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 12/02/2569	เลขที่คำขอ 2603000612
วันยื่นคำขอ	
สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์ ประเภทผลิตภัณฑ์	
วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ (ระบุในใบต่อแนบท้ายเพิ่มเติม)

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 (ดังแนบ)
ในกรณีที่กรมฯ สื่อสารกับท่าน ท่านสะดวกใช้ทาง ☐ อีเมลผู้ขอ ☑ อีเมลตัวแทน

3.1 สัญชาติ ไทย
3.2 โทรศัพท์ 055-968617
3.3 โทรสาร

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☑ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี)
ชื่อ นางสาวกัญญารัตน์ ประทุมศิริ
ที่อยู่ กองบริการวิชาการและจัดการทรัพย์สิน 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 (ดังแนบ)

5.1 ตัวแทนเลขที่ 2350
5.2 โทรศัพท์ 086-5128863
5.3 โทรสาร 055-968603

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ ชื่อและที่อยู่เดียวกันกับผู้ขอ
ชื่อ รองศาสตราจารย์อภินันท์ ลิ้มมงคล
ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9
ตำบล/แขวง ท่าโพธิ์ อำเภอ/เขต เมืองพิษณุโลก จังหวัด พิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000 ประเทศ ไทย
อีเมล
เลขประจำตัวประชาชน 3 3 6 9 9 0 0 1 2 7 0 0 7 ☑ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม
ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร
เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ
☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่อาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

สำหรับเจ้าหน้าที่

จำแนกประเภทสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

☐ กลุ่มวิศวกรรม
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (วิศวกรรม)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ไฟฟ้า)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ฟิสิกส์)

☐ กลุ่มเคมี
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เคมีเทคนิค)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (ปิโตรเคมี)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เทคโนโลยีชีวภาพ)
สิทธิบัตรการประดิษฐ์ (เภสัชภัณฑ์)

สิทธิบัตรการออกแบบ
☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 1)
☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 2)
☐ สิทธิบัตรการออกแบบ (ออกแบบผลิตภัณฑ์ 3)

อนุสิทธิบัตร
☐ อนุสิทธิบัตร (วิศวกรรม)
☐ อนุสิทธิบัตร (เคมี)

Seal by E-Filing

8. การยื่นคำขอนอกราชอาณาจักร ☐ PCT ☐ เพิ่มเติม (ดังแนบ)

วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				

8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย
☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้

9. การแสดงการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด
วันแสดง ..... วันเปิดงานแสดง ..... ผู้จัด .....

10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ

10.1 เลขทะเบียนฝากเก็บ	10.2 วันที่ฝากเก็บ	10.3 สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ

11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ที่จัดทำเป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอยื่นเป็นภาษา
☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่นๆ .....

12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียน และประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ .....
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ใช้รูปเขียนหมายเลข ..... ในการประกาศโฆษณา

13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย
ก. แบบพิมพ์คำขอ 3 หน้า
ข. รายละเอียดการประดิษฐ์
หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 4 หน้า
ค. ข้อถือสิทธิ 1 หน้า
ง. รูปเขียน ..... รูป ..... หน้า
จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์
☐ รูปเขียน ..... รูป ..... หน้า
☐ ภาพถ่าย ..... รูป ..... หน้า
ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ 1 หน้า

14. เอกสารประกอบคำขอ
☑ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์
☑ หนังสือมอบอำนาจ
☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ
☐ เอกสารการขอนับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่นคำขอในประเทศไทย
☐ เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ
☐ เอกสารอื่นๆ

15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า
☑ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน
☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก .....

16. ลายมือชื่อ
☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☑ ตัวแทน
(นางสาวกัญญารัตน์ ประทุมศิริ)

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

Seal by E-Filing

ใบแนบต่อท้าย สป/สผ/001-ก

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์

กระบวนการผลิตราก Microchirita involucrata จากชิ้นส่วนใบโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนและตัวกระตุ้นร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase)

5. ตัวแทน (ถ้ามี)

2. ชื่อ นางสาวศุลีรัตน์ สงนรินทร์

ที่อยู่ มหาวิทยาลัยนเรศวร 99 หมู่ที่ 9 ถนนนครสวรรค์-พิษณุโลก

ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย

อีเมล suleeratc@nu.ac.th

เลขประจำตัวประชาชน 3659900490745

ตัวแทนเลขที่ 2517 โทรศัพท์ 081-5342533 โทรสาร

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์

2. ชื่อ นางสาววิภาพร ช่วยเมือง

ที่อยู่ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ 99 หมู่ 9 ต.ท่าโพธิ์ อ.เมืองพิษณุโลก จ.พิษณุโลก 65000 ประเทศ ไทย

สัญชาติ ไทย

เลขประจำตัวประชาชน 1679900525267

3. ชื่อ รองศาสตราจารย์อนุพันธ์ กงบังเกิด

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

สัญชาติ ไทย

เลขประจำตัวประชาชน 3601100999573

4. ชื่อ นางอ่อนรัตน์ สาพาที

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

สัญชาติ ไทย

เลขประจำตัวประชาชน 1551100036966

Seal by E-Filing

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กระบวนการผลิตราก *Microchirita involucrata* จากชิ้นส่วนใบโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนและตัวกระตุ้นร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase)

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรต

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

Microchirita involucrata var. *capitis* (Craib) C.Puglisi หรือ ต้นหยาดม่วงน้อย เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ชาฤษี (Gesneraceae) มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุกอวบน้ำที่สามารถพบได้ทั้งบนหินและตามพื้นดิน กระจายพันธุ์ในประเทศไทย เวียดนาม กัมพูชา และ มาเลเซีย (Puglisi, 2017) พืชในวงศ์ชาฤษีมีรายงานการใช้ประโยชน์ทางยา เช่น ใช้บรรเทาอาการหอบหืด ไอ ไข้หวัดและการอักเสบต่าง ๆ นอกจากนี้ ยังสามารถผลิตสารประกอบทุติยภูมิที่สำคัญได้หลากหลายชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) ควิโนน (Quinones) แซนโธน (Xanthones) และ ลิกแนน (lignans) ซึ่งสารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ (Verdan & Stefanello, 2012) จากผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าสารสกัดจากส่วนรากของ *Microchirita involucrata* มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงและน่าสนใจมากกว่าส่วนอื่นๆ ดังนั้นหากสามารถหาวิธีเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อรากของ *Microchirita involucrata* ได้ จะเป็นประโยชน์ในการนำรากไปใช้สำหรับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

จากรายงานการศึกษาที่ระบุถึงฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจของ *Microchirita involucrata* ทำให้เกิดแนวคิดในการศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อรากของ *Microchirita involucrata* ดังนั้นเพื่อสนับสนุนการผลิตสารสำคัญทางชีวภาพในปริมาณที่มากขึ้น จึงอาศัยฮอร์โมนเร่งราก ได้แก่ ฮอร์โมนไอเอเอ (IAA) หรือ อินโดล-3-อะซีติกแอซิด (Indole-3-acetic acid), ฮอร์โมนไอบีเอ (IBA) หรือ อินโดล-3-บิวทีริกแอซิด (Indole-3-butyric acid) และฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) หรือ 1-แนฟทาลีนแอซีติกแอซิด (1-Naphthaleneacetic acid) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในการส่งเสริมการเกิดรากในพืช ดังมีรายงานการศึกษาการใช้ฮอร์โมนเร่งรากในการเหนี่ยวนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อใบของพืชให้เปลี่ยนเป็นราก พบว่าการใช้ฮอร์โมนออกซินชนิดไอบีเอ (IBA) และเอ็นเอเอ (NAA) สามารถชักนำการเจริญเติบโตของรากจากชิ้นส่วนใบของพืช *Morinda coreia* ได้ (Kannan et al., 2021) อีกทั้งยังมีรายงานการศึกษาวิธีการชักนำรากจากชิ้นส่วนใบของ *Dendropanax morbifera* โดยอาศัยฮอร์โมนออกซินเร่งการเจริญพัฒนาของราก พบว่าฮอร์โมนออกซินชนิดเอ็นเอเอ (NAA) มีประสิทธิภาพในการเร่งการเจริญเติบโตของรากได้ดีที่สุด (Sukweenadhi et al., 2019)

นอกจากการใช้ฮอร์โมนเร่งรากเพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อรากของ *Microchirita involucrata* แล้ว การใช้ตัวกระตุ้น เพื่อเพิ่มการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยังเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในงานวิจัยด้านพืช มีรายงานวิจัยระบุว่าตัวกระตุ้นเมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) และไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) เป็นสารกระตุ้นที่มีศักยภาพในการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองของพืชต่อการรุกรานและความเครียดต่าง ๆ เพื่อใช้ในการป้องกันตัวเองของพืช การ

Seal by E-Filing

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชร่วมกับการใช้ตัวกระตุ้นทางเคมี จึงเป็นกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณสารสำคัญ มีรายงานการศึกษาการใช้เมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) เพื่อเพิ่มปริมาณสารไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) ในรากเพาะลี้ยง *Centella asiatica* ได้ (Baek et al., 2019) อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นให้มะแว้งเครือ สังเคราะห์สารฟีนอลิก (phenolics) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ในปริมาณที่สูงขึ้น (Shilpha et al., 2015) สำหรับไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายผนังเซลล์ของเชื้อรา มีการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นพืช มีรายงานการศึกษาการนำไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) มากระตุ้นการสะสมของสารฟลาโวนอลลิกแนน (flavonolignan) ในอาหารเพาะเลี้ยงรากลอยของ *Silybum marianum* ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Prieto & Corchete, 2014)

เอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณลำไส้เล็ก ทำหน้าที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนและน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้เป็นกลูโคส เพื่อดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นหลังรับประทานอาหาร หากยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-glucosidase) จะช่วยชะลอการย่อยและการดูดซึมกลูโคส ทำให้ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี จึงถูกนำไปใช้ในการรักษาโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ดังตัวอย่างยาในกลุ่ม อะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-glucosidase) ในปัจจุบันมีรายงานการศึกษาสารยับยั้งจากธรรมชาติ เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และฟีนอลิก (phenolics) ซึ่งมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ดังมีรายงานการศึกษาสารสกัดจากเปลือกไม้ของพืช *Chrysophyllum cainito L.* แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-glucosidase) ที่ดีกว่าอะคาร์โบส (acarbose) ซึ่งหมายความว่าสารจากธรรมชาติชนิดนี้ อาจมีศักยภาพใช้เป็นตัวช่วยลดระดับน้ำตาลหลังรับประทานอาหารในคนไข้เบาหวานชนิดที่ 2 หรือสามารถใช้เป็นตัวตั้งต้นในการพัฒนายาเบาหวานชนิดใหม่ได้ (Doan et al., 2018)

ในการประดิษฐ์นี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากรรมวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อัลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) โดยศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของฮอร์โมนเร่งรากตลอดจนสภาวะเหมาะสมของสูตรอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อรากของ *Microchirita involucrata* รวมทั้งการศึกษาผลของตัวกระตุ้นร่วมต่อการเพิ่มการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเนื้อเยื่อราก *Microchirita involucrata* การประเมินฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะมีประโยชน์ในการคัดเลือกฮอร์โมนที่มีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำให้เกิดรากจากส่วนเนื้อเยื่อใบของ *Microchirita involucrata* และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการเติมตัวกระตุ้นที่มีศักยภาพในการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของราก *Microchirita involucrata* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยความรู้ที่ได้จากการศึกษาสามารถนำมาเป็นแนวทางในการเพิ่มการผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) และสามารถนำไปต่อยอดและประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมต่อไป รวมถึงการเพิ่มมูลค่าให้กับ *Microchirita involucrata* ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาในพืชชนิดนี้มาก่อน

<u>ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์</u>

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการเหนี่ยวนำให้เกิดรากจากชิ้นส่วนใบของ *Microchirita involucrate* โดยอาศัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และชักนำให้เกิดรากด้วยฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) ความเข้มข้นที่กำหนด และกระตุ้นการเพิ่มปริมาณการผลิตสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิ

Seal by E-Filing

เดส (α-Glucosidase) ด้วยใช้ตัวกระตุ้นร่วมที่ประกอบด้วยเมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) และไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) ภายใต้ความเข้มข้นและระยะเวลาที่กำหนด

ความมุ่งหมายของการประดิษฐ์ คือ เพื่อพัฒนากรรมวิธีการเหนี่ยวนำการสร้างรากจากชิ้นส่วนใบของ *Microchirita involucrata* โดยอาศัยฮอร์โมนเร่งราก และใช้ตัวกระตุ้นร่วมที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณการผลิตสารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ และอุตสาหกรรมต่อไปได้ในอนาคต

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

กระบวนการผลิตราก *Microchirita involucrata* จากชิ้นส่วนใบโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนและตัวกระตุ้นร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) มีขั้นตอนดังนี้

ก. เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *Microchirita involucrata* บนอาหารแข็งสูตรเอ็มเอส (MS) ที่เติมฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) ความเข้มข้น 0.5–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-5 สัปดาห์ ที่อุณภูมิ 23-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมืด เพื่อเหนี่ยวนำการเกิดรากจากชิ้นส่วนใบ

ค. ทำการตัดรากที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) นำมาชั่งน้ำหนักที่อัตราส่วน 1-6 กรัมต่ออาหาร 50–300 มิลลิลิตร ทำการย้ายรากลงอาหารเหลวใหม่สูตร 0.5 เอ็มเอส (MS) เพื่อทำการกระตุ้น

ง. เติมตัวกระตุ้นร่วมที่ประกอบด้วยเมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) ความเข้มข้น 40-60 ไมโครโมลาร์ และไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) ความเข้มข้น 1–5 มิลลิโมลาร์

จ. กระตุ้นรากเป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง โดยเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ที่ถูกเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบต่อเนื่องที่ความเร็ว 180–220 รอบต่อนาที และอุณภูมิ 23-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมืด

ฉ. ภายหลังการกระตุ้น ทำการแยกส่วนของรากและอาหารเพาะเลี้ยง นำอาหารเพาะเลี้ยงไปสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) อัตราส่วนปริมาตรต่อปริมาตรเท่ากับ 1: 1 โดยทำการสกัดซ้ำจำนวน 2-5 ครั้ง และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (rotary evaporator) เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

ช. ประเมินฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase)

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

ดังได้บรรยายไว้ในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

เอกสารการอ้างอิง

Baek, S., Ho, T.-T., Lee, H., Jung, G., Kim, Y., Jeong, C.-S., & Park, S.-Y. (2019). Enhanced biosynthesis of triterpenoids in Centella asiatica hairy root culture by precursor feeding and elicitation. *Plant Biotechnology Reports*, *14*. https://doi.org/10.1007/s11816-019-00573-w

Doan, H. V., Riyajan, S., Iyara, R., & Chudapongse, N. (2018). Antidiabetic activity, glucose uptake stimulation and α-glucosidase inhibitory effect of Chrysophyllum cainito

Seal by E-Filing

L. stem bark extract. *BMC Complement Altern Med*, *18*(1), 267. https://doi.org/10.1186/s12906-018-2328-0

Kannan, N. M., Manokari, M., & Mahipal Singh, S. (2021). Induction of adventitious roots from leaf explants of Morinda coreia Buch. and ham. : an important dye yielding plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *145*, 457 - 460. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:234116148

Prieto, D., & Corchete, P. (2014). Transport of flavonolignans to the culture medium of elicited cell suspensions of Silybum marianum. *Journal of Plant Physiology*, *171*(2), 63-68. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.10.005

Puglisi, C. (2017). A revision of Microchirita (Gesneriaceae) in Thailand. *Gardens' Bulletin Singapore*, *69*, 211-284. https://doi.org/10.26492/gbs69(2).2017-06

Shilpha, J., Satish, L., Kavikkuil, M., Joe Virgin Largia, M., & Ramesh, M. (2015). Methyl jasmonate elicits the solasodine production and anti-oxidant activity in hairy root cultures of Solanum trilobatum L. *Industrial Crops and Products*, *71*, 54-64. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.083

Sukweenadhi, J., Choi, J. Y., Kim, Y. J., Kaliraj, L., Abid, S., Ahn, J. C., & Yang, D. C. (2019). Callus induction and in vitro mass culture of adventitious roots from leaf segment explants of Dendropanax morbifera Lev. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *293*(1), 012024. https://doi.org/10.1088/1755-1315/293/1/012024

Verdan, M. H., & Stefanello, M. É. A. (2012). Secondary Metabolites and Biological Properties of Gesneriaceae Species. *Chemistry & Biodiversity*, *9*.

Seal by E-Filing

ข้อถือสิทธิ

1. กระบวนการผลิตราก *Microchirita involucrata* จากชิ้นส่วนใบโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนและตัวกระตุ้นร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) มีขั้นตอนดังนี้

ก. เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *Microchirita involucrata* บนอาหารแข็งสูตรเอ็มเอส (MS) ที่เติมฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) ความเข้มข้น 0.5–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ข. ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-5 สัปดาห์ ที่อุณภูมิ 23-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมืด เพื่อเหนี่ยวนำการเกิดรากจากชิ้นส่วนใบ

ค. ทำการตัดรากที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) นำมาชั่งน้ำหนักที่อัตราส่วน 1-6 กรัมต่ออาหาร 50–300 มิลลิลิตร ทำการย้ายรากลงอาหารเหลวใหม่สูตร 0.5 เอ็มเอส (MS) เพื่อทำการกระตุ้น

ง. เติมตัวกระตุ้นร่วมที่ประกอบด้วยเมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) ความเข้มข้น 40-60 ไมโครโมลาร์ และไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) ความเข้มข้น 1–5 มิลลิโมลาร์

จ. กระตุ้นรากเป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง โดยเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ที่ถูกเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบต่อเนื่องที่ความเร็ว 180–220 รอบต่อนาที และอุณภูมิ 23-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมืด

ฉ. ภายหลังการกระตุ้น ทำการแยกส่วนของรากและอาหารเพาะเลี้ยง นำอาหารเพาะเลี้ยงไปสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) อัตราส่วนปริมาตรต่อปริมาตรเท่ากับ 1: 1 โดยทำการสกัดซ้ำจำนวน 2-5 ครั้ง และระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (rotary evaporator) เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส

Seal by E-Filing

บทสรุปการประดิษฐ์

กระบวนการผลิตราก *Microchirita involucrata* จากชิ้นส่วนใบโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนและตัวกระตุ้นร่วมเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase) เริ่มจากเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบลงบนอาหารแข็งสูตรเอ็มเอส (MS) ที่เติมฮอร์โมนเอ็นเอเอ (NAA) ความเข้มข้น 0.5–4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3-5 สัปดาห์ ที่อุณภูมิ 23-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะมืดเพื่อเหนี่ยวนำการเกิดรากจากชิ้นส่วนใบ จากนั้นตัดรากนำมาชั่งน้ำหนักที่อัตราส่วน 1-6 กรัมต่ออาหาร 50–300 มิลลิลิตร ทำการย้ายรากลงอาหารเหลวใหม่สูตร 0.5 เอ็มเอส (MS) เติมตัวกระตุ้นร่วมที่ประกอบด้วย เมทิลจัสโมเนต (methyl jasmonate) ความเข้มข้น 40-60 ไมโครโมลาร์ และไซโคลเดร็กซ์ทริน (cyclodextrin) ความเข้มข้น 1–5 มิลลิโมลาร์ กระตุ้นรากเป็นเวลา 48-96 ชั่วโมง ภายหลังการกระตุ้น แยกส่วนของรากและอาหารเพาะเลี้ยง นำไปสกัดสาร ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (rotary evaporator) และนำสารสกัดไปประเมินฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดส (α-Glucosidase)

Seal by E-Filing