(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2002 年10 月10 日 (10.10.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/078689 A1

(51) 国際特許分類[7]: A61K 31/22, 31/231, 31/232, A61P 19/08, 19/10, A23L 1/30

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/03187

(22) 国際出願日: 2002 年3 月29 日 (29.03.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-101821 2001 年3 月30 日 (30.03.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日清製油株式会社 (THE NISSHIN OIL MILLS,LTD.) [JP/JP]; 〒104-0033 東京都 中央区新川 1 丁目 23 番 1 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 篠原 剛 (SHINOHARA,Go) [JP/JP]; 〒239-0832 神奈川県 横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内 Kanagawa (JP). 土屋 欣也 (TSUCHIYA,Kin-ya) [JP/JP]; 〒239-0832 神奈川県 横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内 Kanagawa (JP). 山内 勝昭 (YAMANOUCHI,Katsuaki) [JP/JP]; 〒239-0832 神奈川県 横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内 Kanagawa (JP). 乾 利之 (INUI,Toshiyuki) [JP/JP]; 〒239-0832 神奈川県 横須賀市神明町 1 番地 日清製油株式会社 研究所内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 中村 稔, 外(NAKAMURA,Minoru et al.); 〒100-8355 東京都 千代田区 丸の内 3 丁目 3 番 1 号 新東京ビル Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

２文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) **Title:** BONE METABOLISM IMPROVING AGENTS

(54) 発明の名称: 骨代謝改善剤

(57) **Abstract:** Bone metabolism improving agents containing one or more members selected from chain isoprenoid fatty acid esters wherein the bone metabolism improving effects thereof are preferably based on inhibition of bone resorption and/or promotion of osteogenesis.

(57) 要約:

本発明は、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類から選ばれる１種または２種以上を含有する骨代謝改善剤に関し、好ましくは、その改善効果が骨吸収抑制作用および／または骨形成促進作用によるものである骨代謝改善剤に関する。

WO 02/078689 A1

明細書

骨代謝改善剤

発明の背景

本発明は、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分とし、骨代謝改善効果、並びに吸収性、安全性、価格面において優れた骨代謝改善剤及び骨代謝改善用飲食物に関する。

近年、医学等の進歩により平均寿命が延び続けているが、これに伴う高齢化社会においては、老年期を如何に充実させて過ごすか（クォリティー・オブ・ライフ）が非常に重要な課題となっている。これには心身が健康であることが重要であり、そしてそのためには、如何に老化の進行を食い止めるかが最大の問題点となっている。この様な視点から、さまざまな老化現象が議論されてきており、中でも代表的な老人性疾患としての骨粗鬆症が問題視されてきている。骨粗鬆症とは、骨がもろくなり骨折を起こしやすくなる全身性の疾患で、大腿骨頚部骨折や脊椎の圧迫骨折などを引き起こして苦痛を伴うことに加え、これらの骨折が原因で寝たきり状態に陥ってしまう等、社会的な問題点も多い疾患である。

正常な状態においては、骨は常にリモデリングを繰り返しており、骨代謝の平衡を維持している。すなわち、生命活動に必要なカルシウムを骨から血液中に動員するために破骨細胞が石灰化した組織を破壊吸収する（骨吸収）系と、骨強度維持に必要なコラーゲンやカルシウムを骨芽細胞や骨細胞が骨基質として骨に沈着させる（骨形成）系とが上手くバランスを保つことで、骨は、その量が変動することなく、１２０～１５０日の周期で新しい骨に生まれ変わっている。ところが、このような骨代謝に異常が起り、すなわち骨吸収が骨形成を上回ってしまい、骨量が減少して骨の脆弱化が起ってしまう状態が骨粗鬆症である。特に女性の

閉経後は、骨吸収抑制作用および骨形成促進作用を有する女性ホルモン（エストロゲン）が急激に減少してしまうため、骨代謝異常が起り易く、骨吸収と骨形成のバランスが崩れて骨粗鬆症を発症しやすい。事実、４５才以上の女性の３人に１人は既に骨粗鬆症を発症あるいは骨量の大幅な減少が認められている。従って、このような骨代謝異常を改善する効果を有する素材は、骨粗鬆症等の骨に関する疾患の予防薬や治療薬として期待できる。

初期の骨代謝改善や骨粗鬆症の予防という観点では、食事による十分なカルシウム、ビタミンDおよびビタミンKの摂取が推奨されている。しかしこれらの栄養素を効率よく摂取するためには食生活に気を配る必要があり、現状では、危機感を持っている人が実行しているに過ぎない。またこれらの栄養素は、錠剤やサプリメント等の健康食品としても供給されているが、吸収性、安定性、価格等の問題が解決されていないのが現状である。この様な状況から、吸収性が良く、安全で、安価に提供されうる、骨代謝改善や骨粗鬆症予防効果を持つ素材の開発が望まれている。

これまでのところ、骨粗鬆症に対する治療においては、エストロゲン、カルシトニン、イプリフラボン、活性型ビタミン D3、ビスフォスフォネート、ビタミン K2等が開発されてきた。しかしながら、エストロゲンの投与では生理様出血（見せかけの生理）や乳房膨張等の不快感を生じたり乳がん等の発症頻度を増加させる、カルシトニンはペプチドなので注射による投与しか出来ない、イプリフラボンの投与では胃腸障害を誘発する、活性型ビタミン D3は過剰に投与すると高カルシウム血症を誘発し尿路結石や消化器障害を引き起こす、ビスフォスフォネートの投与では骨形成をも阻害してしまう、ビタミン K2は血液凝固作用をも有することから投与する患者に制限がある、等それぞれに問題点や副作用がある。また、いずれにしても薬剤としての有効性と簡便性あるいは価格との釣り合いが十分とは言えず、この様な観点に基づいた新規な薬剤及び飲食物の開発に注目

が集まっている。

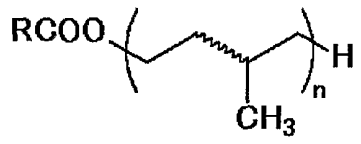
発明の開示

本発明は、骨代謝改善効果、並びに吸収性、安全性、価格面において優れた骨代謝改善剤を提供することを課題とし、さらには、経口および非経口何れにおいても使用できる骨代謝改善剤並びに骨代謝改善用飲食物を提供することを課題とする。

本発明者らは、前記課題を達成するために、鋭意研究した結果、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類が、抗骨粗鬆症薬剤であるビタミン K2と同等以上の優れた骨代謝改善効果を有することを見出し、かつ、より吸収性および安全性が高く、安価に入手できることを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、下記一般式（I）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善剤に関し、好ましくは、その効果が骨吸収抑制作用および／または骨形成促進作用によるものである骨代謝改善剤に関する。

（I）



（式中、Rは任意の炭化水素系官能基を意味し、波線部は一重結合または二重結合を意味し、nは1～14から選ばれるいずれか一つの整数を意味し、nが2以上のとき波線部は同一でも異なっていてもよい。）

ここで、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成する脂肪酸としては、炭素数が2～30の範囲にあるものであれば特に制限はされない。炭素数が8～22の範囲の脂肪酸が好ましく、炭素数14～22の範囲の脂肪酸がより好ましい

。このような脂肪酸としては、例えば、直鎖飽和脂肪酸、直鎖不飽和脂肪酸、分岐脂肪酸、ヒドロキシ脂肪酸、エポキシ脂肪酸、ケト脂肪酸、環状脂肪酸等が挙げられる。天然での存在量や骨代謝改善効果の面からは直鎖脂肪酸が好ましく、その中でも特にｎ－６系不飽和脂肪酸、ｎ－３系不飽和脂肪酸、共役脂肪酸等の直鎖不飽和脂肪酸が好ましい。ｎ－６系不飽和脂肪酸としてはリノール酸、α－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸が好ましく、ｎ－３系不飽和脂肪酸としてはα－リノレン、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸が好ましく、共役脂肪酸としては共役リノール酸、α－エレオステアリン酸が好ましい。

さらに骨代謝改善効果の面からは、一般式（Ｉ）において、ｎ＝２～４である鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨代謝改善剤が好ましく、ｎ＝４である鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨代謝改善剤が好ましく、特には、ゲラニルゲラニル脂肪酸エステル、フィチル脂肪酸エステル及びジヒドロフィチル脂肪酸エステルからなる群から選ばれる鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨代謝改善剤が好ましい。この際の脂肪酸に関しては上述の通りである。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨吸収抑制剤に関する。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨形成促進剤に関する。

また本発明は、該骨代謝改善剤の使用方法に関し、薬剤としての治療的な使用方法の他、経口投与による日常的な使用方法、経皮吸収による日常的な使用方法に関する。従って本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善用皮膚外用剤に関する。

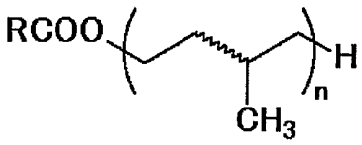
また本発明の骨代謝改善剤は、骨代謝異常が関与する疾患の予防および／または治療に有効であるが、特に骨粗鬆症の予防および／または治療を目的として用いることが好ましい。従って本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨粗鬆症の予防剤又は治療剤に関する。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善用飲食物に関する。

発明を実施するための最良の形態

本発明は、下記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善剤に関し、好ましくは、その改善効果が骨吸収抑制作用および／または骨形成促進作用によるものである骨代謝改善剤に関する。

（Ｉ）



（式中、－ＯＯＣＲは誘導可能なエステル基を意味し、例えば、鎖状イソプレノイドアルコールと各種脂肪酸から誘導可能なエステルを意味し、Ｒは任意の炭化水素系官能基を意味し、波線部は一重結合または二重結合を意味し、ｎは１～１４から選ばれるいずれか一つの整数を意味し、ｎが２以上のとき波線部は同一でも異なっていてもよい。）

一般式（Ｉ）において、Ｒは、炭素数が２～３０の範囲にある脂肪酸から誘導される炭化水素系官能基であれば特に制限はない。特に、炭素数が８～２２の範囲の脂肪酸から誘導される官能基が好ましく、炭素数１４～２２の範囲の脂肪酸

から誘導される官能基がより好ましい。例えば、酢酸、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ウンデカン酸、ラウリン酸、トリデカン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、マルガリン酸、ステアリン酸、ノナデカン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸、セロチン酸、モンタン酸、メリシン酸等の直鎖飽和脂肪酸、トウハク酸、リンデル酸、ツズ酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、シスバクセン酸、ペトロセリン酸、ガドレイン酸、エイコセン酸、エルカ酸、セトレン酸、ネルボン酸、キシメン酸、ラメクエン酸等の一価不飽和脂肪酸、α－リノレン酸、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等のｎ－３系不飽和脂肪酸、リノール酸、リノエライジン酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸等のｎ－６系不飽和脂肪酸、共役リノール酸、α－エレオステアリン酸等の共役脂肪酸、ピレノン酸、シアドン酸、ジュニペロン酸、コロンビン酸等の５位に二重結合を持つ脂肪酸、ヒラゴン酸、モロクチン酸、クルパノドン酸、ニシン酸等の上記以外の多価不飽和脂肪酸等の直鎖不飽和脂肪酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、イソ酸、アンチイソ酸等の分岐脂肪酸、α－ヒドロキシ酸、β－ヒドロキシ酸、ミコール酸、ポリヒドロキシ酸等のヒドロキシ脂肪酸、エポキシ脂肪酸、ケト脂肪酸、環状脂肪酸から選ばれる１種を示す。天然での存在量や骨代謝改善効果の面からは、直鎖脂肪酸が好ましく、特にｎ－６系不飽和脂肪酸、ｎ－３系不飽和脂肪酸、共役脂肪酸等の直鎖不飽和脂肪酸が好ましい。ｎ－６系不飽和脂肪酸としてはリノール酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸が好ましく、ｎ－３系不飽和脂肪酸としてはα－リノレン、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸が好ましく、共役脂肪酸としては共役リノール酸、α－エレオステアリン酸が好ましい。

さらに骨代謝改善効果の面からは、一般式（Ｉ）において、ｎ＝２～４である

鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨代謝改善剤が好ましく、ｎ＝４である鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類含有する骨代謝改善剤が好ましく、さらには、ゲラニルゲラニル脂肪酸エステル、フィチル脂肪酸エステル及びジヒドロフィチル脂肪酸エステルからなる群から選ばれる鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨代謝改善剤が好ましい。この際の脂肪酸に関しては上述の通りである。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨吸収抑制剤に関する。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨形成促進剤に関する。

上記、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類は、天然から得られるもの、人工的に得られるもの等、特にその由来に制限は無いが、天然には植物に比較的多く存在するので植物由来のものが好ましく、また、人工的に得るのであれば、化学合成による方法、酵素反応による方法、微生物等に産生させる方法等が挙げられ、特に酵素反応により得る方法が簡便で好ましい。

本発明の骨代謝改善剤は、骨代謝異常が関与する疾患の予防および／または治療に有効であるが、特に骨粗鬆症の予防および／または治療を目的として用いることが好ましい。従って本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨粗鬆症の予防剤又は治療剤に関する。

また本発明は、該骨代謝改善剤の使用方法に関し、薬剤としての治療的な使用方法の他、経口投与による日常的な使用方法、経皮吸収による日常的な使用方法に関する。

本発明はまた、上記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善用飲食物に関する。

本発明は一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル（以下、「イソプレノイドエステル」と称する）類を含有する骨代謝改善剤に関する。ここで、骨代謝改善剤とは、骨代謝改善を目的としているものであり、特には、末端で使用される薬剤としての骨代謝改善剤、および、医薬品、飲食料、飼料、化粧料等に配合されうる一成分としての骨代謝改善剤の双方を指す。その明確な区別を具体的には出来ないが、概して、前者は綿密な管理の元に配合された、成分組成の定まっているものを中心とし、後者は粗精製物等の成分組成が全て明らかにはなっていないものをも含むものである。

飲食物としては、菓子、加工食品、調合油脂類、油脂加工品、乳製品、飲料等の各種飲食物が挙げられる。本発明の飲食物の形状・性状は特に制限されず、固体状、半固体状、ゲル状、液体状、粉末状等何れでもよい。

本発明は一般式（Ｉ）で表されるイソプレノイドエステル類を含有する骨代謝改善剤、骨吸収抑制剤、骨形成促進剤、骨粗鬆症の予防剤又は治療剤及び骨代謝改善用飲食物に関する。ここで、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステルとは、構造的には、鎖状イソプレノイドアルコールと脂肪酸から、脱水縮合の結果生じる構造を有するものを示す。鎖状イソプレノイドアルコールとは、一般に、炭素数５個のイソプレン単位が複数個結合した鎖状構造を有し、かつ、水酸基を有するのものを示す。また、エステル体とは、鎖状イソプレノイドアルコール類の水酸基と脂肪酸類のカルボキシル基から形成可能なものを示す。

本発明は、骨代謝改善剤に関するものである。ここで、骨代謝改善効果とは、破骨細胞による骨吸収系と、骨芽細胞による骨形成系とのバランスが崩れた状態を改善し、骨代謝の平衡を保つ効果を示す。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類は、骨吸収抑制作用を有する。骨吸収とは、血中カルシウム濃度が低下した場合等に骨からカルシウムを供給するための、破骨細胞による骨溶解様作用である。したがって本発

明の骨代謝改善剤は、直接的には骨吸収を営む破骨細胞の形成を抑制することで、また間接的には破骨細胞の活性を抑制することで、骨吸収抑制作用を発現することができる。通常の骨リモデリングでは、骨吸収量は骨形成量とほぼ等しいが、骨粗鬆症等における骨量減少状態では、骨吸収の上昇に伴う骨形成の促進、あるいは骨形成の低下に伴う骨吸収の抑制が起こらず、アンバランスが生じている。この様な場合に対して本発明の骨代謝改善剤は、その骨吸収抑制作用により、過剰な骨吸収を抑制し、骨吸収と骨形成の代謝バランスが崩れた状態を改善するものである。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類において、上記骨吸収抑制作用は、特に鎖状イソプレノイド側鎖によるものである。これは、例えば、ビタミンＫ２や鎖状イソプレノイドアルコール類、特にゲラニルゲラニオール等が、優れた骨吸収制作用を有する（特開平７－２１５８４９、特開平１１－１３０６７０、日本油化学会誌，第４５巻，第５号，４３５－４４３，１９９６等）ことからも支持される。

実際に、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類の骨吸収抑制作用は、共存細胞培養系における破骨細胞形成抑制作用にて示される。共存細胞培養系とは、すなわち、骨芽細胞と造血系細胞を破骨細胞形成促進因子の存在下で共存培養することにより、簡単に破骨細胞の分化過程を解析する系である。(Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ，１２３，ｐ２６００－２６０２，１９８８)この様な系では破骨細胞が形成されるため、破骨細胞を表すパラメーターである、細胞層中の酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（ＴＲＡＣＰ）活性を測定することにより、破骨細胞の形成の度合いを見積ることができる。

上記共存細胞培養系において、イソプレノイドエステル類を添加した場合、コントロール（イソプレノイドエステル類無添加）に比して、おおむねＴＲＡＣＰ活性が減少する。すなわち、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイド

エステル類は、直接的には骨吸収を営む破骨細胞の形成を抑制することで、また間接的には破骨細胞の活性を抑制することで、骨吸収抑制作用を有することが分かる。また、一般に骨代謝改善効果を有する事が知られているビタミンK類（特にはビタミンＫ２（ＭＫ－４））と比較しても、イソプレノイドエステル類の骨吸収抑制作用は同等以上である。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類は、骨形成促進作用を有する。骨形成とは、骨基質を形成し石灰化するという、骨芽細胞による作用である。したがって本発明の骨代謝改善剤は、骨芽細胞の増殖および活性を促進することで、骨吸収促進作用を発現することができる。通常の骨リモデリングでは、骨吸収量は骨形成量とほぼ等しいが、骨粗鬆症等における骨量減少状態では、骨吸収の上昇に伴う骨形成の促進、あるいは骨形成の低下に伴う骨吸収の抑制が起こらず、アンバランスが生じている。この様な場合に対して本発明の骨代謝改善剤は、その骨形成促進作用により、低下した骨形成を増進させ、骨吸収と骨形成の代謝バランスが崩れた状態を改善するものである。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類において、上記骨形成促進作用は、特に脂肪酸側鎖によるものである。これは、例えば、エイコサペンタエン酸（日本油化学会誌，第４９巻，第１１・１２号，１３９１－１３９９，２０００）や共役リノール酸（Ｌｉｐｉｄｓ，Ｖｏｌ．３３，ｎｏ．４，４１７－４２５，１９９８）が、優れた骨形成促進作用を有することからも支持される。

実際に、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類の骨形成促進作用は、細胞培養系における骨芽細胞形成促進作用にて示される（Ｃａｌｃｉｆ　Ｔｉｓｓｕｅ　Ｉｎｔ，５９，４６６－４７３，１９９６）。この様な系では、骨芽細胞増殖および骨芽細胞の活性上昇が起こるため、細胞増殖率および活性パラメーターとしてのアルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）活性等を測定する

ことにより、骨芽細胞形成に与える影響を見積ることができる。

上記細胞培養系において、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類を添加した場合、コントロール（イソプレノイドエステル類無添加）に比して、細胞増殖率が上昇する。すなわち、本発明におけるイソプレノイドエステル類には、骨形成に携わる骨芽細胞の増殖を促す効果がある。これに対して、一般に骨代謝改善効果を有する事が知られているビタミンＫ２（ＭＫ－４）では、同様の系において、細胞増殖率を低下させ、さらにその添加濃度が高い場合には細胞を死滅させ、毒性的に働いてしまう。以上のことから、本発明におけるイソプレノイドエステル類は、骨芽細胞に対して促進的に作用し、かつ、非常に安全であることも窺える。

また、上記細胞培養系において、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類を添加した場合、コントロール（イソプレノイドエステル類無添加）に比して、概ね、ＡＬＰ活性が増加する。すなわち、本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類は、骨芽細胞の活性を促進する作用をも有することが分かる。

上述の通り、本発明の骨代謝改善剤は、特にその鎖状イソプレノイド側鎖に由来する骨吸収抑制作用と、脂肪酸側鎖に由来する骨形成促進作用の、何れか一方または両方の作用を有しており、骨代謝バランスを改善する上で好ましいものである。特に両作用を有する場合、骨代謝バランスを改善する上では、それぞれの作用を相乗的に利用することができ、非常に好ましい。また、骨吸収抑制作用および骨形成促進作用が、それぞれ鎖状イソプレノイド側鎖および脂肪酸側鎖に由来するものであるということは、すなわち、鎖状イソプレノイド側鎖の種類および脂肪酸側鎖の種類を設計することにより、必要な骨吸収抑制作用と骨形成促進を意図することも可能であるということである。

ここで、一般式（Ｉ）で表されるイソプレノイドエステル類を形成する脂肪酸

としては、炭素数が２～３０の範囲にある脂肪酸であれば特に制限はない。特に、炭素数が８～２２の範囲の脂肪酸から誘導される官能基が好ましく、炭素数１４～２２の範囲の脂肪酸から誘導される官能基がより好ましい。このような脂肪酸としては、例えば、酢酸、酪酸、カプロン酸、カプリル酸、カプリン酸、ウンデカン酸、ラウリン酸、トリデカン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、マルガリン酸、ステアリン酸、ノナデカン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸、セロチン酸、モンタン酸、メリシン酸等の直鎖飽和脂肪酸、トウハク酸、リンデル酸、ツズ酸、パルミトオレイン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、シスバクセン酸、ペトロセリン酸、ガドレイン酸、エイコセン酸、エルカ酸、セトレン酸、ネルボン酸、キシメン酸、ラメクエン酸等の一価不飽和脂肪酸、α－リノレン酸、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等のｎ－３系不飽和脂肪酸、リノール酸、リノエライジン酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸等のｎ－６系不飽和脂肪酸、共役リノール酸、α－エレオステアリン酸等の共役脂肪酸、ピレノン酸、シアドン酸、ジュニペロン酸、コロンビン酸等の５位に二重結合を持つ脂肪酸、ヒラゴン酸、モロクチン酸、クルパノドン酸、ニシン酸等の上記以外の多価不飽和脂肪酸等の直鎖不飽和脂肪酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、イソ酸、アンチイソ酸等の分岐脂肪酸、α－ヒドロキシ酸、β－ヒドロキシ酸、ミコール酸、ポリヒドロキシ酸等のヒドロキシ脂肪酸、エポキシ脂肪酸、ケト脂肪酸、環状脂肪酸等が挙げられる。

上記脂肪酸として、特に自然界での存在量等の面からは直鎖脂肪酸が好ましく、さらには、二重結合の存在が骨形成を促進する傾向があることから、直鎖不飽和脂肪酸が好ましく、その中でも特に、パルミトオレイン酸、オレイン酸、バクセン酸、エルカ酸等の一価不飽和脂肪酸、リノール酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸等のｎ－６系不飽和脂肪酸、α－リノレン、ス

テアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸等のｎ－３系不飽和脂肪酸、共役リノール酸、α－エレオステアリン酸等の共役脂肪酸等が好ましい。

上記脂肪酸として、さらに骨代謝改善効果、特に骨形成促進作用の強さの面からは、ｎ－６系不飽和脂肪酸としてはリノール酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸、アラキドン酸が好ましく、ｎ－３系不飽和脂肪酸としてはα－リノレン、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸が好ましく、共役脂肪酸としては共役リノール酸、α－エレオステアリン酸が好ましい。

本発明のイソプレノイドエステル類を製造するのに使用できる鎖状イソプレノイドアルコールは、天然から得られるもの、人工的に得られるもの等、特にその由来に制限は無いが、天然には植物に比較的多く存在するので植物由来のものが好ましい。具体的には、ゲラニオール、ファルネリール、ゲラニルゲラニオール、フィトール及びジヒドロフィトール等があげられる。このうち、ゲラニルゲラニオール、フィトール及びジヒドロフィトールが好ましい。

本発明のイソプレノイドエステル類を形成する鎖状イソプレノイドアルコールは、一般式（Ｉ）のイソプレノイドエステル類を還元した構造を有する。一般式（Ｉ）において、ｎが２以上のとき、波線部は同一でも異なっていてもよい。すなわち、本発明で対象とするイソプレノイドエステル類を形成するアルコールは、１又は２以上の単結合と１又は２以上の二重結合とを有していてもよい。このようなアルコールとしては、例えばフィトール及びジヒドロフィトールがあげられる。本発明で使用できるアルコールとしては具体的には、ゲラニオール、ファルネソール、ゲラニルゲラニオール、フィトール及びジヒドロフィトール等があげられる。このうち、ゲラニルゲラニオール、フィトール及びジヒドロフィトールが好ましい。

本発明のイソプレノイドエステル類を製造するのに使用できるアルコールは、天然から得られるもの、人工的に得られるもの等、特にその由来に制限は無いが、天然には植物に比較的多く存在するので植物由来のものが好ましい。具体的には、油脂原料となる植物が好ましく、さらに植物油脂が好ましい。植物油脂としては特に制限されないが大豆原油、菜種原油、綿実原油、ヒマワリ原油、紅花原油、胡麻原油、オリーブ油、亜麻仁原油、米原油、パーム油、カカオ脂、カポック油等が好ましく、特に胡麻原油、亜麻仁原油等が好ましい。

本発明の骨代謝改善剤に含有される鎖状イソプレノイドエステルは、安全性の極めて高い化合物である。鎖状イソプレノイドは、生体内においては、コレステロール、ステロイド、トコフェロール等が生合成される際の前駆体であり、また脂肪酸は生体にとって必須のものである。これらのことからも安全性が極めて高いことが窺える。

実際に、動物に投与した場合では、ＬＤ５０値は、２０００ｍｇ／体重ｋｇ以上であり、極めて安全性の高いことが確認できる。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類は、上述のように、一般的にその骨代謝改善効果で知られているビタミンＫ類と比較しても、同等以上の骨代謝改善効果を有する。すなわち、ビタミンＫ類と同等以上の破骨細胞形成抑制作用および骨形成促進作用を有する。さらに、本発明におけるイソプレノイドエステル類は、ビタミンＫ類と比較して、骨芽細胞増殖に対して促進的に働き、かつ、細胞毒性も認められない。供給面においても、ビタミンＫ類は非常に高価であるが、本発明におけるイソプレノイドエステル類は安価に得ることができる。総合的に見て、本発明におけるイソプレノイドエステル類は、ビタミンＫと比較しても、非常に好ましいものである。

また、本発明におけるイソプレノイドエステル類は、脂肪酸のエステル体であるため、非常に脂溶性が高く、油系あるいは乳化系にて使用する場合、一般の油

性成分と同様に扱うことができる。また、ほとんど無味、無臭、無色であるため、味、臭い、色といった面に関して使用の際の障害がほとんど無く、好ましい。

本発明におけるイソプレノイドエステルは、概して脂溶性なので、油とともに吸収されることが期待されるため、吸収性の面で非常に好ましい。したがって、油系あるいは乳化系にて好適に使用することは、元来吸収性の良い油分とともに吸収されることが予測できるため、好ましい。例えば、以下に限定されないが、飲食物等に使用した場合、特に調合油脂あるいは油脂加工品として使用した場合、油とともに体内に吸収されることが期待できる。あるいは軟膏等の油系の皮膚外用剤等でも、効率良く経皮吸収されることが期待できる。

さらに本発明の骨代謝改善剤は、骨代謝改善効果、特に骨吸収抑制作用の強さの面および入手の容易さの面の両面からは、一般式（Ｉ）においてｎ＝２～４、特にｎ＝４であるイソプレノイドエステル類を含有する場合が好ましく、さらに具体的には、ゲラニルゲラニル脂肪酸エステル、フィチル脂肪酸エステル及びジヒドロフィチル脂肪酸エステルからなる群から選ばれるイソプレノイドエステル類を含有する場合が好ましい。

ゲラニルゲラニル脂肪酸エステル、フィチル脂肪酸エステルおよびジヒドロフィチル脂肪酸エステルとは、一般式（Ｉ）においてｎ＝４であるもののうち二重結合の数および位置が異なるものであるが、これらは、天然には、植物中に微量存在することが知られている。本発明においては、天然から得られるもの、人工的に合成されたもの等何れも使用することができるが、人体への影響や使用時の安心感等を考慮に入れると、天然物を用いることが好ましく、供給面での簡易さを考慮に入れると、人工的に得られるものが好ましい。

ゲラニルゲラニル脂肪酸エステルとしては、以下に制限されないが、例えば、酢酸ゲラニルゲラニル、酪酸ゲラニルゲラニル、カプロン酸ゲラニルゲラニル、カプリル酸ゲラニルゲラニル、カプリン酸ゲラニルゲラニル、ウンデカン酸ゲラ

ニルゲラニル、ラウリン酸ゲラニルゲラニル、トリデカン酸ゲラニルゲラニル、ミリスチン酸ゲラニルゲラニル、ペンタデカン酸ゲラニルゲラニル、パルミチン酸ゲラニルゲラニル、マルガリン酸ゲラニルゲラニル、ステアリン酸ゲラニルゲラニル、ノナデカン酸ゲラニルゲラニル、アラキジン酸ゲラニルゲラニル、ベヘン酸ゲラニルゲラニル、リグノセリン酸ゲラニルゲラニル、セロチン酸ゲラニルゲラニル、モンタン酸ゲラニルゲラニル、メリシン酸ゲラニルゲラニル、トウハク酸ゲラニルゲラニル、リンデル酸ゲラニルゲラニル、ツズ酸ゲラニルゲラニル、パルミトオレイン酸ゲラニルゲラニル、オレイン酸ゲラニルゲラニル、エライジン酸ゲラニルゲラニル、バクセン酸ゲラニルゲラニル、シスバクセン酸ゲラニルゲラニル、ペトロセリン酸ゲラニルゲラニル、ガドレイン酸ゲラニルゲラニル、エイコセン酸ゲラニルゲラニル、エルカ酸ゲラニルゲラニル、セトレン酸ゲラニルゲラニル、ネルボン酸ゲラニルゲラニル、キシメン酸ゲラニルゲラニル、ラメクエン酸ゲラニルゲラニル、α－リノレン酸ゲラニルゲラニル、ステアリドン酸ゲラニルゲラニル、エイコサテトラエン酸ゲラニルゲラニル、エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル、ドコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル、ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル、リノール酸ゲラニルゲラニル、リノエライジン酸ゲラニルゲラニル、γ－リノレン酸ゲラニルゲラニル、ビスホモγ－リノレン酸ゲラニルゲラニル、アラキドン酸ゲラニルゲラニル、共役リノール酸ゲラニルゲラニル、α－エレオステアリン酸ゲラニルゲラニル、ピレノン酸ゲラニルゲラニル、シアドン酸ゲラニルゲラニル、ジュニペロン酸ゲラニルゲラニル、コロンビン酸ゲラニルゲラニル、ヒラゴン酸ゲラニルゲラニル、モロクチン酸ゲラニルゲラニル、クルパノドン酸ゲラニルゲラニル、ニシン酸ゲラニルゲラニル、イソ酪酸ゲラニルゲラニル、イソ吉草酸ゲラニルゲラニル、イソ酸ゲラニルゲラニル、アンチイソ酸ゲラニルゲラニル、α－ヒドロキシ酸ゲラニルゲラニル、β－ヒドロキシ酸ゲラニルゲラニル、ミコール酸ゲラニルゲラニル、ポリヒドロキシ酸ゲラニ

ルゲラニル、エポキシ脂肪酸ゲラニルゲラニル、ケト脂肪酸ゲラニルゲラニル、環状脂肪酸ゲラニルゲラニル等が挙げられる。このうち、カプリル酸ゲラニルゲラニル、カプリン酸ゲラニルゲラニル、ラウリン酸ゲラニルゲラニル、ミリスチン酸ゲラニルゲラニル、パルミチン酸ゲラニルゲラニル、ステアリン酸ゲラニルゲラニル、オレイン酸ゲラニルゲラニル、α－リノレン酸ゲラニルゲラニル、エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル、ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル、リノール酸ゲラニルゲラニル、γ－リノレン酸ゲラニルゲラニル及び共役リノール酸ゲラニルゲラニルが好ましい。

フィチル脂肪酸エステルとしては、以下に制限されないが、例えば、酢酸フィチル、酪酸フィチル、カプロン酸フィチル、カプリル酸フィチル、カプリン酸フィチル、ウンデカン酸フィチル、ラウリン酸フィチル、トリデカン酸フィチル、ミリスチン酸フィチル、ペンタデカン酸フィチル、パルミチン酸フィチル、マルガリン酸フィチル、ステアリン酸フィチル、ノナデカン酸フィチル、アラキジン酸フィチル、ベヘン酸フィチル、リグノセリン酸フィチル、セロチン酸フィチル、モンタン酸フィチル、メリシン酸フィチル、トウハク酸フィチル、リンデル酸フィチル、ツズ酸フィチル、パルミトオレイン酸フィチル、オレイン酸フィチル、エライジン酸フィチル、バクセン酸フィチル、シスバクセン酸フィチル、ペトロセリン酸フィチル、ガドレイン酸フィチル、エイコセン酸フィチル、エルカ酸フィチル、セトレン酸フィチル、ネルボン酸フィチル、キシメン酸フィチル、ラメクエン酸フィチル、α－リノレン酸フィチル、ステアリドン酸フィチル、エイコサテトラエン酸フィチル、エイコサペンタエン酸フィチル、ドコサペンタエン酸フィチル、ドコサヘキサエン酸フィチル、リノール酸フィチル、リノエライジン酸フィチル、γ－リノレン酸フィチル、ビスホモγ－リノレン酸フィチル、アラキドン酸フィチル、共役リノール酸フィチル、α－エレオステアリン酸フィチル、ピレノン酸フィチル、シアドン酸フィチル、ジュニペロン酸フィチル、コロ

ンビン酸フィチル、ヒラゴン酸フィチル、モロクチン酸フィチル、クルパノドン酸フィチル、ニシン酸フィチル、イソ酪酸フィチル、イソ吉草酸フィチル、イソ酸フィチル、アンチイソ酸フィチル、α－ヒドロキシ酸フィチル、β－ヒドロキシ酸フィチル、ミコール酸フィチル、ポリヒドロキシ酸フィチル、エポキシ脂肪酸フィチル、ケト脂肪酸フィチル、環状脂肪酸フィチル等が挙げられる。このうち、カプリル酸フィチル、カプリン酸フィチル、ラウリン酸フィチル、ミリスチン酸フィチル、パルミチン酸フィチル、ステアリン酸フィチル、オレイン酸フィチル、α－リノレン酸フィチル、エイコサペンタエン酸フィチル、ドコサヘキサエン酸フィチル、リノール酸フィチル、γ－リノレン酸フィチル及び共役リノール酸フィチルが好ましい。

ジヒドロフィチル脂肪酸エステルとしては、以下に制限されないが、例えば、酢酸ジヒドロフィチル、酪酸ジヒドロフィチル、カプロン酸ジヒドロフィチル、カプリル酸ジヒドロフィチル、カプリン酸ジヒドロフィチル、ウンデカン酸ジヒドロフィチル、ラウリン酸ジヒドロフィチル、トリデカン酸ジヒドロフィチル、ミリスチン酸ジヒドロフィチル、ペンタデカン酸ジヒドロフィチル、パルミチン酸ジヒドロフィチル、マルガリン酸ジヒドロフィチル、ステアリン酸ジヒドロフィチル、ノナデカン酸ジヒドロフィチル、アラキジン酸ジヒドロフィチル、ベヘン酸ジヒドロフィチル、リグノセリン酸ジヒドロフィチル、セロチン酸ジヒドロフィチル、モンタン酸ジヒドロフィチル、メリシン酸ジヒドロフィチル、トウハク酸ジヒドロフィチル、リンデル酸ジヒドロフィチル、ツズ酸ジヒドロフィチル、パルミトオレイン酸ジヒドロフィチル、オレイン酸ジヒドロフィチル、エライジン酸ジヒドロフィチル、バクセン酸ジヒドロフィチル、シスバクセン酸ジヒドロフィチル、ペトロセリン酸ジヒドロフィチル、ガドレイン酸ジヒドロフィチル、エイコセン酸ジヒドロフィチル、エルカ酸ジヒドロフィチル、セトレン酸ジヒドロフィチル、ネルボン酸ジヒドロフィチル、キシメン酸ジヒドロフィチル、ラ

メクエン酸ジヒドロフィチル、α－リノレン酸ジヒドロフィチル、ステアリドン酸ジヒドロフィチル、エイコサテトラエン酸ジヒドロフィチル、エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル、ドコサペンタエン酸ジヒドロフィチル、ドコサヘキサエン酸ジヒドロフィチル、リノール酸ジヒドロフィチル、リノエライジン酸ジヒドロフィチル、γ－リノレン酸ジヒドロフィチル、ビスホモγ－リノレン酸ジヒドロフィチル、アラキドン酸ジヒドロフィチル、共役リノール酸ジヒドロフィチル、α－エレオステアリン酸ジヒドロフィチル、ピレノン酸ジヒドロフィチル、シアドン酸ジヒドロフィチル、ジュニペロン酸ジヒドロフィチル、コロンビン酸ジヒドロフィチル、ヒラゴン酸ジヒドロフィチル、モロクチン酸ジヒドロフィチル、クルパノドン酸ジヒドロフィチル、ニシン酸ジヒドロフィチル、イソ酪酸ジヒドロフィチル、イソ吉草酸ジヒドロフィチル、イソ酸ジヒドロフィチル、アンチイソ酸ジヒドロフィチル、α－ヒドロキシ酸ジヒドロフィチル、β－ヒドロキシ酸ジヒドロフィチル、ミコール酸ジヒドロフィチル、ポリヒドロキシ酸ジヒドロフィチル、エポキシ脂肪酸ジヒドロフィチル、ケト脂肪酸ジヒドロフィチル、環状脂肪酸ジヒドロフィチル等が挙げられる。このうち、カプリル酸ジヒドロフィチル、カプリン酸ジヒドロフィチル、ラウリン酸ジヒドロフィチル、ミリスチン酸ジヒドロフィチル、パルミチン酸ジヒドロフィチル、ステアリン酸ジヒドロフィチル、オレイン酸ジヒドロフィチル、α－リノレン酸ジヒドロフィチル、エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル、ドコサヘキサエン酸ジヒドロフィチル、リノール酸ジヒドロフィチル、γ－リノレン酸ジヒドロフィチル及び共役リノール酸ジヒドロフィチルが好ましい。

これらのイソプレノイドエステル類は、天然にはさまざまな植物体に存在することから、植物体から抽出等することにより得ることができる。原料となる植物体に特に制限は無いが、イソプレノイドエステル類は非常に脂溶性に富む為、例えば植物原油等は、比較的含量も多く、かつ、比較的安価で大量に入手が可能な

ので、好ましい。原料として植物原油から得る場合、その方法に特に制限は無いが、例えば、溶媒抽出法、不純物との溶解度差を利用する方法、分別沈殿法、液体クロマトグラフ法等を単独または適宜組み合わせて、あるいは反復使用することによって抽出あるいは分離精製することができる。

特に、ゲラニルゲラニオール、フィトールおよびジヒドロフィトールと各種脂肪酸から形成されるエステル体は、天然界に広く存在し、特に植物体に比較的多く含有されている。したがって、上記物質を得るための由来原料に特に制限は無いが、例えば天然植物が好ましく、さらに上記物質の脂溶性を考慮に入れると、油脂原料となる植物が好ましく、さらに植物油脂が好ましく、植物油脂としては特に制限されないが大豆原油、菜種原油、綿実原油、ヒマワリ原油、紅花原油、胡麻原油、オリーブ油、亜麻仁原油、米原油、パーム油、カカオ脂、カポック油等が好ましく、特にその含量を考慮に入れると、胡麻原油、亜麻仁原油、大豆原油及び菜種原油等が好ましい。これら植物油脂または植物油脂原料は、既に多量に流通しているものであるため、原料供給の面からも好ましい。さらに、本発明で使用する一般式（Ｉ）で表されるイソプレノイドエステル類は、これらの植物油の製造工程で生じる生成物、例えば圧搾残査、抽出残査、搾油残査、圧搾油、抽出油、脱ガム油滓、脱酸油滓、ダーク油、廃脱色剤、脱臭スカム、搾油ジュース、排水及び廃濾過材からも得ることができる。このうち、廃脱色剤及び脱臭スカムが好ましい。ゲラニルゲラニオール、フィトールおよびジヒドロフィトールと各種脂肪酸から形成されるエステル体は、上述したような原料から溶媒等により抽出するで得ることができ、さらにこれを濃縮および／または分画精製したものが好ましく、特に高度に精製され、または単離されたものが好ましい。本発明においては、これらの過程で得られた何れも使用することができる。これらの場合、抽出、あるいは濃縮および／または分画精製等の方法に特に制限は無いが、例えば、溶媒抽出法、不純物との溶解度差を利用する方法、分別沈殿法、液体ク

ロマトグラフ法等を挙げることができ、これらの方法を単独または適宜組み合わせて、あるいは反復使用することによって抽出、あるいは濃縮および／または分画精製等することができる。

具体的には、抽出溶媒としては、水；メチルアルコール、エチルアルコール、グリセリン、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコール等のアルコール、アセトン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、１，４－ジオキサン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド、酢酸等の公知の親水性有機溶媒；及びヘキサン、シクロヘキサン、四塩化炭素、クロロホルム、ジクロロメタン、１，２－ジクロロエタン、ジエチルエーテル、酢酸エチル、ベンゼン、トルエン、ヘプタン及びイソオクタン等の公知の疎水性有機溶媒が挙げられる。また、これらの有機溶媒は１種または２種以上を組み合わせて使用することができる。このうち、疎水性有機溶媒が好ましく、ヘキサン、ジエチルエーテル、ヘプタン及びイソオクタンが特に好ましい。

抽出条件は、特に限定されないが、例えば、温度は５℃～９５℃、好ましくは１０℃～９０℃、さらに好ましくは１５℃～８５℃で、常温でも好適に抽出することができる。圧力は、常圧でも、加圧でも、吸引等による減圧でも好適に抽出することができる。また、抽出効率を向上させるため、振とう抽出や、攪拌機等のついた抽出機でも抽出することができる。抽出時間は、他の抽出条件によるが、数分～数時間であるのが好ましい。

抽出に使用する溶媒は、原料に対し１～１００倍量（「質量／質量」。以下同様。）、好ましくは１～２０倍量を使用することができる。

溶媒及び水分の除去は減圧蒸留、減圧・真空乾燥、凍結乾燥、スプレードライ等の公知の方法で行うことができる。

具体的には、上記植物油原料を疎水性有機溶媒で抽出処理した後、得られた抽出液について疎水性有機溶媒の一部または全部を除去し、必要により水を加えて

撹拌し、水層部を除去することで濃縮して本発明の一般式（Ｉ）のイソプレノイドエステル類を得ることができる。

また、上記植物油原料から得られる抽出液について親水性有機溶媒を除去し、残った水溶液に対して、必要に応じて水を添加し、更に疎水性有機溶媒を添加することで、水－疎水性有機溶媒での液－液分配により濃縮処理して本発明の一般式（Ｉ）のイソプレノイドエステル類を得ることができる。ここで、液－液分配の際に添加する水の量は分配処理し得る量を用いれば特に限定されないが、乾固された抽出物の質量当り１～１００倍量が好ましく、より好ましくは５～５０倍量、さらに好ましくは１０～３０倍量程度である。

また、植物油製造工程で得られる搾油残渣等から得られる抽出物中の、本発明の一般式（Ｉ）のイソプレノイドエステル類の合計の含有率が、９５％以上であるのが好ましく、より好ましくは９５％～９９．９９％である。当該含有率は、例えば、ガスクロマトグラフィーにより測定することができる。　また、上記イソプレノイドエステル類は、人工的に得ることもできる。その方法としては、特に制限はないが、例えば、化学合成による方法、酵素反応による方法、微生物等に産生させる方法等が挙げられる。

特に、リパーゼ及びカルボキシエステラーゼ等の酵素、好ましくはリパーゼによるエステル交換反応により、鎖状イソプレノイドアルコールとトリグリセライド、ジグリセライド、モノグリセライド、脂肪酸、脂肪酸メチルエステル、脂肪酸エチルエステル等とから得る方法は、非常に簡便かつ安全に行うことができる。基質であるトリグリセライド、ジグリセライド、モノグリセライド、脂肪酸、脂肪酸メチルエステル、脂肪酸エチルエステル等は、大量かつ安価に入手が可能であるため、好ましい。鎖状イソプレノイドアルコールとしては、工業的な生産性および形成されるエステル体の骨代謝改善効果を鑑みると、ゲラニルゲラニオール、フィトールおよびジヒドロフィトールが好ましい。エステル交換反応によ

り本発明で使用する一般式（Ｉ）のエステル類を得る場合、反応温度は２０～８０℃であるのが好ましく、３０～７０℃であるのがより好ましい。使用する溶媒としては、イソオクタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、シクロヘキサン、クロロホルム、ジエチルエーテル、イソプロピルエーテル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル、トルエン及びキシレン等があげられる。このうち、イソオクタン、ヘキサン、ヘプタン及びオクタンが好ましい。使用する酵素の量は、反応系の総量に対して０．０１～１０質量％であるのが好ましく、０．１～５質量％であるのがより好ましい。反応時間は０．１～４８時間であるのが好ましく、０．５～２４時間であるのがより好ましい。反応終了後、得られた本発明で使用する一般式（Ｉ）のエステル類を、濾過、シリカゲルカラムクロマトグラフィー等により精製して得ることができる。

本発明の骨代謝改善剤に含有されるイソプレノイドエステル類は、概して脂溶性なので、油系、あるいは乳化系にて、好適に配合することができる。また、特に調合油脂あるいは油脂加工品としては、油とともに吸収されることが期待されるため、吸収性の面で非常に好ましい。当然、イソプレノイドエステル類の配合量を増やすことで、極めて優れた骨代謝改善効果等を享受することが可能である。

本発明の骨代謝改善剤は、経口および／または非経口にて投与することで効果を発揮することができる。また、本発明の骨代謝改善剤は、骨吸収抑制作用および／または骨形成促進作用を有し、骨代謝異常が関与する疾患の予防および／または治療に有効であるが、特に骨粗鬆症に対する予防剤および／または治療剤として使用するものである。ここで骨粗鬆症とは、骨量の減少、骨微細構築の乱れ、を特徴とする全身性の骨疾患で、その結果、骨の脆弱性、骨折のリスクが高まる状態を指す（ＷＨＯ Ｃｏｎｓｅｎｓｕｓ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｃｏｎｆｅｒｅｎｃｅ；Ａｍ．Ｊ．Ｍｅｄ． ９４ ６４６ １９９３）。その原因とし

ては、骨吸収と骨形成のバランスが破綻して、相対的に前者が後者を上回り、骨が徐々に失われていくことが解明されている。骨粗鬆症は大きく分けて原発性骨粗鬆症と続発性骨粗鬆症に分けられ、前者としては、閉経後骨粗鬆症や老人性骨粗鬆症といった退行期骨粗鬆症および若年性骨粗鬆症が挙げられ、後者としては、内分泌・代謝疾患に伴うもの、膠原病に伴うもの、長期臥床に伴うもの、グルココルチコイド服用によるもの等が挙げられる。本発明の骨代謝改善剤は、上記骨粗鬆症の何れの場合にも、その予防および／または治療を目的として使用することができる。予防剤としての使用とは、例えば閉経後や老年期にあたっての骨量減少を見越して、健常な骨状態を保つことを目的として使用することを示す。治療剤としての使用とは、進行しつつある骨粗鬆症状態、あるいはその前段階である骨量減少症を、それ以上進行させないようにすることを目的として使用することを示す。

本発明の骨代謝改善剤は、ヒト及び動物に対し、医薬品、医薬部外品等として経口および／または非経口的に安全に投与できる。非経口的投与としては、例えば静脈注射、動脈注射、筋肉注射、皮下注射、皮内注射、腹腔内注射、脊髄内注射、硬膜外注射、経皮投与、経肺投与、経鼻投与、経腸投与、口腔内投与、経粘膜投与等が挙げられ、その剤形としては、例えば注射剤、坐剤（肛門座剤、尿道座剤、膣座剤など)、外用液剤（注入剤、含漱剤、洗口剤、湿布剤、吸入剤、噴霧剤、エアゾール剤、浣腸剤、塗布剤、清拭剤、消毒剤、点鼻剤、点耳剤など)、貼付剤、経皮吸収テープ、皮膚外用剤、軟膏剤（パスタ剤、リニメント剤、ローション剤など）などが挙げられる。また、経口投与製剤としては、例えば、内服用錠剤（素錠、糖衣錠、コーティング錠、腸溶錠、チュアブル錠など)、口腔内錠剤（バッカル錠、舌下錠、トローチ錠、付着錠など)、散剤、カプセル剤（硬カプセル剤、軟カプセル剤など)、顆粒剤（コーティングした物、丸剤、トローチ剤、液剤、またはこれらの製剤学的に許容され得る徐放化製剤など）などが挙げられる

。経口投与用液剤としては、例えば、内用水剤、振とう合剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、ドライシロップ剤、エリキシル剤、浸剤、煎剤、リモナーデ剤などが挙げられる。

これらの製剤は公知の製剤学的製法に準じ、製剤として薬理学的に許容され得る基剤、担体、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤等と共に医薬剤として投与される。

これらの製剤に用いる担体や賦形剤としては、例えば乳糖、ブドウ糖、白糖、マンニトール、馬鈴薯デンプン、トウモロコシデンプン、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、結晶セルロース、カンゾウ末、ゲンチアナ末などが挙げられる。

これらの製剤に用いる結合剤としては、例えばデンプン、トラガントゴム、ゼラチン、シロップ、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、カルボキシメチルセルロースなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる崩壊剤としては例えばデンプン、寒天、ゼラチン末、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、アルギン酸ナトリウムなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる滑沢剤としては例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、水素添加植物油、マクロゴールなどが挙げられる。

これらの製剤に用いる着色剤としては医薬品に添加することが許容されているものを、それぞれ用いることができる。

また、注射剤を調製する場合は、必要に応じて、pH 調節剤、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤などを添加して、常法により各注射剤とする。

錠剤、顆粒剤を調製する場合は、必要に応じて、白糖、ゼラチン、ヒドロキシ

プロピルセルロース、精製セラック、ゼラチン、グリセリン、ソルビトール、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、フタル酸セルロースアセテート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メチルメタクリレート、メタアクリル酸重合体などで被膜しても良いし、２つ以上の層で被膜しても良い。さらにエチルセルロースやゼラチンのような物質のカプセルでも良い。

外用剤の形態としては、経皮投与用または口腔内あるいは経鼻などの経粘膜投与用の固体、半固体、半固体状、または液状の製剤が挙げられる。

液状製剤としては、例えば製剤学的に許容される乳剤あるいはローション剤などの乳濁剤、外用チンキ剤、経粘膜投与用液剤などが挙げられる。この製剤は通常用いられる希釈剤としては、例えばエタノール、油分、乳化剤などを含む。

半固体製剤としては、例えば油性軟膏、親水性軟膏などの軟膏剤が挙げられる。この製剤は通常用いられる基剤あるいは担体として、例えば、水、ワセリン、ポリエチレングリコール、油分、界面活性剤などを含む。

半固体あるいは固体製剤としては、例えば硬膏（ゴム膏、プラスターなど）、フィルム剤、テープ剤、あるいはパップ剤などの経皮投与用または経粘膜（口腔内、経鼻）投与用の貼付剤などが挙げられる。この製剤は通常用いられる基剤あるいは担体として、例えば天然ゴム、ブタジエンゴム、ＳＢＲ、ＳＩＳなどの合成ゴムなどのゴム系高分子、ゼラチン、カオリン、酸化亜鉛などの泥状化剤、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウムなどの親水性高分子、アクリル樹脂、流動パラフィンなどの粘着付与剤、水、その他の油分、界面活性剤を含む。

これらの製剤は、さらに安定化剤、溶解補助剤、経皮吸収促進剤のような補助剤、あるいは芳香剤、防腐剤などの添加剤などを用いても良い。

また本発明の骨代謝改善剤には、機能の向上、特に、骨代謝改善効果の相乗的

な向上、骨代謝改善効果の補助、吸収性の向上等を目的として、その他の生理活性成分等と組み合わせて用いることができる。特に、飲食料、飼料等への原料および／または添加物とする場合、その他の生理活性成分等と組み合わせることは好ましい。その他の生理活性成分としては、その生理機能が明確であるものであれば特に制限は無いが、例えば、直接あるいは間接的に相乗的な効果が期待できるその他の骨代謝改善剤、体内での吸収性を向上させ効果の効率を上げるための油性成分、栄養強化のための各種ビタミン類、ミネラル類、アミノ酸類、その他の生理活性物質等が挙げられる。

その他の骨代謝改善成分としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、乳酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、アスパラギン酸カルシウム、活性吸収型カルシウム等のカルシウム類、エストロゲン、抗エストロゲン等のホルモン類、カルシトニン等のペプチドホルモン類、エチドロネート、クロドロネート、リセドロネート等のビスホスフォネート類、ビタミンD類およびその誘導体、ビタミンK類およびその誘導体、フラボン、カテキン、ケルセチン、イソケルセチン、ロイコアントシアニジン、ゲニスチン、ゲニステイン、6“－O－アセチルゲニスチン、6“－O－マロニルゲニスチン、ダイズイン、ダイゼイン、6“－O－アセチルダイズイン、6“－O－マロニルダイズイン、グリシチン、グリシテイン、6“－O－アセチルグリシチン、6“－O－マロニルグリシチン、プエラリン、ケルセチン、ケンフェロー、ミロエステロール、イプリフラボン等のフラボノイド類、これらの骨代謝改善成分は、本発明におけるイソプレノイドエステル類との相乗効果が期待できるため、好ましい。本発明の骨代謝改善剤において、一般式（I）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類と上記のその他の骨代謝改善成分を組み合わせることで、詳細な骨代謝改善効果の設計、例えば改善効果の度合いや種類について詳細な調整が可能であり、必要に応じ、求められる骨代謝改善効果を得ることが可能である。また、他の骨代謝改善成分との相乗効

果により大幅な骨代謝改善効果の強化も期待できる。

油性成分としては、大豆油、菜種油、綿実油、ヒマワリ油、紅花油、胡麻油、オリーブ油、亜麻仁油、米油、パーム油、カカオ脂、カポック油等の植物油脂、ラード、牛脂、魚油等の動物油脂の他、特に制限は無いが、例えば、天然および化学反応や酵素反応により得られた、ＭＣＴ、ＭＬＣＴ、ジグリセライド、モノグリセライドや、脂肪酸の構造を設計した構造油脂等が挙げられる。

栄養強化のための各種ビタミン類、ミネラル類、アミノ酸類等については、特に制限はないが、食品添加物公定書に定められるものが望ましい。

その他の生理活性物質としては、例えば、本発明におけるイソプレノイドエステル類と同様に脂溶性を示し油系で使用が容易なものとして、トコフェロール類、トコトリエノール類、γーオリザノール類等のフェルラ酸およびその誘導体、リグナン類、ステロール類、リン脂質、オリューロペイン、チロソール等のポリフェノール類、オレアノール酸、マスリン酸等のトリテルペン類等が挙げられる。

本発明の骨代謝改善剤は上述したような骨代謝改善効果を有する。すなわち、本発明の骨代謝改善剤を直接または間接的に摂取することで、その骨代謝改善効果を享受することができる。さらには、継続的な摂取をすることで、より好適な効果を得ることができる。有効成分として含有するとは、その効果を有する程度の量を含有するということであるが、本発明の骨代謝改善剤におけるイソプレノイドエステル類の配合量は、一概には規定されず、イソプレノイドエステル類の種類、予防か改善かという使用の目的や使用する期間、量、使用対象の年齢、性別、体重、直接経口摂取するのか、原料として配合するのか等を踏まえ、必要とする効果の強さに応じて適宜決めればよい。以下に限定されないが、例えば、０．００００１質量％以上、好ましくは０．０００１質量％以上、より好ましくは０．００１質量％～９９．９９質量％、さらに好ましくは０．０１質量％～９９

．９９質量％、特に好ましくは０．１～９９．９９質量％、最も好ましくは１～９９．９９質量％である。

また、本発明におけるイソプレノイドエステル類を摂取することにより、好適に骨代謝改善効果を得るための所用量は、摂取の形態、対象者の性別、体重、体調等により異なり、特に制限されないが、例えば、０．０００１ｇ／日以上、好ましくは０．００１ｇ／日以上、さらに好ましくは０．０１ｇ／日以上である。

本発明の骨代謝改善剤は、イソプレノイドエステル類を含有することを特徴とし、医薬品、医薬部外品以外にもその用途は任意であるが、例えば、流動食品、経腸栄養剤、健康食品、乳幼児食品等の飲食料、外用剤等の美容・健康用品等の広い分野で用いることができる。これら飲食物や美容・健康用品は、本発明の骨代謝改善剤の日常的な投与に適しており、医薬品等のような投与の際の煩わしさが無い点で好ましい。日常的な投与は、予防的な使用法としては、日々の継続的な投与が可能であるという点で好ましい。経口投与としては飲食物が相当し、経皮投与としては皮膚外用剤等の美容・健康用品がこれに相当する。この時、本発明の骨代謝改善剤の配合量は、用途、投与形態、投与対象の種、年齢、性別、体重、症状の程度、健康状態などの条件により異なるので、一概に規定されないが、当然、骨粗鬆症等の予防および／または治療に効果を有する量である。

本発明の骨代謝改善剤を原料として飲食物に配合することで、骨代謝改善効果を有する飲食物を得ることができる。飲食物としては、菓子、加工食品、調合油脂類、油脂加工品、乳製品、飲料等の各種飲食物が挙げられる。本発明の飲食物の形状・性状は特に制限されず、固体状、半固体状、ゲル状、液体状、粉末状等何れでもよい。本発明の骨代謝改善剤が適用される飲食物の形態としては、例えば、おかき、煎餅、おこし、饅頭、飴等の和菓子、クッキー、ビスケット、クラッカー、パイ、カステラ、ドーナッツ、プリン、スポンジケーキ、ワッフル、バタークリーム、カスタードクリーム、シュークリーム、チョコレート、チョコレ

ート菓子、キャラメル、キャンデー、キューインガム、ゼリー、ホットケーキ、パン、菓子パン等の各種洋菓子、ポテトチップ等のスナック菓子、アイスクリーム、アイスキャンデー、シャーベット等の氷菓、乳酸飲料、乳酸菌飲料、濃厚乳性飲料、果汁飲料、果肉飲料、機能性飲料、炭酸飲料等の清涼飲料水、緑茶、紅茶、コーヒー、ココア等の嗜好品及びこれらの飲料、発酵乳、加工乳、チーズ等の乳製品、豆乳、豆腐等の大豆加工食品、ジャム、果実のシロップ漬、フラワーペースト、ピーナツペースト、フルーツペースト等のペースト類、漬物類、うどんの麺、パスタ等の穀物製品類、ハム、ソーセージ、ベーコン、ドライソーセイジ、ビーフジャーキー、ハンバーグ等の畜肉製品類、魚肉ハム、魚肉ソーセージ、かまぼこ、ちくわ、はんぺん等の魚貝類製品、魚、貝等の干物、鰹、鯖、鯵等の各種節、ウニ、イカ等の塩辛、スルメ、魚等のみりん干、鮭等の燻製品、のり、小魚、貝、山菜、椎茸、昆布等の佃煮、カレー、シチュー等のレトルト食品、みそ、醤油、ソース、ケチャップ、ブイヨン、焼肉のタレ、カレールー、シチューの素、スープの素、だしの素等の各種調味料、米飯類、調合油脂やマーガリン、ショートニング、マヨネーズ、ドレッシング等の油脂加工品や、調合油脂を含有する各種レンジ及び冷凍食品等が挙げられる。特に、一般式（Ｉ）で表されるエステル類の原料の入手経路として油糧原料が好ましいこと、一般式（Ｉ）で表されるエステル類が概して脂溶性の物質であること及び継続的な摂取とを考慮すると、米飯、各種調味料、調合油脂、及びマーガリン、ショートニング、マヨネーズ及びドレッシング等の油脂加工品が好ましい。

このような飲食物における本発明の骨代謝改善剤あるいはイソプレノイドエステル類の含量は、目的とする骨代謝改善効果等に応じて配合すれば良い。例えば、本発明の飲食物中に、一般式（Ｉ）のエステル類が、好ましくは０．０００１～３０質量％、より好ましくは０．００１～２０質量％、より好ましくは０．０１～１０質量％、さらに好ましくは０．０５～５質量％、特に好ましくは０．１

～３質量％であるのが好ましい。

本発明の飲食物の摂取量は、摂取の形態、及び対象者の性別、体重及び体調等により異なり特に制限されないが、例えば、０．０００１ｇ／日以上、好ましくは０．００１ｇ／日以上、さらに好ましくは０．０１ｇ／日以上、特に好ましくは０．１ｇ／日以上、さらに特に好ましくは０．５ｇ／日以上、さらに特に好ましくは１ｇ／日以上、最も好ましくは２ｇ／日以上である。

本発明の骨代謝改善剤を原料として美容・健康用品に配合することで、骨代謝改善効果を有する美容・健康用品を得ることができる。本発明の骨代謝改善剤が適用される美容・健康用品としては、特に制限は無いが、日常的に簡便に使用できるものが好ましく、例えば、皮膚外用剤や入浴剤等が挙げられる。

上記皮膚外用剤の形態としては、一部医薬品、医薬部外品としての外用剤と重複する部分もあり特に限定されないが、例えば、乳液、クリーム、化粧水、パック、洗浄料、メーキャップ化粧料、分散液、軟膏等が挙げられる。皮膚外用剤としては、その他に、血行促進剤、保湿剤、抗酸化剤、美白剤、紫外線吸収剤、細胞賦活剤、抗炎症剤、抗菌剤、経皮吸収促進剤、動物性抽出物、植物性抽出物等の機能性成分を添加しても良い。

皮膚外用剤や入浴剤の様な使用方法では、本発明におけるイソプレノイドエステル類が経皮吸収され、かつ、簡便に使用できるので好ましい。

このような皮膚外用剤等の美容・健康用品における本発明の骨代謝改善剤あるいはイソプレノイドエステル類の含量は、目的とする骨代謝改善効果等に応じて配合すれば良い。例えば、本発明の皮膚外用剤中に、一般式（Ｉ）のエステル類が、好ましくは０．０００１～９９．９９質量％、より好ましくは０．００１～９０質量％、より好ましくは０．０１～７０質量％、さらに好ましくは０．０５～５０質量％、特に好ましくは０．１～３０質量％であるのが好ましい。

本発明の皮膚外用剤の適用量は、対象者の性別、体重及び体調等により異なり

特に制限されないが、例えば、０．０００１ｇ／日以上、好ましくは０．００１ｇ／日以上、さらに好ましくは０．０１ｇ／日以上、特に好ましくは０．１ｇ／日以上、さらに特に好ましくは０．５ｇ／日以上、さらに特に好ましくは１ｇ／日以上、最も好ましくは２ｇ／日以上である。

本発明は、一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類から選ばれる１種または２種以上を含有してなる骨代謝改善剤原料に関する。この場合、イソプレノイドエステルの由来に、特に制限は無く、天然から得たものでも、人工的に得たものでも何れも好適に使用できるが、その目的が骨代謝改善剤である以上、その純度が高まったものほど好ましい。純度が高いことの利点としては、骨代謝改善効果等を非常に向上させることができることに加え、不純物を除去することができること等が挙げられる。すなわち、不純物等による予測不能な副作用等の危険性を回避や、骨代謝改善剤製造時における予測不能なトラブルの回避、ハンドリングの向上といった、製品の品質等の向上に大きく寄与することができるため、純度が高まったものほど好ましい。また、単離精製処理により純度が高くなった場合、本発明におけるイソプレノイドエステルは概ね白色あるいは無色の固体、半固体、液体等として得ることができるため、骨代謝改善剤等に余計な色をつけることなく好適に配合することができる等のメリットがあり、好ましい。本発明の骨代謝改善剤原料等におけるイソプレノイドエステルの純度は、上述の通り純度が高いものほど好ましいが、一概には規定されず、イソプレノイドエステルの種類、予防か改善かという使用の目的、投与形態、製法、製造コスト等を踏まえ、適宜決めればよい。以下に限定されないが、例えば、０．００１質量％以上、好ましくは０．０１～９９．９９質量％、より好ましくは０．１～９９．９９質量％、より好ましくは１～９９．９９質量％、さらに好ましくは１０～９９．９９質量％、特に好ましくは２５～９９．９９質量％、最も好ましくは５０～９９．９９質量％であれば良い。

本発明の骨代謝改善剤原料は、上述の通りであるが、これらは、医薬品や医薬部外品に配合しすることに使用することができるが、それ以外の用途にも使用して差し支えない。その用途としては、骨代謝改善効果を訴求できるものであれば特に制限はないが、例えば、飲食物、飼料、化粧品、入浴剤等が挙げられ、何れにも好適に使用できる。

本発明はイソプレノイドエステル類を含有してなる骨代謝改善剤に関する。これらのイソプレノイドエステル類は、特に骨吸収抑制作用や骨形成促進作用といった骨代謝改善効果に優れており、かつ、簡便に得ることができ、安全性の面でも問題無く使用でき、脂溶性に富んでいるため吸収性が良い。本発明の骨代謝改善剤は、骨粗鬆症のような骨疾患に対して、予防および／または治療的に用いることができ、また医薬品としての使用以外にも、飲食物や皮膚外用剤といった形態により日常的に使用することができる。

実施例

次に、実施例を挙げ、本発明をさらに説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

以下に挙げる実施例に原料として使用した、ゲラニオール（和光純薬社製)、ファルネソール（シグマ社製)、ゲラニルゲラニオール（シグマ社製)、フィトール（和光純薬製)、トリステアリン（シグマ社製)、トリオレイン（和光純薬社製）、トリγ－リノレン（フナコシ社製)、共役リノール酸エチルエステル（フナコシ社製)、エイコサペンタエン酸エチルエステル（和光純薬社製)、トリドコサヘキサエノイン（フナコシ社製）については、試薬として購入した。ジヒドロフィトールについては、文献（Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５８．５２８５－５２８７．１９９３）に従って、フィトールを還元することにより得た。

実施例１　ステアリン酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇとトリステアリン９００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で３時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、ステアリン酸ゲラニルゲラニル１３７ｍｇを得た。

実施例２　オレイン酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇとトリオレイン９００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で３時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、オレイン酸ゲラニルゲラニル１３７ｍｇを得た。

実施例３　γ－リノレン酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇとトリγ－リノレン９００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で３時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、γ－リノレン酸ゲラニルゲラニル１４３ｍｇを得た。

実施例４　共役リノール酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇと共役リノール酸エチルエステル３００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、共役リノール酸ゲラニルゲラニル１１８ｍｇを得た。

実施例５　エイコサペンタエン酸ゲラニル

ゲラニオール１００ｍｇとエイコサペンタエン酸エチルエステル９００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、エイコサペンタエン酸ゲラニル１２２ｍｇを得た。

実施例６　エイコサペンタエン酸ファルネシル

ファルネソール１００ｍｇとエイコサペンタエン酸エチルエステル７５０ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、エイコサペンタエン酸ファルネシル１０７ｍｇを得た。

実施例７　エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇとエイコサペンタエン酸エチルエステル６００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル１０２ｍｇを得た。

実施例８　エイコサペンタエン酸フィチル

フィトール１００ｍｇとエイコサペンタエン酸エチルエステル６００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、エイコサペンタエン酸フィチル９４ｍｇを得た。

実施例９　エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル

ジヒドロフィトール１００ｍｇとエイコサペンタエン酸エチルエステル６００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で２４時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル９４ｍｇを得た。

実施例１０　ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル

ゲラニルゲラニオール１００ｍｇとトリドコサヘキサエノイン９００ｍｇを１ｇのイソオクタンに溶解し、総量に対して１％となるようにリパーゼを添加して、６０℃で３時間攪拌した。ＧＣで反応が平衡に達したのを確認し、反応液に１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、濾過によりリパーゼを取り除き、ヘキサンを溜去して粗反応生成物を得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製し、ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル１７３ｍｇを得た。

実施例１１　共存細胞培養系による骨吸収抑制作用の確認試験

共存細胞培養系による骨吸収抑制作用の確認試験は文献（Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ，１２３，ｐ２６００，１９８８）に従って行った。以下に概要を示す。

（骨芽細胞の調製）

２週齢のマウス頭蓋冠から、文献（Ｅｎｄｏｃｒｉｎｏｌｏｇｙ，１２３，ｐ２６００，１９８８）に従って採取したストローマ細胞を、１０％ウシ胎児血清含有培養基礎液（α－ＭＥＭ；ギブコ社製）で、細胞数が5×10^{4}個／ｍＬになるように調製した。

（脾細胞の調製）

６週齢のｄｄｙ系雄性マウス脾臓から、文献（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８０，ｐ５５８３，１９８３）に従って採取した脾細胞を、１０％ウシ胎児血清含有培養基礎液（α－ＭＥＭ；ギブコ社製）で、細胞数が5×10^{5}個/ml になるように調製した。

（共存培養方法）

培養条件は、培養液として１０％－ＦＢＳ含有培養基礎液（α－ＭＥＭ；ギブ

コ社製）を用い、５％CO_2雰囲気下、３７℃で行った。２４穴シャーレに骨芽細胞５×１０^{4}個／ｍＬ／穴をまき、１日後、その上に脾細胞５×１０^{5}個／ｍＬ／穴をまき、あらかじめＤＭＳＯに１０－２Ｍに溶解しておいた被験物質溶液を１０μＭ濃度となるように添加した。脾細胞をまいた日を第０日として、１０ｎＭカルシトリオールおよび１００ｎＭデキサメタゾン存在下、２週間培養した。なお、培養液は１週間に２回交換した。２週間後に、破骨細胞数を表すパラメーターである、細胞層中の酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（以下、ＴＲＡＣＰ）活性を測定した。

（ＴＲＡＣＰ活性測定）

ＴＲＡＣＰ活性の測定には酸性ホスファＫＩＩ－ワコー（和光純薬社製）のキットを用いた。シャーレの培養液を除き、各穴に基質５００μＬを添加、懸濁して３７℃で１５分間加温し、発色液５００μＬを添加して、５７０ｎｍでの吸光度を測定した。予め作製した検量線から、測定した吸光度に相当するＴＲＡＣＰ活性を求めた。この結果を表１に示す。

表１

	被験物質	TRACP活性(KA-U/穴)	有効性判定
コントロール	無し	102．8±12．6	−
実施例1	ステアリン酸ゲラニルゲラニル	25．3±5．2	◎
実施例2	オレイン酸ゲラニルゲラニル	16．8±3．4	◎
実施例3	γ−リノレン酸ゲラニルゲラニル	21．7±4．9	◎
実施例4	エイコサペンタエン酸ゲラニル	87．4±10．3	△
実施例5	エイコサペンタエン酸ファルネシル	96．9±12．7	△
実施例6	エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル	9．7±1．4	◎
実施例7	エイコサペンタエン酸フィチル	84．2±7．1	○
実施例8	エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル	83．4±9．4	○
実施例9	ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル	18．5±5．8	◎
比較例1	ビタミンK1	88．5±8．1	○
比較例2	ビタミンK2(MK−4)	20．3±4．1	◎
比較例3	ビタミンK3	87．9±10．2	○
※有効性判定基準は以下の通り(pはコントロールを対照としたt-testにおける危険率を示す。)			
◎：顕著な抑制効果有り(p<0.01)			
○：抑制効果有り(p<0.05)			
△：微弱な抑制効果または抑制効果無し(有意差無し)			
×：骨吸収促進効果有り(負の有意差有り)			

表１から分かる通り、コントロール（試験物質無添加）群と比較して、ゲラニルゲラニル脂肪酸エステル、フィチル脂肪酸エステルおよびジヒドロフィチル脂肪酸エステル添加群では有意に骨吸収抑制作用が認められた。しかしながら、ゲラニル脂肪酸エステルやファルネシル脂肪酸エステルにはほとんど骨吸収抑制作用が認められなかった。したがって骨吸収抑制作用は、イソプレン単位が４であるイソプレノイド脂肪酸エステル（構造式（Ｉ）においてｎ＝４）において顕著であることが分かった。

実施例１２　細胞培養系による骨形成促進作用の確認試験

マウス頭蓋冠由来の骨芽細胞であるＭＣ３Ｔ３−Ｅ１細胞を用い、本細胞の分化およびカルシウム蓄積に対する鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類の影響を調べた。６穴プレートに培地を２ｍｌ／ｗｅｌｌ取り、ＭＣ３Ｔ３−Ｅ１細胞を所定量播種し、１０％ウシ胎児血清含有培養基礎液（α−ＭＥＭ；ギブコ社製）

にて、５％CO_2雰囲気下、３７℃にて培養した。翌日、培地交換を行うと同時に、所定濃度になるように検体試料（製造例１から９で得た各鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル）調製液を、細胞増殖率測定用には１０μM、アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）活性測定用には２．５μMとなるように添加混和し、培養を継続した。細胞増殖率測定用の細胞は培養３日目に細胞を回収し、その生細胞数をカウントして、増殖率を算出した。その他の細胞は、培養５日目に培地を交換し、再度検体調製液を添加し、培養１週間後のアルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）活性を測定した。

（細胞増殖率）

細胞増殖率は、コントロール（試験物質無添加）群での増殖率を１００とした時の相対細胞増殖率を算出した。この結果を表２に示す。

表２

	被験物質	細胞増殖率(%)
コントロール	無し	100.0
実施例1	ステアリン酸ゲラニルゲラニル	102.9
実施例2	オレイン酸ゲラニルゲラニル	108.3
実施例3	γ-リノレン酸ゲラニルゲラニル	111.4
実施例4	共役リノール酸ゲラニルゲラニル	120.1
実施例5	エイコサペンタエン酸ゲラニル	121.4
実施例6	エイコサペンタエン酸ファルネシル	115.6
実施例7	エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル	107.8
実施例8	エイコサペンタエン酸フィチル	123.4
実施例9	エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル	118.9
実施例10	ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル	104.8
比較例1	ビタミンK1	69.3
比較例2	ビタミンK2(MK-4)	32.4
比較例3	ビタミンK3	0.0

表２から、本発明における鎖状イソプレノイド脂肪酸エステルは、ＭＣ３Ｔ３－Ｅ１骨芽細胞に対して、有意差はないものの、増殖促進させる作用が示唆された。また、ビタミンＫ類が、増殖抑制、すなわち、細胞毒性の様相を示したことと比較した結果、骨形成を営む骨芽細胞の増殖促進、および、安全性の面で、非常に有望であることが分かった。

（アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）活性の測定）

測定にはアルカリ性ホスファＫ－テストワコー（和光純薬社製）のキットを用いた。各検体試料添加で培養した細胞の懸濁液を試料とした。各試料１０μＬに基質１５０μＬを添加して３７℃で１５分間加温し、発色液１５０μＬを添加して、５７０ｎｍでの吸光度を測定した。予め作製した検量線から、測定した吸光度に相当するＡＬＰ活性を求めた。この結果を表３に示す。

表３

	被験物質	ALP活性(KA-U/穴)	有効性判定
コントロール	無し	71．6±4．6	－
実施例1	ステアリン酸ゲラニルゲラニル	80．1±5．2	○
実施例2	オレイン酸ゲラニルゲラニル	82．8±6．7	○
実施例3	γ－リノレン酸ゲラニルゲラニル	84．4±5．1	◎
実施例4	共役リノール酸ゲラニルゲラニル	88．3±4．8	◎
実施例5	エイコサペンタエン酸ゲラニル	87．2±10．6	○
実施例6	エイコサペンタエン酸ファルネシル	85．4±8．4	○
実施例7	エイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル	123．5±7．3	◎
実施例8	エイコサペンタエン酸フィチル	114．6±7．7	◎
実施例9	エイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル	118．7±8．9	◎
実施例10	ドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル	89．8±6．1	◎
比較例1	ビタミンK1	76．1±4．9	△
比較例2	ビタミンK2(MK－4)	78．6±3．2	○
比較例3	ビタミンK3	91．2±11．0	○
※有効性判定基準は以下の通り(pはコントロールを対照としたt-testにおける危険率を示す。)			
◎：顕著な抑制効果有り(p<0.01)			
○：抑制効果有り(p<0.05)			
△：微弱な抑制効果または抑制効果無し(有意差無し)			
×：骨吸収促進効果有り(負の有意差有り)			

上記試験の結果、コントロール（試験物質無添加）群と比較して、各鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル添加群ではＡＬＰ活性が有意に上昇しており、各イソプレノイドエステルに骨形成促進作用があることが認められた。特に脂肪酸側鎖がｎ－６系脂肪酸であるイソプレノイドγ－リノレン酸エステル、脂肪酸側鎖がｎ－３系脂肪酸であるイソプレノイドエイコサペンタエン酸エステル、イソプレノイドドコサヘキサエン酸エステル、脂肪酸側鎖が共役脂肪酸であるイソプレノイド共役リノール酸エステル等において、ＡＬＰ活性が顕著に上昇しており、顕著な骨形成促進作用が認められた。

実施例１３　急性毒性試験

急性毒性試験は以下の方法で行った。ウィスター系雌ラット（６週齢、平均体重１６０ｇ）をＡＩＮ－９３組成の粉末調製飼料で１週間予備飼育した後、平均体重が均等になるように３群（１群１０匹）に分け、それぞれ経口投与群、皮下投与群、腹空内投与群とした。製造例５のようにして得たエイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニルを綿実油に溶解し、２０００ｍｇ／体重ｋｇになるように、それぞれの投与方法にて投与した。引き続きＡＩＮ－９３組成の粉末調製飼料で飼育を行い、投与後２週間の予後状態を観察し、２週間後に解剖による内臓状態の検視を行った。

結果としては、投与後２週間において、何れの群においても死亡例はなく、また、解剖による内臓の所見でも異常は見られなかった。このことからエイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニルのＬＤ５０値は２０００ｍｇ／体重ｋｇ以上であり、安全性に極めて優れていることが分かった。

実施例１４　錠剤

実施例２のオレイン酸ゲラニルゲラニル	１．０ｍｇ
乳糖	９４．０ｍｇ
トウモロコシデンプン	３４．０ｍｇ
結晶セルロース	２０．０ｍｇ
活性吸収型カルシウム（カキ殻由来）	１０．０ｍｇ
ビタミンＤ３	２０ＩＵ
ステアリン酸マグネシウム	１．０ｍｇ

上記配合比率にて、各成分をよく混合し、この混合物を打錠して錠剤を得た。

実施例１５　散剤

実施例３のγ－リノレン酸ゲラニルゲラニル	２．０ｍｇ
乳糖	９８１．０ｍｇ
ヒドロキシプロピルセルロース	４．０ｍｇ
軟質無水ケイ酸	５．０ｍｇ

上記配合比率にて、まず、γ－リノレン酸ゲラニルゲラニルと乳糖をよく混合した後、ヒドロキシプロピルセルロースを加えて造粒する。これを乾燥後に製粒し、軟質無水ケイ酸を加えてさらによく混合して、散剤を得た。

実施例１６　カプセル剤

実施例４の共役リノール酸ゲラニルゲラニル	１５０．０ｍｇ
乳糖	７０．０ｍｇ
トウモロコシデンプン	３８．０ｍｇ
ステアリン酸マグネシウム	２．０ｍｇ

上記配合比率にて、各成分をよく混合したものを、カプセルに充填してカプセ

ル剤を得た。

実施例１７　軟カプセル剤

実施例８のエイコサペンタエン酸フィチル	５０．０ｍｇ
精製大豆油	１３０．０ｍｇ
トコフェロール	２０．０ｍｇ

上記配合比率にて、各成分をよく混合し、カプセルに充填して軟カプセル剤を得た。

実施例１８　注射剤

実施例７のエイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル	１０．０ｍｇ
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	２００．０ｍｇ
無水エタノール	適量

上記配合比率にて、まずエイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニルをポリオキシエチレン硬化ヒマシ油によく混合した後、無水エタノールを適量加えて全量１ｍｌとし、注射剤を得た。

実施例１９　ゲル軟膏

カルボキシビニルポリマー	１．０ｇ
１，３－ブチレングリコール	１０．０ｇ
実施例１０のドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル	０．１ｇ
トリエタノールアミン	１．０ｇ
精製水	８７．９ｇ

各成分を混合して均一にし、ゲル軟膏を得た。

実施例２０　脂肪酸ゲラニルゲラニルエステル含有調合油脂

精製大豆油１０００ｇに対し、ゲラニルゲラニオール０．１ｇを溶解し、総量に対して１％となるようにノボザイム（Ｎｏｖｏ社製）を添加して、６０℃で３時間プロペラ攪拌機により攪拌した。反応後、１０倍量のヘキサンを加えて希釈したものから、ろ紙濾過によりリパーゼを取り除き、真空蒸留によりヘキサンを完全に溜去して脂肪酸ゲラニルゲラニルエステル含有調合油脂を得た。得られた調合油脂における脂肪酸ゲラニルゲラニルエステルの含量は、０．０１８７％であった。得られた調合油脂は、味、風味等良好であり、通常の精製大豆油と同様に使用することができた。

実施例２１　鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル高含有調合油脂

実施例２、４、７と同様にして得た各鎖状イソプレノイド脂肪酸エステルを、綿実油、ごま油の各々に、質量比で、それぞれ１０００ｐｐｍ、１００００ｐｐｍづつになるように添加、溶解し、計１２種類の鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル含有調合油脂を調製した。いずれの調合油脂も、味、風味等良好であり、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステルを特に添加していない油脂と同様に使用することができた。

実施例２２　ドレッシング

水	４６．６ｇ
キサンタンガム	０．１ｇ
果糖ぶどう糖液糖	５．０ｇ
食塩	５．０ｇ
ＭＳＧ	０．３ｇ
米酢（酸度１０％）	１０．０ｇ

こしょう	適量
実施例３のγ－リノレン酸ゲラニルゲラニル	０．１ｇ
ＭＬＣＴ	３２．９ｇ

上記配合比率にて、まずＭＬＣＴを除く原材料を、撹拌機付きの加温可能な容器に投入し、プロペラ撹拌機を用いて１００ｒｐｍで撹拌しながら品温が９０℃になるまで加熱し、品温を９０℃に保持しながら２５分間撹拌を行った。その後、品温が２０℃になるまで冷却してＭＬＣＴと合わせてドレッシングを得た。

実施例２３　マーガリン

菜種油	４２．０ｇ
菜種硬化油	４２．０ｇ
水	１４．０ｇ
食塩	０．５ｇ
レシチン	０．５ｇ
モノグリセリド	０．４ｇ
実施例５のエイコサペンタエン酸ゲラニル	０．１ｇ
実施例６のエイコサペンタエン酸ファルネシル	０．１ｇ
実施例７のエイコサペンタエン酸ゲラニルゲラニル	０．１ｇ
実施例８のエイコサペンタエン酸フィチル	０．１ｇ
実施例９のエイコサペンタエン酸ジヒドロフィチル	０．１ｇ
香料	適量
カロチン	微量

上記原料を常法により混合し、コンビネーターを用い急冷混捏処理してマーガリンを得た。

実施例２４　マヨネーズ

大豆サラダ油	７４．０ｇ
水	８．４ｇ
砂糖	１．０ｇ
グルタミン酸ナトリウム	０．３ｇ
粉末マスタード	０．３ｇ
食塩	１．０ｇ
米酢	４．０ｇ
実施例１０と同様にして得たドコサヘキサエン酸ゲラニルゲラニル	１．０ｇ
加塩卵黄	１０．０ｇ

上記配合比率にて、まず大豆サラダ油、加塩卵黄を除く原材料を、混合攪拌しながら９０℃まで加熱し、９０℃に保持しながら２５分間攪拌を行った。２０℃まで冷却した後、大豆サラダ油、加塩卵黄を合わせて減圧下で撹拌し、マヨネーズを得た。

実施例２５　清涼飲料

実施例１のステアリン酸ゲラニルゲラニル	０．５ｇ
ハチミツ	１５．０ｇ
クエン酸	０．１ｇ
ｄｌ－リンゴ酸	０．１ｇ
Ｄ－ソルビトール液(70%)	１０．０ｇ
安息香酸ナトリウム	０．１ｇ
香料	適量
精製水	全量１００ｇとする残余

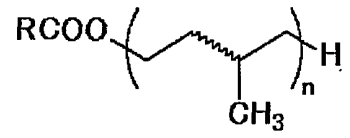
上記原料を均一に混合し、健康用飲料を得た。

本発明の骨代謝改善剤によれば、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類が有する非常に優れた骨代謝改善効果を享受することができる。鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類は、特に、骨吸収抑制効果および／または骨形成促進効果に優れており、本発明の骨代謝改善剤によれば、これらの効果を特に享受することができる。また、鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類は、天然から得ることも、人工的にも得ることもでき、脂溶性で、極めて安全性が高いことから、本発明によれば、優れた骨代謝改善効果を享受できると同時に、価格面、吸収性、安全性等において優れた骨代謝改善剤を提供することができる。

請求の範囲

1．下記一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善剤。

（Ｉ）



（式中、Ｒは任意の炭化水素系官能基を意味し、波線部は一重結合または二重結合を意味し、ｎは１～１４から選ばれるいずれか一つの整数を意味し、ｎが２以上のとき波線部は同一でも異なっていてもよい。）

2．次の成分（Ａ）および（Ｂ）を含有する請求項１に記載の骨代謝改善剤：

（Ａ）一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類；及び

（Ｂ）製剤として薬理学的に許容され得る基剤、担体、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、ｐＨ調節剤、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤、皮膜化剤、希釈剤、泥状化剤、粘着付与剤、乳化剤及び界面活性剤からなる群から選ばれる１種または２種以上。

3．請求項１に記載の一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨吸収抑制剤。

4．請求項１に記載の一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を含有する骨形成促進剤。

5．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成する脂肪酸が炭素数が２～３０である請求項１に記載の骨代謝改善剤。

6．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成する脂肪酸が、直鎖不飽和脂肪酸である請求項５に記載の骨代謝改善剤。

7．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成する直鎖不飽和脂肪酸がｎ－６系不飽和脂肪酸、ｎ－３系不飽和脂肪酸及び共役脂肪酸からなる群から選ばれる請求項６に記載の骨代謝改善剤。

8．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成するｎ－６系不飽和脂肪酸がリノール酸、γ－リノレン酸、ビスホモγ－リノレン酸及びアラキドン酸からなる群から選ばれる請求項７に記載の骨代謝改善剤。

9．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成するｎ－３系不飽和脂肪酸がα－リノレン、ステアリドン酸、エイコサテトラエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサペンタエン酸及びドコサヘキサエン酸からなる群から選ばれる請求項７に記載の骨代謝改善剤。

10．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成する共役脂肪酸が共役リノール酸及びα－エレオステアリン酸からなる群から選ばれる請求項７に記載の骨代謝改善剤。

11．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成するアルコールが、ゲラニオール、ファルネソール、ゲラニルゲラニオール、フィトール及びジヒドロフィトールからなる群から選ばれる請求項１記載の骨代謝改善剤。

12．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を形成するアルコールが、植物油脂から得られる請求項１記載の骨代謝改善剤。

13．一般式（Ｉ）において、ｎ＝２～４である請求項１記載の骨代謝改善剤。

14．一般式（Ｉ）においてｎ＝４である請求項１に記載の骨代謝改善剤。

15．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類が、ゲラニルゲラニル脂肪酸エステルおよびフィチル脂肪酸エステル及びジヒドロフィチル脂肪酸エステルからなる群から選ばれる請求項１に記載の骨代謝改善剤。

16．鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類が、植物油脂から得られる請求項１に記載の骨代謝改善剤。

17. 請求項１に記載の一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨粗鬆症の予防剤又は治療剤。

18．請求項１に記載の一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善用皮膚外用剤。

19.請求項１に記載の一般式（Ｉ）で表される鎖状イソプレノイド脂肪酸エステル類を有効成分として含有する骨代謝改善用飲食物。

20. 飲食物が加工食品である請求項１９記載の骨代謝改善用飲食物。

21. 加工食品が調合油脂または油脂加工品である請求項２０記載の骨代謝改善用飲食物。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/03187

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl[7] A61K31/22, 31/231, 31/232, A61P19/08, 19/10, A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl[7] A61K31/22, 31/231, 31/232, A61P19/08, 19/10, A23L1/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS(STN), REGISTRY(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	WO 99/67809 A1 (Merck & Co., Ltd.), 29 December, 1999 (29.12.99), Particularly Claims; page 5, lines 27 to 28; page 9, lines 5 to 9; page 14, line 28 to page 15, line 14 & EP 1088333 A1	1-3,5-21 4
A	JP 4-253908 A (NOF Corp.), 09 September, 1992 (09.09.92), (Family: none)	1-21
A	JP 7-215849 A (Eisai Co., Ltd.), 15 August, 1995 (15.08.95), (Family: none)	1-21
A	EP 711749 A1 (Kuraray Co., Ltd.), 15 May, 1996 (15.05.96), & JP 8-133999 A & US 5663461 A	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 May, 2002 (17.05.02)	28 May, 2002 (28.05.02)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP02/03187

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,A	JP 2001-158736 A (Snow Brand Milk Products Co., Ltd.), 12 June, 2001 (12.06.01), (Family: none)	1-21

国際調査報告	国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ０２／０３１８７

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））
Ｉｎｔ．Ｃｌ⁷　Ａ６１Ｋ３１／２２，３１／２３１，３１／２３２，Ａ６１Ｐ１９／０８，１９／１０，Ａ２３Ｌ１／３０

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））
Ｉｎｔ．Ｃｌ⁷　Ａ６１Ｋ３１／２２，３１／２３１，３１／２３２，Ａ６１Ｐ１９／０８，１９／１０，Ａ２３Ｌ１／３０

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）
ＣＡＰＬＵＳ（ＳＴＮ），ＲＥＧＩＳＴＲＹ（ＳＴＮ）

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
X A	ＷＯ　９９／６７８０９　Ａ１（ＭＥＲＣＫ & ＣＯ.，ＩＮＣ.）1999.12.29，特にCLAIMS，第５頁第２７～２８行，第９頁第５～９行，第１４頁第２８行～第１５頁第１４行 & EP 1088333 A1	１－３，５－２１ ４
A	ＪＰ　４－２５３９０８　Ａ（日本油脂株式会社）1992.09.09 （ファミリーなし）	１－２１

☒ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。　　☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
１７．０５．０２	28.05.02

国際調査機関の名称及びあて先	特許庁審査官（権限のある職員）	４Ｃ	９４５０
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	伊藤　幸司		
	電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４５２		

国際調査報告	国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ０２／０３１８７

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求の範囲の番号
Ａ	ＪＰ　７－２１５８４９　Ａ（エーザイ株式会社）1995.08.15 （ファミリーなし）	１－２１
Ａ	ＥＰ　７１１７４９　Ａ１（KURARAY CO., LTD.）1996.05.15 & JP 8-133999 A & US 5663461 A	１－２１
Ｐ，Ａ	ＪＰ　２００１－１５８７３６　Ａ（雪印乳業株式会社）2001.06.12 （ファミリーなし）	１－２１