

nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林孪药的设计合成

沈 坤,陈 云,匡雨琼,李 飞*

(南京医科大学药学院,江苏 南京 211166)

[摘要] 目的:设计合成 nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林的孪药,获得新型神经病理性疼痛治疗药物。方法:将 nNOS-PSD-95 解耦联剂及其类似物与加巴喷丁、普瑞巴林以酰胺连接,用神经病理性疼痛模型评价目标化合物的镇痛作用。结果:所有目标化合物具有程度不同的神经病理性疼痛的镇痛作用,nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林的孪药对神经病理性疼痛的镇痛作用强于单靶点药物。结论:nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林的孪药比单靶点药物对神经病理性疼痛具有更好的镇痛作用。

[关键词] nNOS-PSD-95 解耦联剂;加巴喷丁;普瑞巴林;孪药;神经病理性疼痛

[中图分类号] R914.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)10-1441-05

doi:10.7655/NYDXBNS20141039

Design and synthesis of twin drug with nNOS-PSD-95 interrupts and gabapentin, pregebalin

Shen Kun, Chen Yun, Kuan Yuqong, Li Fei*

(School of Pharmacy, NJMU, Nanjing 211166, China)

[Abstract] **Objective:** To design and compound of twin drug with nNOS-PSD-95 interrupts and gabapentin, pregebalin, and to find new drugs for the treatment of neuropathic pain. **Methods:** The nNOS-PSD-95 interrupts and gabapentin, pregebalin were connected to form amide. The analgesic effects of target compounds were evaluated by neuropathic pain model. **Results:** All target compounds showed different degree analgesic effects in neuropathic pain, the analgesic effect of twin drug of nNOS-PSD-95 interrupts and gabapentin, pregabalin twin drug in neuropathic pain was stronger than that of single target drugs. **Conclusion:** Twin drug with nNOS-PSD-95 interrupts and gabapentin, pregebalin may get a better analgesic effect than that of single target drugs in neuropathic pain.

[Key words] nNOS-PSD-95 interrupts; gabapentin; pregebalin; twin drug; neuropathic pain

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(10): 1441-1445]

神经病理性疼痛是一种“损害或疾病累及躯体感觉系统后直接导致的疼痛”。神经病理性疼痛病因复杂,常规的止痛药如阿片类及非甾体抗炎药没有明显疗效,是一种难治且对人类有巨大危害的疾病^[1-2],加巴喷丁(gabapentin)及其类似物普瑞巴林(pregebalin)是常用的口服神经病理性疼痛药物,但是嗜睡、镇静等不良反应较多^[3-4]。目前临床缺乏满意、安全有效的神经病理性疼痛药物^[5],一氧化氮(NO)在神经系统的多个水平对痛觉信号的加工处理过程产生影响,对神经病理性疼痛的形成和维持

起重要作用。神经元型一氧化氮合酶(nNOS)与谷氨酸能突触的突触后致密物 95(PSD-95)解耦联是近年发现的神经病理性疼痛的药物靶点^[6]。nNOS-PSD-95 解耦联剂 4-(2-羟基-3,5-二氯苄胺基)-2-羟基苯甲酸(ZL006)能够特异性地抑制 nNOS-PSD-95 的耦联,减少 NO 的病理性释放,对 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)、nNOS 的生理功能没有影响,不影响其他类型的蛋白-蛋白相互作用,避免了直接干预 NMDAR、nNOS 可能引起的学习记忆障碍、行为异常等不良反应,具有更好的安全性^[7]。但是 ZL006 具有较大的亲水性,中枢神经系统分布不理想,口服无效,将 ZL006 成酯能够实现口服有效^[8]。神经病理性疼痛是由许多不同性质的损伤引起的

[基金项目] 国家自然科学基金(21172108);江苏省自然科学基金(BK2011772)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: kldlf@njmu.edu.cn

共同结果^[9],多靶点药物可能更安全有效^[10]。研究显示,平衡干预 NMDAR 和 γ -氨基丁酸受体(GABAR)能够产生更好的镇痛作用^[11],nNOS-PSD-95 解耦联处于 NMDAR 通路的下游,具有更好的安全性。本研究将 ZL006 为代表的 nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林设计为孪药,希望获得更安全有效的神经病理性疼痛治疗药物。其中:化合物 6-a、6-b、6-e、6-f 为作用较强的 nNOS-PSD-95 解耦联剂

与加巴喷丁、普瑞巴林的孪药,6-c、6-g 为作用较弱的 nNOS-PSD-95 解耦联剂与加巴喷丁、普瑞巴林的孪药,此外,设计了没有 nNOS-PSD-95 解耦联作用的 ZL006 类似物与加巴喷丁的孪药 6-d、nNOS-PSD-95 解耦联剂 ZL006 与没有镇痛作用的 6-氨基己酸的孪药 6-h 为单靶点药物对照药。目标化合物结构及其合成路线见图 1。

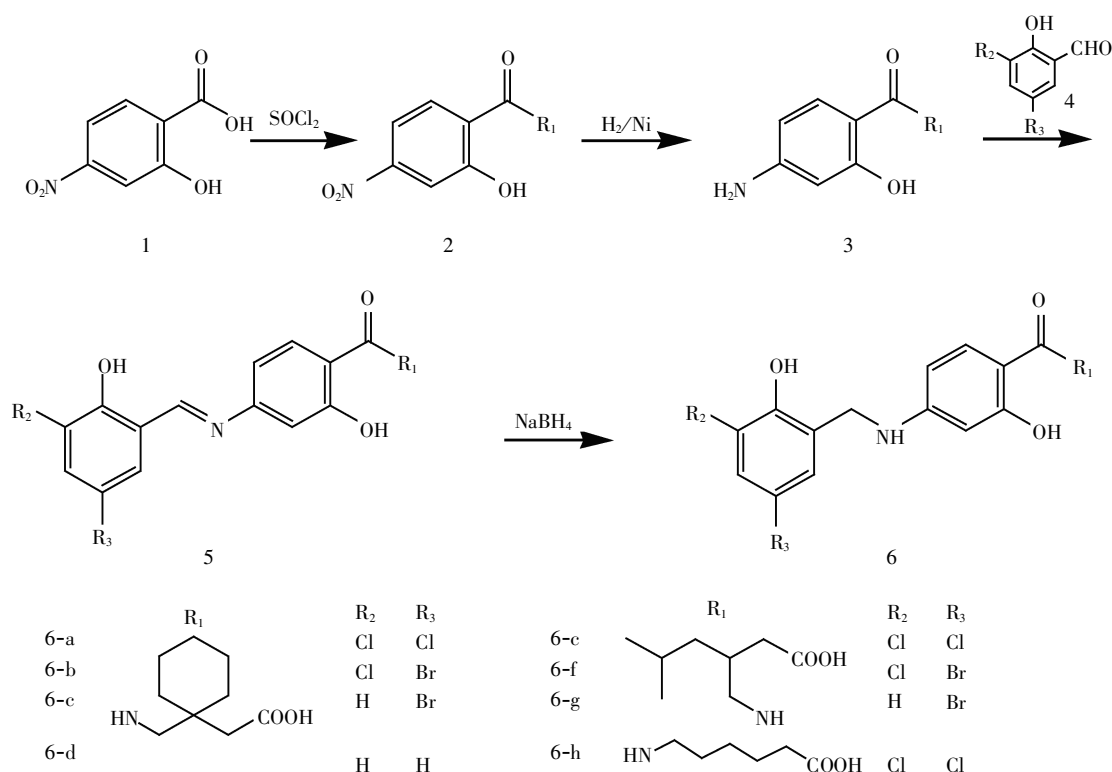


图 1 目标化合物的结构及其合成路线

Figure 1 The structure of target compounds and synthetic route

1 材料和方法

1.1 材料

¹H NMR 用美国 Varian 500 MHz 核磁共振仪测定,四甲基硅烷(TMS)为内标;质谱由美国 Agilent-6410 LC/MS 质谱仪测定;柱层析用硅胶为青岛化工研究所生产。其他所用试剂除特殊说明外均为市售试剂。

1.2 方法

1.2.1 目标化合物合成

1.2.1.1 1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)环己乙酸(2-a)

在 100 ml 茄形瓶中加入 4-硝基水杨酸 2 g,氯化亚砷 4 g 及吡啶 1~2 滴,二氯甲烷 20 ml,加热回流。12 h 后停止反应,旋蒸除去溶剂,得对硝基水

杨酰氯,加入 15 ml 二氯甲烷备用。另取 100 ml 茄形瓶,加入加巴喷丁 1.87 g 和氢氧化钠 0.44 g,用 15 ml 水溶解。-5℃下,滴加新制备的对硝基水杨酰氯溶液,约 1 h 滴加完毕,0℃反应 2 h,25℃反应 12 h 后,抽滤,滤液转移至 50 ml 茄形瓶中,加浓盐酸调 pH 至 4~5,析出大量白色固体,抽滤,烘干。硅胶柱纯化,洗脱剂(石油醚:乙酸乙酯=1:1),得白色 1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸 1.7 g,产率 46%。

1.2.1.2 3-(2-羟基-4-硝基苯甲酰)胺甲基-5-甲基己酸(2-b)

以 4-硝基水杨酸、普瑞巴林为原料,参考化合物 2-a 方法合成。白色固体,产率 38%。

1.2.1.3 6-(2-羟基-4-硝基苯甲酰)胺基己酸(2-c)

以 4-硝基水杨酸、6-氨基己酸为原料,参考化

合物2-a方法合成。白色固体,产率40%。

1.2.1.4 1-[2-羟基-4-(2-羟基-3,5-二氯苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基}-环己基乙酸(6-a)

500 ml 高压加氢釜内,加入甲醇150 ml,1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸1 g,雷尼镍1 g,氢气换气3次,38℃反应12 h。停止反应,将反应液旋蒸至15 ml,往反应液中加入3,5-二氯水杨醛0.57 g的甲醇(5 ml)溶液,析出大量固体。搅拌1 h后,抽滤,滤饼用少量甲醇润洗,将滤饼转移至50 ml 茄形瓶中,加甲醇10 ml 溶解,搅拌下,慢慢加入硼氢化钠(0.5 g),固体逐渐溶解,溶液变澄清。薄层色谱(TLC)检测反应完全之后,用浓盐酸(36%)调节溶液pH至4~5,抽滤,向滤液中加入水10 ml,溶液由澄清变浑浊,继续搅拌2 h。抽滤得灰白色固体0.6 g,产率42.0%,熔点161~163℃。

1.2.1.5 1-[2-羟基-4-(2-羟基-3-氯-5-溴苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基}-环己基乙酸(6-b)

以1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、3-氯-5-溴水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合成。红棕色固体,产率41%,熔点162~164℃。

1.2.1.6 1-[2-羟基-4-(2-羟基-5-溴苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基}-环己基乙酸(6-c)

以1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、5-溴水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合成。灰白色固体,产率38%,熔点163~165℃。

1.2.1.7 1-[2-羟基-4-(2-羟基)氨基苯甲酰]胺甲基}-环己基乙酸(6-d)

以1-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合成。灰白色固体,产率37%,熔点143~145℃。

1.2.1.8 3-[2-羟基-4-(2-羟基-3,5-二氯苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基-5-甲基己酸(6-e)

以3-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、3,5-二氯水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合成。灰白色固体,产率41.0%,熔点159~161℃。

1.2.1.9 3-[2-羟基-4-(2-羟基-3-氯-5-溴苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基-5-甲基己酸(6-f)

以3-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、3-氯-5-溴水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合成。灰白色固体,产率40.2%,熔点160~162℃。

1.2.1.10 3-[2-羟基-4-(2-羟基-5-溴苯甲基)氨基苯甲酰]胺甲基-5-甲基己酸(6-g)

以3-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺基甲基)-环己基乙酸、5-溴水杨醛为原料,参考化合物6-a方法合

成。灰白色固体,产率38%,熔点163~165℃。

1.2.1.11 6-[2-羟基-4-(2-羟基-3,5-二氯苯甲基)苯甲酰胺]己酸(6-h)

以6-(2-羟基-4-硝基苯甲酰胺)己酸、水杨醛为原料,参考化合物5-a方法合成。红棕色固体,产率37%,熔点160~162℃。

1.2.2 神经病理性疼痛镇痛作用测试

采用脊神经结扎法(segmental spinal nerve ligation, SNL)制备神经病理性疼痛模型,测定机械性刺激50%缩足反应阈值(paw withdrawal threshold, PWT),对目标化合物的镇痛作用进行初步测试。将已测定50%机械性刺激缩足反应阈值基线的小鼠进行SNL手术,于术后第7天,随机分为药物组和溶剂组($n=8$),分别灌胃给予等体积的药物或1%羧甲基纤维素钠混悬液,药物的剂量为30 mg/kg,药物用1%羧甲基纤维素钠混悬液配置,单次给药。给药后4 h 测量其机械性刺激缩足反应阈值变化情况。

2 结果

2.1 目标化合物结构确定

所有关键中间体与目标化合物均进行了¹H NMR测试,所有目标化合物均进行了质谱(MS)测试,测试结果与化学结构相符(表1)。

2.2 神经病理性疼痛镇痛作用测试结果

机械性刺激缩足反应阈值测试结果见图2,与空白组相比,各目标化合物的PWT均有一定提高,显示所有目标化合物对神经病理性疼痛均有一定的镇痛作用。化合物6-a、6-b、6-e、6-f的PWT为空白组的2.2倍左右,显示良好的神经病理性疼痛镇痛作用($P < 0.05$)。6-c、6-d、6-g、6-h的PWT为空白组的1.3~1.7倍,显示了较弱的神经病理性疼痛镇痛作用($P < 0.05$)。

3 讨论

国内外科学家已经对神经病理性疼痛多靶点药物进行了探索,神经病理性疼痛治疗药物普瑞巴林(300 mg/d)与度洛西汀联合给药(60 mg/d),期望获得更好的药效,但没有超过单独给药高剂量的普瑞巴林(600 mg/d)或者度洛西汀(120 mg/d),尽管如此,考虑到安全性,研究者还是推荐采用联合用药方案^[12]。同时激动阿片 δ 和 μ 受体以及拮抗胆囊收缩素(CCK)受体的多肽具有与普瑞巴林相似的镇痛作用,而且没有明显的不良反应^[13]。将普瑞巴林和其他神经病理性疼痛治疗药物如万拉法新、加巴

表 1 目标化合物的结构及其 ^1H NMR、MS 数据Table 1 The structure of the target compound and its ^1H NMR, MS data

	^1H NMR 500 MHz, DMSO-d ₆ , δ (ppm)	S ESI, m/z
2-a	1.39–1.50(m, 10H); 2.26(s, 2H,); 3.45(d, 2H, J = 5.5 Hz); 7.71(s, 1H); 7.72(d, 1H, J = 8.3 Hz); 8.07(d, 1H, J = 8.3 Hz); 8.68(t, 1H, J = 5.5 Hz)	/
2-b	0.83(d, 3H, J = 8.6 Hz); 0.86(d, 3H, J = 8.6 Hz); 1.10–1.25(m, 2H); 1.65–1.73(m, 1H); 2.12–2.19(m, 2H); 2.26–2.30(m, 1H); 3.19–3.24(m, 1H); 3.35–3.41(m, 1H); 7.68(d, 1H, J = 2.3 Hz); 7.72(dd, 1H, J = 8.6 Hz, J = 2.3 Hz); 8.04(d, 1H, J = 8.6 Hz); 8.88(t, 1H, J = 5.5 Hz); 12.08(s, 1H); 12.58(s, 1H)	/
2-c	1.30–1.37(m, 2H); 1.51–1.59(m, 4H); 2.22(t, 2H, J = 7.3 Hz); 3.31(dd, 2H, J = 12.9 Hz, J = 6.8 Hz); 7.67(d, 1H, J = 2.3 Hz); 7.71(dd, 1H, J = 8.7 Hz, J = 2.3 Hz); 8.05(d, 1H, J = 8.7 Hz); 8.92(t, 1H, J = 5.5 Hz); 12.35(s, 1H)	/
6-a	1.39–1.50(m, 10H); 2.26(s, 2H); 3.45(d, 2H, J = 5.5 Hz); 4.30(d, 2H, J = 5.5 Hz); 5.90(t, 1H, J = 5.5 Hz); 6.14(d, 1H, J = 1.5 Hz); 6.75(s, 1H); 7.28(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.59(d, 1H, J = 2.5 Hz); 7.62(d, 1H, J = 2.5 Hz); 8.10(s, 1H); 12.63(s, 1H)	481 (M+H ⁺)
6-b	1.38–1.50(m, 10H); 2.26(s, 2H); 3.45(d, 2H, J = 5.5 Hz); 4.30(d, 2H, J = 6.0 Hz); 5.90(t, 1H, J = 6.0 Hz); 6.14(d, 1H, J = 2.0 Hz); 6.76(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.24(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.49(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.58(d, 1H, J = 2.0 Hz); 8.10(s, 1H); 12.63(s, 1H)	526 (M+H ⁺)
6-c	1.39–1.50(m, 10H); 2.26(s, 2H,); 3.45(d, 2H, J = 5.5 Hz); 4.28(d, 2H, J = 3.5 Hz); 5.91(t, 1H, J = 3.5 Hz); 6.15(d, 1H, J = 2.5 Hz); 6.75(d, 2H, J = 8.5 Hz); 7.22(d, 1H, J = 2.5 Hz); 7.76(d, 2H, J = 8.5 Hz); 8.09(s, 1H); 9.9(s, 1H)	491 (M+H ⁺)
6-d	1.33–1.48(m, 10H); 2.26(s, 2H,); 3.36(d, 2H, J = 5.5 Hz); 4.24(d, 2H, J = 6.5 Hz); 5.92(t, 1H, J = 6.5 Hz); 6.16(d, 1H, J = 7.5 Hz); 6.74(d, 1H, J = 7.5 Hz); 6.83(d, 1H, J = 7.5 Hz); 7.04(d, 1H, J = 7.5 Hz); 7.13(d, 1H, J = 7.5 Hz); 7.56(d, 1H, J = 7.5 Hz); 8.05(d, 1H, J = 7.5 Hz); 9.53(s, 1H)	413 (M+H ⁺)
6-e	0.84(d, 3H, J = 6.8 Hz); 0.86(d, 3H, J = 6.8 Hz); 1.11–1.19(m, 2H); 1.62–1.72(m, 1H); 2.02–2.09(m, 2H); 2.25–2.29(m, 1H); 3.06–3.11(m, 1H); 3.26–3.31(m, 1H); 4.29(s, 2H); 5.88(s, 1H); 6.12(d, 1H, J = 8.6 Hz); 7.26(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.53(d, 1H, J = 6.0 Hz); 7.60(d, 1H, J = 2.0 Hz); 8.31(s, 1H); 12.98(s, 1H)	469 (M+H ⁺)
6-f	0.84(d, 3H, J = 6.5 Hz); 0.87(d, 3H, J = 6.5 Hz); 1.11–1.20(m, 2H); 1.64–1.70(m, 1H); 2.05–2.14(m, 2H); 2.25–2.29(m, 1H); 3.06–3.12(m, 1H); 3.26–3.31(m, 1H); 4.27(d, 1H, J = 3.6 Hz); 5.88(d, 1H, J = 2.1 Hz); 6.13(dd, 1H, J = 8.8 Hz, J = 2.1 Hz); 7.24(d, 1H, J = 2.2 Hz); 7.48(d, 1H, J = 2.3 Hz); 7.55(d, 1H, J = 8.8 Hz); 8.29(t, 1H, J = 5.9 Hz); 9.83(s, 1H); 11.97(s, 1H); 12.97(s, 1H)	514 (M+H ⁺)
6-g	0.84(d, 3H, J = 6.5 Hz); 0.86(d, 3H, J = 6.5 Hz); 1.11–1.20(m, 2H); 1.64–1.70(m, 1H); 2.05–2.14(m, 2H); 2.25–2.29(m, 1H); 3.06–3.12(m, 1H); 3.26–3.31(m, 1H); 4.32(d, 2H, J = 6.0 Hz); 5.90(t, 1H, J = 6.0 Hz); 6.14(d, 1H, J = 2.0 Hz); 6.76(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.25(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.49(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.57(d, 1H, J = 2.0 Hz); 8.10(s, 1H); 12.63(s, 1H)	479 (M+H ⁺)
6-h	1.39–3.46(m, 14H); 4.35(d, 2H, J = 5.5 Hz); 5.90(t, 1H, J = 5.5 Hz); 6.14(d, 1H, J = 1.5 Hz); 6.76(s, 1H); 7.28(d, 1H, J = 2.0 Hz); 7.59(d, 1H, J = 2.5 Hz); 7.62(d, 1H, J = 2.5 Hz); 8.10(s, 1H); 10.30(s, 1H)	441 (M+H ⁺)

喷丁以及美金刚胺,设计合成的神经病理性疼痛拮抗药比单靶点药物更有效^[14]。提示神经病理性疼痛多靶点药物比单靶点药物更安全有效。

本实验中,目标化合物 6-a、6-b 为 nNOS-PSD-95 解耦联剂^[7]与加巴喷丁的拮抗药,6-d 为加巴喷丁的单靶点衍生物,6-a、6-b 的 PWT(相对于空白 2.2~2.3 倍)高于 6-d(相对于空白 1.7 倍),提示 nNOS-PSD-95 解耦联剂与加巴喷丁的拮抗药具有比加巴喷丁的单靶点衍生物更强的镇痛作用;6-c 为较弱的 nNOS-PSD-95 解耦联剂^[7]与加巴喷丁的拮抗药,6-c 与 6-d 的 PWT 没有显著差异,可能是因为 6-c 的 nNOS-PSD-95 解耦联作用较弱,没有产生协同作用。

目标化合物 6-e、6-f 为 nNOS-PSD-95 解耦联剂与普瑞巴林的拮抗药,6-g 为较弱的 nNOS-PSD-95 解耦联剂与普瑞巴林的拮抗药,6-e、6-f 的 PWT(相对于空白 2.2~2.3 倍)高于 6-g(相对于空白 1.7 倍),有显著性差异($P < 0.05$),6-g 与 6-c、6-d 的 PWT 没有显著差异,再次提示了 NOS-PSD-95 解耦联剂作用强度对于协同作用的重要性;而 6-h 为 ZL006 的单靶点衍生物,在所有目标化合物中 PWT 最低(相对于空白 1.3 倍)。以上实验结果提示:本实验设计合成的 nNOS-PSD-95 解耦联剂和加巴喷丁、普瑞巴林的拮抗药具有比单靶点药物更强的神经病理性疼痛镇痛作用。同时,在该剂量下,未见嗜睡、镇静等

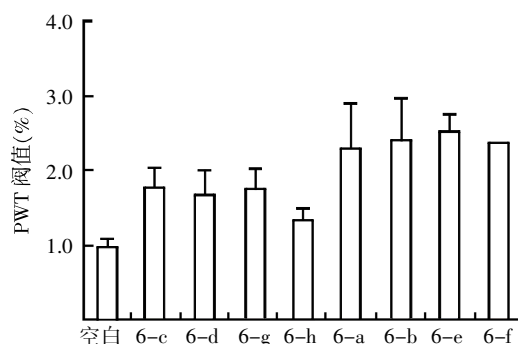


图 2 目标化合物的机械性刺激缩足反应阈值测试结果

Figure 2 The mechanical properties paw withdrawal threshold test results of target compounds

不良反应,提示该类多靶点药物可能具有更好的安全性。

[参考文献]

[1] Parker JP,Javaher SP,Jackson FK,et al. Carter considerations for neuropathic pain conditions in life care planning[J]. *Phys Med Reh Clin N*,2013,24(3):507-520

[2] Bouhassira D,Lantéri-Minet M,Attal N,et al. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population[J]. *Pain*,2008,136(3):380-387

[3] 高崇荣,卢振和. 神经病理性疼痛治疗原则与策略[J]. *中国疼痛医学杂志*,2014,20(3):129-132

[4] Tassone DM,Boyce E,Guyer J,et al. Pregabalin:A novel gamma-aminobutyric acid analogue in the treatment of neuropathic pain,partial-onset seizures,and anxiety disorders[J]. *Clin Ther*,2007,29(1):26-48

[5] Cornelius VR,Sauzet O,Williams JE,et al. Adverse event reporting in randomised controlled trials of neuropathic pain:Considerations for future practice[J]. *Pain*,2013,154(2):213-220

[6] Florio SK,Loh C,Huang SM,et al. Disruption of nNOS-

PSD95 protein-protein interaction inhibits a cute thermal hyperalgesia and chronic mechanical allodynia in rodents [J]. *Bri J Pharmacol*,2009,158(2):494-506

[7] Zhou L,Li F,Xu HB,et al. Treatment of cerebral ischemia by disrupting ischemia-induced interaction of nNOS with PSD-95 [J]. *Nat Med*,2010,16(12):1439-1443

[8] 朱东亚,李飞,罗春霞. 一类 N-苄基苯胺衍生物及其用途[P]. PCT/CN2012/083455

[9] Nickel FT,Seifert F, Lanz S,et al. Mechanisms of neuropathic pain[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*,2012,22(1):81-91

[10] 郭彦伸,郭宗儒. 多靶点药物分子设计[J]. *药学报*,2009,44(3):276-281

[11] Zugaib J,Coutinho MR, Ferreira MD,et al. Glutamate/GABA balance in ACC modulates the nociceptive responses of vocalization;An expression of affective-motivational component of pain in guinea pigs [J]. *Physiol Behav*,2014,126(1):8-14

[12] Hanlon KE,Herman DS,Agnes RS, et al. Novel peptide ligands with dual acting pharmacophores designed for the pathophysiology of neuropathic pain [J]. *Brain Res*,2011,1395(1):1-11

[13] Yang HJ,Liu H,Shi W,et al. Effect of gabapentin derivates on mechanical allodynia-like behaviour in a rat model of chronic sciatic constriction injury [J]. *Bioor Medicinal Chem Lett*,2004,14(10):2537-2541

[14] Tesfaye S,Wilhelm S,Lledo A,et al. Duloxetine and pregabalin;High-dose monotherapy or theircombination The "COMBO-DN study"-a multinational,randomized,double-blind,parallel-group study in patients with diabetic peripheral neuropathic pain[J]. *Pain*,2013,154(5):2616-2625

[收稿日期] 2014-05-29