

文章编号 1006-8147(2018)01-0078-05

论 著

# 叶酸口腔速溶膜剂的质量控制

周禹宏, 张金芬, 房志仲

(天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070)

**摘要** 目的: 建立叶酸口腔速溶膜剂的质量控制方法。方法: 利用 HPLC 法测定叶酸口腔速溶膜剂的含量及膜剂的含量均匀度。色谱条件: Innoval ODS-2 C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.054 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (调节 pH=6.3±0.1) (8:92); 检测波长: λ=254 nm; 流速 1.0 mL/min; 进样量为 20 μL; 柱温为 (30±1)℃。结果: 叶酸在 40.0~260.0 μg/L 的浓度范围内线性关系良好 ( $R=0.999\ 8$ ), 平均加样回收率为 99.02%,  $RSD$  为 0.41%。结论: 该色谱测定条件及含量测定方法能够简单有效地测定叶酸口腔速溶膜剂的含量及含量均匀度。

**关键词** 叶酸; 口腔速溶膜剂; 高效液相色谱法; 质量控制

中图分类号 R927.11

文献标志码 A

## Quality control of fast dissolving oral films of folic acid

ZHOU Yu-hong, ZHANG Jin-fen, FANG Zhi-zhong

(College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To establish an appropriate method to determine contents of fast-dissolving oral films of folic acid. **Methods:** Content and content uniformity of fast-dissolving oral films of folic acid were determined by an HPLC method, in which an Innoval ODS-2 C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as stationary phase and a mix of methanol-0.054 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (adjusted to pH 6.3±0.1 with 0.5% NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O) was used as mobile phase. The detection wavelength was 254 nm and the flow rate was 1.0 mL/min. Column temperature was set at 30 °C. **Results:** The concentration detection of folic acid showed a fine linearity between 40.0~120.0 μg/L ( $R=0.999\ 8$ ), the average recoveries of folic acid was 99.02%, and corresponding  $RSD$  value was 0.41%. **Conclusion:** The detection method in this study is simple and accurate, so it could be used in the quality control of the fast-dissolving oral films of folic acid.

**Key words** folic acid; fast-dissolving oral films; HPLC; quality control

药物速溶传递系统 (fast dissolving drug delivery systems, FDDDS) 最早开发于上世纪 70 年代, 作为可代替传统片剂、胶囊剂及糖浆剂的新兴剂型<sup>[1]</sup>, 口腔速溶膜剂常用作儿童、老年人以及吞咽困难的患者人群的传统剂型替代产品, 具有纤薄柔韧、易于吞咽、剂量准确、快速崩解溶化等优点<sup>[2-4]</sup>, 便于患者自主给药, 提高患者的顺应性。近年来, 人们逐渐发现了叶酸的其它新的治疗作用。对于 H 型高血压<sup>[5]</sup>、萎缩性胃炎<sup>[6]</sup>和骨性关节炎<sup>[7]</sup>均具有有效的治疗作用; 另外, 对胃癌、肝癌、大肠癌等多种癌症有明显的辅助治疗作用<sup>[8-12]</sup>。因此, 叶酸被不断应用于多种疾病的预防、治疗和诊断。目前, 国内市场的叶酸制剂只有片剂、胶囊剂、颗粒剂等普通剂型。叶酸口腔速溶膜剂具有药物速溶传递系统的优点, 它的出现极大改善了患者的用药体验, 特别适合儿童、老人、吞咽困难和精神疾病患者等特殊人群的预防治疗用药需求, 具有良好的市场前景。本课题对自制的

叶酸口腔速溶膜剂进行了质量控制方面的研究, 建立了检测叶酸的质量控制方法, 确保所建立方法准确、可靠、简便、易行。

## 1 材料与方法

1.1 试药 叶酸 (河北冀衡集团药业有限公司, 批号: 61410001); 羟丙甲纤维素 E15 (HPMC E15, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 150509); 丙二醇 (青岛优索化学科技有限公司, 批号: I94102224); β-环糊精 (β-CD, 安徽山河药用辅料股份有限公司, 批号: 150506); 三氯蔗糖 (安徽山河药用辅料有限公司, 批号: 150319); DL-苹果酸 (常茂生物化学工程股份有限公司, 批号: 20150708); 甜橙香精 (天津市香源商贸有限公司, 批号: 1000506149); 对照品: 叶酸标准品 (中国食品药品检定研究院, 供含量测定用); 供试品: 叶酸口腔速溶膜剂 (自制); 甲醇 (天津市康科德科技有限公司, 色谱纯, 批号: 20150724); 磷酸二氢钾 (天津市光复科技发展有限公司, 分析纯, 批号: 20151121); 氢氧化钾 (天津市风船化学试剂科技有限公司, 分析纯, 批号:

作者简介 周禹宏 (1991-), 女, 硕士在读, 研究方向: 药物制剂与质量控制; 通信作者: 房志仲, E-mail: fangzhizhong@tjmu.edu.cn。

20150724);氨水(天津市风船化学试剂科技有限公司,25%,批号:20150723);重蒸水自制。

1.2 仪器 高效液相色谱仪(Waters 2690);柱温箱(CBL Model 100型,天津科贝尔公司);色谱柱(Inn oval.ODS -2,250 mm×4.6 mm,5 μm;Phenomenex. luna,250 mm×4.6 mm,5 μm);Empower 色谱工作站;CPA225D 电子分析天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);AFA-II型自动涂膜机(上海亚培实业有限公司);电子数显千分尺(量程:0~25 mm,桂林广陆数字测控股份有限公司);78X-3C片剂多用崩解测定仪(上海黄海药检仪器有限公司)。

### 1.3 方法<sup>[13-14]</sup>

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Innoval ODS-2 C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.054 mol/L磷酸二氢钾缓冲盐溶液(调节 pH=6.3±0.1)(8:92);检测波长:λ=254 nm;流速 1.0 mL/min;进样量为 20 μL;柱温为(30±1)℃。

1.3.2 供试品的制备 采用溶剂浇铸法制备口腔速溶膜剂。精密称取处方量的成膜材料 HPMC E15,加入适量纯净水,搅拌均匀使其充分溶胀,形成均匀而质地黏稠的胶液。向胶液中加入处方量丙二醇,搅拌均匀后,依次按照处方称取主药、填充剂以及其他矫味剂,先后加入胶液中,再持续搅拌 15 min,静置脱气。待胶液呈无气泡的均匀混悬黏稠状态时,涂膜,于 50℃下干燥 30 min。脱膜,切割成所需大小。

1.3.3 溶液的制备 (1)流动相的制备:称取 6.8 g 磷酸二氢钾与 70 mL 0.1 mol/L 氢氧化钾溶液,加水稀释至 850 mL,用 0.5%氨溶液调节 pH 至 6.3±0.1。加入 80 mL 甲醇,用水稀释至 1 000 mL,即得。(2)对照品储备液的制备:精密称取叶酸对照品 55.0 mg 置于 25 mL 量瓶中,加入 15 mL 0.5%氨溶液,使之溶解,加水稀释至刻度,摇匀,即得对照品储备液。(3)对照品溶液的制备:精密称取叶酸对照品 11.0 mg 置于 50 mL 量瓶中,加入 30 mL 0.5%氨溶液溶解,加水稀释至刻度并摇匀,即得对照品溶液。(4)供试品溶液的制备:取叶酸口腔速溶膜 5 片量(约含叶酸 2 mg),称重后置于 10 mL 量瓶中,加入 6 mL 0.5%氨溶液使之溶解,再加水稀释至刻度,充分振荡,摇匀。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。(5)阴性对照溶液的制备:按照自制处方制得不含叶酸的空白膜剂,依上述供试品溶液的制备方法配制阴性对照溶液。(6)空白溶液的制备:取 30 mL 0.5%氨溶液于 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

1.3.4 厚度考察 膜剂厚度的均匀性关系到其剂

量准确性和溶化速度的大小。通过电子数显千分尺来测量膜剂的厚度。任意选取 3 片自制叶酸口腔速溶膜,在膜上任意选取 3 点测定厚度,求其平均值,并计算标准差<sup>[15]</sup>。

1.3.5 溶化时限的考察 本研究借鉴《中国药典》2015 版克霉唑口腔药膜溶化时限的测定方法,将膜剂剪成 1 cm<sup>2</sup> 大小,取 6 片分别用两层筛孔内径为 2.0 mm 的不锈钢丝夹住,置于上述吊篮的玻璃管中依崩解时限检查法片剂项下的方法(通则 0921)检查。在盛有 (37±1)℃纯净水的 1 000 mL 烧杯中,以 30~32 次/min 的速度上下移动(55±2) mm,当膜剂出现崩裂时,记录所用时间,计算其平均值和 RSD。

1.3.6 系统适用性试验 分别取空白溶液和对照品溶液各 20 μL 进样,按照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,记录色谱图。

1.3.7 专属性试验 分别取“1.3.3 项下”空白溶液、阴性对照溶液、对照品溶液和供试品溶液进样 20 μL,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,并记录色谱图。

1.3.8 定量限考察 精密移取“1.3.3 项下”对照品溶液 1 mL 于 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,充分摇匀,得到的待测溶液,记为浓度 1。再分别取上述溶液 4 mL、5 mL 于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,充分摇匀,得到的待测溶液,依次记为浓度 2、浓度 3。分别进样,测定其信噪比。将所确定的定量限浓度溶液连续进样 6 次,记录其信噪比,并求其平均值和 RSD。

1.3.9 线性关系考察 用移液管分别精密移取 0.7、0.9、1.0、1.1 和 1.3 mL 对照品储备液,置 10 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得浓度分别为 70%、90%、100%、110%、130% 的样品溶液。取对照品储备液 1 mL 至 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得浓度为 20% 的样品溶液。另精密移取“1.3.3 项下”对照品溶液 1 mL 于 200 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,充分摇匀,得到浓度为 0.5% 的样品溶液。将上述样品溶液分别进样 20 μL,按照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定并记录峰面积。

1.3.10 精密度试验 (1)日内精密度:取“1.3.3 项下”所制供试品溶液,同一天内连续进样 6 次,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,并计算峰面积的 RSD。(2)中间精密度:取“1.3.3 项下”所制供试品溶液,在同一实验室,不同时间由不同分析人员用不同设备于同一天内连续进样 6 次,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,并计算峰面积的 RSD。

1.3.11 稳定性试验 按照自制处方制得叶酸口腔速溶膜胶液,静置备用。分别取室温放置 0、1、2、4、

8、12 和 24 h 胶液约 300 mg,精密称定,置于 50 mL 棕色量瓶中,加入 30 mL 0.5%氨试液振荡溶解,用水稀释至刻度,混匀,用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液,同法平行配制两份供试品溶液。依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,计算其含量,统计其平均值与 *RSD*。另外,分别取室温放置 0、1、2、4、8、12 和 24 h 的对照品溶液、空白溶液和供试品溶液进样,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,计算其含量,统计其平均值与 *RSD*。

**1.3.12 耐用性试验** 根据“1.3.1 项下”的色谱条件,依次变动色谱柱、柱温、检测波长、流动相流速、流动相比和流动相 pH 等条件测定叶酸含量,取“1.3.3 项下”的对照品溶液和供试品溶液分别进样 2 次,使用外标一点法计算叶酸的含量,并计算 *RSD*。

**1.3.13 回收率试验** 分别精密移取 0.8、1.0 和 1.2 mL 对照品储备液于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液过滤,所得续滤液即为标准浓度 80%、100%、120% 的供试品溶液。将上述每个浓度平行配制 3 个样品。依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定并计算回收率。

**1.3.14 含量测定** 根据“1.3.3 项下”的供试品溶液的制备方法对 3 批样品进行处理,得到样品溶液,进样,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定,使用外标一点法计算叶酸的含量。

**1.3.15 含量均匀度的测定** 精密移取对照品溶液 2 mL 于 10 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,作为含量均匀度测定试验的对照品溶液。另取 10 片自制叶酸膜样品分别置于 10 个 10 mL 量瓶中,加入 6 mL 0.5%氨溶液使溶解。加水稀释至刻度,摇匀,离心。取上清液用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,所得滤液即为待测样品溶液。进样,依照“1.3.1 项下”的色谱条件进行测定。计算每一片药膜的含量,统计其平均值与标准差,按照《中国药典》2015 版(二部)附录 X E 规定进行测定。

## 2 结果

**2.1 厚度考察结果** 见表 1。所得叶酸口腔速溶膜厚度均匀。

表 1 叶酸口腔速溶膜的厚度考察

Tab 1 The thickness of rapidly dissolving oral film of folic acid

样品编号	厚度/ $\mu\text{m}$			平均值/ $\mu\text{m}$	<i>RSD</i> /%
1	104	97	102	101	1
2	99	102	101	101	
3	98	101	97	99	

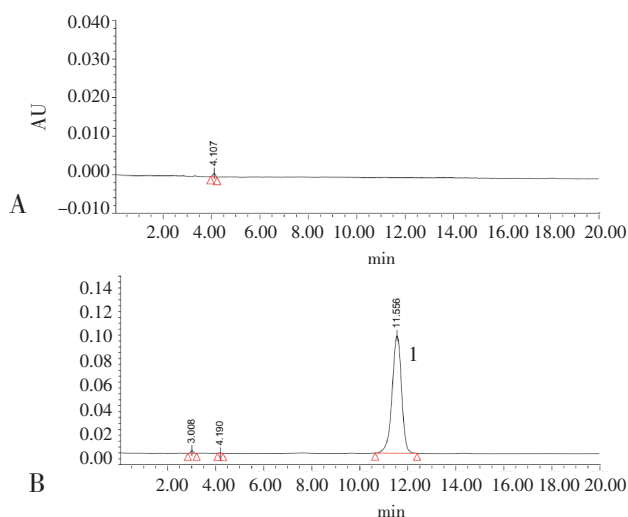
**2.2 溶化时限考察结果** 见表 2。平均溶化时限为 18.17 s,且均不超过 30 s。

表 2 叶酸口腔溶解膜的溶化时限

Tab 2 The disintegration time of rapidly dissolving oral film of folic acid

溶化时限						平均值	<i>RSD</i> /%
25	16	14	22	15	17	18.17	3.98

**2.3 系统适用性试验色谱图** 见图 1。于“1.3.1 项下”的色谱条件下测得的色谱图,主峰分离度大于 1.5,理论塔板数大于 2 000 且拖尾因子为 0.91,符合要求,该色谱系统有效适用。



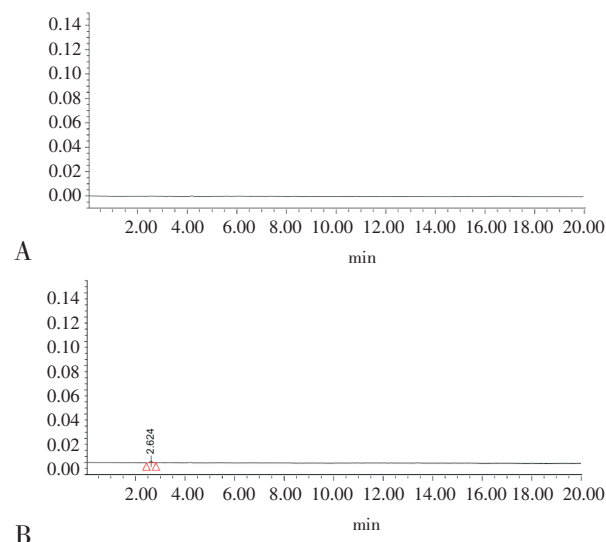
A.空白溶液;B.叶酸对照品溶液. 1. 叶酸

图 1 系统适用性试验

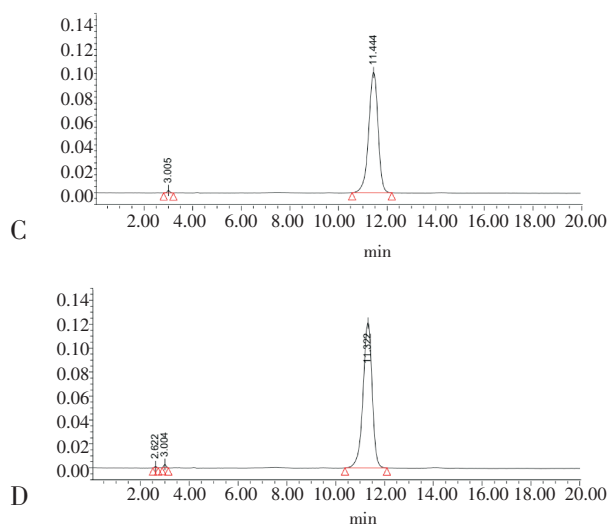
Fig 1 System adaptability test

**2.4 专属性试验结果** 见图 2。在“1.3.1 项下”的色谱条件下,主药与辅料之间可明显分离,互不干扰。该色谱方法有良好的专属性。

**2.5 定量限的考察结果** 样品浓度为 1.0  $\mu\text{g/mL}$  时,平行测定 6 次,信噪比为 11.0,*RSD* 为 1.08%。确定该浓度为定量限浓度。







A.空白溶液;B.阴性对照品溶液;C.对照品溶液;D.供试品溶液

图 2 专属性试验

Fig 2 Specific test

2.6 线性关系考察结果 以叶酸的峰面积(A)对浓度(C)做线性回归的标准曲线,得到线性方程为  $A=14551C-15665$ ,  $R=0.999\ 8$ ,表明叶酸在  $40.0\sim 260.0\ \mu\text{g/L}$  的浓度范围内线性关系良好。

表 3 叶酸的回收率试验

Tab 3 The recovery tests of folic acid

浓度	测得样品浓度/(mg/mL)	加入样品浓度/(mg/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSD%
80%	0.158 2	0.160 6	98.52	99.02	0.41
	0.160 3	0.160 6	99.83		
	0.158 6	0.160 6	98.78		
100%	0.196 7	0.200 7	98.00		
	0.202 6	0.200 7	100.95		
	0.199 3	0.200 7	99.32		
120%	0.237 9	0.240 9	98.75		
	0.237 3	0.240 9	98.51		
	0.237 4	0.240 9	98.55		

2.11 含量测定结果 3 批样品中叶酸的含量测定结果见表 4。

表 4 叶酸的含量测定结果

Tab 4 Content determination of folic acid

批号	称样量/mg	标示量/%	RSD/%
160506	106.63	103.85	0.62
160510	114.43	107.41	0.26
160518	114.35	107.89	0.23

2.12 含量均匀度的测定结果 根据测得含量计算  $A+2.2S=1.42<15.0$ ,表明自制叶酸口腔速溶膜中,叶酸的含量均匀度良好。

2.7 精密度试验结果 叶酸的日内精密度试验的  $RSD$  为  $0.23\%(n=6)$ , 日间精密度的  $RSD$  为  $0.26\%(n=6)$ ,表明精密度良好。

2.8 稳定性试验结果 自制处方制得的叶酸口腔速溶膜胶液的  $RSD$  为  $0.82\%$ , 叶酸对照品溶液的  $RSD$  为  $1.44\%$ , 供试品溶液的  $RSD$  为  $0.86\%$ ,表明叶酸口腔速溶膜胶液、叶酸对照品和供试品溶液室温放置 24 h 稳定。

2.9 耐用性试验结果 依次变动色谱柱、柱温 [ $(25\pm 2)\ ^\circ\text{C}$ 、 $(30\pm 2)\ ^\circ\text{C}$ 和 $(35\pm 2)\ ^\circ\text{C}$ ]、检测波长(252 nm、254 nm、256 nm)、流动相流速( $0.9\ \text{mL/min}$ 、 $1.0\ \text{mL/min}$ 、 $1.1\ \text{mL/min}$ )、流动相比比例(有机相-水相=6:94、8:92、10:90)和流动相 pH( $6.1\pm 0.1$ 、 $6.3\pm 0.1$ 、 $6.5\pm 0.1$ ),其它条件不变测定叶酸含量,其  $RSD$  为  $0.70\%$ 。结果表明,在测定条件有小的变动时,含量测定结果基本不受影响,该测定方法具有良好的耐用性。

2.10 回收率试验结果 叶酸的平均加样回收率为  $99.02\%$ ,  $RSD$  为  $0.41\%$ ,符合要求,详细测定结果见表 3。

### 3 讨论

3.1 供试品的制备方法 本研究采用溶剂浇铸法制备叶酸口腔速溶膜剂,筛选和调整了几种辅料的种类与配比,并从成膜性、脱膜性、溶化时限、耐折度等几个方面考察其特性。所得膜剂外形美观,柔韧性良好,实现了 30 s 内迅速溶化。相比于传统的叶酸片剂,该制剂具有速溶起效快、生物利用度高、患者顺应性好等优点。但该制剂尚存在载药量较小、对包装要求较高等缺点,这就需要与其他学科共同发展,以期克服上述困难,使其应用范围更加广泛。

3.2 溶化时限的测定方法 目前,口腔速溶膜剂的溶化时限测量方法尚未给出官方指导。因此,本研究

借鉴 CDER(Center for Drug Evaluation and Research)<sup>[16]</sup>给出的口腔崩解片的指导说明,即崩解时间不超过 30 s,来规范开发阶段的定性指标。

3.3 研究现状 本制剂具有口腔速溶膜剂的优良特性,制备过程简单易行,工艺较为成熟,易于实现产业化,或可为科研工作者提供有益的借鉴。但本研究尚未完成对该制剂的黏性测试、表面 pH 测试和部分机械性能考察,仍需要进一步补充完善。

#### 参考文献:

- [1] Bhattarai M, Gupta A K. Fast dissolving oral films: a novel trend to oral drug delivery system[J]. STCJ, 2016, 2(1):58
- [2] Padamwar P A, Phasate P P. Formulation and evaluation of fast dissolving oral film of bisoprolol fumarate[J]. IJPSR, 2015, 6(1):135
- [3] Jyoti A, Gurpreet S, Seema S, et al. Fast dissolving films: a novel approach to oral drug delivery[J]. IRJP, 2013, 2(12):69
- [4] 陈芳,夏怡然,侯惠民.口腔膜剂的研发及应用[J].中国医药工业杂志,2012,43(6):484
- [5] 杜彪,张杰,谢星星,等.马来酸依那普利叶酸片治疗 H 型高血压的系统评价[J].中国现代应用药学,2015,32(12):1488
- [6] 李伟群,谢建群,龚雨萍,等.叶酸治疗幽门螺旋杆菌阴性慢性萎缩性胃炎的疗效[J].中国临床医学,2014,21(5):523
- [7] Hsu H C, Chang W M, Wu J Y, et al. Folate deficiency triggered apoptosis of synoviocytes: role of overproduction of reactive oxygen

species generated via NADPH oxidase /mitochondrial complex II and calcium perturbation[J]. Plos One, 2016, 11(1):13

- [8] 朱舜时,Joel M,施尧,等.叶酸对胃癌和其他胃肠道癌发生的干预作用—临床试验七年随访[J].胃肠病学,2002,7(2):73
- [9] 杨小珊,曾令福.叶酸在体外对人肝癌细胞生长的抑制作用[J].中国组织工程研究,2006,10(48):136
- [10] 陆嵘,王霞,房静远.叶酸对二甲胍诱发小鼠大肠癌干预及其机制的研究[J].中华肿瘤防治杂志,2009,16(9):645
- [11] Zhang L, Zhu W, Yang C, et al. A novel folate-modified self-microemulsifying drug delivery system of curcumin for colon targeting[J]. Int J Nanomed, 2012, 7(9):151
- [12] Kumar M, Singh G, Arora V, et al. Cellular interaction of folic acid conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles and its use as contrast agent for targeted magnetic imaging of tumor cells[J]. Int J Nanomed, 2012, 7(7):3503
- [13] GB 15570-2010. 食品安全国家标准 食品添加剂 叶酸[S].2010:3
- [14] 国家药典委员会.中国药典[S].二部.北京:中国医药科技出版社,2015:447
- [15] Shruti C P, Sarvesh D P, Amitha S, et al. A review on fast dissolving sublingual films for systemic drug delivery[J]. IJPCS, 2014, 3(2): 501
- [16] Center for Drug Evaluation and Research. Guidance and Manuals [EB/OL].[https://www.fda.gov/AboutFDA/Centers Offices/Office of Medical ProductsandTobacco/CDER/ucm269999.html](https://www.fda.gov/AboutFDA/Centers%20Offices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm269999.html),2014 -11 -21/2017-06-08

(2017-06-20 收稿)

(上接第 67 页)

势,这种上升趋势与人口老龄化以及社会经济发展带来的冠心病危险因素明显增长密切相关<sup>[11]</sup>。

随着经济的发展,人民生活水平的提高,科学的预估未来,及时采取切实可行的措施,有效的控制心脏病的发生发展已经成为当务之急<sup>[13-16]</sup>。国外研究显示,从 20 世纪 60 年代开始欧美国家的死亡率逐渐呈下降趋势<sup>[17]</sup>,主要得益于对危险因素的控制<sup>[18]</sup>,因此滨海新区塘沽应加强对心脏病危险因素的健康教育知识普及工作,从而有效控制心脏病的发生及死亡。

#### 参考文献:

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2016》概要[J].中国循环杂志,2017,32(6):521
- [2] 世界卫生组织.《全球疾病负担》[EBOL].2008 年 10 月 27 日
- [3] 谢俊卿,信振江,白俊梅,等.丰台区居民 2008-2012 年心脏病死亡特征分析及预测[J].中国卫生统计,2014,31(2):202
- [4] 陆艳,武鸣,王临池,等.江苏居民 2003-2005 年心脏病死亡情况分析[J].江苏预防医学,2011,22(4):11
- [5] 张辉,徐忠良,王德征,等.2015 年天津市居民死亡水平及主要死因[J].职业与健康,2017,33(9):1245
- [6] 林红,孙巍,张莉梅.大连居民 30 年心脏病死亡趋势分析[J].中华疾病控制杂志,2015,19(1):20
- [7] 国家卫生和计划生育委员会统计信息中心,中国疾病预防控制中心慢性非传染性疾病预防控制中心.中国死因监测数据集 2014[M].北京:中国科学技术出版社,2016

- [8] 王莹,刘守钦,周林,等.2011-2015 年济南市居民循环系统疾病死亡流行病学特点分析[J].现代预防医学,2017,44(1):25
- [9] 翟红楠,张轩,王艳红.气候变化对华中原区域心脑血管疾病的影响及未来趋势预测[J].数理医药学杂志,2012,25(4):441
- [10] 钟文玲,黄少芬,林修全,等.福建省 2007-2013 年居民心脏病死亡趋势研究[J].海峡预防医学杂志,2014,20(6):7
- [11] 张志萍,李明珠,蔡卫华.1992-2013 年上海市宝山区居民心脏病死亡和潜在寿命损失的趋势[J].职业与健康杂志,2015,31(7):932
- [12] 刘仪德.院外院内急救连接中存在的问题和对策[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2012,7(6):562
- [13] 何推嵩,任泽舫.广州市越秀区居民心脑血管疾病死亡情况分析[J].岭南心血管杂志,2011,20(4):153
- [14] Gaziano T. Reducing the growing burden of cardiovascular disease in the developing world[J]. Health Affair, 2007, 26(1):13
- [15] Critchley J, Liu J, Zhao D, et al. Explaining the increase in coronary heart disease mortality in Beijing between 1984 and 1999[J]. Circulation, 2004, 110(10):1236
- [16] Wang L, Kong L, Wu F, et al. Preventing chronic disease in China[J]. Lancet, 2005, 366(9499):1821
- [17] Roger V L, Go A S, Lloyd J D M, et al. Heart disease and stroke statistics -2011 update a report from the American Heart Association[J]. Circulation, 2011, 123(4):e60
- [18] 方桂英,陈霖祥,唐文瑞,等.2002-2011 年中国心脏病死亡的流行病学分析[J].汕头大学医学院学报,2014,27(2):125

(2017-06-26 收稿)