



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการผลิตอุปกรณ์การแพทย์ที่ย่อยสลายได้ในรูปแบบ
ของไมโครนีดเดิ้ลเพื่อนำส่งยาทางผิวหนัง

โดย ดร. สุวิมล สุรัสโม

ธันวาคม ปี 2560

สัญญาเลขที่ TRG 5880191

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการผลิตอุปกรณ์การแพทย์ที่ย่อยสลายได้ในรูปแบบ
ของไมโครนีดเดิ้ลเพื่อนำส่งยาทางผิวหนัง

ดร. สุวิมล สุรัสโม
ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว.และต้นสังกัดไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทคัดย่อ	2
วัตถุประสงค์	5
บทที่ 1 พัฒนาและออกแบบ microneedle pattern เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งยาด้วย	6
เทคนิค photoresist	
การออกแบบ mold ด้วย silicon wafer และ PDMS mold	6
กระบวนการเตรียมและออกแบบ silicon wafer mold	7
การออกแบบ pattern ของ PDMS mold	8
บทที่ 2 พัฒนาและออกแบบ micro-delivery patch (MDP) ด้วยพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้	11
สำหรับ silicon wafer mold เพื่อการนำส่งทางผิวหนัง	
การประเมินสัดส่วนที่เหมาะสมของ PHBV polymer เพื่อการขึ้นรูป MDP เป็นโครงสร้าง	11
ของแผ่นแปะ	
การประเมินลักษณะของแผ่นแปะด้วยกล้อง Optical microscope	13
การประเมินลักษณะของแผ่นแปะที่ Interspace 100 μm ด้วยกล้อง SEM	15
การประเมินความสูงของเข็มที่ได้จากการขึ้นรูปใน pattern รูปแบบต่างๆ	15
การประเมินหาค่าแรงกดของ MDP ต่อผิวหนังจำลอง	17
การสังเคราะห์และประเมินคุณลักษณะอนุภาค PLGA nanoparticles ที่กักเก็บ	19
สารเรืองแสง coumarin 6	
การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สาร Coumarin 6 ด้วยเทคนิค High performance liquid	19
chromatography (HPLC)	
การศึกษาการเคลือบ C6-PLGA-CP-Rhd บนแผ่น MDP และความสามารถในการทะลุผ่าน	

เนื้อเยื่อผิวหนังของ MDP- โดยใช้กล้อง confocal laser scanning microscopy (CLSM)	
C6-PLGA-CP-Rhd coated MDP	25
การศึกษาความสามารถในการทะลุผ่านเนื้อเยื่อผิวหนังของ needle patch	29
โดยใช้กล้อง confocal laser scanning microscopy	
บทที่ 3 การกรรมวิธีการเตรียมพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้เพื่อขึ้นรูปแผ่นแปะไมโครฟิลไล	30
กรรมวิธีการเตรียมพอลิเมอร์เพื่อขึ้นรูปแผ่นแปะไมโครฟิลไล	30
การประเมินลักษณะทางกายภาพของแท่งไมโครฟิลไลที่ขึ้นรูปได้	31
การทดสอบความสามารถในการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลบนแผ่นแปะ	32
การทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนัง	33
การศึกษาความสามารถของตัวอย่างในการซึมผ่านเนื้อเยื่อหนังหมูที่ใช้ในการทดสอบ	34
บทสรุปงานวิจัย	35
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.	37
ภาคผนวก	42

สารบัญภาพ

รูปที่ 1	แสดงการทำ PATTERN ของ MDP จากฐาน SILICON WAFER ด้วยเทคนิค PHOTOLITHOGRAPHY	4
รูปที่ 2	แสดงภาพจำลองของ SILICON WAFER ที่เตรียมขึ้นมา (A) และ FACTORS ความคมในงานวิจัยนี้ (B)	8
รูปที่ 3	แสดงกระบวนการเตรียมชิปแม่พิมพ์พีดีเอ็มเอสสำหรับแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์	9
รูปที่ 4	แสดงลักษณะและความยาวของแท่ง NEEDLE ที่ผ่านชั้นโครงสร้างผิวหนัง	9
รูปที่ 5	แสดงลักษณะของ SILICON WAFER MOLD ที่ใช้ในการขึ้นรูปของ MDP	11
รูปที่ 6	แสดงโครงสร้างทางเคมีของ POLY[(R) -3-HYDROXYBUTYRATE-CO-(R) -3-HYDROXYVALERATE] (PHBV) ที่ใช้ในการขึ้นรูป MDP	12
รูปที่ 7	กระบวนการขึ้นรูปแผ่นแปะจากพอลิเมอร์ PHBV (POLY[(R) -3-HYDROXYBUTYRATE-CO-(R) -3-HYDROXYVALERATE])	12
รูปที่ 8	แสดงการประเมินหาปริมาณและสัดส่วนที่เหมาะสมในการขึ้นรูปแผ่นแปะด้วยพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นช่วง 5-20%WT	13
รูปที่ 9	แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 100 μ M	14
รูปที่ 10	แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 300 μ M	14
รูปที่ 11	แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 500 μ M	15
รูปที่ 12	แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 100 μ M	15
รูปที่ 13	แสดงค่า HEIGHT REDUCTION หลังจากการขึ้นรูปแผ่นแปะโดยเปรียบเทียบ	

จากปัจจัยที่ของ PATTERN (A) INTERSPACE 100 UM, (B) INTERSPACE 300 UM และ	
(C) INTERSPACE 500 UM	17
รูปที่ 14 แสดงเครื่องมือและวิธีการประเมินคุณสมบัติของแผ่น MDP-PATTERN A	17
รูปที่ 15 แสดงโครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์ PLGA (POLY-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) (A)	
และ COUMARIN 6 (B) ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาค C6-PLGA	19
รูปที่ 16 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน COUMARIN 6	23
รูปที่ 17 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน COUMARIN 6	23
รูปที่ 18 ประเมินการปลดปล่อยสารสำคัญ (COUMARIN 6) จากอนุภาค PLGA NANOPARTICLE	24
รูปที่ 19 แสดงความสามารถในการเรืองแสงของ C6-PLGA ที่สูตรต่างๆของ FP1,	
FP2 และ FP3 ด้วยเครื่อง CLSM (CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPE)	25
รูปที่ 20 FLUORESCENCE MICROSCOPE IMAGES OF C6-LOADED PLGA-CP MPD ARRAYS	26
รูปที่ 21 CONFOCAL IMAGES OF Z-STACKS OF THE FULL THICKNESS PORCINE SKIN	
TREATED WITH C6-PLGA COATED MDP	28
รูปที่ 22 CONFOCAL IMAGES OF Z-STACKS OF THE FULL THICKNESS PORCINE SKIN	
TREATED WITH C6-PLGA COATED MDP WHICH COMPARE BETWEEN AT	
INTERVAL TIME INTERACTION.	29
รูปที่ 23 กระบวนการเตรียมชิปแม่พิมพ์พีดีเอ็มเอส (PDMS) สำหรับแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์	30
รูปที่ 24 แสดงกระบวนการขึ้นรูปของพอลิเมอร์บน PDMS MOLD	31
รูปที่ 25 แสดงลักษณะทางกายภาพของแท่งไมโครฟิลไลด์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง	
ของแกนที่ต่างกันคือ ที่ 100 ไมโครเมตร (ก), 150 ไมโครเมตร (ข) และ 200 ไมโครเมตร (ค)	32
รูปที่ 26 แสดงลักษณะการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลด์ที่ระยะเวลาต่างๆ	
โดยทดสอบกับเนื้อเยื่อหมู	33

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1	Summary of micro-delivery patch dimensions and mechanical properties	10
ตารางที่ 2	แสดงค่าแรงกดของ MDP แต่ละ pattern ที่มีต่อผิวหนังจำลอง	18
ตารางที่ 3	แสดงค่า Retention time ของสารสำคัญ Coumarin 6	20
ตารางที่ 4	แสดงผลสรุปผลการทำ Method Validation	22
ตารางที่ 5	แสดงวิธีการวิเคราะห์สาร Coumarin 6 โดยใช้วิธี HPLC-Fluorescence	22
ตารางที่ 6	ผลการประเมินคุณลักษณะของอนุภาค PLGA ที่กักเก็บ coumarin 6 (C6-PLGA)	24
ตารางที่ 7	ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อที่ระยะเวลาทดสอบต่างๆ	28
ตารางที่ 8	ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อที่ระยะเวลาทดสอบต่างๆ	35

รูปแบบ Abstract (บทคัดย่อ)

Project Code : TRG 5880191

(รหัสโครงการ)

Project Title : Fabrication of biodegradable medical device using microneedle-mediated nanocapsules array for transdermal delivery

(ชื่อโครงการ) โครงการการผลิตอุปกรณ์การแพทย์ที่ย่อยสลายได้ในรูปแบบของ microneedles เพื่อนำส่งยาทางผิวหนัง

Investigator : ดร. สุวิมล สุรัสโม

(ชื่อนักวิจัย) ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ

E-mail Address : suvimol@nanotec.or.th

Project Period : 2 ปี 6 เดือน

(ระยะเวลาโครงการ)

Abstract

Microneedle devices are composed of an array of micron-size needles which represents promising tools for the delivery of drugs or active to the skin. The present study was designed and fabricated the silicon wafer and PDMS mold of micro-delivery patch (MDP) with photolithography technique. In order for development of MDP, it is of paramount important that the microneedle depth ranging from 200-550 μm , interspace tip ranging 100-300 μm and tip diameter between 100-200 μm to provide into the penetration process. This research was fabricated the micro-delivery patch from the biodegradable polymer and their derivatives. Using the silicon wafer and PDMS mold, it was suitable to fabricate hydrophobic polymer and hydrophilic materials microneedle array, respectively. Both of hydrophobic and hydrophilic microneedles could be fabricated with consistent shapes and dimensions. Furthermore, micro-delivery patch presented significant enhancement in the skin penetration of PLGA nanoparticles which act as the model drug. PLGA control presented the amount of fluorescent dye (cormarin-6) deposited on the upper dermis when compare with PLGA-loaded micro-delivery patch. PLGA-loaded micro-delivery patch significantly enhanced (2 fold) the permeation of PLGA nanoparticles into the skin layer. Finally, the dissolving micro-delivery patch also was fabricated with hydrophilic polymer as cellulose derivatives to develop and enhance dissolution of drug / active ingredients depending on the time degradable of needles. MDP formulations would be dissolving only require at least 10 minute application period allowing the microneedles to degrade and release the drug into the skin model. These dissolving MDP can accomplish a controlled drug release capacity in proportion to their degradable characteristics. Therefore, the controllable properties of microneedles factors with biodegradable, biocompatibility and their formulations are important to design and fabricate the MDP array. These micro-delivery patch has the potential with improved topical and transdermal delivery systems.

Keywords : Microneedle, Biodegradable, Topical delivery system, Encapsulation

บทคัดย่อ

ไมโครนิดเดิ้ล เป็นแท่งเข็มขนาดเล็กที่มีความยาวอยู่ในระดับไมโครเมตร ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้เป็นอุปกรณ์สำหรับนำส่งยา หรือสารสำคัญต่างๆเข้าสู่ทางผิวหนัง งานวิจัยนี้เป็นการออกแบบและพัฒนารูปแบบของแท่งไมโครนิดเดิ้ลบน ด้วยเทคนิคโฟโตลิโทกราฟี โดยใช้วัสดุแผ่นซิลิกอนเวเฟอร์ และ พดีเอ็มเอส เป็นวัสดุสำหรับขึ้นรูปไมโครนิดเดิ้ล เรียกแผ่นนี้ว่า Micro-delivery patch (MDP) ซึ่งแผ่น MDP นี้ถูกออกแบบลักษณะของไมโครนิดเดิ้ล โดยควบคุมความยาวของแท่ง needle ช่วง 200- 550 ไมโครเมตร, ระยะห่างระหว่างแท่งนิดเดิ้ลช่วง 100-300 ไมโครเมตร และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแท่งนิดเดิ้ล ช่วง 100-200 ไมโครเมตร การพัฒนาแผ่น MDP นี้ทำการออกแบบแม่พิมพ์โดยใช้วัสดุที่เป็นแผ่นฐานรองรับซิลิกอน และ พดีเอ็มเอส สำหรับการขึ้นรูปแผ่น MDP จากวัสดุที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และ วัสดุที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ(hydrophilic) ตามลำดับ จากกาขึ้นรูปด้วย MDP ทั้ง 2 รูปแบบของวัสดุที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ และ วัสดุที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ พบว่า สามารถขึ้นรูปแท่งไมโครนิดเดิ้ลได้ตามลักษณะของแม่พิมพ์ที่ออกแบบไว้ นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังได้มีการประเมินความสามารถในการทะลุผ่านชั้นผิวหนังจำลองของแท่งไมโครนิดเดิ้ลบน MDP โดยสังเคราะห์อนุภาคนาโน PLGA ที่กักเก็บสารเรืองแสงคูมาริน-6 เพื่อใช้ในการติดตามการเคลื่อนที่ของอนุภาคนาโน PLGA ผลการประเมินพบว่าอนุภาคนาโน PLGA ที่ถูกนำส่งด้วยแท่งไมโครนิดเดิ้ล สามารถทะลุและซึมผ่านชั้นของผิวหนังได้ลึกกว่า อนุภาคนาโน PLGA (ตัวควบคุม) ได้มากกว่าถึง 2 เท่า รวมถึงศึกษาถึงความสามารถในการย่อยสลายของแท่งไมโครนิดเดิ้ลบน MDP เพื่อใช้เป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมการปลดปล่อยอนุภาคของยาหรือสารที่ถูกกักเก็บอยู่ในแท่งไมโครนิดเดิ้ล โดยจำลองชั้นผิวหนังและ สภาวะในการใช้แผ่น MDP บนชั้นหนังจำลอง พบว่ากลุ่มของพอลิเมอร์ที่ใช้ขึ้นรูปแผ่น MDP สามารถย่อยสลายได้ในผิวหนังจำลองได้ตั้งแต่ช่วง 10 นาทีแรกหลังจากแท่งไมโครนิดเดิ้ลวางและแทรกลงในผิวหนังจำลอง จากนั้นแท่งนิดเดิ้ลก็ละลายเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลา ดังนั้นจากงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยที่สามารถควบคุมการออกแบบลักษณะของแม่พิมพ์แท่งไมโครนิดเดิ้ลและ ควบคุมการขึ้นรูปของแท่งไมโครนิดเดิ้ลบนแผ่น MDP โดยใช้กลุ่มวัสดุที่ย่อยสลายได้และความเข้ากันกับสภาวะของร่างกาย ซึ่ง Micro-delivery patch ที่ได้จากงานวิจัยนี้สามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในการเป็นวัสดุของการนำส่งยาทางผิวหนังได้

คำหลัก: ไมโครนิดเดิ้ล, วัสดุที่ย่อยสลายได้, ระบบนำส่งทางผิวหนัง, เทคโนโลยีการกักเก็บ

Executive Summary

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาการออกแบบแท่งไมโครนิดเดิ้ลในรูปแบบของแผ่นของ Micro-delivery Patch (MDP) เพื่อพัฒนาระบบการนำส่งยาทางผิวหนัง (Topical and Transdermal Delivery Systems) โดยแบ่งการออกแบบเป็น 2 กลุ่มของลักษณะ pattern แผ่นแม่พิมพ์ ประกอบด้วย (1) แบบ Silicon wafer mold ใช้กับกลุ่มของวัสดุที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic polymer) (2) แบบ PDMS mold ใช้กับกลุ่มของวัสดุที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (Hydrophilic polymer) โดยพอลิเมอร์ทั้ง 2 รูปแบบนี้เน้นหาเอาพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้และมีความเข้ากันกับร่างกายมาพัฒนาขึ้นรูปเป็นแผ่น MDP นำส่งยา เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งสารเข้าสู่ชั้นผิวหนัง โดยควบคุมปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อการออกแบบและการนำส่งยา ได้แก่ ความยาวของแท่งไมโครนิดเดิ้ล, ช่องว่างระหว่างแท่งไมโครนิดเดิ้ล รวมถึงเส้นผ่านศูนย์กลางของแท่งไมโครนิดเดิ้ลเป็นต้น

นอกจากนั้น การออกแบบและพัฒนาสูตรองค์ประกอบของไมโครฟิลไลด์ก็มีความสำคัญต่อการนำมาใช้ในการเป็นวัสดุสำหรับการขึ้นรูปเป็นแผ่น MDP เพื่อให้มีคุณสมบัติสามารถนำส่งสารผ่านชั้นผิวหนังได้ อีกทั้งสามารถย่อยสลายได้ในสภาวะที่มีความชื้นที่เหมาะสม โดยองค์ประกอบของสารกลุ่มที่เลือกใช้นี้จะสลายตัวสามารถทดแทนและรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง โดยองค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์ตามงานวิจัยนี้ประกอบด้วย สารก่อไฮโดรเจล, สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อเจล, สารยึดเกาะโครงสร้าง และสารเพิ่มการละลาย โดยกรรมวิธีการเตรียมแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์ และการขึ้นรูปสารละลายผสมดังกล่าวบนแผ่นต้นแบบไมโครฟิลไลด์ (Micropilli pattern) โดยไมโครฟิลไลด์ที่ได้จากสูตรองค์ประกอบ ยังสามารถปรับเปลี่ยนขนาดความยาว ความกว้าง หรือพื้นที่ผิว ซึ่งจะส่งผลต่อเพิ่มความสามารถในการปรับเปลี่ยนการนำส่งสารสำคัญที่ต่างชนิดกัน ในปริมาณที่ต่างกัน เข้าสู่ชั้นผิวหนังของไมโครนิดเดิ้ลได้อย่างเหมาะสม อีกทั้งองค์ประกอบของสูตรพอลิเมอร์ MDP ที่พัฒนานี้สามารถช่วยเพิ่มการเหนียวแน่นการเพิ่มจำนวนและเชื่อมกันของเซลล์ผิวหนัง และไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งสามารถนำมาพัฒนาต่อในการประยุกต์ใช้เป็นแผ่นแปะสมานแผลได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจากงานวิจัยนี้เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้มาพัฒนาและออกแบบวัสดุสำหรับการนำส่งยาทางผิวหนังได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. พัฒนาและออกแบบ microneedle pattern เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งยาด้วยเทคนิค photoresist
2. พัฒนาและออกแบบ micro-delivery patch (MDP) ด้วยพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ สำหรับ **Silicon wafer mold** เพื่อการนำส่งทางผิวหนัง
3. พัฒนาและออกแบบ micro-delivery patch (MDP) ด้วยพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ สำหรับ **PDMS mold** เพื่อการนำส่งทางผิวหนัง
4. พัฒนาและออกแบบ micro-delivery patch (MDP) เพื่อเป็นแผ่นแปะในการฆ่าเชื้อและ สمانแผล

บทที่ 1

1. พัฒนาและออกแบบ microneedle pattern เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งยาด้วย

เทคนิค photoresist

การออกแบบและเตรียม mold ด้วย silicon wafer และ PDMS mold

ในการวิจัยนี้เป็นการออกแบบและเตรียมแผ่นต้นแบบของ MPD ด้วยแผ่น silicon wafer โดยใช้เทคนิคของ photolithography ในการ etching wafer เพื่อให้ได้ mold ต้นแบบที่เป็น silicon wafer และ PDMS mold โดย **silicon wafer mold** จะใช้สำหรับการขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ในขณะที่ **PDMS mold** จะใช้กับการขึ้นรูปของพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำ

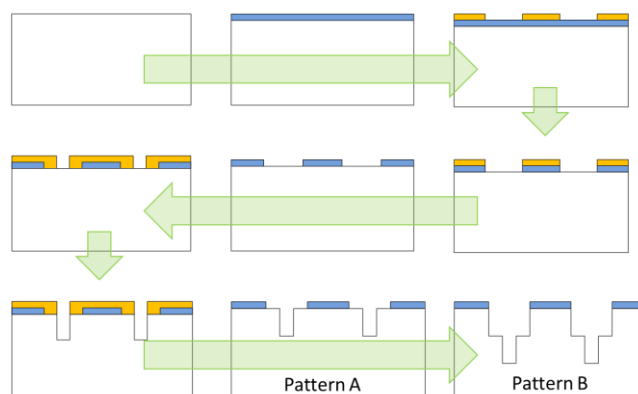
Polyhydroxybutyrate-valerate หรือ PHBV เป็นโพลิเมอร์ที่ผลิตจากสารตั้งต้นธรรมชาติ โดยการควบคุมอัตราส่วนของ butyrate และ valerate อันเกิดจากผลผลิตของจุลินทรีย์บางชนิด โดยงานวิจัยเบื้องต้นใช้ PHBV เป็นพอลิเมอร์สำหรับเป็นต้นแบบในการขึ้นรูปเพื่อหา condition ที่เหมาะสมกับ silicon wafer mold

การออกแบบจะแบ่งออกเป็น 3 รูปแบบด้วยกันตามลำดับงานวิจัย ในแต่ละ step ของการเตรียม แสดงลำดับตามรูปที่ 1 เป็นการออกแบบ pattern ของ silicon wafer mold

การออกแบบ pattern ของ silicon wafer mold ประกอบด้วย

A: การออกแบบ silicon wafer ลักษณะเฉพาะในส่วนของ Base needle (Pattern A)

B: การออกแบบ silicon wafer ลักษณะส่วนของ Base needle และ Tip (Pattern B) เพื่อการขึ้นรูปพอลิเมอร์กลุ่มที่ละลายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์



รูปที่ 1 แสดงการทำ pattern ของ MDP จากฐาน silicon wafer ด้วยเทคนิค photolithography

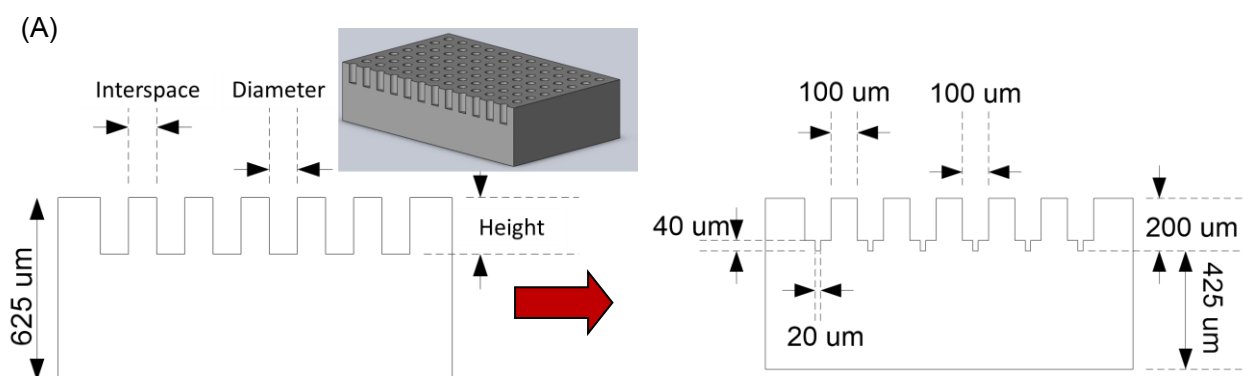
กระบวนการเตรียมและออกแบบ silicon wafer mold

1. เตรียมแผ่นซิลิคอนขนาด 6 นิ้ว หนา 625 ไมโครเมตร, สภาพต้านทาน 1-100 โอห์ม เซนติเมตร (Ohm.cm) และนำมาทำความสะอาดด้วยซีมอส (Standard CMOS cleaning)
2. สร้างชั้นซิลิกอนไดออกไซด์ (SiO₂) หนา 3 ไมโครเมตร ด้วยกระบวนการพีอีซีวีดี (PECVD) ที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส
3. สร้างลวดลายน้ำยาไวแสงด้านหน้าแผ่นเวเฟอร์ ด้วยกระบวนการโฟโตลิโทกราฟี (photolithography)
4. กัดชั้นซิลิกอนไดออกไซด์ ด้วยเทคนิครีแอคทีฟ ไอออน เอชชิง (Reactive Ion Etching)
5. กัดซิลิคอนเวเฟอร์ให้มีลักษณะแบบไอโซทรอปิก (Isotropic) โดยใช้พลาสมากัดเพื่อสร้างเป็นปลายเข็มของไมโครฟิลล์โดยให้ปลายเข็มมีขนาด 20-60 ไมโครเมตร
6. กัดซิลิคอนเวเฟอร์ให้มีลักษณะแบบแอนไอโซทรอปิก (Anisotropic) โดยใช้การกัดด้วยพลาสมา (Bosch technique) เพื่อสร้างเป็นด้ามเข็มของไมโครฟิลล์โดยให้ด้ามเข็มมีความยาวประมาณ 200 ไมโครเมตร
7. ลอกฟิล์มน้ำยาไวแสงออกด้วยเทคนิคพลาสมาเอชชิง (Plasma etching)
8. กัดชั้นซิลิกอนไดออกไซด์ออกด้วย HF 5% 20 นาที ก็จะได้แม่พิมพ์ซิลิคอนของไมโครฟิลล์

การออกแบบลักษณะของ **silicon wafer** ที่มีความหนาประมาณ **625 μm** นี้จะทำการประเมินและวิเคราะห์จากหลายปัจจัยด้วยกัน คือ

- (1) ความลึกของฐาน (Base height) ช่วง 200, 400 และ 550 μm
- (2) เส้นผ่านศูนย์กลางของฐาน (Diameter) ช่วง 100, 150 และ 200 μm
- (3) ระยะห่างระหว่างฐาน (Interspace) ช่วง 100, 300 และ 500 μm

ดังนั้นลักษณะของ **pattern** ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้มีทั้งหมด 27 รูปแบบ แสดงดังรูปที่ 2



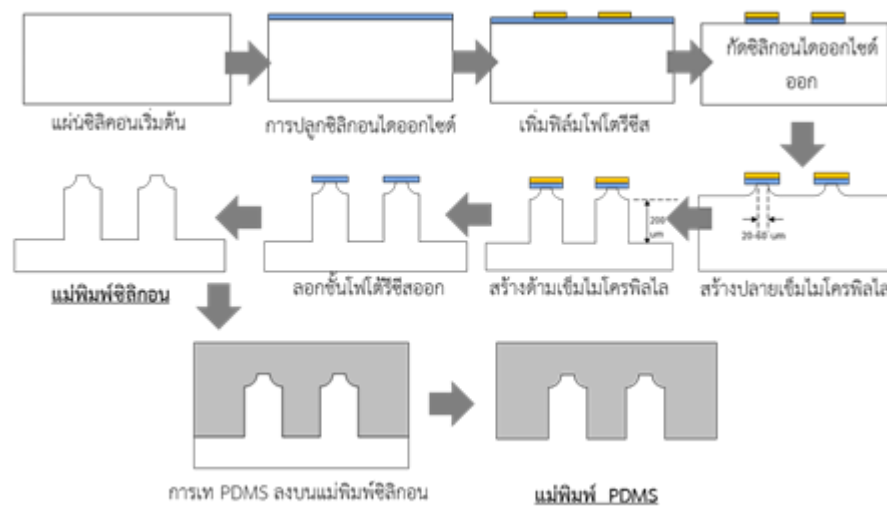
(B)

	Interspace (μm)	Base diameter (μm)	Length (μm)
MPD-A1	100	$\begin{matrix} > 50 \\ > 100 \\ > 200 \end{matrix}$	$\begin{matrix} > 200 \\ > 400 \\ > 550 \end{matrix}$
MPD-A2	300	$\begin{matrix} > 50 \\ > 100 \\ > 200 \end{matrix}$	$\begin{matrix} > 200 \\ > 400 \\ > 550 \end{matrix}$
MPD-A3	500	$\begin{matrix} > 50 \\ > 100 \\ > 200 \end{matrix}$	$\begin{matrix} > 200 \\ > 400 \\ > 550 \end{matrix}$

รูปที่ 2 แสดงภาพจำลองของ **silicon wafer** ที่เตรียมขึ้นมา (A) และ **factors** ควบคุมในงานวิจัยนี้ (B)

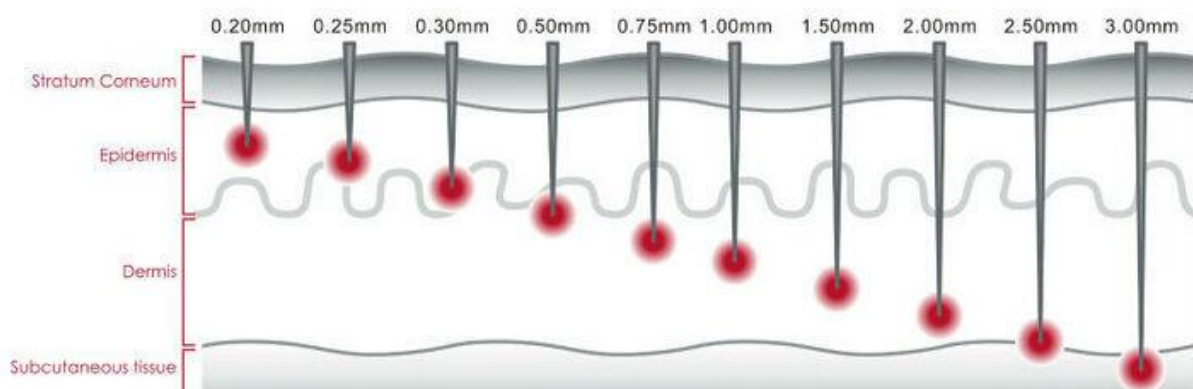
การออกแบบ pattern ของ PDMS mold ประกอบด้วย

1. เตรียมแผ่นซิลิคอนขนาด 6 นิ้ว หนา 100, ความหนา 625 ไมโครเมตร, สภาพต้านทาน 1-100 โอห์ม เซนติเมตร (Ohm.cm) และนำมาทำความสะอาดด้วยซีมอส (Standard CMOS cleaning)
2. สร้างชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) หนา 3 ไมโครเมตร ด้วยกระบวนการพืชีวีดี (PECVD) ที่อุณหภูมิ 350 องศาเซลเซียส
3. สร้างลวดลายน้ำยาไวแสงด้านหน้าแผ่นเวเฟอร์ ด้วยกระบวนการโฟโตลิโทกราฟี (photolithography)
4. กัดชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ ด้วยเทคนิครีแอคทีฟ ไอออน เอชชิง (Reactive Ion Etching)
5. กัดซิลิคอนเวเฟอร์ให้มีลักษณะแบบไอโซโทรปิก (Isotropic) โดยใช้พลาสมากัดเพื่อสร้างเป็นปลายเข็มของไมโครฟิลไลโดยให้ปลายเข็มมีขนาด 20-60 ไมโครเมตร
6. กัดซิลิคอนเวเฟอร์ให้มีลักษณะแบบแอนไอโซโทรปิก (Anisotropic) โดยใช้การกัดด้วยพลาสมา (Bosch technique) เพื่อสร้างเป็นด้ามเข็มของไมโครฟิลไลโดยให้ด้ามเข็มมีความยาวประมาณ 200 ไมโครเมตร
7. ลอกฟิล์มน้ำยาไวแสงออกจากด้วยเทคนิคพลาสมาเอชชิง (Plasma etching)
8. กัดชั้นซิลิคอนไดออกไซด์ออกจากด้วย HF 5% 20 นาที ก็จะได้แม่พิมพ์ซิลิคอนของไมโครฟิลไล
9. ผสมพีดีเอ็มเอส (SYLGARD 184; Silicone elastomer base + SYLGARD 184; Silicone elastomer curing agent, สัดส่วน 10:1 w/w)
10. เทส่วนผสมของ PDMS ลงบนแม่พิมพ์ซิลิคอน และอบด้วยความร้อน 750 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ลอกพีดีเอ็มเอส ออกจากแม่พิมพ์ซิลิคอน จะได้แม่พิมพ์พีดีเอ็มเอสที่พร้อมจะนำไปทำไมโครฟิลไล



รูปที่ 3 แสดงกระบวนการเตรียมชิปแม่พิมพ์พีดีเอ็มเอสสำหรับแผ่นแปะไมโครฟิลโล

จากงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาและออกแบบลักษณะของ micro-delivery patch เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งยาผ่านทางผิวหนัง โดยเฉพาะความลึกของแท่ง needle จะส่งผลต่อการนำส่งยาเข้าสู่ผิวหนัง โดยความลึกของชั้นผิวหนังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดงลักษณะและความยาวของแท่ง needle ที่ผ่านชั้นโครงสร้างผิวหนัง

ตารางที่ 1 Summary of micro-delivery patch dimensions and mechanical properties

Designation	Interspace (um)	Length (um)	Base diameter (um)	Aspect ratio
A1-1	100	200	100	2:1
A1-2	100	400	150	2.67:1
A1-3	100	550	200	2.75:1
B1-1	300	200	100	2:1
B1-2	300	400	150	2.67:1
B1-3	300	550	200	2.75:1
C1-1	500	200	100	2:1
C1-2	500	400	150	2.67:1
C1-3	500	550	200	2.75:1

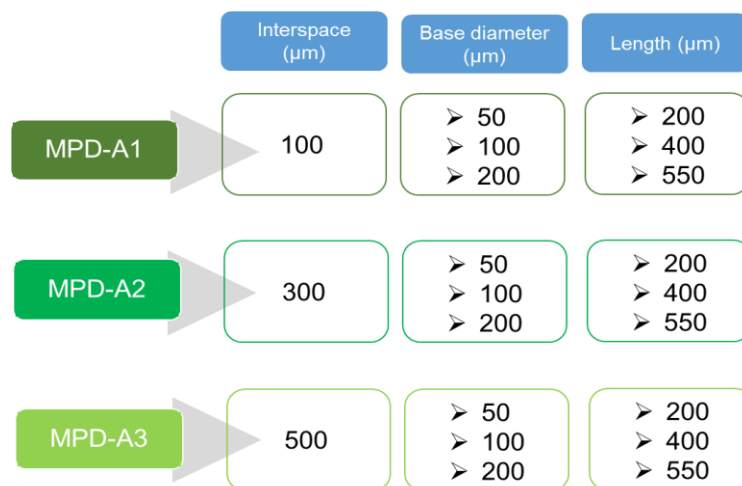
โดยขนาดความยาวของแท่ง needle ที่ได้ออกแบบของต้นแบบอยู่ในช่วง 200 – 550 ไมโครเมตร ซึ่งจากการประเมินความสามารถในการผ่านโครงสร้างของชั้นผิวหนัง จะสามารถผ่านชั้นผิวได้ในช่วงของ Stratum corneum, Epidermis และ Dermis นอกจากนั้นปัจจัยอื่นทั้ง Interspace, Base diameter และ Aspect ratio จะมีผลต่อการพัฒนาและขึ้นรูปของ MDP โดยจะทำการประเมินในการขึ้นรูป MDP ต่อไปในส่วนของงานวิจัยส่วนที่ 2 (การขึ้นรูปบน silicon wafer mold) และงานวิจัยส่วนที่ 3 (การขึ้นรูปบน PDMS mold)

บทที่ 2

2. พัฒนาและออกแบบ micro-delivery patch (MDP) ด้วยพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้สำหรับ silicon wafer mold เพื่อการนำส่งทางผิวหนัง

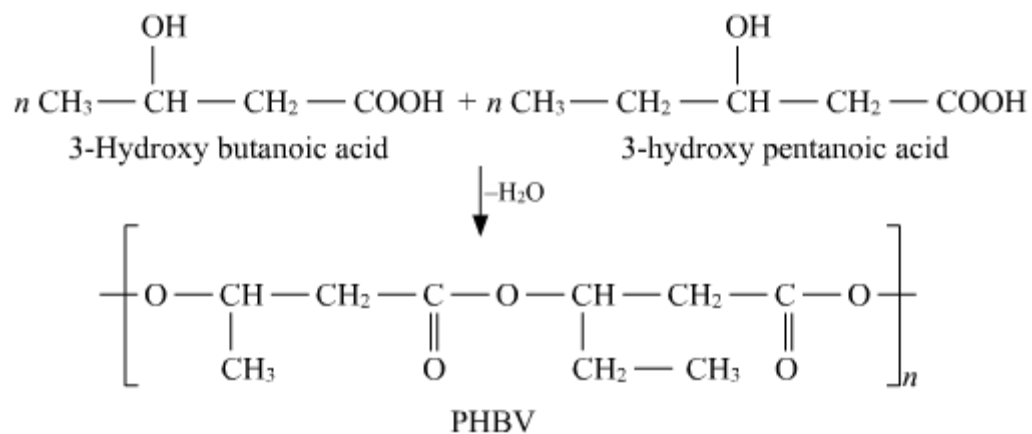
2.1 การประเมินสัดส่วนที่เหมาะสมของ PHBV polymer เพื่อการขึ้นรูป MDP เป็นโครงสร้างของแผ่นแปะ

ลักษณะของ silicon wafer เป็นรูปแบบตาม รูปที่ 5



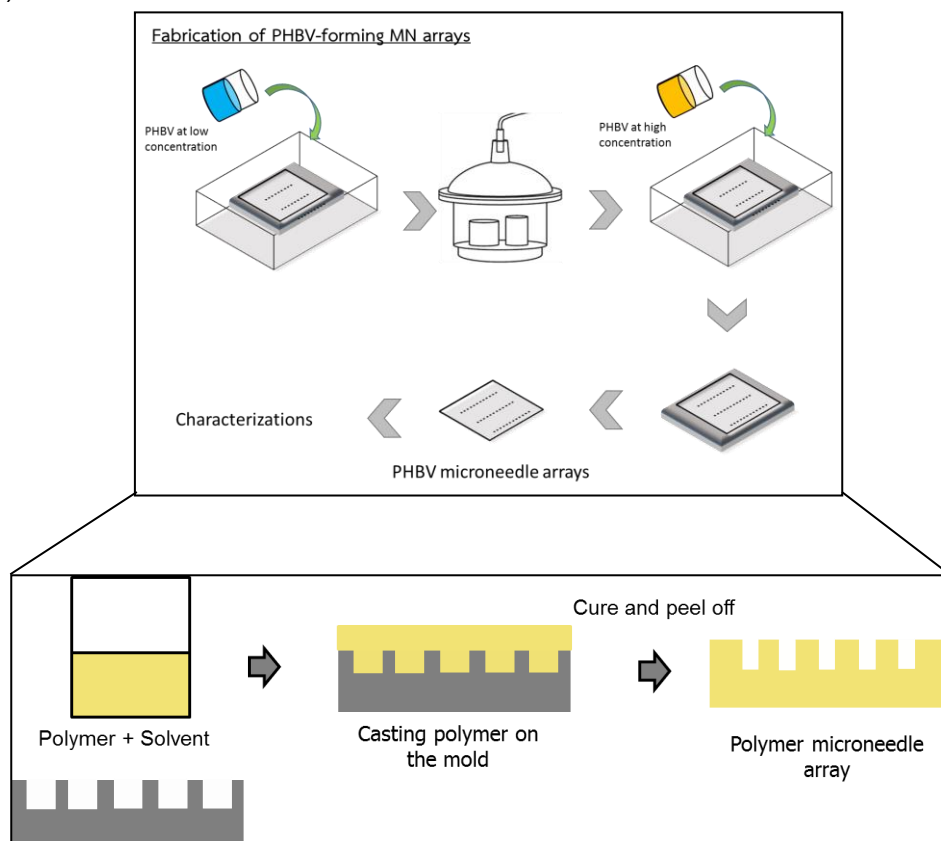
รูปที่ 5 แสดงลักษณะของ silicon wafer mold ที่ใช้ในการขึ้นรูปของ MDP

การพัฒนาขึ้นรูปของ silicon wafer mold ด้วย polymer ที่เป็น solvent base โดยใช้ pattern A ที่เป็น basement ของแท่ง needle เป็นต้นแบบการสังเคราะห์ โดยพอลิเมอร์ที่ใช้ คือ Poly[(R) -3-hydroxybutyrate-co-(R) -3-hydroxyvalerate] (PHBV) เป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพตระกูลพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxy alkanate, PHA) ประกอบด้วยโคพอลิเมอร์ระหว่าง Poly-3-hydroxybutyric acid (PHB) และ Poly-3-hydroxyvaleric acid (PHV) ซึ่ง PHB และ PHV โคพอลิเมอร์ได้มาจากการหมักของกลูโคส (glucose) และกรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) มีความเป็นผลึกต่ำมี Tm เท่ากับ 143 และ Tg เท่ากับ -4 °C ดังนั้นจึงมีความยืดหยุ่นและสามารถผลิตได้ง่าย สามารถนำไปใช้งานในกระบวนการผลิต เช่น การผลิตขวด และ ฟิล์มที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพเสื้อผ้า วัสดุผสม เมมเบรน และทางการแพทย์ได้



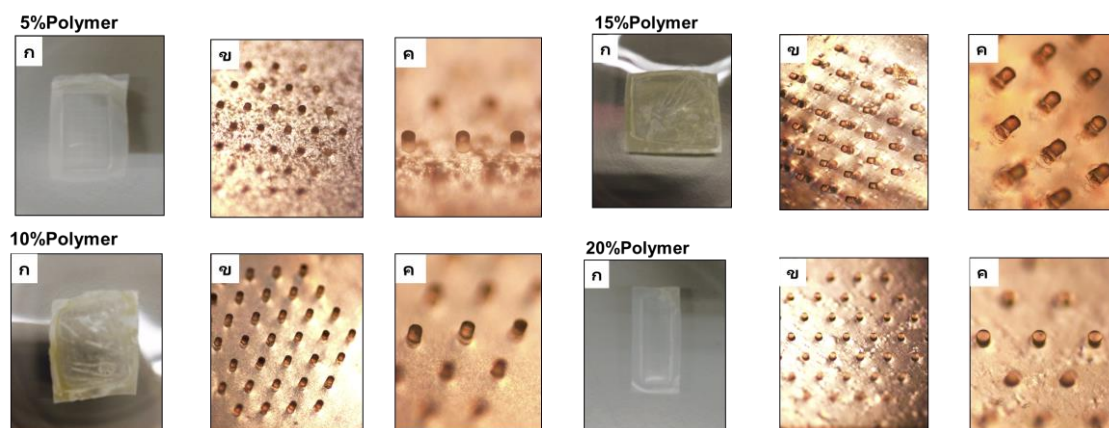
รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Poly[(R) -3-hydroxybutyrate-co-(R) -3-hydroxyvalerate] (PHBV) ที่ใช้ในการขึ้นรูป MDP

การขึ้นรูปแผ่นแปะเบื้องต้นใช้ PHBV ที่สัดส่วนต่าง ๆ กันที่ ช่วง 5-20% wt ในตัวทำละลาย chloroform ที่อุณหภูมิ 60°C ด้วย water bath shaker จากนั้นจึงนำสารละลาย PHBV ที่เตรียมมาขึ้นรูปบนแผ่น silicon wafer ที่เตรียมไว้ด้วยเทคนิค evacuation (แสดงการขึ้นรูป MDP ในรูปที่ 7)



รูปที่ 7 กระบวนการขึ้นรูปแผ่นแปะจากพอลิเมอร์ PHBV (Poly[(R) -3-hydroxybutyrate-co-(R) -3-hydroxyvalerate])

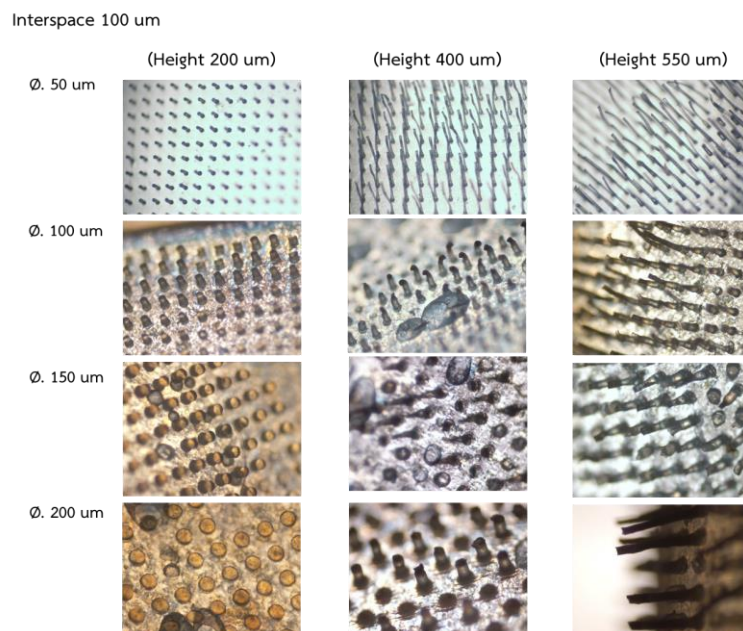
จากการปรับอัตราส่วนความเข้มข้นของ PHBV ที่ใช้ในการขึ้นรูป พบว่าที่ความเข้มข้น 8% PHBV เป็นสัดส่วนที่เหมาะสมในการพัฒนาต้นแบบ โดยทำให้ได้แผ่น MDP ที่มีความหนาและความยืดหยุ่นที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปและกระบวนการผลิตแผ่น MDP (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 แสดงการประเมินหาปริมาณและสัดส่วนที่เหมาะสมในการขึ้นรูปแผ่นแปะด้วยพอลิเมอร์ที่ความเข้มข้นช่วง 5-20%wt (ก) ลักษณะของแผ่นแปะ (ข) และ (ค) เป็นลักษณะของเข็มที่ขึ้นรูปที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย (optical lens) 10X และ 20X ตามลำดับ

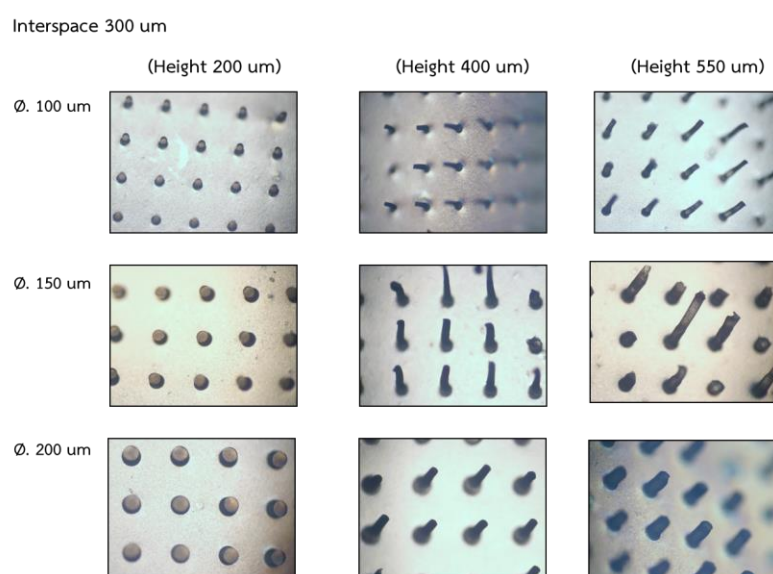
2.2 การประเมินลักษณะของแผ่นแปะด้วยกล้อง Optical microscope

จากผลการหาสัดส่วนของ PHBV ที่เหมาะสมในส่วนของการทดลองที่ 2 พบว่าที่ความเข้มข้น 8%PHBV เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมของพอลิเมอร์และกระบวนการขึ้นรูปที่จึงทำการขึ้นรูปแผ่นแปะด้วยสัดส่วนของพอลิเมอร์ที่กำหนด เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของ mold (Pattern A) ที่เหมาะสม โดยศึกษาปัจจัยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็ม (Diameter), ความลึกของเข็ม (Height) และระยะห่างระหว่างเข็ม (Interspace) แสดงลักษณะดังรูปที่ 9, 10 และ 11 ที่ระยะห่างระหว่างเข็ม 100, 300 และ 500 μm

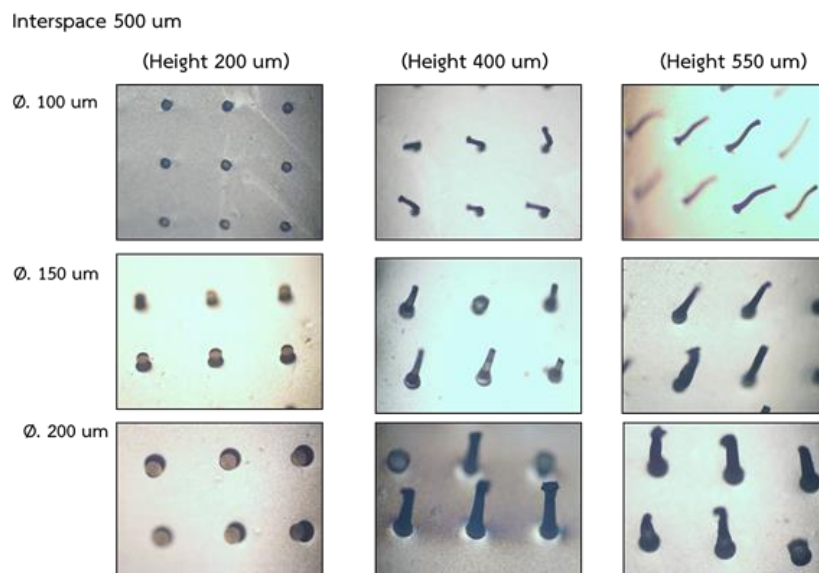


รูปที่ 9 แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 100 μm

จากการประเมินการขึ้นรูปเบื้องต้น พบว่า ปัจจัยทั้ง 3 คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็ม (Diameter), ความลึกของเข็ม (Height) และระยะห่างระหว่างเข็ม (Interspace) มีผลต่อการขึ้นรูปและการลอกแผ่นแปะออกจากต้นแบบทั้งสิ้น โดยแผ่นแปะที่ได้ก็นำไปวิเคราะห์แรงกดด้วยเครื่อง Texture analyzer และทดสอบการขึ้นรูปของ patter นี้กับพอลิเมอร์ ชนิดอื่นๆต่อไป

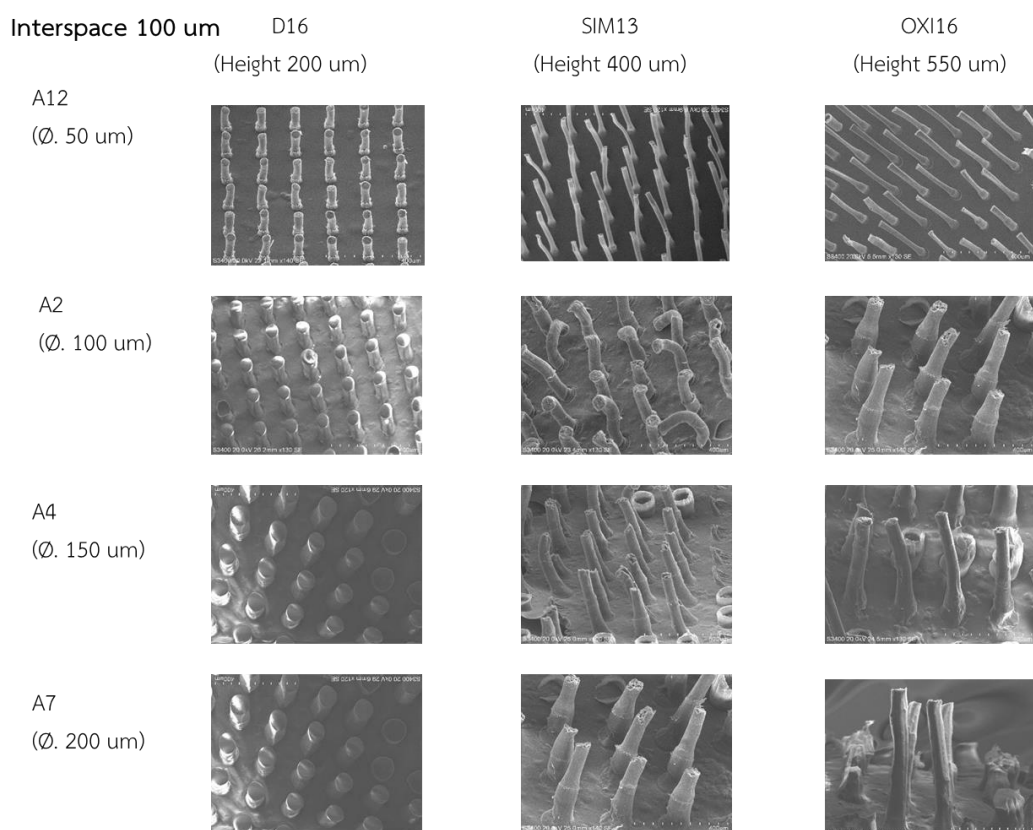


รูปที่ 10 แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 300 μm



รูปที่ 11 แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 500 μm

2.3 การประเมินลักษณะของแผ่นแปะที่ Interspace 100 μm ด้วยกล้อง SEM



รูปที่ 12 แสดงลักษณะของแผ่นแปะที่ขึ้นรูปด้วยพอลิเมอร์ PHBV ที่กำหนดระยะห่างระหว่างเข็มอยู่ที่ 100 μm

2.4 การประเมินความสูงของเข็มที่ได้จากการขึ้นรูปใน pattern รูปแบบต่างๆ

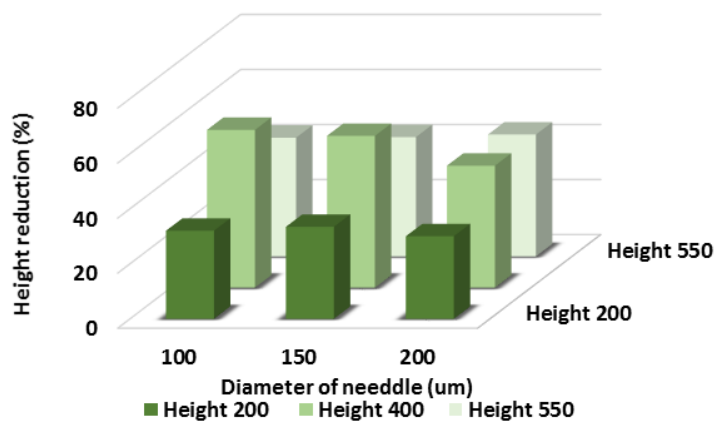
แผ่นแปะ MDP ที่ได้จากการขึ้นรูปของพอลิเมอร์ PHBV ที่ 8% w/w ที่ลักษณะต่างๆนี้ นำมาประเมินและวิเคราะห์เพื่อหาค่า Height reduction และ adhesive force ด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM) และ texture analyzer ตามลำดับ จากการวิเคราะห์และประเมินพบว่าระยะห่างระหว่าง tip (interspace) ที่ 100 um จะส่งผลต่อค่าของการขึ้นรูปของแท่ง pillis น้อยที่สุด โดยประเมินจากค่าความสูงของแท่ง pillis ที่ได้จากการขึ้นรูปที่มีค่า high reduction อยู่ในช่วง 20-30% เมื่อเทียบกับค่า Interspace ที่ 300 และ 500 um จะมีค่า height reduction ที่มากกว่า 50%

โดยการประเมินจากความสูงของเข็มที่ได้จากการขึ้นรูปเทียบกับความสูงตั้งต้นของ pattern ที่ใช้ในการขึ้นรูป โดยวัดความสูงของแผ่นแปะด้วยกล้องจุลทรรศน์ แล้วนำมาเข้าสมการเพื่อหาค่า Height reduction

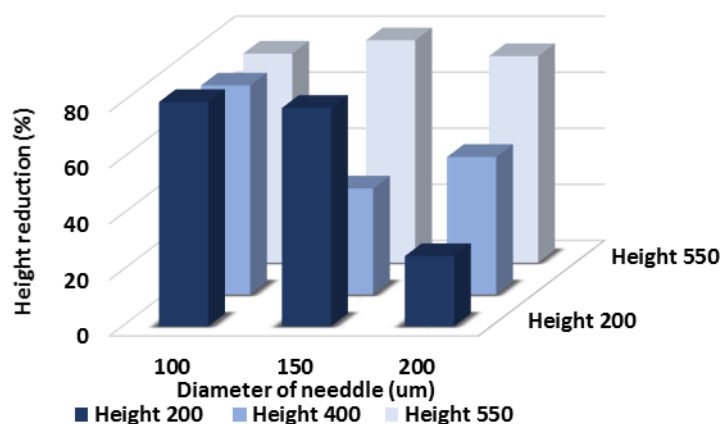
$$\% \text{Height reduction} = \frac{\text{Initial height} - \text{MN height}}{\text{Initial height}} \times 100$$

ซึ่งจากผลการวิเคราะห์จะประเมินค่า height reduction ดังแสดงในรูปที่ 9 โดย pattern ที่มีความลึกของเข็มมากก็จะมีค่า height reduction ที่มากกว่า pattern ที่มีความลึกต่ำกว่า

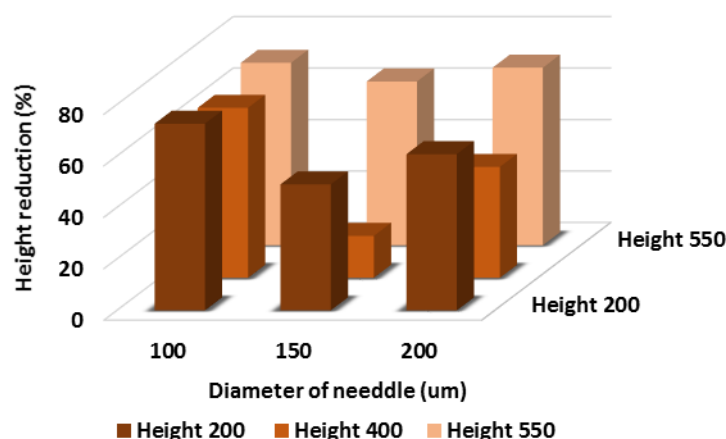
(A)



(B)



(C)

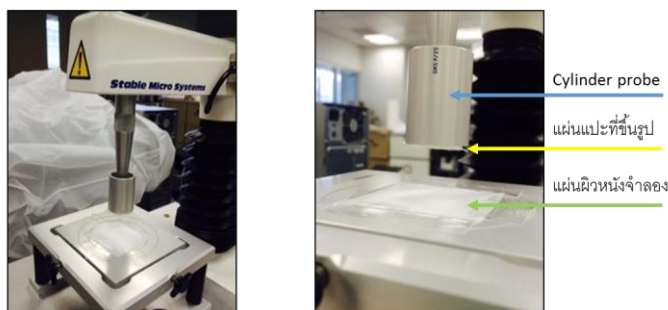


รูปที่ 13 แสดงค่า Height reduction หลังจากการขึ้นรูปแผ่นแปะโดยเปรียบเทียบจากปัจจัยที่ของ pattern (A) Interspace 100 um, (B) Interspace 300 um และ (C) Interspace 500 um

2.5 การประเมินหาค่าแรงกดของ MDP ต่อผิวหนังจำลอง

ประเมินคุณสมบัติและหาค่าแรงกดของ MDP ที่ขึ้นรูปด้วย 8%PHBV ของ pattern A ต่อแผ่นผิวหนังจำลอง โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Texture analyzer (Probe: 25 mm cylinder aluminum Adhesive: Stickiness measurement of adhesive patch with the use of cylinder probe)

Adhesive measurement



รูปที่ 14 แสดงเครื่องมือและวิธีการประเมินคุณสมบัติของแผ่น MDP-Pattern A

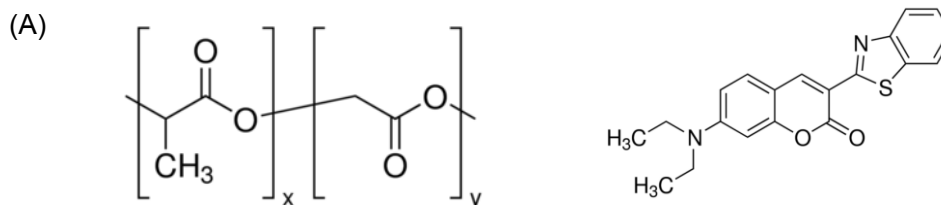
ตารางที่ 2 แสดงค่าแรงกดของ MDP แต่ละ pattern ที่มีต่อผิวหนังจำลอง

Interspace 100	Pattern code	Adhesive force (N)		
		Height 200 um	Height 400 um	Height 550 um
		D16	SIM13	OXI16
Dia. 100	A2	0.29	1.02	1.51
Dia. 150	A4	0.92	0.45	0.13
Dia. 200	A7	0.54	0.31	1.00
Interspace 300	Pattern code	Adhesive force (N)		
		Height 200 um	Height 400 um	Height 550 um
		D16	SIM13	OXI16
Dia. 100	A10	0.69	1.89	2.72
Dia. 150	A5	0.98	1.57	2.04
Dia. 200	A8	1.15	2.24	0.57
Interspace 500	Pattern code	Adhesive force (N)		
		Height 200 um	Height 400 um	Height 550 um
		D16	SIM13	OXI16
Dia. 100	A11	0.58	0.53	1.51
Dia. 150	A6	1.04	2.81	2.29
Dia. 200	A9	0.48	1.79	2.63

จากผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าแรงกดที่ใช้ต่อผิวหนังจำลองขึ้นอยู่กับความสูงของ MDP เป็นปัจจัยหลัก โดย pattern ที่มีความสูง 400 และ 550 μm จะมีค่าแรงกดที่มากกว่า 1 N แสดงให้เห็นว่า MDP ที่มีความสูงยิ่งมากก็จะต้องใช้แรงกดเพื่อให้แท่ง MDP เข้าสู่ผิวหนังมากขึ้นตามไปด้วย

2.6 การสังเคราะห์และประเมินคุณลักษณะอนุภาค PLGA nanoparticles ที่กักเก็บสารเรืองแสง coumarin 6

การสังเคราะห์อนุภาค PLGA nanoparticles โดยใช้ PLGA (Poly-lactide-co-glycolide) ที่ สัดส่วน 50:50 มี molecular weight ช่วง 30,000-60,000 สังเคราะห์โดยใช้เครื่อง Ultrasonicator probe ด้วยเทคนิค emulsion-solvent evaporation โดยใช้ปริมาณและสัดส่วน ของ PLGA ที่แตกต่างกัน เพื่อหาองค์ประกอบที่เหมาะสมเพื่อการกักเก็บสารเรืองแสง coumarin 6 ที่เป็น model drug



รูปที่ 15 แสดงโครงสร้างทางเคมีของพอลิเมอร์ PLGA (Poly-lactide-co-glycolide) (A) และ coumarin 6 (B) ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาค C6-PLGA

2.7 การพัฒนาวิธีวิเคราะห์สาร Coumarin 6 ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC)

1. การหาความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ (Precision) โดยดูจากความเบี่ยงเบนของค่า Retention time ของสารสำคัญที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงวันที่วิเคราะห์ (Intra-day precision) และความแตกต่างของ Retention time เมื่อเทียบในแต่ละวันที่ทำการวิเคราะห์ (Inter-day precision) โดยสามารถวิเคราะห์ค่า Precision เป็นค่า % Relative Standard Deviation (%RSD) ซึ่งจากการศึกษาค่าความเที่ยงตรงของสารมาตรฐานได้ผลดังตารางที่ 2

- การหาความเที่ยงตรงในการวิเคราะห์ (Precision)

ทำการฉีดสารมาตรฐาน Coumarin 6 จำนวน 6 ซ้ำ ในแต่ละความเข้มข้น โดยแบ่งทำ เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาคำนวณหา % Relative standard deviation (%RSD)

- การหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection; LOD) และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) เป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของ เครื่องมือและวิธีที่ใช้ในการวัด ซึ่งในการศึกษานี้ ได้ใช้วิธีการคำนวณหา LOD และ LOQ ตามวิธีของ ICH Harmonised Tripartite Guideline โดย

$$\text{LOD} = (3.3\sigma) / S \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = (10\sigma) / S \quad (2)$$

σ = ค่า Standard deviation ของ y-intercept ของ Calibration curve

S = Slope จาก Calibration curve

ตารางที่ 3 แสดงค่า Retention time ของสารสำคัญ Coumarin 6 ที่เปลี่ยนแปลงไปในช่วงวันที่วิเคราะห์ (Intra-day precision) และ ในแต่ละวันที่ทำการวิเคราะห์ (Inter-day precision)

Curmarin6 (ppm)	No.	RT		
		Day 1	Day 2	Day 3
0.2	1	6.151	-	6.149
	2	6.147	6.214	6.15
	3	6.159	6.186	6.152
	4	6.166	6.174	6.146
	5	6.166	6.171	6.139
	6	6.177	6.165	6.152
0.5	1	6.177	6.167	6.153
	2	6.172	6.159	6.157
	3	6.173	6.158	6.164
	4	6.178	6.158	6.179
	5	6.181	6.166	6.184
	6	6.183	6.165	6.185
1	1	6.188	6.175	6.189
	2	6.188	6.18	6.195
	3	6.191	6.189	6.197
	4	6.194	6.204	6.186
	5	6.195	6.209	6.182
	6	6.196	6.216	6.18
2	1	6.199	6.215	6.186
	2	6.198	6.204	6.185
	3	6.201	6.204	6.186
	4	6.197	6.203	6.195
	5	6.197	6.209	6.195
	6	6.197	6.216	6.199
4	1	6.197	6.225	6.198
	2	6.193	6.222	6.197
	3	6.201	6.22	6.198
	4	6.199	6.217	6.201
	5	6.199	6.219	6.197

	6	6.201	6.221	6.193
6	1	6.201	6.221	6.193
	2	6.205	6.217	6.184
	3	6.198	6.212	6.189
	4	6.205	6.209	6.189
	5	6.211	6.211	6.196
	6	6.208	6.206	6.196
8	1	6.21	6.214	6.196
	2	6.206	6.212	6.193
	3	6.209	6.209	6.194
	4	6.215	6.211	6.194
	5	6.217	6.207	6.191
	6	6.218	6.2	6.188
10	1	6.22	6.2	6.193
	2	6.219	6.196	6.163
	3	6.221	6.195	6.193
	4	6.227	6.194	6.194
	5	6.225	6.195	6.193
	6	6.227	6.194	6.177
Intra-day	mean	6.196	6.199	6.183
	SD	0.019	0.020	0.017
	%RSD	0.309	0.321	0.275
Inter-day	mean	6.193		
	SD	0.019		
	%RSD	0.302		

จากการทำ Method validation โดยวิเคราะห์ความถูกต้อง (Accuracy) เทียบตรง (Precision) ขีดจำกัดของการวิเคราะห์ (LOQ) และขีดจำกัดของการวัด (LOD) สรุปเป็นตารางได้ดังนี้

ตารางที่ 4 แสดงผลสรุปผลการทำ Method Validation

Factors	Coumarin 6
Accuracy (%Recovery)	98.51 - 102.14
Precision (%RSD)	0.024
LOD (mg/L)	2.30 µg/ml
LOQ (mg/L)	6.97 µg/ml

จากตารางที่ 4 สามารถสรุปได้ว่าระบบวิธีวิเคราะห์สามารถที่จะวิเคราะห์สารได้อย่างถูกต้องโดยมีช่วงความถูกต้อง (Accuracy) อยู่ในช่วง 98.51 - 102.14% มีค่าความเบี่ยงเบนออกจากค่าที่ถูกต้อง (%RSD) ประมาณ 0.024% มีค่าขีดจำกัดของการตรวจสอบ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 2.30 mg/L และขีดจำกัดในการวัดปริมาณ (Limit of Quantitation; LOQ) สำหรับเท่ากับ 6.97 mg/L

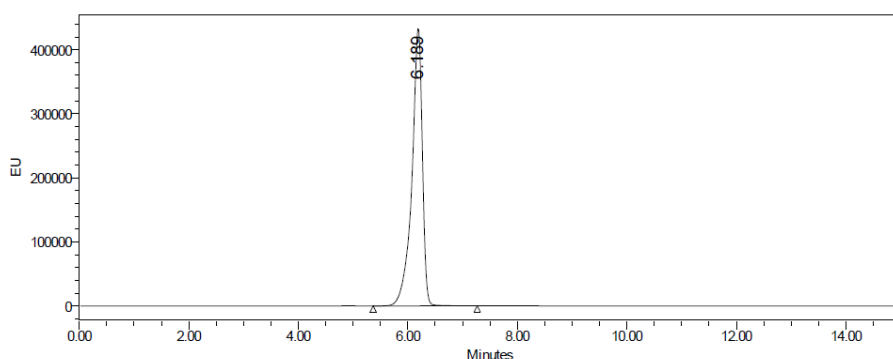
ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า เทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) HPLC (Waters, e2 6 9 5 , Singapore) ร่วมกับ Fluorescence detector (Waters, 2 475, Singapore) สามารถทำการวิเคราะห์สาร Coumarin 6 ได้ผลตามตารางที่ 1 ซึ่งสามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง (Accuracy) เทียบตรง (Precision) โดยมีสภาวะในการวิเคราะห์สารดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงวิธีการวิเคราะห์สาร Coumarin 6 โดยใช้วิธี HPLC-Fluorescence

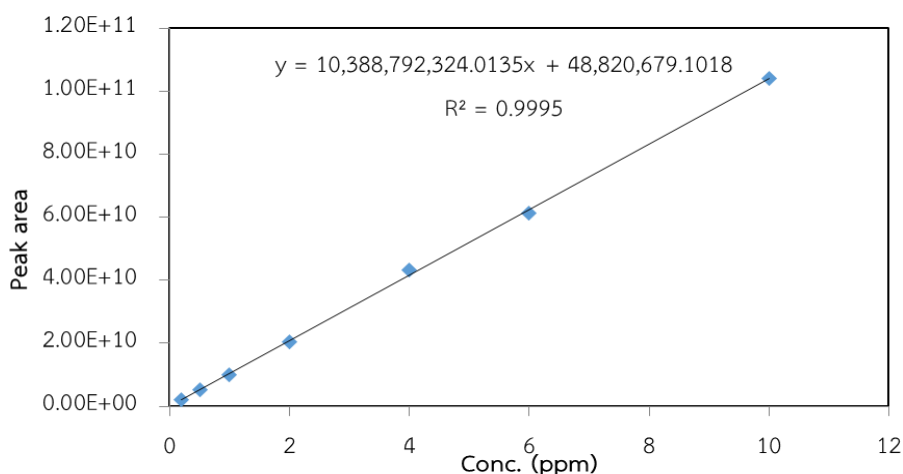
Column	Ascentis® C18 ขนาด 250x4.6 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร
Mobile phase	Water: Methanol (5: 95)
Flow rate (mL/min)	1.0
Temperature (°C)	25
Detector	Fluorescence (λ_{ex} =465 nm, λ_{em} =502 nm)
Injection volume (µL)	10
Run time (min)	15

2. Linearity และ Range : จัดทำกราฟมาตรฐานและกำหนดช่วงที่ใช้ในการวิเคราะห์

สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานและค่า Correlation coefficient (R^2) มีความสำคัญต่อการทำการวิเคราะห์ปริมาณ เนื่องจากเป็นสมการคณิตศาสตร์ที่จะใช้ในการแปรผลการวิเคราะห์จากค่าข้อมูลพื้นที่ใต้กราฟของสารแต่ละชนิด ให้เป็นค่าความเข้มข้นของสารนั้นๆ โดยช่วงความเข้มข้นที่ใช้ในการจัดทำกราฟมาตรฐานนั้น ต้องมีความสัมพันธ์กับพื้นที่ใต้พีคของสารที่ได้จากเครื่องมือวิเคราะห์ในรูปแบบเส้นตรง เพื่อที่จะสามารถบอกถึงแนวโน้มและคำนวณกลับเป็นความเข้มข้นของสารได้อย่างถูกต้องแม่นยำ ในการคำนวณนั้น กำหนดค่า y เป็นค่าพื้นที่ใต้พีค ส่วนค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน โดยในการทดลองกำหนดเป็นหน่วย ppm (ส่วนในล้านส่วน, mg/l หรือ $\mu\text{g/ml}$) โดยกำหนดจุดในสมการเส้นตรงอย่างน้อย 3 จุด และความเข้มข้นที่ใช้ในการจัดทำกราฟมาตรฐานต้องเป็นความเข้มข้นที่ตรวจพบในสารสกัดที่จะวิเคราะห์ ในการวิเคราะห์ปริมาณ Coumarin 6 ในสารตัวอย่าง ได้ทำการเตรียมสารมาตรฐาน 8 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.2 - 10 ppm พบว่า โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานจะพบพีคที่เวลาในช่วง 6.1 - 6.2 นาที (รูปที่ 12) และได้กราฟมาตรฐานดังรูปที่ 12



รูปที่ 16 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน Coumarin 6



รูปที่ 17 กราฟมาตรฐานของสารมาตรฐาน Coumarin 6

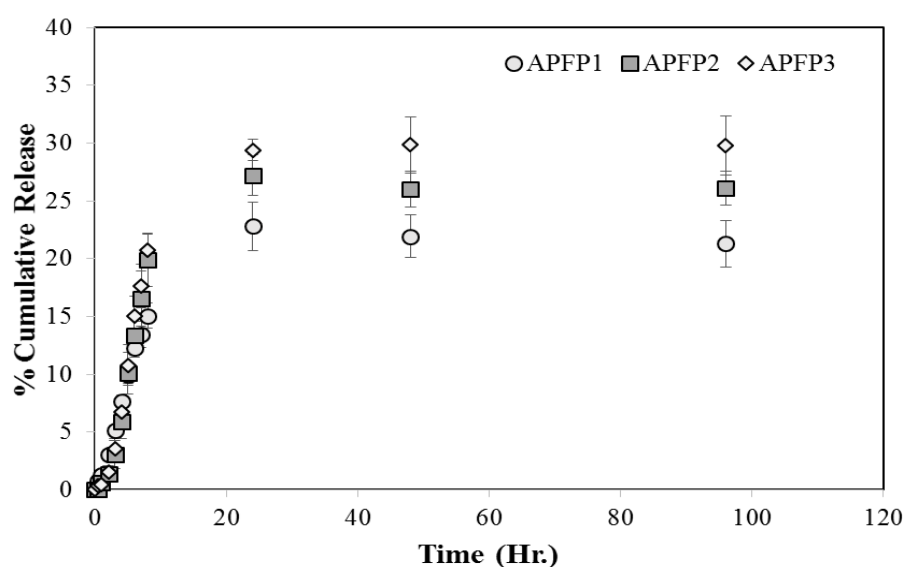
จากการสร้างกราฟมาตรฐาน พบว่าค่า R^2 ของสารมาตรฐาน Coumarin 6 อยู่ที่ 0.995 ถือว่ามีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นที่สูงมาก ซึ่งบ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์

จากการวิเคราะห์และประเมินคุณลักษณะของอนุภาค PLGA ที่กักเก็บ coumarin 6 (C6-PLGA) พบว่า ขนาดของอนุภาคของทั้ง 3 สูตร อยู่ในระดับนาโนเมตรในช่วง 190-210 นาโนเมตร และมีความสามารถในการกักเก็บที่ดี ช่วง 70-80% โดยสูตร FP3 ที่มีความเข้มข้นของ PLGA มากที่สุดนั้นอนุภาคสามารถกักเก็บ coumarin6 ได้มาก ที่ 82.67% ทั้งนี้เนื่องจาก PLGA ที่ขึ้นรูปเป็นอนุภาคนาโนนั้นสามารถดูดซับสารเรืองแสง coumarin6 ได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับ FP1 และ FP2 (แสดงผลในตารางที่ 4) ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณสารเรืองแสงใช้เทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อหาปริมาณของ coumarin6

ตารางที่ 6 ผลการประเมินคุณลักษณะของอนุภาค PLGA ที่กักเก็บ coumarin 6 (C6-PLGA)

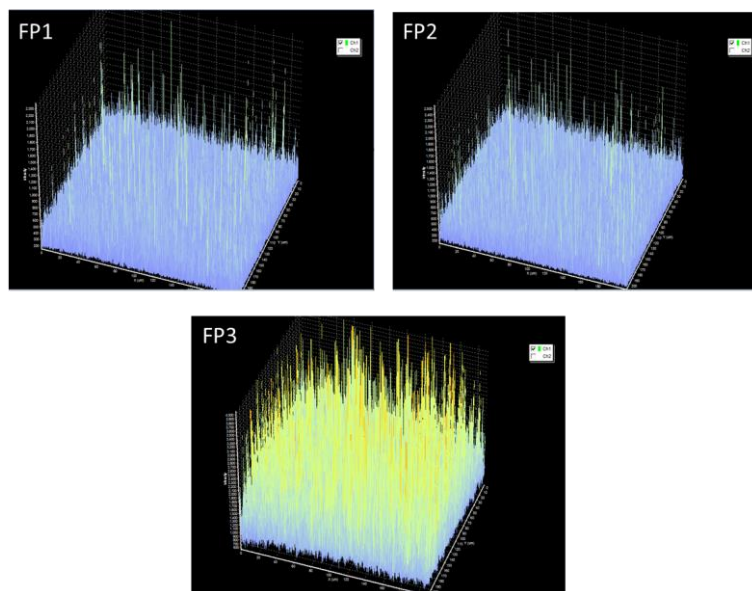
Formula code	FP1	FP2	FP3
PLGA (%wt)	1.0	2.5	5.0
Particle size (nm)	191.40	203.63	203.07
Zeta potential (mV)	8.12	6.27	5.21
PDI	0.23	0.29	0.08
Encapsulation efficiency (%)	76.39	74.39	82.67

จากการสร้างกราฟมาตรฐาน พบว่าค่า R^2 ของสารมาตรฐาน Coumarin 6 อยู่ที่ 0.995 ถือว่ามีค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นที่สูงมาก ซึ่งบ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของการวิเคราะห์



รูปที่ 18 ประเมินการปลดปล่อยสารสำคัญ (coumarin 6) จากอนุภาค PLGA nanoparticle

นอกจากนั้นการวิเคราะห์ปริมาณของ coumarin6 ที่ถูกกักเก็บใน PLGA นั้น ได้มีการยืนยันผลการทดลองที่นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง CLSM (Confocal laser scanning microscope) เพื่อดูการเรืองแสงของอนุภาคและหาปริมาณความเข้มแสง จากการวิเคราะห์พบว่า ความเข้มแสงของ coumarin 6 เพิ่มขึ้นตามปริมาณของ PLGA ที่ใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคของ FP1, FP2 และ FP3 มีความเข้มแสงที่ 303.28, 330.74 และ 1225.35 mfi (mean fluorescence intensity) ตามลำดับ

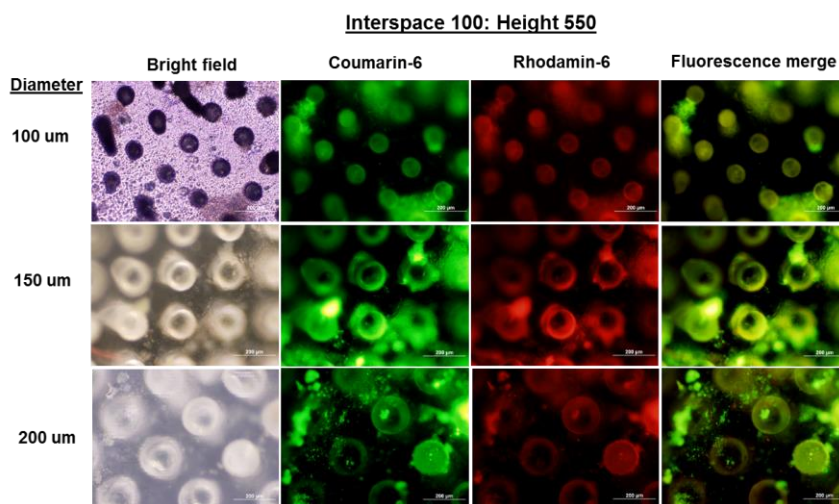
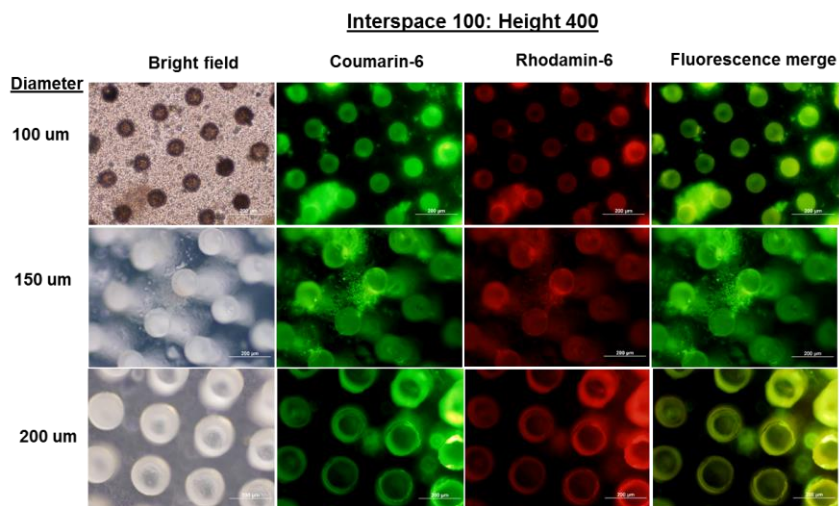
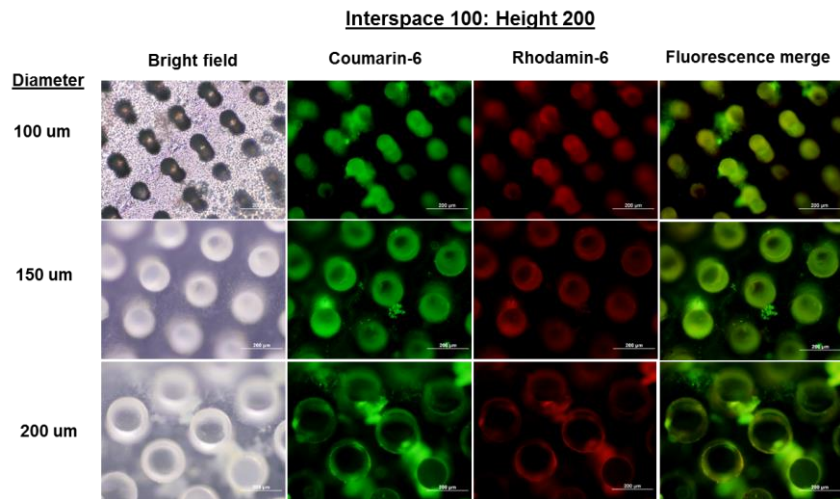


รูปที่ 19 แสดงความสามารถในการเรืองแสงของ C6-PLGA ที่สูตรต่าง ๆ ของ FP1, FP2 และ FP3 ด้วยเครื่อง CLSM (Confocal laser scanning microscope)

2.8 การศึกษาการเคลือบ C6-PLGA-CP-Rhd บนแผ่น MDP และความสามารถในการทะลุผ่านเนื้อเยื่อผิวหนังของ MDP- โดยใช้กล้อง confocal laser scanning microscopy (CLSM)

C6-PLGA-CP-Rhd coated MDP

การประเมินความสามารถในการเคลือบของอนุภาค C6-PLGA-CP-Rhd บนแผ่น MDP โดยวิเคราะห์จากการเรืองแสงของ Fluorescence dye ที่กักเก็บในอนุภาค PLGA (Coumarin-6: Green color) และ Carbopol (Rhodamin-6: Red color)



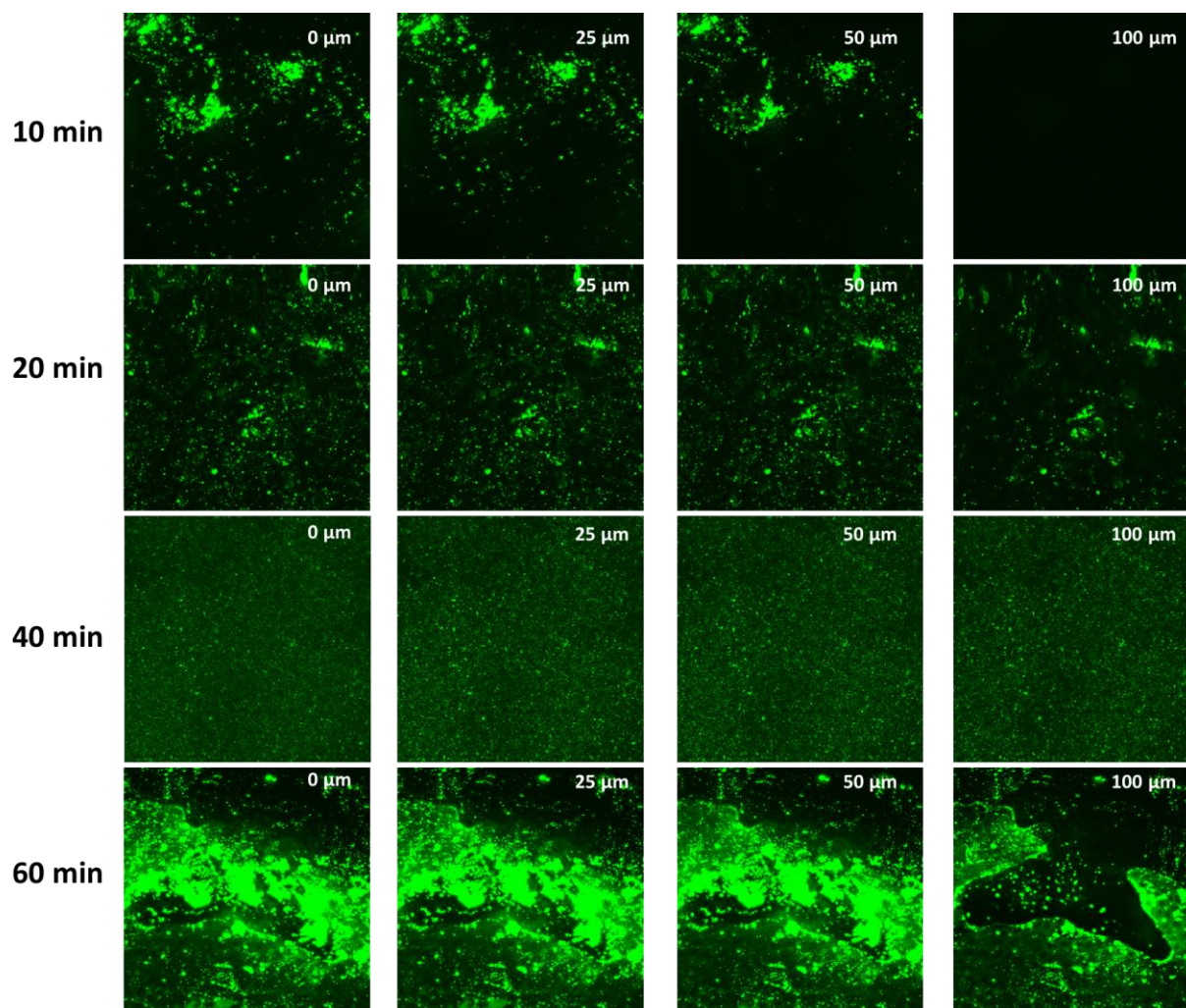
รูปที่ 20 Fluorescence microscope images of C6-loaded PLGA-CP MPD arrays. To capture coumarin-6 and rhodamine image, a red color filter and a green emission filter. Integrated fluorescence intensity for green fluorescence of coumarin-6 in PLGA matrix, red fluorescence of rhodamine-labeled carbopol aqueous shell.

2.9 การศึกษาความสามารถในการทะลุผ่านเนื้อเยื่อผิวหนังของ needle patch โดยใช้กล้อง confocal laser scanning microscopy

ความสามารถของตัวอย่างในการซึมผ่านเนื้อเยื่อหนังหมูถูกนำมาทดสอบเพื่อประเมินคุณสมบัติในการซึมผ่าน ตลอดจนการย่อยสลายได้เองของตัวอย่างทดสอบเมื่อทำการกดทับลงบนเนื้อเยื่อหนังหมู โดยในการทดสอบเริ่มต้นจากการตัดเนื้อเยื่อหนังหมูที่ขนาด กว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 2 เซนติเมตร ทำการล้างแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 ก่อนขับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู หลังจากนั้นนำแผ่นเนื้อเยื่อดังกล่าววางลงบนแผ่นสไลด์ ก่อนวางทับด้วยตัวอย่างทดสอบที่ทำการย้อมสีด้วยสีย้อมชนิดคูมาริน-6 (coumarin-6) ซึ่งให้แสงสีเขียว ด้วยน้ำหนักในการกดที่เท่ากันในทุกตัวอย่าง หลังจากนั้นปิดทับด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ (Coverslip) ก่อนนำมาศึกษาความสามารถในการซึมผ่านและการย่อยสลายของตัวอย่างทดสอบบนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมู ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกน (confocal laser scanning microscopy) ด้วยโหมดการถ่ายภาพแบบแยกชั้น (Z-stack) ซึ่งสามารถแยกวิเคราะห์ความหนาและจำนวนชั้นของตัวอย่างที่ซึมผ่านลงไปบนเนื้อเยื่อหนังหมูได้ โดยทำการถ่ายภาพเมื่อทำการแปะตัวอย่างทดสอบลงบนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูเป็นเวลา 0, 10, 30, 60 นาที และ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 6

Condition ส่องภายใต้กล้อง confocal laser scanning microscopy (Olympus FY10i, Center Valley, PA, USA) โดยตั้งค่าตัวแปรดังต่อไปนี้

- a. กำลังขยายของกล้อง : 10X และ 60X
- b. โหมดการถ่าย : Z stack (เป็นการถ่ายภาพเป็นชั้นๆ ตามความหนาของเนื้อเยื่อ)
- c. ระยะระหว่างชั้นเนื้อเยื่อในการถ่าย : 5 ไมโครเมตร
- d. ความเข้มแสงของสี fluorescent ที่ใช้ จะต้องเท่ากับในทุกภาพที่ทำการถ่าย

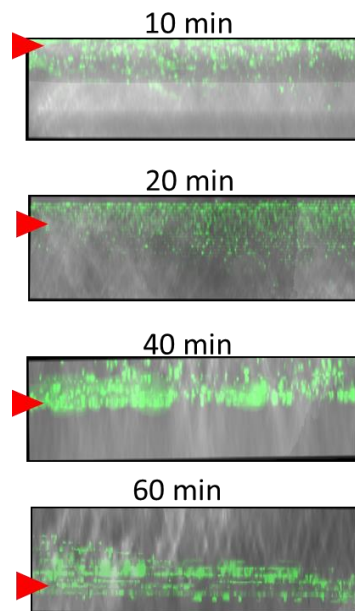


รูปที่ 21 Confocal images of Z-stacks of the full thickness porcine skin treated with C6-PLGA coated MDP. Bar scales represent 0-100 μm at interval time interaction.

ตารางที่ 7 ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อที่ระยะเวลาทดสอบต่างๆ

ตัวอย่างทดสอบ	ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อ (ไมโครเมตร)				
	0 นาที	10 นาที	30 นาที	60 นาที	24 ชั่วโมง
แผ่นปะไมโครฟิลไลต์ผสมกับ ไกลโคликแอซิดที่ย้อมติดสีเขียว ด้วยคูมาริน 6	0	230	230	280	330
อนุภาคนาโนพอลิแลปติกไกล โคลิคแอซิดที่ย้อมติดสีเขียวด้วยคู มาริน 6 (C6-loaded PLGA)	0	40	50	60	240

จากการประเมินการซึมผ่านผิวหนังของ MDP ที่มี C6-PLGA เคลือบที่ผิวของ patch สามารถซึมผ่านเข้าผิวหนังได้ในระดับที่ลึกขึ้นตามระยะเวลาที่ patch สัมผัสกับชั้นของผิวหนัง โดยสังเกตจากการเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ ของสาร coumarin ที่กักเก็บอยู่ในอนุภาค PLGA (C6-PLGA) ที่ระยะเวลา 10 นาที จะมีการเรืองแสงอยู่ที่ชั้นบนของผิวหนังปริมาณมาก และเมื่อถึงระยะเวลาที่ 20, 40 และ 60 นาที ปริมาณสารเรืองแสงก็ซึมผ่านลงมาชั้นล่างมากขึ้นตามลำดับ (แสดงในรูปที่ 18)



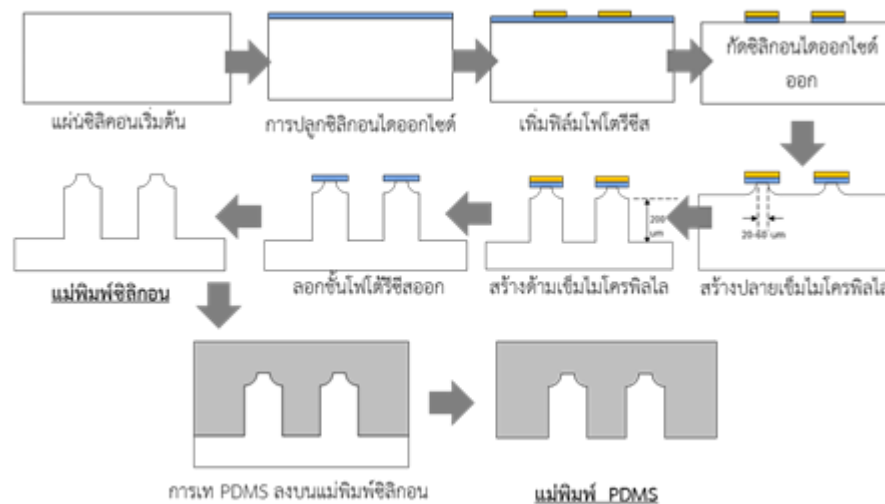
รูปที่ 22 Confocal images of Z-stacks of the full thickness porcine skin treated with C6-PLGA coated MDP which compare between at interval time interaction.

บทที่ 3

3. การกรรมวิธีการเตรียมพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้เพื่อขึ้นรูปแผ่นแปะไมโครฟิลไล

3.1 การพัฒนารูปแบบของไมโครนิดเดิ้ลที่สลายได้ (Dissolving microneedle)

เพื่อการนำส่งสารทางผิวหนัง โดยออกแบบลักษณะของแท่งให้มีขนาดเล็ก มีความถี่ของจำนวนแท่งที่สูง เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณและพื้นที่ผิวของแท่งให้มากขึ้น โดยลักษณะของแท่งที่ได้จะเป็นลักษณะของไมโครฟิลไล (micropillis) อีกทั้งมีความสูงในระดับที่สามารถแทรกผ่านชั้นผิวหนังได้ ไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดเมื่อทำการแปะบนผิวหนังหรือแผล เนื่องจากลักษณะปลายที่ไม่แหลมดังเช่นไมโครนิดเดิ้ลที่ใช้ทั่วไป โดยองค์ประกอบของไมโครฟิลไลตามการประดิษฐ์นี้ จะเลือกใช้พอลิเมอร์ในกลุ่มที่ย่อยสลายได้ในอัตราส่วนผสมที่ทำให้มีความเสถียรและสามารถขึ้นรูปบนแผ่นต้นแบบไมโครฟิลไล (Micropilli pattern) ได้



รูปที่ 23 กระบวนการเตรียมชิปแม่พิมพ์พีดอีเอ็มเอส (PDMS) สำหรับแผ่นแปะไมโครฟิลไล

กรรมวิธีการเตรียมพอลิเมอร์เพื่อขึ้นรูปแผ่นแปะไมโครฟิลไลดังกล่าว ประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

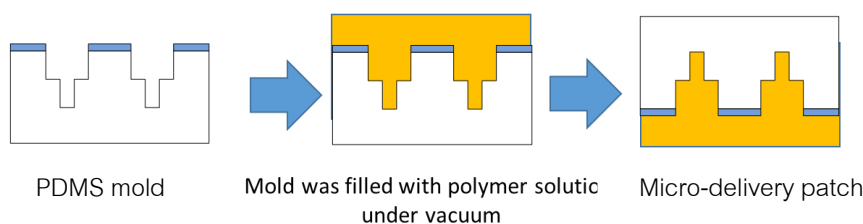
- ก.) การเตรียมสารละลายของสารก่อไฮโดรเจล, สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อก้อน และสารยึดเกาะโครงสร้าง สำหรับขึ้นรูปเป็นแผ่นไมโครฟิลไล โดยสารดังกล่าว มีดังนี้
- สารก่อไฮโดรเจล ได้แก่ สารในกลุ่มของเซลลูโลส (cellulose), สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อก้อน
 - สารยึดเกาะโครงสร้างกลุ่มที่ประกอบด้วย พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol), พอลิไวนิลไพร์โรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone), พอลิเอทิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol) ทำการ

ละลายสารแต่ละองค์ประกอบ ในสารเพิ่มการละลาย หลังจากนั้นทำการกวนผสมโดยใช้เครื่องปั่นความเร็วต่ำ (Mechanical stirrer) ที่ความเร็วรอบประมาณ 100-300 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 20-30 นาที หรือจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายของสารแต่ละองค์ประกอบ

ข.) การผสมสารละลายของสารดังกล่าวเข้าด้วยกัน จะได้สารละลายผสมของสารก่อไฮโดรเจล, สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อเจล และสารยึดเกาะโครงสร้าง

กระทำโดยการนำสารละลายแต่ละองค์ประกอบจากขั้นตอน ก.) มาทำการผสมกันภายใต้เครื่องผสมและลดขนาดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคส์ (Ultrasonic probe) ที่ความแรงคลื่น 10-40 วัตต์ เป็นระยะเวลา 10-20 นาที จะได้สารละลายผสมของสารก่อไฮโดรเจล, สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อเจล และสารยึดเกาะโครงสร้าง หลังจากนั้น ทำการเติมสารเพิ่มการละลาย และทำการเติมลงในสารละลายผสมดังกล่าวด้วยอัตราเร็ว 2-5 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการผสมและลดขนาดต่อเนื่องภายใต้เครื่องผสมและลดขนาดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคส์ (Ultrasonic probe) ที่ความแรงคลื่น 10-40 วัตต์ เป็นระยะเวลา 5-15 นาที จะได้สารละลายผสมที่เป็นเนื้อเดียวกันที่มีความใส ไม่มีฟองอากาศ พร้อมสำหรับการขึ้นรูปบนแผ่นต้นแบบไมโครพิลไล (Micropilli pattern)

ค.) การขึ้นรูปสารละลายผสมดังกล่าว บนแผ่นต้นแบบไมโครพิลไล (Micropilli pattern) กระทำโดยทำการเติมสารละลายผสมที่ได้ลงบนแผ่นแม่พิมพ์จากนั้นนำไปเข้าโถสุญญากาศเพื่อเอาฟองอากาศออกเป็นระยะเวลา 10-30 นาที ทิ้งไว้จนแผ่นต้นแบบไมโครพิลไลแห้งสามารถลอกออกได้ จะได้เป็นแผ่นต้นแบบไมโครพิลไลพร้อมใช้งาน

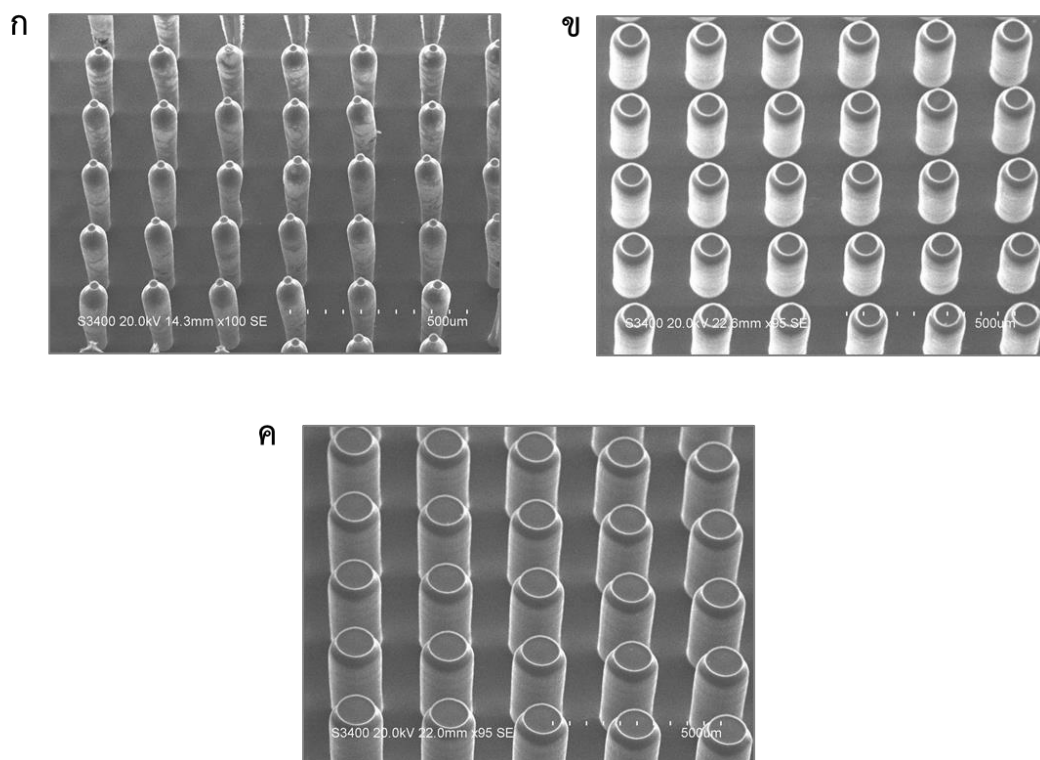


รูปที่ 24 แสดงกระบวนการขึ้นรูปของพอลิเมอร์บน PDMS mold

3.2 การประเมินลักษณะทางกายภาพของแท่งไมโครพิลไลที่ขึ้นรูปได้

ทำการประเมินด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope) โดยลักษณะของแท่งไมโครพิลไลที่ได้นั้นแสดงในรูปที่ 21 ทำการเปรียบเทียบลักษณะของโครงสร้างแท่งไมโครพิลไลที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของแกนที่ต่างกัน คือ ที่ 100 ไมโครเมตร (ก), 150 ไมโครเมตร (ข) และ 200 ไมโครเมตร (ค) โดยกำหนดระยะห่างระหว่างแท่งไมโครพิลไลอยู่ที่ 100 ไมโครเมตร ซึ่งรูปแบบลักษณะของไมโครพิลไลที่ปรับขนาดได้นั้น จะส่งผลต่อ

ความสามารถในการปรับเปลี่ยนการนำส่งสารสำคัญที่ต่างชนิดกัน ในปริมาณที่ต่างกัน เข้าสู่ชั้นผิวหนังของไมโครนิดเดิ้ลได้อย่างเหมาะสม ซึ่งถือเป็นการเพิ่มคุณสมบัติของแท่งไมโครฟิลไลด์ต่อ

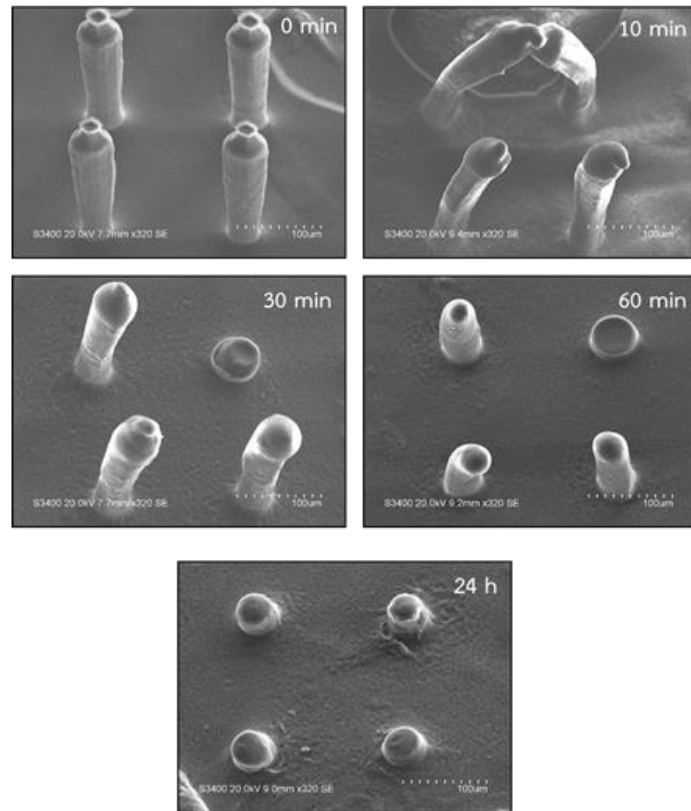


รูปที่ 25 แสดงลักษณะทางกายภาพของแท่งไมโครฟิลไลด์ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางของแกนที่ต่างกันคือ ที่ 100 ไมโครเมตร (ก), 150 ไมโครเมตร (ข) และ 200 ไมโครเมตร (ค)

3.3 การทดสอบความสามารถในการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลด์บนแผ่นแปะ

ขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลด์ที่อยู่บนแผ่นแปะ โดยนำแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 100 ไมโครเมตร) ที่ขึ้นรูปแล้วนั้นมาทดสอบการสลายตัวกับชั้นเนื้อเยื่อหนังหมู โดยในการทดสอบเริ่มต้นจากการตัดเนื้อเยื่อหนังหมูที่ขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 2 เซนติเมตร ทำการล้างแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 ก่อนซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู หลังจากนั้นนำแผ่นเนื้อเยื่อดังกล่าววางลงบนแผ่นสไลด์ ด้วยน้ำหนักรีดในการกดที่เท่ากันในทุกตัวอย่าง หลังจากนั้นปิดทับด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ (Coverslip) ก่อนนำมาศึกษาความสามารถในการย่อยสลายของตัวอย่างทดสอบแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์บนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมู ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ดูการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลด์ โดยทำการถ่ายภาพเมื่อทำการแปะตัวอย่างทดสอบลงบนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูเป็นเวลา 0, 10, 30, 60 นาที และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ พบว่าแท่งของไมโคร

รฟิลไลเริ่มมีการอ่อนตัวลงตั้งแต่วันที่ 10 นาทีแรก และหลังจากนั้น ที่ 30 และ 60 นาที ความสูงของแท่งไมโครฟิลไลมีความสูงที่ลดลงตามลำดับ โดยเมื่อทิ้งไว้ที่ระยะเวลาครบ 24 ชั่วโมงความสูงของแท่งไมโครฟิลไลลดลงไปมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าแผ่นแปะไมโครฟิลไลนี้สามารถสลายได้จริงเมื่อผ่านการใช้งานตามระยะเวลาที่กำหนด



รูปที่ 26 แสดงลักษณะการสลายตัวของแท่งไมโครฟิลไลที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยทดสอบกับเนื้อเยื่อหมู

3.4 การทดสอบความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนัง (Cytotoxic activity against CRL-2522)

ความเป็นพิษของตัวอย่างทดสอบถูกนำมาศึกษาผลกระทบต่ออัตราการเจริญของเซลล์ผิวหนัง (Human skin fibroblast: CRL-2522) โดยการทดสอบความเป็นพิษด้วยวิธี MTT (MTT assay) โดยการเลี้ยงเซลล์ผิวหนังมนุษย์ในหลุมชนิด 96 หลุม (96-well plat) ด้วยอาหารเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต (อาหารเลี้ยงเซลล์ ร้อยละ 88 โดยปริมาตร, เซรัมจากลูกวัวแรกเกิด (FBS) ร้อยละ 10 โดยปริมาตร, แอล-กลูตามีน ร้อยละ 1 โดยปริมาตร, ยาปฏิชีวนะ ร้อยละ 1 โดยปริมาตร และเพนนิซิลิน กรองผ่านแผ่นเมมเบรนที่มีรูขนาด 0.2 ไมครอน) โดยควบคุมปริมาณเซลล์ให้เท่ากันที่ 8,000 เซลล์ต่อหลุม เลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุม (อุณหภูมิ 37 องศา

เซลล์ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ไหลผ่านที่ปริมาณความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์) จนเซลล์เติบโตประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ของภาชนะที่ทำการเลี้ยง ล้างเซลล์ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรดต่าง 7.4 จำนวน 1 ครั้ง และละลายเชื้อจางสารที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเซลล์ DMEM กำหนดความเข้มข้นสุดท้ายและทำการเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการทดสอบ เปลี่ยนสารที่เตรียมลงไปแทนหลังการเพาะอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าออกแล้ว โดยหลุมที่เป็นกลุ่มควบคุม (control) เติมนเฉพาะ DMEM โดยทำการทดลองซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง (n=3) ติดตามการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้เลี้ยงเชื้อ ก่อนทำการดูดสารละลายออกจากหลุม แล้วทำการล้างเซลล์ด้วยบัฟเฟอร์ที่มี พีเอช 7.4 แล้วทำการบ่มต่อด้วยสารละลาย MTT ที่อัตราความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วทำการเติมสารละลายดีเอ็มเอสโอ (DMSO) ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาค่าอัตราการอยู่รอดที่ 50% (IC_{50}) หรือที่เรียกว่าค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างทดสอบที่สามารถทำให้เซลล์ยังเจริญเติบโตได้ที่ 50%

3.5 การศึกษาความสามารถของตัวอย่างในการซึมผ่านเนื้อเยื่อหนังหมูที่ใช้ในการทดสอบ (Permeation of microneedle through porcine skin via CLSM)

ความสามารถของตัวอย่างในการซึมผ่านเนื้อเยื่อหนังหมูถูกนำมาทดสอบเพื่อประเมินคุณสมบัติในการซึมผ่าน ตลอดจนการย่อยสลายได้เองของตัวอย่างทดสอบเมื่อทำการกดทับลงบนเนื้อเยื่อหนังหมู โดยในการทดสอบเริ่มต้นจากการตัดเนื้อเยื่อหนังหมูที่ขนาด กว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 2 เซนติเมตร ทำการล้างแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 7.4 ก่อนซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู หลังจากนั้นนำแผ่นเนื้อเยื่อดังกล่าววางลงบนแผ่นสไลด์ ก่อนวางทับด้วยตัวอย่างทดสอบที่ทำการย้อมสีด้วยสีย้อมชนิดคูมาริน-6 (coumarin-6) ซึ่งให้แสงสีเขียวด้วยน้ำหนักรในการกดที่เท่ากันในทุกตัวอย่าง หลังจากนั้นปิดทับด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ (Coverslip) ก่อนนำมาศึกษาความสามารถในการซึมผ่านและการย่อยสลายของตัวอย่างทดสอบบนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมู ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอลชนิดที่ใช้เลเซอร์ในการสแกน (confocal laser scanning microscopy) ด้วยโหมดการถ่ายภาพแบบแยกชั้น (Z-stack) ซึ่งสามารถแยกวิเคราะห์ความหนาและจำนวนชั้นของตัวอย่างที่ซึมผ่านลงไปบนเนื้อเยื่อหนังหมูได้ โดยทำการถ่ายภาพเมื่อทำการแปะตัวอย่างทดสอบลงบนแผ่นเนื้อเยื่อหนังหมูเป็นเวลา 0, 10, 30, 60 นาที และ 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อที่ระยะเวลาทดสอบต่างๆ

ตัวอย่างทดสอบ	ความสามารถในการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อ (ไมโครเมตร)				
	0 นาที	10 นาที	30 นาที	60 นาที	24 ชั่วโมง
แผ่นปะไมโครฟิลไลต์ผสมกับอนุภาคนาโนพอลิแลปติกไกลโคลิกแอซิดที่ย้อมติดสีเขียวด้วยคูมารีน 6	0	230	230	280	330
อนุภาคนาโนพอลิแลปติกไกลโคลิกแอซิดที่ย้อมติดสีเขียวด้วยคูมารีน 6 (C6-loaded PLGA)	0	40	50	60	240

บทสรุปงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาการออกแบบของ micro-delivery patch เพื่อการนำส่งยา โดยแบ่งการออกแบบเป็น 2 กลุ่มของลักษณะ pattern ประกอบด้วย (1) แบบ Silicon wafer mold ใช้กับกลุ่มของ Hydrophobic polymer (2) แบบ PDMS mold ใช้กับกลุ่มของ Hydrophilic polymer โดยทั้ง 2 แบบนี้เน้นนำเอาพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นนำส่งยาเพื่อให้เหมาะสมต่อการนำส่งสารเข้าสู่ชั้นผิวหนัง

การออกแบบและพัฒนาสูตรองค์ประกอบของไมโครฟิลไลด์สำหรับการขึ้นรูปเป็นแผ่นที่มีคุณสมบัติสามารถนำส่งสารผ่านชั้นผิวหนังได้ อีกทั้งสามารถย่อยสลายได้ในสภาวะที่มีความชื้นที่เหมาะสม โดยองค์ประกอบของสารกลุ่มที่เลือกใช้นี้จะสลายตัวสามารถทดแทนและรักษาความชุ่มชื้นให้กับผิวหนัง อีกทั้งสามารถช่วยเพิ่มการเหนียวแน่นการเพิ่มจำนวนและเชื่อมกันของเซลล์ผิวหนัง และไม่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งจะส่งผลดีต่อการนำไปใช้งาน โดยองค์ประกอบของสารที่ใช้ในการเตรียมแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์ตามงานวิจัยนี้ประกอบด้วย สารก่อกอไอโตรเจล, สารเพิ่มความชุ่มชื้นและก่อกอเจล, สารยึดเกาะโครงสร้าง และสารเพิ่มการละลาย โดยกรรมวิธีการเตรียมแผ่นแปะไมโครฟิลไลด์ และการขึ้นรูปสารละลายผสมดังกล่าวบนแผ่นต้นแบบไมโครฟิลไลด์ (Micropilli pattern) โดยไมโครฟิลไลด์ที่ได้จากสูตรองค์ประกอบ ยังสามารถปรับเปลี่ยนขนาดความยาว ความกว้าง หรือพื้นที่ผิว ซึ่งจะส่งผลต่อเพิ่มความสามารถในการปรับเปลี่ยนการนำส่งสารสำคัญที่ต่างชนิดกัน ในปริมาณที่ต่างกัน เข้าสู่ชั้นผิวหนังของไมโครนีดเดิ้ลได้อย่างเหมาะสม

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

- (1) ผลงานที่เข้าร่วมนำเสนอผลงานทางวิชาการ The International Polymer Conference of Thailand : PCT-6, June 30 - July 1, 2016, Pathumwan Princess Hotel, Bangkok, Thailand

Investigation of key parameters to fabricate biodegradable polymeric for micro-delivered patch

Kunat Suktham¹, Jakrapong Supadech², Amporn Poyai², Nattika Saengkrit¹, Annop Klumchun¹, Jakarwan Yostawonkul¹, Uracha Ruktanonchai¹, Satit Puttipatkhachorn³, and Suvimol Surassmo^{1*}

¹National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency, Pathumtani 12120

²Thai Microelectronics Center, National Electronics and Computer Technology Center, Chachoengsao, Thailand 24000

³Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand 10400
Phone +66 25647100, Fax +66 5646981, *E-Mail: suvimol@nanotec.or.th

Abstract

Microneedle technology is one of devices for improve potential of transdermal delivery system. In this work, the key parameters effect of microneedle fabrication was successfully investigated and characterized to improve microneedle patch for transdermal delivery support. This research has initiated a gentle fabrication method consisting of solution-casting process for preparing micro-delivered patch (MDP) with model hydrophilic compounds of coumarin-6 loaded PLGA and rhodamine 6G-labeled carbopol coated on the micro-delivered tips. Micro-delivered patch patterns were fabricated with single-crystal silicon wafer as starting material and using a series of photolithography, thin-film deposition and reactive ion etching techniques and achieve silicon wafer pattern as mater mold. The parameters of MDP pattern focused on the height (200-550 μm), diameter (100-200 μm) and inter space between tip (100-500 μm). Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV), is a polyhydroxyalkanoate-type and gaining interest natural polymer from bacteria, used as polymer to fabricate micro-delivered patch which showed the biodegradable, biocompatible properties and low toxicity. MDP patterns were investigate polymer concentration from 5-20% (wt) and characterized film structure such as height reduction, tip density of MN. Furthermore, coumarin-6-loaded PLGA nanoparticle (C6-PLGA NP) was represented as a model drug. C6-PLGA NP was prepared by emulsion-solvent evaporation technique using carbopol as binding agent between C6-PLGA NP and patch which exhibited particle size of particle about 190-210 nm and 80% encapsulation efficiency. In this process, the formulation and characterization of an integrated MDP consisted of CP coated coumarin-6-loading PLGA were evaluated. The binding efficiency of CP coated C6-PLGA localized on the surface of micro-delivered array was performed using the fluorescence microscope. These results suggested the adhesive property of CP performed on the surface C6-PLGA NP and induced C6-PLGA coated on tip assay. The designed MDP has capacity for improved drug loading with the surface of tip and may serve as a useful device for transdermal delivery system.

Keywords: Biodegradable polymer, silicon wafer, microneedles, carbopol, PLGA nanoparticles.

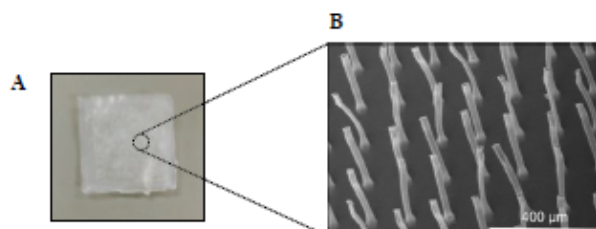


Fig.1 Assembled Micro-delivered patch (A) from Si wafer patterning with insert SEM photograph (B) of PHBV tips array (400 μm height, diameter of 50 μm)

Introduction

In this work, we present the design and fabrication of Si wafer pattern. The key parameters effect of microtube fabrication was successfully investigated and characterized to improve microneedle patch for transdermal delivery support. This research has initiated a gentle fabrication method consisting of solution-casting process for preparing micro-delivered patch (MDP) with model hydrophilic compounds of coumarin-6 loaded poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) and rhodamine 6G-labeled carbopol coated on the micro-delivered tips. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) solution flow through the array of micro-patch delivered were studied for different Si wafer patterns.

Methodology

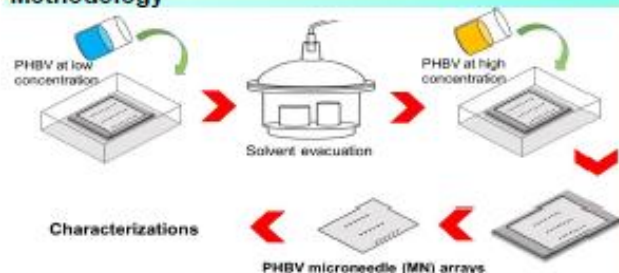
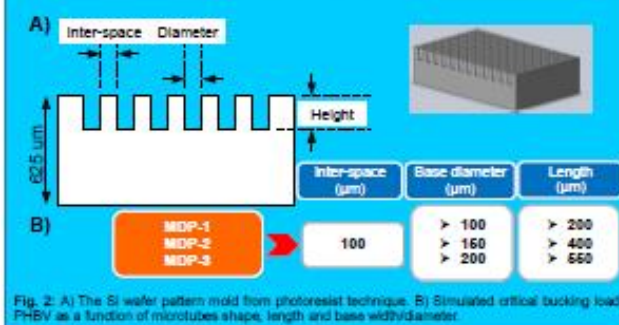


Fig. 1: Schematic diagram represents to the fabrication of MN arrays using evaporation method.



Height reduction analysis

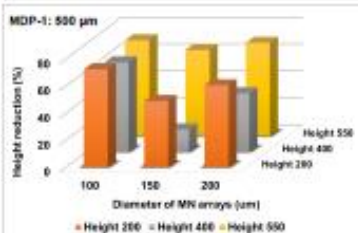
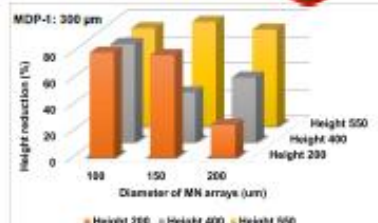
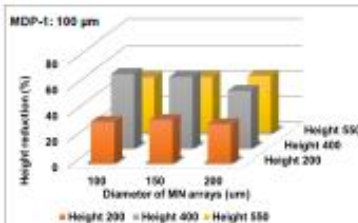


Fig. 4: % Height reduction of MDP-1 arrays at different inter-space (100, 300 and 500 μm)

The effect of MDP factors (height, inter-space and diameter) on the mechanical strength of MDP arrays was assessed using evaporation technique and percent reduction in MDP height as parameter. The array of 200 μm height MDP showed the lowest of height reduction less than 40% upon the inter-space of pattern. Accordingly, 200 μm height of MDP were included for further experiments as it was predicted that their lower mechanical strength would result in pattern fabrication.

Results and Discussion

Imaging of fabricated PHBV-MDP arrays

The micro-delivered patch was characterized for their physical morphology using optical and scanning electron microscope. All MDP pattern were showed in conical shape, with a base diameter of 100, 150 and 200 μm, length of 200, 400 and 550 μm and arranged at an inter-needle spacing of 100 μm.

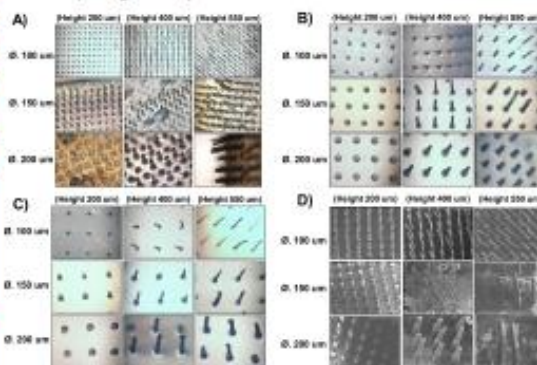


Fig. 3: Images of different MDP arrays fabricated using different MN molds. A) Side view of MDP-1, B) Side view of MDP-2, C) Side view of MDP-3 and D) SEM images of MDP-1 arrays showing top and side views at different heights at a constant base diameter

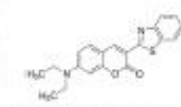


Fig. 5: Chemical structure of coumarin-6

Coating-solution reservoir

The coating-solution reservoir was designed to restrict access of the coating liquid only to the micro-delivered patch to prevent contamination of the base. The coating-solution reservoir consisted of C6-loaded PLGA and C6-loaded PLGA-Rhd-CP nanoparticle.

Table 1: Physicochemical properties of C6-PLGA nanoparticle

Formula code	FP1	FP2	FP3
PLGA (Wt%)	1.0	2.5	5.0
Particle mean size (nm)	191.40	203.83	203.07
Zeta potential (mV)	8.12	8.27	8.21
PDI	0.23	0.29	0.09
Encapsulation efficiency (%)	73.89	74.39	82.67
Mean fluorescent intensity	303.28	330.17	1206.67

The fabrication of C6-loaded PLGA having the nano-size with low PDI. Encapsulation efficiency of coumarin-6 loaded PLGA was higher than 70% and the %EE was depending on the increasing PLGA concentration.

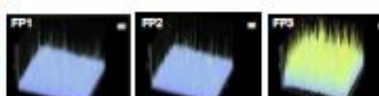


Fig. 6: Fluorescent intensity of coumarin-6 (fluorescent dye) loaded in various concentration of PLGA nanoparticles using confocal laser scanning microscope (CLSM)

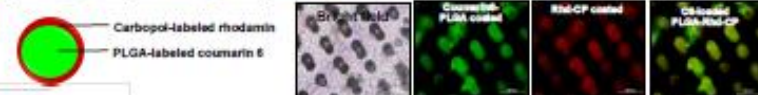


Fig. 7: Fluorescent images of C6-loaded PLGA-CP MDP arrays with inter-space 100 μm, base diameter 100 μm and height 200 μm

Images of C6-loaded PLGA-CP MDP arrays using fluorescence microscope. To capture coumarin-6 and rhodamine image, a red color filter for excitation at 488 nm and a green emission filter at 460 nm were used. Integrated fluorescence intensity for green fluorescence of coumarin-6 in PLGA matrix, red fluorescence of rhodamine-labeled carbopol aqueous shell. It showed successfully coated of C6-loaded PLGA-CP into the surface of MN arrays.

Conclusion

Microneedle patch delivered was prepared and fabricated by varying the influenced factors such as height and diameter of pattern including inter-space between needle. Significantly, the height and interspace of needle pattern have potential to influence the pattern of PHBV arrays. PLGA-CP microneedle patch delivered (MDP), this approach can be enabling direct transcutaneous delivery of broad range of drug into skin permeation. This provide significant information that will support in the study of transdermal delivery using needle-free and drug-loading nanoparticles.

Acknowledgement

This work was financially supported by the Thailand Research Fund (TRF) and National Nanotechnology Center (NANOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA) (Project no. 1561252).

(2) The 16th TRF-OHEC Annual Congress 2017 (TOAC2017) ณ โรงแรม เดอะรี
เจนท์ ชะอำ บีช รีสอร์ท จังหวัดเพชรบุรี

Fabrication and development of C6-loaded PLGA micro-delivered patch with
controlled microstructure for transdermal delivery

Surassmo, S.^{1*}, Supadech, J.², Suktham, K.¹, Saengkrit, N.¹, Klumchun, A.²,
Yostawonkul, J.¹, Puttipipatkachorn, S.³

¹National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency, Pathumtani

²Thai Microelectronics Center, National Electronics and Computer Technology Center, Chachoengsao, Thailand

³Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

The key parameters effect of microneedle fabrication was successfully investigated and characterized to improve microneedle patch for transdermal delivery support. Micro-delivered patch (MDP) were fabricated with single-crystal silicon wafer as starting material and using photolithography and achieve silicon wafer pattern as mater mold. The parameters of MDP pattern focused on height, diameter and inter space between tip. Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) used to fabricate micro-delivered patch. The development MDP were strength enough to inset into porcine skin within 60 min after administration *in vitro*. Coumarin-6-loaded PLGA nanoparticle (C6-PLGA) was represented as model drug. The binding efficiency of CP coated C6-PLGA localized on surface of array was performed using fluorescence microscope. These results suggested adhesive property of CP performed on surface C6-PLGA NP and induced C6-PLGA coated on tip assay. Confocal images of Z-stacks of the full thickness porcine skin treated with C6-PLGA coated MDP. Significantly, height and interspace of needle pattern have potential to influence the pattern of PHBV arrays. PLGA-CP microneedle patch delivered (MPD), this approach can be enabling direct transcutaneous delivery of broad range of drug into skin permeation. This provide significant information that will support in the study of transdermal delivery using needle-free and drug-loading nanoparticles.

Keywords: Transdermal delivery, photolithography, microneedles, skin permeation, PLGA nanoparticles

*Corresponding author.

Tel.:0-2564-7100; Fax: 0-2564-6981

E-mail: suvimol@nanotec.or.th

Fabrication and development of C6-loaded PLGA micro-delivered patch with controlled microstructure for transdermal delivery

Surassmo, S.^{1*}, Supadech, J.², Suktham, K.¹, Klumchun, A.¹, Saengkrit, N.¹, Yostawonkul, J.¹, Puttipipatkachorn, S.³

¹National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency, Pathumthani

²Thai Microelectronics Center, National Electronics and Computer Technology Center, Chachoengsao, Thailand

³Department of Manufacturing Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok, Thailand

*Corresponding author: suvimol@nanotec.or.th

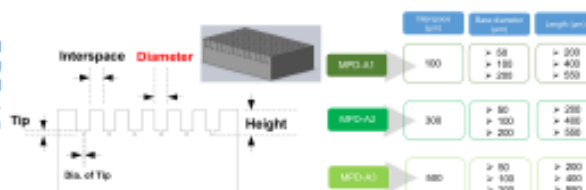
Introduction

Micro-delivered patches (MDP) is one of transdermal delivery system (TDD) which composed of soluble macromolecule polymer have gained improved attention. Usually, a major limitation of pure inorganic (metal or silicon) microneedles are the risk associated with breakage [1]. In addition, most of these polymeric microneedles have challenges in terms of mechanical strength and stability. Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) is a copolymer of polyhydroxybutyrate (PHB) and polyhydroxyvalerate (PHV), and has been used for preparing micro-delivered patch for drug release purposes due to its good biocompatibility and tailorable degradability [2]. Micro-delivered patch was prepared and fabricated by varying the influenced factors such as height and diameter of pattern including interspace between needle. Significantly, the height and interspace of needle pattern have potential to influence the pattern of PHBV arrays. C6-PLGA micro-delivered patch, this approach can be enabling direct transcutaneous delivery of broad range of drug into skin permeation. This provide significant information that will support in the study of transdermal delivery using needle-free and drug-loading nanoparticles.

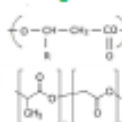
Materials and methods

I. Key parameter of fabrication

Micro-delivered patch (MDP) were fabricated with single-crystal silicon wafer as starting material and using photolithography and achieve silicon wafer pattern as mater mold. The parameters of MDP pattern focused on height, diameter and interspace between tip.



II. Biodegradable polymer



➤ Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV) used to fabricate micro-delivered patch

➤ Coumarin-6-loaded PLGA nanoparticle (C6-PLGA) was fabricated by emulsion-solvent evaporation method which represented as model drug. The binding efficiency of carbopol (CP) coated C6-PLGA localized on surface of array was performed using fluorescence microscope.

III. Characterization of C6-PLGA and *in vitro* skin penetration



Results and discussion

I. Mechanical properties and key parameters of PHBV pattern

The effect of MDP factors (height, interspace and diameter) on the mechanical strength of MDP arrays was assessed using evaporation technique and percent reduction in MDP height as parameter. In the failure strength test, pressing the microneedle array against an aluminum block at the speed of 0.1 mm/s is shown in Fig. 1 The array of 200 µm height MDP showed the lowest of height reduction less than 40% upon the interspace of pattern. Accordingly, 200 µm height of MDP were included for further experiments as it was predicted that their lower mechanical strength would result in pattern fabrication.

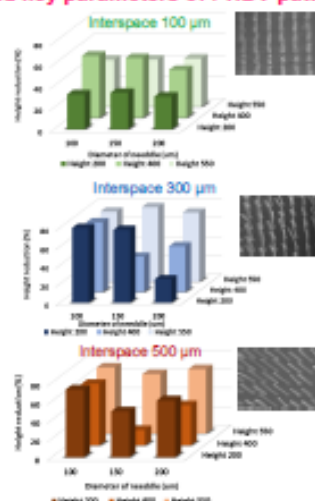


Fig. 1: % Height reduction of MDP arrays at different interspace

Conclusions

This study demonstrated that the use of PHBV micro-delivered patch to achieve efficient delivery into skin. Confocal images of Z-stacks of the full thickness porcine skin treated with C6-PLGA coated MDP. Significantly, height and interspace of needle pattern have potential to influence the pattern of PHBV arrays. PLGA-CP microneedle patch delivered (MPO), this approach can be enabling direct transcutaneous delivery of broad range of drug into skin permeation. This provide significant information that will support in the study of transdermal delivery using needle-free and drug-loading nanoparticles.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Thailand Research Fund (TRF-TRG5880191) and National Nanotechnology Center (NANOTEC), (P1551252).

References

- [1] R. Vecchiarelli, et al. Adv. Funct. Mater. 24 (2014) 3515–3523.
- [2] D.B. Hazer, et al. Mater. Sci. Eng.: C 32 (2012) 637–647

II. Characterization of C6-PLGA nanoparticles

The fabrication of C6-loaded PLGA having the nanosize with low PDI. Encapsulation efficiency of coumarin-6 loaded PLGA was higher than 70% and the %EE was depending on the increasing PLGA concentration.

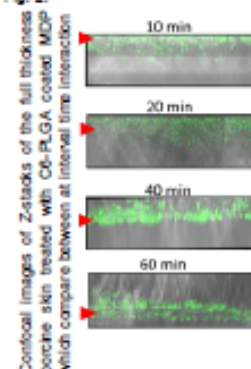
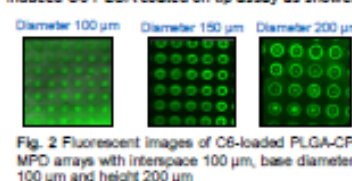
Table 1: Physicochemical properties of C6-PLGA nanoparticle

Formula code	FP1	FP2	FP3
PLGA (%w/w)	1.0	2.5	5.0
Particle mean size (nm)	191.40	203.63	203.07
Zeta potential (mV)	8.12	6.27	5.21
PDI	0.23	0.29	0.08
Encapsulation efficiency (%)	73.69	74.39	82.67
Mean fluorescent intensity	303.28	330.17	1206.67



III. Characterization of C6-PLGA and *in vitro* skin penetration

These results suggested adhesive property of CP performed on surface C6-PLGA NP and induced C6-PLGA coated on tip array as showed in Fig. 2.



- (3) สิทธิบัตรการประดิษฐ์ 1 ฉบับ เรื่อง “องค์ประกอบของไมโครฟิลไลด์สำหรับการขึ้นรูปเป็นแผ่นเพื่อการนำส่งสารทางผิวหนังและกรรมวิธีการเตรียมแผ่นไมโครฟิลไลด์ดังกล่าว” เลขที่คำขอ 1701000126 วันที่ยื่นคำขอ 10 ม.ค. 2560
- (4) สิทธิบัตรการออกแบบ 2 ฉบับ
- 4.1 เรื่อง “แผ่นแปะไมโครฟิลไลด์สำหรับนำส่งสารทางผิวหนัง” เลขที่คำขอ 1701000095 วันที่ยื่นคำขอ 10 ม.ค. 2560
- 4.2 เรื่อง “แม่พิมพ์เข็มขนาดไมโครเมตร” เลขที่คำขอ 1702002845 วันที่ยื่นคำขอ 27/07/2560
- (5) ร่างเอกสารวิชาการ 1 ฉบับ “Functional Topical Delivery of Dissolving Micro-delivery Patch Design for Wound Healing Therapy”

ภาคผนวก



คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

- ☒ การประดิษฐ์
☐ การออกแบบผลิตภัณฑ์
☐ อนุสิทธิบัตร

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

สำหรับเจ้าหน้าที่

วันรับคำขอ 10 มิ.ย. 2560

วันยื่นคำขอ 10 มิ.ย. 2560

เลขที่คำขอ

1701000126

สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ

ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์

ประเภทผลิตภัณฑ์

วันประกาศโฆษณา

เลขที่ประกาศโฆษณา

วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่

1. ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์

องค์ประกอบของไมโครฟิล์มสำหรับการขึ้นรูปเป็นแผ่นเพื่อการนำส่งสารทางผิวหนังและกรรมวิธีการเตรียมแผ่นไมโครฟิล์มดังกล่าว

2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอฉบับเดียว
 ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)
 สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยาน
 วิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง

3.1 สัญชาติ ไทย

3.2 โทรศัพท์ 02-564 7000 ต่อ 1314 - 1350

3.3 โทรสาร 02 564 7003

จ.ปทุมธานี 12120 และอยู่หน้า จมูกกระหวาง พ.ศ. ๒๕๕๗ ว่าด้วยอัตราค่าธรรมเนียมการยกเว้นค่าธรรมเนียม

4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร หรือสิทธิบัตร และประกาศคณะกรรมการสิทธิบัตร

- ☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☒ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น

5. ตัวแทน (ถ้ามี) ที่อยู่ (เลขที่ ถนน จังหวัด รหัสไปรษณีย์)

5.1 ตัวแทนเลขที่ 1463,2180

นางสาว อรุณศรี ศรีระนงอิทธิพล และ/หรือ นาง รัชดา เรืองสิน อยู่ที่ สำนักงานพัฒนา
 วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

5.2 โทรศัพท์ 02 5647000

111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง

5.3 โทรสาร 025647003

จ.ปทุมธานี 12120

5.4 อีเมลล์ ipm@nstda.or.th

6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)

อยู่ที่หน้า 3

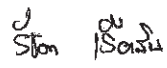
7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม

ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร

เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ

- ☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม่าจะบรรยายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียด
 เพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

8. การยื่นคำขออนุญาตนำเข้า				
วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการ ประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				
8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย ☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้				
9. การแสดงการประดิษฐ์ หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด วันแสดง วันเปิดงานแสดง ผู้จัด				
10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ				
10.1 เลขทะเบียน		10.2 วันที่ฝากเก็บ		สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ
11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้จัดทำ เป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอเป็นภาษา ☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่นๆ				
12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียนและประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ เดือน พ.ศ. ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ระบุเขียนหมายเลข ในประกาศโฆษณา				
13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย ก. แบบพิมพ์คำขอ 3 หน้า ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 17 หน้า ค. ขໍอณัติสิทธิ 5 หน้า ง. รูปเขียน รูป 6 หน้า จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์ ☐ รูปเขียน - รูป - หน้า ☐ ภาพถ่าย - รูป - หน้า ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ 1 หน้า			14. เอกสารประกอบคำขอ ☐ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบ ผลิตภัณฑ์ ☐ หนังสือมอบอำนาจ ☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ ☐ เอกสารการขอรับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่น คำขอในประเทศไทย ☐ เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ ☒ เอกสารอื่น ๆ เอกสารประกอบการยื่นคำขอรับสิทธิบัตร	
15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ☒ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน ☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก				
16. ลายมือชื่อ (☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร; ☒ ตัวแทน)  (นาง รัชดา เรืองสิน) ตัวแทนผู้รับมอบอำนาจ				

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่
เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ชั้น 14 อาคาร เอส เอ็ม ทาวเวอร์ เลขที่ 979/17-21 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน เขตพญาไท กรุงเทพมหานคร 10400

6. ผู้ประดิษฐ์

1. นางสาว สุวิมล สุรัสโม

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

2. นาง ญักฐิภา แสงกฤษ

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

3. นาย อรรถณพ คล้าสิน

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

4. นาย คุณัช สุขธรรม

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

5. นาย จักรวาฬ ยศถาวรกุล

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

6. นาย จักรพงศ์ ศุภเดช

112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

7. นาย วุฒินันท์ เขียมศักดิ์ศิริ

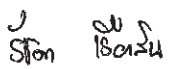
112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

8. นาย วิศรุต ศรีฟูมไซ

112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

 คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ การประดิษฐ์ ☒ การออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ อนุสิทธิบัตร ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542	สำหรับเจ้าหน้าที่	
	วันรับคำขอ 10 ส.ค. 2560	เลขที่คำขอ
	วันยื่นคำขอ 10 ส.ค. 2560	1702000095
	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
	ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์	
ประเภทผลิตภัณฑ์		
วันประกาศโฆษณา		เลขที่ประกาศโฆษณา
วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร		เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่		
1. ชื่อที่แสดงถึงคุณประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ แผ่นแปะไมโครฟิล์มสำหรับนำส่งสารทางผิวหนัง		
2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างใดอย่างหนึ่งและเป็นคำขอลำดับที่ ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน		
3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน แขวง เขต) กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 1 อุทยาน วิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 และอยู่หน้า 3 กรมการกระทรวงพ.ศ. ๒๕๕๗ ๖๖ ด้วยอำนาจคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร		
3.2 โทรศัพท์ 02-564-7000 ต่อ 1314 - 1350 3.3 โทรสาร 02 564 7003		
4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร และประเภทของสิทธิบัตร ☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☒ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น		
5. ตัวแทน (ถ้ามี) ที่อยู่ (เลขที่ ถนน จังหวัด รหัสไปรษณีย์) นางสาว อรุณศรี ศรีธนะสิทธิ์พล และ/หรือ นาง รัชดา เรืองสิน อยู่ที่ สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120		
5.1 ตัวแทนเลขที่ 1463,2180 5.2 โทรศัพท์ 02 5647000 5.3 โทรสาร 025647003 5.4 อีเมลล์ ipm@nstda.or.th		
6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ) อยู่หน้า 3		
7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ ☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ		

หมายเหตุ: ในกรณีที่ไมอาจระบุรายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียดเพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

8. การยื่นคำขออนุญาตออกนอกราชอาณาจักร				
วันยื่นคำขอ	เลขที่คำขอ	ประเทศ	สัญลักษณ์จำแนกการ ประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	สถานะคำขอ
8.1				
8.2				
8.3				
8.4 ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอสิทธิให้ถือว่าได้ยื่นคำขอนี้ในวันที่ได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรในต่างประเทศเป็นครั้งแรกโดย ☐ ได้ยื่นเอกสารหลักฐานพร้อมคำขอนี้ ☐ ขอยื่นเอกสารหลักฐานหลังจากวันยื่นคำขอนี้				
9. การแสดงการประดิษฐ์ หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรได้แสดงการประดิษฐ์ที่หน่วยงานของรัฐเป็นผู้จัด วันแสดง วันเปิดงานแสดง ผู้จัด				
10. การประดิษฐ์เกี่ยวกับจุลชีพ				
10.1 เลขทะเบียน		10.2 วันที่ฝากเก็บ		สถาบันฝากเก็บ/ประเทศ
11. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอยื่นเอกสารภาษาต่างประเทศก่อนในวันยื่นคำขอนี้ และจะจัดยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้จัดทำ เป็นภาษาไทยภายใน 90 วัน นับจากวันยื่นคำขอนี้ โดยขอเป็นภาษา ☐ อังกฤษ ☐ ฝรั่งเศส ☐ เยอรมัน ☐ ญี่ปุ่น ☐ อื่น ๆ				
12. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้อธิบดีประกาศโฆษณาคำขอรับสิทธิบัตร หรือรับจดทะเบียนและประกาศโฆษณาอนุสิทธิบัตรนี้ หลังจากวันที่ เดือน พ.ศ. ☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรขอให้ระบุเขียนหมายเลข ในประกาศโฆษณา				
13. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ประกอบด้วย ก. แบบพิมพ์คำขอ 3 หน้า ข. รายละเอียดการประดิษฐ์ หรือคำพรรณนาแบบผลิตภัณฑ์ 1 หน้า ค. ข้อถ้อยสิทธิ 1 หน้า ง. รูปเขียน รูป หน้า จ. ภาพแสดงแบบผลิตภัณฑ์ ☐ รูปเขียน 7 รูป 3 หน้า ☐ ภาพถ่าย - รูป - หน้า ฉ. บทสรุปการประดิษฐ์ หน้า			14. เอกสารประกอบคำขอ ☐ เอกสารแสดงสิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ หนังสือรับรองการแสดงการประดิษฐ์/การออกแบบ ผลิตภัณฑ์ ☐ หนังสือมอบอำนาจ ☐ เอกสารรายละเอียดเกี่ยวกับจุลชีพ ☐ เอกสารการขอรับวันยื่นคำขอในต่างประเทศเป็นวันยื่น คำขอในประเทศไทย ☐ เอกสารขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ ☒ เอกสารอื่น ๆ เอกสารประกอบการยื่นคำขอรับสิทธิบัตร	
15. ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ☒ การประดิษฐ์นี้ไม่เคยยื่นขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรมาก่อน ☐ การประดิษฐ์นี้ได้พัฒนาปรับปรุงมาจาก				
16. ลายมือชื่อ (☐ ผู้ขอรับสิทธิบัตร / อนุสิทธิบัตร; ☒ ตัวแทน)  (นาง รัชดา เรืองสิน) ตัวแทนผู้รับมอบอำนาจ				

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่
เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ

3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ)

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ชั้น 14 อาคาร เอส เอ็ม ทาวเวอร์ เลขที่ 979/17-21 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน เขตพญาไท กรุงเทพมหานคร 10400

6. ผู้ประดิษฐ์

1. นางสาว สุวิมล สุรัสโม

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

2. นาย อรรถพล คล้าชื่น

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

3. นาย คุณัช สุขธรรม

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

4. นาง ญักฎิกา แสงกฤษ

111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

5. นาย จักรพงศ์ สุขเดช

112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

6. นาย วิศรุต ศรีฟูมไ้

112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

7. นาย วุฒินันท์ เจียมศักดิ์ศิริ

112 ศูนย์เทคโนโลยีอิเล็กทรอนิกส์และคอมพิวเตอร์แห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

 คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ การประดิษฐ์ ☒ การออกแบบผลิตภัณฑ์ ☐ อนุสิทธิบัตร ข้าพเจ้าผู้ลงลายมือชื่อในคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ตามพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2535 และพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542	สำหรับเจ้าหน้าที่	
	วันรับคำขอ 27 ก.ค. 2560	เลขที่คำขอ
	วันยื่นคำขอ 27 ก.ค. 2560	1702002845
	สัญลักษณ์จำแนกการประดิษฐ์ระหว่างประเทศ	
	ใช้กับแบบผลิตภัณฑ์	
	ประเภทผลิตภัณฑ์	
	วันประกาศโฆษณา	เลขที่ประกาศโฆษณา
	วันออกสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร	เลขที่สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร
	ลายมือชื่อเจ้าหน้าที่	
1. ชื่อที่แสดงถึงสาระประดิษฐ์/การออกแบบผลิตภัณฑ์ แม่พิมพ์เข็มขนาดไมโครเมตร		
2. คำขอรับสิทธิบัตรการออกแบบผลิตภัณฑ์นี้เป็นคำขอสำหรับแบบผลิตภัณฑ์อย่างเดียวกันและเป็นคำขอลำดับที่ ในจำนวน คำขอ ที่ยื่นในคราวเดียวกัน		
3. ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ อยู่ถึ 111 อุทยาน วิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120 และ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย อยู่ถึ 111 อาคาร เอส เอ็ม ทาวเวอร์ เลขที่ 979/17-21 ถนนพหลโยธิน แขวงสามเสนใน เขต พญาไท กรุงเทพมหานคร 10400	3.1 สัญชาติ ไทย	3.2 โทรศัพท์ 02-564-7000 ต่อ 1314 - 1350
	3.3 โทรสาร 02-564-7003	3.4 อีเมล
4. สิทธิในการขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ☐ ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบ ☒ ผู้รับโอน ☐ ผู้ขอรับสิทธิโดยเหตุอื่น		
5. ตัวแทน (ถ้ามี) ที่อยู่ (เลขที่ ถนน จังหวัด รหัสไปรษณีย์) นางสาวอรุณศรี ศรีชนะอิทธิพล และ/หรือ นางรัชดา เรืองสิน อยู่ถึ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120	5.1 ตัวแทนเลขที่ 1463, 2180	5.2 โทรศัพท์ 02 564 7000
	5.3 โทรสาร 02 564 7003	5.4 อีเมล ipm@nstda.or.th
6. ผู้ประดิษฐ์/ผู้ออกแบบผลิตภัณฑ์ และที่อยู่ (เลขที่ ถนน ประเทศ) 1.นางสาวสุวิมล สุรัสโม 2.นายอรณพ คล้าชิน 3.นายจักรพงศ์ สุกเดช 4.นายวณันท์ เจียมศักดิ์ศิริ 5.นายวิศรุต ศรีพุ่มไช้ 6.นายคุณัช สุขธรรม 7.นางณัฏฐิกา แสงกฤษ อยู่ถึ 111 ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี 12120		
7. คำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิม ผู้ขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร ขอให้ถือว่าได้ยื่นคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้ ในวันเดียวกับคำขอรับสิทธิบัตร เลขที่ วันยื่น เพราะคำขอรับสิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตรนี้แยกจากหรือเกี่ยวข้องกับคำขอเดิมเพราะ ☐ คำขอเดิมมีการประดิษฐ์หลายอย่าง ☐ ถูกคัดค้านเนื่องจากผู้ขอไม่มีสิทธิ ☐ ขอเปลี่ยนแปลงประเภทของสิทธิ		

หมายเหตุ ในกรณีที่ไม้อาจจะบรรยายละเอียดได้ครบถ้วน ให้จัดทำเป็นเอกสารแนบท้ายแบบพิมพ์นี้โดยระบุหมายเลขกำกับข้อและหัวข้อที่แสดงรายละเอียด
 เพิ่มเติมดังกล่าวด้วย

หมายเหตุ บุคคลใดยื่นขอรับสิทธิบัตรการประดิษฐ์หรือการออกแบบผลิตภัณฑ์ หรืออนุสิทธิบัตร โดยการแสดงข้อความอันเป็นเท็จแก่พนักงานเจ้าหน้าที่ เพื่อให้ได้ไปซึ่งสิทธิหรืออนุสิทธิบัตร ต้องระวางโทษจำคุกไม่เกินหกเดือน หรือปรับไม่เกินห้าพันบาท หรือทั้งจำทั้งปรับ