



คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

- การประดิษฐ์
 การออกแบบผลิตภัณฑ์
 อนุสิทธิบัตร

ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้
ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535
และ พระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542

สำหรับเจ้าหน้าที่	
วันรับคำขอ 9/02/2569	เลขที่คำขอ 2603000565
วันยื่นคำขอ	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและส
ารที่มีฤทธิ์ในการรักษา

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่
ในจำนวน _____ คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร บุคคลธรรมดา นิติบุคคล หน่วยงานรัฐ มูลนิธิ อื่นๆ

ชื่อ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ที่อยู่ เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก

ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย

อีเมล kanyaratp@nu.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน เลขทะเบียนนิติบุคคล เลขประจำตัวผู้เสียภาษีอากร 0 9 9 4 0 0 0 4 7 7 8 8 1 เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)

ในกรณีที่กรณฯ สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง อีเมลผู้ขอ อีเมลตัวแทน

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
 ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ผู้รับโอน ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)

ชื่อ นางสาวกัญญารัตน์ ประทุมศิริ

ที่อยู่ กองบริการวิชาการและจัดการทรัพยากร มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ที่ 9 ถนนพิษณุโลก-นครสวรรค์

ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย

อีเมล kanyaratp@nu.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน 3 6 5 9 9 0 0 6 4 3 7 9 7 เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ชื่อและที่อยู่เดียวกับผู้ขอ

ชื่อ นายเมธา รัตนกรพิทักษ์

ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9

ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย

อีเมล

เลขประจำตัวประชาชน 3 4 0 0 5 0 0 0 0 5 5 1 7 เพิ่มเติม (ตั้งแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม

ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ _____ วันยื่น _____ เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
 คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม้อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่

จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	<input type="checkbox"/> กลุ่มเคมี	สิทธิบัตรการออกแบบ	อนุสิทธิบัตร
<input type="checkbox"/> กลุ่มวิศวกรรม	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)	<input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)	<input type="checkbox"/> อนุสิทธิบัตร (เคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)	
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)	<input type="checkbox"/> สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)		

ใบแนบต่อท้าย สป/สผ/001-ก

5. ตัวแทน (ถ้ามี)

2. ชื่อ นางสาวศุภรัตน์ สงนรินทร์

ที่อยู่ มหาวิทยาลัยนเรศวร 99 หมู่ที่ 9 ถนนนครสวรรค์-พิษณุโลก
ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศไทย
อีเมล suleeratc@nu.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน 3659900490745

ตัวแทนเลขที่ 2517 โทรศัพท์ 081-5342533 โทรสาร

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. ชื่อ นายบัณฑิต คำศรี

ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศไทย
สัญชาติ ไทย

เลขประจำตัวประชาชน 1342200080161

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา

5 สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเคมีพอลิเมอร์และเคมีอินทรีย์ ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

10 ในปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายที่ได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่องในพัฒนาไฮโดรเจลเพื่อประยุกต์ใช้ในทางชีวการแพทย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการออกแบบระบบนำส่งยาที่สามารถควบคุมการปลดปล่อยได้อย่างจำเพาะ ที่ผ่านมามีพัฒนาไฮโดรเจลเจลาตินกักเก็บสารสกัดแมงจีเฟอร์ิน (Mangiferin) เพื่อประยุกต์ใช้ในการสมานแผลและวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยไฮโดรเจลดังกล่าวสามารถปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอร์ินได้ และแสดงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีประสิทธิภาพที่สำคัญคือไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ทั้งเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) และ

15 เคราติโนไซต์ (keratinocyte)

ไฮโดรเจลถือเป็นวัสดุที่มีคุณสมบัติพิเศษในการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอก เช่น อุณหภูมิ แสง และความเข้มข้นของไอออน ซึ่งคุณลักษณะเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ในระดับที่แม่นยำและเหมาะสมกับเป้าหมายทางชีวภาพ พอลิเมอร์ที่ใช้ในการสร้างไฮโดรเจลมักมีคุณสมบัติเด่น เช่น ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความยืดหยุ่นในการออกแบบ โครงสร้างคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อธรรมชาติ และสามารถเตรียมได้ง่าย จึงได้รับการพัฒนาและประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายในด้านการแพทย์ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา ในบรรดาพอลิเมอร์เหล่านี้ไฮโดรเจลชนิดตอบสนองต่ออุณหภูมิ (Thermo-responsive hydrogel) อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่คำขอ 0803000087 ได้ศึกษาวิธีการผลิตไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่ประกอบด้วยโคโตะซาน แป้ง และสารก่อครอสลิงค์เพื่อใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยหรือนำส่งสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการรักษาและชีววัตถุเป็นที่ น่าสนใจอย่างมาก โพลีเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (poly (N-isopropylacrylamide), P(NIPAM)) เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถเปลี่ยนสถานะแบบย้อนกลับได้เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลง โดยอุณหภูมิมิวิกฤตต่ำกว่า (Lower Critical Solution Temperature, LCST) ประมาณ 32 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิต่ำกว่า LCST พอลิเมอร์จะอยู่ในสถานะขดลวดที่ชอบน้ำ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะยุบตัวเป็นโครงสร้างที่ไม่ชอบน้ำ คุณสมบัตินี้ส่งผลให้ P(NIPAM) มีศักยภาพในการนำไปใช้ในระบบนำส่งยา แต่ P(NIPAM) ยังมีข้อจำกัดในการนำมาใช้ ไม่สามารถย่อยสลายภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้ และเนื่องจากพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์มีราคาค่อนข้างสูง จึงมีผู้วิจัยพัฒนาเป็นพอลิเมอร์ร่วม P(NIPAM) กับอะคริลาไมด์ (Acrylamide, AM) เป็นโพลีเอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ร่วมกับอะคริลาไมด์ (P(NIPAM-co-AM)) ที่สามารถตอบสนองต่ออุณหภูมิและค่า pH ในการกักเก็บและปลดปล่อยสารสกัดธรรมชาติ เพื่อลดข้อจำกัดและเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการปลดปล่อยยา การพัฒนาพอลิเมอร์หรือพอลิเมอร์ร่วมเป็นแบบกึ่งโครงสร้างตาข่าย (Semi

35

Interpenetrating Polymer Networks, semi-IPN) โดยการผสมผสานเข้ากับพอลิเมอร์ธรรมชาติในเทคโนโลยีชีวภาพ มีความเข้ากันได้กับสิ่งมีชีวิต ย่อยสลายได้ มีความปลอดภัยสูง และราคาถูก โดยเฉพาะโซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate, Alg) จากสาหร่ายสีน้ำตาล เพราะฉะนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการปรับปรุงไฮโดรเจลให้สามารถที่จะตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เพื่อที่จะใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เริ่มจากการละลายมอนอเมอร์เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (NIPAM) ร่วมกับโซเดียมอัลจิเนต และสารเชื่อมขวางเอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (MBA) โดยอาจเติมอะคริลาไมด์ (AM) เพิ่มเติม ในน้ำปราศจากไอออน แล้วคนที่อุณหภูมิห้องจนได้สารละลายเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมแอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (APS) และสารเร่งปฏิกิริยาเอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (TEMED) แล้วคนให้เข้ากัน ก่อนเทลงในแม่พิมพ์ที่วางในอ่างน้ำแข็ง และทำการแทนที่ออกซิเจนภายในแม่พิมพ์ด้วยแก๊สไนโตรเจน หลังจากนั้นปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน แล้วนำไฮโดรเจลดังกล่าวออกจากแม่พิมพ์ และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนหลายครั้งเพื่อกำจัดสารตกค้างที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก นอกจากนี้ไฮโดรเจลที่ได้สามารถนำไปบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอริน (Mangiferin) เพื่อใช้เป็นระบบนำส่งสารออกฤทธิ์ได้

การประดิษฐ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ไฮโดรเจลตามการประดิษฐ์นี้ในการควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

กรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา มีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 นำมอนอเมอร์เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (N-isopropylacrylamide; NIPAM) ในปริมาณ 1.35–1.45 กรัม โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) ปริมาณ 0.02–0.03 กรัม และสารเชื่อมขวางเอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (N,N'-Methylenebisacrylamide, MBA) ในปริมาณ 0.03–0.05 กรัม โดยอาจเติมมอนอเมอร์อะคริลาไมด์ (Acrylamide; AM) เพิ่มเติมในปริมาณ 0–0.05 กรัม ละลายสารทั้งหมดในน้ำปราศจากไอออน (DI water) ปริมาตร 25–35 มิลลิลิตร คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ขั้นตอนที่ 2 เติมแอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate; APS) ปริมาณ 0.05–0.07 กรัม และเอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine, TEMED) ปริมาณ 15–25 ไมโครลิตร แล้วคนให้เข้ากัน

ขั้นตอนที่ 3 เทสารละลายลงในแม่พิมพ์และปิดฝาพิมพ์ที่วางในอ่างน้ำแข็ง และแทนที่แก๊สออกซิเจนภายในแม่พิมพ์ด้วยแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 10 นาที

ขั้นตอนที่ 4 จากนั้นวางทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดพอลิเมอไรเซชัน

ขั้นตอนที่ 5 นำไฮโดรเจลที่ได้ออกจากแม่พิมพ์ และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) หลายครั้ง เพื่อกำจัดสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก

การบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอร์รินลงในไฮโดรเจลดังกล่าว มีขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 นำไฮโดรเจลที่ได้ อบจนแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนที่ 2 ละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์รินในสารละลายโพลีซอร์เบต 20 (Polysorbate 20)

ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยให้สารสกัดแมงจีเฟอร์รินมีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

5 ขั้นตอนที่ 3 เติมสารละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์รินลงในไฮโดรเจลแห้ง ในอัตราส่วนของไฮโดรเจลแห้ง

0.1 กรัม ต่อ สารละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์รินปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร

ขั้นตอนที่ 4 ปลอ่ยให้บวมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จะได้ไฮโดรเจลที่

บรรจุสารสกัดแมงจีเฟอร์ริน

ตัวอย่างที่ 1

10 นำมอนอเมอร์เอ็น-ไฮโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (NIPAM) 1.4386 กรัม โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) 0.0222 กรัม สารเชื่อมขวางเอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (MBA) 0.0392 กรัม ละลายใน

น้ำปราศจากไอออน 28.5 มิลลิลิตร จากนั้นคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม

แอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (APS) ลงไป 0.0586 กรัม และเอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน

(TEMED) ปริมาณ 19.3 ไมโครลิตร คนให้เข้ากัน เทสารละลายลงในแม่พิมพ์และปิดฝาพิมพ์ที่อยู่ในอ่าง

15 น้ำแข็ง และแทนที่ (Purged) แก๊สออกซิเจนในแม่พิมพ์ด้วยแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวาง

ทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดพอลิเมอร์ชันจนได้ไฮโดรเจล ขั้นตอนสุดท้ายนำ

ไฮโดรเจลที่ได้ไปล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) หลายครั้ง เพื่อกำจัดสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก

ตัวอย่างที่ 2

20 นำมอนอเมอร์เอ็น-ไฮโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (NIPAM) 1.4293 กรัม มอนอเมอร์อะคริลาไมด์

(AM) 0.0091 กรัม โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) 0.0223 กรัม และ สารเชื่อมขวาง

เอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (MBA) 0.0393 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน (DI water) 28.5

มิลลิลิตร จากนั้นคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม APS ลงไป 0.0588 กรัม และ

เอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (TEMED) ปริมาณ 19.3 ไมโครลิตร คนให้เข้ากัน

25 เทสารละลายลงในแม่พิมพ์และปิดฝาพิมพ์ที่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง และแทนที่แก๊สออกซิเจนในแม่พิมพ์ด้วย

แก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวางทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิด

พอลิเมอร์ชันจนได้ไฮโดรเจล ขั้นตอนสุดท้ายนำไฮโดรเจลที่ได้ไปล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน

(DI water) หลายครั้ง เพื่อกำจัดสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก

ตัวอย่างที่ 3

30 นำมอนอเมอร์เอ็น-ไฮโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (NIPAM) 1.3914 กรัม มอนอเมอร์อะคริลาไมด์

(AM) 0.0460 กรัม โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) 0.0227 กรัม และ สารเชื่อมขวาง

เอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (MBA) 0.0399 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน (DI water) 28.5

มิลลิลิตร จากนั้นคนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม APS ลงไป 0.0597 กรัม และเอ็น

เอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (TEMED) ปริมาณ 19.6 ไมโครลิตร คนให้เข้ากัน

35 เทสารละลายลงในแม่พิมพ์และปิดฝาพิมพ์ที่อยู่ในอ่างน้ำแข็ง และแทนที่แก๊สออกซิเจนในแม่พิมพ์ด้วย

แก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นวางทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิด

พอลิเมอร์เซชันจนได้ไฮโดรเจล ขั้นตอนสุดท้ายนำไฮโดรเจลที่ได้ไปล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) หลายครั้ง เพื่อกำจัดสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาออก

2. การทดสอบสมบัติทางกายภาพและศักยภาพของไฮโดรเจลในการตอบสนองต่ออุณหภูมิ

5 การวัดสมบัติทางกายภาพโดยการศึกษาด้วยกล้องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) โดยนำตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่างข้างต้นไปทำการศึกษาเพื่อศึกษาลักษณะโครงสร้างของไฮโดรเจลที่แสดงในรูปที่ 1 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของโครงสร้างพื้นผิวและภาพตัดขวางของไฮโดรเจล จากภาพพบว่าโครงสร้างภายในมีลักษณะเป็นโครงข่าย ขนาดของรูพรุนภายในโครงข่ายไฮโดรเจลประมาณ 50-200 ไมโครเมตร รูพรุนค่อนข้างสม่ำเสมอ บ่งชี้ถึงโครงสร้างที่มีแนวโน้มของความสามารถการดูดซึมน้ำสูง

10 การศึกษาปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจล (Equilibrium water content, EWC) โดยนำไฮโดรเจลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จากนั้นโดยแผ่นฟิล์มไฮโดรเจลที่แห้งแช่ในน้ำปราศจากไอออน (DI water) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 8 ชั่วโมง โดยการศึกษาปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจลได้จากสมการต่อไปนี้

15
$$\text{เปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจล} = \left[\frac{\text{น้ำหนักของไฮโดรเจลที่ดูดซับน้ำ} - \text{น้ำหนักของไฮโดรเจลแห้ง}}{\text{น้ำหนักของไฮโดรเจลที่ดูดซับน้ำ}} \right] \times 100$$

ตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจล

ตัวอย่างที่	ปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจล (ชั่วโมง)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	322±12	423±13	491±25	503±23	536±27	553±20	568±16	575±19
2	387±26	548±14	667±16	689±20	754±23	767±22	787±22	794±25
3	469±6	670±26	816±22	848±17	902±13	927±10	940±6	945±2

20 จากตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจลทั้ง 3 ตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่างมีแนวโน้มของการดูดซึมน้ำเพิ่มขึ้นตามเวลา และเข้าสู่ภาวะสมดุลภายในประมาณ 6-8 ชั่วโมง โดยไฮโดรเจลตัวอย่างที่ 3 แสดงค่าการบวมน้ำสูงสุด รองลงมาคือ ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 1 ตามลำดับ การเพิ่มสัดส่วนของ AM ในโครงสร้างโคพอลิเมอร์มีผลเพิ่มความชอบน้ำ (hydrophilicity) ของโครงข่าย ทำให้สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้มากขึ้น ส่งผลให้ไฮโดรเจลดูดซึมน้ำและขยายตัวได้มาก นอกจากนี้ Alg ยังช่วยรักษาโครงสร้างรูพรุนและเพิ่มเสถียรภาพของเครือข่ายระหว่างการบวมอีกด้วย

25 การตอบสนองต่ออุณหภูมิของไฮโดรเจลถูกแสดงไว้ในรูปที่ 2 ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของวัสดุภายใต้อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ไฮโดรเจลมีลักษณะโปร่งใสและบวมตัวอย่างสมบูรณ์ แสดงถึงโครงข่ายพอลิเมอร์ที่สามารถเกิดปฏิสัมพันธ์กับน้ำได้ดีอยู่ในสถานะ hydrophilic swollen state เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 40 องศาเซลเซียส พบว่าไฮโดรเจลเกิดการหดตัวและเปลี่ยนลักษณะเป็นขุ่น ซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของพอลิเมอร์จากสถานะชอบน้ำไปสู่สถานะไม่ชอบน้ำ (hydrophobic collapsed state) เพื่อทำความเข้าใจพฤติกรรมของการเปลี่ยนเฟสดังกล่าว ได้ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Differential Scanning Calorimetry (DSC) ผลการวิเคราะห์

30 แสดงให้เห็นค่า LCST ซึ่งเป็นอุณหภูมิวิกฤติที่โครงข่ายพอลิเมอร์เริ่มเปลี่ยนจากการบวมน้ำไปสู่การ

หดตัว การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากการแตกของพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ฟังก์ชันของพอลิเมอร์กับโมเลกุลของน้ำ ส่งผลให้แรงดึงดูดระหว่างสายพอลิเมอร์มีอิทธิพลเด่นชัดขึ้นและเกิดการยุบตัวของโครงสร้างภายใน ในขณะที่เดียวกันปริมาณน้ำในโครงข่ายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองไฮโดรเจลตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3 มีค่า LCST เท่ากับ 36.63, 36.64 และ 39.11 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่ออุณหภูมิสูงถึงค่า LCST ไฮโดรเจลจะเริ่มหดตัวและปล่อยน้ำออกจากโครงข่าย การเพิ่มปริมาณ AM ส่งผลให้ค่า LCST สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ สะท้อนถึงการเพิ่มความชอบน้ำ (hydrophilicity) ของโครงข่ายโคพอลิเมอร์ เนื่องจากหมู่เอไมด์ของ AM สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับน้ำได้มากขึ้น ทำให้ต้องใช้พลังงานสูงขึ้นในการทำลายพันธะเหล่านี้เมื่อได้รับความร้อน

นอกจากนี้ การเพิ่มสัดส่วนของ AM ยังส่งผลให้ไฮโดรเจล ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณน้ำสมดุลของไฮโดรเจล ที่พบในตัวอย่างที่ 3 มีค่าสูงที่สุด โดยรวมผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติม AM ในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นช่วยปรับสมบัติของไฮโดรเจลให้มีความชอบน้ำสูงขึ้น และปรับอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสของวัสดุให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการประยุกต์ทางชีวการแพทย์ เช่น ระบบปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่ฤทธิ์ในการรักษาแบบควบคุมอุณหภูมิ

3. การศึกษาในหลอดทดลองการปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอริน (*In vitro* release of mangiferin-loaded hydrogels)

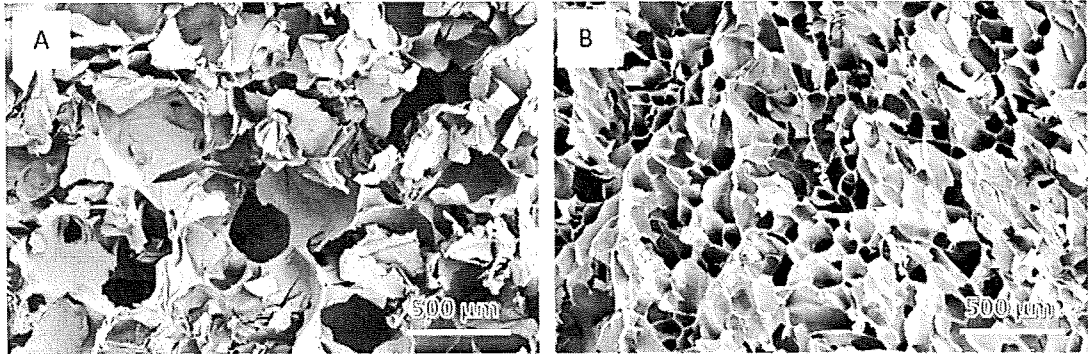
3.1 การบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอรินในไฮโดรเจล (Mangiferin extract loading in the hydrogels) สารสกัดแมงจีเฟอรินเป็นแบบจำลองในการศึกษา โดยนำไฮโดรเจลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นใช้วิธีการแพร่กระจายผ่านการบวม (swelling diffusion method) 2 ละลายสารสกัดแมงจีเฟอรินในสารละลายโพลีซอร์เบต 20 (Polysorbate 20) ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยให้สารสกัดแมงจีเฟอรินมีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนผสมที่ได้ถูกทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง Homogenizer (IKA ULTRA-TURRAX® T25 digital) ที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงนำไปผ่านเครื่องอัลตราโซนิก (Elmasonic S 30H, Germany) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลายสารสกัดแมงจีเฟอรินลงในไฮโดรเจลแห้ง ในอัตราส่วนของไฮโดรเจลแห้ง 0.1 กรัม ต่อ สารละลายสารสกัดแมงจีเฟอรินปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร แล้วปล่อยให้บวมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการทดสอบหาปริมาณการบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอรินในไฮโดรเจล โดยสกัดด้วย 70% เอทานอล (ethanol) 5 ครั้ง ครั้งละ 3 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ทำการวัดด้วยเครื่อง multi-mode microplate reader (Synergy H1 BioTex) โดยใช้ UV-Vis mode ความยาวคลื่น 380 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณการบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอรินในไฮโดรเจล โดยตัวอย่างที่ 1, ตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 3 มีค่าเท่ากับ 3.1±0.1 3.0±0.1 และ 3.2 ± 0.1 มิลลิกรัมต่อกรัมของไฮโดรเจล

3.2 การศึกษาในหลอดทดลองการปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอริน (*In vitro* release of mangiferin-loaded hydrogels) การปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอรินจากไฮโดรเจล ดำเนินการที่อุณหภูมิ 25 และ 40 องศาเซลเซียส นำไฮโดรเจลที่บรรจุสารสกัดแมงจีเฟอรินแช่และคนในสารละลายฟิซีเอสบัฟเฟอร์ (PBS buffer) ที่มีค่า pH 7.4 ที่ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์สารสกัดแมงจีเฟอรินที่ถูกปลดปล่อยออกมา ในช่วงเวลาที่กำหนดไว้ โดยดูคาสารละลายฟิซีเอสบัฟเฟอร์ที่แช่

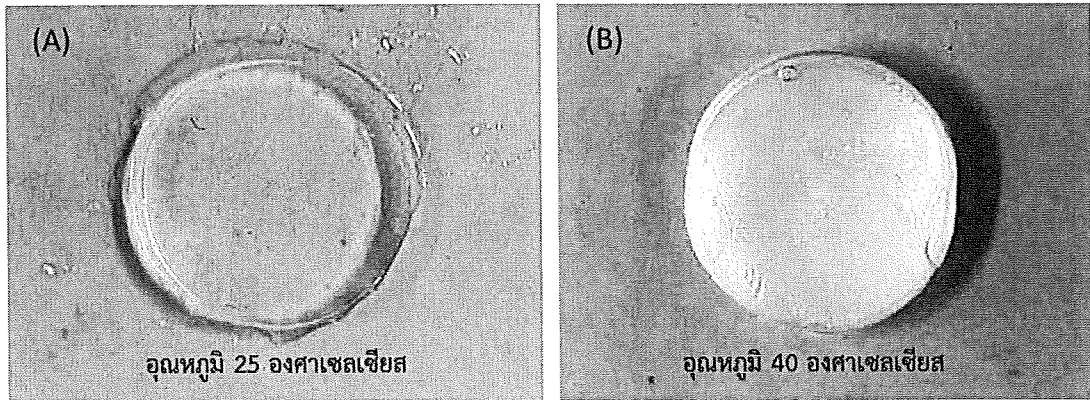
- ไฮโดรเจล 1 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารสกัดแมงจีเฟอร์ินที่ถูกปลดปล่อยออกมา จากนั้นจึงเติมสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ ปริมาตรเท่ากัน (1 มิลลิลิตร) เข้าสู่ระบบทันที เพื่อคงปริมาตรให้คงที่ สารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ที่มีสารสกัดแมงจีเฟอร์ินที่ถูกปลดปล่อยออกมา ถูกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง microplate reader ใน UV-Vis mode โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 380 นาโนเมตร
- 5 ปลดปล่อยสะสมตามเวลา (% cumulative release) จากการทดลองพบว่าไฮโดรเจลทุกสูตรมีการปลดปล่อยไม่สมบูรณ์ (<100%) การปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอร์ินแสดงพฤติกรรมปลดปล่อยแบบสองเฟส (biphasic process) ซึ่งในช่วงแรกนั้นการปลดปล่อยแบบรวดเร็ว (initial burst effect) เนื่องจากสารสกัดแมงจีเฟอร์ินที่อยู่ใกล้บริเวณผิวของไฮโดรเจลสัมผัสกับสารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ การปลดปล่อยในระยะแรกจึงทำให้เกิดการปลดปล่อยอย่างรวดเร็วตามด้วยช่วงที่คงที่ (plateau) ผลการปลดปล่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สูงกว่า 40 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถอธิบายได้จากการที่สายพอลิเมอร์ P(NIPAM) หดตัว (squeezing effect) รุนแรงยิ่งขึ้นที่อุณหภูมิสูง ในทางกลับกัน ที่อุณหภูมิต่ำปริมาตรเชิงพลวัต (hydrodynamic volume) ของไฮโดรเจล P(NIPAM) จะเพิ่มขึ้น ทำให้สารสกัดแมงจีเฟอร์ินสามารถแพร่เข้าสู่สารละลายพีบีเอสบัฟเฟอร์ได้มากขึ้น และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นระดับการหดตัวก็เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณการปลดปล่อยลดลง
- 10
- 15 คำอธิบายรูปเขียนโดยย่อ
 รูปที่ 1 แสดงลักษณะโครงสร้างภาพพื้นผิว (A) และภาพตัวขวาง (B) ของไฮโดรเจลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
 รูปที่ 2 การตอบสนองต่ออุณหภูมิของไฮโดรเจล โดยที่ (A) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ (B) อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 20 วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด
 ดังได้บรรยายไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถ้อยสิทธิ

1. กรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเพื่อควบคุมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา มีขั้นตอนดังนี้
5
10
15
20
25
30
ขั้นตอนที่ 1 นำมอนอเมอร์เอ็น-ไอโซโพรพิลอะคริลาไมด์ (N-isopropylacrylamide; NIPAM) ในปริมาณ 1.35–1.45 กรัม โซเดียมอัลจินเตต (Sodium alginate) ปริมาณ 0.02–0.03 กรัม และสารเชื่อมขวางเอ็นเอ็น-เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (N,N'-Methylenebisacrylamide, MBA) ในปริมาณ 0.03–0.05 กรัม โดยอาจเติมมอนอเมอร์อะคริลาไมด์ (Acrylamide; AM) เพิ่มเติมในปริมาณ 0–0.05 กรัม ละลายสารทั้งหมดในน้ำปราศจากไอออน (DI water) ปริมาตร 25–35 มิลลิลิตร คนสารละลายที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
ขั้นตอนที่ 2 เติมแอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate; APS) ปริมาณ 0.05–0.07 กรัม และเอ็นเอ็นเอ็นเอ็น-เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine, TEMED) ปริมาณ 15–25 ไมโครลิตร แล้วคนให้เข้ากัน
ขั้นตอนที่ 3 เทสารละลายลงในแม่พิมพ์และปิดฝาพิมพ์ที่วางในอ่างน้ำแข็ง และแทนที่แก๊สออกซิเจนภายในแม่พิมพ์ด้วยแก๊สไนโตรเจนเป็นเวลา 10 นาที
ขั้นตอนที่ 4 จากนั้นวางทิ้งไว้ในอ่างน้ำแข็ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดพอลิเมอร์เซชัน
ขั้นตอนที่ 5 นำไฮโดรเจลที่ได้ออกจากแม่พิมพ์ และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI water) หลายครั้งเพื่อกำจัดสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก
2. กรรมวิธีการสังเคราะห์ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิตามข้อถ้อยสิทธิที่ 1 ซึ่งเพิ่มเติมขั้นตอนการบรรจุสารสกัดแมงจีเฟอร์ินลงในไฮโดรเจลดังกล่าว มีขั้นตอนดังนี้
ขั้นตอนที่ 1 นำไฮโดรเจลที่ได้ อบจนแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
ขั้นตอนที่ 2 ละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์ินในสารละลายโพลีซอร์เบต 20 (Polysorbate 20) ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยให้สารสกัดแมงจีเฟอร์ินมีความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร
ขั้นตอนที่ 3 เติมสารละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์ินลงในไฮโดรเจลแห้ง ในอัตราส่วนของไฮโดรเจลแห้ง 0.1 กรัม ต่อ สารละลายสารสกัดแมงจีเฟอร์ินปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร
ขั้นตอนที่ 4 ปล่อยให้บวมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง จะได้ไฮโดรเจลที่บรรจุสารสกัดแมงจีเฟอร์ิน
3. ไฮโดรเจลที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ซึ่งได้จากกรรมวิธีตามข้อถ้อยสิทธิที่ 1 หรือ 2 สำหรับใช้ในการควบคุมหรือนำส่งการปลดปล่อยสารสกัดแมงจีเฟอร์ิน หรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารที่มีฤทธิ์ในการรักษา



รูปที่ 1



รูปที่ 2