

红景天提取物与红景天苷体外抗氧化作用研究[△]

范桂强^{1*}, 齐善厚², 庞红霞¹, 王志杰², 孙金旭², 景园园²(1.衡水市食品药品检验检测中心, 河北衡水 053000; 2.衡水学院生命科学系, 河北衡水 053000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)13-1797-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.13.20

摘要 目的:对红景天提取物、红景天苷的体外抗氧化作用进行比较研究。方法:以抗氧化剂维生素C(VC)或2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)为对照,对不同质量浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg/L)的红景天提取物、红景天苷进行了·OH基清除率、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除率、H₂O₂清除率、油脂抗氧化及Fe³⁺还原能力试验,比较提取物与单体活性成分的体外抗氧化效果。结果:红景天苷、红景天提取物对·OH基、H₂O₂、DPPH自由基均有不同程度的清除作用,且红景天提取物>VC>红景天苷,三者60 mg/L时对·OH基、H₂O₂、DPPH自由基的清除率分别为92%、81.33%、79.51%、83.76%、72.69%、57.29%、43.70%、37.30%、28.53%;在油脂抗氧化试验中,作用大小为红景天提取物>BHT>红景天苷;还原能力试验中,相同浓度下,红景天提取物作用大于红景天苷,60 mg/L时,二者的Fe³⁺还原率分别为43.63%、16.18%。结论:红景天、红景天苷均具有较好的体外抗氧化作用,但红景天提取物的作用优于单体活性成分红景天苷,表明红景天提取物中的其他成分可能发挥其抗氧化的主导效果,而不仅是红景天苷。

关键词 红景天提取物;红景天苷;抗氧化;油脂抗氧化;Fe³⁺还原能力

Study on the Antioxidant Activity of *Rhodiola rosea* Extract and Salidroside *in vitro*

FAN Guiqiang¹, QI Shanhou², PANG Hongxia¹, WANG Zhijie², SUN Jinxu², JING Yuanyuan²(1.Hengshui Centre for Food and Drug Control, Hebei Hengshui 053000, China; 2.Dept. of Life Sciences, Hengshui College, Hebei Hengshui 053000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the antioxidant activity of *Rhodiola rosea* extract and salidroside *in vitro*. METHODS: The anti-oxidative activity of *R. rosea* extract (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 mg/L) and salidroside were compared, using strong antioxidant VC or 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) as control, by ·OH radical clearance rate, DPPH free radical scavenging rate, H₂O₂ clearance rate, oleic acid antioxidant capacity and Fe³⁺ reduction ability test. RESULTS: *R. rosea* extract and salidroside could clear up ·OH radical, H₂O₂ and DPPH free radical to different extents, with the clearance strength order as *R. rosea* extract>VC>salidroside; when the concentration of them was 60 mg/L, clearance rates of them to ·OH radical, H₂O₂ and DPPH free radical were 92%, 81.33% and 79.51%; 83.76%, 72.69% and 57.29%; 43.70%, 37.30% and 28.53%, respectively. In oleic acid antioxidant capacity test, antioxidant capacity was in descending order as *R. rosea* extract>BHT>salidroside. In Fe³⁺ reduction ability test, reduction ability of *R. rosea* extract was better than salidroside under the condition of same concentration; Fe³⁺ reduction rate of *R. rosea* extract and salidroside were 43.63% and 16.18% when their concentration reached 60 mg/L. CONCLUSIONS: Both *R. rosea* and salidroside show good antioxidant activity *in vitro*, but the antioxidant activity of *R. rosea* extract is better than that of salidroside, indicating other components of *R. rosea* extract may play a leading antioxidant effect besides salidroside.

KEYWORDS *Rhodiola rosea* extract; Salidroside; Antioxidant; Oleic acid antioxidant capacity; Fe³⁺ reduction ability

红景天为景天科、红景天属的多年生灌木或草本植物^[1],有补肾、养心、安神、益气活血、通脉平喘之效用^[2]。近年来,红景天以其独特的药理效果在临床中应用良好,常用于治疗冠心病、慢性疲劳症、慢性肾炎等病症,另对保护人体心脏及血管、改善身体功能、增强人体免疫力等方面保健效果也良好^[3],故具有较高的研究开发价值^[4]。有关红景天成分及其衍生物体外抗氧化的研究较多,但有关红景天苷抗氧化效果比较、红景天提取物总的抗氧化效果及其与抗氧化、抗自由基之间的量化关系尚未见文献报道。因此,笔者对上述方面进行研究,以期验证其抗氧化功能,为红景天相关药物的研究、开发提供依据。

[△]基金项目:衡水市科技计划项目(No.14032)

*副主任药师。研究方向:食品、药品检测检验。电话:0318-2369176。E-mail:sagefan@126.com

1 材料

1.1 仪器

UV-2501分光光度计(日本岛津公司);JL-60DTH超声波清洗仪(上海天普分析仪器有限公司);KUDOS超声波震荡器(上海科导超声仪器有限公司,59 kHz);CN62M/JHBE100A闪式提取器(北京中西化工仪器有限公司)。

1.2 药材、药品与试剂

红景天(购于衡水金象大药房有限公司,经河北省药品检验所鉴定为真品,批号:20150320,用高纯水洗净,在50℃条件下烘干,粉碎后备用);红景天苷对照品(以下简称红景天苷,批号:110818-201206,纯度:99.8%)、芦丁对照品(批号:100080-201408,纯度:92.8%)均来源于中国食品药品检定研究院;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH,北京豪斯科技有限公司,批号:12150-46-8,纯度:98%);2,6-二叔丁基-4-甲基苯

酚(BHT,上海普振生物科技有限公司,纯度:99.0%);硫酸亚铁(郑州润泉化工有限公司,批号:JL-05,纯度:99%);维生素C对照品(以下简称VC,天津谱祥科技有限公司,批号:2276-2014030,纯度:99%)。

2 方法

2.1 红景天提取物处理^[9]

将红景天粉碎后,过60目筛,95%乙醇溶解,闪式提取(料液比1:20,提取电压140 V,提取时间40 s,提取2次),过滤去渣,滤液至真空旋转蒸发仪中,50℃蒸发至原体积一半,待用。所得红景天提取物的质量浓度为3.25 g/L(干物质含量)。

2.2 红景天苷溶液制备

称取一定量的红景天苷,95%乙醇溶解稀释成不同质量浓度溶液,定容后备用,质量浓度为0~60 mg/L。

2.3 红景天提取物、红景天苷体外抗氧化试验

2.3.1 红景天提取物、红景天苷对·OH基清除率的影响^[6] 将红景天提取物、红景天苷制备成系列质量浓度溶液(10、20、30、40、50、60 mg/L)。取试管20支,依次添加邻菲罗啉溶液(0.75 mmol/L)1 ml、磷酸盐缓冲液(150 mmol/L)15 ml、硫酸亚铁(0.75 mmol/L)1 ml,立即混匀,再作以下处理:(1)取上述6支试管,分别添加不同质量浓度的红景天提取物(编号为a₁~a₆)。(2)取6支试管分别添加不同质量浓度(10、20、30、40、50、60 mg/L)的红景天苷溶液,混匀(编号为b₁~b₆)。(3)取6支试管分别添加不同质量浓度(10、20、30、40、50、60 mg/L)的VC溶液,混匀(编号为c₁~c₆)。(4)取剩下的2支试管,1支添加双氧水(浓度0.01%)1 ml,编号为d₁;1支不添加,编号为d₂。各试管均以纯净水定容至10 ml,恒温培养1 h,于536 nm波长下测定吸光度,重复3次。按公式计算·OH基清除率(S₁,%)=(A₁-A₂)/(A₃-A₂)×100%。式中,A₁指加入红景天苷、红景天提取物及VC后各管(即编号为a₁~a₆、b₁~b₆、c₁~c₆各管)的吸光度;A₂指加入双氧水的空白管(即编号为d₁)的吸光度;A₃指未加入双氧水的空白管(即编号为d₂)吸光度。

2.3.2 红景天提取物、红景天苷对DPPH自由基清除率的影响^[7] 取不同质量浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg/L)的红景天提取物、红景天苷、VC溶液分别与DPPH溶液(0.04 mg/ml)等体积混合,黑暗中放置30 min,于515 nm波长处测定吸光度,记为A₁;不同质量浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg/L)的红景天提取物、红景天苷、VC分别与无水乙醇等体积混合,摇匀后黑暗处放置30 min,于515 nm波长处测定吸光度,记为A₂;另取蒸馏水与DPPH溶液等体积混合后于515 nm波长处测定吸光度,记为A₃;将无水乙醇与蒸馏水混合物作为空白,按公式计算DPPH自由基清除率(S₂,%)=(A₁-A₂+A₃)/A₃×100%。

2.3.3 红景天苷、红景天提取物对H₂O₂清除率的测定^[8] 取试管数支,加入2.8 ml的H₂O₂(150 mmol/L磷酸盐缓冲液制备),再分别加入不同质量浓度[0(对照)、10、20、30、40、50、60 mg/L]的红景天苷、红景天提取物、VC溶液,混匀,纯净水定容,室温条件下放置10 min,于230 nm波长处测其吸光度(W),重复测定5次,按公式计算H₂O₂清除率(S₃,%)=(A_{样品}-A_{对照})/A_{对照}×100%。

2.3.4 红景天提取物、红景天苷油脂抗氧化能力试验^[9-10] 以空白为对照、BHT为参照,以不同时间的油脂过氧化值(POV)值为指标。POV值代表油脂氧化程度,POV值越大,油脂氧化程

度越高。

取质量浓度不同(0、10、20、30、40、50、60 mg/L)的红景天提取物、红景天苷、VC溶液,测定油脂过氧化值^[9]。

样品处理:取花生油样品放入敞口的烧杯中,加入上述不同质量浓度的红景天提取物、红景天苷、VC溶液,混匀后,将油样放入60℃烘箱中进行强氧化,每24 h搅拌1次,定期测定(0、5、10、15、20、25、30 d)POV。POV测定方法:称取1~3 g油样加入具塞碘量瓶中,加入冰乙酸-三氯甲烷液体30 ml,溶解;加入饱和碘化钾溶液1 ml,摇匀,黑暗处放置3 min;加入蒸馏水定容至100 ml,立即用0.002 mol/L的硫代硫酸钠溶液滴定至淡黄色;然后加入0.5%的淀粉指示剂1 ml,摇匀后再用上述硫代硫酸钠溶液滴定至蓝色消失为终点。记录数据,按公式计算POV(mmol/kg)=[(V₁-V₂)×c×0.126 9/2m]×100×78.8。式中,V₁指油样消耗硫代硫酸钠溶液的体积;V₂指空白消耗硫代硫酸钠溶液的体积;c指硫代硫酸钠溶液浓度(0.002 mol/L);m指测定油样的质量;0.126 9指硫代硫酸钠溶液1 ml相当于碘的克数;78.8是转换因子;2指POV单位mmol/kg与毫克当量间的转换系数。

2.3.5 红景天苷、红景天提取物还原能力的测定^[11] 还原力测定原理:K₃Fe(CN)₆+样品→K₄Fe(CN)₆+样品氧化物,K₄Fe(CN)₆+Fe³⁺→K₃[Fe(CN)₆]₃。将样品于700 nm波长下测定吸光度,吸光度值越大,则还原力越大。测定方法:在2.5 ml pH 6.6磷酸盐缓冲溶液中分别加入芦丁(还原剂)对照品溶液(0.6 mg/ml)0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3 ml,双蒸水1、0.95、0.9、0.85、0.8、0.75、0.7 ml,再加入1%铁氰化钾1 ml,混合物在50℃恒温条件下加热20 min;急速冷却后加10%三氯乙酸2.5 ml,3 000 r/min离心(离心直径280 mm)分离10 min。取上层清液2.5 ml,加入双蒸水2.5 ml、0.1%FeCl₃ 0.5 ml,混合均匀,静置10 min后在700 nm波长下测吸光度(A),再与Fe²⁺浓度(c)回归得标准曲线方程为c=8.55A-0.005 9(r=0.999 8),Fe²⁺浓度的检测线性范围为3~18 mg/L。另,该方法下精密性(RSD<2%,n=5)和准确度试验结果(平均回收率为98.6%,RSD<2%,n=6)均符合要求。

取红景天提取物、红景天苷制备成不同质量浓度(0、10、20、30、40、50、60 mg/L)溶液,分别取1.00 ml,加入2.0 ml pH 6.6的磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L)、2.5 ml铁氰化钾(Fe³⁺浓度)溶液(10 mg/ml),经混匀后,50℃水浴20 min,加入2.5 ml三氯乙酸(100 mg/ml),混匀后离心处理10 min(转速3 000 r/min,离心直径280 mm)。以不加样品(质量浓度为0)的者为空白,测定吸光度,重复试验3次,求得吸光度平均值后根据标准曲线方程计算Fe²⁺浓度及还原率(R)=Fe²⁺浓度/Fe³⁺浓度×100%。

3 结果

3.1 红景天提取物、红景天苷对·OH基清除率的影响

红景天苷、红景天提取物、VC对·OH基清除率的影响如图1所示。

由图1可见,3种活性成分对·OH基的清除效果均随质量浓度的增大而增强,均呈现出较好的量效关系;同一质量浓度下,3种活性成分对·OH基清除作用的强弱顺序为:红景天提取物>VC>红景天苷。红景天提取物清除·OH基能力高于VC,当其质量浓度达到60 mg/L时,对·OH基清除率达到90%以上。

3.2 红景天提取物、红景天苷对DPPH自由基清除率的影响

红景天提取物、红景天苷、VC对DPPH自由基清除率的影响见图2。

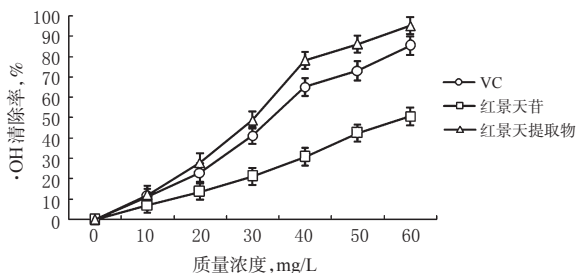


图1 红景天提取物、红景天苷对·OH基清除率的测定结果

Fig 1 The clearance rate of *R. rosea* extract and salidroside to ·OH radical

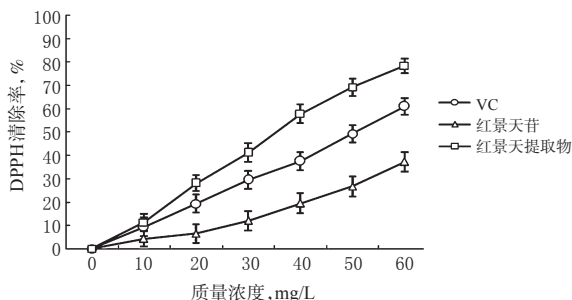


图2 红景天提取物、红景天苷对DPPH自由基清除率的测定结果

Fig 2 The clearance rate of *R. rosea* extract and salidroside to DPPH

由图2可见,3种活性成分对DPPH自由基均有一定的清除作用,并随质量浓度的增大清除作用增强;相同浓度下,对DPPH自由基清除效果的顺序为:红景天提取物>VC>红景天苷。

3.3 红景天提取物、红景天苷对H₂O₂清除率的影响

红景天提取物、红景天苷、VC对H₂O₂的清除率的影响见图3。

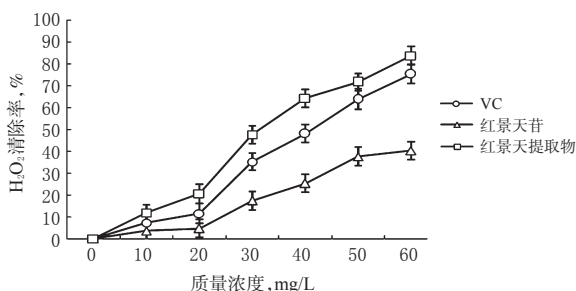


图3 红景天提取物、红景天苷对H₂O₂清除率的测定结果

Fig 3 The clearance rate of *R. rosea* extract and salidroside to H₂O₂

由图3可见,3种活性成分对H₂O₂的清除作用既有相同之处,同时也存在较大的差异性,随质量浓度的增加3种活性成分对H₂O₂的清除率均增强;同一质量浓度下,对H₂O₂的清除率的强弱顺序为:红景天提取物>VC>红景天苷。

3.4 红景天提取物、红景天苷的油脂抗氧化性

红景天提取物、红景天苷的油脂抗氧化性测定结果见图4。

由图4可见,随储存时间的延长,油脂的POV值不断增加;添加红景天提取物、红景天苷、BHT后,油脂POV值明显低于对照组;作用相同时间时,油脂抗氧化效果顺序为:红景天

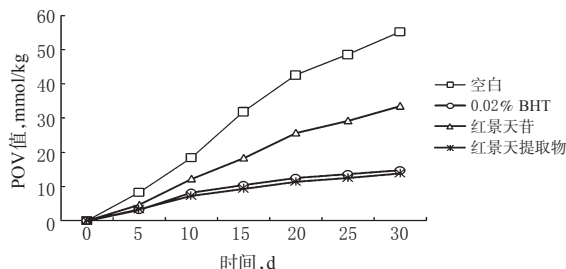


图4 红景天提取物、红景天苷对油脂抗氧化性的测定结果

Fig 4 The antioxidant activity of *R. rosea* extract and salidroside to oleic acid

提取物>BHT>红景天苷>空白对照。其中以红景天提取物的油脂抗氧化效果最好,但红景天中油脂抗氧化成分及抗氧化机制有待进一步分析。

3.5 红景天提取物、红景天苷对Fe³⁺的还原能力

红景天提取物、红景天苷的还原能力测定结果见图5。

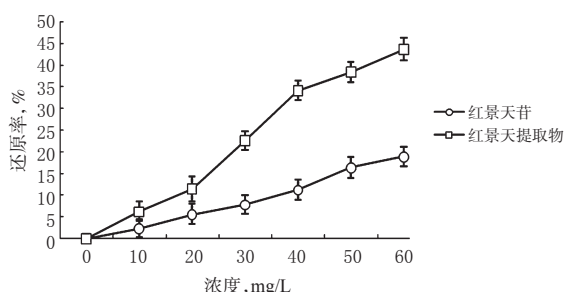


图5 红景天提取物、红景天苷对Fe³⁺的还原率测定结果

Fig 5 Fe³⁺ reduction ability of *R. rosea* extract and salidroside

由图5可知,红景天提取物、红景天苷对Fe³⁺的还原能力随质量浓度的增加而增大,说明红景天提取物、红景天苷都具有较好的Fe³⁺还原能力;相同质量浓度下,红景天苷还原Fe³⁺的能力远低于红景天提取物,当红景天提取物质量浓度为60 mg/L时,红景天提取物Fe³⁺还原率达到43.63%,红景天苷还原率仅为16.18%。

4 讨论

本次对红景天提取物、红景天苷体外抗氧化的研究表明,红景天苷、红景天提取物对·OH基、DPPH自由基、H₂O₂均有不同程度的清除效果。当质量浓度为60 mg/L时,红景天提取物对·OH基、H₂O₂、DPPH自由基的清除率分别为92%、81.33%、79.51%,VC对·OH基、H₂O₂、DPPH自由基的清除率分别为83.76%、72.69%、57.29%,红景天苷对·OH基、H₂O₂、DPPH自由基的清除率分别为43.70%、37.30%、28.53%;相比之下,相同质量浓度下,红景天提取物的效果优于对照,更优于红景天苷。油脂抗氧化试验结果表明,3种活性成分的油脂抗氧化效果顺序为:红景天提取物>BHT>红景天苷>空白对照,以红景天提取物的油脂抗氧化效果最好。对Fe³⁺还原能力的测定结果表明,红景天提取物、红景天苷都具有较好的Fe³⁺还原能力;但相同质量浓度下,红景天苷还原Fe³⁺能力远低于红景天提取物,当红景天提取物质量浓度为60 mg/L时,红景天提取物Fe³⁺还原率达到43.63%,红景天苷还原率仅为16.18%。

人体中的脂肪、蛋白等诸多物质都可以与自由基发生反应,使生物体内的结构和功能遭到破坏,是生物体多种疾病发

生的根源,如癌症、糖尿病、动脉粥样硬化等,因此,研究抗氧化、抗自由基的活性成分对保证人体健康尤为重要。DPPH是一种含有3个苯环的稳定性较好的自由基,最大吸收波长为517 nm,呈现紫色;当DPPH发挥清除剂作用时,其因失去单电子配对而使颜色变淡,在517 nm波长处的吸光度减小。活性物质对其的清除效果表现为该物质对烷基自由基、氧自由基清除及阻断脂质的过氧化反应效果。因此,天然抗氧化剂筛选的指标之一就是验证其对DPPH的清除效果。 H_2O_2 为一种强氧化剂,对 H_2O_2 的清除效果也是体现活性物质具有抗氧化特性的指标之一。BHT因其较强的抗氧化特性,常用于油脂抗氧化,油脂抗氧化效果是考察活性物质抗氧化效果的指标之一。 Fe^{3+} 具有较强的氧化性,物质还原能力强弱的测定指标之一为 Fe^{3+} 还原能力的测定,这种方法是一种简洁、快速、间接测定物质清除自由基能力的方法。

综上所述,红景天苷为红景天单体成分提取物,但红景天提取物抗氧化能力优于红景天苷,表明红景天提取物中的其他成分起抗氧化的主导效果,并非仅仅是红景天苷。

参考文献

[1] 邹晓丽.长白山红景天配伍FDP抗疲劳作用实验研究[D].哈尔滨:东北师范大学,2008.
[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:154-155.
[3] 李凤林.红景天苷药理作用的研究现状[J].现代食品科技,2013,29(4):916.

[4] Yang LM, Hu R, Qi W, et al. Chemical constituents of *Rhodiola kirilowii* Maxim.[J]. *Jornal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 2011, 20(2):154.
[5] 庞红霞, 范桂强, 王志杰, 等. Design-Expert设计优化红景天苷提取条件[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(13):70.
[6] 马天翔, 史宁, 陈乾, 等. 红景天中8种成分体外抗氧化作用的比较[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(9):1 224.
[7] 李铭花, 杨文建, 赵政, 等. 甘草不同极性溶剂提取物抗氧化活性研究[J]. *粮食与油脂*, 2009, 3:25.
[8] 索金玲, 彭秧, 张纵圆, 等. 石榴叶总黄酮提取工艺及体外抗氧化性研究[J]. *生物技术*, 2009, 19(1):63.
[8] 孙晓军, 赵慧, 林杰. 红景天的药理与制剂研究综述[J]. *中国药师*, 2005, 8(5):415.
[9] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T5538-2005 动植物油脂过氧化值测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006:3-4.
[10] Wang CP. Determination of hydroxyl radical and antioxidant activity of Chinese herbs by fluorospectroscopy[J]. *Journal of Dezhou University*, 2007, 23(4):40.
[11] 于海平, 孔祥密, 施于杰, 等. 荆条花不同提取物抗氧化活性的比较[J]. *中国药房*, 2013, 24(39):3 672.

(收稿日期:2015-08-18 修回日期:2015-10-29)

(编辑:刘 萍)

英国发布使用吗替麦考酚酯和麦考酚酸应避孕的建议

本刊讯 英国药品和健康产品管理局(MHRA)发布信息称,吗替麦考酚酯及其活性代谢产物麦考酚酸导致严重出生缺陷的发生率和自发性流产的风险升高。

吗替麦考酚酯(麦考酚酸的前体药物)是一种免疫抑制剂,与环孢霉素和糖皮质激素联合使用预防肾脏、心脏或肝脏移植患者的急性移植排斥。吗替麦考酚酯是一种已知的致畸剂,最常报告的先天性畸形为耳畸形。对全球范围内妊娠期暴露后先天性畸形病例的回顾研究证实了吗替麦考酚酯是一种强的人类致畸剂,并显示与其他免疫抑制剂相比,先天性畸形和自发性流产发生率升高的证据:

(1)暴露于吗替麦考酚酯的妊娠妇女中有45%~49%报告了自发性流产;与之相比,暴露于其他免疫抑制剂时有12%~33%报告了自发性流产。(2)根据文献报告,在妊娠期暴露于吗替麦考酚酯的妇女中,23%~27%的新生儿发生了畸形;与之相比,全球总人群中2%~3%的新生儿有先天畸形,在接受其他免疫抑制剂治疗的移植接受者中约有4%~5%的新生儿有先天畸形。(3)此前仅发现了耳畸形,但目前前瞻性数据已发现了一系列疾病,最常报告的畸形(包括多发性畸形)有先天性心脏病,如房间隔和室间隔缺损;面部畸形,包括唇裂和腭裂、小颌畸形和眼距过宽;眼畸形;手指畸形;食管-气管畸形;神经系统畸形,如脊柱裂;肾脏畸形。

有关妊娠试验的更新建议:(1)有生育能力的妇女在开始

吗替麦考酚酯治疗前应获得妊娠试验阴性结果,以排除胚胎意外暴露于麦考酚酸。(2)建议进行2次敏感性至少为25 mIU/ml的血清或尿妊娠试验,第2次试验应在首次试验后8~10 d和即将开始吗替麦考酚酯治疗前实施。应根据临床需要重复进行妊娠试验(如存在避孕缺口)。(3)应与患者讨论所有妊娠试验的结果。患者假如怀孕不应自行停止治疗,而应咨询医师。

给医护人员的建议:(1)妊娠期不应使用吗替麦考酚酯或麦考酚酸,除非无适合的预防移植排斥的替代治疗。(2)医师应确保服用吗替麦考酚酯和麦考酚酸的女性和男性应了解以下内容:危害胎儿的风险、有效避孕的需要、计划妊娠和必要时调整治疗的需要,以及如果可能怀孕时立即咨询医师的需要。(3)有生育能力的妇女应仅在妊娠试验结果阴性以排除妊娠期意外用药的情况下才能开始吗替麦考酚酯或麦考酚酸的治疗。(4)有生育能力的妇女应仅在采取了高效避孕措施时才能给予吗替麦考酚酯或麦考酚酸的治疗。(5)女性患者应在治疗期间和停止治疗后6周内采取2种有效避孕措施。(6)男性患者(包括已接受过输精管切除术者)应在治疗期间和停止治疗后至少90 d内使用避孕套。该建议是对这些药物的遗传毒性的预防措施。(7)接受吗替麦考酚酯或麦考酚酸治疗的男性患者的女性伴侣应在治疗期间和末次给药后90 d内采取高效避孕措施。