるモルヒネを慢性的に投与することでモルヒネ依存を誘導したマウスに、MOR拮抗薬であるナロキソンを投与 (ナロキソンチャレンジ) すると急激なMOR刺激の枯渇により離脱症状が頻出する。このうち、体重減少、下痢、跳躍行動の代表的な症状を指標として、YNT-1310 (**18**) 投与の有無における差を観察したところ、ナロキソンチャレンジ前に**18**を処置した群において生理食塩水投与群と比較して有意な離脱症状の減少が確認された。この結果は、モルヒナン型OX₁R特異的拮抗薬**18**が期待通り血液脳関門を透過して中枢で作用していることを示唆しており、これら新しいケモタイプは薬物依存症の治療薬として期待が持たれる (図6)。

表2 6位アミド側鎖上置換基を変換した誘導体のオレキシン受容体拮抗活性

R	Compd	Activity
	18 (YNT1310)	OX ₁ R: K _i = 1.36 nM OX ₂ R: Not active
	19	OX ₁ R: K _i = 42.3 nM OX ₂ R: Not active
	20	OX ₁ R: Not active OX ₂ R: Not active

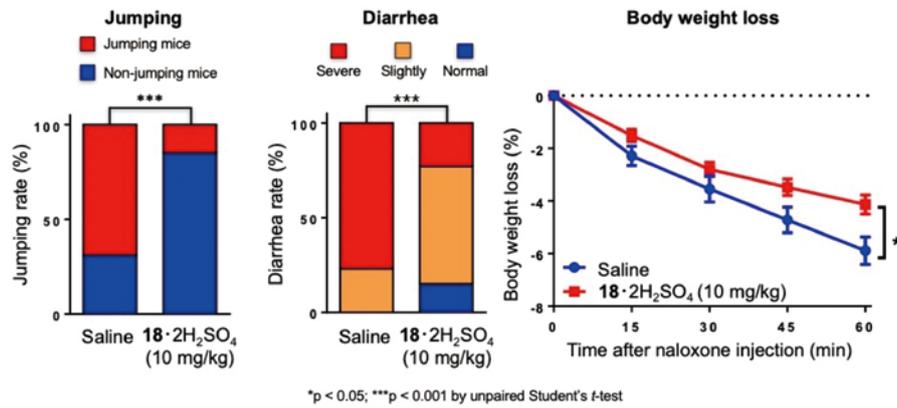


図6 YNT-1310 (18) のモルヒネ依存症マウスに対する離脱症状抑制効果

オレキシン1受容体拮抗活性における モルヒナン骨格の役割

04

4.1. YNT-1310の推定活性配座

今日まで数多くのOX₁R拮抗薬のケモタイプが報告されてきているものの(図1)、いずれも弱いながらもOX₂R拮抗活性が残存しており、モルヒナン骨格を有する化合物は現在のところ唯一のOX₁R特異的構造である。このモルヒナン骨格の興味深い特性を理解するために、我々はSuvorexantとOX₁RのX線結晶構造(PDB code 4ZJ8)を用いてYNT-1310 (18)のドッキング計算を実施し、結合様式を推定した(図7)。**18**のモルヒナン骨格はOX₁Rのリガンド結合部位の中央に位置しており、17位窒素上の*o*-ジメチルアミノベンゼンスルホンアミド基はA102(TM2)、V106(TM2)、W112(ECL1)、I122(TM3)およびP123(TM3)により構成される疎水性ポケットに位置していた。一方、6位アミド側鎖の2-ピリジル基はモルヒナン骨格の下部アニソール側に配向しており、F219(TM5)、F220(TM5)、I314(TM6)、I319(TM6)からなる疎水性ポケットに位置し、モルヒナン骨格のエーテル酸素と2-ピリジル基の窒素原子とN318(TM6)との2つの水素結合で安定化されていることが示唆された。OX₁RとOX₂Rの結合ポケットの三次元構造は極め

て類似しており、たった2つのアミノ酸残基(OX₁RでSer103とAla127、OX₂RでThr111とThr135)のみで違いがあり、OX₁RはOX₂Rよりもポケットの体積が5%減少(32 Å³)している。**18**はSuvorexantなど既存の拮抗薬と比較して構造的に大きく、この僅かなポケットの違いからOX₂Rでは上述した2つの疎水性ポケット周辺で受容体との衝突が多くなり、結合が不利になると推察された。

4.2. モルヒナン型オレキシン受容体拮抗薬の必須構造

YNT-1310 (18)の推定活性配座から、モルヒナン型オレキシン受容体拮抗薬はオピオイド受容体の場合とは異なり、強固なイオン性の相互作用を持たずに、17位窒素上置換基および6位アミド側鎖を疎水性ポケットへ適切に配向することによりOX₁R拮抗活性をもたらしていると考えられた。そこで我々は、OX₁R特異的拮抗作用におけるモルヒナン骨格の役割について考察を深めるべく、よりシンプルな構造を有するYNT-707 (12)を基盤として必須構造の検討を行った¹⁵⁻¹⁹⁾。

まず、**12**の構造のうち、最も自由度が高い6位アミド側鎖に着目し、その立体化学の影響を調べたところ、**12**の6位アミド側鎖の立体化学が反転したα体**21**では、β体である**12**と比較してその親和性は100倍減弱し、6位側鎖の配向で親和性が大きく変

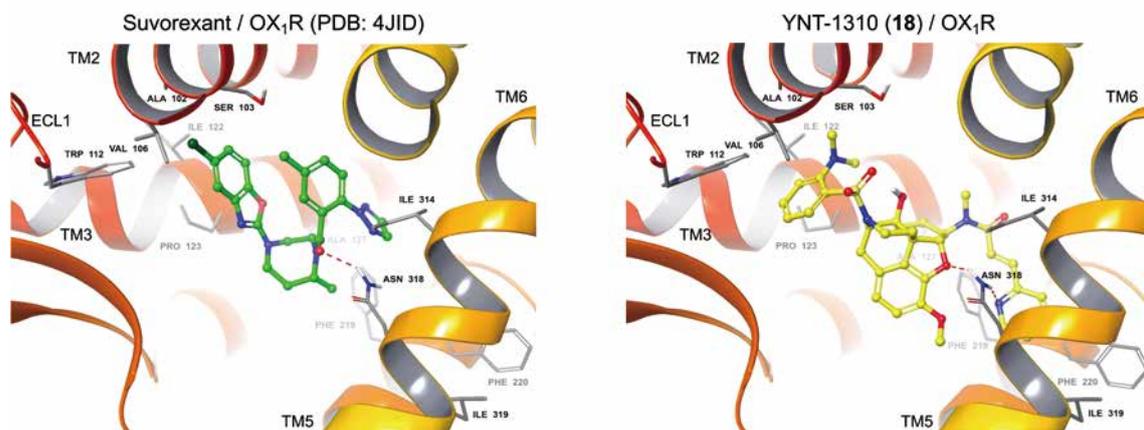


図7 SuvorexantとOX₁RのX線結晶構造とYNT-1310 (18)とOX₁Rのドッキング計算結果

化する結果となった¹⁵⁾。続いて、モルヒナン骨格の4,5-エポキシ環を除去した誘導体**22**では親和性が約4倍低下し¹⁵⁾、D環を開環した誘導体**23**では親和性が約12倍低下した¹⁷⁾。一方で、14位水酸基を脱水、還元した誘導体**24**は、YNT-707よりも約4倍強い親和性を示すことがわかった¹⁶⁾。この結果を受け、活性が大きく減弱した誘導体**23**において、14位水酸基を除去することによる活性向上を試みたところ、誘導体**25**の親和性は約5倍向上する結果となった¹⁹⁾(図8)。

これら親和性変化の結果を考察するために、各化合物の安定配座解析を実施した。YNT-1310 (**18**) の2.0 kcal/molの範囲での安定配座解析の結果では、17位ベンゼンスルホンアミド基はモルヒナン骨格のD環上方に、6位アミド側鎖はモルヒナン骨格のC環下方に主に配向しており、ドッキング計算で予測された活性配座に類似した構造を取る。そのため、安定配座解析から分子がどれほど活性配座を取りやすいかをドッキング計算をせずに簡便に見積もることが可能である。YNT-707 (**12**) の安定配座では、**18**と同様な配向が見られたのに対し、活性の大きく減弱した6位α体**21**では6位アミド側鎖がC環上方に配向しやすく、それに伴い17位スルホンアミド基のD環上方への配向が抑制されることで活性が減弱したと考えられる。4,5-エポキシ環を除去

した誘導体**22**では、C環が椅子形配座で安定化し、6位側鎖がC環の下方へと配向していた。興味深いことに、誘導体**22**の17位スルホンアミド基は、4,5-エポキシ環を除去することでD環の下方への配向が安定化しており、4,5-エポキシ環の環張力が17位の配向に影響することで活性が減弱したものと考えられる。一方で、興味深かったのは14位水酸基の効果である。14位脱水体**24**の6位アミド側鎖は、他の誘導体と同様にC環下側への配向が有利であったが、14位水酸基が脱水されることで17位スルホンアミド基のD環上方への配向が**12**の場合よりも増加しており、誘導体**24**は**12**よりも活性配座を取りやすいために活性が向上したものと推察された。D環の開環誘導体**25**は、D環の開環によりスルホンアミド基はB環のエカトリアル方向に配向しており、14位水酸基がないことで自由回転により**12**と同様のスルホンアミド基の配向が可能であることが示唆され、**12**に近い配座が取れるために強い親和性が維持されたものと考えられる(図9)。

以上の必須構造の検討から、モルヒナン骨格は4,5-エポキシ架橋されることで強固な足場を形成し、14位水酸基などのモルヒナン骨格上の官能基により17位スルホンアミド基と6位アミド側鎖の配向が制御され、配向を活性立体配座に有意に傾けていることが示唆された。

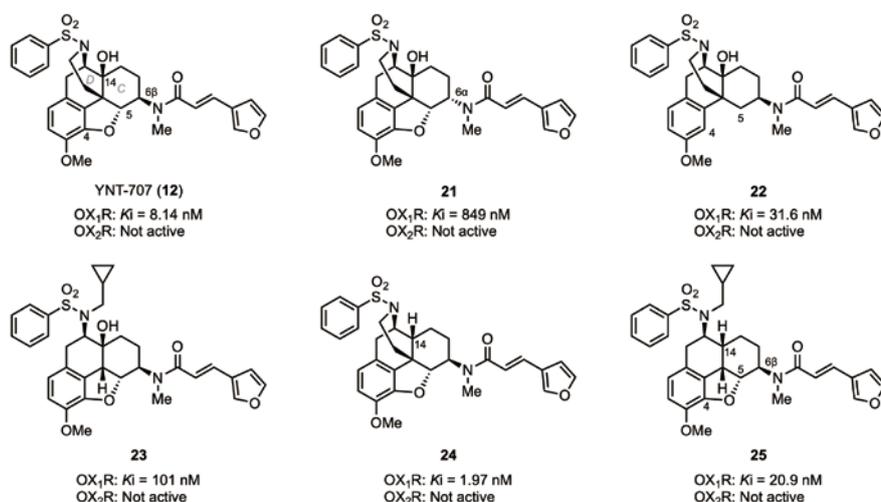


図8 YNT-707誘導体**21-25**のオレキシン受容体拮抗活性

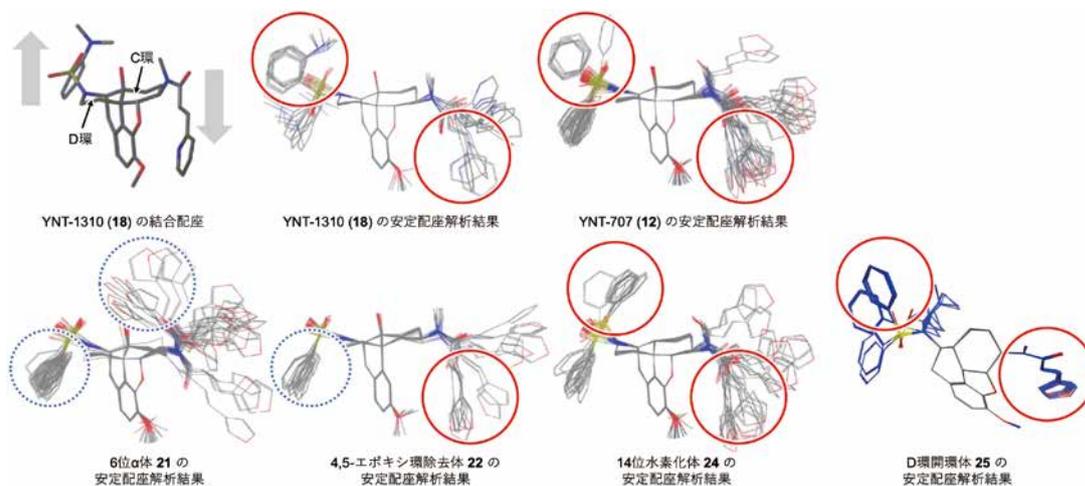


図9 YNT-707誘導体**21-25**の安定配座解析結果

モルヒナン骨格は創薬化学上有用な特性を有するにも関わらず、モルヒネやコデインといったμオピオイド受容体作動薬に印象付けられた麻薬、中毒、依存症といった強烈なキーワードによりダークサイドに引き込まれ、根拠のない敬遠と憎悪によりその有効活用は遅々として進んでいない²⁰⁾。これまでの研究者の努力により麻薬性を有さない化合物はモルヒナン骨格を有していても麻薬および指定薬物から除外されており、研究室で取り扱うことが可能であることは意外と知られていない事実である。本稿に記載したモルヒナン骨格を活用した新たなOX₁R特異的拮抗薬の開発研究は、モルヒナン骨格の新しい可能性を切り開くものであり、モルヒナン骨格がオピオイド受容体と同じGPCRであるオレキシン受容体に結合するという知見はこの骨格の更なる利用可能性を示唆している。また何の因果か、OX₁R特異的拮抗薬はモルヒネを始めとした薬物の依存症を治療する可能性を秘めており、モルヒナン骨格によりもたらされたダークサイドがモルヒナン骨格により払拭される日がくることを期待してやまない。

本研究成果は筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構で長瀬博特命教授の薫陶の下、実施されたものです。モルヒナン誘導体の合成は、沓村憲樹教授協力の下、山本直司助教、大類彩博士、岡田卓大博士、谷田誠浩博士、関知範博士、加藤光貴博士の多大なる努力と研鑽により行われ、*in vitro*ならびに*in vivo*薬理評価は柳沢正史教授、南雲康行助教、入鹿山容子博士、小川靖裕博士、石川有紀子氏との共同研究にて行われました。また、計算科学においては昭和薬科大学 合田浩明教授、東レ株式会社 谷村隆次博士との共同研究にて行われました。この場を借りて共同研究者の皆様に深くお礼申し上げます。

参考文献

- 1) T. Sakurai, A. Amemiya, M. Ishii, I. Matsuzaki, R. M. Chemelli, H. Tanaka, S. C. Williams, J. A. Richardson, G. P. Kozlowski, S. Wilson, J. R. Arch, R. E. Buckingham, A. C. Haynes, S. A. Carr, R. S. Annan, D. E. McNulty, W. S. Liu, J. A. Terrett, N. A. Elshourbagy, D. J. Bergsma, M. Yanagisawa, Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* **92**(4), 573-585 (1998).
- 2) T. Sakurai, M. Mieda, N. Tsujino, The orexin system: roles in sleep/wake regulation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1200**(1), 149-161 (2010).
- 3) S. P. Andrews, S. J. Aves, J. A. Christopher, R. Nonoo, Orexin Receptor Antagonists: Historical Perspectives and Future Opportunities. *Curr. Top. Med. Chem.* **16**(29), 3438-3469 (2016).
- 4) S. Nishino, B. Ripley, S. Overeem, G. J. Lammers, E. Mignot, Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet* **355**(9197), 39-40 (2000).
- 5) M. Mieda, J. T. Willie, J. Hara, C. M. Sinton, T. Sakurai, M. Yanagisawa, Orexin peptides prevent cataplexy and improve wakefulness in an orexin neuron-ablated model of narcolepsy in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**(13), 4649-4654 (2004).
- 6) T. Nagahara, T. Saitoh, N. Kutsumura, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, D. Kuroda, H. Gouda, H. Kumagai, H. Fujii, M. Yanagisawa, H. Nagase, Design and Synthesis of Non-Peptide, Selective Orexin Receptor 2 Agonists. *J. Med. Chem.* **58**(20),

7931-7937 (2015).

- 7) H. Yukitake, T. Fujimoto, T. Ishikawa, A. Suzuki, Y. Shimizu, K. Rikimaru, M. Ito, M. Suzuki, H. Kimura, TAK-925, an orexin 2 receptor-selective agonist, shows robust wake-promoting effects in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **187**, 172794 (2019).
- 8) A. T. Knoll, W. A. Carlezon, Jr., Dynorphin, stress, and depression. *Brain Res.* **1314**, 56-73 (2010).
- 9) M. F. Piercey, R. A. Lahti, L. A. Schroeder, F. J. Einspahr, C. Barsuhn, U-50488H, a pure kappa receptor agonist with spinal analgesic loci in the mouse. *Life Sci.* **31**(12-13), 1197-1200 (1982).
- 10) T. Suzuki, Y. Shiozaki, Y. Masukawa, M. Misawa, H. Nagase, The role of mu- and kappa-opioid receptors in cocaine-induced conditioned place preference. *Jpn. J. Pharmacol.* **58**(4), 435-442 (1992).
- 11) H. Nagase, J. Hayakawa, K. Kawamura, K. Kawai, Y. Takezawa, H. Matsuura, C. Tajima, T. Endo, Discovery of a structurally novel opioid kappa-agonist derived from 4,5-epoxymorphinan. *Chem. Pharm. Bull.* **46**(2), 366-369 (1998).
- 12) H. Nagase, N. Yamamoto, M. Yata, S. Ohru, T. Okada, T. Saitoh, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ishikawa, Y. Ogawa, S. Hirayama, D. Kuroda, Y. Watanabe, H. Gouda, M. Yanagisawa, Design and Synthesis of Potent and Highly Selective Orexin 1 Receptor Antagonists with a Morphinan Skeleton and Their Pharmacologies. *J. Med. Chem.* **60**(3), 1018-1040 (2017).
- 13) Y. Nagumo, K. Katoh, K. Iio, T. Saitoh, N. Kutsumura, N. Yamamoto, Y. Ishikawa, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, T. Baba, R. Tanimura, M. Yanagisawa, H. Nagase, Discovery of attenuation effect of orexin 1 receptor to aversion of nalfurafine: Synthesis and evaluation of D-nor-nalfurafine derivatives and analyses of the three active conformations of nalfurafine. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **30**(17), 127360 (2020).
- 14) Y. Miyata, H. Fujii, Y. Uenohara, S. Kobayashi, T. Takeuchi, H. Nagase, Investigation of 7-benzylidenenaltrexone derivatives as resistance reverser for chloroquine-resistant Plasmodium chabaudi. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**(16), 5174-5176 (2012).
- 15) N. Yamamoto, S. Ohru, T. Okada, M. Yata, T. Saitoh, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, Y. Ishikawa, Y. Watanabe, D. Hayakawa, H. Gouda, M. Yanagisawa, H. Nagase, Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part I: Role of the 4,5-epoxy ring for binding with orexin 1 receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **27**(17), 4176-4179 (2017).
- 16) S. Ohru, N. Yamamoto, T. Saitoh, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, Y. Ishikawa, Y. Watanabe, D. Hayakawa, H. Gouda, M. Yanagisawa, H. Nagase, Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part II: Drastic effect of the 14-hydroxy group on the orexin 1 receptor antagonistic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **28**(4), 774-777 (2018).
- 17) T. Saitoh, K. Seki, R. Nakajima, N. Yamamoto, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, Y. Ishikawa, R. Tanimura, M. Yanagisawa, H. Nagase, Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, Part IV: The role of D-ring in 4,5-epoxymorphinan on the orexin 1 receptor antagonistic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **29**(18), 2655-2658 (2019).
- 18) N. Yamamoto, S. Ohru, T. Okada, T. Saitoh, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, Y. Ishikawa, Y. Watanabe, D. Hayakawa, H. Gouda, M. Yanagisawa, H. Nagase, Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, part III: Role of the 14-hydroxy and the 3-methoxy groups in antagonistic activity toward the orexin 1 receptor in YNT-707 derivatives lacking the 4,5-epoxy ring. *Bioorg. Med. Chem.* **27**(8), 1747-1758 (2019).
- 19) T. Saitoh, K. Seki, R. Nakajima, N. Yamamoto, N. Kutsumura, Y. Nagumo, Y. Irukayama-Tomobe, Y. Ogawa, Y. Ishikawa, M. Yanagisawa, H. Nagase, Essential structure of orexin 1 receptor antagonist YNT-707, part V: Structure-activity relationship study of the substituents on the 17-amino group. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **30**(3), 126893 (2020).
- 20) J. Mella-Raipán, J. Romero-Parra, G. Recabarren-Gajardo, DARK Classics in Chemical Neuroscience: Heroin and Desomorphine. *ACS Chem. Neurosci.* **11**(23), 3905-3927 (2020).