

# Von der Grundlagenforschung zum Blockbuster: die Entdeckung des Antiepileptikums Lyrica

Richard B. Silverman\*

Epilepsie · Lyrica · Neurotransmitter ·  
Pharmazeutische Chemie · Wirkstoff-Forschung

Viele wichtige Entdeckungen werden gemacht, wenn man sie am wenigsten erwartet, und sie befriedigen am meisten, wenn sie aus Grundlagenforschungen hervorgehen. Ein Wirkstoff, der auf diese Weise gefunden wurde, ist das Blockbustermedikament Lyrica (Pregabalin), das zur Behandlung von neuropathischen Schmerzen, Epilepsie und allgemeinen Angstzuständen eingesetzt wird. Seine Entdeckung und Eigenschaften werden in diesem Essay beschrieben.

Eines der ersten Projekte, die ich zu Beginn meiner Forschungen an der Northwestern University in Angriff nahm, war die Entwicklung neuer Hemmstoffe des Pyridoxal-5'-phosphat-(PLP)-abhängigen Enzyms  $\gamma$ -Aminobuttersäureaminotransferase (GABA-AT) und die Untersuchung seiner Wirkungsmechanismen.<sup>[1]</sup> GABA-AT ist das Enzym, das den hemmenden Neurotransmitter GABA abbaut und seine Umwandlung in den exzitatorischen Botenstoff L-Glutamat einleitet.<sup>[2]</sup> Verbindungen, die dieses Enzym hemmen, sind krampflösend und wirken gegen Chorea Huntington, Alzheimer-Demenz, Parkinson-Krankheit und Drogenabhängigkeit.<sup>[3]</sup>

Epilepsie (als Sammelbezeichnung für alle Krankheiten, die mit wiederkehrenden Krampfanfällen einherge-

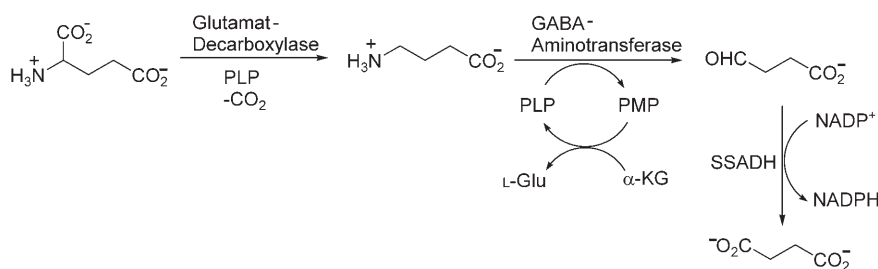
hen) ist seit Tausenden von Jahren bekannt.<sup>[4]</sup> Es gibt zahlreiche Ursachen für Epilepsie, und infolgedessen leiden 1 bis 2% der Weltbevölkerung unter einer der vielen Formen dieser Krankheit.<sup>[5]</sup> 30 bis 40% der Betroffenen sprechen auf die meisten krampflösenden Medikamente nicht an.<sup>[6]</sup> Eine der vielen Ursachen für Epilepsie ist ein Ungleichgewicht im Konzentrationsverhältnis von GABA und L-Glutamat. Wenn der GABA-Spiegel im Gehirn sinkt, kann dies einen Anfall auslösen. Die Injektion von GABA direkt ins Gehirn kann den Anfall beenden, während eine orale oder intravenöse Verabreichung keinen Effekt hat, weil GABA als hydrophiles geladenes Molekül die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren kann.<sup>[7]</sup> Die Blut-Hirn-Schranke ist eine Membran, die das Gehirn vor chemischen Verbindungen aus dem Blut schützt, die notwendigen Stoffwechselvorgänge aber zulässt. Sie besteht aus sehr dicht gepackten Endothelzellen, die aus den Gefäßwänden der Blutgefäße stammen, die das Gehirn durchziehen. Die dichte Zellpackung schränkt die Passage unerwünschter Verbindungen aus dem Blutstrom ins Gehirn ein. Ein Ansatz, die GABA-Konzentration im Gehirn zu erhöhen, bestünde im gezielten Entwurf einer Verbindung, die die Blut-Hirn-Schranke passieren und dann GABA-AT – das einzige Enzym also, das GABA im Gehirn umsetzt – hemmen kann. Dies würde den Abbau von GABA verhindern, wodurch dessen Konzentration steigen und ein krampflösender Effekt resultieren würde.

Mit dem Ziel, eine Verbindung zu finden, die den GABA-Spiegel bei Erkrankungen des Zentralnervensystems anhebt, entwarf meine Arbeitsgruppe in den Jahren 1981–1988 eine Reihe von

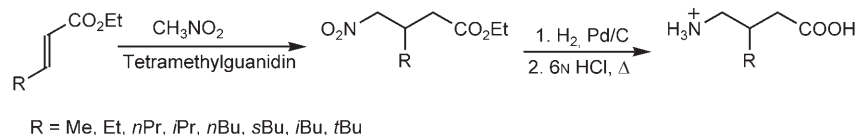
Hemmstoffen<sup>[8]</sup> der GABA-AT.<sup>[9]</sup> Dabei wurde bald klar, dass man *selektive* Hemmstoffe der GABA-AT benötigen würde (um den GABA-Spiegel zu erhöhen), die aber nicht die L-Glutamat-decarboxylase (GAD) inhibieren. Dieses ebenfalls PLP-abhängige Enzym wandelt nämlich den exzitatorischen Neurotransmitter L-Glutamat in den hemmenden Botenstoff GABA um (Schema 1).

Die Hemmung der GAD würde daher die Konzentration von GABA *senken*, also den gegenteiligen Effekt erzielen. Außerdem wäre für das unbedingt erforderliche Eindringen des krampflösenden Wirkstoffs ins Gehirn eine höhere Lipophilie wichtig. Aus diesem Grund bat ich 1988 Dr. Ryszard Andruszkiewicz, einen Gastwissenschaftler von der Technischen Universität Danzig, eine Serie von 3-Alkyl-GABA- und 3-Alkylglutamat-Analoga herzustellen, die Hemmung von GABA-AT und GAD durch diese Substanzen zu bestimmen und nach lipophileren Analoga zu suchen, die selektiv an GABA-AT, nicht aber an GAD bänden. Dr. Andruszkiewicz synthetisierte vierzehn 3-Alkyl-GABA-Analoga (darunter 4 Stereoisomere) (Schema 2), 4-Methyl-GABA (und seine beiden Enantiomere)<sup>[10]</sup> und sieben 3-Alkylglutamat-Analoga.<sup>[11]</sup> Alle GABA-Analoga waren Substrate von GABA-AT.<sup>[12]</sup> Mit zunehmender Größe des Substituenten nahm auch die Michaelis-Konstante  $K_M$  zu;  $V_{max}/K_M$  ( $V_{max}$  ist die Maximalgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion) von 3-Methyl-GABA war ein wenig größer als von GABA. Bei den übrigen Analoga nahm  $V_{max}/K_M$  immer mehr ab. Ein überraschendes Ergebnis wurde jedoch erhalten, als die Verbindungen als Inhibitoren der GAD getes-

[\*] R. B. Silverman  
John Evans Professor of Chemistry  
Department of Chemistry  
Department of Biochemistry, Molecular  
Biology, and Cell Biology  
Center for Drug Discovery and Chemical  
Biology, Northwestern University  
2145 Sheridan Road, Evanston, Illinois  
60208-3113 (USA)  
Fax: (+1) 847-491-7713  
E-Mail: Agman@chem.northwestern.edu



**Schema 1.** Gegenseitige Umwandlung exzitatorischer und hemmender Neurotransmitter.  $\alpha$ -KG:  $\alpha$ -Ketoglutarat; PMP: Pyridoxamin-5'-phosphat.



**Schema 2.** Synthese von 3-substituierten GABA-Analoga.

tet wurden. Nicht genug, dass keine der Verbindungen eine hemmende Wirkung hatte: Alle agierten als Aktivatoren der GAD, d.h., die Zugabe einer Verbindung führte zu einer schnelleren Bildung von GABA (Abbildung 1)!<sup>[11,13]</sup> Derartige war zuvor nicht beobachtet worden. Der Gedanke war naheliegend, diese Verbindungen als krampflösende Wirkstoffe zu testen, denn sie konnten mit der Aktivierung der GAD einen neuen Wirkmechanismus haben, der zur Erhöhung des GABA-Spiegels im Gehirn führen konnte.

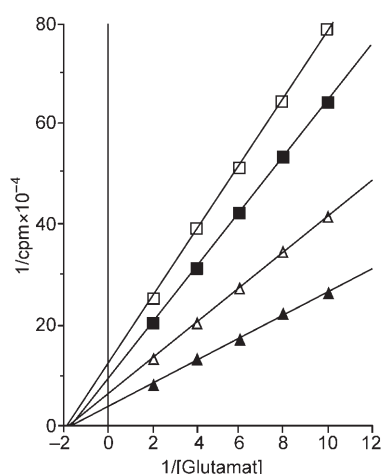
Wir gaben 1989 eine Erfindungsmeldung an das Technologietransferprojekt der Northwestern University ab und sprachen Pharmaunternehmen auf ein mögliches Interesse an dieser Tech-

nologie an, woraufhin zwei positive Rückmeldungen eingingen: eine von Upjohn und eine von Parke-Davis. Upjohn wollte nur unsere „beste“ Verbindung testen, Parke-Davis alle Verbindungen. Der beste GAD-Aktivator war 3-Methyl-GABA (wobei das *R*-Isomer aktiver war als das *S*-Isomer), den Upjohn demzufolge für Tests auf krampflösende Wirkung in der Maus auswählte. Im gleichen Jahr noch berichteten Upjohn-Forscher, dass die Verbindung nur schwach wirksam sei, und die Studien wurden nicht weiter fortgesetzt. Parke-Davis meldeten sich 1990 und luden mich ein, ein Seminar zu halten und die Verbindungen weiter zu besprechen. Es stellte sich heraus, dass alle Verbindungen bei etwa 100 mg kg<sup>-1</sup>

Körpergewicht bei Mäusen Muskelkrämpfe verhinderten, dass aber 3-Isobutyl-GABA bei einer Dosis von 14.4 mg kg<sup>-1</sup> einen fast vollständigen Schutz von elektroshockinduzierten Anfällen bietet (Tabelle 1).<sup>[13]</sup>

Das (*S*)-(+)-Isomer von 3-Isobutyl-GABA, das später Pregabalin genannt wurde und dann den Handelsnamen Lyrica erhielt, war eine der wirksamsten krampflösenden Substanzen, die Parke-Davis getestet hatte. Alle Verbindungen konnten in Mäusen dosisabhängig Muskelkrampfanfälle verhindern, ohne dabei Ataxie zu verursachen. (Ataxie ist eine Störung der Bewegungskoordination von Rumpf und Gliedmaßen, eine häufige Nebenwirkung krampflösender Medikamente.)<sup>[11]</sup> Parke-Davis (bzw. Warner-Lambert, die Muttergesellschaft) und die Northwestern University schlossen eine Lizenzvereinbarung, und Ende 1990 wurde eine Patentanmeldung eingereicht. 1991 wurde eine Übereinkunft über eine Patentooption unterzeichnet. Bei Parke-Davis folgten 1992 sechsmonatige Pharmakokinetik- und Stoffwechselstudien im Tierversuch, an die sich, ebenfalls im Tierversuch, zwei Jahre Toxikologiestudien anschlossen. Es wurden Synthesen entwickelt, um große Mengen des (*S*)-(+)-Isomers von 3-Isobutyl-GABA<sup>[14]</sup> zu erhalten, das fast die gesamte Aktivität der Verbindung ausmacht (Schema 3).<sup>[15]</sup>

Der Status als IND (investigational new drug), der den Test am Menschen erlaubt, wurde Ende 1995 beantragt. Die klinischen Phase-I-Studien dauerten 2.5 Jahre, die anschließenden klini-



**Abbildung 1.** Aktivierung der L-Glutaminsäuredecarboxylase durch (*R*)-3-Methyl-GABA.<sup>[13]</sup> Der GAD-Test wurde ohne ( $\square$ ) und mit (*R*)-3-Methyl-GABA [0.25 mM ( $\blacksquare$ ), 1.0 mM ( $\triangle$ ), 2.5 mM ( $\blacktriangle$ )] durchgeführt.

**Tabelle 1:** Krampflösende Wirkung von 3-substituierten GABA-Analoga.<sup>[13]</sup>

3-Substituent	Dosis [mg kg <sup>-1</sup> ]	Wirkung <sup>[a]</sup>	3-Substituent	Dosis [mg kg <sup>-1</sup> ]	Wirkung <sup>[a]</sup>
(R,S)-Methyl	100	3/5	<i>n</i> -Butyl	100	2/10
(R)-Methyl	100	5/10	Isobutyl	14.4	9/10
(S)-Methyl	100	5/10	<i>sec</i> -Butyl	30	2/10
3,3-Dimethyl	100	8/10	<i>tert</i> -Butyl	100	5/10
Ethyl	100	5/5	Neopentyl	100	4/10
<i>n</i> -Propyl	100	3/10	Isopentyl	100	0/10
Isopropyl	100	6/10			

[a] Zahl der nichtkrampfenden Individuen/Zahl der getesteten Individuen. Die Verbindungen wurden auf krampflösende Wirkung in männlichen CF-1-Mäusen (20–28 g) nach folgendem Verfahren getestet: intravenöse Verabreichung der Verbindung; nach 120 Minuten Verabreichung eines schwachen kornealen Elektroschocks (17 mA Sinusstrom von 0.2 s Dauer). Eine krampflösende Wirkung wurde mit dem Ausbleiben von Muskelkrämpfen in den hinteren Gliedmaßen festgestellt.

schen Tests der Phasen II und III wurden zwischen 1999 und 2003 ausgeführt. Über 100 klinische Tests mit mehr als 10000 Patienten zur Behandlung von Epilepsie, neuropathischem Schmerz und generalisierten Angstzuständen wurden eingeleitet. Im Jahr 2000 kaufte Pfizer Warner-Lambert und erwarb so die alleinigen Rechte zur Weiterentwicklung von Lyrica. Im Oktober 2003 beantragte Pfizer bei der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) die Marktzulassung für den neuen Wirkstoff. Im Juli 2004 ließ die Europäische Union Lyrica als Medikament zu (die Markteinführung in Europa erfolgte im September des gleichen Jahres), im Dezember 2004 folgte die Zulassung durch die FDA (gefolgt von der Einführung am US-Markt im September 2005). Im ersten vollen Geschäftsjahr (2006) erreichte Lyrica den Status eines Blockbusters mit einem weltweiten Umsatz von 1.2 Mrd. US\$.

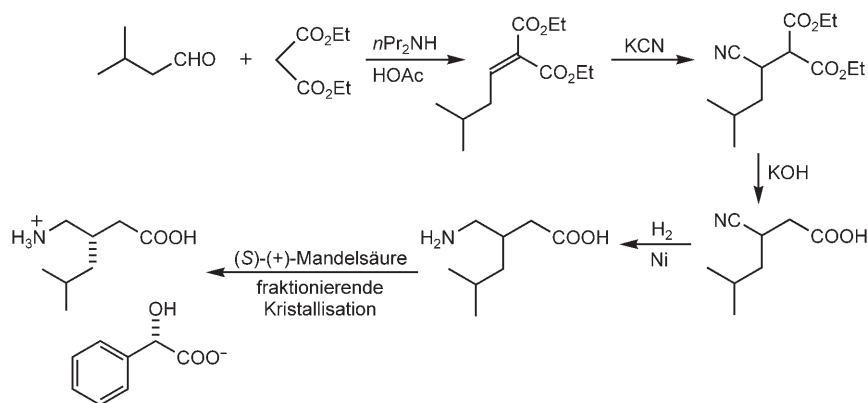
Gut vollstellbar ist, dass Upjohn im Nachhinein bedauert hat, nur eine Ver-

bindung der Serie getestet zu haben und sich so den Wirkstoff hat entgehen lassen, der als Lyrica den Markt erobern sollte. Man kann es als Ironie des Schicksals sehen, dass beide Unternehmen, die anfangs um die Testung der GABA-Analoga konkurrierten, später von Pfizer aufgekauft wurden (Warner-Lambert/Parke-Davis 2000; Pharmacia/Upjohn 2002), sodass Lyrica am Ende ohnehin in die Hände von Pfizer gelangt wäre.

Die Entwicklung von Lyrica hätte ein hervorragendes Beispiel dafür sein können, wie Grundlagenforschung „rational“ zu einem wichtigen kommerziellen Produkt weitergeführt wird – wenn es nicht diesen einen unerwarteten Befund gegeben hätte: Die krampflösende Wirkung von Lyrica hat nichts mit seinem aktivierenden Einfluss auf die GAD zu tun! Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass es keine Korrelation zwischen der Aktivierung der GAD durch die 3-Alkyl-GABA-Analoga und ihrer krampflösenden Wirkung

gibt. Bereits vor der Testung unserer 3-Alkyl-GABA-Analoga hatte Parke-Davis eine verwandte Verbindung zur Behandlung von Epilepsie gefunden: Gabapentin, das später unter dem Handelsnamen Neurontin vermarktet wurde. Wir wiesen nach, dass diese Verbindung ebenfalls GAD aktiviert,<sup>[13]</sup> wenn auch schwächer als die 3-Alkyl-GABA-Analoga. 1996 entdeckten Wissenschaftler bei Parke-Davis, dass Gabapentin selektiv an die  $\alpha_2\delta$ -Untereinheit spannungsabhängiger Calciumkanäle bindet.<sup>[16]</sup> Dadurch wird der  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in das Neuron gedrosselt,<sup>[17]</sup> was die Freisetzung von Substanz P und Glutamat aus exzitatorischen aminosäureabhängigen Nervenenden hemmt.<sup>[18]</sup> Anschließend wurde gezeigt, dass das (S)-(+)-Isomer von 3-Isobutyl-GABA (Pregabalin, Lyrica) den gleichen Wirkmechanismus hat wie Gabapentin.<sup>[19]</sup> Dies war erneut Ironie des Schicksals: Die 3-Alkyl-GABA-Analoga wurden entworfen, um selektiv die GABA-AT zu hemmen, aber man fand, dass sie die GAD aktivierten; jeder der beiden Mechanismen würde die Konzentration des inhibierenden Neurotransmitters GABA erhöhen. Stattdessen zeigte sich, dass die Wirkung von Lyrica darin bestand, die Freisetzung des exzitatorischen Neurotransmitters L-Glutamat zu blockieren. Letztendlich führt die Erniedrigung der Konzentration des exzitatorischen Botenstoffs zum gleichen Ergebnis wie die Konzentrationserhöhung des hemmenden Neurotransmitters.

Der Grund, weshalb 3-Isobutyl-GABA so viel wirksamer ist als die anderen 3-Alkyl-GABA-Analoga, liegt darin, dass die Verbindung ein Substrat

**Schema 3.** Synthese von (S)-(+)-3-Isobutyl-GABA im Produktionsmaßstab.

des System-L-Transporters ist<sup>[20]</sup> und dadurch aktiv ins Gehirn transportiert wird. Die anderen Analoga werden vom Transportsystem nicht erkannt und gelangen daher nur schlecht durch die Blut-Hirn-Schranke. Dieser Befund ist plausibel, denn der Transporter schleust L-Leucin (2-Isobutylglycin) ins Gehirn ein, zu dem Lyrica ein passables Strukturverwandtes ist.

Obwohl Lyrica ursprünglich als besonders lipophiles GABA-Analogon synthetisiert worden war, ist es inaktiv gegenüber allen getesteten GABA-Rezeptoren, beeinflusst weder Aufnahme noch Abbau von GABA und verändert auch nicht den GABA-Spiegel im Gehirn.<sup>[21]</sup> Die pharmakokinetischen Eigenschaften verleihen Lyrica zusätzliche Attraktivität.<sup>[22]</sup> Das Medikament ist zu 90 % oral bioverfügbar<sup>[23]</sup> (d.h., 90 % der verabreichten Substanz werden absorbiert und erreichen den Wirkort), wird zu weniger als 2 % verstoffwechselt und in unveränderter Form ausgeschieden.<sup>[24]</sup> Die Ausscheidungsgeschwindigkeit aus dem Körper (mit einer Halbwertszeit von 6 h) ist unabhängig von Dosis und Häufigkeit der Einnahme, sodass es keine Bedenken gibt, dass die Halbwertszeit des Wirkstoffs zwischen einzelnen Personen variiert, die das Mittel verschieden häufig und in unterschiedlicher Dosis einnehmen. Anders als das Vorläuferpräparat Neurontin ist die Pharmakokinetik von Lyrica linear und genau vorhersagbar.<sup>[25]</sup> Wenn die Dosis erhöht wird, nimmt auch die Wirkung zu, und Aufnahme, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung (ADME) werden ebenfalls beschleunigt. Wegen dieser gut beherrschbaren Pharmakokinetik braucht man Lyrica nicht zu den Mahlzeiten einzunehmen.<sup>[26]</sup> Die klinischen Studien deckten noch weitere wichtige Eigenschaften von Lyrica auf: So setzt die Wirkung bereits nach zwei Tagen ein, während man sonst bei ZNS-Medikamenten meist eine Woche oder länger warten muss. Lyrica bindet nicht an Plasmaproteine<sup>[27]</sup> und induziert oder hemmt keine Leberenzyme, vor allem nicht Cytochrom P450s.<sup>[28]</sup> Daher wurden auch keine Wechselwirkungen mit anderen Medikamenten beobachtet.<sup>[29]</sup>

Der Einsatz von Lyrica wurde für eine Vielzahl von Indikationen beantragt, und die klinischen Tests waren demzufolge umfangreich.<sup>[30]</sup> Patienten

mit therapieresistenten fokal beginnenden Krampfanfällen (der ursprünglichen Indikation), die 150–600 mg Pregabalin pro Tag, aufgeteilt auf 2 oder 3 Verabreichungen, zusammen mit Antiepileptika erhielten, erlitten signifikant weniger Anfälle als die Kontrollgruppe, die ein Placebo erhielt ( $p \leq 0.0001$ ). Patienten mit Postherpes-Neuralgie (Gürtelrose) oder peripherer diabetischer Neuropathie (neuropathischer Schmerz aufgrund von Diabetes), die eine Tagesdosis von 300–600 mg Pregabalin in 2–3 Verabreichungen erhielten, litten signifikant weniger unter Schmerzen und schmerzbedingten Schlafstörungen als die Placebo-Gruppe ( $p \leq 0.002$  bzw.  $p \leq 0.01$ ). Patienten mit generalisierten Angstzuständen oder Sozialphobie, die pro Tag 200–600 mg Pregabalin in 2–3 Verabreichungen erhielten, erreichten signifikant niedrigere Werte auf der Angstska nach Hamilton als die Placebogruppe ( $p \leq 0.01$ ). Lyrica ist nicht nur das erste von der FDA zugelassene Medikament gegen neuropathische Schmerzen, die mit peripherer diabetischer Neuropathie und Gürtelrose assoziiert sind, es wurde vor kurzem auch als erstes Mittel bei Fibromyalgie zugelassen. Fibromyalgie ist eine schwer diagnostizierbare Erkrankung, die mit verbreiteten Schmerzen der Skelettmuskeln, einer verminderten Schmerzschwelle, Schlafstörungen und Müdigkeit einhergeht und bei etwa 2 % der Bevölkerung, hauptsächlich bei Frauen, auftritt. Klinische Tests mit Fibromyalgiekranken ergaben, dass Lyrica (Tagesdosis: 450 mg) die durchschnittliche Schmerzstärke signifikant reduzierte (50 % Verbesserung am Endpunkt) und das Schlafverhalten und die Erschöpfung deutlich besserte und insgesamt die gesundheitsbedingte Lebensqualität steigerte.<sup>[31]</sup>

Wie alle Wirkstoffe, vor allem solche, die auf das Zentralnervensystem wirken, ist auch Lyrica nicht ohne Nebenwirkungen. Diese sind jedoch vergleichsweise gering angesichts der starken Schmerzen und destabilisierenden Folgen der Krankheiten, die behandelt werden. In kontrollierten klinischen Versuchen vor der Markteinführung beendeten 14 % der mit Lyrica behandelten Patienten und 7 % der Placebo-Patienten die Einnahme vorzeitig aufgrund von unerwünschten Reaktionen.

Die häufigsten Nebenwirkungen waren Somnolenz (Schläfrigkeit), Schwindel, periphere Ödeme (Einlagerung von Flüssigkeit, besonders in den Beinen), Ataxie (innere Unruhe), Kopfschmerzen, beeinträchtigtes Gesichtsfeld, Konzentrationsschwierigkeiten, Gewichtszunahme und trockener Mund.

Die Entwicklung von Lyrica hatte ihre Anfänge in der Grundlagenforschung, das letztendliche Resultat war aber, dass der Wirkmechanismus nichts mit der ursprünglichen Beobachtung zu tun hat, aufgrund derer die Untersuchungen eingeleitet wurden. Das ist nichts Ungewöhnliches. Ein ähnliches Beispiel ist der Cholesterinsenker Ezetimibe (Zetia), der als Inhibitor der Acyl-CoA-Cholesterinacyltransferase (ACAT) entworfen wurde.<sup>[32]</sup>

Die Idee dabei war, dass Cholesterin nicht in freier Form absorbiert werden kann, sondern vor der Passage der Darmwand acyliert werden muss. ACAT katalysiert die Veresterung von Cholesterin mit CoA-aktivierten langkettigen Fettsäuren und leitet so die Absorption ein. Eine Hemmung der ACAT sollte die Cholesterinaufnahme verhindern, sodass man Cholesterin mit der Nahrung zu sich nehmen kann, ohne dass es verwertet wird. Doch wurde keine Korrelation zwischen der In-vitro-Hemmung der ACAT und der In-vivo-Wirkung von Zetia gefunden. Zetia hemmt zwar die Aufnahme von Cholesterin aus dem Darm (was durch die Hemmung der ACAT erreicht werden sollte), wirkt aber durch die Bindung an einen Cholesterintransporter, und dies ist die Ursache für die Absorptionshemmung. Genau wie im Falle von Lyrica, das auf ein bestimmtes Enzym abzielen sollte, in vivo aber durch Bindung an ein anderes Protein (die  $\alpha_2\delta$ -Untereinheit eines spannungsabhängigen Calciumkanals) wirkt, sollte auch Zetia gegen ein Enzym abzielen, hemmt aber stattdessen durch Bindung an ein anderes Protein (den Cholesterintransporter). Wie auch immer: Der Schlüssel zur Entdeckung von Lyrica und Zetia war die Entwicklung einer grundlegenden Hypothese, die Ausarbeitung von Experimenten, um die Hypothese zu überprüfen, die genaue Beobachtung und die Interpretation und Nachverfolgung dieser Beobachtungen bis zur möglichen Identifizierung eines Wirk-



stoffes. Bei der Komplexität des menschlichen Organismus haben spezifische Moleküle vielfältige Zielstrukturen zur Auswahl, mit denen sie potentiell wechselwirken können. Und so kann der glückliche Zufall ein mächtiges Werkzeug in der medizinischen Chemie sein.

Online veröffentlicht am 28. Februar 2008  
Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] a) R. B. Silverman, M. A. Levy, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 815–818; b) R. B. Silverman, M. A. Levy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *95*, 250–255.
- [2] K. Krnjevic, *Physiol. Rev.* **1974**, *54*, 418–540.
- [3] a) P. Yogeeswari, D. Sriram, J. Vaigundaragavendran, *Curr. Drug Metab.* **2005**, *6*, 127–139; b) S. J. Czuczwar, P. N. Patsalos, *CNS Drugs* **2001**, *15*, 339–350; c) F. M. Sherif, S. S. Ahmed, *Clin. Biochem.* **1995**, *28*, 145–154.
- [4] a) D. F. Scott, *J. Hist. Neurosci.* **1992**, *1*, 111–118; b) M. Daras, G. Papakostas, A. I. Tuchman, *J. Hist. Neurosci.* **1994**, *3*, 233–236.
- [5] C. J. Locke, S. N. Williams, E. M. Schwarz, G. A. Caldwell, K. A. Caldwell, *Brain Res.* **2006**, *1120*, 23–34.
- [6] a) B. A. Roecklein, H. J. Sacks, H. Mortko, J. Stables, *Neurotherapeutics* **2007**, *4*, 97–101; b) A. Lazarowski, L. Czornyj, F. Lubieniecki, S. Vazquez, C. D'Giano, G. Seveler, A. L. Taratuto, A. Brusco, G. Elena, *Curr. Drug Ther.* **2006**, *1*, 291–309.
- [7] D. J. Begley, *Enhancement in Drug Delivery*, CRC, Boca Raton, **2007**, S. 575–592.
- [8] a) R. B. Silverman, *Mechanism-Based Enzyme Inactivation: Chemistry and Enzymology, Vols. I and II*, CRC, Boca Raton, **1988**; b) R. B. Silverman, *Methods Enzymol.* **1995**, *249*, 240–283.
- [9] a) R. B. Silverman, M. A. Levy, *Biochemistry* **1981**, *20*, 1197–1203; b) R. B. Silverman, M. A. Levy, A. J. Muztar, J. D. Hirsch, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, *102*, 520–523; c) R. B. Silverman, S. C. Durkee, B. J. Invergo, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 764–770; d) R. B. Silverman, B. J. Invergo, J. Mathew, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1840–1846; e) R. B. Silverman, B. J. Invergo, *Biochemistry* **1986**, *25*, 6817–6820; f) R. B. Silverman, C. George, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, *150*, 942–946; g) R. B. Silverman, C. George, *Biochemistry* **1988**, *27*, 3285–3289.
- [10] a) R. Andruszkiewicz, R. B. Silverman, *Synthesis* **1989**, 953–955; b) R. Andruszkiewicz, A. G. M. Barrett, R. B. Silverman, *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 159–166.
- [11] C. P. Taylor, M. G. Vartanian, R. Andruszkiewicz, R. B. Silverman, *Epilepsy Res.* **1992**, *11*, 103–110.
- [12] R. Andruszkiewicz, R. B. Silverman, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 22288–22291.
- [13] R. B. Silverman, R. Andruszkiewicz, S. M. Nanavati, C. P. Taylor, M. G. Vartanian, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2295–2298.
- [14] a) P. W. Yuen, G. D. Kanter, C. P. Taylor, M. G. Vartanian, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 823–826; b) M. S. Hoekstra, D. M. Sobieray, M. A. Schwindt, T. A. Mulhern, T. M. Grote, B. K. Hucabee, V. S. Hendrickson, L. C. Franklin, E. J. Granger, G. L. Karrick, *Org. Process Res. Dev.* **1997**, *1*, 26–38.
- [15] C. P. Taylor, M. G. Vartanian, P. W. Yuen, C. Bigge, N. Suman-Chauhan, D. R. Hill, *Epilepsy Res.* **1993**, *14*, 11–15.
- [16] N. S. Gee, J. P. Brown, V. U. K. Dissanayake, J. Offord, R. Thurlow, G. N. Woodruff, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5768–5776.
- [17] a) K. Fink, D. J. Dooley, W. P. Meder, N. Suman-Chauhan, S. Duffy, H. Clusmann, M. Gothert, *Neuropharmacology* **2002**, *42*, 229–236; b) D. McClelland, R. M. Evans, L. Barkworth, D. J. Martin, R. H. Scott, *BMC Pharmacol.* **2004**, *4*, 14.
- [18] Y. P. Maneuf, J. Hughes, A. T. McKnight, *Pain* **2001**, *93*, 191–196.
- [19] J. S. Bryans, D. J. Wustrow, *Med. Res. Rev.* **1999**, *19*, 149–177.
- [20] F. Verrey, *Pfluegers Arch.* **2003**, *445*, 529–533.
- [21] a) J. E. Frampton, R. H. Foster, *CNS Drugs* **2006**, *20*, 685–693; b) C. P. Taylor, N. S. Gee, T.-Z. Su, J. D. Kocsis, D. F. Welty, J. P. Brown, D. J. Dooley, P. Boden, L. Singh, *Epilepsy Res.* **1998**, *29*, 233–249.
- [22] E. Ben-Menachem, *Epilepsia* **2004**, *45* (Suppl. 6), 13–18.
- [23] B. W. Corrigan, W. F. Pool, E. L. Posvar, J. C. Strand, C. W. Alvey, L. L. Radulovic, H. N. Bockbrader, *Clin. Pharmacol. Ther.* **2001**, *69*, P18.
- [24] G. Warner, D. P. Figgitt, *CNS Drugs* **2005**, *19*, 265–272.
- [25] a) H. N. Bockbrader, T. Hunt, J. Strand, E. Posvar, A. Sedman, *Neurology* **2000**, *54* (Suppl. 3), A421; b) J. A. Busch, J. C. Strand, E. L. Posvar, H. N. Bockbrader, L. L. Radulovic, *Epilepsia* **1998**, *39* (Suppl. 6), 58; c) R. D. Elwes, C. D. Binnie, *Clin. Pharmacokinet.* **1996**, *30*, 403–415.
- [26] M. Bialer, S. I. Johannessen, H. J. Kupferberg, R. H. Levy, E. Perucca, T. Tomson, *Epilepsy Res.* **2004**, *61*, 1–48.
- [27] E. J. Randinitis, E. L. Posvar, C. W. Alvey, A. J. Sedman, J. A. Cook, H. N. Bockbrader, *J. Clin. Pharmacol.* **2003**, *43*, 277–283.
- [28] E. Perucca, *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2006**, *61*, 246–255.
- [29] a) H. N. Bockbrader, P. J. Burger, A. R. Kugler, L. E. Knapp, E. A. Garofalo, R. L. Lalonde, *Epilepsia* **2001**, *42* (Suppl. 7), 84; b) M. J. Brodie, E. A. Wilson, D. L. Wesche, C. W. Alvey, E. J. Randinitis, E. L. Posvar, N. J. Hounslow, N. J. Bron, G. L. Gibson, H. N. Bockbrader, *Epilepsia* **2005**, *46*, 1407–1413.
- [30] D. M. Tassone, E. Boyce, J. Guyer, D. Nuzum, *Clin. Ther.* **2007**, *29*, 26–48.
- [31] L. J. Crofford, M. C. Rowbotham, P. J. Mease, I. J. Russell, R. H. Dworkin, A. E. Corbin, J. P. Young, Jr., L. K. LaMoreaux, S. A. Martin, U. Sharma, *Arthritis Rheum.* **2005**, *52*, 1264–1273.
- [32] J. W. Clader, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1–9.