

# 化合物QO-58对KCNQ1/KCNE1/IKs通道电流 调节作用的研究

张凡<sup>1</sup> 李晗<sup>2</sup> 丁杰<sup>1</sup> 李毅<sup>1</sup> 张海林<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>河北医科大学药理学教研室, 石家庄 050017; <sup>2</sup>河北医科大学第三医院关节科, 石家庄 050017)

**摘要** 慢激活延迟整流钾电流(slowly activated delayed rectifier potassium current, IKs)由KCNQ1通道与KCNE1通道共同编码。KCNQ1或KCNE1通道电流功能上调能够引发短QT综合征。全新化学结构化合物QO-58对KCNQ1-5通道具有开放作用。该文采用电生理膜片钳技术探讨QO-58对KCNQ1/KCNE1/IKs通道电流作用, 观察QO-58的心脏电生理毒性。结果表明, 化合物QO-58能够浓度依赖性地增大KCNQ1/KCNE1通道电流, 并且引起KCNQ1/KCNE1通道电流电压关系曲线向超极化方向移动。QO-58能够轻微增大豚鼠心室肌IKs通道电流, 但对豚鼠乳头肌动作电位时程无显著影响。结果提示, QO-58心脏电生理毒性较低, 具有进一步研发成为治疗兴奋性增强等相关疾病的新型药物的潜力。

**关键词** KCNQ1通道; KCNE1通道; IKs; QO-58; 膜片钳

## The Effect of QO-58 on KCNQ1/KCNE1/IKs Potassium Channel Currents

Zhang Fan<sup>1</sup>, Li Han<sup>2</sup>, Ding Jie<sup>1</sup>, Li Yi<sup>1</sup>, Zhang Hailin<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pharmacology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;

<sup>2</sup>Department of Joint, The Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

**Abstract** Slowly activated delayed rectifier potassium current (IKs) is formed by KCNQ1 and KCNE1 channel. Up regulation of KCNQ1 or KCNE1 channel currents leads to short QT syndrome. Novel compound QO-58 activates KCNQ1-5 channel. Patch clamp technique was used to study the effect of QO-58 on KCNQ1/KCNE1/IKs channel currents to test the toxicity of cardiac electrophysiology. The results showed that compound QO-58 concentration-dependently activated KCNQ1/KCNE1 currents and shifted the KCNQ1/KCNE1 channel activation curve to hyperpolarization direction. QO-58 slightly enhanced IKs currents expressed in guinea pig myocytes, but had no effect on action potential duration of guinea pig papillary muscle. This suggested that the cardio toxicity of QO-58 was low. And compound QO-58 had the potential to be developed further to treat disease related with neuronal hyperexcitability.

**Keywords** KCNQ1 channel; KCNE1 channel; IKs; QO-58; patch clamp

心肌细胞动作电位是由各种离子通过细胞膜上的离子通道构成的离子流所形成的, 延迟整流性

钾电流(delayed rectifier potassium current, IK)在心肌细胞动作电位复极过程中起着重要作用。心肌细胞

收稿日期: 2014-12-24 接受日期: 2015-02-02

国家自然科学基金(批准号: 31401199)、河北省自然科学基金(批准号: H2015206427)、河北省教育厅优秀青年基金(批准号: YQ2014030)和第56批中国博士后科学基金(批准号: 2014M560194)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0311-86265562, E-mail: z.hailin@yahoo.com

Received: December 24, 2014 Accepted: February 2, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31401199), the Natural Science Foundation of Hebei Province (Grant No.H2015206427), the Outstanding Youth Foundation of Education Department of Hebei Province (Grant No.YQ2014030) and the 56th Postdoctoral Science Foundation of China (Grant No.2014M560194)

\*Corresponding author. Tel: +86-311-86265562, E-mail: z.hailin@yahoo.com

网络出版时间: 2015-04-07 12:04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150407.1204.005.html>

IK主要包括慢激活延迟整流钾电流(slowly activated delayed rectifier potassium current, IKs)和快激活延迟整流钾电流(rapidly activated delayed rectifier potassium current, IKr)<sup>[1]</sup>。其中, IKs由KCNQ1(Kv7.1)编码的构成孔区的 $\alpha$ 亚单位和KCNE1(Mink)编码的 $\beta$ 亚单位构成。KCNQ1或KCNE1基因突变可诱发相关疾病, 包括通道功能下调所致的长QT综合征或功能上调引发的短QT综合征<sup>[2]</sup>。同时, 越来越多的证据显示, 在许多心血管疾病状态下, 如心肌肥厚、心衰等, 伴有IKs通道功能的下调是获得性长QT综合征产生的重要原因之一<sup>[3]</sup>。无论是复极延迟的长QT综合征或是复极缩短的短QT综合征, 都可能导致心律失常, 特别是尖端扭转型室性心动过速, 具有高发心源性猝死的危险<sup>[4]</sup>。

KCNQ1属于KCNQ电压门控性钾离子通道成员之一。目前已克隆出五个亚型, 即KCNQ1-5。KCNQ2-5通道主要表达于神经系统, KCNQ1通道则高表达于心脏<sup>[5]</sup>。先导化合物对HERG通道以及延伸至KCNQ1/KCNE1通道的作用已是临床前新药研发心脏电生理毒性的指标。目前有多种Kv7/M通道开放剂相继被报道, 其中瑞替加滨(retigabine)经美国FDA批准作为辅助药物联合已有药物用于治疗癫痫部分性发作<sup>[6]</sup>。此外, ICA-105665等小分子化合物正处于用于癫痫治疗的临床前研发阶段<sup>[7]</sup>。在前期工作中, 我们经合成筛选发现了具有自主知识产权、全新结构的吡啶并[1,5-a]嘧啶酮类化合物QO-58, 发现其对KCNQ通道具有开放作用<sup>[8]</sup>。前期工作中我们发现, QO-58能够显著增大KCNQ1通道电流<sup>[8]</sup>。本文旨在探讨QO-58对表达于HEK293细胞上的KCNQ1/KCNE1通道电流、表达于心肌细胞上的IKs通道电流以及豚鼠乳头肌动作电位的影响, 观察QO-58的心脏电生理毒性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

化合物QO-58(图1)由本室合成, 纯度>98%, 并经质谱和核磁鉴定<sup>[8]</sup>。DMEM培养基购自美国Gibco公司。Lipofectin 2000购自Invitrogen公司。Chromanol 293B、E-4301、Nimodipine和两性霉素B购自美国Sigma公司。胎牛血清购自澳大利亚PAA公司。胶原酶II(Collagenase II)购自Worthing Biochemical Corporation公司。重组质粒KCNQ1/KCNE1(GenBank序列

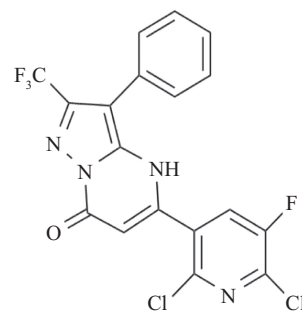


图1 化合物QO-58的结构式

Fig.1 The structure of compound QO-58

号: NM000218)由Diomedes E. Logothetis教授(Virginia Commonwealth University, Virginia, USA)惠赠。

### 1.2 HEK293细胞的培养及脂质体法质粒DNA转染

HEK293细胞培养于24孔板中, 生长至密度60%~70%, 24 h后进行质粒DNA转染。按照Invitrogen转染试剂盒说明书配制转染液, 将脂质体与一定浓度的重组KCNQ1质粒震荡混匀后, 室温放置20 min。将脂质体、DNA复合物缓缓加入24孔培养板中, 摇匀, 细胞培养箱中放置3~5 h后, 更换为含10%胎牛血清的DMEM继续培养。

### 1.3 豚鼠心室肌细胞的分离

实验动物豚鼠购自河北医科大学实验动物中心, 体重200~250 g。腹腔注射肝素200 U/kg后, 再给予12 g/L戊巴比妥钠(60 mg/kg)麻醉。动物仰卧位固定后, 打开胸腔, 迅速取出心脏, 置于4 °C肝素化的生理盐水中, 然后置于Langendorff灌流架上进行主动脉逆向灌流(5~10 mL/min)。无钙台氏液灌流1~2 min, 充分冲洗冠脉内残血, 继而用含0.04%胶原酶II的无钙台氏液灌注15~20 min, 最后用KB液冲洗残酶3~4 min。将心脏从Langendorff装置上取下, 剪取心室置于KB液中剪碎, 用粗头吸管吹打, 室温(15~25 °C)下于KB液中静置, 1~2 h后采用逐级复钙的方法分3次使心肌细胞外液中的Ca<sup>2+</sup>浓度达到正常生理水平([Ca<sup>2+</sup>]=1.8 mmol/L), 然后用于电生理实验。整个灌流系统温度保持在37 °C, 所有液体均以纯氧饱和。

### 1.4 电生理膜片钳记录

所有电生理膜片钳记录均在室温下进行。膜片钳放大器采用EPC-10(德国HEKA公司), 采样频率为10 kHz, 滤波为2.5 kHz。膜片钳电极由水平电极拉制仪(美国Sutter公司)经多步程序拉制而成, 使用抛光

仪进行抛光。充满电极内液后,测得电极电阻值为2~4兆欧。HEK293细胞使用打孔全细胞膜片钳方法。打孔所使用的两性霉素B在每次实验前现用现配,电极液中终浓度为250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。串联电阻补偿60%~80%。记录HEK293细胞时所用电极内液成分为:KCl 150 mmol/L、HEPES 10 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  5 mmol/L,用KOH调pH至7.4;细胞外液成分为:NaCl 160 mmol/L、KCl 2.5 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  1 mmol/L、 $\text{CaCl}_2$  2 mmol/L、葡萄糖10 mmol/L、HEPES 20 mmol/L,用NaOH调pH至7.4。记录豚鼠心室肌IKs电流时所用的电极内液成分为:KCl 140 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  1 mmol/L、MgATP 4 mmol/L、EGTA 5 mmol/L、HEPES 10 mmol/L,用KOH调pH至7.4;细胞外液成分为:NaCl 132 mmol/L、KCl 4 mmol/L、 $\text{CaCl}_2$  1.2 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  1.2 mmol/L、葡萄糖5 mmol/L、HEPES 10 mmol/L,用NaOH调pH至7.4。钳制电压在-30 mV,使 $\text{Na}^+$ 通道失活。细胞外液中加入尼莫地平(Nim, 1  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),阻断L-型 $\text{Ca}^{2+}$ 通道;加入5  $\mu\text{mol}/\text{L}$  E-4031,阻断快激活延迟整流钾电流 $\text{IKr}$ 。灌流槽中液体流速为1~2 mL/min,采用BPS-8系统控制给药。在室温条件下完成各项记录。

### 1.5 豚鼠乳头肌标本的制备及动作电位记录

雌性豚鼠击晕后迅速开胸,取出心脏,置于0  $^{\circ}\text{C}$ 充有95%  $\text{O}_2$ 、5%  $\text{CO}_2$ 的台式液中,用眼科剪沿室间隔剪开右心室壁,取出长约1 cm的柱状乳头肌并用不锈钢针固定于灌流槽中,用充有95%  $\text{O}_2$ 、5%  $\text{CO}_2$ 混合气饱和的台式液恒温36  $^{\circ}\text{C}$ 、恒速4 min/mL灌流。台式液组成:NaCl 140 mmol/L、KCl 5.4 mmol/L、 $\text{MgCl}_2$  1 mmol/L、 $\text{CaCl}_2$  2 mmol/L、HEPES 10 mmol/L、

葡萄糖10 mmol/L。灌流1 h后,用外覆绝缘漆的不锈钢针制成的双极电极为刺激电极,平行置于标本两端约2 mm处,用内充饱和KCl(3 mol/L)的玻璃电极(阻抗10~20兆欧)扎入标本浅层,调整电极,使静息电位显示为-90~-80 mV,以电子刺激器(成都仪器厂)产生的方波刺激乳头肌,刺激强度约为阈强度的1.5倍,频率0.5 Hz,激发出动作电位并稳定1 h,然后给药并记录动作电位。对动作电位 $\text{APD}_{20}$ 、 $\text{APD}_{50}$ 和 $\text{APD}_{90}$ 进行数据分析。

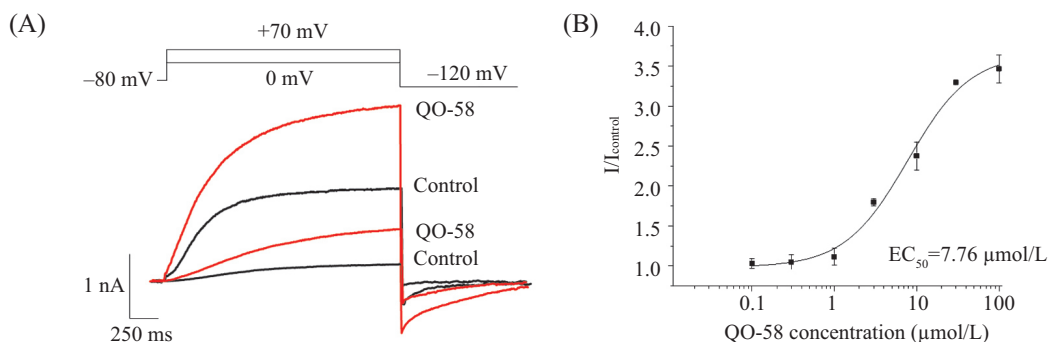
### 1.6 数据统计和分析

采用OriginPro 7.5(美国Origin Lab公司)和Adobe Illustrator 10等软件进行数据分析及图像处理。所有实验数据均以平均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ S.E.M.)表示。量效关系曲线由logistic公式进行拟合,公式如下: $y=A_2+(A_1-A_2)/[1+(x/x_0)^p]$ ,其中y代表效应,A1和A2分别代表最大与最小效应,x代表药物浓度,p为Hill系数。通道的电导-电压关系曲线用Boltzmann方程: $I(V)=I_{\text{max}}/[1+\exp\{(V_{1/2}-V)/k\}]$ 拟合后所得,I(V)为在测试电压V下标准化的尾电流幅值, $V_{1/2}$ 为半数激活电压,k为斜率常数, $I_{\text{max}}$ 为最大的标准化的尾电流幅值。采用配对/非配对t检验(Student's paired/unpaired t test)对所得数据进行统计分析, $P<0.05$ 时为两组之间的差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 QO-58增大KCNQ1/KCNE1通道电流

首先,记录QO-58对瞬时转染表达于HEK293细胞上的KCNQ1/KCNE1通道电流的作用。图2A显示,细胞首先钳制在-80 mV,然后去极化至0 mV

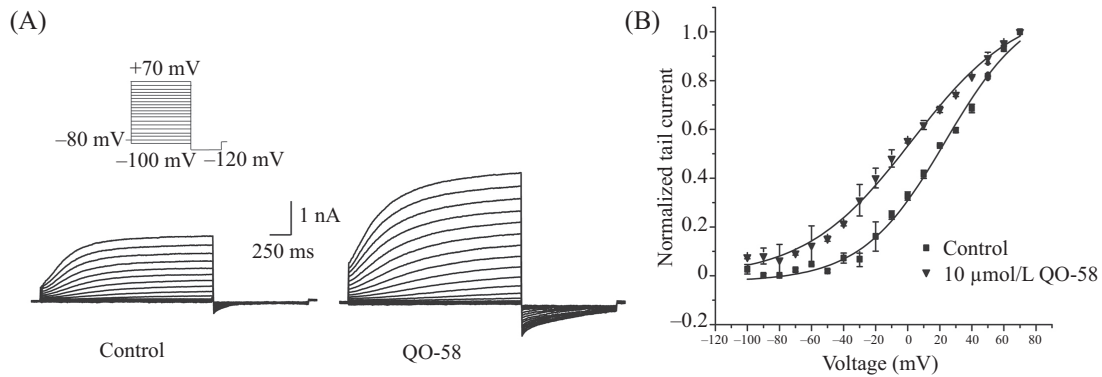


A: 对照及给予10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  QO-58时HEK293细胞KCNQ1/KCNE1典型电流图; B: QO-58增大0 mV激活电压下KCNQ1/KCNE1电流的量效曲线。

A: representative KCNQ1/KCNE1 current traces recorded from HEK293 cells in control and in the presence of 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  of QO-58; B: concentration-response curve for QO-58 on KCNQ1/KCNE1 currents activated at 0 mV.

图2 QO-58对表达于HEK293细胞上KCNQ1/KCNE1通道电流的作用

Fig.2 The effect of QO-58 on KCNQ1/KCNE1 channel currents expressed in HEK293 cells



A: 对照及给予10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58时去极化电压引发系列KCNQ1/KCNE1电流(钳制于-80 mV, 从-100 mV以10 mV电压幅度增加至+70 mV); B: 对照及给予QO-58时KCNQ1/KCNE1通道电流激活曲线。

A: series of KCNQ1/KCNE1 currents elicited by depolarizing voltage steps (hold at -80 mV, in 10 mV incremental voltage steps from -100 mV to +70 mV) in control and in the presence of 10  $\mu\text{mol/L}$  of QO-58; B: the activation curves of KCNQ1/KCNE1 channel were generated in control and in the presence of QO-58.

图3 QO-58对KCNQ1/KCNE1通道电流激活曲线的作用

Fig.3 The effect of QO-58 on KCNQ1/KCNE1 channel activation curves

及+70 mV, 最后再复极化至-120 mV以激活典型KCNQ1/KCNE1通道电流, 表现为电压依赖性的外向电流, 激活缓慢, 非失活, 快速去活。外液中给予10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58引发KCNQ1/KCNE1通道0 mV及+70 mV激活电流与去活尾电流双双发生明显增大(图2A)。此外, QO-58浓度依赖性地增大KCNQ1/KCNE1通道电流, 所得结果采用Logistic方程拟合,  $EC_{50}$ 值为 $7.7 \pm 1.9 \mu\text{mol/L}$ , Hill系数为 $1.1 \pm 0.3$ (图2B)( $n=6$ )。

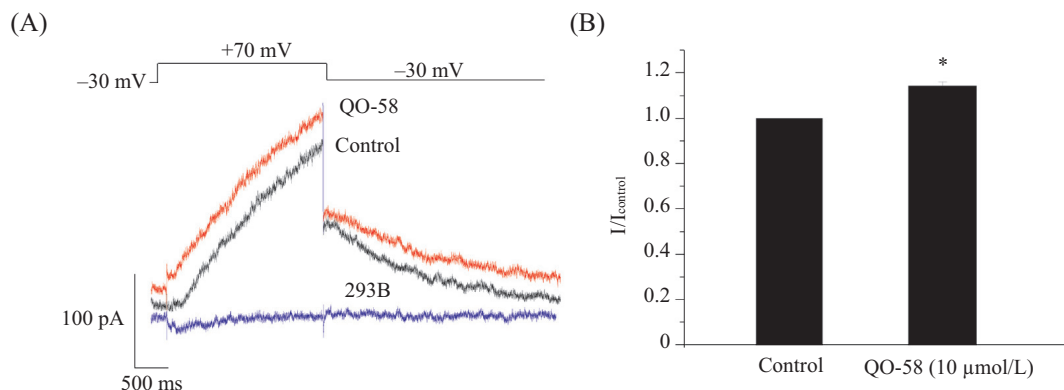
## 2.2 QO-58引起KCNQ1/KCNE1通道电流电压关系曲线向超极化方向移动

图3A显示, 细胞首先被钳制在-80 mV, 然后从-100 mV以10 mV阶距逐步增加去极化电压, 直

至+70 mV电压水平, 然后复极化到-120 mV。外液中给予10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58后, 可见各激活电压下, KCNQ1/KCNE1通道电流均被增大。我们将不同激活电压下所得到的去活尾电流统一进行标准化, 然后用Boltzmann方程对其进行拟合, 得到KCNQ1/KCNE1通道电流-激活电压关系曲线(即通道I-V曲线)。10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58引起KCNQ1/KCNE1通道激活电压向超极化方向移动, 半数激活电压 $V_{1/2}$ 由 $23.5 \pm 3.1 \text{ mV}$ 左移至 $2.5 \pm 1.8 \text{ mV}$ (图3B)( $n=5$ )。

## 2.3 QO-58轻微增大豚鼠心室肌IKs通道电流

接下来记录QO-58对表达于豚鼠心室肌的IKs通道电流的作用。采用图4A中电压刺激程序以记录豚鼠心室肌的IKs通道电流。细胞外液中加入



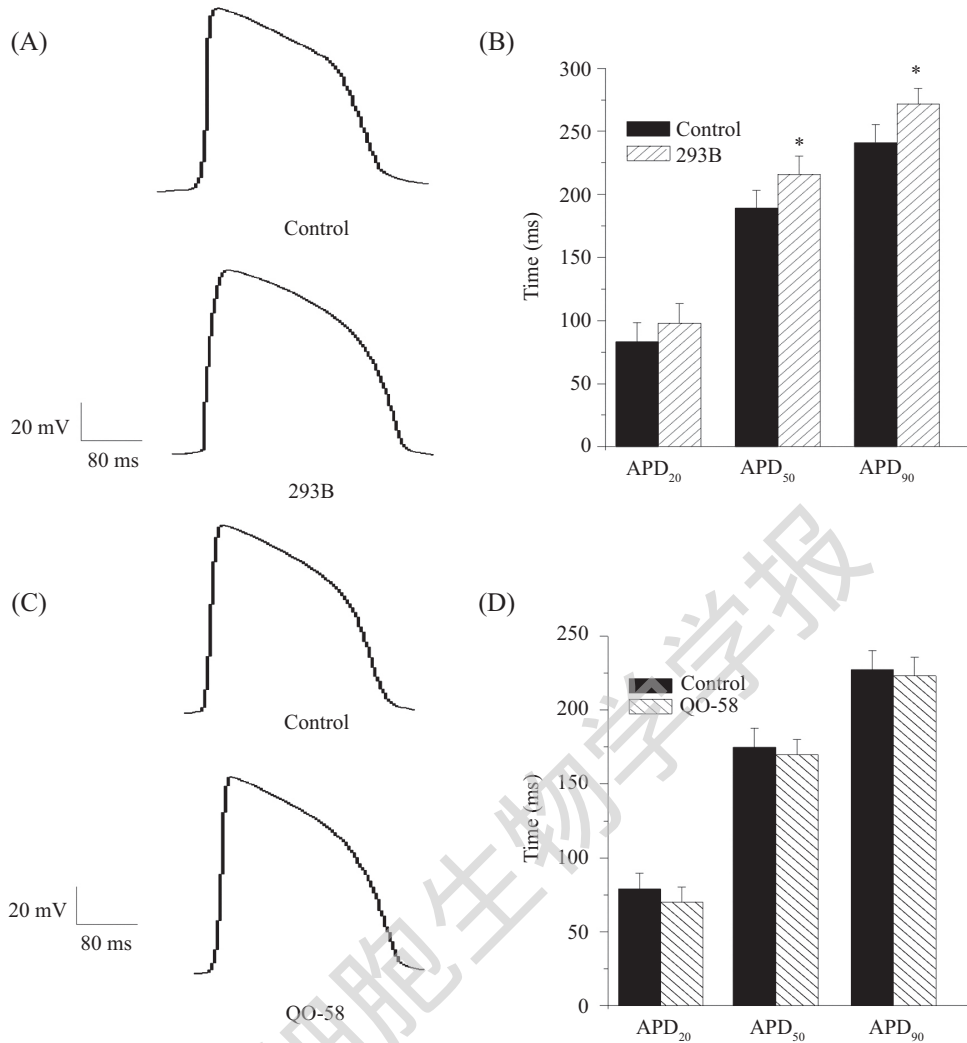
A: 对照及给予10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58时心肌细胞IKs典型电流图; B: A图的数据统计(\* $P < 0.05$ , 与对照组比较)( $n=5$ )。

A: representative IKs current traces recorded from guinea pig myocytes in control and in the presence of 10  $\mu\text{mol/L}$  of QO-58; B: summary data for A (\* $P < 0.05$  compared with control group) ( $n=5$ ).

图4 QO-58对表达于豚鼠心肌细胞上IKs电流的作用

Fig.4 The effect of QO-58 on IKs currents expressed in guinea pig myocytes





A, C: 采用0.5 Hz刺激频率记录典型豚鼠乳头肌动作电位图。给药前及给予15 min Chromanol 293B或QO-58后记录动作电位; B, D: 图A和C中动作电位时程参数的数据统计(\* $P < 0.05$ , 与对照组比较)( $n = 10$ )。

A, C: representative recordings of action potential in guinea pig papillary muscles stimulated at frequencies of 0.5 Hz. Action potentials were recorded before and 15 min after the application of Chromanol 293B or QO-58; B, D: summary for the effects on the parameters of action potential of A and C, respectively (\* $P < 0.05$  compared with control group) ( $n = 10$ ).

图5 QO-58对豚鼠乳头肌动作电位时程的作用

Fig.5 The effect of QO-58 on action potential duration of guinea pig papillary muscles

E-4031(5  $\mu\text{mol/L}$ )阻断IKr, 加入Nimodipine(1  $\mu\text{mol/L}$ )阻断I<sub>Ca,L</sub>, 钳制电压设定为-30 mV, 使钠通道失活, 然后去极化至+70 mV, 最后再复极化至-30 mV以激活典型IKs通道电流。结果显示, 10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58能够显著增强IKs通道去极化外向电流及复极时的尾电流, IKs特异性阻断剂Chromanol 293B(30  $\mu\text{mol/L}$ , 图中以293B表示, 下同)可基本取消外向尾电流, 用来鉴别记录到的电流的特异性(图4A)。统计结果显示, 10  $\mu\text{mol/L}$  QO-58增大IKs电流幅度为14.3%(图4B)。

#### 2.4 QO-58对豚鼠乳头肌动作电位时程无显著影响

考虑到IKs通道在心肌细胞动作电位复极过程中发挥重要作用, 我们观察了QO-58对豚鼠乳头肌

动作电位时程的作用。图5的结果显示, QO-58(100  $\mu\text{mol/L}$ )略微缩短豚鼠乳头肌动作电位时程, 但无显著性差异。而阳性对照药Chromanol 293B(30  $\mu\text{mol/L}$ )则可以显著延长动作电位时程。

### 3 讨论

本研究表明, 化合物QO-58能够浓度依赖性地增大KCNQ1/KCNE1通道电流, 并且引起KCNQ1/KCNE1通道电流电压关系曲线向超极化方向移动。QO-58能够微弱地增大豚鼠心室肌IKs通道电流, 但对豚鼠乳头肌动作电位时程无显著影响。

研究和开发KCNQ钾通道的功能开放剂对于

治疗神经过度兴奋相关疾病(如癫痫和疼痛等)具有重要的意义<sup>[9]</sup>。KCNQ通道调节剂已成为世界各大制药公司竞相研发的目标。为了找到具有自主知识产权、全新化学结构的KCNQ通道开放剂,我们合成了一系列吡啶并[1,5-a]嘧啶酮类化合物。这一系列化合物具有激活KCNQ通道作用<sup>[10]</sup>。前期工作中,我们对先导化合物QO-58调节KCNQ通道作用特点进行了研究和报道,结果提示,QO-58是个强效的KCNQ通道激动剂,并且QO-58作用位点不同与以往已知的激动剂作用位点。QO-58能够提高大鼠坐骨神经慢性压迫性神经性疼痛模型疼痛阈值,具有开发为治疗神经过度兴奋相关疾病疼痛的潜力<sup>[8]</sup>。

前期工作发现,QO-58浓度依赖性增大KCNQ1通道电流,EC<sub>50</sub>值为7.0±1.0 μmol/L。KCNE1(MinK)亚基作为一个辅助亚单位,与KCNQ1共同构成心脏IKs通道<sup>[11]</sup>。本文研究结果发现,QO-58同样能够显著增大KCNQ1/KCNE1通道电流,EC<sub>50</sub>值为7.7±1.9 μmol/L。目前已报道多种KCNQ1通道开放剂,但这些开放剂在KCNQ1和KCNQ1/KCNE1通道中的选择性不同。R-L3和Znpy能够开放KCNQ1通道,但对KCNQ1/KCNE1通道电流无影响<sup>[12-13]</sup>。而QO-58、甲灭酸、DIDS、PBA和HCP则对KCNQ1和KCNQ1/KCNE1通道电流都具有增大作用<sup>[12]</sup>。

KCNQ1或者KCNE1基因突变均能产生先天性长QT间期综合征<sup>[2]</sup>,因此,QO-58是否能够增大心肌细胞IKs通道电流是新药研发中的重要问题。本文结果显示,QO-58能够显著增大KCNQ1/KCNE1通道电流,却微弱地激活豚鼠心室肌IKs通道电流。心室肌细胞KCNE基因目前已发现五种亚基,分别为KCNE1-5。研究认为,在人的心脏KCNE的表达量依次是KCNE1>KCNE4>KCNE5~KCNE3>>KCNE2。KCNE1-5这五种亚基对KCNQ1功能调节作用各不相同<sup>[11]</sup>。因此,QO-58对心室肌IKs电流的敏感性可能与表达系统KCNQ1/KCNE1电流不同。

QO-58对豚鼠乳头肌动作电位时程并无显著性影响,这一结果一方面提示QO-58可能对其他类型离子通道(如Ca<sup>2+</sup>通道)也有作用,另一方面也提示

QO-58心脏电生理毒性较低,具有进一步研发成为治疗兴奋性增强等相关疾病的新型药物的潜力。

### 参考文献 (References)

- 1 Schwarz JR, Glassmeier G, Cooper EC, Kao TC, Nodera H, Tabuena D, *et al.* KCNQ channels mediate IKs, a slow K<sup>+</sup> current regulating excitability in the rat node of Ranvier. *J Physiol* 2006; 573(Pt 1): 17-34.
- 2 Marquez MF, Ramos-Kuri M, Hernandez-Pacheco G, Estrada J, Fabregat JR, Perez-Vielma N, *et al.* KCNQ 1 (KvLQT1) missense mutation causing congenital long QT syndrome (Jervell-Lange-Nielsen) in a Mexican family. *Arch Cardiol Mex* 2006; 76(3): 257-62.
- 3 Nattel S, Maguy A, Le Bouter S, Yeh YH. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: Heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation. *Physiol Rev* 2007; 87(2): 425-56.
- 4 Hothi SS, Killeen MJ. The role of IKs in atrial arrhythmogenesis. *J Physiol* 2008; 586(4): 927-8.
- 5 Brown DA, Passmore GM. Neural KCNQ (Kv7) channels. *Br J Pharmacol* 2009; 156(8): 1185-95.
- 6 Orhan G, Wuttke TV, Nies AT, Schwab M, Lerche H. Retigabine/Ezogabine, a KCNQ/K(V)7 channel opener: Pharmacological and clinical data. *Expert Opin Pharmacother* 2012; 13(12): 1807-16.
- 7 Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Biton V, French JA, Abou-Khalil B, Rosenfeld WE, Diventura B, *et al.* Kv7 potassium channel activation with ICA-105665 reduces photoparoxysmal EEG responses in patients with epilepsy. *Epilepsia* 2013; 54(8): 1437-43.
- 8 Zhang F, Mi Y, Qi JL, Li JW, Si M, Guan BC, *et al.* Modulation of K(v)7 potassium channels by a novel opener pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-one compound QO-58. *Br J Pharmacol* 2012; 168(4): 1030-42.
- 9 Sawada K. KCNQ channels. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2006; 128(1): 50-2.
- 10 Jia C, Qi J, Zhang F, Mi Y, Zhang X, Chen X, *et al.* Activation of KCNQ2/3 potassium channels by novel pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7(4H)-one derivatives. *Pharmacology* 2011; 87(5/6): 297-310.
- 11 Mruk K, Kobertz WR. Discovery of a novel activator of KCNQ1-KCNE1 K channel complexes. *PLoS One* 2009; 4(1): e4236.
- 12 Gao Z, Xiong Q, Sun H, Li M. Desensitization of chemical activation by auxiliary subunits: Convergence of molecular determinants critical for augmenting KCNQ1 potassium channels. *J Biol Chem* 2008; 283(33): 22649-58.
- 13 Nissen JD, Diness JG, Diness TG, Hansen RS, Grunnet M, Jespersen T. Pharmacologically induced long QT type 2 can be rescued by activation of IKs with benzodiazepine R-L3 in isolated guinea pig cardiomyocytes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54(2): 169-77.