

EP-1 包合物制备及其对布氏田鼠繁殖器官的影响

王大伟^{1 2} 刘琪³ 刘明² 李宁¹ 黄宝欢¹ 刘晓辉^{*}

(1 中国农业科学院植物保护研究所, 杂草害鼠生物学与治理重点开放实验室, 北京 100193)

(2 中国科学院动物研究所, 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

(3 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 农业部旱作节水农业重点开放实验室, 北京 100081)

摘要: EP 系列鼠类不育剂的主要成分——左炔诺孕酮和炔雌醚在常温下难溶于水, 给研究和应用造成很大不便。本研究利用 2-羟丙基- β -环糊精 (HPCD) 提高了 EP 不育剂的水溶性, 制备包合物; 设置 4 个浓度梯度的 EP-1 包合物水溶液, 分别对雌性布氏田鼠进行灌胃, 并在第 2 周和第 4 周测量繁殖器官指标, 评价不育效果。结果表明, 在 20% 的 HPCD 水溶液中, 左炔诺孕酮和炔雌醚的溶解度分别可达约 4 mg/mL 和 0.5 mg/mL; 在第 2 周, 2 mg/kg EP-1 灌胃组雄鼠的繁殖器官受到了明显抑制, 但各剂量组雌鼠未表现出明显影响。本研究结果说明, HPCD 与 EP-1 可通过形成包合物, 显著增加其常温下的溶解度; EP-1 包合物对雄性布氏田鼠的繁殖器官有抑制效果, 但是对雌鼠作用不明显。本研究结果表明包合作用未影响 EP 系列不育剂的不育效果。

关键词: 2-羟丙基- β -环糊精; 左炔诺孕酮; 炔雌醚; 包合物; 布氏田鼠; 不育控制

中图分类号: Q494

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2011) 01-0079-05

Preparation of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion with Levonorgestrel and Quinestrol (EP-1) and its influence on the reproductive organs Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*)

WANG Dawei^{1 2}, LIU Qi³, LIU Ming², LI Ning¹, HUANG Baohuan¹, LIU Xiaohui^{*}

(1 Key Laboratory of Weed and Rodent Biology and Management, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

(2 State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China)

(3 Key Laboratory of Dryland Farming and Water-saving Agriculture MOA, Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: EP series rodent contraception is mainly composed of levonorgestrel and quinestrol. However, neither component do not readily dissolves in water, which limits the precision of research and application. In the present study, solubilization was measured in hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) inclusion complexes of levonorgestrel and quinestrol, respectively. Afterwards, the effects of treatment times (after 2 and 4 weeks) and doses (0, 1, 2, 4 mg/kg) of EP-1 inclusion complexes on reproductive organs were investigated using a gastric gavage method. The results showed that the solubility of levonorgestrel and quinestrol reached 4 mg/mL and 0.5 mg/mL in 20% aqueous HPCD solution, respectively. For females, there were no significant differences after 2 or 4 weeks between the control and treatment groups that received gavage. For males, the average weight of reproductive organs of the group that received gavage for 2 weeks of 2 mg/kg group was less than that of the control group. Our results indicate that the solubility of EP-1 was significantly enhanced by forming inclusion complexes with HPCD; the suppressive effects on reproduction in male Brandt's voles is more obvious than those in females. Moreover, inclusion did not affect the anti-fertility effect of EP-1.

Key words: Antifertility control; HPCD; Inclusion complex; *Lasiopodomys brandtii*; Levonorgestrel; Quinestrol

基金项目: 国家重点基础研究发展计划“973”资助项目 (2007CB109104); 农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室开放研究基金资助项目 (ChineseIPM0804); 中国农业科学院植物保护研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (2009YW15)

作者简介: 王大伟 (1981-), 男, 助理研究员, 博士, 主要从事动物行为和生理生态学研究。

收稿日期: 2010-01-14; 修回日期: 2010-09-27

* 1904, 2012, China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

通讯作者, Corresponding author, E-mail: lxiaohui2000@163.com

利用不育技术来控制有害动物的概念提出于上世纪30年代,最初主要用于有害昆虫的治理。Knippling (1959, 1960) 和 Davis (1961) 将其引入鼠类防治后,不育理论和技术在该领域得到持续关注 and 长足发展 (Marsh, 1988; 张知彬, 1995)。鼠类不育控制的主要原理是通过直接造成害鼠群体中部分个体不育,以及间接利用不育个体对正常个体的繁殖干扰,起到降低整个种群繁殖率的目的 (张知彬, 1995; 张知彬等, 2001)。与传统单纯灭杀技术相比,不育技术一方面避免急性剧毒化学灭鼠剂造成的生态安全和动物福利等问题,另一方面可解决慢性抗凝血灭鼠剂带来的抗药性或耐药性问题,因此在鼠害防控中具有极大的潜力和发展前途。EP系列不育剂是一种新型双性不育剂,主要成分为左炔诺孕酮和炔雌醚,EP-1是两种成分以2:1配比制成的混合物,已证明可对多种鼠类产生不同程度的繁殖抑制效果 (张知彬等, 2004, 2005, 2006; 宛新荣等, 2006; 霍秀芳等, 2007)。但是,左炔诺孕酮和炔雌醚在常温下几乎不溶于水 (国家药典委员会, 2005),只能与水或食用油配制成悬浊液使用,这给精确定量研究带来了很大困难。

2-羟丙基- β -环糊精 (HPCD) 是 β -环糊精 (β -CD) 的衍生物,由葡萄糖残基形成筒状结构,具有外亲水内疏水的独特构象,可与难溶化合物形成复合物超分子体系,起到增溶作用 (Szetjli, 1998; 代国飞和王明伟, 2005)。由于环糊精及其衍生物无毒副作用,因此在药物制剂中应用广泛 (王亚南和王洪权, 2006; Trapani *et al.*, 2005)。本文研究了HPCD对左炔诺孕酮和炔雌醚的增溶效果,建立了EP-1主成份的单体及包合物检测方法,并检测其包合物水溶液对布氏田鼠繁殖器官的影响。

1 研究方法

1.1 包合物制备与溶解度测定

1.1.1 测试方法确定及标准曲线绘制

利用紫外分光光度法 (紫外可见分光光度计, 岛津 UV-2550) 对 HPCD (纯度 99%, 购自日本 Wako 公司)、左炔诺孕酮和炔雌醚 (购自北京紫竹药业公司) 进行紫外吸收测定, 结果表明: 左炔诺孕酮和炔雌醚对紫外光的吸收值 λ_{\max} 240 nm 和 280 nm, HPCD 在这两个波长处均无吸收, 确定为检测波长。

配制浓度为 120.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左炔诺孕酮的无水乙醇溶液作为母液, 分别取 0.25 mL、1.00 mL、1.25 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL、6.00 mL 母液于 25 mL 容量瓶, 以无水乙醇定容, 充分摇匀, 在 240 nm 处测定吸收度, 以吸光度 (A) 对浓度 (C) 进行线性拟合。配制浓度为 149.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 炔雌醚的无水乙醇溶液作为母液。分别取 4.00 mL、5.00 mL、6.00 mL、7.00 mL、10.00 mL、15.00 mL、18.75 mL 母液于 25 mL 容量瓶, 以无水乙醇定容, 充分摇匀, 在 280 nm 处测定吸收度, 以吸光度 (A) 对浓度 (C) 进行线性拟合。

1.1.2 包合物的制备及检测

室温下, 配置两份 HPCD 水溶液, 再分别称取过量的两种药物分别加入, 超声分散 10 min, 磁力搅拌 48 h, 使包合作用达到平衡。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤除去不溶部分, 将溶液冷冻干燥, 即得到两种药物包合物的冻干剂粉末。冷冻保存, 备用。称取少量两种包合物粉末, 分别配置成低浓度的水溶液 (pH = 7.0), 进行紫外光谱扫描。

1.1.3 溶解度测定

配制浓度为 0.02 g/mL、0.05 g/mL、0.10 g/mL、0.20 g/mL HPCD 的磷酸盐缓冲液溶液 (pH = 7.0), 量取一定体积的溶液于具塞试管中, 分别加入过量的两种药品, 超声分散 10 min。将具塞试管置于恒温振荡器上, 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 避光的条件下震荡 48 h, 至反应达到平衡。取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液稀释适当倍数后分别在 240 nm 和 280 nm 处测定吸光度, 并计算两种药物的含量。

1.2 EP-1 对雌雄布氏田鼠繁殖器官的影响

1.2.1 实验鼠及分组

实验所用布氏田鼠来自中国农业科学院植物保护研究所的实验室种群。选择成年 (体重 > 25 g) 健康个体单独饲养, 饲料和饮水供应充分, 光照条件 14L: 10D。实验用雌雄个体共计 96 只, 雌雄各半。雌雄各设置 2 个处理时间组和 4 个给药组: 0 mg/kg (即对照组, C 组, HPCD 水溶液)、1.0 mg/kg (I 组)、2.0 mg/kg (II 组)、4.0 mg/kg (III 组), 每组 6 只。

1.2.2 EP-1 溶液制备及给药方法

按 2:1 的比例将左炔诺孕酮和炔雌醚溶解于 20% 的 HPCD 水溶液中, 配制成 3 个浓度梯度的包合物溶液, 分别为: 1.0、2.0、4.0 mg/mL; 并以 20% 的 HPCD 水溶液为对照, 设置 4 个给药剂量

组,并保证各剂量组给予的溶液体积相同。给药过程分5 d进行,结束后以正常饲料饲养(北京科奥协力公司全价兔料),分别在2周和4周处死一半个体。

1.2.3 繁殖指标的测定

雄鼠指标为: 睾丸、附睾和储精囊相对重量(g/100 g 体重)、睾丸体积(4π × 长 × 宽²/3cm³),雌鼠指标为: 卵巢和子宫相对重量、子宫长(cm)。

1.3 统计分析

实验数据通过 SPSS 13.0 统计分析。采用 One-Way ANOVA 分析不同剂量的 EP-4 处理对繁殖器官重量的影响。差异显著水平: P < 0.05。

2 研究结果

2.1 两种药物标准曲线及 HPCD 对其溶解度的影响

2.1.1 标准曲线

左炔诺孕酮在浓度为 2.39 ~ 28.68 μg/mL 时的吸光度(A)对浓度(C)有良好的线性关系,线性回归方程为: A = 0.0567C + 0.0288, R² = 0.9995; 炔雌醚在浓度为 23.84 ~ 111.8 μg/mL 时的吸光度(A)对浓度(C)有良好的线性关系,线性回归方程为: A = 0.0065C - 0.0107, R² = 0.9999。

2.1.2 包合物紫外光谱检测

紫外光谱扫描的结果表明,与药物单体紫外吸收峰相比,其包合物紫外吸收光谱曲线几乎完全一致,只是药物包合物的 λ_{max} 有所偏移,但是最大吸

收波长发生的变化很小(Δλ = 2.0 nm左右)。因此,可以认为环糊精的存在基本不影响光吸收强度,校正曲线可用于包合物存在下吸光度的测定(双少敏等,1998; 杨云裳等,2004)。

2.1.3 溶解度测定

在 pH = 7.0 的磷酸盐缓冲液中,左炔诺孕酮和炔雌醚随不同浓度的 HPCD 溶液溶解度的变化如图 1 所示。可以看出,左炔诺孕酮和炔雌醚都与 HPCD 溶液的浓度呈线性正相关,HPCD 浓度(X, g/mL)和药物浓度(Y, μg/mL)之间的相溶解度曲线方程分别为: Y = 3185.1X + 6.089, R² = 0.9995; Y = 20460X - 269.15, R² = 0.9985(图 1)。在 20% 的 HPCD 中,左炔诺孕酮的浓度可达约 4 mg/mL,炔雌醚可达约 0.5 mg/mL。

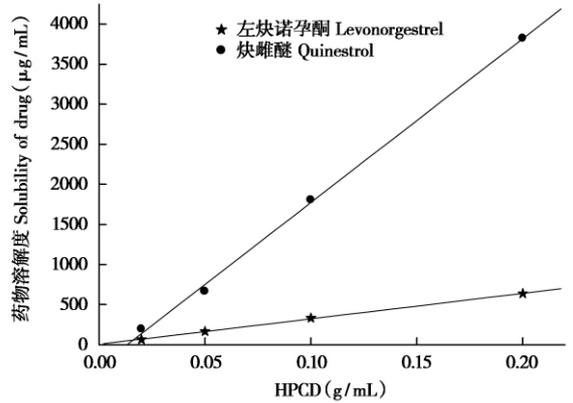


图 1 左炔诺孕酮和炔雌醚在 pH = 7.0 的 HPCD 溶液中的溶解度曲线

Fig. 1 The solubility curve of levonorgestrel and quinestrol of HPCD solution, pH = 7.0

表 1 不同剂量 EP-4 的 HPCD 包合物灌胃 2 周和 4 周后雄性布氏田鼠的繁殖器官指数(平均值 ± 标准误)

Table 1 The reproductive organs of male Brandt's voles 2 and 4 weeks after treated by HPCD inclusion with EP-4 (Mean ± SE)

Table with 5 columns: Organ, C, I, II, III. Rows include Testis, Epididymides, Seminal vesicle, and Volume of testicle for both 2 weeks and 4 weeks.

同行中不同字母表示组间差异显著(P < 0.05); C: 对照组; I: 1.0 mg/kg; II: 2.0 mg/kg; III: 4.0 mg/kg

Different superscripts in each row indicate significant differences (P < 0.05); C: Control; I: 1.0 mg/kg; II: 2.0 mg/kg; III: 4.0 mg/kg

2.2 EP-1 的 HPCD 包合物对雌雄布氏田鼠繁殖器官的影响

2.2.1 雄鼠

与对照组相比, 2 周处理组中, 1.0 mg/kg 组仅储精囊相对重量显著降低, 2.0 mg/kg 组附睾、储精囊相对重量均显著降低 (附睾 $P = 0.026$, 储精囊 $P = 0.012$), 睾丸体积显著减小 ($P = 0.041$), 4.0 mg/kg 组未出现显著差异; 4 周处理

组中, 各指数均未表现出显著差异。结果说明, EP-1 不育剂的 HPCD 包合物对雄性布氏田鼠具有一定的繁殖抑制作用。

2.2.2 雌鼠

与对照组相比, 2 周和 4 周的不同剂量处理组雌鼠繁殖器官均未表现出显著差异, 说明 EP-1 不育剂的 HPCD 包合物对雌性布氏田鼠繁殖器官无明显的抑制作用。

表 2 不同剂量 EP-1 的 HPCD 包合物灌胃 2 周和 4 周后雌性布氏田鼠的繁殖器官指数 (平均值 \pm 标准误)

Table 1 The reproductive organs of female Brandt's voles 2 and 4 weeks after treated by HPCD inclusion with EP-1 (Mean \pm SE)

	2 周 Two weeks			
	C	I	II	III
卵巢 Ovaries (mg)	22.3 \pm 1.4 ^a	19.6 \pm 2.0 ^a	19.5 \pm 1.9 ^a	21.5 \pm 1.6 ^a
子宫 Uterus (g)	0.159 \pm 0.0418 ^a	0.2051 \pm 0.0664 ^a	0.1513 \pm 0.0280 ^a	0.1580 \pm 0.0321 ^a
子宫长 Length of Uterus (cm)	5.97 \pm 0.22 ^a	5.90 \pm 0.38 ^a	5.78 \pm 0.40 ^a	5.72 \pm 0.18 ^a
	4 周 Four weeks			
	C	I	II	III
卵巢 Ovaries (mg)	22.3 \pm 1.0 ^a	22.6 \pm 2.1 ^a	23.4 \pm 3.2 ^a	21.8 \pm 1.3 ^a
子宫 Uterus (g)	0.0876 \pm 0.0203 ^a	0.1497 \pm 0.0431 ^a	0.0816 \pm 0.0227 ^a	0.0834 \pm 0.0119 ^a
子宫长 Length of Uterus (cm)	4.798 \pm 0.157 ^a	4.549 \pm 0.367 ^a	4.744 \pm 0.241 ^a	4.725 \pm 0.084 ^a

同行中不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$); C: 对照组; I: 1.0 mg/kg; II: 2.0 mg/kg; III: 4.0 mg/kg

Different superscripts in each row indicate significant differences ($P < 0.05$); C: Control; I: 1.0 mg/kg; II: 2.0 mg/kg; III: 4.0 mg/kg

3 讨论

2-羟丙基- β -环糊精对左炔诺孕酮和炔雌醚的包合作用可大幅提高其水溶性, 且其浓度随着环糊精浓度增加呈线性增加。包合物溶液的紫外扫描图谱与单体吸收图谱几乎一致, 说明此增溶过程不是通过药物间的化学变化, 而是通过物理作用完成的。HPCD 通过其疏水空腔, 在范德华力、氢键和疏水力的作用下, 将客体分子动态地包入, 形成复合物超分子体系, 并借助其外表面亲水性来提高有机分子的水溶性 (Szetjli, 1998)。

本研究结果表明, 当 EP-1 的 HPCD 包合物给药剂量为 2 mg/kg 时, 雄性布氏田鼠表现出繁殖器官萎缩的现象, 但是各剂量组的雌鼠与对照组相比繁殖器官未出现明显差异。这说明, EP-1 的 HPCD 包合物对雄性布氏田鼠的繁殖器官有一定的抑制作用, 但是对雌鼠的作用不明显, 这与以前利用药物单体的研究报道类似 (Zhao *et al.*, 2007)。同时, 这也说明 EP-1 的主成份在与 HPCD 形成包合物的同时, 仍然保留了药物本身的不育效果。EP-1 不育剂的主要作用通路是通过下丘脑-垂体-性腺轴起作用。对雌鼠可抑制卵泡发育及正常排卵过程,

并使子宫内膜变薄, 影响正常激素分泌, 从而抑制胚胎着床; 而对雄鼠可引起性腺萎缩、繁殖力降低和抑制精子发生 (张知彬等, 2005, 2006; 霍秀芳等, 2007)。左炔诺孕酮首先起作用, 而炔雌醚可以储存在脂肪中, 缓慢释放, 可将不育过程持续到数月 (张知彬等, 2005)。另外, EP-1 的不育效果存在种间和性别差异。例如, EP-1 对灰仓鼠 (*Cricetulus migratorius*)、子午沙鼠 (*Meriones meridianus*)、雄性大仓鼠 (*Tscheskia triton*)、长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) 和雌性黑线毛足鼠 (*Phodopus campbelli*) 的繁殖抑制效果较为明显 (张知彬等, 2004, 2005, 2006; 宛新荣等, 2006), 而雄性黑线毛足鼠则不表现出明显的反应 (宛新荣等, 2006)。这可能是由于左炔诺孕酮和炔雌醚在不同鼠种和性别间的作用有所不同所致, Zhao 等 (2007) 报道, 雌雄布氏田鼠对单独使用炔雌醚处理的响应效果最好, 而对 EP-1 和单独左炔诺孕酮处理则无明显响应。

致谢: 张进华和高丽梅协助饲养和繁育布氏田鼠室内种群, 并参与布氏田鼠解剖工作, 谨表谢意。

参考文献:

- Dai G F, Wang M W. 2005. Progress in pharmaceutical applications of cyclodextrin and its derivatives. *Chinese Journal of New Drugs*, **14** (11): 1261. (in Chinese)
- Davis D E. 1961. Principles for population control by gametocides. *Trans N Am Wildl Conf*, **26**, 160.
- Huo X F, Shi D Z, Wang D. 2007. Effect of levonorgestrel-quinestrol in fertility of female Mongolia gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Acta Phytolacica Sinica*, **34** (3): 321-325. (in Chinese)
- Knipling E F. 1959. Sterile male method of population control. *Science*, **130**: 902-904.
- Knipling E F. 1960. Use of insects for their own destruction. *J Econ Entomol*, **53** (3): 415-420.
- Marsh R E. 1988. Chemosterilants for rodent control. In: Prakash I ed. *Rodent Pest Management*. Boca Raton: CRC Press, 353-367.
- Szefli J. 1998. Introduction and general overview of cyclodextrin. *Chem Rev*, **98** (5): 1743-1753.
- Shuang S M, Guo S Y, Pan J H, Li L, Cai M Y. 1998. Study on the inclusion complex between rutin and β -cyclodextrin by phase solubility method. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **26** (5): 564-567. (in Chinese)
- Trapani A, Lopodota A, Denora N, Laquintana V, Franco M, Latrofa A, Trapani G, Liso G. 2005. A rapid screening tool for estimating the potential of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation for solubilization purposes. *Int J Pharm*, **295** (1-2): 163-175.
- Wan X R, Shi Y S, Bao X, Guan Q G, Yu C, Wang G H, Liu W, Zhang Z B, Zhong W Q, Jiao Y S, Hasi Q M G. 2006. Effect of the contraceptive compound (EP-1) on reproduction of the Djungarian hamster (*Phodopus campbelli*) in the typical steppe. *Acta Theriologica Sinica*, **26** (4): 392-397. (in Chinese)
- Wang Y N, Wang H Q. 2006. The solubilization effect of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin on lornoxicam. *Pham J Chin PLA*, **22** (2): 146-148. (in Chinese)
- Yang Y S, Shi G F, Lu R H. 2004. Effect of cyclodextrins on the solubility of flavonol veronicafolin in water. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, **21** (11): 1190-1192. (in Chinese)
- Zhang Z B. 1995. The ecological fundamentals of rodent control by contraception. *Acta Theriologica Sinica*, **15** (3): 229-234. (in Chinese)
- Zhang Z B, Zhang J X, Wang F S, Wang Y S, Wang Y Q, Cao X P. 2001. Effect of imposed sterility and removal on reproductivity and population size of ratlike hamster in enclosures. *Acta Zoologica Sinica*, **47** (3): 241-248. (in Chinese)
- Zhang Z B, Liao L F, Wang S Q, Cao X P, Wang F S, Wang C, Zhang J X, Wan X R, Zhong W Q. 2004. Effect of a contraceptive compound (EP-1) on fertility of female Brandt's voles, gray hamsters and mid-day gerbils. *Acta Zoologica Sinica*, **50** (3): 341-347. (in Chinese)
- Zhang Z B, Wang Y S, Wang S Q, Wang F S, Cao X P, Zhang J X. 2005. Effect of a contraceptive compound on reproduction of greater long-tailed hamsters (*Tscherskia triton*) in experimental enclosures. *Acta Theriologica Sinica*, **25** (3): 269-272. (in Chinese)
- Zhang Z B, Zhao M R, Cao X P, Wang Y L, Wang F S, Zhang J X. 2006. Effects of a contraceptive compound (EP-1) on reproductive organs of male greater long-tailed hamsters (*Tscherskia triton*). *Acta Theriologica Sinica*, **26** (3): 300-302. (in Chinese)
- Zhao M R, Liu M, Li D, Wan X R, Hinds L A, Wang Y L, Zhang Z B. 2007. Anti-fertility effect of levonorgestrel and quinestrol in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Integrative Zoology*, **2** (4): 260-268.
- 双少敏, 郭汜远, 潘景浩, 李琳, 蔡妙颜. 1998. 相溶解度法测定 β -环糊精-芦丁包合物的形成常数. *分析化学*, **26** (5): 564-567.
- 王亚南, 王洪权. 2006. 2-羟丙基- β -环糊精对氯诺昔康的增溶作用. *解放军药学报*, **22** (2): 146-148.
- 代国飞, 王明伟. 2005. 环糊精及其衍生物的药学应用进展. *中国新药杂志*, **14** (11): 1261.
- 杨云裳, 史高峰, 鲁润华. 2004. 相溶解度法研究环糊精对黄酮醇溶解度的影响. *应用化学*, **11** (21): 1190-1192.
- 张知彬. 1995. 鼠类不育控制的生态学基础. *兽类学报*, **15** (3): 229-234.
- 张知彬, 张健旭, 王福生, 王玉山, 汪永庆, 曹小平. 2001. 不育和“灭杀”对围栏内大仓鼠种群繁殖力和数量的影响. *动物学报*, **47** (3): 241-248.
- 张知彬, 廖力夫, 王淑卿, 曹小平, 王福生, 王诚, 张健旭, 宛新荣, 钟文勤. 2004. 一种复方避孕药物对三种野鼠的不育效果. *动物学报*, **50** (3): 341-347.
- 张知彬, 王玉山, 王淑卿, 王福生, 曹小平, 张健旭. 2005. 一种复方避孕药物对围栏内大仓鼠种群繁殖力的影响. *兽类学报*, **25** (3): 269-272.
- 张知彬, 赵美蓉, 曹小平, 王雁玲, 王福生, 张健旭. 2006. 复方避孕药物 (EP-1) 对雄性大仓鼠繁殖器官的影响. *兽类学报*, **26** (3): 300-302.
- 宛新荣, 石岩生, 宝祥, 关其格, 于成, 王广和, 刘伟, 张知彬, 钟文勤, 焦裕生, 哈斯其木格. 2006. EP-1 不育剂对黑线毛足鼠种群繁殖的影响. *兽类学报*, **26** (4): 392-397.
- 霍秀芳, 施大钊, 王登. 2007. 左炔诺孕酮-炔雌醚对长爪沙鼠的不育效果. *植物保护学报*, **34** (3): 321-325.