

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02807698.2

[51] Int. Cl.

A61K 31/22 (2006.01)

A61K 31/231 (2006.01)

A61K 31/232 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

[45] 授权公告日 2006 年 6 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1259044C

[22] 申请日 2002.3.29 [21] 申请号 02807698.2

[30] 优先权

[32] 2001.3.30 [33] JP [31] 101821/01

[86] 国际申请 PCT/JP2002/003187 2002.3.29

[87] 国际公布 WO2002/078689 日 2002.10.10

[85] 进入国家阶段日期 2003.9.29

[71] 专利权人 日清奥利友集团株式会社

地址 日本东京

[72] 发明人 筱原刚 土屋欣也 山内胜昭

乾利之

审查员 王灵茹

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 李华英

权利要求书 2 页 说明书 41 页

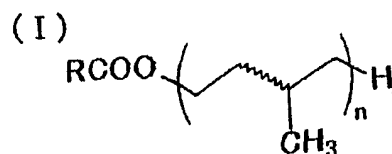
[54] 发明名称

骨代谢改善剂

[57] 摘要

本发明涉及一种骨代谢改善剂，包括一种或者多种链状类异戊二烯脂肪酸酯，优选其改善效果基于骨的吸收抑制作用和/或骨形成促进作用。

1、一种骨代谢改善剂，包括下面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分：



其中 R 代表衍生自具有 14-22 个碳原子的脂肪酸的烃官能团，波浪线是指单键或双键， n 为 4，条件是当 n 为 4 时，波浪线可以相同或不同。

2、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中它包括以下组分(A)和(B)：

(A) 通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯；和

(B) 至少一种选自以下的成员：药用可接受的基料、载体、赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、着色剂、pH 调节剂、缓冲剂、稳定剂、加溶剂、成膜剂、稀释剂、成浆液剂、增粘剂、乳化剂和表面活性剂。

3、一种骨吸收抑制剂，包括权利要求 1 中所述的通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

4、一种骨形成促进剂，包括权利要求 1 中所述的通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

5、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的脂肪酸是直链不饱和脂肪酸。

6、如权利要求 5 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的直链不饱和脂肪酸是选自 $n-6$ 型不饱和脂肪酸、 $n-3$ 型不饱和脂肪酸和共轭脂肪酸的一种成员。

7、如权利要求 6 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的 $n-6$ 型不饱和脂肪酸是选自亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸的一种成员。

8、如权利要求 6 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的 n-3 型不饱和脂肪酸是选自 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸的一种成员。

9、如权利要求 6 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的共轭脂肪酸是选自共轭亚油酸和 α -桐酸的一种成员。

10、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的醇是选自香叶草基-香叶醇、植醇和二氢植醇的一种成员。

11、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中构成链状类异戊二烯脂肪酸酯的醇是得自植物油脂的醇。

12、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中链状类异戊二烯脂肪酸酯是选自香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯中的一种成员。

13、如权利要求 1 的骨代谢改善剂，其中链状类异戊二烯脂肪酸酯是得自植物油脂的酯。

14、一种预防或治疗骨质疏松症的药剂，包括权利要求 1 中所述的通式 (I) 所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

15、一种改善骨代谢的皮肤用药剂，包括权利要求 1 中所述的通式 (I) 所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

16、一种改善骨代谢的食品或饮料，包括权利要求 1 中所述的通式 (I) 所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

17、如权利要求 16 的改善骨代谢的食品或饮料，其中食品或饮料是加工食品。

18、如权利要求 17 的改善骨代谢的食品或饮料，其中加工食品是一种调和油脂或者通过将油脂加入到食物中制得的食物。

骨代谢改善剂

发明领域

本发明涉及一种骨代谢改善剂，它包括链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分，它具有优异的骨代谢改善效果和可吸收性，安全，并且在价格上有利，本发明还涉及一种改善骨代谢的食品或饮料。

发明背景

最近，由于例如医疗技术的进步，人类的平均寿命逐渐上升。因此，在因寿命上升而高速老龄化的社会里，在衰老时怎样渡过并使生活丰富对老龄人来说是相当重要的。为了提高其生活质量，老龄人的精神和身体的健康是必要的，为此，关键或重要的是开发防止或阻止老化的任何方式。基于前面的观点已描述了各种老化现象，并且最近将骨质疏松症作为典型老年病受到特别关注。具体地说，骨质疏松症是一种全身性疾病，其中骨头易碎，并且受同样伤害的患者易患骨折。这将是一种引起大量社会问题的疾病。例如，这可以相应地造成股骨颈骨折以及脊柱压缩性骨折，这将伴随着严重的疼痛，并且由于这种骨折，可能导致病人卧床不起。

在正常情况下，骨头总是重复再造，因此保持骨代谢平衡。更具体地说，骨在 120-150 天的一个周期内新旧替换，其数量没有任何变化，同时在组织破坏和吸收的系统(骨吸收系统)之间保持平衡，这样通过破骨细胞钙化从骨到血液补充生命活动所需的钙组分，并在该系统(骨形成系统)中成骨细胞和骨细胞将骨胶原和/或钙作为骨基质沉积到骨上。然而在骨质疏松时，在这种骨代谢中存在异常，或者骨吸收能力超过骨形成功能，并且这可能导致骨数量减少并且骨变得易碎。具体地说，在绝经期之后的妇女中，分泌并形成雌性激素(具有骨吸收抑制作用和骨形成促进作用)的功能迅速减弱，因此她们对骨代谢的异常相当敏感，

她们在骨吸收能力和骨形成功能之间失去平衡。为此，她们易于患骨质疏松症。事实上，每 3 个 45 岁或以上的妇女中就有 1 个已患骨质疏松症，或者骨数量减少相当大。因此，可能需要具有改善或消除骨代谢中这种异常的效果的物质作为与骨有关的疾病如骨质疏松症的预防剂或治疗剂。

以前已推荐，从改善骨代谢并预防骨质疏松症的角度以膳食形式摄取足量的钙、维生素 D 和维生素 K。然而目前人们为了有效地摄取这些营养素，必需注意其饮食习惯，并且仅害怕患这种病的人改善了他们的饮食习惯。而且，这些营养素也已经以保健食品的形式如片剂和补充物商业供应或销售。但是还没有解决许多问题，例如这些营养素的可吸收性、稳定性和价格。根据目前的状况，一直希望开发一种物质，它具有骨代谢改善效果和预防骨质疏松的效果，能够有效地吸收，稳定，并且能够以低的价格提供。

迄今为止，例如已经开发了雌激素、降钙素、异丙氧黄酮、活性维生素 D3、二磷酸盐和维生素 K2 作为治疗骨质疏松症的治疗剂。然而，这些传统的治疗剂分别具有许多缺陷或引起各种有害的副作用。例如，给予雌激素导致月经样出血(假性月经)，引起一些令人不快的感觉，例如乳房胀痛，并且可能增加例如乳腺癌(乳癌)的疾病的发病率。降钙素是一种肽，它仅能通过注射给药。给予异丙氧黄酮会引起胃肠消化紊乱。活性维生素 D3 可以诱导高钙血症并且可能引起尿石症和消化器官紊乱。给予二磷酸盐同样可以抑制患者的骨形成功能。维生素 K2 也显示凝血效果，因此其给药受到特定患者的限制。此外，所有这些治疗剂不足以建立作为治疗剂的功效与便利或其价格之间的平衡。为此，最近已集中开发新的治疗剂，以及从这些角度开发食品和饮料。

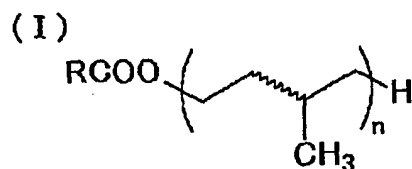
发明概述

因此本发明的目的是提供一种骨代谢改善剂，它具有优异的骨代谢改善效果、可吸收性和安全性，并且在价格方面有益，本发明的另一目的是提供一种骨代谢改善剂以及一种改善骨代谢的食品和饮料，它们可

以通过口或非肠道给予。

为了完成前述目的，本发明的发明人已进行了各种研究，已发现链状类异戊二烯脂肪酸酯显示与维生素 K2 作为防骨质疏松剂获得的相同或优于它的骨代谢改善效果，这些酯具有高的可吸收性和安全性，并且它们不贵，因此完成了本发明。

根据本发明，提供了一种骨代谢改善剂，包括下面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分，优选一种骨代谢改善剂，其效果以骨吸收抑制作用和/或骨形成促进作用为基础。



其中，R 代表任意的烃官能团，波浪线是指单键或双键，n 代表 1-14 的整数，条件是当 n 是 2 或更大时，波浪线可以相同或不同。

在这一点上，作为链状类异戊二烯脂肪酸酯的脂肪酸，在它们具有 2-30 个碳原子的范围内，该脂肪酸没有特别的限制。该脂肪酸优选是具有 8-22 个碳原子的，更优选具有 14-22 个碳原子的。这些脂肪酸的实例包括直链饱和脂肪酸、直链不饱和脂肪酸、支链脂肪酸、羟基脂肪酸、环氧基脂肪酸、酮脂肪酸和环状脂肪酸。其中，从自然界中量大的角度和骨代谢改善效果来讲，优选直链脂肪酸，具体地说，本文优选使用的包括直链不饱和脂肪酸，例如 n-6 型不饱和脂肪酸、n-3 型不饱和脂肪酸和共轭脂肪酸。这些 n-6 型不饱和脂肪酸的具体实例优选亚油酸、 α -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸；n-3 型不饱和脂肪酸的具体实例优选 α -亚油精、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸；共轭脂肪酸的具体实例优选共轭亚油酸和 α -桐酸。

而且，从骨代谢改善效果的角度，骨代谢改善剂优选包括 n = 2-4 的前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯，更优选骨代谢改善

剂包括 $n = 4$ 的前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯, 特别优选骨代谢改善剂包括选自以下物质组成的组的链状类异戊二烯脂肪酸酯: 香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯。在这一点上, 脂肪酸与上面讨论的相同。

本发明也涉及一种骨吸收抑制剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

本发明还涉及一种骨形成促进剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

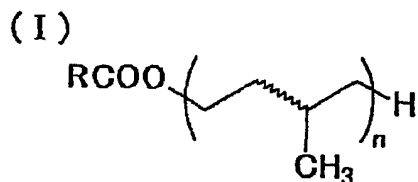
本发明同样涉及一种前述骨代谢改善剂的使用方法, 更具体地说, 本发明涉及一种使用它作为治疗剂的治疗方法以及它通过口或皮下路径给药的日常使用方法。因此, 本发明也涉及一种骨代谢改善剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯, 并在外部施加到皮肤。

本发明的骨代谢改善剂有效地预防和/或治疗与骨代谢的任何异常有关的疾病, 但是本发明的该药剂优选用于预防和/或治疗骨质疏松症的目的。因此, 本发明同样涉及一种预防和/或治疗骨质疏松症的药剂, 它包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

本发明也涉及一种改善骨代谢的食品或饮料, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

实施本发明的最佳方式

本发明涉及一种骨代谢改善剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分, 优选一种骨代谢改善剂, 其效果以该化合物的骨吸收抑制作用和/或骨形成促进作用为基础:



其中 $-\text{OOCR}$ 代表可衍生的酯基, 例如能够由链状类异戊二烯醇和许多脂肪酸之一获得的酯基, R 代表任意的烃官能团, 波浪线是指单键或

双键, n 代表 1-14 的整数, 条件是当 n 是 2 或更大时, 波浪线可以相同或不同。

在通式(I)中, 在 R 是得自具有 2-30 个碳原子的脂肪酸的烃官能团的范围内, R 没有特别的限制。具体地说, 该基团优选是得自具有 8-22 个碳原子的脂肪酸的烃官能团, 更优选是得自具有 14-22 个碳原子的脂肪酸的烃官能团。在这一点上, 脂肪酸可以选自: 直链饱和脂肪酸, 例如乙酸、丁酸、己酸、辛酸、癸酸、十一酸、十二酸、十三酸、十四酸、十五酸、十六酸、十七酸、十八酸、十九酸、二十酸、二十二酸、二十四酸、二十六酸、二十九酸和三十酸; 直链不饱和脂肪酸, 例如, 单不饱和脂肪酸如癸烯酸、十二烯酸、粗租酸、十六烯酸、油酸、反油酸、异油酸、顺-异油酸、芫荽油酸、鳕油酸、二十碳烯酸、芥酸、鲸蜡油酸、神经酸、西门木烯酸和三十碳-21-烯酸; $n-3$ 型不饱和脂肪酸如 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸; $n-6$ 型不饱和脂肪酸如亚油酸、反亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸; 共轭脂肪酸如共轭亚油酸和 α -桐酸; 在其 5-位带有双键的脂肪酸如 pinolenic acid、二十四碳五烯酸(sciadonic acid)、圆柏酸和 columbinic acid; 除上面列出的之外的多价不饱和脂肪酸, 例如 hiragonic acid、摸绕酸、鱼泡酸和尼生酸; 支链脂肪酸如异丁酸、异戊酸、iso acid 和 anti-iso acid; 羟基脂肪酸如 α -羟酸、 β -羟酸、霉菌酸和多羟酸; 环氧脂肪酸、酮脂肪酸; 和环状脂肪酸。其中, 从自然界中量大以及骨代谢改善效果的角度, 优选直链脂肪酸, 具体地说, 本文优选使用的包括直链不饱和脂肪酸, 例如 $n-6$ 型不饱和脂肪酸、 $n-3$ 型不饱和脂肪酸和共轭脂肪酸。这些 $n-6$ 型不饱和脂肪酸的具体实例优选包括亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸; $n-3$ 型不饱和脂肪酸的具体实例优选包括 α -亚油精、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸; 共轭脂肪酸的具体实例优选包括共轭亚油酸和 α -桐酸。

而且, 从骨代谢改善效果的角度, 骨代谢改善剂优选包括 $n = 2-4$ 的前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯, 更优选骨代谢改善

剂包括 $n = 4$ 的前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯, 特别优选骨代谢改善剂包括选自以下物质组成的组的链状类异戊二烯脂肪酸酯: 香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯。在这一点上, 脂肪酸与上面讨论的相同。

本发明也涉及一种骨吸收抑制剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

本发明还涉及一种骨形成促进剂, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯。

前面的链状类异戊二烯脂肪酸酯并不特别地限制其来源, 例如可以是天然存在的以及人工合成的。在这一点上, 这些酯在作为天然源的植物内量相当大, 因此它们优选得自植物。在它们是经人工制备的情况下, 可以按照化学合成、酶反应或使用微生物的发酵制备它们, 由于使用酶反应的方法简单且方便, 因此特别优选它。

本发明的骨代谢改善剂有效地预防和/或治疗与骨代谢的任何异常有关的疾病, 但是本发明的该药剂尤其优选用于预防和/或治疗骨质疏松症的目的。因此, 本发明同样涉及一种预防和/或治疗骨质疏松症的药剂, 它包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

本发明同样涉及一种前述骨代谢改善剂的使用方法, 更具体地说, 本发明涉及一种使用它作为治疗剂的治疗方法以及它通过口或皮下路径给药的日常使用方法。

本发明也涉及一种食品或饮料, 包括前面通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯作为活性成分。

本发明涉及一种骨代谢改善剂, 包括通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯(本文后面称之为“类异戊二烯酯”)。在这一点上, 本文所用的术语“骨代谢改善剂”是指一种用于改善骨代谢的药剂, 具体地说, 该术语既包括用作最终药的骨代谢改善剂, 也包括用作其它产品如药品、食品和饮料、饲料和化妆品的组分的骨代谢改善剂。将它们彼此清楚且明确地区分是困难的, 但是前者主要包括在完全控制的条件下配

制的那些，并且其组成和成分一定，而后者包括组成和成分未完全阐明或确定的组分，例如粗产物。

本发明的食品和饮料可以包括各种食品和饮料，例如甜食、加工食品(食品制品)、调和油脂、向食物中加入油脂制得的食品(含有油脂的食品制品)、乳制品、和各种饮料。本发明的食品和饮料在其形状和性能方面没有限制，例如可以任何状态，固体、半固体、凝胶状、液体或粉末状态。

本发明涉及一种骨代谢改善剂、一种骨吸收抑制剂、一种骨形成促进剂、一种预防和/或治疗骨质疏松症的药剂和一种改善骨代谢的食品或饮料，它们包括通式(I)所代表的类异戊二烯酯。在这一点上，术语“链状类异戊二烯脂肪酸酯”从其结构的角度是指一种具有链状类异戊二烯醇与脂肪酸经脱水缩合形成的结构的酯。一般说来链状类异戊二烯醇具有通过多个异戊二烯单元相连获得的链状结构，每个异戊二烯单元具有5个碳原子并带有一个羟基。而且，本文所用的酯衍生物是指能够由链状类异戊二烯醇的羟基与脂肪酸的羧基形成的。

本发明涉及一种骨代谢改善剂。在这一点上，术语“骨代谢改善效果”是指改善症状的效果，其中涉及破骨细胞的骨吸收系统与涉及成骨细胞的骨形成系统之间的平衡被破坏，因此保持骨代谢的平衡。

加入到本发明骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯具有骨吸收抑制效果。本文所用的术语“骨吸收”是指观察到血液中钙浓度降低时，通过破骨细胞将钙从骨补充到血液的骨溶解作用。因此，本发明的骨代谢改善剂通过直接抑制破骨细胞的形成控制骨吸收，或者通过间接抑制成骨细胞的活性，可以显示其骨吸收抑制效果。在常规骨再造中，骨吸收的量略等于骨形成的量。然而，在消耗骨的状态下，例如在骨质疏松症时，前面系统之间的平衡被破坏，更具体地说，相应于骨吸收增加，骨形成却都没有增加，或者相应于骨形成的降低，骨吸收一点都没有被抑制。在这种情况下，本发明的骨代谢改善剂将通过其骨吸收抑制效果抑制任何过量的骨吸收，因此消除骨吸收和骨形成之间的所需代谢平衡紊乱的症状。

本发明的骨代谢改善剂中包括的类异戊二烯酯的上述骨吸收抑制效果具体是由于链状类异戊二烯中存在的侧链。这也得到例如维生素 K2 和链状类异戊二烯醇，特别是香叶草基香叶草醇等显示优异的骨吸收效果的事实的支持(参见，例如，日本未审专利公开本(本文下面称之为“日本特开”)平 7-215849 和平 11-130670; 日本油脂化学协会公报，1996，第 45 卷第 5 期第 435-443 页)。

事实上，加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯的骨吸收抑制效果可以通过在共存的细胞培养(共培养)体系中的破骨细胞-形成-抑制作用得到证实。本文所用的细胞共培养体系是指这样一种体系，其中成骨细胞和造血干细胞在有促进破骨细胞形成的因子的情况下经过共培养，因此能够容易地分析破骨细胞的分化过程(Endocrinology, 1988, 123: 2600-2602)。在该体系中，形成破骨细胞，因此可以通过测定细胞层中的抗酒石酸的酸性磷酸酶(TRACP)活性作为指示破骨细胞的参数来评价破骨细胞的形成程度。

当将类异戊二烯酯加入到前面的共存细胞培养体系中时，一般说来，与对照(没有任何加入的类异戊二烯酯的体系)相比，该 TRACP 活性降低。换句话说，加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯通过直接抑制破骨细胞的形成来控制骨吸收，或者通过间接抑制破骨细胞的活性，而显示其骨吸收抑制效果是显而易见的。在常规骨再造中，骨吸收的量略等于骨形成的量。而且，类异戊二烯酯的骨吸收抑制效果等于或超过用维生素 K(具体地说是维生素 K2 (MK-4))(通常已知具有骨代谢改善效果)观察到的效果。

加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯具有骨形成促进作用。本文所用的术语“骨形成”是指成骨细胞的作用或者骨基质的形成及其钙化。因此，本发明的骨代谢改善剂通过促进成骨细胞增殖并激活成骨细胞同样可以显示骨形成促进效果。在常规骨再造中，骨吸收的量略等于形成的骨的量。然而，在消耗骨的状态下，例如在骨质疏松症时，前述系统之间的平衡被破坏，更具体地说，相应于骨吸收增加，骨形成一点都没有促进，或者相应于骨形成的降低，骨吸收一点都没有被

抑制。在这种情况下，本发明的骨代谢改善剂将通过其骨形成促进作用改善或强化骨形成能力，因此消除骨吸收和骨形成之间的所需代谢平衡紊乱的症状。

加入到本发明骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯的前述骨形成促进作用具体地说可归因于其脂肪酸侧链。这也得到例如二十碳五烯酸(日本油脂化学协会公报，2000，第49卷第11和12期第1391-1399页)和共轭亚油酸(脂质，1998，第33卷第4期第417-425页)具有优异的骨形成促进作用的事实的支持。

事实上，加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯的骨形成促进效果可以通过在细胞培养体系中观察到的成骨细胞生长促进效果得到证实(Calcif. Tissue Int., 1996, 59: 466-473)。在该体系中，成骨细胞被增殖，并且成骨细胞的活性得到增加。因此，物质对成骨细胞形成的任何影响都可以通过例如测定细胞增殖率和碱性磷酸酶(ALP)活性作为活性参数来评价。

当将加入到本发明骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯加入到前面的细胞培养体系中时，与对照(没有任何加入的类异戊二烯酯)相比，该细胞增殖速度增加。换句话说，在本发明中所用的类异戊二烯酯显示促进骨形成中涉及的成骨细胞增殖的效果。与此相反，维生素 K2 (MK-4) (通常已知具有骨代谢改善效果)，在相同细胞培养体系中降低了细胞增殖速度，并且当其加入浓度高时，它可能对细胞施加有害的影响，因此导致细胞灭亡。由前述，可以使用本发明所用的类异戊二烯酯促进成骨细胞，并且可以猜想它们是相当安全的。

当将加入到本发明骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯加入到前述细胞培养体系中时，与对照(没有任何加入的类异戊二烯酯的体系)相比，一般来说 ALP 活性提高。换句话说，将意识到加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯也显示提高成骨细胞活性的细胞。

正如上面已经讨论的，本发明的骨代谢改善剂尤其具有得自链状类异戊二烯侧链的骨吸收抑制作用或者得自脂肪酸侧链的骨形成促进作用，或者这二者都具有，并且这些作用对改善骨代谢的平衡相当有利。

具体地说, 由于这两种作用可以协同地用于改善骨代谢的平衡, 因此应相当优选该药剂具有这两种作用。而且, 骨吸收抑制作用和骨形成促进作用分别源自上述酯的链状类异戊二烯侧链和脂肪酸侧链, 因此这些链状类异戊二烯侧链和脂肪酸侧链的种类可以合适地选择或设计, 由此设计每一具体的类异戊二烯酯的所需骨吸收抑制作用和骨形成促进作用。

在这一点上, 在其碳原子为 2-30 个的范围内, 构成通式(I)所代表的类异戊二烯酯的脂肪酸部分或官能团没有特别的限制。具体地说, 这些优选的官能团优选是得自具有 8-22 个碳原子的脂肪酸的, 更优选这些官能团是得自具有 14-22 个碳原子的脂肪酸的。这些脂肪酸的具体实例是: 直链饱和脂肪酸, 例如乙酸、丁酸、己酸、辛酸、癸酸、十一酸、十二酸、十三酸、十四酸、十五酸、十六酸、十七酸、十八酸、十九酸、二十酸、二十二酸、二十四酸、二十六酸、二十九酸和三十酸; 直链不饱和脂肪酸, 例如, 单不饱和脂肪酸如癸烯酸、十二烯酸、粗粗酸、十六烯酸、油酸、反油酸、异油酸、顺-异油酸、芜荑油酸、鳕油酸、二十碳烯酸、芥酸、鲸蜡油酸、神经酸、西门木烯酸和三十碳-21-烯酸; n-3 型不饱和脂肪酸如 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸; n-6 型不饱和脂肪酸如亚油酸、反亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸; 共轭脂肪酸如共轭亚油酸和 α -桐酸; 在其 5-位带有双键的脂肪酸如 pinolenic acid、二十四碳五烯酸、圆柏酸和 columbinic acid; 除上面列出的之外的多价不饱和脂肪酸, 例如 hiragonic acid、摸绕酸、鱼泡酸和尼生酸; 支链脂肪酸如异丁酸、异戊酸、iso acid 和 anti-iso acid; 羟基脂肪酸如 α -羟酸、 β -羟酸、霉菌酸和多羟酸; 环氧脂肪酸、酮脂肪酸; 和环状脂肪酸。

作为前面的脂肪酸, 本文优选使用的是直链脂肪酸, 具体地说由于它们在自然界中的量大。而且存在这样一种趋势, 双键的存在可以加速骨形成, 因此优选直链不饱和脂肪酸, 特别是单不饱和脂肪酸, 例如十六碳烯酸、油酸、异油酸和芥酸; n-6 型不饱和脂肪酸如亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸; n-3 型不饱和脂肪酸如 α -亚麻

酸、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸；和共轭脂肪酸如共轭亚油酸和 α -桐酸。

从骨代谢改善效果，特别是骨形成促进效果的角度，本文优选使用的前述脂肪酸包括，例如 n-6 型不饱和脂肪酸，例如亚油酸、 γ -亚麻酸、双高- γ -亚麻酸和花生四烯酸；n-3 型不饱和脂肪酸，例如 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸；和共轭脂肪酸，例如共轭亚油酸和 α -桐酸。

可用于制备本发明所用的类异戊二烯酯的链状类异戊二烯醇对其来源没有限制，例如可以是天然存在的和人工合成的。在这一点上，这些醇在作为天然源的植物中的含量相当大，因此它们优选得自植物。其具体实例是：香叶醇、法尼醇、香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇。其中优选香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇。

构成本发明所用的类异戊二烯酯的链状类异戊二烯醇具有通过还原通式(I)所代表的类异戊二烯酯获得的结构。在通式(I)中，当 n 是 2 或更大时，波浪线可以相同或不同。换句话说，用于制备本发明所用的类异戊二烯酯的醇可以具有一个或者至少两个单键以及一个或至少两个双键。这些醇的实例是植醇和二氢植醇。可用于本发明的醇的具体实例是香叶醇、法尼醇、香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇。其中本文优选使用的包括香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇。

可用于制备本发明所用的类异戊二烯酯的链状类异戊二烯醇对其来源没有限制，例如可以是天然存在的和人工合成的。在这一点上，这些醇在作为天然源的植物中的含量相当大，因此它们优选得自植物。更具体地说，优选用作油脂原料的植物，更优选得自植物的油脂。这些植物的油脂没有任何特定的限制，但是本文优选使用的具体实例是粗大豆油、粗菜籽油、粗棉籽油、粗向日葵油、粗红花油、粗芝麻油、橄榄油、粗亚麻子油、粗米糠油、棕榈油、可可脂和爪哇木棉油，特别优选的植物油脂是粗芝麻油和粗亚麻子油。

包括在本发明骨代谢改善剂中的链状类异戊二烯酯是一种高度安全的化合物。链状类异戊二烯是一种在活体中生物合成例如胆固醇、类固

醇或生育酚合成期间形成的前体，而脂肪酸是活体必不可少的物质。这些事实也证实了它们具有相当高的安全性。

当将链状类异戊二烯酯给予动物时通过测定观察到的 LD50 值也可以证实它的这种高的安全性。事实上，发现其 LD50 值不小于 2000 mg/kg 体重。

如上所述，加入到本发明的骨代谢改善剂的类异戊二烯酯具有与一系列维生素 K(其骨代谢改善效果已确切地知道)观察到的相同或超过其的骨代谢改善效果。换句话说，这些酯具有与对维生素 K 观察到的相同或超过其的破骨细胞生长抑制作用和骨形成促进作用。此外，与维生素 K 不同的是，使用本发明所用的类异戊二烯酯促进成骨细胞增殖，并且没有显示任何细胞毒性。而且。就这些物质的生产成本或供应而言，维生素 K 相当昂贵，而本发明所用的类异戊二烯酯可以低的生产成本制备。当将前面的加在一起时，即使将它们与维生素 K 相比时，本发明所用的类异戊二烯酯也是相当优选的物质。

此外，本发明所用的类异戊二烯酯是脂肪酸的酯衍生物，因此它们是高度脂溶性的。为此，当它们用于油体系或乳化体系时，它们可以象常规油溶性组分操作。而且，它们几乎无味、无臭和无色，由于它们在口味、气味和颜色方面没有限制，因此其使用相当受欢迎。换句话说，它们可以用于各种领域，没有任何麻烦。

从可吸收性的角度，本发明所用的类异戊二烯酯相当有利，由于它们整体上为脂溶性的，因此希望它们与油一起被吸收。因此，应预料到它们与本身在吸收性方面优异的油组分一起被吸收，因此，它们优选在油体系或乳液体系中使用。本发明并不限于下面的，但是当它们例如用于食品或饮料，特别是它们以调和油的形式或者通过向食品中加入油脂制得的食品时，希望它们在体内可以与油组分一起被吸收。此外，当它们以在外部施加到皮肤上的油性药剂如软膏使用时，希望它们通过皮肤有效地被吸收。

而且，在考虑到骨代谢改善效果时，特别是骨吸收抑制效果的强度和酯可利用性方面，本发明的骨代谢改善剂优选包括 $n = 2-4$ ，特别是

$n = 4$ 的通式(I)所代表的类异戊二烯酯, 更具体地说, 该骨代谢改善剂优选包括选自以下的类异戊二烯酯: 香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯。

本文所用的这些香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯是指 $n = 4$ 的通式(I)所代表的类异戊二烯酯, 并且彼此在双键的数量和位置方面不同。但是已知这些酯痕量存在于大自然中。在本发明中, 类异戊二烯酯可以是包括天然存在的或人工合成的任何一种, 但是考虑到例如其对人体的任何影响和其在实际使用时的安全性, 优选将天然存在的用于本发明。另一方面, 在考虑稳定供应时, 优选使用人工合成的。

香叶草基-香叶草基脂肪酸酯的实例包括, 但不限于, 香叶草基-香叶草基乙酸酯、香叶草基-香叶草基丁酸酯、香叶草基-香叶草基己酸酯、香叶草基-香叶草基辛酸酯、香叶草基-香叶草基癸酸酯、香叶草基-香叶草基十一酸酯、香叶草基-香叶草基十二酸酯、香叶草基-香叶草基十三酸酯、香叶草基-香叶草基十四酸酯、香叶草基-香叶草基十五酸酯、香叶草基-香叶草基十六酸酯、香叶草基-香叶草基十七酸酯、香叶草基-香叶草基十八酸酯、香叶草基-香叶草基十九酸酯、香叶草基-香叶草基二十酸酯、香叶草基-香叶草基二十二酸酯、香叶草基-香叶草基二十四酸酯、香叶草基-香叶草基二十六酸酯、香叶草基-香叶草基二十九酸酯、香叶草基-香叶草基三十酸酯、香叶草基-香叶草基癸烯酸酯、香叶草基-香叶草基十二烯酸酯、香叶草基-香叶草基粗租酸酯、香叶草基-香叶草基十六烯酸酯、香叶草基-香叶草基油酸酯、香叶草基-香叶草基反油酸酯、香叶草基-香叶草基异油酸酯、香叶草基-香叶草基顺-异油酸酯、香叶草基-香叶草基芫荽油酸酯、香叶草基-香叶草基鳕油酸酯、香叶草基-香叶草基二十碳烯酸酯、香叶草基-香叶草基芥酸酯、香叶草基-香叶草基鲸蜡油酸酯、香叶草基-香叶草基神经酸酯、香叶草基-香叶草基西门木烯酸酯、香叶草基-香叶草基 λ -柠檬酸酯、香叶草基-香叶草基 α -亚麻酸酯、香叶草基-香叶草基十八碳四烯酸酯、香叶草基-香叶草基二十碳四烯酸酯、香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯、

香叶草基-香叶草基二十二碳五烯酸酯、香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯、香叶草基-香叶草基亚油酸酯、香叶草基-香叶草基反亚油酸酯、香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯、香叶草基-香叶草基双高- γ -亚麻酸酯、香叶草基-香叶草基花生四烯酸酯、香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯、香叶草基-香叶草基 α -桐酸酯、香叶草基-香叶草基 pinolenic acid 酯、香叶草基-香叶草基二十四碳五烯酸酯、香叶草基-香叶草基圆柏酸酯、香叶草基-香叶草基 columbinic acid 酯、香叶草基-香叶草基 hiragonic acid 酯、香叶草基-香叶草基摸绕酸酯、香叶草基-香叶草基鱼泡酸酯、香叶草基-香叶草基尼生酸酯、香叶草基-香叶草基异丁酸酯、香叶草基-香叶草基异戊酸酯、香叶草基-香叶草基 iso acid 酯、香叶草基-香叶草基 anti-iso acid 酯、香叶草基-香叶草基 α -羟酸酯、香叶草基-香叶草基 β -羟酸酯、香叶草基-香叶草基霉菌酸酯、香叶草基-香叶草基多羟酸酯、香叶草基-香叶草基环氧脂肪酸酯、香叶草基-香叶草基酮脂肪酸酯和香叶草基-香叶草基环状脂肪酸。在这些香叶草基-香叶草基脂肪酸酯中，优选香叶草基-香叶草基辛酸酯、香叶草基-香叶草基癸酸酯、香叶草基-香叶草基十二酸酯、香叶草基-香叶草基十四酸酯、香叶草基-香叶草基十六酸酯、香叶草基-香叶草基十八酸酯、香叶草基-香叶草基油酸酯、香叶草基-香叶草基 α -亚麻酸酯、香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯、香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯、香叶草基-香叶草基亚油酸酯、香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯和香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯。

植基脂肪酸酯的实例包括，但不限于，植基乙酸酯、植基丁酸酯、植基己酸酯、植基辛酸酯、植基癸酸酯、植基十一酸酯、植基十二酸酯、植基十三酸酯、植基十四酸酯、植基十五酸酯、植基十六酸酯、植基十七酸酯、植基十八酸酯、植基十九酸酯、植基二十酸酯、植基二十二酸酯、植基二十四酸酯、植基二十六酸酯、植基二十九酸酯、植基三十酸酯、植基癸烯酸酯、植基十二烯酸酯、植基粗租酸酯、植基十六烯酸酯、植基油酸酯、植基反油酸酯、植基异油酸酯、植基顺-异油酸酯、植基芜荑油酸酯、植基鳕油酸酯、植基二十碳烯酸酯、植基芥酸

酯、植基鲸蜡油酸酯、植基神经酸酯、植基西门木烯酸酯、植基三十碳-21-烯酸酯、植基 α -亚麻酸酯、植基十八碳四烯酸酯、植基二十碳四烯酸酯、植基二十碳五烯酸酯、植基二十二碳五烯酸酯、植基二十二碳六烯酸酯、植基亚油酸酯、植基反亚油酸酯、植基 γ -亚麻酸酯、植基双高 γ -亚麻酸酯、植基花生四烯酸酯、植基共轭亚油酸酯、植基 α -桐酸酯、植基 pinolenic acid 酯、植基二十四碳五烯酸酯、植基圆柏酸酯、植基 columbinic acid 酯、植基 hiragonic acid 酯、植基摸绕酸酯、植基鱼泡酸酯、植基尼生酸酯、植基异丁酸酯、植基异戊酸酯、植基 iso acid 酯、植基 anti-iso acid 酯、植基 α -羟酸酯、植基 β -羟酸酯、植基霉菌酸酯、植基多羟酸酯、植基环氧脂肪酸酯、植基酮脂肪酸酯和植基环状脂肪酸。在这些植基脂肪酸酯中，优选植基辛酸酯、植基癸酸酯、植基十二酸酯、植基十四酸酯、植基十六酸酯、植基十八酸酯、植基油酸酯、植基 α -亚麻酸酯、植基二十碳五烯酸酯、植基二十二碳六烯酸酯、植基亚油酸酯、植基 γ -亚麻酸酯和植基共轭亚油酸酯。

二氢植基脂肪酸酯的实例包括，但不限于，二氢植基乙酸酯、二氢植基丁酸酯、二氢植基己酸酯、二氢植基辛酸酯、二氢植基癸酸酯、二氢植基十一酸酯、二氢植基十二酸酯、二氢植基十三酸酯、二氢植基十四酸酯、二氢植基十五酸酯、二氢植基十六酸酯、二氢植基十七酸酯、二氢植基十八酸酯、二氢植基十九酸酯、二氢植基二十酸酯、二氢植基二十二酸酯、二氢植基二十四酸酯、二氢植基二十六酸酯、二氢植基二十九酸酯、二氢植基三十酸酯、二氢植基癸烯酸酯、二氢植基十二烯酸酯、二氢植基粗粗酸酯、二氢植基十六烯酸酯、二氢植基油酸酯、二氢植基反油酸酯、二氢植基异油酸酯、二氢植基顺-异油酸酯、二氢植基芜荑油酸酯、二氢植基鳕油酸酯、二氢植基二十碳烯酸酯、二氢植基芥酸酯、二氢植基鲸蜡油酸酯、二氢植基神经酸酯、二氢植基西门木烯酸酯、二氢植基三十碳-21-烯酸酯、二氢植基 α -亚麻酸酯、二氢植基十八碳四烯酸酯、二氢植基二十碳四烯酸酯、二氢植基二十碳五烯酸酯、二氢植基二十二碳五烯酸酯、二氢植基二十二碳六烯酸酯、二氢植基亚油酸酯、二氢植基反亚油酸酯、二氢植基 γ -亚麻酸酯、二氢植基双高 γ -亚

麻酸酯、二氢植基花生四烯酸酯、二氢植基共轭亚油酸酯、二氢植基 α -桐酸酯、二氢植基 pinolenic acid 酯、二氢植基二十四碳五烯酸酯、二氢植基圆柏酸酯、二氢植基 columbinic acid 酯、二氢植基 hiragonic acid 酯、二氢植基摸绕酸酯、二氢植基鱼泡酸酯、二氢植基尼生酸酯、二氢植基异丁酸酯、二氢植基异戊酸酯、二氢植基 iso acid 酯、二氢植基 anti-iso acid 酯、二氢植基 α -羟酸酯、二氢植基 β -羟酸酯、二氢植基霉菌酸酯、二氢植基多羟酸酯、二氢植基环氧脂肪酸酯、二氢植基酮脂肪酸酯和二氢植基环状脂肪酸。在这些二氢植基脂肪酸酯中，优选二氢植基辛酸酯、二氢植基癸酸酯、二氢植基十二酸酯、二氢植基十四酸酯、二氢植基十六酸酯、二氢植基十八酸酯、二氢植基油酸酯、二氢植基 α -亚麻酸酯、二氢植基二十碳五烯酸酯、二氢植基二十二碳六烯酸酯、二氢植基亚油酸酯、二氢植基 γ -亚麻酸酯和二氢植基共轭亚油酸酯。

在自然界这些类异戊二烯酯存在于各种植物体中，因此它们可以从这些植物体中通过例如提取获得。这些植物体原料没有特别的限制，但是这些类异戊二烯酯高度脂溶，由于粗植物油中这些酯的含量高，并且它们可以相对低的价格大量获得，因此其优选的实例是粗植物油。当使用粗植物油作为这些酯的原料时，使用这些物料的制备方法没有任何特别的限制，但是这些类异戊二烯酯可以被提取或分离并提纯，例如通过溶剂提取法、使用在这些酯和杂质之间的溶解度不同的方法、分级沉淀法和液相色谱法，这些方法可以单独使用，或者以任何合适的组合使用，或者可以重复使用。

具体地说，由香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇与各种脂肪酸得到的酯广泛存在于自然界中，尤其是它们大量存在于植物体内。为此，用于制备上述物质的原料的优选实例是天然存在的植物，尽管这些原料并不限于具体的。而且，这些原料优选是用作油脂用的植物，同时考虑上述物质的脂溶性，这些原料更优选是得自植物的油脂。这些植物的油脂的实例包括，但不限于，粗大豆油、粗菜籽油、粗棉籽油、粗向日葵油、粗红花油、粗芝麻油、橄榄油、粗亚麻子油、粗米糠油、棕榈油、

可可脂和爪哇木棉油，考虑这些物质的含量，特别优选的植物油脂是粗芝麻油、粗亚麻子油、粗大豆油和粗菜籽油。这些植物的油脂及其原料分布广泛，因此从其稳定供应的角度，优选将它们用于本文。而且，通式(I)所代表并用于本发明的类异戊二烯酯同样可以由这些植物的油的生产过程中产生的产物制备，这些产物例如有压制残余物、提取残余物、榨油残余物、压制油、提取油、degamming oil lees、脱氧油饼、深色油料、废物脱色剂、脱臭浮渣、油提取汁、废水和废物过滤器介质。在这些产物中，优选例如废物脱色剂和脱臭浮渣。由香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇与各种脂肪酸得到的这些酯可以通过如下获得：将上述原料例如用溶剂提取，再优选经过浓缩和/或分馏纯化步骤，特别优选是高度纯化的产品或分离的产品。在本发明中，可以使用在这些方法中或期间获得的任何产品，不会有任何问题。在这一点上，这些方法，例如前述的提取、或浓缩和/或分馏纯化并不限于特定的物质。然而，其具体实例包括溶剂提取法、使用在酯和杂质之间的溶解度不同的方法、分级沉淀法、和液相色谱法，这些方法可以单独使用，或者以任何合适的组合使用，或者可以重复使用这些类异戊二烯酯的提取、或浓缩和/或分馏纯化。

更具体地说，这些提取溶剂的实例是水；已知的亲水有机溶剂，例如，醇类如甲醇、乙醇、甘油、丙醇和1,3-丁二醇、丙酮、四氢呋喃、乙腈、1,4-二噁烷、吡啶、二甲亚砜、N,N-二甲基甲酰胺和乙酸；和已知的疏水有机溶剂如己烷、环己烷、四氯化碳、氯仿、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷、二乙醚、乙酸乙酯、苯、甲苯、庚烷和异辛烷。此外，这些有机溶剂可以单独使用或者以其中至少两种的任意组合使用。在这些有机溶剂中，优选疏水有机溶剂，特别优选己烷、二乙醚、庚烷和异辛烷。

提取条件对于特定物质没有限制，但是在5-95℃，优选10-90℃，更优选15-85℃的温度下进行提取，提取也可以合适地在甚至室温下进行。提取可以合适地在常压、施加压力或者例如通过抽吸建立的减压下进行。而且，这些类异戊二烯酯可以按照例如摇动提取并使用配备有搅

拌设备的提取机进行提取，以提高提取效率。提取时间可以随其它提取条件而变化，但是优选在几分钟到几小时的范围内。

该提取所用的溶剂的量为原料量的 1-100 倍(质量/质量比，下面描述中也是以相同方式显示)，优选 1-20 倍。

可以通过任何已知方法，例如在减压下蒸馏、在真空或减压下干燥、冷冻干燥或冻干和喷雾干燥，将溶剂和水分除去。

特别地，在植物油用的前述原料用疏水有机溶剂提取时，将一部分或所有疏水有机溶剂从所得提取物中除去，如果需要的话，向该提取物中加入水，然后除去水相以将提取物浓缩，由此得到通式(I)所代表的并用于本发明的类异戊二烯酯。

或者，将亲水有机溶剂从得自植物油用的前述原料的提取物中除去，接着任选向剩余水溶液中加入水，然后加入疏水有机溶剂，用于水-疏水有机溶剂体系的液液分离，以浓缩该提取物，由此得到通式(I)所代表的并用于本发明的类异戊二烯酯。在这一点上，在液液分离时加入的水的量并不限于特定的，只要它能有效分离，但是优选为蒸发至干的提取物的质量的 1-100 倍，更优选 5-50 倍，甚至更优选 10-30 倍。

此外，通式(I)所代表的并用于本发明的类异戊二烯酯，在由例如植物油生产过程中得到的榨油残余物获得的提取物中的整个含量优选不小于 95%，更优选是 95-99.99%。该整个含量可以通过例如气相色谱技术测定。而且，前述的类异戊二烯酯也可以通过人工制得。其人工制备方法并不限于任何具体的，但是其具体实例包括化学合成法、使用酶反应的方法和使用例如微生物生产这些酯的方法。

具体地说，这些类异戊二烯酯可以由链状类异戊二烯醇和甘油三酸酯、甘油二酸酯、甘油一酸酯、脂肪酸、脂肪酸甲酯、脂肪酸乙酯等按照酯基转移反应使用酶如脂酶和羧酸酯酶，优选脂酶相当简单并安全地制得。由于前面酶的底物如甘油三酸酯、甘油二酸酯、甘油一酸酯、脂肪酸、脂肪酸甲酯和脂肪酸乙酯可以低价格大量获得，因此优选使用该方法。作为链状类异戊二烯醇，考虑工业生产率以及由此形成的酯的骨代谢改善效果，本文优选使用的是香叶草基香叶醇、植醇和二氢植醇。

当通过酯基转移反应制备通式(I)所代表的并用于本发明的酯时, 反应温度优选为 20-80℃, 更优选为 30-70℃。所用溶剂的实例包括异辛烷、己烷、庚烷、辛烷、环己烷、氯仿、二乙醚、异丙醚、乙酸乙酯、乙酸丙酯、乙酸丁酯、甲苯和二甲苯。其中, 本文优选使用的是异辛烷、己烷、庚烷和辛烷。以反应体系的总质量为基础, 酶的使用量优选是 0.01-10%质量, 更优选是 0.1-5%质量。反应时间优选是 0.1-48 小时, 更优选是 0.5-24 小时。反应结束之后, 通式(I)所代表的并且用于本发明的最终酯可以通过将反应体系过滤并将其通过例如硅胶色谱纯化来回收。

加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯, 总体上是脂溶性的, 由此它们可以有利地加入到油性体系或乳液体系中。而且, 当使用它们时, 具体地说, 以调和油或者通过将油脂加入到食物中制得的食物时, 应希望它们可以在体内与油组分一起被吸收, 因此, 从可吸收性的角度, 特别优选这种应用的实施方式。在这一点上, 通过增加待加入到该药剂中的类异戊二烯酯的量, 人们获得相当优异的效果如骨代谢改善效果, 这是理所当然的事情。

当将本发明的骨代谢改善剂通过口和/或非肠道路径给予时, 它显示了其效果。此外, 本发明的骨代谢改善剂具有骨吸收抑制效果和/或骨形成促进效果, 因此它能有效地预防和/或治疗各种涉及骨代谢的任何异常的疾病, 但是尤其是作为预防和/或治疗骨质疏松症的药剂使用。在这一点上, 本文所用的术语“骨质疏松症”是指特征为骨的数量减少并且骨细微结构的建立紊乱或微扰的全身性骨病, 因此这使得骨易碎并导致骨折的危险增加(WHO Consensus Development Conference; Am. J. Med. 1993, 94:646)。究其原因, 已证实骨吸收和骨形成之间的平衡遭到破坏, 前者大大超过后者, 骨渐渐减少。骨质疏松症可粗略分为原发性骨质疏松症和继发性骨质疏松症, 前者的实例包括退行性期间的骨质疏松症, 例如绝经后的骨质疏松症和老年性骨质疏松症和青少年骨质疏松症, 后者的实例包括因内分泌系统的疾病和代谢紊乱引起的骨质疏松症、因胶原疾病引起的骨质疏松症、因长期卧床引起的骨质疏

松症，和因给予糖皮质激素引起的骨质疏松症。本发明的骨代谢改善剂可用于预防和/或治疗上面列出的任何骨质疏松症。本文所用的术语“用作预防药剂”是指使用本发明的骨代谢改善剂保持骨的健康状况，同时考虑到绝经后以及衰老时观察的骨数量的减少。本文所用的术语“用作治疗剂”是指使用本发明的骨代谢改善剂抑制骨质疏松症的任何其它进程，骨质疏松症正在发生或者骨数量减少的症状的骨质疏松症的前期。

本发明的骨代谢改善剂可以药物和准药通过口和/或非肠道路径安全地给予人和动物。非肠道给药的实例包括静脉内注射、动脉内注射、肌肉内注射、皮下注射、皮内注射、腹膜内注射、脊柱内注射、硬膜外注射、经皮给药、通过肺给药、经鼻给药、通过肠给药、通过口腔给药和通过粘膜给药，非肠道给药的计量形式的实例是注射液、栓剂(例如通过肛门给药的栓剂、尿道栓剂、阴道栓剂)、外用液(注射液、漱口水、口腔洗剂、热敷剂、吸入剂、喷剂、气溶胶、灌肠剂、涂剂、清洗和擦洗剂、消毒剂、滴鼻剂和滴耳剂)、贴剂、经皮吸收的带、外敷于皮肤上的药剂和软膏(例如糊剂、搽剂、洗剂)。此外，口服药用制剂的实例是内用片剂(例如裸露的片剂、包糖衣的片剂、涂布片剂、肠溶衣片剂和可咀嚼的片剂)、通过口腔给药的片剂(例如口腔制剂、舌下片剂、锭剂和粘着片剂)、粉剂、胶囊(例如硬胶囊和软胶囊)和颗粒(例如涂布颗粒、丸剂、锭剂、溶液或其药用可接受的缓释制剂)。此外，口服液的实例是内用混合物、摇动混合物、悬浮液、乳液、糖浆、干糖浆、酏剂、浸剂、煎剂和柠檬水剂。

这些药用制剂可以与药用可接受的添加剂如基料、载体、赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂和/或着色剂一起按照制药领域已知的任何制备方法配制，然后给予患者。

用于这些药用制剂的载体和赋形剂的实例是乳糖、葡萄糖、蔗糖、甘露糖醇、马铃薯淀粉、玉米淀粉、碳酸钙、磷酸钙、硫酸钙、结晶纤维素、粉状甘草和粉状龙胆。

用于这些药用制剂的粘合剂的实例是淀粉、黄蓍胶、明胶、糖浆、

聚乙烯醇、聚乙烯醚、聚乙烯吡咯烷酮、羟丙基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素和羧甲基纤维素。

用于这些药用制剂的崩解剂的实例是淀粉、琼脂、粉状明胶、羧甲基纤维素钠、羧甲基纤维素钙、结晶纤维素、碳酸钙、碳酸氢钠和海藻酸钠。

用于这些药用制剂的润滑剂的实例是硬脂酸镁、滑石粉、氢化植物油和聚乙二醇。

用于这些药用制剂的着色剂的实例是能够加入到医用和药用产品中的那些。

而且，当制备注射液时，可以按照常规方法任选加入其它添加剂如pH调节剂、缓冲剂、稳定剂和/或加溶剂，由此得到每一相应的注射液。

当制备片剂和颗粒时，它们可以任选涂布有至少一层蔗糖、明胶、羟丙基纤维素、纯化虫胶、明胶、甘油、山梨糖醇、乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、邻苯二甲酸纤维素乙酯、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、和甲基丙烯酸甲酯、甲基丙烯酸聚合物。而且，它们同样可以包封在例如乙基纤维素或明胶的胶囊中。

外用制剂可以是例如固体、半固体、半固体状或液体药用制剂的形式，用于经皮给药和通过粘膜给药，例如通过口腔给药或者经鼻给药。

液体药用制剂的实例是乳化药用制剂，例如乳液和洗剂；外用的酞剂；和通过粘膜给药的液体。这些药用制剂包括目前使用的稀释剂如乙醇、油性组分和乳化剂。

半固体药用制剂的实例是膏剂，例如油基膏剂和亲水膏剂。这些药用制剂可以包括目前使用的基料或载体如水、凡士林、聚乙二醇、油组分和/或表面活性剂。

半固体或固体药用制剂的实例是硬膏(例如树胶硬膏和硬膏)、薄膜、胶带或经皮给药和经粘膜给药(例如通过口腔或经鼻给药)的糊剂如泥敷剂。这些药用制剂可以包括目前使用的基料和/或载体，例如橡胶

聚合物，如天然存在的橡胶物质和合成橡胶物质(例如丁二烯橡胶、SBR和SIS)；成泥浆剂如明胶、高岭土和氧化锌；亲水聚合物如羧甲基纤维素钠和聚丙烯酸钠；发粘产品如丙烯酸树脂和液体石蜡；水；其它油性组分；和/或表面活性剂。

这些药用制剂还可以包括稳定剂、辅剂如加溶剂或经皮吸收促进剂、或者其它添加剂如香料和/或杀菌剂。

而且，本发明的骨代谢改善剂可以与例如其它生理活性组分混合使用，用于改善各种功能，特别是协同提高骨代谢改善效果、补充骨代谢改善效果和/或改善可吸收性。具体地说，当使用本发明的药剂和/或添加剂作为食品或饮料或饲料的原料时，优选将该药剂与其它生理活性组分混合使用。这些其它生理活性组分并不限于特定的，只要其生理功能已清楚地阐明，其实例包括其它的骨代谢改善剂，它们可以与本发明的药剂一起显示直接或间接的协同效果；改善该药剂在体内的可吸收性和改善其效果的油性组分；补充营养的各种维生素、矿物质和氨基酸；和其它生理活性组分。

其它骨代谢改善组分的生理包括含钙物质如碳酸钙、磷酸钙、乳酸钙、葡萄糖酸钙、天冬氨酸钙和活性可吸收的钙；激素如雌激素和抗雌激素；肽激素如降钙素；双磷酸盐如羟乙二磷酸盐、氯甲双磷酸和利塞二磷酸盐；维生素D及其衍生物；维生素K及其衍生物；和类黄酮如黄酮、儿茶素、槲皮黄酮、异槲皮黄酮、隐色花色素、染料木、染料木素、6''-O-乙酰基染料木、6''-O-丙二酰基染料木、黄豆甙、黄豆甙原、6''-O-乙酰基黄豆甙、6''-O-丙二酰基黄豆甙、glycitin、黄豆黄素、6''-O-乙酰基 glycitin、6''-O-丙二酰基 glycitin、葛根黄素、槲皮黄酮、quercetin、myroestrol 和异丙氧黄酮。由于这些骨代谢改善组分将显示与用于本发明的类异戊二烯酯的协同作用，因此优选将这些骨代谢改善组分用于本发明。在本发明的骨代谢改善剂中，将通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯和前述的其它骨代谢改善组分混合使用将能够详细设计骨代谢改善效果，例如精细地控制改善程度和/或待改善的效果种类，因此相应于每一特定需要，可以赋予本发明的最终药剂

所需的效果。此外，由于与其它骨代谢改善组分的协同效果，因此希望该骨代谢改善效果被大大强化。

油性组分并不限于特定的，但是其实例包括天然存在的或通过化学或酶反应如 MCT、MLCT、甘油二酸酯和甘油单酸酯制备的，以及脂肪酸部分经特别设计的结构化油脂，还包括得自植物的油脂如大豆油、菜籽油、棉籽油、向日葵油、红花油、芝麻油、橄榄油、亚麻子油、米糠油、棕榈油、可可脂和爪哇木棉油，以及得自动物的油脂如猪油、牛羊脂和鱼油。

至于补充营养用的前述各种维生素、矿物质和氨基酸，其实例并不限于特定的，但是本文理想地使用在官方规定的食品添加剂中指出的那些。

前述的其它生理活性组分可以是脂溶性并容易用于油体系如加入到本发明药剂中的类异戊二烯酯的那些，其具体实例是阿魏酸及其衍生物如生育酚、生育三烯酸和 γ -谷维素；多酚类如木脂素、甾醇类、磷脂、橄榄苦苷和酪醇；和三萜烯类如齐墩果酸和山楂酸。

本发明的骨代谢改善剂具有如上所述的骨代谢改善效果。换句话说，通过直接或间接摄取本发明的骨代谢改善剂，人们可以享受前述的骨代谢改善效果。此外，通过连续摄取本发明的药剂，人们可以享受这些进一步提高的效果。本文所用的术语“包括活性组分”是指本发明的药剂包括足以获得所需效果的量的活性组分。但是加入到本发明的骨代谢改善剂中的类异戊二烯酯的量不是无条件地规定，并且可以在考虑各种条件和因素的同时合适地确定，这些条件和因素例如有类异戊二烯酯的种类、其使用目的(预防或治疗用)、给药周期和这些酯的量、每个治疗的特定患者的年龄、性别和体重、是否通过口服途径直接给药或者是否将其作为一组分加入到其它产品中以及所需的前述效果的程度。例如，酯的量不小于 0.00001%质量，优选不小于 0.0001%质量，更优选 0.001-99.99%质量，再次优选 0.1-99.99%质量，最优选 1-99.99%质量，但是本发明并不限于前述的具体范围。

而且，通过摄取这些酯合适地获得的骨代谢改善效果的用于本发明

的类异戊二烯酯的所需量没有具体的限制，可以随各种因素如摄取方式、和每个特定患者的性别、体重和身体状况而变化，但是它例如不小于0.0001克/天，优选不小于0.001克/天，更优选0.01克/天。

本发明的骨代谢改善剂的特征在于它包括类异戊二烯酯，可用于任何应用包括药用药剂和准药剂，因此它可以用于各种领域如液体食品、通过肠吸收的营养素、保健食品、食品和饮料如婴儿和小孩食品、和美容和保健用品如外用制品。这些食品和饮料以及美容和保健用品合适地用于日常给予本发明的骨代谢改善剂，由于没有任何例如给予药用药剂观察到的麻烦。因此优选这样应用药剂。优选日常给予这种药剂作为预防用，这是由于这种给予方式将能够每日连续给予。一般说来食品和饮料通过口服途径给予，而美容和保健产品如外涂于皮肤上的药剂通常是经皮给予的。在这一点上，待加入到这些产品中的本发明骨代谢改善剂的量可以随各种条件而变化，这些条件例如有应用、给予方式、种类、摄取这些产品的患者的年龄、性别、体重、症状程度和健康状况，因此不能无条件地规定，但是应足够保证预防和/治疗例如骨质疏松症所需的效果。

本发明的骨代谢改善剂可以作为一种组分加入到食品或饮料中，由此获得具有骨代谢改善效果的食品或饮料。食品或饮料的实例是各种食品和饮料，例如甜食、加工食品、调和油脂、通过将油脂加入到食品物料中制得的食品、乳制品和饮料。在本发明中，食品和饮料的形状和质量并不限于特定的，它们可以具有任何形状，例如固体状、半固体状、凝胶状、液体状和粉状。使用本发明的骨代谢改善剂的食品和饮料的具体实例是日本式甜食如OKAKI、脆米饼、小米和大米饼和填充有果酱的面包；各种欧洲式糕点如饼、饼干、发面饼干、馅饼、castilla、油炸圈饼、牛乳布丁、海绵蛋糕、威化饼干、加糖奶油浆、蛋奶羹、choux a la creme、巧克力、巧克力甜食、焦糖、糖果、口香糖、果冻、热蛋糕、面包和果子面包；小吃甜食如油炸马铃薯条；冷冻甜食如冰淇淋、冰棍和冰糕；清凉饮料如乳酸饮料、含乳酸菌的饮料、浓缩乳饮料、含果汁的饮料、含果肉的饮料、功能饮料和碳酸饮料；餐用奢侈品如绿

茶、红茶、咖啡、可可及其饮料；乳制品如发酵乳、加工乳和干酪；得自大豆的加工食品如豆浆和豆腐(TOFU)；果酱、在糖浆中浸泡过的水果、酱如花酱、花生酱和果酱；泡菜或腌制品；谷物产品如面条和意大利面条；肉制品如火腿、香肠、葷肉、干香肠、牛肉干和汉堡牛排；加工的海产品如鱼肉火腿、鱼肉香肠、熟鱼酱、圆柱形鱼酱和鱼糕；干制品如干鱼和牡蛎；熟且干的鱼条如干狐鲣、干鲭和干金枪鱼；腌鱼如腌且调味的海胆卵和腌且调味的墨鱼；干墨鱼；干 mirin-seasoned 鱼等；烟熏鱼肉如烟熏鲑鱼；在酱油中煮熟的食品如紫菜、小鱼、墨鱼、可食用的野生植物、Cortinellus shiitake 和海带；蒸煮过的食品如咖喱饭菜和焖肉；各种调味品如米曲、酱油、沙司、调味番茄酱、羹、烤肉用沙司、咖喱奶油面粉糊、焖的原料、汤料和肉汤原料；米饭等；调和油脂；将油脂加入到食物中制得的食品如人造奶油、起酥油、蛋黄酱和调味酱；以及各种在微波炉中烹调用的食品和冷冻食品。其中，在考虑特别是以下事实的同时，优选米饭、各种调味品、调和油脂和将油脂加入到食物中制得的食品如人造奶油、起酥油、蛋黄酱和调味酱(dressing)，使得通式(I)所代表的酯优选得自油料用的原料，通式(I)所代表的酯总体上是脂溶性的，并且人们应优选连续摄取这些酯。

在这一点上，这些食品和饮料中的骨代谢改善剂或类异戊二烯酯的量以例如与所需的骨代谢改善效果成比例地确定就足够了。例如，通式(I)所代表的酯在本发明的食品和饮料中的量优选在 0.0001-30%质量，更优选在 0.001-20%质量，再次优选在 0.01-10%质量，甚至更优选在 0.05-5%质量，特别优选在 0.1-3%质量。

本发明的食品或饮料的摄取可以随各种因素而变化，例如摄取方式和每一特定患者的性别、体重和身体状况，并不限于任何特定水平，但是例如不小于 0.0001 克/天，优选不小于 0.001 克/天，更优选不小于 0.01 克/天，特别优选不小于 0.1 克/天，甚至更优选 0.5 克/天，甚至特别优选不小于 1 克/天，最优选不小于 2 克/天。

本发明的骨代谢改善剂可以加入到美容和保健物品中，由此赋予其骨代谢改善效果。可以使用本发明的骨代谢改善剂的美容和保健物品并

不限于特定的物品，但是优选是日常和方便使用的那些，例如外敷于皮肤上的药品和药浴液。

外敷于皮肤的前述药物的计量形式并不限于特定的，其一部分将覆盖药物和准药物的具体实例，但是其具体实例是牛乳洗液、面霜、花露水、包装、洗涤用化妆品、彩妆化妆品、分散液和软膏。除了前述的之外，外敷于皮肤上的药物同样可以包括功能组分如血液循环改善剂、湿润剂、抗氧化剂、漂白组分、紫外线吸收剂、细胞活化剂、消炎剂、抗菌剂、经皮吸收加速剂、得自动物的提取物和/或得自植物的提取物。

在本发明中，类异戊二烯酯优选用于，例如外敷于皮肤上的药物和药浴液，这是由于这些物质经皮吸收并且这些药物可以方便地使用。

在考虑所需的骨代谢改善效果的条件下确定本发明的骨代谢改善剂或类异戊二烯酯在美容和保健物品如外敷于皮肤上的药物中的量就足够了。例如，按照本发明外敷于皮肤上的药物优选以 0.0001-99.99% 质量，更优选 0.001-90% 质量，甚至更优选 0.01-70% 质量，再次优选 0.05-50% 质量，特别优选 0.1-30% 质量的量包括通式(I)所代表的酯。

外敷于皮肤上的本发明药物的量可以随各种因素如每个特定患者的性别、体重和身体状况而变化，并且不能无条件地规定，但是它例如是，不小于 0.0001 克/天，优选不小于 0.001 克/天，更优选不小于 0.01 克/天，特别优选不小于 0.1 克/天，甚至更优选 0.5 克/天，甚至特别优选不小于 1 克/天，最优选不小于 2 克/天。

本发明涉及一种骨代谢改善剂的原料，它包括至少一种选自通式(I)所代表的链状类异戊二烯脂肪酸酯组中的成员。在这一点上，类异戊二烯酯对其来源没有特别限制，并且天然存在的或人工合成的都可以合适地用于本发明，但是类异戊二烯酯的纯度优选尽可能高，这是由于将它们用于制备骨代谢改善剂。使用纯度高的酯能够大大提高骨代谢改善效果，并大大降低杂质的量。更具体地说，使用这些高度纯化的酯将有利于消除任何预料不到的危险发生，例如因杂质的存在引起的副作用，将有利于消除在使用骨代谢改善剂时可能遇到的任何预料不到的麻烦，并有利于提高产品质量，例如提高操作性能。为此，类异戊二烯酯

优选具有尽可能高的纯度。当因其分离-纯化处理使类异戊二烯酯的纯度提高时，由此获得的酯在总体上为白色或无色固体、半固体或液体的形式，由此它们可以合适地加入到例如骨代谢改善剂中，尤其对骨药剂的颜色没有负面影响。正如上面已经叙及的，例如在骨代谢改善剂的原料中所用的类异戊二烯酯的纯度优选尽可能高，但是不能无条件地规定，它可以合适地适当考虑各种因素如所用类异戊二烯酯的种类、应用目的(预防或治疗用)、给药路径、制备方法和生产成本来确定。例如，酯在骨代谢改善剂的原料中的含量不小于 0.001%质量，优选 0.01%-99.99%质量，再优选 0.1-99.99%质量，更优选 1-99.99%质量，再次优选 10-99.99%质量，特别优选 25-99.99%质量，最优选 50-99.99%质量，但是本发明并不限于前述的具体范围。

制备上面详细描述的本发明的骨代谢改善剂的原料可用于或加入药物和准药物中，但是同样可用于其它各种领域。这些其它领域的实例并不限于特定的，只要它们具有骨代谢改善效果，包括食品和饮料、饲料、化妆品和洗浴化妆品，并且可以有利地用于任意这些产品中。

本发明涉及含有一种类异戊二烯酯的骨代谢改善剂。该类异戊二烯酯尤其具有优异的骨代谢改善效果，例如骨吸收抑制作用和骨形成促进作用，并且可以容易地制备。除了酯不带来涉及安全性的任何问题之外，由于其高的脂溶性，因此它具有优异的可吸收性。本发明的骨代谢改善剂可用于预防和/或治疗任何骨病，例如骨质疏松症，同样除了药物之外，它还可以日常以食品和饮料以及外敷于皮肤上的药物的形式使用。

实施例

下面将参照以下实施例描述本发明，但是本发明并不限于这些具体的实施例。

以下实施例所用的以下原料购自下面指定的公司：香叶醇(得自 WAKO 纯化学有限公司)；法尼醇(得自 Sigma 公司)；香叶草基香叶醇(得自 Sigma 公司)；植醇(得自 WAKO 纯化学有限公司)；三硬脂精(得自

Sigma 公司); 三油精(得自 WAKO 纯化学有限公司); 三- γ -亚麻精(得自 FUNAKOSHI 有限公司); 共轭亚油酸乙酯(得自 FUNAKOSHI 有限公司); 二十碳五烯酸乙酯(得自 WAKO 纯化学有限公司); 和甘油三-二十二碳六烯酸酯(tridocosahexaenoin)(得自 FUNAKOSHI 有限公司)。二氢植醇是按照文献(J. Org. Chem., 1993, 58: 5285-5287)中所述的方法通过还原植醇制得的。

实施例 1: 香叶草基-香叶草基硬脂酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 900 mg 三硬脂精, 接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶, 然后将该混合物于 60 °C 下搅拌 3 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后, 通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释, 接着过滤除去反应溶液中的脂酶, 然后蒸馏除去己烷, 由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化, 得到 137 mg 香叶草基-香叶草基硬脂酸酯。

实施例 2: 香叶草基-香叶草基油酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 900 mg 三油精, 接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶, 然后将该混合物于 60 °C 下搅拌 3 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后, 通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释, 接着过滤除去反应溶液中的脂酶, 然后蒸馏除去己烷, 由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化, 得到 137 mg 香叶草基-香叶草基油酸酯。

实施例 3: 香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 900 mg 三 γ -亚麻精, 接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶, 然后将该混合物于 60 °C 下搅拌 3 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之

后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 143 mg 香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯。

实施例 4: 香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 300 mg 共轭亚油酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 118 mg 香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯。

实施例 5: 香叶草基二十碳五烯酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶醇和 900 mg 二十碳五烯酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 122 mg 香叶草基二十碳五烯酸酯。

实施例 6: 二十碳五烯酸法尼酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 法尼醇和 750 mg 二十碳五烯酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应

产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 107 mg 二十碳五烯酸法尼酯。

实施例 7: 香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 600 mg 二十碳五烯酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 102 mg 香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯。

实施例 8: 植基二十碳五烯酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 植醇和 600 mg 二十碳五烯酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 94 mg 植基二十碳五烯酸酯。

实施例 9: 二氢植基二十碳五烯酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 二氢植醇和 600 mg 二十碳五烯酸乙酯，接着加入相对于所得溶液总量的 1%的量的脂酶，然后将该混合物于 60℃下搅拌 24 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后，通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释，接着过滤除去反应溶液中的脂酶，然后蒸馏除去己烷，由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化，得到 94 mg 二氢植基二十碳五烯酸酯。

实施例 10: 香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯

在 1 g 异辛烷中溶解 100 mg 香叶草基香叶醇和 900 mg 甘油三-二十二碳六烯酸酯, 接着加入相对于所得溶液总量的 1% 的量的脂酶, 然后将该混合物于 60℃ 下搅拌 3 小时。通过 GC 技术证实反应体系是否达到其平衡状态之后, 通过向反应溶液中加入其体积的 10 倍量的己烷将反应溶液稀释, 接着过滤除去反应溶液中的脂酶, 然后蒸馏除去己烷, 由此得到粗反应产物。粗产物经硅胶柱色谱法纯化, 得到 173 mg 香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯。

实施例 11: 使用细胞共培养体系证实骨吸收抑制作用的试验

按照文献(Endocrinology, 1988, 123: 2600)中公开的方法进行证实类异戊二烯酯的骨吸收抑制作用的试验。该方法概述如下:

(成骨细胞的制备)

按照文献(Endocrinology, 1988, 123: 2600)中公开的方法将从两周龄小鼠颅盖收集的基质细胞分散到含 10% 胎牛血清的培养基液体(α -MEM; 得自 Gibco 公司)中, 使得细胞密度为 5×10^4 个细胞/mL。

(脾细胞的制备)

按照文献(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1983, 80: 5583)中公开的方法将从 6 周龄 ddy 雄性小鼠收集的脾细胞分散到含 10% 胎牛血清的培养基液体(α -MEM; 得自 Gibco 公司), 使得细胞密度为 5×10^5 个细胞/mL。

(共培养方法)

在含 5% CO_2 的环境中于 37℃ 的温度下使用含 10% FBS (胎牛血清) 的培养基液体(α -MEM; 得自 Gibco 公司)进行共培养。将成骨细胞以 5×10^4 个细胞/mL/孔的细胞密度接种到 24-孔培替氏培养皿中, 1 天后, 以 5×10^5 个细胞/mL/孔的细胞密度将脾细胞接种其上, 然后将已以 10^{-2}M 的浓度溶解在 DMSO 中的试验物质的溶液加入到每一孔中, 使得试验物质的浓度等于 10 μM 。将这些细胞在有 10nM 骨化三醇和 100nM 地塞米松的情况下培养 2 周, 同时将接种脾细胞的那一天定义为第 0 天。在这

一点上,每周2次用新鲜培养基更换该培养基。2周之后,测定细胞层中抗酒石酸盐的酸性磷酸酶(本文后面称之为“TRACP”)的活性,将其用作指示层中破骨细胞的数量参数。

(TRACP活性的测定)

在测定TRACP活性时,使用酸性磷酸酶KII-WAKO(得自WAKO纯化学有限公司)的药剂盒。除去培替氏培养皿中的培养基,向每一孔中加入500 μL 每一底物,所得细胞悬液在37℃下加热15分钟,接着加入500 μL 每种显色液并测定570 nm的波长下的吸光度。使用预先制备的校准曲线确定相应于由此测定的每一吸光度的TRACP活性。将由此获得的结果列于下表1。

表1

实施例号	试验物质	TRACP 活性 (KA-U/孔)	判断功效**
对照	无	102.8 $\pm$ 12.6	--
1	香叶草基-香叶草基硬脂酸酯	25.3 $\pm$ 5.2	○
2	香叶草基-香叶草基油酸酯	16.8 $\pm$ 3.4	○
3	香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯	21.7 $\pm$ 4.9	○
4	香叶草基二十碳五烯酸酯	87.4 $\pm$ 10.3	△
5	二十碳五烯酸法尼酯	96.9 $\pm$ 12.7	△
6	香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯	9.7 $\pm$ 1.4	○
7	植基二十碳五烯酸酯	84.2 $\pm$ 7.1	0
8	二氢植基二十碳五烯酸酯	93.4 $\pm$ 9.4	0
9	香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯	18.5 $\pm$ 5.8	○
1*	维生素 K1	88.5 $\pm$ 8.1	0
2*	维生素 K2 (MK-4)	20.3 $\pm$ 4.1	○
3*	维生素 K3	87.9 $\pm$ 10.2	0

*: 对比实施例

**：功效的评价标准如下(p是指相对对照的t-检验的风险比例):

○: 试验物质显示相当大的抑制效果($p < 0.01$); 0: 试验物质显示抑制

效果 ($p < 0.05$); Δ : 试验物质仅显示轻微或无抑制效果(没有观察到任何显著差异); $\times$: 试验物质显示骨吸收促进效果(观察到负显著差异)。

从表 1 所列的数据清楚表明, 当与对照组(没有任何加入的试验物质)观察到的结果对比时, 在加入香叶草基-香叶草基脂肪酸酯、植基脂肪酸酯和二氢植基脂肪酸酯的组中观察到显著骨吸收抑制效果。然而, 在加入香叶草基脂肪酸酯和法尼基脂肪酸酯的组中几乎观察不到骨吸收抑制效果。因此, 发现在异戊二烯单元为 4 的类异戊二烯脂肪酸酯(结构式(I)中 $n = 4$)中骨吸收抑制效果是显著的。

实施例 12: 在细胞培养体系中证实骨形成促进效果的试验

在本实施例中, 测定链状类异戊二烯脂肪酸酯对得自小鼠颅盖的 MC3T3-E1 细胞或成骨细胞的分化和钙积聚的影响。向一 6-孔培养皿中加入 2 mL/孔的培养基, 将所需量的 MC3T3-E1 细胞接种到该培养基上, 并将这些细胞在含 10%胎牛血清的培养基液体(α -MEM; 得自 Gibco 公司)中在 37°C 下于 5% CO_2 的环境中培养。在接下来开始培养的那天, 用新鲜培养基更换该培养基, 同时将含有每一试验样品(制备实施例 1-9 中获得的链状类异戊二烯脂肪酸酯)的溶液, 以 10 μM 的量混合并加入到培养基中用于测定细胞生长速度, 以 2.5 μM 的量混合并加入到培养基中用于测定碱性磷酸酶(ALP)活性, 连续培养。开始培养 3 天后回收用于细胞生长速度测定的细胞, 并将活细胞的数量计数以测定细胞生长速度。至于其它细胞, 在培养的第 5 天用新鲜培养基更换培养基, 再次加入含试验样品的溶液, 培养 1 周后测定碱性磷酸酶(ALP)活性。

(细胞生长速度)

以相对于对照(无任何加入的试验样品)观察到的细胞生长速度的值定义为 100 计算细胞生长速度。由此获得的结果列于下表 2。

表 2

实施例号	试验物质	细胞生长速度(%)
对照	无	100
1	香叶草基-香叶草基硬脂酸酯	102.9
2	香叶草基-香叶草基油酸酯	108.3
3	香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯	111.4
4	香叶草基共轭亚油酸酯	120.1
5	香叶草基二十碳五烯酸酯	121.4
6	二十碳五烯酸法尼酯	115.6
7	香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯	107.8
8	植基二十碳五烯酸酯	123.4
9	二氢植基二十碳五烯酸酯	118.9
10	香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯	104.8
1*	维生素 K1	69.3
2*	维生素 K2 (MK-4)	32.4
3*	维生素 K3	0.0

表 2 中所列的数据暗示, 用于本发明的链状类异戊二烯脂肪酸酯显示促进细胞增殖的效果: MC3T3-E1 成骨细胞尽管没有观察到任何显著差异。也发现维生素 K 显示细胞生长抑制效果或细胞毒性, 而由于这些酯在骨形成方面促进成骨细胞的能力和高的安全性, 因此这些酯是相当有销路的物质。

(碱性磷酸酶 (ALP) 活性的测定)

在这些试验中, 使用碱性磷酸酶 K-试验 WAKO (得自 WAKO 纯化学有限公司) 的药剂盒。所用样品是通过将其在加入有每一试验物质的情况下培养获得的细胞悬液。将底物 (150 μ L) 加入到 10 μ L 每一样品中, 接着在 37 $^{\circ}$ C 下加热 15 分钟, 加入 150 μ L 显色液并测定 570 nm 下的吸光度。使用预先制备的校准曲线确定相应于由此测定的每一吸光度的 ALP 活性。将由此获得的结果列于下表 3。

表 3

实施例号	试验物质	TRACP 活性 (KA-U/孔)	判断功效**
对照	无	71.6±4.6	--
1	香叶草基-香叶草基硬脂酸酯	80.1±5.2	0
2	香叶草基-香叶草基油酸酯	82.8±6.7	0
3	香叶草基-香叶草基 γ -亚麻酸酯	84.4±5.1	○
4	香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯	88.3±4.8	○
5	香叶草基二十碳五烯酸酯	87.2±10.6	0
6	二十碳五烯酸法尼酯	85.4±8.4	0
7	香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯	123.5±7.3	○
8	植基二十碳五烯酸酯	114.6±7.7	○
9	二氢植基二十碳五烯酸酯	118.7±8.9	○
10	香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯	89.8±6.1	○
1*	维生素 K1	76.1±4.9	△
2*	维生素 K2 (MK-4)	78.6±3.2	0
3*	维生素 K3	91.2±11.0	0

*: 对比实施例

**：功效的评价标准如下 (p 是指相对对照的 t-检验的风险比例):

○: 试验物质显示相当大的抑制效果 ($p < 0.01$); 0: 试验物质显示抑制效果 ($p < 0.05$); △: 试验物质仅显示轻微或无抑制效果 (没有观察到任何显著差异); ×: 试验物质显示骨吸收促进效果 (观察到负显著差异)。

前面的试验结果清楚地证实, 与对照组 (没有任何加入的试验物质) 相比, 加入链状类异戊二烯脂肪酸酯的组中观察到的 ALP 活性显著增加, 因此类异戊二烯酯具有骨形成促进效果。具体地说, 在含有具有 $n = 6$ 型脂肪酸侧链的类异戊二烯 γ -亚麻酸酯; 类异戊二烯二十碳五烯酸酯和具有 $n-3$ 型脂肪酸侧链的类异戊二烯二十二碳六烯酸酯; 和具有共轭脂肪酸侧链的类异戊二烯共轭亚油酸酯的组中 ALP 活性显著增加。

实施例 13: 急性毒性试验

按照以下方法进行急性毒性试验。使用具有 AIN-93 组成的粉状混合饲料提前将 Whister 雌性大鼠 (6-周龄, 平均体重: 160 g) 保持 1

周, 将其分成 3 组(每一组有 10 只动物), 使得其平均体重均匀, 并且在以下试验中将这组指定为口服组、皮下给药组和腹膜内给药组。将按照实施例 5 中所用的步骤制备的香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯溶解在棉籽油中, 并通过相应给药路径以 2000 mg/kg(体重)的量给予前述动物。接着, 使用具有 AIN-93 组成的粉状混合饲料保持这些动物, 并观察这些动物在给药后 2 周内的预兆, 2 周后将这些动物解剖, 检测这些动物的内部器官的状况。

结果发现, 给药 2 周后这些组中的任何动物都没有死亡, 内部器官的解剖发现都是正常的。这清楚地证实, 香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯的 LD50 值大于 2000 mg/kg(体重), 该酯的安全性相当优异。

实施例 14: 片剂

实施例 2 的香叶草基-香叶草基油酸酯	1.0 mg
乳糖	94.0 mg
玉米糖浆	34.0 mg
结晶纤维素	20.0 mg
具有活化可吸收性的钙(得自牡蛎壳)	10.0 mg
维生素 D3	20 IU
硬脂酸钙	1.0 mg

将上述组分以上面所述的混合比充分混合, 将所得混合物压制成片剂。

实施例 15: 粉剂

实施例 3 中制得的香叶草基-香叶草基 γ -亚油酸酯	2.0 mg
乳糖	981.0 mg
羟丙基纤维素	4.0 mg
软无水硅酸	5.0 mg

首先将香叶草基-香叶草基 γ -亚油酸酯和乳糖以上述混合比充分混合在一起, 然后将羟丙基纤维素加入到所得混合物中, 然后将该混合物制粒。将粒状混合物干燥之后, 控制其粒径, 并加入软无水硅酸, 与这些

颗粒充分混合，由此得到一粉剂。

实施例 16：胶囊

实施例 4 中制得的香叶草基-香叶草基共轭亚油酸酯	150.0 mg
乳糖	70.0 mg
玉米糖浆	38.0 mg
硬脂酸镁	2.0 mg

将上述组分以上述混合比充分混合在一起，将所得混合物包封在胶囊中。

实施例 17：软胶囊

实施例 8 中制得的植基二十碳五烯酸酯	50.0 mg
精制大豆油	130.0 mg
生育酚	20.0 mg

将上述组分以上述的混合比充分混合在一起，将所得混合物包封得到软胶囊。

实施例 18：注射液

实施例 7 中制得的香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯	10.0 mg
聚氧乙烯硬化蓖麻油	200.0 mg
无水乙醇	适量

首先将香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯与聚氧乙烯硬化的蓖麻油以上述的混合比或量充分混合在一起，然后向所得混合物中加入无水乙醇，其量使得所得混合物的总体积等于 1 ml，由此得到一注射液。

实施例 19: 凝胶状软膏

羧基乙烯基聚合物	1.0 g
1,3-丁二醇	10.0 g
实施例 10 中制得的香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯	0.1 g
三乙醇胺	1.0 g
纯净水	87.9 g

将上述组分均匀混合在一起, 得到凝胶状软膏。

实施例 20: 含脂肪酸香叶草基-香叶草基酯的调和油脂

将香叶草基香叶醇以 0.1 g:1000 g 精炼大豆油的量溶解在精炼大豆油中, 以混合物的总量为基础, 以 1%的量将 NOVOZYME(得自 Novo 公司)加入到所得溶液中, 然后使用螺旋桨式搅拌机将混合物于 60℃下搅拌 3 小时。反应结束之后, 加入该反应体系体积 10 倍量的己烷将该反应体系稀释, 从稀释的反应体系中除去脂酶, 然后经真空蒸馏将己烷完全蒸馏掉, 由此得到含脂肪酸香叶草基-香叶草基酯的调和油脂。测定脂肪酸香叶草基-香叶草基酯在调和油脂中的含量是 0.0187%。所得调和油脂具有优异的味道和可口性, 并且能够与常规精炼大豆油一样使用。

实施例 21: 具有高链状类异戊二烯脂肪酸酯的调和油脂

将按照实施例 2、4 和 7 中所用的步骤制得的类异戊二烯脂肪酸酯分别以 1000 ppm 和 10000 ppm 的量(质量比)加入并溶解到棉籽油和芝麻油中, 由此得到总共 12 个含有链状类异戊二烯脂肪酸酯的调和油脂样品。结果, 这些调和油脂都具有优异的味道和可口性, 并且能够与没有特定加入链状类异戊二烯脂肪酸酯的常规油脂一样使用。

实施例 22: 调味酱

水	46.6 g
黄原胶	0.1 g
果糖、葡萄糖、液体糖	5.0 g
食盐	5.0 g
MSG	0.3 g
米醋(酸度为 10%)	10.0 g
胡椒	适量
实施例 3 中制得的香叶草基-香叶草基 γ -亚油酸酯	0.1 g
MLCT	32.9 g

将除了 MLCT 之外的上面的原料以上述混合比加入到配备有搅拌机并能够加热的容器中, 接着加热该混合物, 直到混合物的温度达到 90℃, 同时使用螺旋桨式搅拌机以 100 rpm 搅拌, 然后在将混合物的温度保持在 90℃下将该混合物搅拌 25 分钟。之后, 将该混合物冷却, 直到混合物的温度达到 20℃, 并与 MLCT 混合, 由此得到一调味酱。

实施例 23: 人造奶油

菜籽油	42.0 g
硬化菜籽油	42.0 g
水	14.0 g
食盐	0.5 g
卵磷脂	0.5 g
甘油单酸酯	0.4 g
实施例 5 中制得的香叶草基二十碳五烯酸酯	0.1 g
实施例 6 中制得的二十碳五烯酸法尼酯	0.1 g
实施例 7 中制得的香叶草基-香叶草基二十碳五烯酸酯	0.1 g
实施例 8 中制得的植基二十碳五烯酸酯	0.1 g
实施例 9 中制得的二氢植基二十碳五烯酸酯	0.1 g
香料	适量
胡萝卜素	痕量

按照常规方法将上述原料混合在一起，然后在混合器中经受骤冷-捏合处理，得到人造奶油。

实施例 24: 蛋黄酱

大豆色拉油	74.0 g
水	8.4 g
糖	1.0 g
谷氨酸钠	0.3 g
粉状芥末	0.3 g
食盐	1.0 g
米醋	4.0 g
按照实施例 10 中所用的步骤制得的香叶草基-香叶草基二十二碳六烯酸酯	1.0 g
含加入的盐的蛋黄	10.0 g

首先，以上述混合比将除了大豆色拉油和含盐蛋黄之外的上述原料搅拌混合在一起，将所得混合物加热至 90℃，将其温度保持在 90℃ 下搅拌 25 分钟。将该混合物冷却至 20℃ 之后，将大豆色拉油和含盐蛋黄加入到该混合物中，所得混合物在减压下搅拌，得到蛋黄酱。

实施例 25: 清凉饮料

实施例 1 中制得的香叶草基-香叶草基硬脂酸酯	0.5 g
蜂蜜	15.0 g
柠檬酸	0.1 g
d1-苹果酸	0.1 g
D-山梨糖醇液体 (70%)	10.0 g
苯甲酸钠	0.1 g
香料	适量
纯净水	加至 100 g

将上述原料均匀混合到一起，得到一种保健饮料。

当使用本发明的骨代谢改善剂时，人们能够享受链状类异戊二烯脂肪酸酯的相当优异的骨代谢改善效果。该链状类异戊二烯脂肪酸酯尤其具有优异的骨吸收抑制和/或骨形成促进效果，因此通过使用本发明的骨代谢改善剂，人们尤其可以享受这些效果。而且，可用于本文的链状类异戊二烯脂肪酸酯可以是天然存在的或者是人工合成的。这些酯是脂溶性的，相当安全，因此本发明能够享受骨代谢改善效果，并且本发明还能够以低成本制备可吸收性和安全性优异的骨代谢改善剂。