ISSN: (3007-0384)
E-ISSN: (3007-0392)
مجلة وهج العلوم للعلوم الصرفة
المجلة متاحة على الرابط
https://uomosul.edu.iq/womeneducation/jwups/

Indirect spectrophotometric determination of phenylephrine hydrochloride using potassium permanganate and toluidine blue dye

Nour Y. Tawfeeq [1]*,
Mohammed S. Al-Enizzi [2]

[1,2] Department of Chemistry,
College of Education for Women,
University of Mosul,
Mosul-Iraq

*Corresponding author e-mail:
nour.23gep72@student.uomosul.edu.iq

Keywords:

Dye palace reaction, toluidine blue dye, phenylephrine hydrochloride, potassium permanganate.

ARTICLE INFO

Article history:
Received :2024/11/21
Accepted :2024/12/4
Available online

Email: jwups@uomosul.edu.iq

ABSTRACT

An accurate, sensitive, and indirect spectrophotometric method was developed to determine phenylephrine hydrochloride in its pure form and pharmaceutical preparations. This method is based on the use of potassium permanganate as an oxidizing agent to oxidize the pharmaceutical compound phenylephrine hydrochloride and then the unreacted increase of the oxidizing agent potassium permanganate leads to the discoloration of toluidine blue dye in sulfuric acid medium at (606) nm wavelength. The method followed Beer's law within the concentration range of (1.0-10.0) µg/ml, and the molar absorbance was (1.53×10^4) L/mol.cm, the LOD value was 1.11 µg/ml and the LOQ value was 3.72 µg/ml, the recovery of the method was 101.19% and the relative standard deviation was 0.73%, and the method was successfully applied to pharmaceutical formulations in drop form.

© 2025JWUPS, College of Education for Women, University of Mosul.

Journal of Wahj Al-Ulom for Pure Sciences
Journal of Wahj Al-Ulom for Pure Sciences
Journal of Wahj Al-Ulom for Pure Sciences

التقدير الطيفي غير المباشر للفنيل فرين هيدروكلوريد باستخدام برمنغنات البوتاسيوم وصبغة التولودين الزرقاء

نوريحي توفيق يحيى[1]*، محمد سالم شيت العنزي[2]
[1، 2] قسم الكيمياء، كلية التربية للبنات، جامعة الموصل، العراق

الخلاصة:

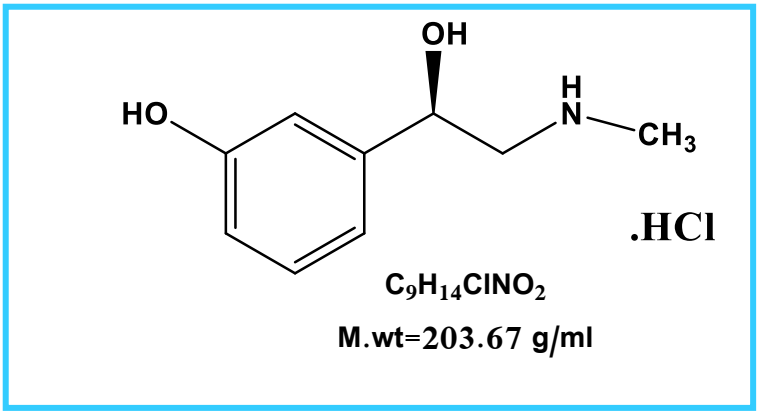
تم تطوير طريقة طيفية دقيقة وحساسة وغير مباشرة لتقدير الفنيل فرين هيدروكلوريد في شكله النقي وفي مستحضراته الصيدلانية، اذ اعتمدت الطريقة على استخدام برمنغنات البوتاسيوم كعامل مؤكسد لأكسدة المركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد ثم الزيادة غير المتفاعلة من العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم تؤدي الى قصر لون صبغة التولودين الزرقاء في وسط حامض الكبريتيك عند الطول الموجي (606) نانومتر. واتبعت الطريقة قانون بير ضمن مدى تركيز (1.0 – 10.0) مايكروغرام/ مللتر، وكانت الامتصاصية المولارية (1.53×10^4) لتر/ مول. سم.، في حين قيمة (LOD) 1.11 مايكروغرام/ مللتر وقيمة (LOQ) 3.72 مايكروغرام/ مللتر، اذ كانت دقة الطريقة 101.19 % وتوافقية الطريقة 0.73 % وطبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية بشكل قطرات.

الكلمات المفتاحية: تفاعل قصر الصبغة، صبغة تولودين الزرقاء، فنيل فرين هيدروكلوريد، برمنغنات البوتاسيوم.

المقدمة

الفنيل فرين هيدروكلوريد Phenylephrine.HCl

الفنيل فرين هيدروكلوريد مادة بلورية عديمة الرائحة له الصيغة التركيبية كما في الشكل(1)[1]، يعرف كيميائيا [3-hydroxy phenyl)-2-(methylamino) ethanol] hydrochloride يستخدم كعلاج فعال لتضييق الأوعية الدموية في الغشاء المخاطي للأنف الذي يعمل على تخفيف احتقان الأنف[2،3]، ويعمل هذا الدواء أيضًا لتوسيع حدقة العين وتخفيف أعراض تهيج الجيوب الانفية ونزلات البرد[4]، يتوفر كدواء يؤخذ عن طريق الفم أو كرذاذ أنفي وكذلك بشكل حقن يستخدم لزيادة ضغط الدم في المرضى غير المستقرين الذين يعانون من انخفاض ضغط الدم ومعالجة أنواع معينة من عدم انتظام ضربات القلب[5].

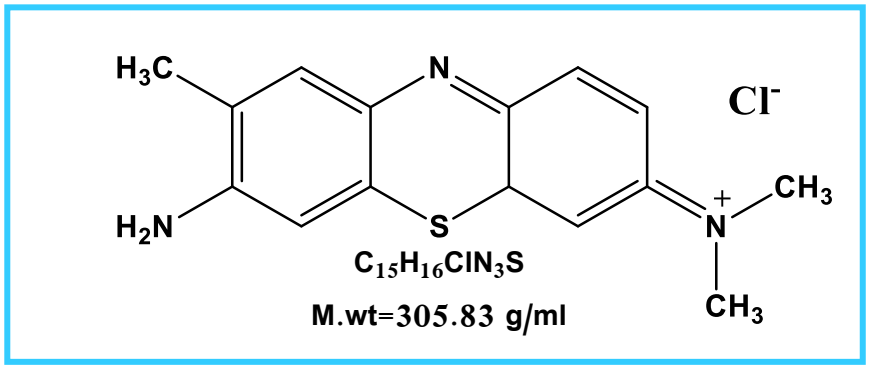


الشكل (1) الفنيل فرين هيدروكلوريد

الفنيل فرين هيدروكلوريد قابل للذوبان في الماء والإيثانول ولكنه غير قابل للذوبان في الأيثر والكلوروفورم والبنزين، في الأدبيات العلمية هناك العديد من الطرائق المستخدمة لتقدير الفنيل فرين هيدروكلوريد منها الطرائق الطيفية[6-13]، الطرائق الكروماتوكرافية[14-18]، الطرائق الكهربائية[19-21]،طرائق الحقن الجرياني[22،23]، فضلا عن طرائق الانابيب النانوية[24،25]، ويمكن استخدام الصبغة في تقدير المركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد كما هو الحال في استخدام عدد من الصبغات في تقدير عدد من المركبات الدوائية منها صبغة السفرانين[26،27] وصبغة ايروكروم بلاك[28].

صبغة التولودين الزرقاء Toluidine blue

التولودين الزرقاء (تعرف أيضًا باسم كلوريد التولونيوم) هي الصبغة الكاتيونية القاعدية الزرقاء التي تصبغ بشكل انتقائي مكونات الأنسجة الحامضية (الكبريتات والكاربوكسيلات وجذور الفوسفات) [29]، وعُرفت التولودين الزرقاء في العديد من الاستعمالات الطبية منذ اكتشافه على يد ويليام هنري بيركين في عام 1856 وبعد ذلك تم استخدامها بشكل أساسي في صناعة الصبغات، وتحتوي على حلقة الثيازين التي لها القابلية على الذوبان في كل من الماء والكحول كما في الشكل (2) [30].



الشكل (2) صبغة التولودين الزرقاء

الجزء العملي

الأجهزة المستخدمة

تم اجراء قياسات الامتصاص ورسم أطياف الامتصاص للمحاليل باستخدام جهاز المطياف الضوئي ثنائي الحزمة نوع (Shimadzu UV_1800 spectrophotometry) ونوع (Shimadzu UV_1900i spectrophotometry) وباستعمال خلايا مصنوعة من الكوارتز عرض 1 سم. وتمت عمليات الوزن باستخدام ميزان حساس نوع (ae ADAM). وأجريت عمليات التسخين باستخدام حمام مائي نوع (elektro-mag).

المواد والمحاليل الكيميائية المستخدمة

كانت جميع المواد الكيميائية المستخدمة على درجة عالية من النقاوة.

محلول الفنيل فرين هيدروكلوريد (100 مايكروغرام / مللتر)

تم تحضير محلول دواء الفنيل فرين هيدروكلوريد 100 مايكروغرام / مللتر وذلك بأذابة 0.0100 غرام في 2 مللتر من الكحول الاثيلي المطلق وأكمل الحجم بأستخدام الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

محلول صبغة التولودين الزرقاء (50 مايكروغرام / مللتر)

تم تحضير محلول 50 مايكروغرام / مللتر وذلك بأذابة 0.0050 غرام من تولودين الزرقاء في الماء المقطر باستعمال قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

محلول برمنغنات البوتاسيوم (1×10^{-3} مولاري)

تم تحضير العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم وذلك بأذابة 0.0158 غرام من المادة النقية في الماء المقطر باستعمال قنينة حجمية سعة 100 مللتر ووضعها في قنينة معتمة.

محلول حامض الهيدروكلوريك التقريبي (1 مولاري)

تم تحضير حامض الهيدروكلوريك وذلك بسحب 8.29 مللتر من الحامض المركز 12.06 مولاري بأستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

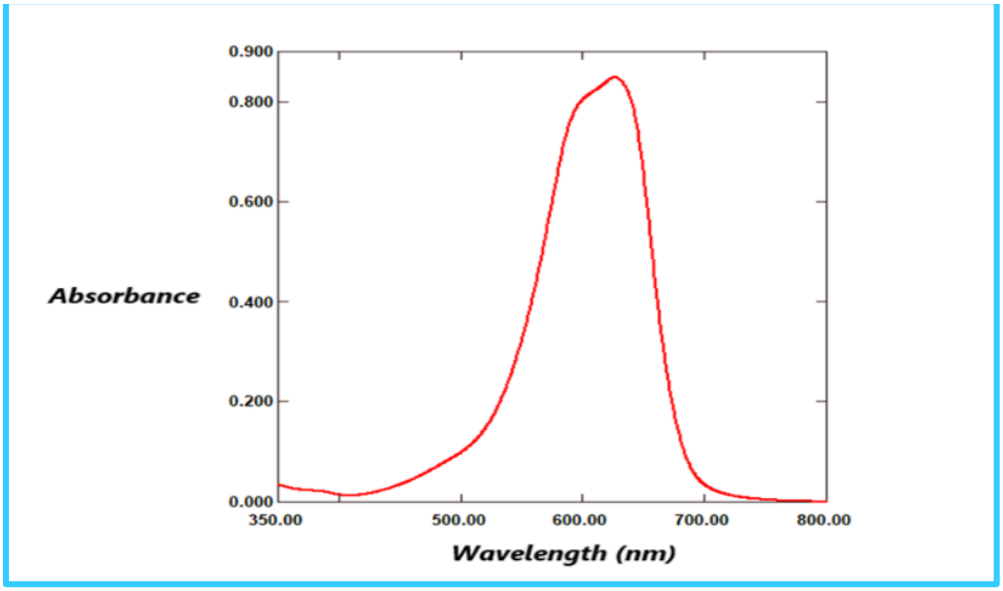
محلول حامض الكبريتيك التقريبي (0.75 مولاري)

تم تحضير حامض الكبريتيك وذلك بسحب 4.09 مللتر من الحامض المركز 18.3 مولاري بأستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

الدراسة التمهيدية

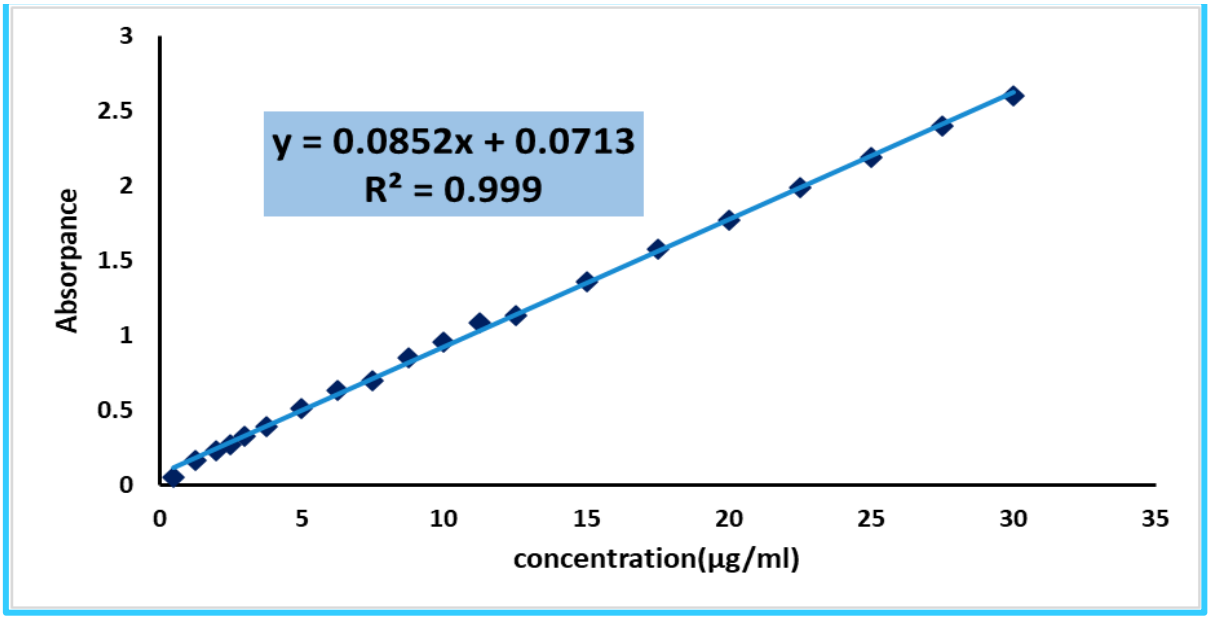
طيف الامتصاص والمنحنى القياسي للصبغة

تم دراسة المنحني القياسي للصبغة بتركيز 50 مايكروغرام / مللتر وذلك بأخذ كميات متزايدة من الصبغة (0.1-6.0) مللتر في قنينة حجمية سعتها 10 مللتر من اجل الحصول على الكمية المثلى التي تعطي أفضل امتصاص عند 606 نانومتر، كما هو موضح في الشكل (3).



الشكل (3) طيف امتصاص صبغة التولودين الزرقاء 10 مايكروغرام/مللتر

تم أخذ 2 مللتر من الصبغة وهو ما يعادل 10 مايكروغرام / مللتر وتم استخدامه في الدراسات اللاحقة حيث يقع ضمن منحنى المعايرة القياسية للصبغة، كما موضح في الشكل (4).

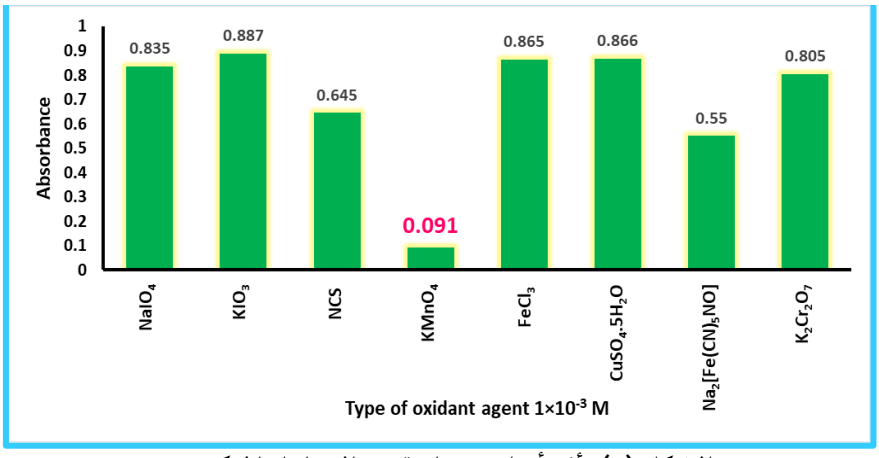


الشكل (4) المنحنى القياسي لصبغة التولودين الزرقاء

ضبط الظروف المثلى

دراسة تأثير أنواع مختلفة من العوامل المؤكسدة على قصر لون صبغة التولودين الزرقاء (1×10^{-3} مولاري)

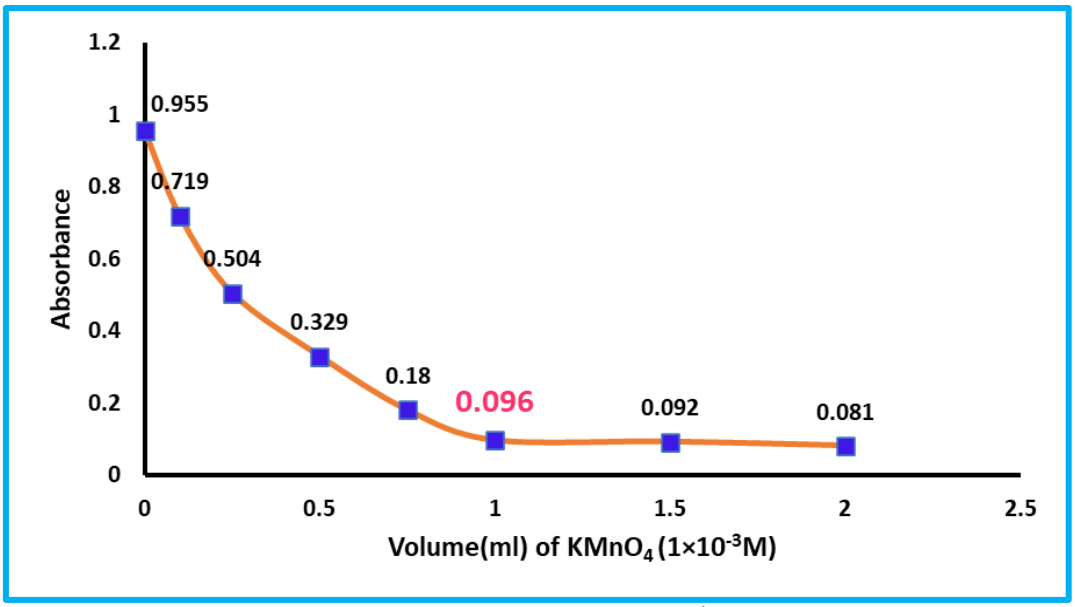
تم اخذ 2 مللتر من صبغة التولودين الزرقاء (10 مايكروغرام / مللتر)، واضيف اليها 1 مللتر من حامض الهيدروكلوريك (1 مولاري)، بعد ذلك اضيف 1 مللتر من أنواع مختلفة من العوامل المؤكسدة بتركيز (1×10^{-3} مولاري)، واضيف الماء المقطر الى المحاليل ورجها جيدا وتركها لمدة عشر دقائق، ولوحظ ان أفضلها هو برمنغنات البوتاسيوم حيث يتم تحول لون الصبغة الزرقاء الى اللون الأصفر الفاتح ثم يتحول الى عديم اللون وتم قياس الامتصاصات عند الطول الموجي 606 نانومتر مقابل المحلول الصوري. الشكل (5) يوضح ان أفضل عامل مؤكسد هو برمنغنات البوتاسيوم.



الشكل (5) تأثير أنواع مختلفة من العوامل المؤكسدة

دراسة تأثيركميات متزايدة من العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم (1×10^{-3} مولاري)

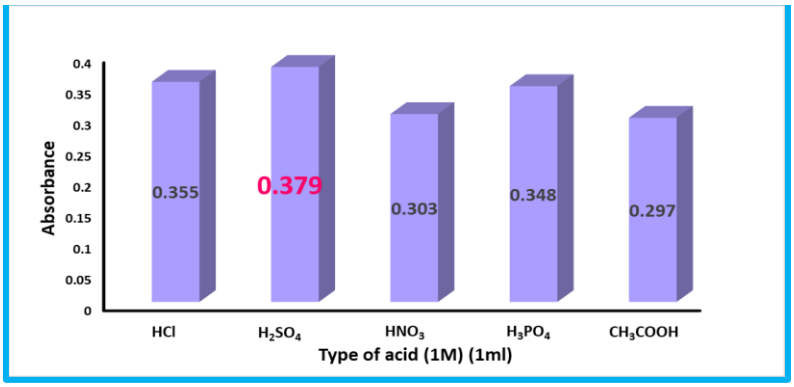
تم اخذ عدة قناني حجمية سعة 10 مللتر، أذ اضيف الى كل القناني 2 مللترمن صبغة التولودين الزرقاء ثم اضيف 1 مللترمن حامض الهيدروكلوريك (1 مولاري)، بعد ذلك اضيف كميات متزايدة (0.1 – 2.0) مللترمن العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم ونكمل الى حد العلامة بالماء المقطر، ومن الشكل (6) يبين ان أفضل كمية هي 1 مللترحيث تؤدي الى قصر صبغة التولودين الزرقاء.



الشكل (6) تأثيركميات متزايدة من برمنغنات البوتاسيوم

دراسة تأثير أنواع مختلفة من الحوامض (1 مولاري)

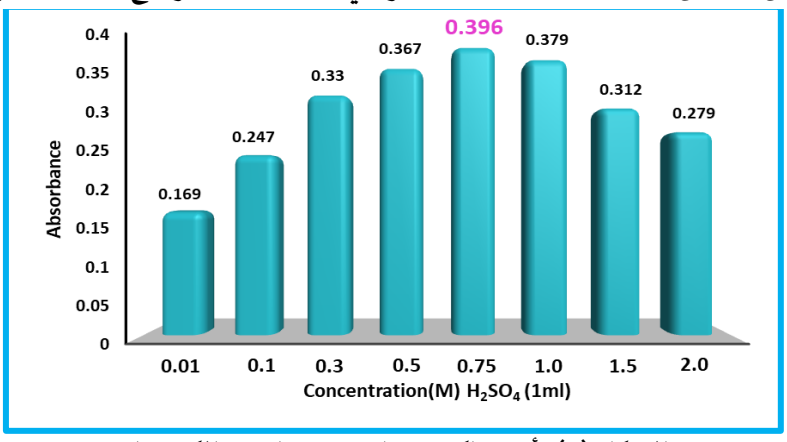
تم اخذ عدة قناني حجمية سعة 10 مللتر اذ وضع فيها 0.5 مللترمن دواء الفنيل فرين هيدروكلوريد ثم اضيف 1 مللتر من الحوامض المختلفة (1 مولاري)، بعد ذلك اضيف 1 مللترمن العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم ثم تترك ما يقارب عشرة دقائق بعد ذلك اضيف 2 مللترمن صبغة التولودين الزرقاء وخفف الحجم الى حد العلامة وترك المحلول لمدة 10 دقائق، بعد ذلك يقاس شدة الامتصاص عند الطول الموجي 606 نانومتر، والشكل (7) يوضح أفضل حامض هو حامض الكبريتيك.



الشكل (7) تأثير أنواع مختلفة من الحوامض

دراسة تأثير تراكيز مختلفة من حامض الكبريتيك

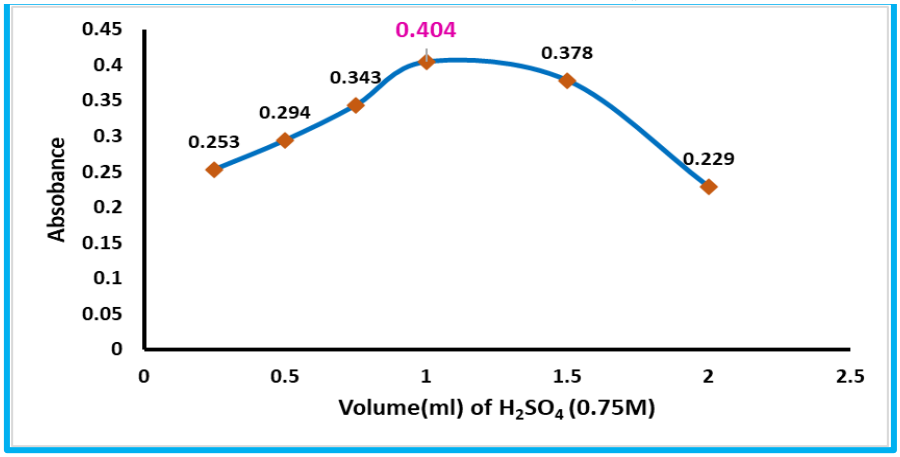
تم اخذ عدة تراكيز من حامض الكبريتيك (0.01 – 2.0) مولاري، والشكل (8) يوضح أن أفضل تركيز هو 0.75 مولاري.



الشكل (8) تأثير تراكيز مختلفة من حامض الكبريتيك

دراسة تأثير كميات مختلفة من حامض الكبريتيك (0.75 مولاري)

تم اخذ كميات مختلفة من حامض الكبريتيك (0.25 – 2.0) مللتر من اجل معرفة الكمية المثلى للحامض، والشكل (9) يوضح ان كمية 1 مللتر تعطي أفضل شدة امتصاص.

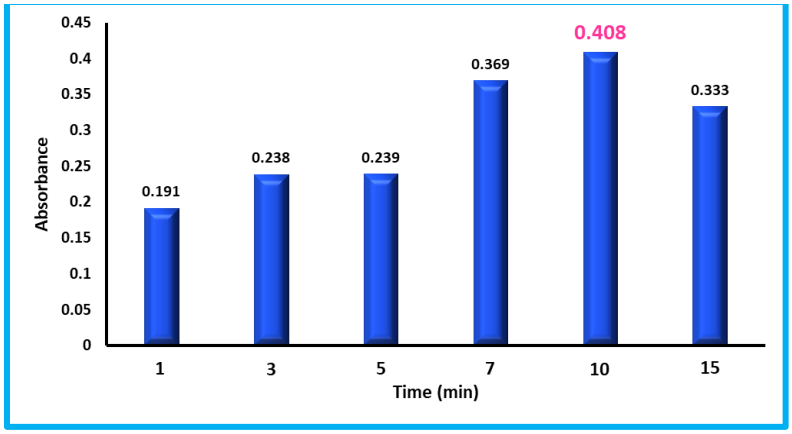


الشكل (9) تأثير كميات مختلفة من حامض الكبريتيك

دراسة تأثير زمن الاكسدة

تم دراسة زمن اكسدة المركب الدوائي فنيل فرين هيدروكلوريد عند الطول الموجي 606 نانومتر، حيث تم اخذ 0.5 مللتر من الفنيل فرين هيدروكلوريد واضيف 1 مللتر حامض الكبريتيك بعد ذلك اضيف 1 مللتر من برمنغنات البوتاسيوم

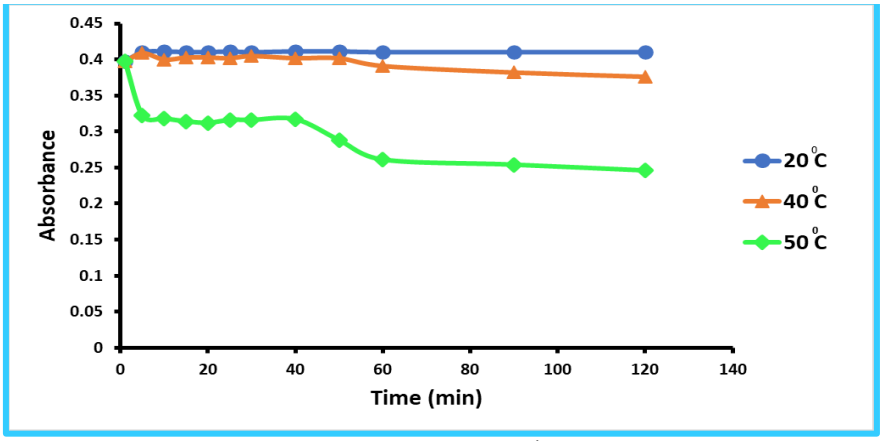
وترك فترات زمنية مختلفة (1 – 15) دقيقة ثم اضيف 2 مللتر من صبغة التولودين الزرقاء وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة، وفي الشكل (10) يوضح ان أفضل زمن هو 10 دقائق.



الشكل (10) تأثير الزمن في اكسدة الفنيل فرين هيدروكلوريد

دراسة تأثير درجة الحرارة وزمن الاستقرار

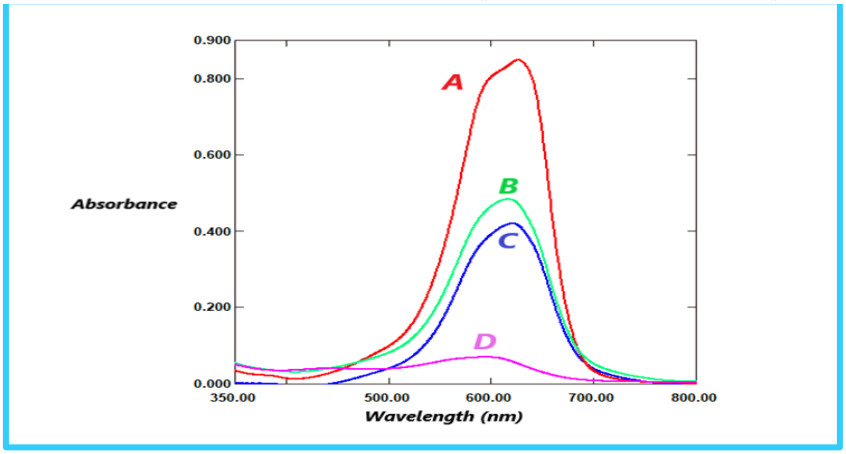
تم دراسة تأثير درجات حرارية مختلفة (20 و40 و50) م° على شدة امتصاص الناتج المتكون واستقراريته وبشكل منفرد، يوضح الشكل (11) ان أفضل امتصاصية للناتج المتكون عند درجة حرارة المختبر (20 م°)، اذ أن زمن التكوين هو 5 دقائق وان فترة استقرار النتائج استمرت تقريبا لأكثر من 100 دقيقة.



الشكل (11) تأثير درجة الحرارة وزمن الاستقرار

دراسة طيف الامتصاص النهائي

بعد ان تم تثبيت الظروف المثلى للفنيل فرين هيدروكلوريد، تم رسم أطياف الامتصاص النهائية للفنيل فرين هيدروكلوريد بطول موجي 606 نانومتر، كما موضح في الشكل (12).

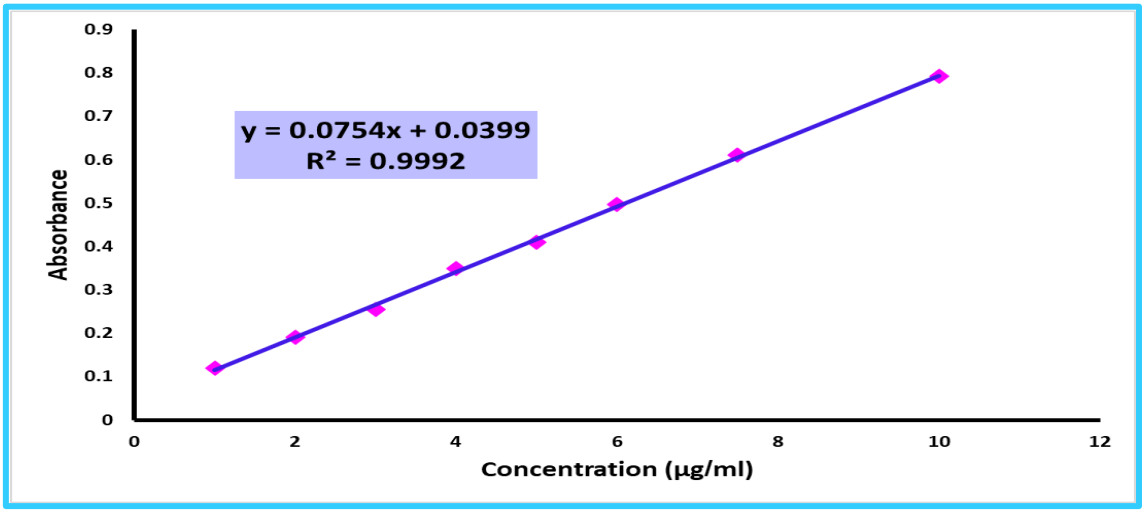


الشكل (12) طيف الامتصاص النهائي للفنيل فرين هيدروكلوريد

A-: طيف امتصاص صبغة التولودين الزرقاء (10 مايكروغرام / مللتر) وحامض الكبريتيك مقابل المحلول الصوري.
B-: طيف امتصاص الصبغة بوجود الفنيل فرين هيدروكلوريد (5 مايكروغرام / مللتر) مقابل الماء المقطر.
C-: طيف امتصاص الصبغة بوجود الفنيل فرين هيدروكلوريد (5 مايكروغرام / مللتر) مقابل المحلول الصوري.
D-: طيف امتصاص المحلول الصوري الحاوي على الصبغة والحامض والعامل المؤكسد مقابل الماء المقطر.

دراسة المنحنى القياسي للمركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد

اخذت كميات متزايدة من دواء الفنيل فرين هيدروكلوريد (100 مايكروغرام / مللتر) واضيف 1 مللتر من حامض الكبريتيك (0.75 مولاري) ثم اضيف 1 مللتر من برمنغنات البوتاسيوم (1×10^{-3} مولاري) وبعدها تترك لمدة 10 دقائق، ثم اضيف 2 مللتر من صبغة التولودين الزرقاء (بتركيز 50 مايكروغرام / مللتر) وخففت المحاليل بالماء المقطر الى حد العلامة، وتركت المحاليل في درجة حرارة المختبر (20 م°)، وثم القياس بعد 5 دقائق عند الطول الموجي 606 نانومتر. اذ بلغت الامتصاصية المولارية للفنيل فرين هيدروكلوريد 1.53×10^{4} لتر/ مول.سم، يوضح الشكل (13) أن الطريقة تتبع قانون بيرضمن المدى (1.0 – 10.0) مايكروغرام / مللتر.



الشكل (13) المنحني القياسي للمركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد

دراسة دقة الطريقة وتوافقها

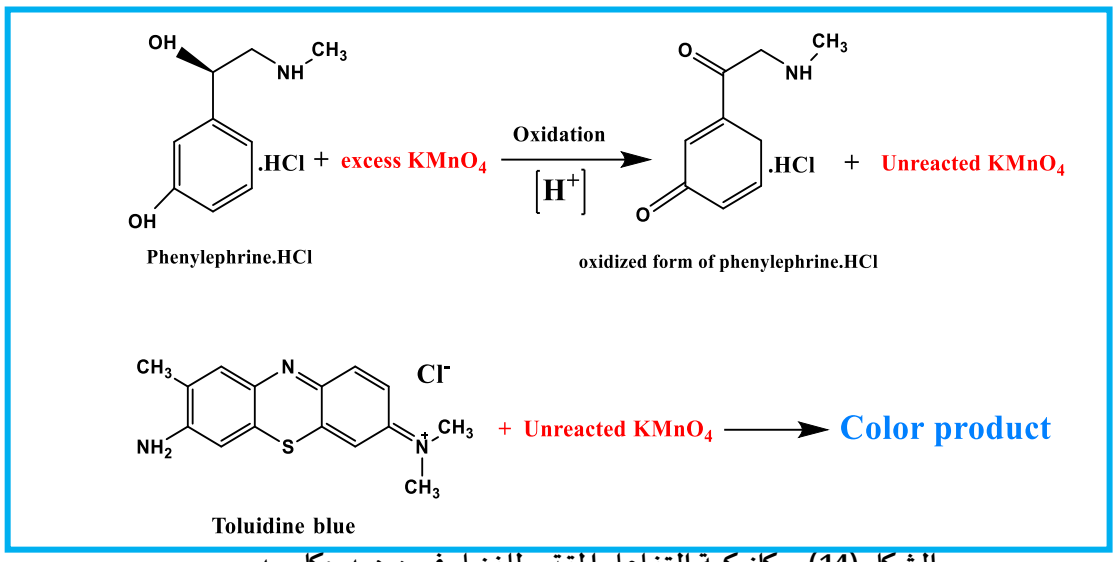
تم دراسة دقة الطريقة وتوافقها من خلال احتساب نسبة الاسترجاع (Recovery%) والانحراف القياسي النسبي (RSD%) وذلك بأخذ خمس قراءات لثلاث تراكيز مختلفة للمركب فنيل فرين هيدروكلوريد، وتبين من الجدول (1) ان الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين.

الجدول (1) دقة الطريقة وتوافقها

Compound	Amount added (µg/ml)		Recovery%	Average recovery%	RSD%
	Taken	Found			
Phenylephrine.HCl	2.0	2.01	100.50	101.19	0.79
	4.0	4.11	102.75		1.20
	6.0	6.02	100.33		0.20

التفاعل الكيميائي المقترح

من المتوقع ان التفاعل يسري خلال الميكانيكية في الشكل (14)، اذ يعاني المركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد من عملية اكسدة بواسطة برمنغنات البوتاسيوم بوجود وسط حامض الكبريتيك، ثم المتبقي من العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم يعمل على قصر جزء من صبغة التولودين الزرقاء.



الشكل (14) ميكانيكية التفاعل المقترح للفنيل فرين هيدروكلوريد

محلول القطرة الأنفية الفنيل فرين هيدروكلوريد (نازوفين) (1%)

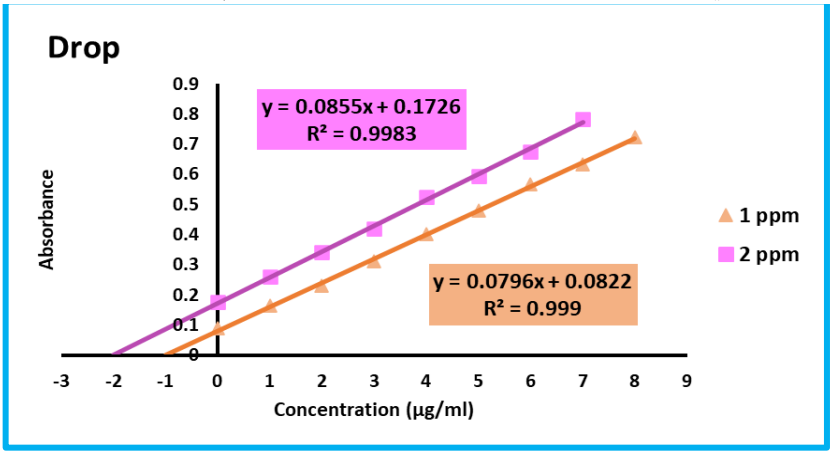
تم مزج ثلاث عبوات من قطرة النازوفين المجهزة من شركة بايونير(Pioneer)، وبعد مزج المحاليل مع بعضها بصورة جيدة أخذ 1 مللتر من محلول القطرة وتم وضعه في قنينة حجمية سعة 100 مللتر، وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ليكون التركيز النهائي لمحلول المستحضر الصيدلاني هو 100 مايكروغرام / مللتر من الفنيل فرين هيدروكلوريد، حيث سحب من محلول المستحضر الصيدلاني حجوم مختلفة (0.2، 0.4، 0.6) مللتر للحصول على تراكيز (2، 4، 6) مايكروغرام / مللتر من الفنيل فرين هيدروكلوريد اذ استخدام المنحني القياسي للدواء بصيغته النقية لأيجاد التراكيز للمستحضر الصيدلاني، تم تطبيق الطريقة المطورة لتقدير المركب الدوائي الفنيل فرين هيدروكلوريد في مستحضره الصيدلاني (القطرات) كما مبين في الجدول (2).

الجدول (2) تقدير الفنيل فرين هيدروكلوريد في المستحضر الصيدلاني (القطرات)

Pharmaceutical preparation	Validated value	Amount present (µg/ml)		Drug content found(mg)	Recovery%	Average recovery%	RSD%
		Taken	Found				
Drops NASOFEN	10mg	2.0	1.94	9.70	97.00	99.86	1.537
		4.0	4.13	10.32	103.25		0.742
		6.0	5.966	9.94	99.33		0.1708

دراسة طريقة الإضافة القياسية

لأثبات كفاءة ونجاح الطريقة المقترحة طبقت طريقة الإضافة القياسية على المستحضر الصيدلاني الفنيل فرين هيدروكلوريد بشكل قطرة، كما في الشكل (15) عند اخذ (1.0 و2.0) مايكروغرام / مللتر من القطرة.



الشكل (15) تطبيق طريقة الإضافة القياسية على المستحضر الصيدلاني الفنيل فرين هيدروكلوريد (قطرة)

مقارنة الطريقة المقترحة مع طريقة طيفية أخرى

تمت مقارنة الطريقة المقترحة بأستخدام صبغة التولودين الزرقاء مع طريقة طيفية أخرى وادرجت نتائج المقارنة في الجدول (3)، وبينت المقارنة ان الطريقة المقترحة ذات حساسية عالية وطول موجي أطول.

الجدول (3) مقارنة الطريقة المقترحة مع طريقة طيفية اخرى

Analytic parameters	Current method	Literature method [6]
Reagent used	Toluidine blue	2-aminobenzothiazole
λMax (nm)	606	510
Beerś law range (µg/ml)	1 – 10	0.4 – 11.2
Molar absorptivity ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)	1.53×10^4	0.662×10^4
Stability	More than 100 min	48hrs
Application of the method	Nose drop	Nose drop

الاستنتاج

تم اقتراح طريقة طيفية غير مباشرة لتقدير الفنيل فرين هيدروكلوريد بصورته النقية وذلك عن طريق اكسدة الفنيل فرين هيدروكلوريد بواسطة العامل المؤكسد برمنغنات البوتاسيوم بوجود وسط حامض الكبريتيك ثم مفاعلة المتبقي من العامل المؤكسد مع صبغة التولودين الزرقاء، اذ يقاس شدة الامتصاص عند الطول الموجي 606 نانومتر. أمكن تطبيق الطريقة بنجاح على المستحضر الصيدلاني (القطرة)، وكانت النتائج ذات دقة وتو افق جيدين.

المصادر

[1] J. Buckingham, *Dictionary of organic compounds*, vol. 1. CRC Press, 1996.

[2] M. Q. Al-Abachi and H. S. Al-Ward, "Spectrophotometric micro determination of phenylephrine hydrochloride in pharmaceutical preparations via oxidative coupling with 4-aminoantipyrine in the presence of sodium periodate," *Natl. J. Chem*, vol. 6, pp. 221–230, 2002.

[3] K. D. Tripathi, *Essentials of medical pharmacology*. Jaypee Brothers medical publishers, 2018.

[4] I. C. H. H. T. Guideline, "Validation of analytical procedures: text and methodology," *Q2*, vol. 1, no. 20, p. 5, 2005.

[5] A. St Louis, "Division of JB Lippincott," *Drug Facts Comp.*, 1985.

[6] N. Th Abdul Fatah and N. S Othman, "Spectrophotometric determination of phenylephrine hydrochloride by coupling with diazotized 2-aminobenzothiazole," *Rafidain J. Sci.*, vol. 20, no. 8, pp. 69–81, 2009.

[7] N. A. S. Theiaa and A. Sabha, "Spectrophotometric assay of phenylephrine hydrocholride using 4-aminoantipyrine and copper (II)," *Pak. J. Anal. Environ. Chem. 2010; 11 1*, vol. 7, 2011.

[8] M. Patel and K. Pala, "Analytical method development and validation of cetirizine hydrochloride and phenylephrine hydrochloride in combined dosage form," *J. Pharm. Sci. Biosci. Res.*, vol. 5, no. 2, pp. 180–186, 2015.

[9] I. Muszalska, M. Zajac, G. Wrobel, and M. Nogowska, "UV/VIS spectrophotometric methods for determination of caffeine and phenylephrine hydrochloride in complex pharmaceutical preparations. Validation of the methods," *Acta Pol. Pharm.*, vol. 57, no. 4, pp. 247–252, 2000.

[10] I. S. Ahmed and A. S. Amin, "Spectrophotometric microdetermination of phenylephrine

hydrochloride in pure and in pharmaceutical formulations using haematoxylin," *J. Mol. Liq.*, vol. 130, no. 1–3, pp. 84–87, 2007.

[11] C. A. Kelly and M. E. Auerbach, "Ion exchange separation and Colorimetric determination of phenylephrine in pharmaceutical products," *J. Pharm. Sci.*, vol. 50, no. 6, pp. 490–493, 1961.

[12] F. De Fabrizio, "Spectrophotometric determination of acetaminophen, phenylephrine hydrochloride, codeine phosphate, and pyrilamine maleate in tablets or powder," *J. Pharm. Sci.*, vol. 57, no. 4, pp. 644–645, 1968.

[13] M. Kazemipour and M. ANSARI, "Derivative spectrophotometry for simultaneous analysis of chlorpheniramine maleate, phenylephrine HCl, and phenylpropanolamine HCl in ternary mixtures and pharmaceutical dosage forms," 2005.

[14] M. BABU, P. K. CHADALAWADA, and S. M. BABU, "RP-HPLC METHOD FOR DETERMINING THE LEVELS OF GUAIPHENESIN AND PHENYLEPHRINE IN PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS," *Mintage J. Pharm.*.

[15] M. Maithani, R. Raturi, V. Gupta, R. Singh, and P. Bansal, "Development of Novel Method for Determination of Phenylephrine Hydrochloride and Cetirizine Hydrochloride in Tablet Dosage Form using RP-HPLC," *J. Biomed. Pharm. Res.*, vol. 6, no. 4, pp. 48–53, 2017.

[16] J. NP, "Vekariya. H., Rajput HP Stability Indicating HPLC Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Bromhexine and Phenylephrine HCL in its Combined Pharmaceutical Dosage Form," *J Pharm Sci*, vol. 6, no. 4, pp. 523–528, 2016.

[17] A. Marın and C. Barbas, "CE versus HPLC for the dissolution test in a pharmaceutical formulation containing acetaminophen, phenylephrine and chlorpheniramine," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 35, no. 4, pp. 769–777, 2004.

[18] H. Şenyuva and T. Özden, "Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of paracetamol, phenylephrine HCl, and chlorpheniramine maleate in pharmaceutical dosage forms," *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 40, no. 2, pp. 97–100, 2002.

[19] S. Suratiya and S. S. Pancholi, "Development and validation of dual-wavelength method for Simultaneous Estimation of Ebastine and Phenylephrine hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form," *Int. J. Pharmamedix India*, vol. 2, no. 3, pp. 781–791, 2014.

[20] K. Li, M. Zhu, H. Zhang, and J. Zhao, "Electrochemical determination of phenylephrine hydrochloride based on graphene-tio2 modified glassy carbon electrode," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 4047–4054, 2013.

[21] Zeina. POURgHObADI and A. Niazi, "Voltammetric study and determination of phenylephrine hydrochloride at INP-nafion-modified CPE sensor employing differential pulse voltammetry," *Orient J Chem*, vol. 30, no. 1, pp. 219–227, 2014.

[22] Y. F. Mestre, L. L. Zamora, and J. M. Calatayud, "Determination of phenylephrine hydrochloride by flow injection analysis with chemiluminescence detection," *J. AoAc Int.*, vol. 84, no. 1, pp. 13–18, 2001.

[23] M. Q. Al-Abachi and S. Subhi, "Flow injection-spectrophotometric determination of phenylephrine hydrochloride and amoxicillin trihydrate in pharmaceutical preparations," *Al-Nahrain J. Sci.*, vol. 16, no. 1, pp. 42–52, 2013.

[24] B. Habibi and M. Jahanbakhshi, "Simultaneous determination of ascorbic acid, paracetamol and phenylephrine: Carbon nanotubes ceramic electrode as a renewable electrode," *Anal.*

Bioanal. Electrochem, vol. 7, no. 1, pp. 45–58, 2015.

[25] A. Samadi-Maybodi, S. K. H. Nejad-Darzi, and H. Ilkhani, "A new sensor for determination of paracetamol, phenylephrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate in pharmaceutical samples using nickel phosphate nanoparticles modified carbon past electrode," *Anal. Bioanal. Electrochem*, vol. 3, pp. 134–145, 2011.

[26] M. M. Al-Taee and M. S. Al-Enizzi, "Indirect Spectrophotometric Determination of Mefenamic Acid using Safranin Dye," *Methods Objects Chem. Anal.*, vol. 19, no. 1, pp. 38–44, 2024.

[27] M. M. Al-Taee and M. S. Al-Enizzi, "Using Safranine Dye for Indirect Spectrophotometric Determination of Furosemide in the Presence N-bromosuccinamide," *Cent. Asian J. Med. Nat. Sci.*, vol. 5, no. 2 SE-Articles, Mar. 2024.

[28] A. A. Al-Khero and M. S. Al-Enizzi, "Indirect Spectrophotometric Determination of Furosemide using Eriochrome Black-T Dye," *Methods Objects Chem. Anal.*, vol. 19, no. 2, pp. 94–100, 2024.

[29] J. B. Epstein, C. Scully, and J. Spinelli, "Toluidine blue and Lugol's iodine application in the assessment of oral malignant disease and lesions at risk of malignancy," *J. oral Pathol. Med.*, vol. 21, no. 4, pp. 160–163, 1992.

[30] S. Gandolfo, M. Pentenero, R. Broccoletti, M. Pagano, M. Carrozzo, and C. Scully, "Toluidine blue uptake in potentially malignant oral lesions in vivo: clinical and histological assessment," *Oral Oncol.*, vol. 42, no. 1, pp. 88–94, 2006.